

미생물 컨소시엄에 의한 페놀수지 Resole의 분해

†오 계 현 · 최 원 식

순천향대학교 자연과학대학 생명과학부
(접수 : 1997. 11. 11., 게재승인 : 1998. 1. 21.)

Degradation of Phenolic Resin, Resole by Microbial Consortia

Kye-Heon Oh† and Won-Sik Choi

Department of Life Science, College of Natural Science,
Soonchunhyang University, Asan, Chungnam, 336-600, Korea

(Received : 1997. 11. 11., Accepted : 1998. 1. 21.)

Three microbial consortia were screened for their ability to degrade phenolic resin, resole as a sole carbon source. These microbial consortia were derived from soil samples collected from a phenolic resin manufacturing plant site. Among the consortia, the test consortium, designated as MS2, displayed approximately 70% degradation of the substrate, 100 mg of resole per liter, within the first twelve days of incubation but the degradation was inhibited. During the incubation period, pH was decreased from 7.0 to 2.7, and the resole degradation became inhibited under the conditions. UV-spectroscopy was used quantitatively to monitor the residual concentrations of resole in the present work. UV-scans of spent culture showed that the wavelength of maximum absorption was 261 nm for resole.

Key Words : biodegradation, phenolic resin, resole

서 론

페놀수지는 페놀과 포름알데히드의 축중합반응에 의해 생산되며 견고성과 미관을 증진시키기 위하여 여러가지 물질을 첨가하여 건축내장재로 사용되는 인공적으로 합성한 화학물질이다 (1, 2). 페놀수지는 1872년에 합성수지로서 소개되었으며 오랜 역사에도 불구하고 산업적 중요성 때문에 계속 개발이 진행되고 있다. 페놀수지는 노란색 또는 갈색을 띠며 254 nm에서 280 nm 범위에서 특징적인 자외선 흡광치를 나타낸다. 페놀수지의 제조공정의 차이에 따라서 다양한 특성의 화합물이 만들어지는데, 그 가운데 염기 촉매 반응에 의한 resole과 산 촉매 반응에 의한 novolac은 대표적인 화합물로서 알려져 있다 (3, 4). 이들의 제조공정에서 사용되는 주원료인 페놀이나 포름알데히드를 포함하는 폐수는 세균을 포함하는 여러 종류의 미생물들에 의하여 분해될 수 있지만, 산물로서의 resole이나 novolac이 환경생태계에 노출되었을 때, 토양이나 수계를 오염시킬 수 있는데 이에 대한 미생물학적인 제거에 관한 연구는 거의 보고된 바가 없다 (5).

본 연구에서는 페놀수지 가운데 대상물질(target material)로서 resole을 선정하고 이를 분해하는 미생물 컨소시엄을 확보하여 이를 통한 resole의 분해를 조사하였다.

재료 및 방법

미생물 컨소시엄의 농화배양 및 성장조건

건축내장재의 제조에 있어서 원료로 사용되는 resole에 대한 미생물학적 분해를 위하여 충남 서천에 위치하는 페놀수지를 생산하는 공장주변의 3개 지점으로 부터 토양 표본을 채취하였다. 채취된 토양표본으로부터 농화배양 기법에 의하여 탄소원 및 에너지원으로 resole를 이용하는 미생물 컨소시엄(MS1, MS2, MS3)이 확보되었다. 생장에 이용된 배지는 증류수 1 리터당, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 mg, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mg, MnCl_2 0.1 mg, ZnSO_4 0.01 mg을 포함하는 무기배지(mineral salt medium)에 생장소로서 아스코르브산 10 mg을 넣고 탄소원으로 resole 100 mg을 첨가한 후, 1N NaOH로 pH를 7.0으로 조절하여 고압멸균(121 °C, 15분)하여 사용하였다 (6). 새로운 농화배양된 미생물 컨소시엄의 집종량은 10%였으며 회전 배양기에서 진탕배양(28 °C, 150 rpm)하였다. 분리된 미생물 컨소시엄은 유일 탄소원 및 에너지원으로 resole을 이용하여 생장하였으며, 이는 membrane filter(Gelman Science; size 0.45 μm , 47 mm)를 이용하여 건조중량 측정법으로 확인되었다. Resole의 화학적 구조

† Corresponding Author : Department of Life Science, College of Natural Science, Soonchunhyang University, P.O.Box 97, Asan, Chungnam, 336-600, Korea
Tel: 0418-530-1353, Fax : 0418-530-1350
e-mail: kyeheon@asan.sch.ac.kr

와 일반적인 특성이 Figure 1과 Table 1에 각각 나타나 있다 (2).

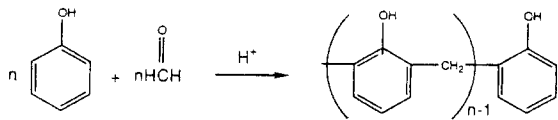


Figure 1. Chemical structure of resole.

Table 1. Properties of resole.

Properties	Values
Concentration	3ppm
Formaldehyde-phenol molar ratio	2
Water solubility	100%
Phenol	6%
Mn	280
Mw	500
Tg	35°C
Gel time	65sec

Resole의 분석방법

미생물 컨소시엄에 의한 resole의 분해능은 자외선 분광기 (UV/vis-spectrophotometer) (V-500, Jasco Co., Japan)를 사용하였다. 분석을 위한 기초 실험으로서 resole의 농도에 따른 표준 곡선을 작성하였는데, 분석용 resole을 각각 200 mg, 100 mg, 50 mg, 25 mg, 10 mg을 증류수 1,000 mL에 녹이고, 이 샘플들을 자외선 분광기를 이용하여 resole의 최대흡광도를 나타내는 파장 261 nm에서 흡광도를 토대로 하여 작성하였다 (Table 2). 작성된 표준곡선을 이용하여 농화배양된 3개의 미생물 컨소시엄으로부터 resole의 분해능이 가장 탁월한 미생물 컨소시엄을 획득하였다. 배양액에 포함된 resole의 분해를 측정하기 위하여 배양액의 시료 1.5 mL를 취하여 증류수와 일정 비율로 희석하고 자외선 분광기를 이용하여 파장 범위 310-230 nm 사이에서 흡광도의 변화를 기록하여 resole의 분해능을 측정하였으며, 분해기간 중의 미생물 컨소시엄의 성장 및 그에 따른 배지내의 pH변화를 측정하였다.

Table 2. The maximum absorption (A_{261}) of resole at different concentrations measured by UV/vis-spectrophotometer.

Concentration of resole (mg/L)	A_{261}
200	3.140
100	1.555
50	1.019
25	0.545
10	0.270

결과 및 고찰

Resole 분해 미생물 컨소시엄의 획득

충남 서천 소재 (주)대륙의 페놀수지의 생산 공장 주변의 3개 지점으로 부터 본 연구의 대상 물질인 resole의 생분해를 위하여 토양표본을 채취하였다. 미생물 컨소시엄의 농화배양 조건을

알아보기 위하여 채취한 토양 표본의 pH를 측정한 결과 3개 표본이 모두 6.86-6.93의 범위에 있어 본 연구를 위한 농화배양은 중성이거나 약산성 상태에서 진행되었다. Resole의 액체상태에서의 성상을 알아보기 위하여 농도에 따른 pH를 조사해본 결과 100, 200, 300 mg/L에서 각각 2.64, 2.35, 2.19로 강산성을 나타내었다. 이들 결과를 토대로 하여 본 실험은 resole을 포함하는 배지를 1N NaOH로 pH 7.0으로 조정 한 후 실시하였다.

Resole의 분석

배양액내의 잔존 resole의 농도를 측정하기 위하여 UV/vis-spectrophotometer를 사용하였으며, resole 표본의 농도가 각각 200, 100, 50, 25, 10 mg/L에 대하여 310-230 nm의 범위를 scanning한 결과, 261 nm에서 최대 흡광치를 나타내었다. (Figure 2). 각각의 농도에 따른 파장 261 nm에서 최대 흡광치 (A_{261})를 측정 한 결과가 Table 2에 나타나 있으며 본 실험에서 실시한 resole 농도범위에서 regression coefficient (r)는 0.9977로서 resole의 정량에 사용될 수 있었다.

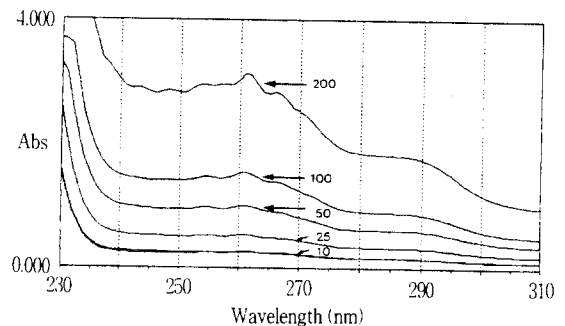


Figure 2. UV spectral scans of a standard solution containing different concentrations of resole. The concentration of resole (mg/L) is indicated.

배양의 성장 및 resole의 분해

UV/vis-spectrophotometer에 의한 resole 정량분석 방법의 확립으로 농화배양된 3가지의 미생물 컨소시엄에 대하여 310-230 nm의 범위에서 scanning을 실시하였다 (Figure 3). 이들 가운데 resole의 분해능이 가장 우수한 MS2를 이용하여 성장 및 분해를 관찰하였다. 사용된 배지내의 resole의 초기농도는 100 mg/L였으며 이로부터 12일간의 배양기간동안 약 70%가 분해되었다. 이와 동시에 초기 pH 7.0은 2.7까지 크게 떨어졌다. 이는 resole의 생산과정에서 촉매로서 부가된 페놀술폰산(phenol sulfonic acid)이 페놀수지로서 resole에 포함되어있으며 생분해를 위한 세균의 배양기간중에 배양액내로 서서히 용출되어 pH가 감소되는 것으로 판단되며, 이같이 낮은 pH는 초기 토양의 pH와 비교하여 볼 때, 분해에 관여하는 미생물이 대부분 생존할 수 없으므로 분해는 중지하게 되는 것으로 사료된다. 대상 화합물로서 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid, 2-(2-methyl-4-chlorophenoxy)propionic acid 등과 같은 염소계 방향족 탄화수소에서 결사슬에 있는 염소가 미생물의 공격으로 염산을 생산하여 낮은 pH가 형성되며 이로 인하여 상기의 화합물이 더이상의 분해가 이루어지지 않음이 보고된 바 있다 (7, 8). MS2의 생장은 건조중량의 측정값을 이용하였는데 이는 배양액내의 resole의 양이 감소됨에 따라 역비례하여 증가하

였다 (Figure 4). 이는 미생물 컨소시엄 MS2가 resole을 탄소원 및 에너지원으로 이용하여 증식함을 알 수 있었다.

페놀수지의 산업적인 생산과정에서 원물질 (raw material)은 여러 가지 경로를 통하여 토양 및 수계의 환경을 오염시킬 수 있으며 이러한 문제는 본 실험에서 밝혀진 바와 같이 미생물학적인 접근에 의하여 해결할 수 있다. 본 연구에서는 대상물질 (target material)로서 resole이 완전한 분해가 이루어지지 않는 않지만 미생물학적인 분해의 가능성을 제공하였으며, 얻어진 결과를 바탕으로 다양한 종류의 반응조를 설계하고 scale-up하여

bioreactor나 pilot에 의한 대량처리 방법을 도입하면 이차 공해 문제를 유발하지 않으면서 효과적으로 페놀 수지를 포함하는 난분해성 물질로 부터 유래하는 오염문제를 해결할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

페놀수지인 resole을 유일 탄소원으로 분해할 수 있는 능력을 가진 3개의 미생물 컨소시엄이 분리되었다. 이들 미생물 컨소시엄은 페놀수지 resole 제조공장 주변의 토양샘플로 부터 유래하였다. 이들 컨소시엄 가운데 MS2로 명명된 미생물 컨소시엄은 배양 12일 이내에 초기에 배지내에 주어진 resole (100 mg/L)의 70%까지 분해되었으나, 완전분해는 이루어지지 않았다. 배양 기간동안 pH가 7.0에서 2.7로 감소되었으며 이러한 조건하에서 resole 분해는 억제되었다. UV/vis-spectrophotometer가 잔존 resole의 정량적 측정을 위하여 이용되었으며, 배양기간중에 채취된 시료에서 resole의 농도는 UV-scans으로 261 nm에서 최대 흡광치를 토대로 측정되었다.

감 사

본 연구는 1995년 한국 과학재단 이공계 산업현장 근무 프로그램의 지원에 의하여 수행되었음. 페놀수지와 토양 표본을 제공해준 (주)대륙에 감사드린다.

참 고 문 헌

- Hultsch, K. (1950), *Chemie der Phenolharze*, Vol. 1, p. 175, Springer Verlag, Berlin.
- Leibler, L. (1987), *Encyclopedia of Chemistry Technology*, Vol. 11, p. 45, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Knop, A. and L. Pilato (1985), *Phenolic Resins*, p. 371, Springer Verlag, Berlin.
- Barth, B. (1977), *Phenolic Resins Adhesives*, Handbook of Adhesive (E. Skeist ed.), Chapter 23, p. 382, Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Ehrhardt, H. M. and H. J. Rehm (1985), Phenol Degradation by Microorganisms Adsorbed on Activated Carbon. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21, 32-36.
- Oh, K. H. and O. H. Tuovinen (1991), Detection and Identification of Substituted Phenols as Intermediates of Concurrent Bacterial Degradation of the Phenoxy Herbicides MCPP and 2,4-D. *FEMS Microbiol. Lett.* 79, 141-146.
- Oh, K. H. and O. H. Tuovinen (1994), Microbiological Treatment of Fertilizer Solid Waste Material Containing Phenoxyalkanoic Herbicides 2,4-D and MCPP. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 61, 299-305.
- Oh, K. H., S. K. Ahn, K. H. Yoon, and Y. S. Kim (1995), Biodegradation of the Phenoxy Herbicide MCPA by Microbial Consortia Isolated from a Rice Field. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 539-545.

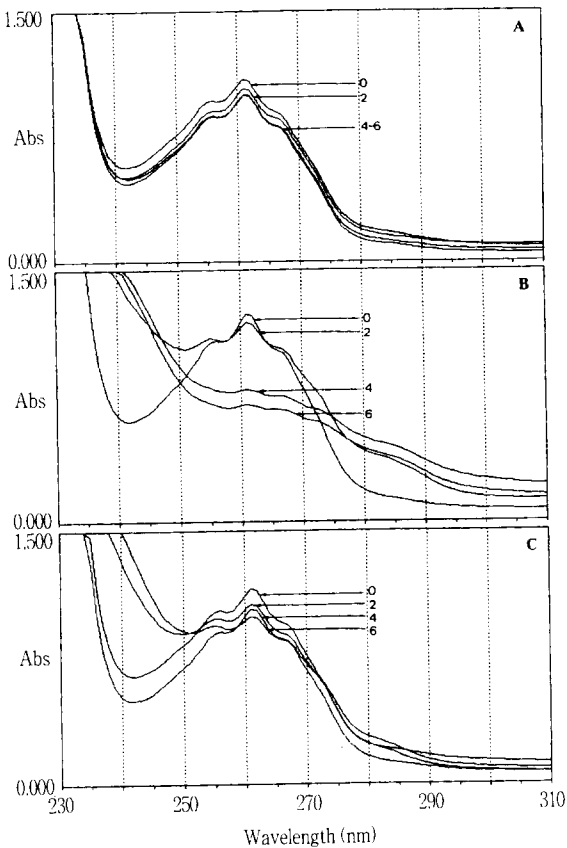


Figure 3. UV spectral scans of supernatants of different cultural samples; MS1(A), MS2(B), MS3(C), respectively. The test cultures contain resole at the concentration of 100 mg/L. The length of incubation preceding the scans is indicated in days.

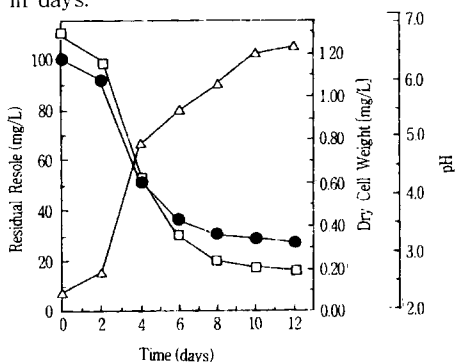


Figure 4. Degradation of resole(●) by MS2 and the associated changes in dry cell weight (△) and pH(□).