

광합성 세균을 이용한 돈분 폐수 처리에 관한 연구

최경민, 박응로, 주홍신, 양재경
이기영,* 이성택, 이무춘**

한국과학기술원 생물과학과
*호서대 식품영양학과
**연세대 환경학과

A study of Swine Wastewater Treatment using Photosynthetic Bacteria

Kyung-Min Choi, Eung-Roh Park, Hong-Shin Ju
Jae-Kyung Yang, Ki-Young Lee,* Sung-Taik Lee, Mu-Choon Lee**

Department of Biological Science, Korea Advanced Institute
of Science and Technology, Taejon, Korea

*Department of Food and Nutrition, Hoseo University, Asansi, Chungnam, Korea

**Department of Environmental Science, Yonsei University

ABSTRACT

Photosynthetic bacteria, strains KN 1-1, KN 2-1 and KN 2-3 were isolated from nature, and were studied for swine wastewater treatment. Growth of those photosynthetic bacteria were increased to 2~3 fold in organic-acid added medium (sodium acetate 1g, sodium propionate 1g and sodium butyrate 1g in Lascelles basal medium 1ℓ) than cultivation in Lascelles basal medium, and amount of bacteriochlorophyll a were increased to 1.5~2 fold. Chemical Oxygen Demand (COD) in swine wastewater using photosynthetic bacteria, strains KN 1-1, KN 2-1 and KN 2-3 were reduced 80%, 89% and 75%, respectively.

Key words : Photosynthetic bacteria, Swine wastewater treatment, Chemical Oxygen Demand, Bacteriochlorophyll a

초 록

자연계로부터 3종의 광합성 세균 strain KN 1-1, KN 2-1과 KN 2-3을 분리하여 돈분 폐수 처리에 대한 연구를 수행하였다. 유기산이 첨가된 배지에서 광합성 세균의 생육은 유기산을 첨가하지 않은 경우에 비해 2~3배 증가하였으며, bacteriochlorophyll a 함량도 1.5~2배까지 증가함을 보였다. 또한 축산 농가에서 직접 채취한 돈분 폐수에 광합성 세균을 첨가하였을 때 COD 감소율은 KN 1-1인 경우 80%, KN 2-1 89%, KN 2-3 75%를 나타내었다.

핵심낱말 : 광합성 세균, 돈분 폐수 처리, 생물학적 산소요구량, 박테리오클로로필 a

1. 서 론

중소 규모의 축산 농가로부터 배출되고 있는 축산 폐수 중 돈분 폐수의 발생량은 산업 폐수나 생활 폐수에 비해 미미한 수준이지만 BOD 20,000 ppm 이상의 고농도 유기물을 함유하고 있어 수질 오염의 주원인으로 지적되고 있다. 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 처리 대상 폐수가 광범위한 장점이 있으나 유지 관리가 어렵고 처리 비용이 많이 소요되며 잉여 슬러지의 발생량이 많은 점 등이 단점으로 지적되고 있다(Madigan 등, 1982).

광합성 세균은 영양 요구성이 다른 미생물보다 단순하고 혐기성, 호기성 및 호기성의 어떤 환경 조건에서도 산소의 확산 속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있으며(Schlegel 등, 1976), 편모를 가지고 있어 기질의 섭취 속도가 높은 특성을 가지고 있다(Sawdsa 등, 1977). 따라서 광합성 세균으로 유기 폐수를 처리하는 방법은 고농도 폐수를 무희석으로 빠른 시간 내에 처리할 수 있고, 미생물의 생육 조건 및 영양 요구성이 단순하기 때문에 폐수 처리 시설의 설치비 및 운영비 부담이 적

으며 처리 시스템의 유지 관리가 용이한 것으로 알려져 있다(Rafael 등, 1989). 또한 사상균의 번식에 의한 팽화 현상이 일어나지 않고 부영양화의 주요 인자인 질소의 제거율이 높으며 악취의 발생이 억제되고 발생하는 슬러지를 균체 단백질로 자원화할 수 있는 등의 장점이 있는 것으로 보고되고 있다(Hiraishi 등, 1989).

본 연구에서는 광합성 세균을 이용하여 고농도 유기 폐수 처리 공정의 확립을 위한 기초 연구의 일환으로 토양에서 분리한 균주를 고농도 유기 폐수에 처리하여 생육 및 COD 제거율을 조사하였다.

2 재료 및 방법

2.1 미생물의 분리원 및 사용 배지

폐수 처리에 이용되는 광합성 세균은 *Rhodospirillaceae* (purple nonsulfur bacteria)과에 속하는 통성 혐기성 세균으로 균주의 분리를 위한 시료는 부영양화된 하천, 호수, 논, 도랑, 습한 토양으로부터 채취하였다. 채취한 토양 1g에 생리 식염수 2ml를 첨가하여 고루 섞은 후 정지하여 상등액을 미생물 분리 시료로 사용하였다. Lascelles(1956)의 기본 배지(Na-L-glutamate 0.5 g, D, L-malic acid 2.7g, KH₂PO₄ 0.5g, K₂HPO₄ 0.5g, MgSO₄ · 7H₂O 0.1g, CaCl₂

· 2H₂O 27 mg, nicotinic acid 1 mg, vitamin B-1 · HCl 1 mg, MnSO₄ · 5H₂O 1.2 mg, bio-tin 0.01 mg in 1ℓ d-H₂O, pH 6.8) 20 ml를 50 ml의 vial에 주입한 후 상등액 1 ml을 첨가하고 배양기의 head space를 질소 가스로 치환하여 30°C, 조도 4,000 lux의 명조건에서 3회 집적 배양한 다음 Lascelles의 기본 평판 배지에 접종, 동일 배양 조건에서 3일간 배양하여 colony를 분리하였다.

2.2 배양 조건

30°C, 4,000 lux 명조건에서 3일간 혐기배양한 전배양액 1 ml를 sodium acetate 1g, sodium propionate 1g, sodium butyrate 1g을 첨가한 Lascelles의 기본 배지 70 ml (100 ml vial)에 접종하여 동일한 조건에서 정지 배양하였다. 혐기명조건에서 배양시 광원은 60 W 텅스텐 백열전구를 사용하였으며 조도의 조절은 illuminometer SPI-5를 사용하였다. 균체의 증식 속도는 660 nm (spectrophotometer, Beckman DU-68)에서 배양액의 흡광도를 측정하여 나타내었다.

2.3 Bacteriochlorophyll a의 측정

Bacteriochlorophyll a의 측정은 Cohen-Bazire 등(1957)의 방법을 이용하였다. 광합성 세균의 배양 균체를 acetone과 methanol을 7 : 2로 혼합한 용매로 균체 색소를 추출한 후 bacteriochlorophyll a의 최대 흡수 파장인 770 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4 대상 폐수 및 폐수 분석

대상 폐수는 부여군 석정면의 돈사에서 배출되는 폐수를 채취하여 사용하였으며 4°C에 냉장 보관하였다. 폐수의 일반 성분은 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1989)에 따라 분석하였다. 폐수의

Table 1. Characteristics of swine wastewater.

Factors	Concentration (mg/l)
pH	7.9
Total solid(TS)	9,120
Volatile solid(VS)	6,900
Suspended solid(SS)	7,920
COD _{Cr}	18,700
BOD ₅	22,000
Total organic acid	169.4
Acetic acid	84.0
Propionic acid	20.3
Butyric acid	14.1
Lactic acid	5.1
Total nitrogen	810.0
Ammonia nitrogen	530.0
Total phosphate	290.9
Total sulfate	563.1

성상은 Table 1에 나타내었다.

2.5 배양액의 COD_{Cr} 측정

배양액 중의 균체를 제거하기 위하여 6,000 × g에서 10분간 원심 분리한 후 상등액을 취하여 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1989)에 따라 측정하였다.

2.6 Lab scale 반응조

시험 폐수를 증류수로 희석하여 COD를 1,500 ppm으로 조정한 후 100 ml 배양병에 70 ml 분주하고 전배양한 광합성 세균을 10% (v/v) 접종하였다. 30°C, 반혐기적 광조건에서 7일간 배양하면서 COD, pH, bacteriochlorophyll a의 변화를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 균의 분리 및 선정

상기의 분리 배지에서 1차로 150여종의 균을 선별한 후, 폐수 처리 효율 및 적응성이 우수한 균

주를 선별하기 위해 유기산이 포함된 배지에서 2차 배양하여 생육 활성이 좋은 18종의 균을 2차 선별하였다. 이들을 대상으로 배양 온도 30°C, 혐기적 광조건(4,000 lux)에서 60시간 액체 배양하여 균체량, 생육도가 가장 우수한 균주 3종을 최종 분리하였으며 각각을 KN 1-1, KN 2-1, KN 2-3으로 명명하였다.

3.2 유기산에 따른 생육 효과

최종 선별된 3종의 광합성 세균 KN 1-1, KN 2-1, KN 2-3을 sodium acetate, sodium propionate, sodium butyrate가 각각 1g 포함된 배지에 10% (v/v) 접종하여 균의 생육과 bacteriochlorophyll a 함량을 측정하였다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 선별된 균주들은 유기산을 첨가하였을 때 성장 속도가 2.5배에서 3배 정도 증가함을 보였다. 이들 중에서도 strain KN 2-1의 경우, 유기산이 첨가된 배지에서 성장 속도가 가장 빠른 것으로 나타났으며 따라서 strain KN 2-1의 유기산 분해능이 가장 좋다고 사료된다. 광합성 세균의 생육에 따른 bacteriochlorophyll a의 생성량을 Table 2에 나타내었다.

Table 2에서 보는 바와 같이 배양 4일 후 bacteriochlorophyll a의 양을 측정한 결과 유기산을 첨가하지 않은 배지에서는 약 3배 정도 증가하였으나 유기산이 첨가된 배지에서 배양한 경우는 약 6~7배 정도 증가함을 알 수 있었으며 Fig. 1에서 보는 바와 같이 strain KN 2-1이 bacte-

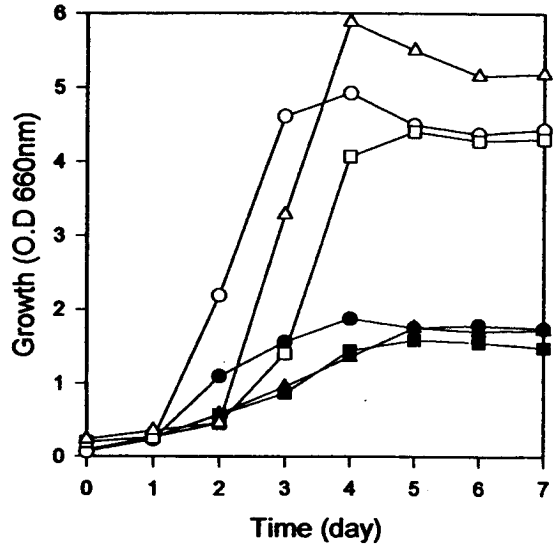


Fig. 1. Effects of organic acids on cell growth of photosynthetic bacteria.

Cultivation was carried out in Lascelles basal medium containing sodium acetate 1 g, sodium propionate 1 g and sodium butyrate 1 g.

Open symbols : No added organic acids, Closed symbols : added organic acids

○, ● : Strain KN 1-1

△, ▲ : Strain KN 2-1

□, ■ : Strain KN 2-3

riochlorophyll a의 생성에서도 가장 우수한 결과를 나타내었다. 결과적으로 유기산이 존재할 경우, 광합성 세균의 생육과 bacteriochlorophyll a 함량이 동시에 증가함을 알 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 광합성 세균을 돈분 폐수에 처리할 경우 배양액 중의 bacteriochlorophyll a의 함량을 측정함으로써 처리 시스템 내에 존재하는 광합성 세균의 수를 추측할 수 있을 것으로 사료된다.

3.3 광합성 세균에 의한 처리 효과

부여군 석정면 농가에서 배출되는 돈분 폐수에 최종 선별된 3종의 광합성 세균 KN 1-1, KN 2-1, KN 2-3을 각각 10% (v/v) 첨가하여 배

Table 2. Absorption of bacteriochlorophyll from photosynthetic bacteria.

Photosynthetic bacteria	Not added (O.D. 770 nm)		Organic acid added (O.D. 770 nm)	
	2 day	4 day	2 day	4 day
KN 1-1	0.232	0.672	0.258	1.342
KN 2-1	0.334	0.920	0.359	1.832
KN 2-3	0.267	0.559	0.254	1.432

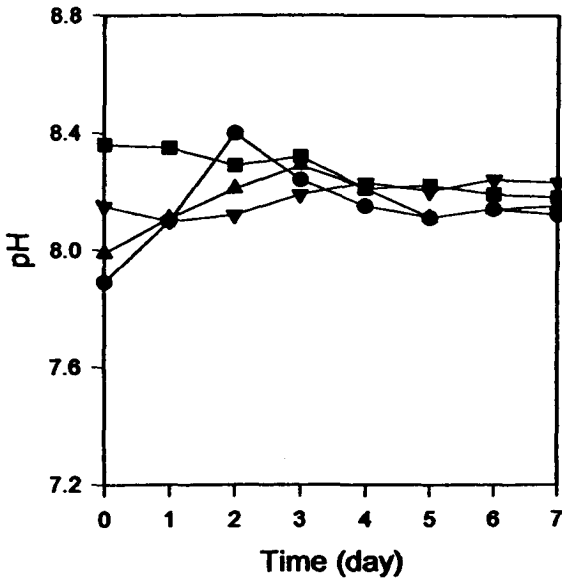


Fig. 2. Changes of pH in swine wastewater by photosynthetic bacteria.

● : Control, ▲ : Strain KN 1-1
 ■ : Strain KN 2-1, ▼ : Strain KN 2-3

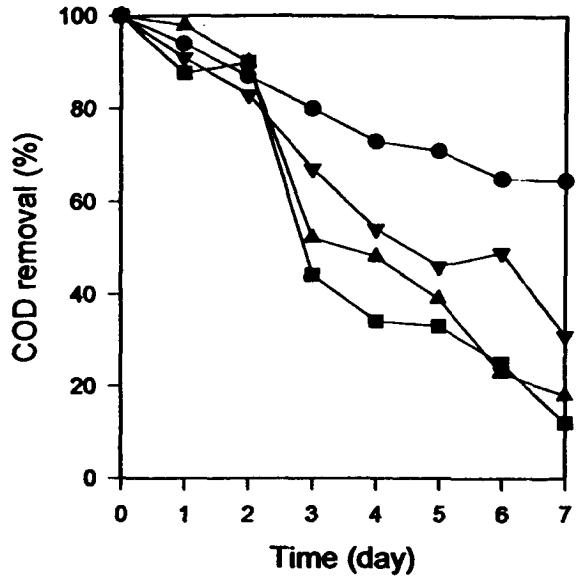


Fig. 4. Changes of COD concentration in swine wastewater by photosynthetic bacteria.

● : Control, ▲ : Strain KN 1-1
 ■ : Strain KN 2-1, ▼ : Strain KN 2-3

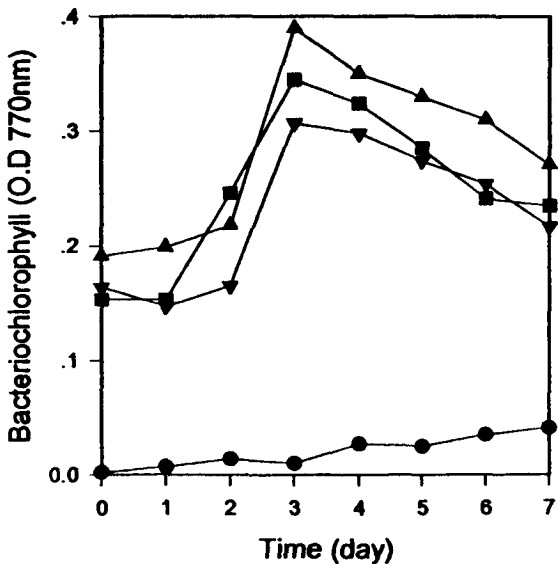


Fig. 3. Changes of bacteriochlorophyll a content in swine wastewater by photosynthetic bacteria.

● : Control, ▲ : Strain KN 1-1
 ■ : Strain KN 2-1, ▼ : Strain KN 2-3

양하면서 배양액의 pH의 변화와 bacteriochlorophyll a의 함량 및 COD 농도를 조사하였다.

돈분 폐수에 광합성 세균을 처리한 경우 배양액의 pH 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 처리 폐수의 pH는 배양 2일까지 증가하다가 다시 감소하는 것을 관찰하였다. 그러나 pH의 변화는 3종 모두 8.0에서 8.2 사이를 유지하여 광합성 세균을 이용한 생물학적 폐수 처리시 pH는 안정되게 유지되는 것으로 사료된다.

Fig. 3은 원폐수에서의 광합성 세균 내의 bacteriochlorophyll a량을 살펴보았다. 원폐수에서는 bacteriochlorophyll a량이 거의 증가하지 않았으나, KN 1-1, KN 2-1, KN 2-3의 광합성 세균을 첨가한 원폐수에서는 bacteriochlorophyll a량이 처리 시간에 따라 변화가 있으나, Table 2에서 보는 바와 같이 bacteriochlorophyll a량이 유기산이 첨가한 배지에서 보다 증가

하지 못하는 결과를 나타내었다. 이 결과는 폐수 안에 존재하는 여러 가지 물질중에서 bacteriochlorophyll a 생성에 방해를 하는 물질이 존재하는 것으로 생각되어진다.

한편, 광합성 세균에 의한 COD 농도의 변화는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 것과 같이 광합성 미생물을 접종하지 않은 돈분 폐수가 시간이 증가하면서 원폐수보다 30% 정도 COD의 감소가 보이는데 비해 광합성 세균을 첨가하여 배양한 경우, KN 1-1은 80%, KN 2-1은 89%, KN 2-3은 75%의 COD 감량을 보였다. Fig. 3의 결과에 비추어 볼 때, bacteriochlorophyll a의 생성 속도가 최대가 되는 2~3일 째에 COD의 분해 속도도 최대를 나타내었다. 이것은 bacteriochlorophyll a의 생성이 광합성 세균의 증가를 나타내고 광합성 세균에 의해 COD가 분해되었음을 의미한다고 사료된다.

4. 결 론

광합성 세균에 의한 고농도 유기 폐수 처리 공정을 개발하기 위한 기초 실험으로 유기산 배지에서 생육이 뛰어난 광합성 세균을 자연계로부터 분리하여 생육 조건을 검토하고 돈분 폐수를 대상으로 lab-scale에서 처리능을 검토하였다.

유기산 배지에서 생육이 뛰어난 KN 1-1, KN 2-1, KN 2-3 3종의 광합성 세균을 최종적으로 선별하였으며 이들을 유기산이 첨가된 배지에서 배양할 경우, 2~3배의 균체 증가율을 보였으며, bacteriochlorophyll a의 함량도 1.5~2배 증가하였다.

분리한 광합성 세균 3종을 접종하여 돈분 폐수의 COD 감소율을 측정할 결과 대조구의 COD 감소율이 30%인데 반해 광합성 세균의 첨가시 KN 1-1은 80%, KN 2-1은 89%, KN 2-3은 75%의 COD 감소를 나타내었다.

감사의 글

본 논문은 국민은행 기술개발지원 사업의 연구비에 의하여 수행된 결과의 일부입니다. 연구비를 지원해 주신 국민은행에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Madigan, M.T., C.C. John, and G. Howard, 1982. Photopigments in *Rhodospseudomonas capsulata* cells grown anaerobically in darkness, *J. Bacteriol.*, 150, 1422.
2. Schlegel, H.G., J. Barnea, and K.G. Eriich Goltze, 1976. Microbial Energy Conversion, Gottingen, p. 443.
3. Sawada, H., Parr, R.C. and Rogers, P.L., 1977. Photosynthetic bacteria in wastetreatment: Role of *Rhodospseudomonas capsulata* with agriculture, Industrial effluents, *J. Ferment Technol.*, 55, No. 4, 326
4. Rafael, B., Jacobo, C. and Francisco, C., 1989. Acetate metabolism in purple nonsulfur bacteria, *FEMS Microbiol. Lett.* 58, 129
5. Hiraishi, A., Shi, J.L. and Kitamura, H., 1989. 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
6. Lascelles, J., 1956. The biosynthesis of porphyrins and bacteriochlorophyll by cell suspensions of *Rhodospseudomonas*

- spheroides*. *Biochem. J.*, 62. 78
7. Cohen-Bazire, G., Sistrom, W.R. and Stainer, R.Y., 1957. Kinetic studies of pigment synthesis by non-sulfur purple bacteria. *J. cell. Comp. Physiol.*, 49. 25
8. Standard Method for Examination of Water and Wastewater: American Public Health Association 17th Ed., Inc., New York 1989