

***DC Chemical Co., Ltd***

**Polyvinyl Alcohol as a Biodegradable Polymer and  
Waste Water Treatment  
by PVA-degrading Bacteria**

Jong Soo Kim, Hyun Woo Lee and Dong Kyu Oh  
R&D Center, DC Chemical Co., Ltd. Incheon, Korea

**DCC**

***DC Chemical Co., Ltd***

**발표 내용**

1. PVA의 생분해성
2. PVA 분해균의 배양 및 분해효소의 생화학적 특성
  - . 반복회분 배양과 효소활성
  - . 분해된 PVA의 구조적 특징(GPC, IR)
3. 폐수처리에의 응용

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

**PVA의 주요 용도**

용도별	시용면
섬유용 호제	경사호제 (방직사, 필라멘트사)
종이 가공	지문가공 (수지가공, 마무리 가공)
	표면가공 (판지, 상질시, 가공원지, 특수시 등)
접착제 바인너	안료바인너, 내부칠가용
	일반접착제 (사무용품, 종이가공)
	계습접착제 (우표, 벽지)
	부기물 호제 (페라이트, 세라믹, 도자기, 농약업제)
유회분산안정제	도목전자세용 혼화제 (시멘트, 석고보드)
	특수용도 (의약, 화장품, 도양개량)
	유화제 (조선비닐 유화제 중합용)
Film 성형물	섬성도 부여제, 무기제의 분산
	필름 (수용성)

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

**PVA 생산 공장 폐수 조성**

항 목	폐수의 농도
pH	7.1
Methanol (mg/L)	140
Acetic acid (mg/L)	102
PVA (mg/L)	88

**DCC**

DC Chemical Co., Ltd

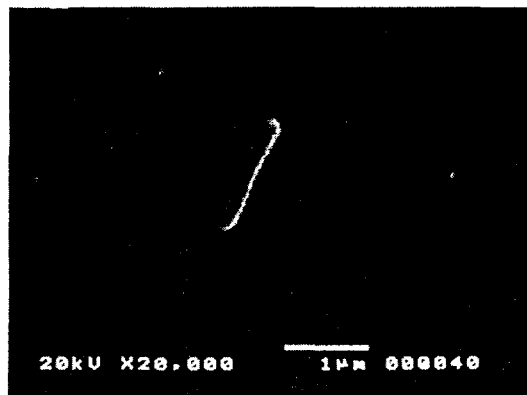
PVA폐수의 처리방법별 비용 비교

처리방법	농도 (mg/l)	처리율 (%)	약품	처리비용 (원/1000L)	처리비중 (원/PVAkg)
<b>생물학적처리</b>					
Microorganisms	700	95	Nutrient	20	27
<b>화학적처리</b>					
Activated carbon	100	95	Activated Carbon	2000	3000
Bentonite	500	90	Bentonite	240	480
Solvent	10000	99	Acetone	96000	9600
Chelate	4500	99	CuSO <sub>4</sub>	1185	235
Potassium permanganate	1000	80	KMnO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	8240	8240
Hydrogen peroxide	1000	50	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	11640	11640
Hypochlorous acid	1000	80	NaOCl	8240	8240
<b>고린식처리</b>					
Foam separation	500	80			
Ultra filtration	5000	95			

DCC

DC Chemical Co., Ltd

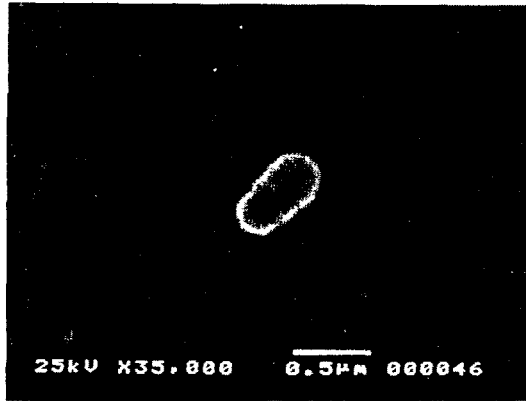
*Pseudomonas sp.*의 SEM 사진



DCC

DC Chemical Co., Ltd

*Acinetobacter calcoacet*의 SEM 사진



DCC

DC Chemical Co., Ltd

GPC chromatograms of PVA degradation in cultures

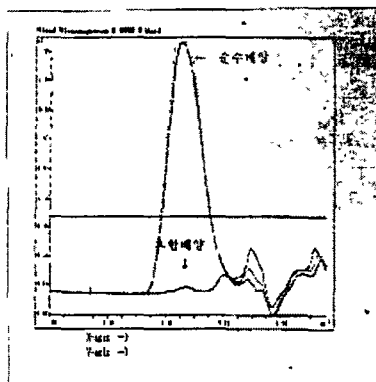


그림 3 순수제형 및 분해제형에서 PVA의 GPC chromatogram 비교

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Effect of temperature on the mixed cultures

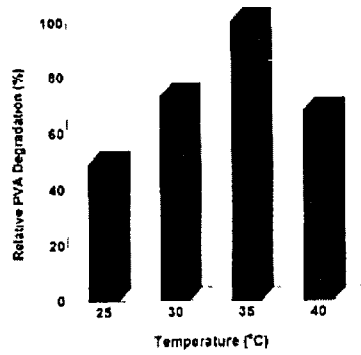


그림 4 PVA 분해율에 대한 온도 영향

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Effect of pH on the mixed cultures

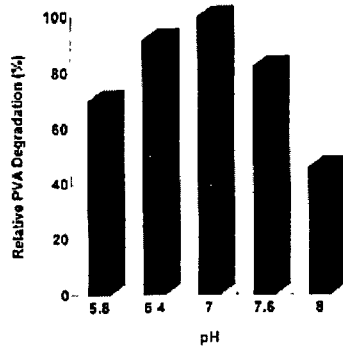


그림 5 PVA 분해율에 대한 pH 영향

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Effect of PVA concentration on the mixed cultures

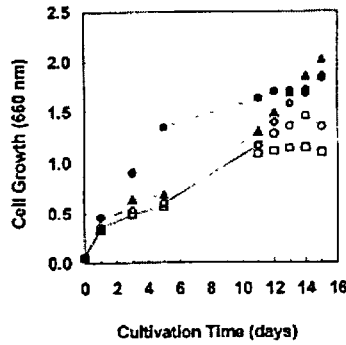


그림 7 혼합배양에서 PVA 농도와 개체증의 상관관계  
 ●, 100 µg/L; ▲, 75 µg/L; ○, 50 µg/L; □, 2.5 µg/L; □, 1 µg/L

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Effect of degree of polymerization on the degradation of PVA by mixed cultures

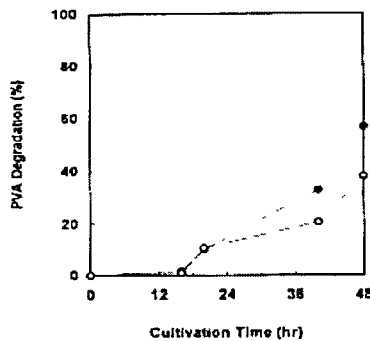


그림 8 분해율에 대한 PVA 중합도 영향.  
 ○, 중합도-1750; ●, 중합도-500

DCC

**DC Chemical Co., Ltd**

**Effect of degree of hydrolysis on the PVA degradation by mixed cultures**

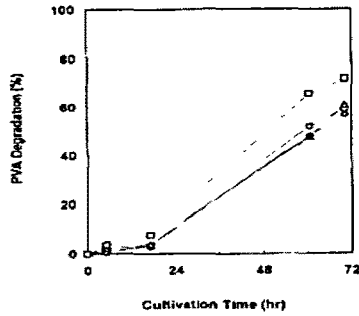
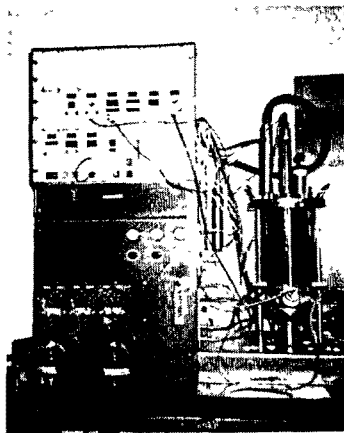


그림 9 분해도에 따른 PVA 분해도 측정.  
 ○, 분해도-82%; —◇, 분해도-87%;  
 —△, 분해도-93%; —□, 분해도-99%

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

**Bioreactor for fermentation of PVA-degrading bacteria**



**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

Monitoring of the PVA degradation according to the dissolving oxygen tension(DOT)

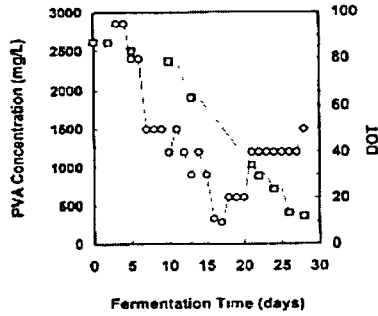


그림 11. PVA 분해와 배양액내의 용존산소 변화  
 -○, 배양액내의 DOT, □, PVA 농도

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

Comparison of the PVA degradation between the surface aeration and sparger system aeration

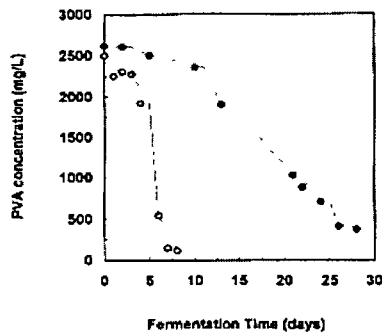


그림 12. 공기분산 방법에 따른 PVA 분해  
 -●, surface aeration; -○, sparger system aeration.

**DCC**



**DC Chemical Co., Ltd**

**Effect of the aeration conditions on cell growth and PVA biodegradation**

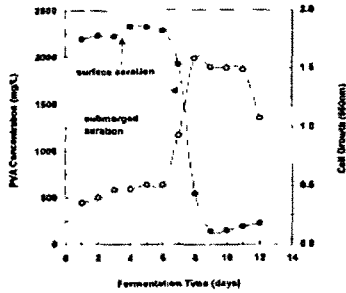


그림 13(a) 최적생장기 PVA 분해에 대한 공기공급 영향  
 -○-, cell growth    -●-, PVA 농도

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

**PVA degradation in optimum conditions**

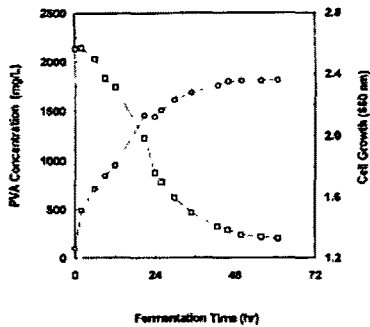


그림 13(b) 최적조건에서 최대생장기 PVA 분해 상관계  
 -□-, PVA,    -○-, cell growth

**DCC**

DC Chemical Co., Ltd

Change of pH during fermentation

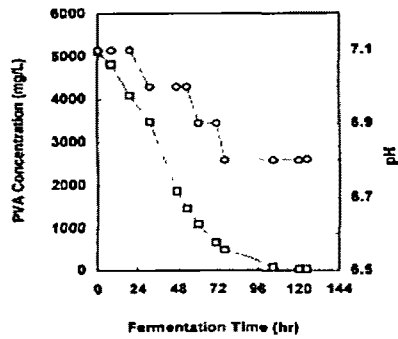


그림 14(b) PVA농도 5 g/l에서의 배양특성.  
□—, PVA. -○-, pH

DCC

DC Chemical Co., Ltd

PVA concentration vs. CODcr

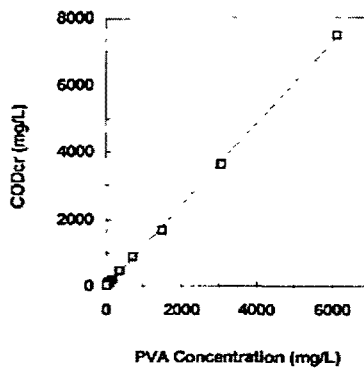


그림 15 PVA와 CODcr 상관관계.

DCC

# DC Chemical Co., Ltd

## PVA and Nutrient degradation rate in mixed cultures

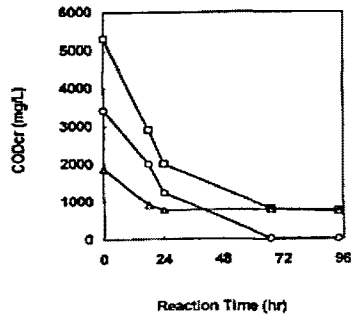


그림 17 PVA와 영양배지의 감소속도 비교  
 -□-, 배양액중의 총 CODcr, ○, PVA가 차지하는 CODcr, -△-, Nutrient가 차지하는 CODcr

**DCC**

# DC Chemical Co., Ltd

## Cyclic fed batch fermentation

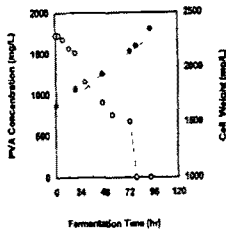


그림 18(1) 반복적 배양에서 1차적 PVA를 소모할 때  
 ○ - PVA - ● - cell weight

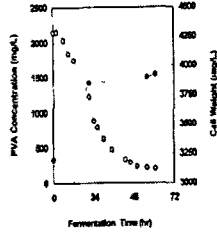


그림 18(2) 반복적 배양에서 2차적 PVA를 소모할 때  
 ○ - PVA - ● - cell weight

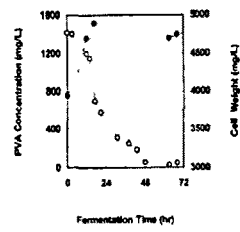


그림 18(3) 반복적 배양에서 3차적 PVA를 소모할 때  
 ○ - PVA - ● - cell weight

**DCC**

DC Chemical Co., Ltd

Localization of PVA degrading enzyme in mixed culture solutions

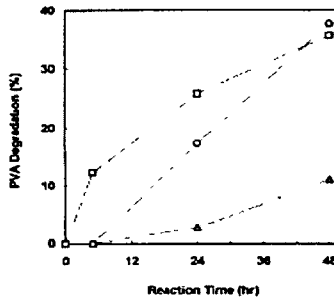


그림 20. 분해효소의 위치확인용 혼합 효소원질 비교  
 □, 세포 용출액; ○(○), 세포 부유액; △(△), 배양 상등액.

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Effect of temperature and pH on the enzyme activity

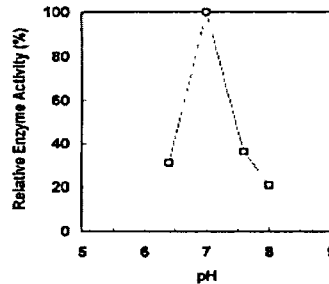
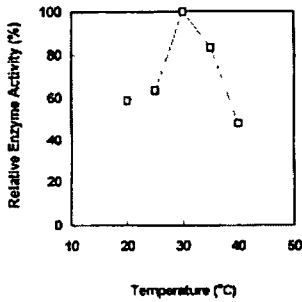


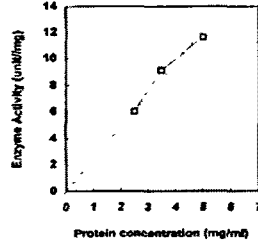
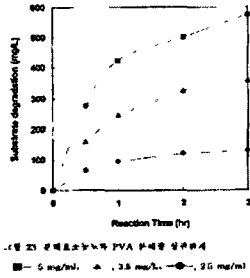
그림 21. PVA 분해효소의 효소활성화 온도 영향

그림 22. PVA 분해효소의 효소활성화 pH 영향

DCC

**DC Chemical Co., Ltd**

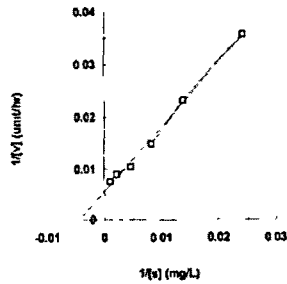
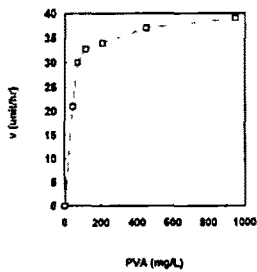
Effect of reaction time and protein concentration on the enzyme activity



**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

Michaelis constant  $K_m$ (220mg/L) and  $V_{max}$ (178 unit/hr)



**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

Variation of the molecular weight distributions of PVA samples in Mixed cultures

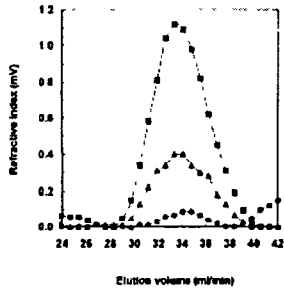


그림 27 PVA의 GPC chromatogram.  
 -■- 500 mg/L. -△- 250 mg/L. -○- 50 mg/L.

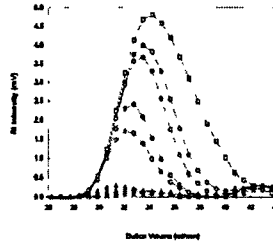


그림 28(a) 25mg/L 농도에 있는 PVA의 GPC chromatogram.  
 □ PVA 25 mg/L. -○- 150 mg/L 농도에 있는 PVA의 GPC chromatogram.  
 -△- 150 mg/L 농도에 있는 PVA의 GPC chromatogram.

**DCC**

**DC Chemical Co., Ltd**

FT-IR analysis of PVA degrading samples in mixed cultures

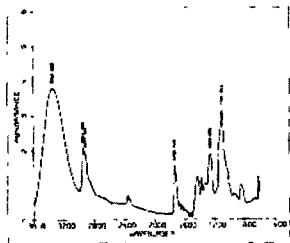


그림 28(a) PVA의 FT-IR 스펙트럼

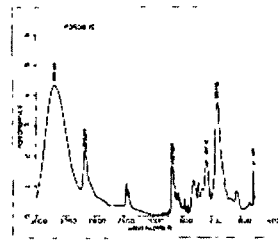


그림 28(b) 분해된 PVA의 FT-IR 스펙트럼

**DCC**

DC Chemical Co., Ltd

Waste water treatments in mixed cultures and immobilized cultures

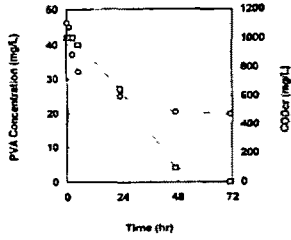


그림 30. 혼합배양액에 의한 (K1) 고정배양 PVA 분해속도 측정  
 □—, PVA    ◊—, CODcr

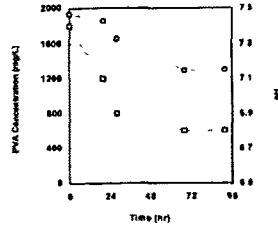


그림 28(a) 고정 (DAIWA Media)에 고정화된 고정배양액 의한 PVA 분해  
 □—, PVA    ◊—, pH

DCC

DC Chemical Co., Ltd

Variation of the molecular weight distributions of PVA samples in the immobilized cultures

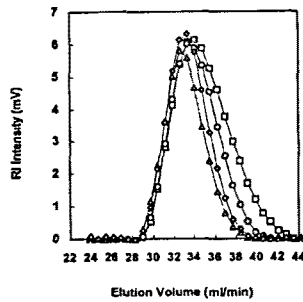


그림 35(b) 고정액에 고정화된 세포에 의한 PVA 분해 GFC chromatogram  
 □—, 0 hr, ◊—, 24 hr, ◊—, 48 hr, —△—, 72 hr

DCC

*DC Chemical Co., Ltd*

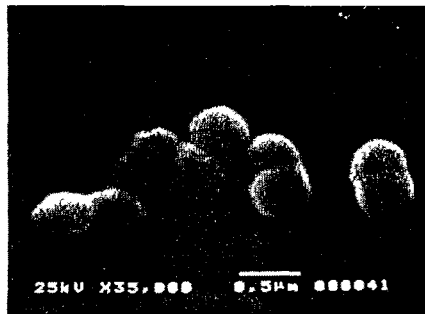
Polyurethane sponge에 부착된 분해균



**DCC**

*DC Chemical Co., Ltd*

Polypropylene 담체에 부착된 PVA 분해균



**DCC**



# DC Chemical Co., Ltd

반응조 내의 담체에 분해균 세포가 고밀도로 부착



# DCC

# DC Chemical Co., Ltd

## 결론

시공여건의 연구 결과로 이해와 인식의 중요성을 알 수 있었다

### I. 존재양상

- 1 부대내 과중금속 농도 증가 *Pseudomonas sp.* & *Acinetobacter calcoacet* 이었다
- 2 *Pseudomonas sp.*의 수가 1.5배 증가의 양에 도달하였고 *Acinetobacter calcoacet* 은 22기가 0.1%의 수도가 2배 있었다 SEM 사진에서 보면 농도가 높고, 전보다 존재량이 많았다 형태학적인 면에서 이미 알려진 균주와 다른 계통을 형태학적으로 구분하였다
- 3 농도 관련성 관계에 의해서 이미 PVA를 분해하였고, 백도의 증가에 따라 이 때는 15일이 지나서도 PVA를 분해하지 못 하였다

### II. 배양

- 1 플라스크 배양액의 pH가 온도의 pH는 1차 8.5와 7.0이었다
- 2 중금속 500, 1000, 2000mg/L PVA의 분해율이 가장 높았다
- 3 PVA의 농도를 2000 mg/L에서 10,000 mg/L까지 변화시켰을 때 10,000 mg/L에서 새로운 균종들이 가장 많이 번성하고 최대 생장은 보이지 않았다
- 4 배양기에서 배양할 때 온도를 20°C에서 30°C로 높이면 분해율이 높을 수 있었다. PVA는 표재적으로 분해가 잘 되었다
- 5 PVA 농도를 2000 mg/L에서 10,000 mg/L까지 변화시켰을 때 2000 mg/L의 PVA를 분해시키는데 10%의 수효를 얻고 5,000 mg/L의 PVA를 분해

# DCC

## DC Chemical Co., Ltd

시각에는 3입자, 수포 없었다

6. 반투명도 (excl. fed back)에 대한 2 단계 배양기내에서 고농도로 측정할 수 있었으며 10000 m.u. 정도까지 확인되었다
7. 배양액내에 고농도로 존재하는 배양액의 증기압이 없었다

### III 효소활성

1. PVA 분해효소의 온도가 40도에서 60도까지 선형적으로 있었다
2. 효소농도 5 mg/ml이 범위에서 효소활성은 직선적인 관계에 있었다
3. 최대의 온도와 pH 7에서 효소활성이 가장 높았다
4. 효소의 1% 용도에 대한 반응속도에서 Km 값은 250 mg/L 이었고 Vmax 값은 178 unit/hr 이었다
5. 효소원인 세포유출액은 51% 분해효도 보다 37 ml/min 시간내에서 용출되었으며 분해속도 보기가 2000 이하임을 측정할 수 있었다 (당 1000 ml 분해액 1000 ml PVA 용액시각은 30 ml/min)
6. PVA 분해효소, PVA 용액의 수 수분용에서부터 추출하는, exsive type 이다

### IV 분해중인 PVA에 대한 연구

1. 배양시간이 경과함에 따라 pH가 7에서 6.9% 낮아져 PVA의 분해분자로 산성 화합물임을 나타내었다
2. 분해중인 PVA는 계층 분석이 1715 cm<sup>-1</sup> 이하가 확인 되었다
3. PVA 분해 후의 잔해 - 배양시간이 경과함에 따라 시그시안 또는 분해 되었으나 잔해 분포 - 분포 등이 있으며 분해 후 분해물은 증가하였다

# DCC

## DC Chemical Co., Ltd

### V 담체에의 고정화 및 배수시료에의 최분식의 연구

1. 고농도로 배양된 관체는 PVA, 색인하는 농장계수인 메탄올과 조산 등의 유기물이 풍부하고 있는 PVA 함유 원액수를 분해 하였다
2. Polyurethane sponge와 polypropylene DAIWA<sup>®</sup> 에 관체가 고정화 되었으며 고정화된 분해액은 최분식 반응에서 1,800 mg/L 농도의 PVA를 24 시간 경과 후 800 mg/L까지 분해시켰다
3. 담체에 고정화된 분해관의 최분식 반응과 연속식 반응으로 재류 시간을 48 시간과 36 시간으로 하였을 때 각각 30%와 55%의 제거율을 나타내었다

# DCC