

유지폐수의 생물학적 처리에 관한 연구

박춘호 · 김용기 · 유희종 · 오평수*
태평양화학(주)기술연구소 발효공학연구소

Microbial Degradation of Fats and Oils in Industrial Wastewater

Park Chun-Ho, Yong-Ki Kim, Heui-Jong Yu, Pyong-Su O*

Fermentation Technology Laboratory, R & D Center
Pacific Chemical Co., Ltd., Ansan, Korea

Abstract – The biodegradable bacteria for fats and oils were isolated from soil and wastewater. The isolated strain was designated as LW-27 which had high COD removal rate and biodegradability on fats and oils, and was identified as *Pseudomonas chlororapahis*. The cell viability of LW-27 which produced by vacuum drying at 45°C for 24 hours was 82%. When the wastewater was mixed with LW-27 agent (0.1 g/day) on the activated sludge unit, the removal rates of COD, BOD and n-hexane extract of the effluents were about 92.9%, 94.8% and 98.0%, respectively.

유지(fats and oils) 성분은 그 복잡한 구조와 다양한 종류로 인해 분해가 어려워 수질오염의 주요물질로 지적되고 있다. 특히 유지성분이 많이 함유되어 있는 식품제조업, 비누, 페인트 및 각종 왁스제조업 등의 폐수를 활성슬러지법으로 정화하는 경우 유지성분이 폭기조(aeration tank)에 거품과 피막을 형성함으로써(1), 산소 및 태양광선을 차단하여 미생물에 의한 유기물의 분해활동을 방해하고, 분해효율을 저해하여 정상적인 수처리를 방해하는 경우가 발생되고 있다(2).

이러한 경우 주로 소포제 등을 사용하여 일시적으로 거품과 유지막을 제거하고 있으나, 그 효과가 단기적이고 화학물질의 첨가로 인해 수질오염이 가중되는 경우가 발생되고 있다(3).

이와 관련하여 이들 유지에 의해 오염된 폐수의 처리를 위해 여러 가지 물리화학적 처리방법이 연구 개발되고 있으나(4, 5), 최근에는 미생물에 의한 유지분해에 관한 연구가 진행되고 있다(6, 7).

본 연구는 이러한 유지성분을 효과적으로 분해할 수 있는 미생물을 토양 및 폐수에서 분리한 후 그 분해능 및 생리, 생화학적 특성을 검정하고 이를 제세화하여 실험실적 규모의 활성슬러지 장치에서 수질정화 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

균 분리원과 폐수

경기도 수원시 및 안산시 소재의 유지성분이 많이 함유된 식품, 화학공장 폐수와 부근의 하천 토양에서 시료를 채취하여 사용하였으며, 또한, 4종류의 서로 다른 폐수를 혼합하여 만든 혼합폐수를 가지고 분리균의 수질 정화실험을 관찰하였다.

균 분리

토양 및 폐수에서 유지분해 세균을 분리하기 위해 심(8)이 사용한 분리용 배지 I을 사용하여 분리한 후 우량균을 선별하기 위해 트리-뷰티린(tributylin)의 분해능과 COD 제거율을 측정하였다.

트리-뷰티린 분해능의 측정은 0.5% 트리-뷰티린이

Key words : *Pseudomonas chlororapahis*, Microbial degradation, Fats and oils

*Corresponding author

Table 1. The composition of medium for selection of fats and oils degrading bacteria. (unit; g/l)

| Medium | | | | | |
|--|-----|-------------------------------------|-----|----------------|-----|
| I | II | | LBT | | |
| Olive oil | 20 | Bacto-Peptone | 10 | Bacto-Tryptone | 10 |
| K ₂ ·HPO ₄ | 5 | NaCl | 5 | NaCl | 10 |
| (NH ₄) ₂ ·SO ₄ | 5 | CaCl ₂ ·H ₂ O | 0.1 | Yeast extract | 5 |
| MgSO ₄ ·H ₂ O | 1 | Tween 80 | 1 | Tributyrin | 5 |
| Yeast extract | 0.5 | | | agar | 15 |
| pH | 7.0 | pH | 7.0 | pH | 7.0 |

*The medium I was heated and emulsified, and the pH was adjusted to 7.0.

함유된 LBT agar 배지(Table 1)에 분리균을 접종하여 30°C, 3일간 배양한 후 생육된 콜로니(colony)와 트리-뷰티린 분해에 의해서 나타난 투명대의 크기를 비교한 트리-뷰티린 분해능을 측정하였다.

$$\text{트리-뷰티린 분해능} = \frac{R_1}{R_2}$$

여기서 R₁는 투명대의 직경(mm)이며, R₂는 colony 직경(mm)이다.

COD 제거율의 측정으로 1 L flask에 Tween 80이 함유된 배지 II(Table 1) 200 ml에 각 분리균을 접종하여 30°C, 80시간 진탕배양(90 strokes/min)한 다음 배양액의 COD를 측정하였다. COD 제거율은 다음에 따라 계산하였다.

$$\text{COD 제거율}(\%) = \frac{L_1 - L_2}{L_1} \times 100$$

여기서 L₁는 배양 후 COD 농도(mg/l)이며, L₂는 배양 전 COD 농도(mg/l)이다.

이와 같이하여 트리-뷰티린 분해능과 COD 제거율이 가장 양호한 균주를 선발하였다.

선발균의 동정

분리된 균은 Laboratory manual of general bacteriology(9)와 Bergey's manual of systematic bacteriology(10)에 따라서 형태적, 생리, 생화학적 특성을 조사 동정하였다.

유지 종류에 따른 분리균의 이용성

여러 종류의 유지성분에 대한 분리균주(LW-27)의 이용성을 검토하기 위해 분리용배지 I의 조성으로 LW-27 균을 접종하여 30°C에서 진탕배양하면서 균의 생육도를 관찰하였다. 각종 유지성분의 첨가는 분리용배지 I의 조성 중 올리브유(Olive oil) 대신에 동량의 유지성분을 첨가하였다.

선발균의 제제화

상기에서 분리된 균주를 밀기울 고체배지(밀기울 50g, Tap water 50 ml)에 한 백금이 접종하여 2일간 30°C에서 정차 배양한 후 진공건조기(Hitec, DN 41-C, Japan)로 45°C, 24시간 건조하여 시료로 사용했으며, 시료의 균 생존을 측정으로 Pour plating methods로 생균수를 측정하였다. 균 생존율의 계산은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{균 생존율}(\%) = \frac{D_b}{D_a} \times 100$$

여기서 D_a는 건조 전 생균수(cfu/g)이며, D_b는 건조 후 생균수(cfu/g)이다.

분해활성 측정

회분식 실험 : 1 l flask에 혼합폐수 200 ml를 넣고 LW-27 균제 0.1g을 첨가하여 30°C에서 4일간 진탕배양하면서 시간 경과에 따른 COD 제거율 및 n-헥산 추출물질 농도의 제거율을 분석하였다. 대조구로 밀기울 0.1g을 첨가하였다.

연속식 실험 : Fig. 1과 같은 실험실적 규모(Bench scale)의 활성슬러지 반응조를 사용하여 슬러지성상을 일정하게 유지하면서 분리균의 유지함유 폐수의 정화효과를 관찰하였다. 실험장치의 규모는 유량조정조, 폭기조 및 침전조가 각 5 l, 10 l 및 2 l이며, 반응조의 운전조건으로 수리적 체류시간(HRT : hydraulic retention time)은 24시간, 고형물 체류시간(SRT : solid retention time)은 7일, 혼합액 부유물질(MLSS : mixed liquor suspended solid) 농도를 약 2000 mg/l로 유지하면서 연속흐름식 방법으로 미생물균을 배양하였다. 실험에 사용한 폐수는 4종류의 유지폐수를 혼합하여 만든 폐수를 사용하면서 활성슬러지 반응조가 정상상태에 도달한 다음 LW-27 균제제를 매일

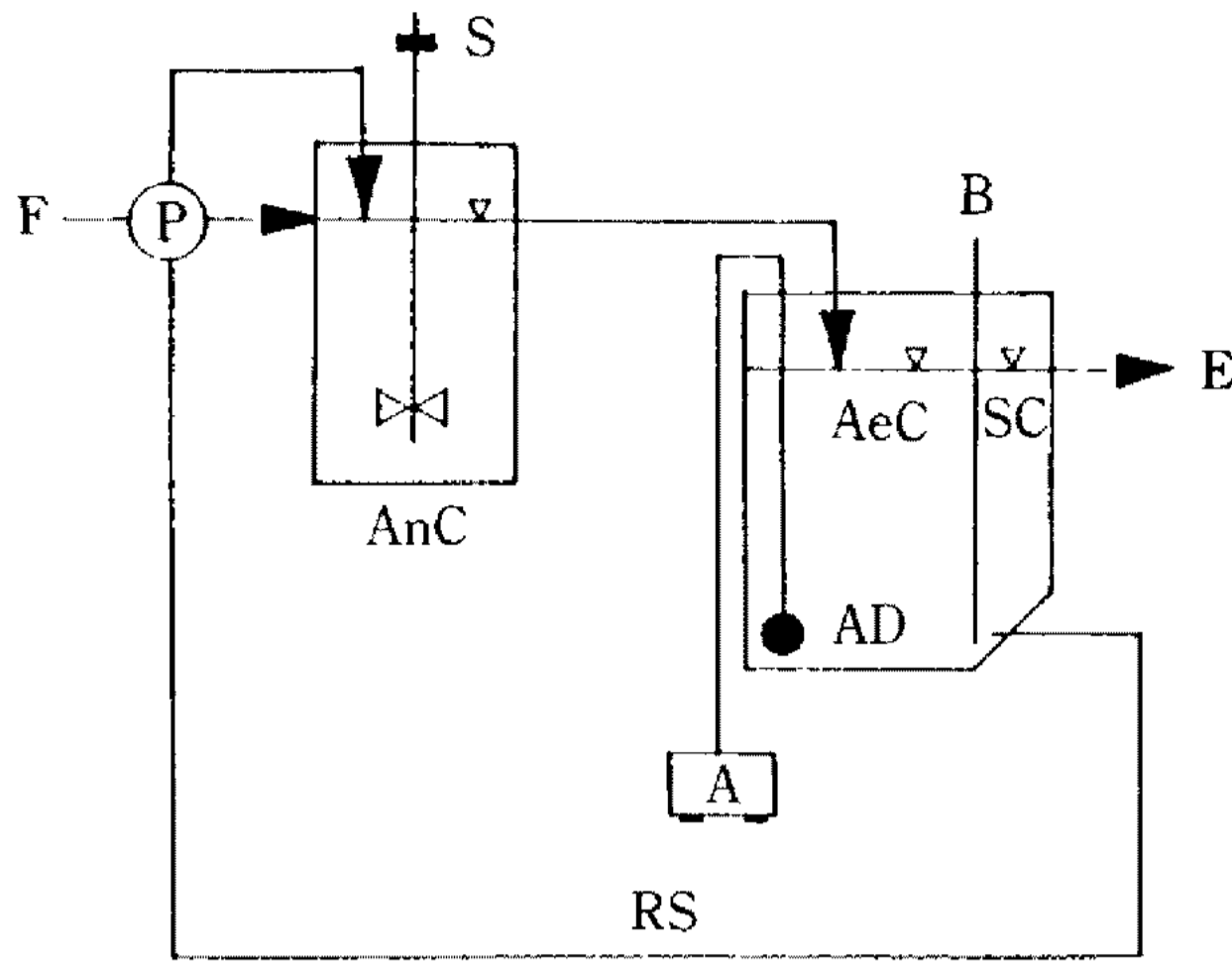


Fig. 1. Schematic of experimental unit; A, aerator; AD, air diffuser; AeC, aeration chamber; AnC, anoxic chamber; B, baffle; E, effluent; F, feed; P, peristaltic pump; RS, return sludge; S, stirrer; SC, settling chamber.

0.1g씩 처리하여 COD, BOD 및 n-헥산 추출물질 농도의 제거율 등을 관찰하였다. 또한 대조구로 밀기울을 사용하였다.

분석방법

MLSS, COD(망간법), BOD 및 n-헥산 추출물질 농도의 분석은 환경공정시험법에 따라 측정하였다 (11).

결과 및 고찰

균 분리 및 선발

앞에서 기술한 방법에 따라 시료로부터 올리브유를 유일탄소원과 에너지원으로 이용하는 45균주를 순수 분리하였다. 이들 중 우량균주를 선발하기 위해 트리뷰티린이 함유된 LBT agar 배지에 배양하여 트리뷰티린 분해능이 우수하며(Fig. 2), Tween 80이 함유된 액체배지에서 진탕배양하여 COD 제거율과 트리뷰티린 분해능이 높은 균주를 Table 2와 같이 선발하였다. 4균주 중 LW-27 균주가 COD 제거율이 83%로 다른 것보다 높았으며, 트리뷰티린 분해능이 가장 우수하여 LW-27 균을 최종적으로 선발 사용하였다.

LW-27 균의 동정 및 특성

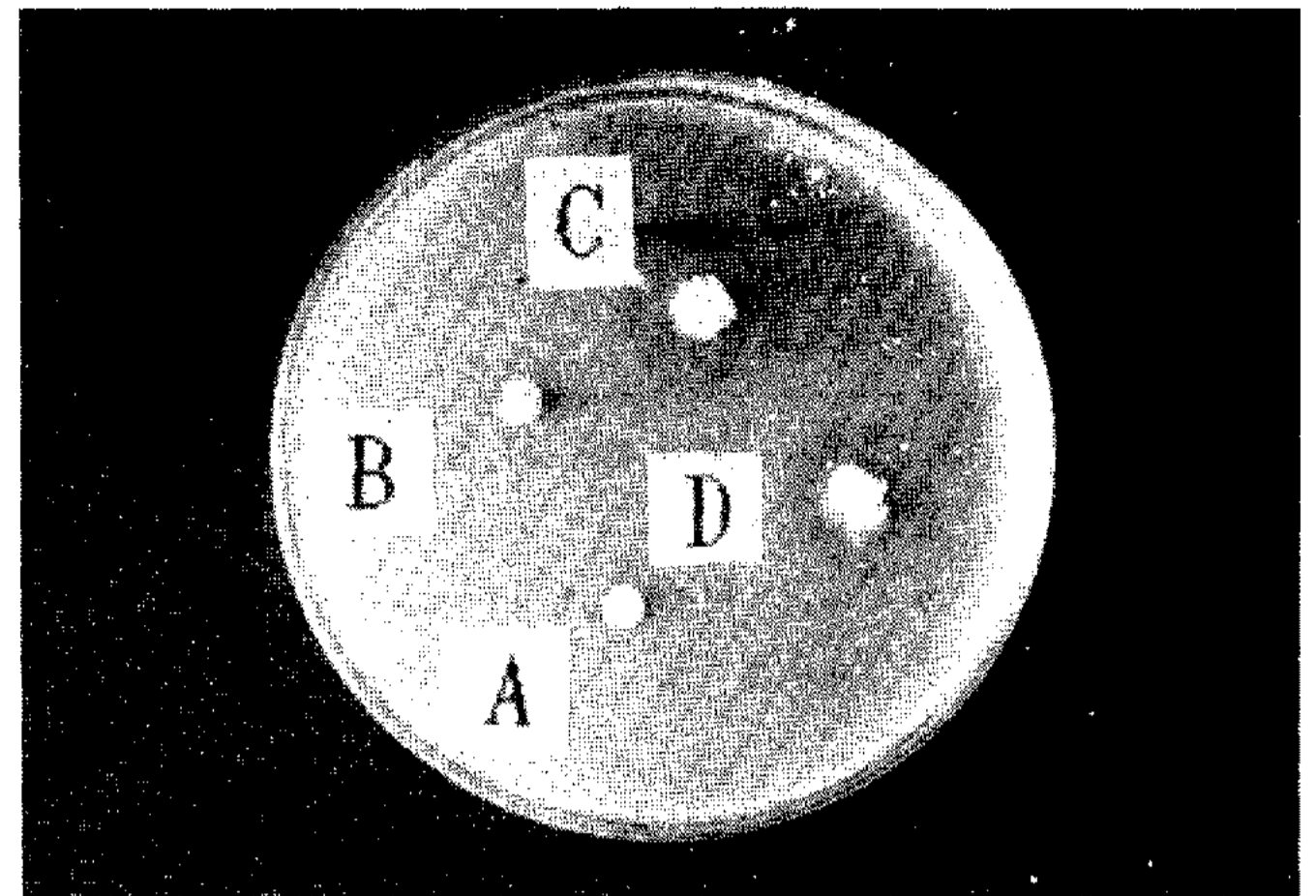


Fig. 2. Formation of clearing zone in the media contained tributyrin.; Symbols; A, strain LW-7; B, strain LW-18; C, strain LW-27; D, strain LW-33.

Table 2. Effect of COD removal rate and tributyrin degrading power of the isolated strain in media II and LBT.

| Strains | COD removal rate(%) | Tributyrin degrading power |
|---------|---------------------|--------------------------------|
| LW- 7 | 39 | 8 ^a /b ^b |
| LW-18 | 52 | 11/ 6 |
| LW-27 | 83 | 20/ 8 |
| LW-33 | 61 | 21/11 |

^aClear zone diameter(mm), ^bColony diameter(mm).

Table 3은 LW-27 균주의 형태적, 생리, 생화학적 특성을 표로 나타낸 것으로 LW-27 균주는 그람 음성 간균으로 운동성이 있으며, Polar flagellar를 갖고 있으며, Tween 80 분해능 및 단일 탄소원으로 m-inositol, L-alanine과 L-histidine 등을 이용하여 *Pseudomonas chlororapihis*로 동정하였다.

분리된 LW-27 균은 또한 Table 4와 같이 올리브유, 옥수수기름, Tween 20, Tween 80 및 트리뷰티린 등의 각종 유지성분을 이용하는 것으로 미루어 여러 종류의 유지성분을 분해할 수 있을 것으로 추정되며, 또한 생육온도 및 pH가 12-40°C와 5-9로 광범위하여 폐수처리용 미생물로 적합한 균으로 생각된다.

LW-27 균의 제제화

LW-27 균주를 제제화함에 있어서 배양곡을 건조하는 단계에서 건조수율이 가장 중요하였다. Table 5는 건조온도에 따른 균 생존율을 검정한 것으로 35

Table 3. Morphological and physiological characteristics of the isolated strain LW-27

| | |
|-------------------------------|-------------|
| Morphological characteristics | |
| Cell shape | rods |
| Gram staining | - |
| Colony on agar plate | cream white |
| Flagellar | polar |
| Mobility | + |
| Endo spore | - |
| Physiological characteristics | |
| Growth temp.(°C) | 12-40 |
| Opt. temp.(°C) | 30 |
| Growth pH | 5-9 |
| Opt. pH | 8 |
| Catalase test | + |
| Oxidase test | + |
| Urease test | + |
| Hydrolysis of Tween 80 | + |
| Gelatin | + |
| Carbon sources for growth | |
| L-arginine | + |
| m-inositol | + |
| L-alanine | + |
| L-histidine | + |

Table 4. Growth characteristics of LW-27 strain on the various fats and oils

| Substracts | Growth characteristics |
|------------------|------------------------|
| Olive oil | ++ |
| Corn oil | ++ |
| Soybean oil | ++ |
| Peanut oil | ++ |
| Coconut oil | +++ |
| Tween 20 | + |
| Tween 80 | ++ |
| Methyl butyrate | + |
| Methyl caprylate | - |
| Tributyrin | +++ |

Symbol, -; No growth +; Poor growth ++; Moderate growth +++; Good growth.

°C에서 건조한 경우 48시간을 건조하여도 수분함량이 35% 이상되어 건조가 미진했으며, 55°C 및 65°C에서 건조한 경우 균 생존율이 매우 낮았다. 이에 반해서 45°C에서 24시간 건조한 경우 82%(1.2×10^9 cfu/g)의 균 생존율을 나타내 가장 양호한 건조 조건으로 나타났다.

Table 5. The viability of LW-27 strain after vacuum drying with different temperature and time.

| Drying temp.(C) | Drying time(hrs.) | | | | |
|-----------------|-------------------|----|----|----|----|
| | 0 | 12 | 24 | 36 | 48 |
| 35 | 100 | 97 | 94 | 88 | 76 |
| 45 | 100 | 88 | 82 | 49 | 15 |
| 55 | 100 | 49 | 23 | 4 | - |
| 65 | 100 | 41 | 12 | 3 | - |

*unit; %

Table 6. The general characteristics of the influent wastewater.

| Components | Content(mg/l) | | | | |
|--------------------------|---------------|------|-----|-----|-------|
| | A | E | H | J | Mixed |
| SS | 300 | 250 | 200 | 400 | 300 |
| COD _{Mn} | 900 | 850 | 550 | 600 | 700 |
| BOD ₅ | 1100 | 1500 | 600 | 800 | 1100 |
| n-hexane extract | 300 | 250 | 150 | 300 | 250 |
| Nitrogen (total as N) | 70 | 80 | 24 | 25 | 55 |
| pH | 7.3 | 7.2 | 7.5 | 6.9 | 7.1 |

폐수의 분석

Table 6은 본 연구에서 사용한 폐수 및 혼합폐수의 성분을 분석한 것으로 혼합폐수의 제조는 4종류의 서로 다른 유지폐수를 동량혼합하였다. 혼합제조한 폐수의 특징으로 부유물질농도(SS : suspended solid)가 300 mg/l, COD와 BOD가 각각 700과 1100 mg/l, n-헥산 추출물질농도가 250 mg/l있으며, 총 질소(N)가 55 mg/l, 인(P)이 10 mg/l였다. 생물학적 폐수처리시 폐수의 영양성분으로 질소 및 인은 미생물의 증식과 활성유지를 위해 필요한 것으로 대부분의 폐수정화시 BOD : N : P의 비율을 100 : 5 : 1로 조절하여 처리하고 있다(12). 상기 혼합 사용한 폐수는 영양조성비가 100 : 5.5 : 0.9로 별도의 영양성분을 첨가하지 않아도 폐수의 생물학적 처리시 양호한 처리가 기대된다.

분해활성 측정

회분식 실험 : 1l flask 상에서 LW-27 한제제를 0.1 g 첨가하여 정화효과를 관찰한 결과 Fig. 3과 같이 처리수의 COD와 n-헥산 추출물질농도가 배양 72시간

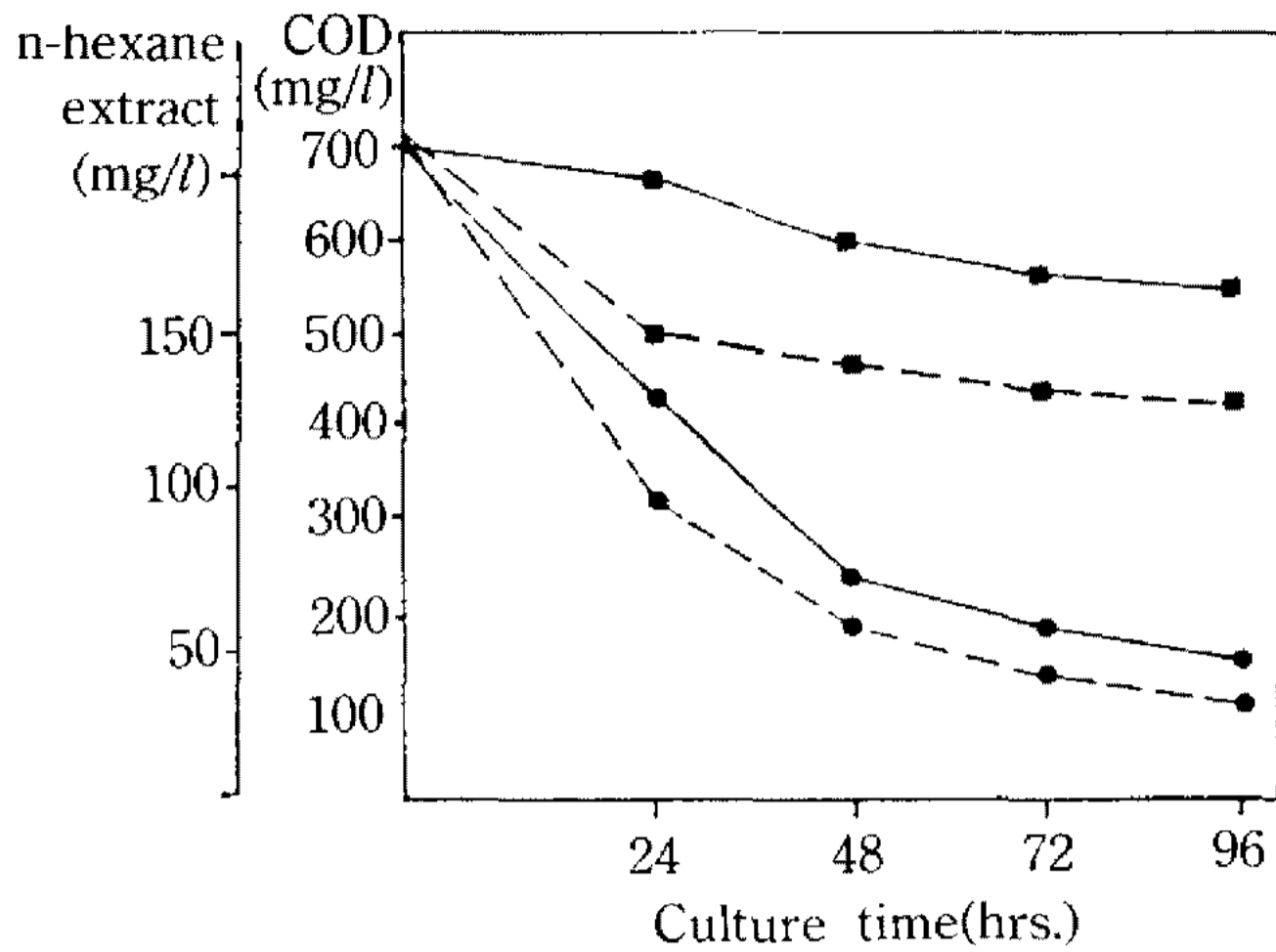


Fig. 3. Change of COD and n-hexane extract in mixed wastewater treated LW-27 agent on batch culture.

The initial concentration of COD and n-hexane extract in mixed wastewater were 700 mg/l and 250 mg/l, respectively and the batch culture were incubated at 30C with reciprocal shaking. (■); control, (●); LW-27 agent, (○); n-hexane extract, (—); COD.

Table 7. The average data of the removal of organic matter in mixed wastewater treated LW-27 agent on bench scale reactor as activated sludge unit during 6 weeks.

| Items | LW-27 | | Control | |
|-------------------|------------------------------|------------------|------------------------------|------------------|
| | Effluent concentration(mg/l) | Removal rate (%) | Effluent concentration(mg/l) | Removal rate (%) |
| COD _{MH} | 53 | 92.9 | 105 | 86 |
| BOD ₅ | 57 | 94.8 | 81 | 92.6 |
| n-hexane extract | 5 | 98.0 | 30 | 88.0 |
| Tween 80 | 3 | 98.5 | 20 | 90.0 |

경과시 LW-27 균제제 첨가구의 경우 각각 160 mg/l와 35 mg/l로 대조구의 600 mg/l와 161 mg/l보다 높은 정화효과를 나타냈다.

연속식 실험 : 혼합폐수를 연속식으로 처리하기 위해 실험실적 규모의 배양장치를 이용하여 수원시 소재의 J식품공장 슬러지로 MLSS가 2000 mg/l되게 조정하여 BOD 부하 0.2-0.3으로 조정하여 실험하였다. 슬러지의 상태가 정상상태에 도달하기 위해서 3주간 운전하였으며, 충분한 결과를 얻기 위해서 6주간 더 운전하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

LW-27 균제제를 반응조에 매일 50 mg/l씩 투입하면서 유지함유폐수에 대한 정화효과는 Table 7과 같

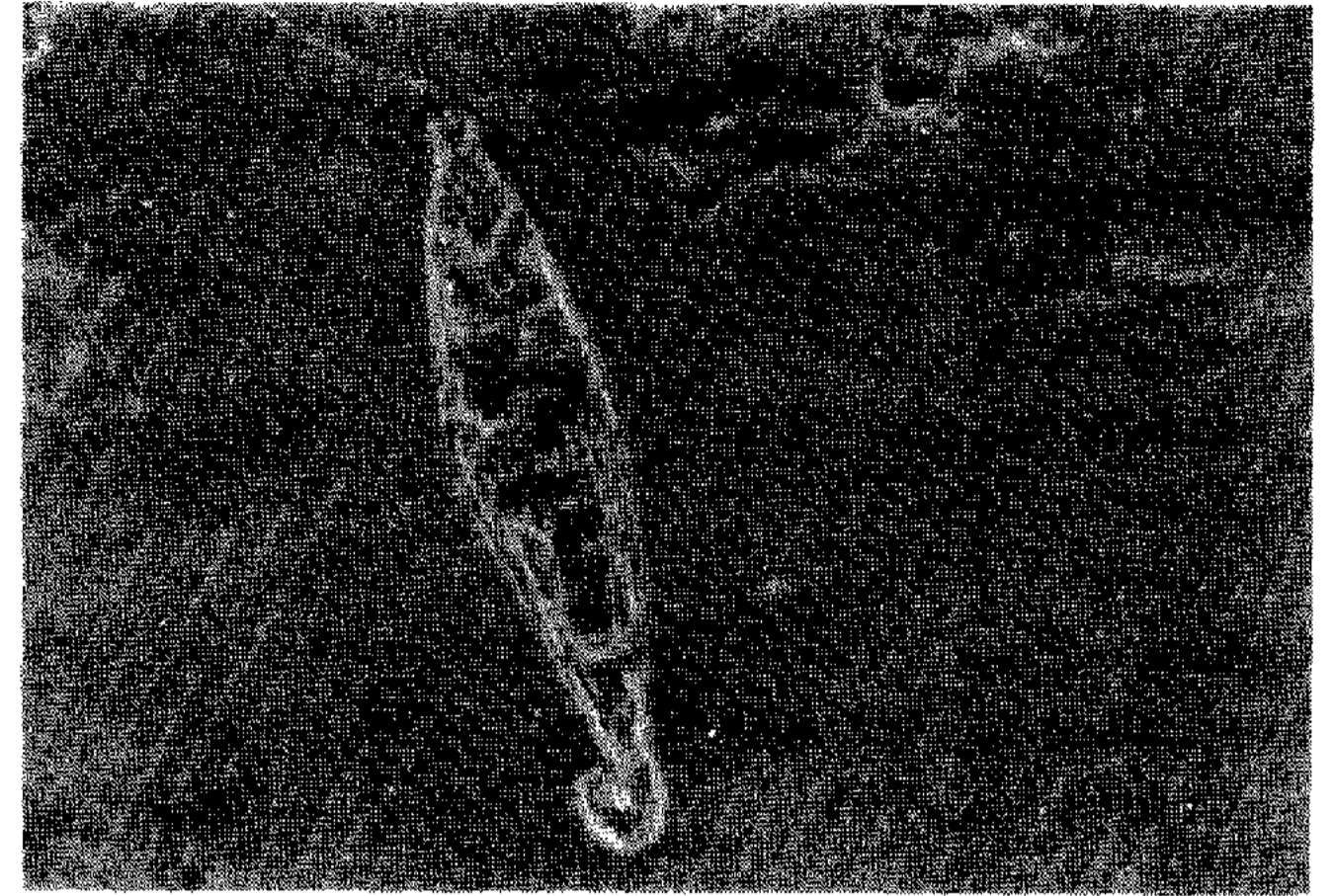


Fig. 4. Microscopic photograph of protozoa(Rotifer sp.) (×300).

이 처리수의 COD와 BOD가 평균 53 mg/l와 57 mg/l로 대조구의 105 mg/l와 81 mg/l보다 더 처리됐으며, 유지성분의 제거효과를 나타내는 n-헥산 추출물질농도의 제거율도 대조구보다 약 10%더 높게 처리됐다. 또한 슬러지의 원생생물 상태를 관찰한 결과 대조구는 사상성 세균이 많이 관찰됐으나, LW-27 균제제 투입구는 Fig.4와 같이 Rotifer sp., Aspidica sp. 등 활성슬러지의 상태가 양호할 때 관찰되는 원생생물이 많이 관찰됐다(13).

요 약

유지함유폐수를 생물학적으로 처리할 목적으로 폐수 및 토양으로부터 45종의 균을 분리 동정하여, 그 중에서 COD 제거율과 유지제거율이 우수한 LW-27 균을 선발 동정하였다. 동정결과 LW-27 균은 *Pseudomonas chlororaphidis*의 유연균으로 동정됐다. LW-27 균의 제제화는 45C에서 24시간 진공건조하여 82% 이상의 균 생존율을 얻어 제제화하였다. 제제된 LW-27을 0.1g씩 매일 활성슬러지장치에 처리하면서 혼합폐수를 연속 처리한 결과 처리수의 COD, BOD 및 n-헥산 추출물질농도의 제거율이 평균 92.9%, 94.8% 및 98.0%로 나타났다.

참고문헌

1. Chow, V.T., R. Eliassen, and R.K. Linsley: *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal Reuse*, McGraw Hill, Inc., Boston, 2nd., 84 (1979).

2. Park, J.Y., I.S. Park, K.H. Suh, and Y.K. Hong: *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **16**, 384 (1988).
3. 中鹽眞 喜夫: 廢水の 活性汚泥處理. 桓星社 厚生閣販, 217 (1976).
4. Park, Y.K., C.H. Lee, T.G. Hwang, and M.H. Hahn: *J. Kor. Soc. Environ. Engin.* **11**, 37 (1988).
5. 고석문, 김오석, 이상호, 김동윤, 김환기, 양병수: 생물학적 폐수처리 공정과 설계, 동화기술, 281 (1985).
6. Yoshitsugu, K., S. Hideo, and F. Tadashi: *Biotechnol. Bioeng.* **31**, 349 (1988).
7. Bae, K.S., Y.C. Hah, and S.W. Hong: *Kor. J. Microbiol.*, **20**, 98 (1982).
8. 심영철: 한국 과학기술원 석사학위 논문 (1988).
9. Gehardt, P., G.E.G. Murray, R. N. Gostilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G.B. Phillips: *Manual of methods for microbiology*, Washington (1981).
10. Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons: *Bergey's manual of determininative bacteriololgy*, 8th ed., The Williams and Willkins Co., Baltimore (1984).
11. 김남천, 이한구: 하·폐수분석, 동화기술(1984).
12. Chambers, B., and E.J. Tomlinson: *Bulking of activated sludge-preventative and remedical methods*, Ellis Horwood Lit., England (1982).
13. Curds, C.R., and A. Cockburn: *Water Research*, **4**, 237 (1970).

(Received November 13, 1990)