

## 양돈 폐수에서 광합성 미생물의 특성

최경민 · 양재경\*

(주) 일류기술 기업부설연구소 · 청양대학 환경공학과\*

## Characterization of Photosynthetic Bacteria in Swine Wastewater

Kyung Min Choi · Jae Kyung Yang\*

*Affiliated research center, Global Tech. Co. Inc. Taejon, Korea*

*Department of Environmental Engineering, Cheongyang Provincial College, Cheongyang, Korea\**

### Abstract

Photosynthetic bacteria (PSB), strains IP-4 and IP-6-7 were isolated from nature, and were studied for swine wastewater treatment. It was confirmed that these PSB were very effective for the COD treatment. Growth of those PSB were increased to 4.5 fold in organic-acids (acetate, propionate and butyrate) added medium than cultivation in Lascelles basal medium, and the amount of bacteriochlorophyll a were increased to 5 folds. The COD removal rate in swine wastewater using PSB, strains IP-4 and IP6-7 were obtained 91% and 85%, respectively.

Key words : Photosynthetic bacteria, Swine wastewater, Bacteriochlorophyll a.

### I. 서론

우리나라의 경우, 양돈 농가는 대부분 소규모로서 매우 조절하기 어려운 폐수 및 폐기물의 발생원으로 존재하고 있기 때문에 수자원 오염 및 악취 발생으로 주민의 보건을 위협할 뿐만 아니라 지역 이기심을 조장하는 사회적 문제로 대두되고 있는 실정이다.

미생물을 이용한 유기성 폐수의 처리 방법 중 가장 널리 이용되고 있는 활성 슬러지(activated sludge)법은 유기물의 제거율이 높아 양질의 처리수를 얻을 수 있고 악취를 완화시킬 수 있으며 처

리 대상 폐수가 광범위한 장점이 있으나 유지 관리가 어렵고 처리 비용이 많이 소요되며 잉여 슬러지의 발생량이 많은 점등이 단점으로 지적되고 있다<sup>1)</sup>.

자연계에 존재하는 광합성 미생물(Photo-synthetic Bacteria)은 생리, 생태학적 특성에 의하여 4개의 과로 분류된다. 이 중 Rhodospirillace과는 관용명으로 홍색 비 유황 미생물(Purple nonsulfur bacteria)으로 불리우고 연못, 논, 토양 등에 널리 존재하며, 자연계에서 역할은 유기물의 분해 즉 자연정화에 기여하는 것으로 알려져 있다. 이 홍색 비 유황 미생물을 이용한 양돈폐수처리에 관한 연

구가 보고되고 있다<sup>2)</sup>. 광합성 미생물은 다른 미생물과는 달리 증식특성이 매우 다양하여 호기압, 혐기명, 혹은 미호기의 조건에서 다양한 유기물을 이용하여 증식이 가능하기 때문에 폐수에 함유된 유기물을 효율적으로 정화시킬 수 있다<sup>3)</sup>. 지금까지 보고된 광합성 미생물을 이용한 폐수 처리 방법은 폐수에 함유되어 있는 유기물을 저분자 유기산으로 가용화 시킨 후에 광합성 미생물을 우점종으로 유지시켜 폐수 처리하는 방법이다. 홍색 비유황 미생물은 아미노산, 당류 특히 저급 지방산 가운데 초산, 프로피온산 등을 잘 이용하여 증식한다<sup>4)</sup>. 자연계의 개방 상태에서 광합성 미생물을 우점종으로 장기간 그리고 인위적으로 유지하여 폐수처리한다는 것은 매우 어려운 일이나, 일조량이 풍부한 여름에는 단기간에 걸쳐 자연적으로 일정한 조건에서 일부의 폐수처리장의 폭기조에 발생하는 경우가 보고되고 있다<sup>2)</sup>. 한편, 광합성 미생물을 이용하여 BOD 10,000 mg/l 이상의 고농도 유기성 폐수를 희석하지 않고 단 시간내에 처리함으로써 활성오니법에 비해 처리 장치가 소형화 될 수 있고, 부지 건설비, 운전 경비등이 크게 절감되었다고 보고하였으며<sup>5)</sup>, BOD 부하량의 변동에 따른 영향이 적고 이용되는 미생물군의 생리적 특성이 비교적 단순하므로 운전관리가 용이하며, 사상균의 번식에 의한 팽화 현상이 일어나지 않고 부영양화의 주요인자인 질소의 제거율이 높으며 악취의 발생이 억제되고 발생하는 슬러지를 균체 단백질로 자원화할 수 있는 등의 장점이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>6-8)</sup>.

본 연구에서는 광합성 미생물을 이용하여 양돈 폐수 처리 공정의 확립을 위한 기초 연구의 일환으로 토양에서 분리한 광합성 미생물 균주를 양돈 폐수에 주입하여 생육 및 COD 제거율 특성을 조사하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 미생물의 분리원 및 사용 배지

양돈 폐수 처리에 이용되는 광합성 미생물은 Rhodospirillaceae (purple nonsulfur bacteria)과에

속하는 통성 혐기성 미생물로 균주의 분리를 위한 시료는 부영양화된 하천, 호수, 논, 도랑, 습한 토양으로부터 채취하였다. 채취한 토양 1g에 생리식염수 2ml를 첨가하여 고루 섞은 후 정치하여 상등액을 미생물 분리 시료로 사용하였다. Lascelles<sup>9)</sup>의 기본 배지(Na-L-glutamate 0.5 g, D, L-malic acid 2.7 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 27 mg, nicotinic acid 1 mg, vitamin B-1 · HCl 1 mg, MnSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 1.2 mg, biotin 0.01 mg in 1 l d-H<sub>2</sub>O, pH 6.8) 20 ml를 50 ml의 vial에 주입한 후 상등액 1 ml를 첨가하고 배양기의 head space를 질소 가스로 치환하여 30 °C, 조도 4,000 lux의 명 조건에서 3회 집적 배양한 다음 Lascelles<sup>9)</sup>의 기본 평판 배지에 접종, 동일 배양 조건에서 3일간 배양하여 colony를 분리하였다.

### 2. 배양 조건 및 lab-scale 반응계

30 °C, 4,000 lux 명 조건에서 3일간 혐기 배양한 전 배양액 1 ml를 sodium acetate 1 g, sodium propionate 1 g, sodium butyrate 1 g를 첨가한 Lascelles<sup>9)</sup>의 기본 배지 70 ml(100 ml vial)에 접종하여 동일한 조건에서 정치 배양하였다. 혐기명 조건에서 배양시 광원은 60W 텡스텐 백열전구를 사용하였으며 조도의 조절은 illuminometer SPI-5를 사용하였다. 균체의 증식 속도는 660 nm(spectrophotometer, Beckman DU-6<sup>10)</sup>에서 배양액의 흡광도를 측정하여 나타내었다.

Lab-scale 반응계는 시험 폐수를 멸균한 증류수로 희석하여 COD를 3,000 ppm으로 조정한 후 100 ml 배양병에 70 ml 분주하고 전 배양한 광합성 미생물을 10%(v/v) 접종하였다. 30 °C, 혐기적 광조건에서 70시간 배양하면서 COD, pH, bacteriochlorophyll a의 변화를 측정하였다.

### 3. Bacteriochlorophyll a의 측정

Bacteriochlorophyll a의 측정은 Choi<sup>10)</sup>의 방법을 이용하였다. 광합성 미생물의 배양 균체를 acetone 과 methanol을 7:2로 혼합한 용매로 균체

Table 1. Characteristics of swine wastewater

Factors	Concentration (mg/l)
pH	7.8
Total solid(TS)	8,120
Volatile solid(VS)	5,800
Suspended solid(SS)	6,940
COD <sub>Cr</sub>	13,600
BOD <sub>5</sub>	18,000
Total organic acid	157.9
Acetic acid	74.0
Propionic acid	18.9
Butyric acid	13.1
Lactic acid	4.9
Total nitrogen	760.0
Ammonia nitrogen	450.0
Total phosphate	210.0
Total sulfate	455.1

색소를 추출한 후 bacteriochlorophyll a의 최대 흡수 파장인 770 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4. 대상 폐수 및 폐수 분석

대상 폐수는 논산군의 돈사에서 배출되는 폐수를 채취하여 사용하였으며, 4℃에 냉장 보관하였다. 폐수의 일반 성분은 수질 오염 공정 시험법<sup>11)</sup>과 Standard Methods<sup>12)</sup>에 따라 분석하였다. 폐수의 성상은 Table 1에 나타내었다. 양돈 폐수와 광합성 미생물의 첨가 반응계에서의 COD<sub>Cr</sub> 측정은 반응계 중의 균체를 제거하기 위하여 6,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상등액을 취하여 Standard Methods<sup>12)</sup>에 따라 측정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 균의 분리 및 선정

Lascelles<sup>9)</sup>의 기본배지를 이용한 방법에 따라 1차로 300여종의 균을 선별한 후, 폐수 처리 효율 및 적응성이 우수한 균주를 선별하기 위해 유기산이 포함된 Lascelles 배지에서 2차 배양하여 생육 활성이 좋은 5종의 균을 2차 선별하였다. 이들을

대상으로 배양 온도 30℃, 혐기적 광조건(4,000 lux)에서 70시간 액체 배양하여 균체량, 생육도가 가장 우수한 균주 2종을 최종 분리하였으며 각각을 IP-4와 IP-6-7로 명명하였다.

#### 2. 유기산에 의한 광합성 미생물의 생육 효과

최종 선별된 2종의 광합성 미생물 IP-4, IP-6-7을 sodium acetate, sodium propionate, sodium butyrate가 각각 1g 포함된 배지에 10%(V/V) 접종하여 광합성 미생물의 성장과 광합성 미생물의 특징인 bacteriochlorophyll a 함량의 변화를 관찰하였다. Fig. 1 (A,B)은 광합성 미생물 성장에 대한 유기산의 첨가가 미치는 영향을 조사한 것이다. 두 조건 즉, 유기산을 첨가한 조건과 첨가하지 않은 조건이 70시간의 배양기간 동안 전형적인 미생물 성장곡선을 나타내었다. 또한 균체농도를 O.D 대비 균체중량의 표준곡선에 의해 환산 정량한 결과, 배양 40시간 후에는 유기산을 첨가하지 않은 조건에서의 세포농도가 평균 590 mg/l를 나타낸 반면 유기산을 첨가한 조건에서는 2,577 mg/l를 나타내었다. 이는 광합성 미생물이 성장환경에서 유기산이 함유될 경우 4.3배정도 빠르게 증가할 수 있다는 것을 의미한다. 본 실험을 통하여 2종의 광합성 미생물 중 IP-4의 경우, 유기산이 첨가된 배지에서 성장 속도가 IP-6-7 보다 빠른 것으로 나타났으며, 따라서 균주 IP-4의 유기산 분해능이 IP-6-7 균주 보다 좋다고 사료된다.

한편, 광합성 미생물의 생육에 따른 bacteriochlorophyll a의 생성량을 Table 2에 나타내었다.

Table 2에서 보는 바와 같이 배양 10 시간, 40 시간째의 bacteriochlorophyll a의 양을 측정할 결

Table 2. Absorption of bacteriochlorophyll a from photosynthetic bacteria

PSB	Not added (O.D. at 770 nm)		Organic acid added (O.D. at 770 nm)	
	10 h	40 h	10 h	40 h
IP-4	0.114	0.262	0.258	1.648
IP-6-7	0.195	0.310	0.219	1.312

과 유기산을 첨가하지 않은 배지에서 광합성 미생물 bacteriochlorophyll a의 양의 증가는 약 1.5배정도 관찰되었으나, 유기산이 첨가된 배지 경우는 광합성 미생물에 의한 bacteriochlorophyll a 량이 약 5배정도 증가함을 알 수 있었다. Fig.1과 Table 2의 결과는 유기산이 존재할 경우, 광합성 미생물의 생육과 bacteriochlorophyll a 함량이 비례적으로 증가함을 알 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 양돈 폐수 내에서의 광합성 미생물의 변화에 따른 생육은 반응계 중의 bacteriochlorophyll a의 함량을 측정함으로써 양돈 폐수내에 존재하는 광합성 미생물 변화량을 관찰할 수 있을 것으로 사료된다.

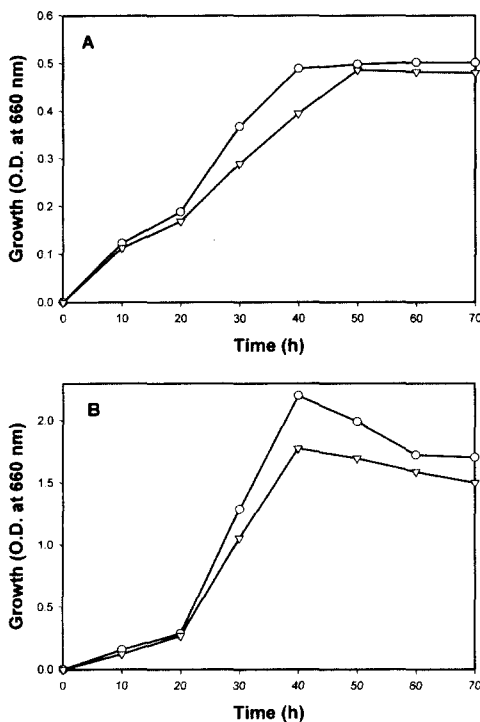


Fig. 1. Effects of organic acids on cell growth of photosynthetic bacteria. Cultivation was carried out in lascelles basal medium containing sodium acetate 1 g, sodium propionate 1 g and sodium butyrate 1 g. A) No added organic acids: B) added organic acids  
 Symbols used ; ○, Strain IP-4 : ▽, Strain IP-6-7.

### 3. 양돈 폐수 반응계의 광합성 미생물의 영향

양돈 폐수 시료에 최종 분리된 2종의 광합성 미생물 IP-4, IP-6-7을 각각 10%(V/V) 첨가하여 반응시키면서 양돈폐수내의 pH변화, bacteriochlorophyll a의 함량 및 COD 농도를 조사하였다. 광합성 미생물에 의한 양돈 폐수 반응계내의 pH 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 광합성 미생물을 첨가하지 않은 반응조에서의 pH 변화는 반응 40시간까지 pH7.8에서 pH8.5까지 증가하다가 다시 감소하는 것을 관찰하였다. 그러나, 광합성 미생물의 첨가된 양돈 폐수의 반응조에서의 pH의 변화는 2종 모두 8.0에서 8.2사이를 유지하였다. 따라서, 광합성 미생물을 이용한 생물학적 폐수 처리시 광합성 미생물의 생육에 필요한 pH는 안정되게 유지되는 것으로 관찰되었다.

Fig. 3은 양돈 폐수 반응계에서의 광합성 미생물의 생육과 관련된 변화량을 조사할 수 있는 bacteriochlorophyll a 량을 살펴보았다. 광합성 미생물의 미첨가 반응계에서는 bacteriochlorophyll a 량이 거의 증가하지 않았으나, IP-4와 IP-6-7의 광합성 미생물을 첨가한 반응계에서는 bacteriochlorophyll a 량이 40시간까지는 증가하다가 이후에는 감소하는 것을 관찰하였다. 이러한 현상은 미생물의 성장 곡선과 같은 현상을 보여주는데 양

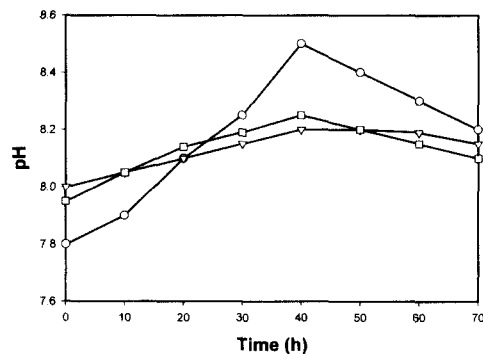


Fig. 2. Changes of pH in swine wastewater by photosynthetic bacteria.  
 Symbols used ; ○, Control : ▽, Strain IP-4 : □, Strain IP-6-7.

돈 폐수내의 영양분의 고갈에 따른 영향으로 판단된다. 한편, Table 2에서 보는 바와 같이 bacteriochlorophyll a 량이 Lascelle<sup>9)</sup> 기본배지에 유기산을 첨가한 배지 보다, 양돈 폐수내에서의 bacteriochlorophyll a 량의 측정 결과가 낮은 결과를 보였는데, 이러한 결과는 폐수 안에 존재하는 여러 가지 물질 중에서 bacteriochlorophyll a 생성을 저해하는 물질이 존재하는 것으로 생각되어진다. Bacteriochlorophyll a 생성은 전보<sup>13)</sup>에서 보는 바와 같이 C4, C5 경로를 이용하여 5-amino-levulinic acid를 합성한 후, 이 물질을 전구물질로 하여 bacteriochlorophyll a, porphyrin, vitamin B12 및 heme 등을 합성하는데, 양돈 폐수내에 5-aminolevulinic acid dehydratase를 저해하는 levulinic acid와 같은 물질들이 양돈 폐수내에 존재하는 것으로 생각되어지며, 이후에 광합성 미생물을 이용한 양돈 폐수 처리시 저해물질의 존재와 5-aminolevulinic acid 양의 변화에 관련된 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

한편, 광합성 미생물에 의한 COD 농도의 변화는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 것과 같이 광합성 미생물을 미 첨가한 양돈 폐수 반응계에서는 시간이 증가하면서 41%정도 COD의 감소가 보이는데, 광합성 미생물을 첨가한 반응계에서

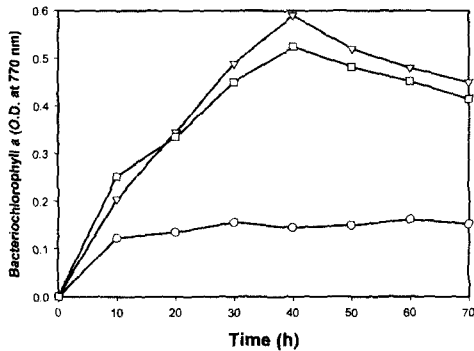


Fig. 3. Changes of bacteriochlorophyll a content in swine wastewater by photosynthetic bacteria.

Symbols used ; ○, Control ; ▽, Strain IP-4 ; □, Strain IP-6-7.

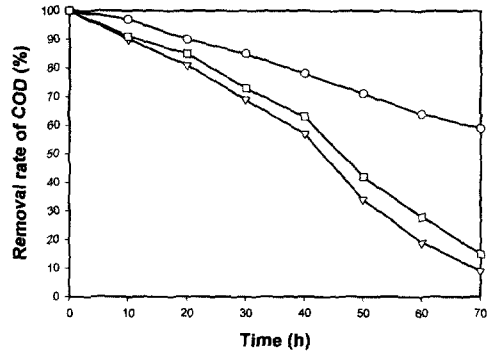


Fig. 4. Removal of COD in swine wastewater by photosynthetic bacteria.

Symbols used ; ○, Control ; ▽, Strain IP-4 ; □, Strain IP-6-7.

는 IP-4 균주의 첨가는 91%, IP-6-7 균주의 첨가는 85%의 COD 감량을 보였다. 이 결과와 Fig. 3의 결과와 비교하여 볼 때, bacteriochlorophyll a의 생성 속도가 최대가 되는 40 시간 이후에 COD의 분해 속도도 최대를 나타내었다. 이상의 결과로, 광합성 미생물이 양돈 폐수 내에서의 변화량을 bacteriochlorophyll a의 량의 변화로 확인이 가능하였으며, 광합성 미생물에 의해 COD의 감소를 관찰하였다.

#### IV. 결 론

광합성 미생물에 의한 양돈 폐수 처리를 위한 기초 실험으로 유기산 배지에서 생육이 뛰어난 광합성 미생물을 자연계로부터 분리하여 생육 조건을 검토하고 양돈 폐수를 대상으로 lab-scale에서 pH, COD 및 bacteriochlorophyll a의 변화량의 특성을 검토하였다.

유기산 배지에서 생육이 뛰어난 2종의 광합성 미생물 IP-4와 IP-6-7을 최종적으로 선별하였으며, 이들을 유기산이 첨가된 배지에서 배양할 경우, 4.5배의 균체 증가율을 보였으며, bacteriochlorophyll a의 함량도 5배 증가하였다.

IP-4와 IP-6-7 광합성 미생물 2종을 양돈 폐수내에 접종하여 양돈 폐수 내의 광합성 미생물의 변화와 COD 감소율을 측정된 결과, 대조구의

COD 감소율이 41%인데 반해, 광합성 미생물의 첨가시 IP-4은 91%, IP-6-7은 85%의 COD 감소를 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Madigan, M. T., John, C. C. and Howard. G : Photopigments in *Rhodospseudomonas capsulata* cells grown anaerobically in darkness, *J. Bacteriol.* 150, 1422-1429, 1982.
2. Choi, K. M., Yang, J. K., Park, E. R., Bang, K. S. and Lee, S. T : Isolation of *Rhodospirillum rubrum* N-1 and Its Characteristics for treatment of swine wastewater. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25(6), 322-327, 1997.
3. Schlegel, H. G., Barnea, J. and Eriich Goltze, K. G : *Microbial Energy Conversion*, Gottingen, p443, 1976.
4. Sawada, H., Parr, R. C. and Rogers, P. L: Photosynthetic bacteria in waste treatment : Role of *Rhodospseudomonas capsulata* with agriculture, Industrial effluents, *J. Ferment Technol.*, 55, No. 4, 326-336, 1977.
5. 小林達治 : 化學と生物. p8-6042, 1978
6. Kobayashi, M. and Tchan, Y. T : Treatment of industrial waste solution and production of useful by products using a photosynthetic bacteria method. *Water Res.* 7, 1219-1224, 1973
7. 小林達治 : 食品工業. p 14-19, 1978.
8. Hiraishi, A., Shi, J. L. and Kitamura, H : Effects of organic nutrient strength on the purple nonsulfur bacterial content and metabolic activity of photosynthetic sludge for wastewater treatment, *J. Ferment. Bioeng.*, 68, 269, 1989.
9. Lascelles, J : The biosynthesis of porphyrins and bacteriochlorophyll by cell suspensions of *Rhodospseudomonas spheroides*. *Biochem. J.*, 62. 78-93, 1956.
10. Hwang, S. Y., Choi, K. M., Lim, W. J., Hong, B. S., Cho, H. Y. and Yang, H. C : Isolation of *Rhodocyclus gelatinosus* KUP-74 and its characteristic in  $\delta$ -aminolevulinic acid and production. *J. Korean. Agric. Chem. Soc.* 35(3), 210-217, 1992.
11. 수질오염공정시험법, 동화기술, 1994.
12. Greenberg, A. E. et al : *Standard Method for Examination of Water and Wastewater.* 18th Ed. American Public Health Association Inc., New York. 1992.
13. Choi, K. M. and Yang, J. K : Study of metabolite production conditions by using the resting cells of *Rhodospirillum rubrum* N-1. *Korean J. Sanitation.* 14(3), 107-115, 1999.