

Pseudomonas sp. B3를 이용한 Phenol 함유 폐수의 처리

†강 선 태 · *김 정 목

신일전문대학 환경관리과, *대경전문대학 환경계획과

Treatment of Wastewater Containing Phenol Using *Pseudomonas* sp. B3

Sun-Tae Kang[†] and Jeong-Mog Kim^{*}

Dept. of Environmental Management, Shinil College, Taegu 706-022, Korea

^{*}Dept. of Environmental Planning, Daekyung College, Kyungsan, Kyungbuk 712-850, Korea

ABSTRACT

Using *Pseudomonas* sp. B3, identified and isolated from nature, wastewater containing phenol was treated in a continuous stirred tank reactor and its reaction characteristics were studied. Average concentrations of phenol and COD in effluents were 1.5mg/L and 124mg/L at 0.059h⁻¹ dilution rate, respectively. At the dilution rate higher than 0.063h⁻¹, phenol and COD increased abruptly to 19mg/L and 318mg/L. At the dilution rate higher than 0.059h⁻¹, biomass concentration suddenly decreased and was "washed out". Biomass concentration was 150mg/L at a dilution rate of 0.067h⁻¹. Maximum biomass production rate was 15.98mg/L · h at a dilution rate of 0.067h⁻¹. When dilution rate increased above 0.059h⁻¹, effluent phenol concentration abruptly increased and biomass production rate decreased. Maximum cell growth rate(μ_{max}) and Michaelis-Mentens kinetic constant(K_s) were 0.074 h⁻¹ and 0.424mg/L, respectively. From the above result low phenol concentration can be expected at a maximum dilution rate, but reactor becomes unstable due to phenol inhibition.

서 론

Phenol은 benzene의 수소원자를 수산기로 치환한 방향족 히드록시 화합물로 코올타르의 분유품과 합성품이 있으나 현재는 대부분 합성품이다. 종래에는 나일론의 원료인 카프로락탐 제조용으로 다량 소비되었으나, 최근에는 각종 페놀수지의 원료로 그 사용량이 증가하고 있다. 그 외에도 방부, 소독제, 베이클라이트, 살리실산 및 염료 등의 원료로 널리 사용되고 석유정제, 석유화학, 석탄전환, 페놀수지공장 등에서 배출되는 오염물질이다.

이와 같이 폐수와 함께 배출된 phenol과 phenol 화합물들은 미생물에 대한 독성과 저해를 나타내고 있어서 phenol 함유 폐수의 처리에 많은 어려움이 있다(1). 특히 phenol이 상수원에 미량이라도 유입 되면 염소소독시 chlorophenol이 생성되어 심한 악취, 구토 및 독성을 유발한다고 보고 되었다(2-4).

따라서 phenol의 미생물에 대한 독성으로 인하여 흡착이나 이온교환 수지 및 막분리를 사용한 물리화학적인 방법이 많이 연구되고 있다(3, 5-8). 그러나 이와 같은 방법은 흡착제나 이온교환수지의 재생 문제가 있을 뿐만 아니라 고농도의 경우에는 처리에 한계가 있다.

최근에는 생물막 유동층 반응기에서 담체에 미생

† Corresponding Author

물을 부착하여 담체를 유동시켜 처리하는 연구가 많이 이루어지고 있다(9-11). 이와 같은 공법은 많은 장점에도 불구하고 유동층 반응기가 미생물의 부착 특성에 영향을 받을 뿐만 아니라 유동특성에 민감하여 운전조작의 변수가 많은 단점이 있다.

따라서 본 연구에서는 phenol을 분해하는 균주를 자연계에서 순수분리하여 그 중 성능이 우수한 균주를 선정하고 이 균주를 이용하여 연속혼합반응기에서 반응특성을 조사하였다.

재료 및 방법

Phenol 분해세균의 분리 및 동정

Phenol 분해세균을 분리하기 위하여 대구시내공단 주변의 하수, 토양 및 하천에서 50여 점의 시료를 채취하여 phenol 분해균주를 분리하였다. 분리한 여러 균주 중 phenol 분해능력이 가장 우수한 균주를 선정하였다.

분리균의 동정을 위하여 균주의 형태학적, 생화학적, 영양학적 특성을 조사한 후 미생물의 분류 및 동정에 따라 분류학적 성질을 조사하였으며, 여러 기준에 준하여 동정하였다(12, 13).

연속실험

반응기의 용적은 5.6L로 가로 17cm, 세로 16.5cm, 높이 20cm의 아크릴수지로 제작하여 연속실험을 행하였다. 반응기내의 농도와 유출수의 농도를 균일하게 유지하기 위하여 교반기를 설치하였으며, 교반속도는 180rpm을 유지하였다.

연속실험에 사용된 합성폐수의 조성은 Table 1과 같다. 탄소원은 phenol만을 사용하였으며, 질소와 인원은 phenol 분해균주의 최적영양소의 실험에서 가장 우수한 것으로 나타난 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 NaH_2PO_4 를 각각 사용하여 ThOD:N:P를 100:5:1로 조절하였다.

Table 1. Composition of the Synthetic Wastewater.

Components	Concentration(g/L)
Phenol	0.50
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.30
NaH_2PO_4	0.05
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
KCl	0.05
pH	7.0

반응기를 연속혼합반응기(CSTR)로 가정하고 phenol 분해균에 의한 phenol의 분해 특성을 평가하고, 회석률(Q/V)의 변화에 따른 phenol 분해균과 처리수의 phenol 농도 및 균체농도를 조사하였다.

반응기내에 Table 1의 합성폐수를 주입하고 분리 동정된 *Pseudomonas* sp. B3 배양액을 접종하여 반응기내의 phenol 농도가 0mg/L로 될 때까지 희분 배양한 후 유입수의 페놀 농도를 500mg/L로 일정하게 유지하고 체류시간을 60, 40, 20, 18, 17, 16 및 15h로 각각 변화시켜 회석률을 조절하였다. 즉 회석률은 평균 체류시간의 역수로 0.017h^{-1} 에서 0.067h^{-1} 까지 변화시켜 실험하였다.

항온조를 사용하여 반응기의 온도를 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 공기는 폭기조의 하부에서 산기관을 통하여 공급하여 DO 농도를 2mg/L 이상 유지되도록 하였으며, pH는 7.0 ± 0.2 로 유지하였다. 합성폐수는 peristaltic pump를 사용하여 폭기조의 상부에서 공급하였다.

분석방법

Phenol 함량의 측정을 위하여 수질오염공정시험법(14)에 따라 다음과 같이 분석하였다. Phenol 표준액을 농도별로 0.1mL 취하여 염화암모늄-암모니아 완충액 3.0mL를 넣어 pH 10.0 ± 0.2 로 조절한 후 2% 4-아미노안티피린 용액 2mL를 넣고 혼합하였다. 다음 페리시안화 칼륨용액 2mL를 넣어 흔들어 섞은 다음 3분간 방치하여 10mm 흡수셀에 옮겨 510nm에서 흡광도를 측정하였다.

균의 생육도는 660nm에서 흡광도로 나타내었으며, COD_c 의 측정은 standard method(2)에 준하여 측정하였다.

결과 및 고찰

페놀 분해세균의 분리 및 동정

대구시내공단 주변의 하수, 토양 및 하천에서 50여 점의 시료를 채취하여 phenol 분해균주를 분리하였으며, 결과를 Table 2에 나타내었다. 분리균 중 특히 B3는 분리균주 중에서 생육이 가장 좋고 우수하여 B3 균을 공시균주로 사용하였다.

균주의 형태학적, 생화학적, 영양학적 특성을 조사한 후 미생물의 분류 동정에 따라 분류학적 성질을 조사하였다.

형태적, 생리적·생화학적 특성을 고찰했을 때 분리한 균주는 *Pseudomonas* sp.로 동정되어 이를 *Pseu-*

Table 2. Comparison of the Cell Growths of Isolated Strains.

Strains*	Cell growth(O.D. at 660nm)
B1	0.32
B2	0.25
B3	0.76
B4	0.65
B5	0.71
B6	0.47

*: Strains were grown for 2 days at 30°C in a minimal medium containing 500mg/L phenol as a sole carbon and energy source.

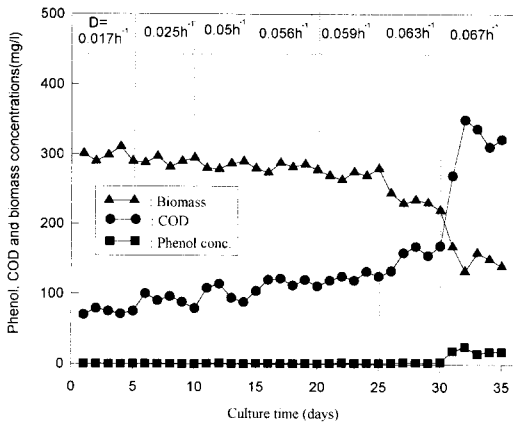


Fig. 1. Profile of phenol, COD and biomass concentration in CSTR.

domonas sp. B3로 명명하였다.

연속실험

연속혼합반응기(CSTR)에서 phenol 분해균에 의한 phenol의 분해 특성을 평가하고 회석률(D)의 변화에 따른 처리수의 phenol 농도, COD_c 농도 및 균체의 생산성을 조사하였다.

폭기조를 연속혼합반응기(CSTR)로 가정하면 반응기내의 phenol 농도와 용존산소 농도가 조내의 위치에 관계없이 일정하며, 유출수의 조성은 반응기 내부의 조성과 동일하다.

Fig. 1은 유입수의 phenol 농도 500mg/L에서 회석률의 변화에 따른 처리수의 phenol 농도, COD 농도 및 균체농도를 나타낸 것이다.

회석률이 0.059h⁻¹ 이하로 주어졌을 때 phenol과 COD 농도는 평균 각각 1.5mg/L, 124mg/L로 낮은

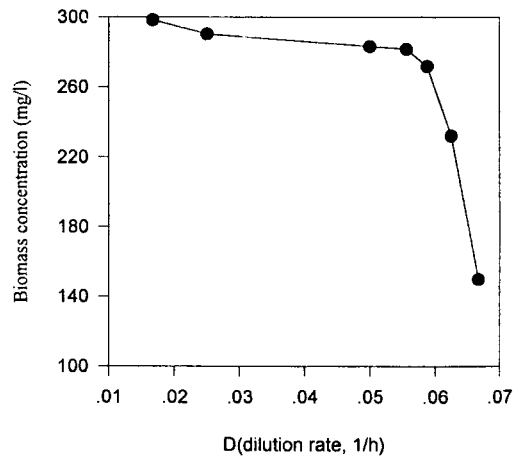


Fig. 2. Effect of dilution rate on biomass concentration.

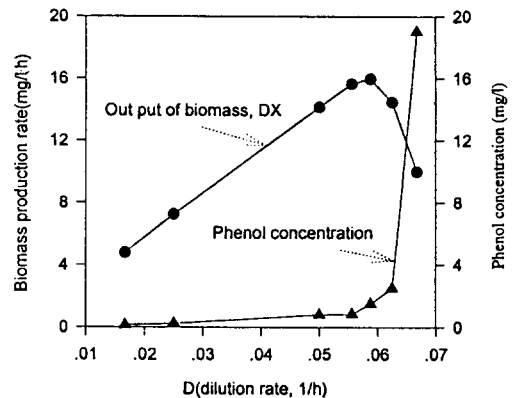


Fig. 3. Variation of phenol concentration according to dilution rate.

값을 나타내었으나, 0.063h⁻¹부터 phenol과 COD 농도가 급격히 증가하여 0.067h⁻¹에서는 평균 19mg/L, 318mg/L로 각각 나타났다.

Fig. 2는 회석률 D의 변화에 따른 반응기내의 평균 균체농도를 나타낸다. 회석률이 0.017h⁻¹일 때 균체농도는 298mg/L이고 회석률이 0.059h⁻¹일 때 균체농도는 272mg/L로 회석률이 급격히 증가하여도 균체농도는 크게 증가하지 않았다. 그러나 회석률이 0.059h⁻¹ 이상일 때 균체농도가 급격히 감소하고 균체농도의 유실현상인 “wash out”이 일어나 회석률이 0.067h⁻¹일 때 균체농도는 150mg/L로 나타났다.

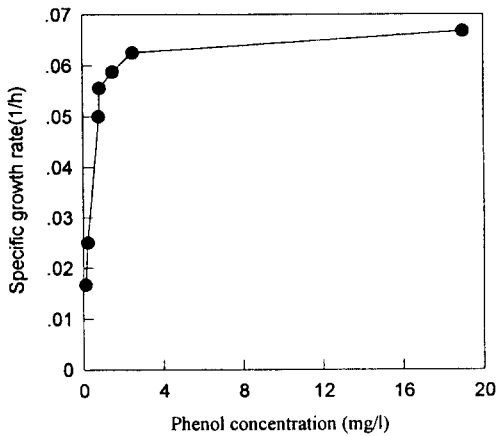


Fig. 4. Relationship between specific growth rate and phenol concentration.

Fig. 3은 유출수의 phenol 농도 및 균체의 생산성을 나타낸다. 회석률이 0.059h⁻¹ 이하일 경우 회석률의 증가에도 불구하고 phenol 농도의 큰 변화가 없을 뿐만 아니라 균체의 생산성이 계속 증가하였다. 회석률이 0.059h⁻¹에서 균체의 생산성은 최대값인 15.98mg/L · h를 나타내었다. 그러나 회석률이 0.059h⁻¹ 이상으로 계속 증가하면 phenol 농도가 급격히 증가하고 균체의 생산성은 급격히 감소한다. 이와 같은 현상은 회석률이 0.059h⁻¹ 이하일 때 체류시간의 감소에 따라 미생물이 이용할 수 있는 기질의 부하량이 증가하여 균체의 생산성이 함께 증가한다. 그러나 회석률이 0.059h⁻¹ 이상일 때 반응기 내의 phenol 농도가 증가함에 따라 미생물에 저해작용을 나타낼 뿐만 아니라 phenol의 분해에 필요한 체류시간을 유지시키지 못하기 때문인 것으로 사료된다.

연속혼합반응기의 속도론

연속혼합반응기(CSTR)의 실험에서 반응기내의 phenol 농도와 비성장속도(μ)와의 상관관계를 Fig. 4에 나타내었다. Phenol 농도가 극히 낮은 영역에서 비성장속도는 최대값에 도달하며, Monod식을 적용할 수 있다. 반응기내의 phenol 농도가 낮은 영역, 즉 최대비성장속도(μ_{max})의 범위에서 phenol 함유폐수를 처리하는 것이 바람직하다.

Pseudomonas sp. B3 균의 phenol 분해에 관한 속도상수를 구하기 위하여 Lineweaver-Burk plot

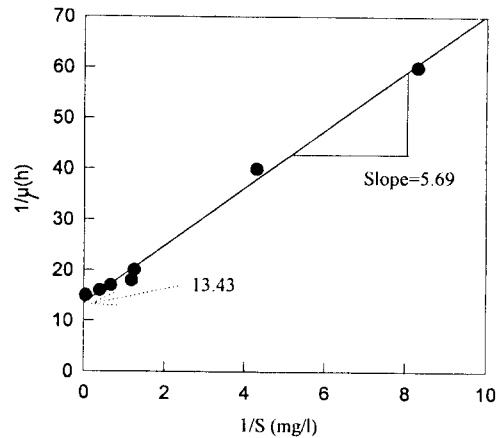


Fig. 5. Lineweaver-Burk plot.

을 Fig. 5에 나타내었다. 그림으로부터 동력학적 계수인 μ_{max} 는 0.074h⁻¹, K_s 는 0.424mg/L로 나타났다. 이와 같은 결과로부터 최대 회석률(D_{max})에서 저농도의 phenol 처리수를 기대할 수 있으나 phenol의 저해작용도 함께 증가하여 반응기가 불안정해지므로 phenol 함유폐수를 연속적으로 처리하기 위해서는 미생물의 고농도 배양이 필요하다.

CSTR안의 용존산소 농도를 한계농도 이상으로 유지한다면 이 시스템에서 미생물의 반응과정을 다음과 같이 해석할 수 있다. 정상상태에서 반응기내 phenol 농도에 대한 물질수지와 미생물 농도에 대한 물질수지로 부터 식(1)과 (2)를 유도할 수 있다 (15).

$$X = Y_{X/S} \cdot \left(S_0 - \frac{D \cdot K_s}{\mu_{max} - D} \right) \tag{1}$$

$$S = \frac{D \cdot K_s}{\mu_{max} - D} \tag{2}$$

위의 식에서 정상상태에서 X와 S는 D에 의존함을 알 수 있다. 유량이 매우 적은 영역 즉 D가 0에 가까워지면 S는 0이 된다. 이때 반응기내의 미생물이 phenol을 전부 분해 자화함으로 $X = Y_{X/S} \cdot S_0$ 가 된다. D가 μ_{max} 에 접근하면 S와 X 값이 급격히 변화하는 것을 알 수 있다. D가 μ_{max} 에 접근할 때 $X=0$ 이 되며, 이때 “wash out”이 일어난다. 식(1)에서 $X=0$ 를 대입하면 식(3)이 된다.

$$D = \frac{\mu_{max} \cdot S_0}{K_s + S_0} \tag{3}$$

최대의 균체량을 나타내는 D는 $d(DX)/dD=0$ 에

서 구할 수 있다.

$$D_{max\ output} = \mu_{max} [1 - \{K_s / (K_s + S_0)\}^{1/2}] \quad (4)$$

$S_0 \gg K_s$ 인 경우 식(4)에서 $D_{max\ output}$ 이 μ_{max} 에 접근하여 “wash out” 현상이 일어나므로 미생물의 최대 생산량을 피하는 것이 바람직하다. $\mu_{max} = 0.074h^{-1}$, $K_s = 0.424mg/L$ 를 각각 식(4)에 대입하여 $D_{max\ output} = 0.0718h^{-1}$ 를 얻었다.

결 론

자연계로부터 분리·동정된 *Pseudomonas* sp. B3를 이용하여 phenol 함유폐수를 연속혼합반응기로 처리하여 반응특성을 조사 하였다.

회석률 $0.059h^{-1}$ 까지 phenol과 COD 농도는 평균 각각 $1.5mg/L$, $124mg/L$ 로 낮은 값을 나타내었으나 $0.063h^{-1}$ 이상에서는 phenol과 COD 농도가 급격히 증가하여 $0.067h^{-1}$ 에서는 평균 $19mg/L$, $318mg/L$ 로 나타났다.

회석률 $0.059h^{-1}$ 이상에서는 균체량이 급격히 감소하고 균체량의 유실현상인 “wash out”이 일어나 회석률 $0.067h^{-1}$ 에서는 균체농도가 $150mg/L$ 로 나타났다.

회석률 $0.059h^{-1}$ 에서 균체의 생산성은 최대값인 $15.98mg/L \cdot h$ 를 나타내었으나 회석률이 $0.059h^{-1}$ 이상으로 계속 증가하면 phenol 농도가 급격히 증가하고 균체의 생산성은 감소하였다.

동력학적 계수인 μ_{max} 는 $0.074h^{-1}$, K_s 는 $0.424mg/L$ 로 나타났다. 이와 같은 결과에서 최대회석율(D_{max}) 부근에서 저농도의 phenol 처리수를 기대할 수 있으나 phenol의 저해작용도 함께 증가하여 반응기가 불안정해진다.

참고 문헌

1. Borja R, A. Martin, M. Maestro, M. Luque,

- and M. M. Duran(1993), *Biotechnology Letters*, **15**(3), 311.
2. AWWA(1971), Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 15th ed., 5-9.
3. Gustafson, R. L. and J. A. Lirio(1968), *Ind. Eng. Chem. prod. Res. develop.*, **7**, 116.
4. 이건, 이상준, 이종근(1991), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **19**(6), 624.
5. Weber, W. J. Jr. and M. Pirbazari(1982), *J. AWWA*, **4**, 203.
6. Goto, M., N. Hayashi, and S. Goto(1986), *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 463.
7. Crook, E. H., R. P. McDonell, and J. T. McNulty(1975), *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.*, **14**, 113.
8. Van Viet, B. M. and W. J. Weber(1981), *J. Water Poll. Control Fed.*, **53**, 585.
9. Bayly, R. C., S. Dagley, and D. T. Gibson(1966), *Biochem. J.*, **101**, 293.
10. Harris. G. and R. W. Ricketts(1962), *Nature*, **195**, 473.
11. Henderson M. E. K.(1961), *J. Gen. Microbiol.*, **26**, 155.
12. Krieg, N. R. and J. G. Holt(1984), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, U. S. A.
13. Cappuccino, J. G. and N. Sherman(1986), *Microbiology a Laboratory Manual*, 2nd ed., The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., Menlo Park.
14. 同和技術 編輯委員會(1992), *水質汚染公正試驗法*, p. 199, 同和技術.
15. 조영일, 유영제, 홍석인(1991), *생물화학공학*, p. 386, 서울외국서적, 서울.