

Candida tropicalis PW-51을 이용한 페놀수지 폐수의 처리

김성빈 · 김치경¹ · 김희식 · 윤병대 · 오희목*

생명공학연구소 환경미생물RU, ¹충북대학교 자연과학대학 미생물학과

페놀수지 폐수는 41,000 mg/l의 페놀과 2,800 mg/l의 포름알데히드를 포함하고 있어 직접적인 생물학적 처리가 어렵다. 자연계에서 분리된 *Candida tropicalis* PW-51은 100 mg/l 이하의 포름알데히드 존재하에서 1,000 mg/l의 페놀을 분해하였으나, 포름알데히드의 농도가 증가함에 따라 페놀분해는 저해되었다. 페놀수지 폐수를 1/40 희석하였을 때 페놀류 화합물 농도가 882 mg/l이었는데, 회분배양 후 페놀농도는 81 mg/l로 약 91% 분해되었다. 폐수를 1/40, 1/20 희석한 후 *C. tropicalis* PW-51에 의해 생물학적으로 연속처리한 결과 페놀류 화합물은 92%까지 분해되었다. 그러나 1/10 희석된 폐수에서는 초기 페놀류 화합물 농도가 2,875 mg/l로 높아 생물학적 처리가 이루어지지 않고 균체가 사멸하였다. 1/40, 1/20 희석된 폐수의 생물학적 처리 후 잔류 페놀류 화합물을 흡착처리(활성탄:왕겨=1:1)한 결과 최종 처리수에서 페놀류 화합물의 농도는 1 mg/l 이하로 총 페놀제거효율은 99.9%에 달하였다.

Key words □ absorption, *Candida tropicalis* PW-51, formaldehyde, phenolic resin wastewater

방향족 화합물의 많은 부분은 자연계에서 난분해성(recalcitrant)으로 생물농축 또는 그 자체의 독성으로 자연환경 및 생활환경을 위협하고 있다. 방향족 화합물의 대표적인 물질로서 페놀은 분해되기 어려운 독성화합물로서 coal-tar 증류, polymeric resin 생산, oil 정제, 의약품 제조공업 등에서 다양하게 배출되며(18), 벤젠고리를 갖는 방향족 화합물의 중간 대사산물로도 생성된다. 또한 상수원에 유입된 페놀은 낮은 농도에서도 염소 소독시 염소화 페놀이 생성되어 생물체에 독성을 나타낼 수 있으므로 미국의 경우 수질 환경 기준치를 0.001 mg/l로 제한하고 있다(13). 산업폐수에 포함된 페놀은 유기용매 추출법, 활성탄 흡착법, 화학적 산화법 등으로 처리되며(11), 생물학적 처리로서 페놀분해능이 우수한 세균과 효모 등을 이용한 활성오니법이 있다(14).

페놀수지는 전기, 통신 관계의 성형품, 종이, 천을 기재로 한 도료 그리고 접착제 등에 광범위하게 사용되는 물질이다. 페놀수지 공장의 폐수는 40 g/l 정도의 페놀을 포함하고 있으며, 과량의 포름알데히드를 포함하고 있어 생물학적 처리가 어렵기 때문에, 발생된 폐기물을 매립이나 소각하는 실정이다. 페놀의 생분해에 관한 연구는 많이 이루어지고 있으나(1, 2, 17), 실 폐수에 적용된 예로는 혼합된 세균을 담체에 부착하여 페놀계 산업폐수를 생물학적으로 처리한 연구(5) 등으로 매우 미흡한 실정이다. 또한, 페놀수지 폐수의 생물학적 처리에 관한 연구로서 *Pseudomonas putida*는 페놀 분해능이 우수하나 포름알데히드 14 mg/l 이상에서 성장이 억제되었다(4), 따라서, 본 연구는 포름알데히드의 존재하에서도 페놀 분해능을 유지하는 자연계로부터 분리된 *Candida tropicalis* PW-51을 이용하여 페놀과 포름알데히드가 주성분인 페놀수지 폐수의 생물학적 처리를 수행하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 실험에서 사용한 균주는 본 연구실에서 분리한 *Candida tropicalis* PW-51로 catechol 1,2-dioxygenase 활성만을 가지고 있어 *ortho*-pathway를 통해서 페놀을 분해하며, 연속 배양시 페놀 3,000 mg/l에서도 성장하며, 최대 페놀분해율은 317.2 mg/l/h로 페놀 분해능이 우수한 균주로 평가되었다(1). 분리된 균주를 이용하여 페놀분해 실험시 증류수 1 l에 NH₄NO₃ 1.0 g, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, KH₂PO₄ 0.5 g, NaCl 0.5 g, CaCl₂ 0.02 g, FeSO₄ 0.02 g을 첨가하였으며, 최소배지에 CuSO₄ 50 mg/l, H₃BO₃ 100 mg/l, MnCl₂ 400 mg/l, ZnCl₂ 400 mg/l, CoCl₂ 100 mg/l, Na₂MoO₄ 100 mg/l의 trace element solution을 넣고 페놀을 사용 농도만큼 추가하였다(8). 페놀수지 폐수의 분해 실험을 위하여 희석된 폐수에 NH₄H₂PO₄ 0.2 g/l, (NH₄)₂HPO₄ 0.2 g/l, CaCl₂ 0.02 g/l, yeast extract 0.2 g/l와 trace element solution을 첨가하였다.

폐수분석

본 실험에 사용한 폐수는 부산에 위치한 페놀수지 공장의 폐수로서 원폐수는 점도가 높지 않았고, 노란색의 맑은 액체였으며, 고농도의 페놀과 포름알데히드가 포함되어 생물학적 처리가 어려운 상태였다. 페놀수지 폐수는 Standard Methods(9)의 liquid-liquid extraction gas chromatographic/mass spectrometric method에 따라 pH 11이상의 염기와 pH 2 이하의 산 상태에서 methylene chloride로 추출한 후 용매를 휘발시켜 시료를 얻었다. 그 외에도 COD_{Cr}, COD_{Mn}은 Standard Methods(9)에 따라 측정하였으며, 포름알데히드는 뜨거운 황산 용액에서 chromotrophic acid와 자색의 착염을 형성하여 흡광도를 측정하는 Couder와 Baratti방법(3)으로 정량하였다.

*To whom correspondence should be addressed
Tel : 82-42-860-4321, Fax : 82-42-860-4594
E-mail : heemock@mail.knbb.re.kr

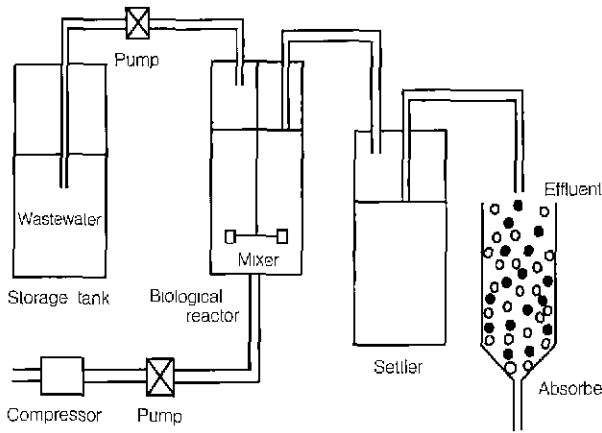


Fig. 1. Schematic view of a fermentation and absorption equipment for the treatment of phenolic resin wastewater.

연속처리 및 흡착제

연속처리는 3l의 working volume을 가진 jar fermentor로 30°C에서 수행하였으며, 이때의 교반속도는 200 rpm, 통기량은 0.5 vvm이었고, over flow tube를 이용하여 3l의 working volume을 유지시켰다. 처음 24시간 동안은 회분식 배양으로 균체농도를 높인 후 일정한 회석속도로 폐수를 공급하였으며, 약 3.5~4 volume의 폐수가 교환된 후에 안정화될 때까지 유지시켰다. 연속처리가 끝난 후 균체를 침전시키고 상등액에 포함된 잔류 페놀류 화합물을 흡착하기 위하여 입상 활성탄과 왕겨를 1:1(v:v)로 섞은 후 유리관(D, 5 cm; L, 30 cm)을 통과시켰다. Fig. 1은 페놀수지 폐수처리를 위한 전체 공정도를 나타낸다.

페놀농도 측정

페놀의 분해율은 colorimetric assay법(6)으로 페놀농도의 변화를 측정하여 결정하였다. 1 ml의 시료를 Eppendorf tube에 옮기고 50 µl의 2 N NH₄OH와 25 µl의 2% 4-aminoantipyrine을 첨가하여 잘 섞어 준 후 8%의 K₃Fe(CN)₆을 25 µl 넣고 원심 분리하여 균체를 제거시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선에서 계산된 방정식에 의해 500 nm에서의 흡광도를 농도로 환산하였다. 고농도일 경우는 적당하게 희석한 후 농도를 결정하였다.

결과 및 고찰

페놀수지 폐수분석

산업폐수 중에는 여러 종류의 화합물과 유기용매나 중금속 등 미생물에 유해한 물질이 존재하므로 생분해에 어려움이 많다. 본 실험에 사용된 폐수는 부산에 위치한 페놀수지 공장의 폐수로, 성상은 Table 1에서 보는 바와 같이 페놀이 41,000 mg/l 정도로 매우 높은 농도로 존재하며, 포름알데히드가 2,800 mg/l의 농도로 포함되어 직접적인 생물학적 처리가 어렵다. 용매를 이용하여 산과 염기 조건하에서 페놀수지 폐수중 페놀류 화합물을 추출하여 GC/MS로 분석한 결과, 산과 염기 상태에서 추

Table 1. Characteristics of a phenolic resin wastewater

Item	Concentration (mg/l)
pH	3.0
COD _{Mn}	89,000
COD _{Cr}	150,000
BOD	210
Phenol	41,000
Formaldehyde	2,800

출한 용매 모두에서 페놀이 검출되었으며, 페놀 이외의 염소화 페놀류도 일부 포함되어 있었다.

페놀분해시 포름알데히드의 영향

페놀수지 공장의 폐수에 포함된 포름알데히드는 화학공장에서 다양한 공정에 사용되며, 폐수로 방출되어 미생물이나 동물세포에 돌연변이를 일으키거나 DNA에 손상을 주는 환경오염 물질로 알려져 있다. 그러나 포름알데히드는 비교적 생분해가 용이한 물질로 methylotrophic 미생물에 의하여 탄소와 에너지원으로 사용될 수 있으며, methanol의 산화 과정에서 중간 대사물질로 알려져 있다(7). 포름알데히드를 분해하는 세균으로 알려진 *Pseudomonas putida*는 포름알데히드 14 mg/l 이상의 농도에서 균생육이 억제되는 것으로 보고된 바 있다(4). *C. tropicalis* PW-51에 의한 1,000 mg/l 페놀분해에 있어 포름알데히드의 영향에 대한 실험을 실시한 결과(Fig. 2), 포름알데히드 100 mg/l까지는 페놀의 생분해에 별다른 영향을 주지 않았으나, 150 mg/l부터 페놀분해에 영향을 나타내어 분해율이 감소하였으며, 균체

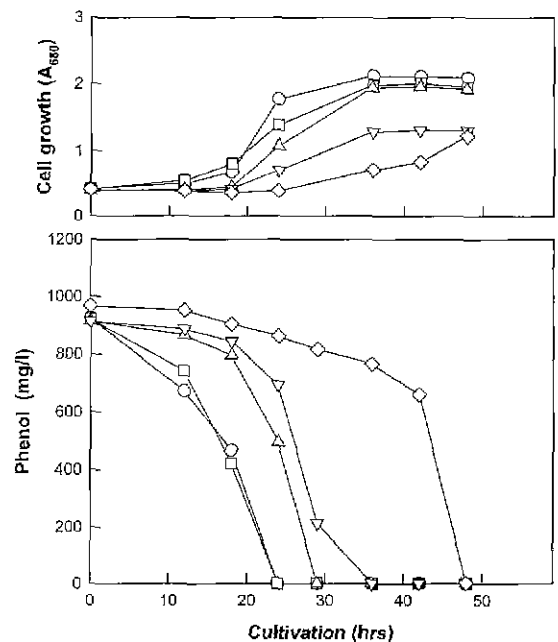


Fig. 2. Effect of formaldehyde concentration on the degradation of 1,000 mg/l phenol. Symbols are: ○, 0; □, 100; △, 150; ▽, 200; ◇, 300 mg/l formaldehyde.

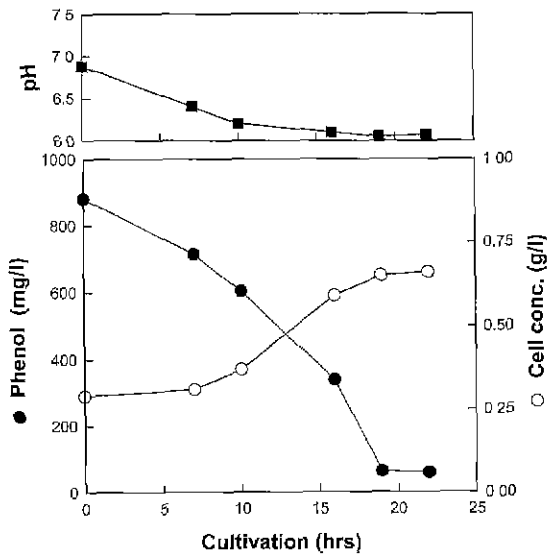


Fig. 3. Treatment of 1/40-diluted phenolic wastewater by *Candida tropicalis* PW-51.

증식도 포름알데히드의 농도가 증가할수록 감소하였다.

회분식 배양에 의한 페놀수지 폐수처리

페놀수지 폐수를 1/40 희석하여 3-l jar fermentor에서 최적 페놀 분해조건인 pH 6.8, 30°C에서 *C. tropicalis* PW-51을 이용하여 처리한 결과는 Fig. 3과 같다. 초기의 페놀화합물 농도는 882 mg/l이었는데, 균체 생육이 끝난 후 농도는 81 mg/l로 약 91% 분해되었다. 이러한 결과는 폐수내에 존재하는 일부 페놀류 화합물의 분해가 충분하지 못함을 보이는 것으로 페놀수지 폐수의 완전한 처리를 위하여 추가적인 처리로서 흡착제를 이용한 흡착실험을 수행하였다.

연속처리와 흡착에 의한 페놀수지 폐수처리

연속처리: 연속배양 조건하에서 페놀에 의한 *C. tropicalis* PW-51 생육의 저해를 최소화하기 위하여 페놀농도를 점점 높여 주면서 희석율을 0.04/h로, pH 6.4~6.6에서, 온도를 30°C로 조정하여 연속배양을 실시하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 페놀수지 폐수의 희석비를 1/40(초기 페놀류 화합물 농도: 745 mg/l), 1/20(1,357 mg/l), 1/10(2,875 mg/l)로 변화시키며 처리한 결과, 1/20 희석까지 페놀류 화합물은 92%까지 분해되었다. 이는 회분식 배양에서 얻은 결과(Fig. 3)와 유사한 것이다. 균체 농도는 1/20 희석에서 가장 높았으나, 1/10로 희석되었을 때 초기 페놀류 화합물 농도는 2,875 mg/l로 높아서, 생물학적 처리가 이루어지지 않았고 균체가 사멸하였다. 김 등(2)은 유동층 반응기에서 *C. tropicalis*에 의한 페놀 함유 폐수처리에 관한 연구에서 초기 500 mg/l 페놀을 90% 정도 분해함을 보고한 바 있다. 그리고 Oh 등(15)은 활성탄 담체에 혼합된 세균을 고정시켜 페놀계 폐수처리에 관한 실험에서 99%의 제거효율을 보였다.

흡착처리: *C. tropicalis* PW-51을 이용하여 페놀수지 폐수중

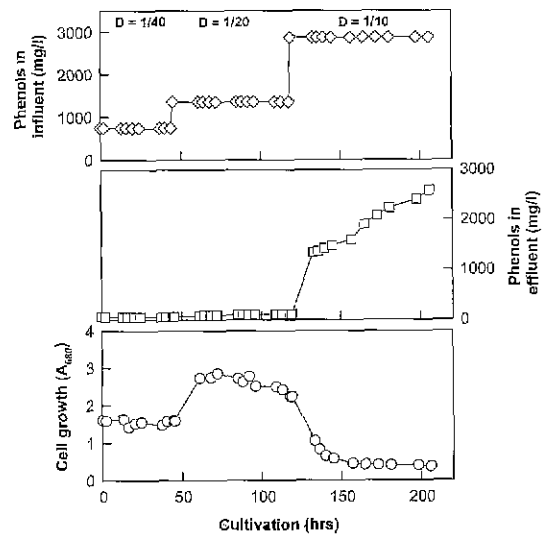


Fig. 4. Biodegradation of 1/40-, 1/20-, and 1/10-diluted phenolic resin wastewater by *Candida tropicalis* PW-51 in continuous culture.

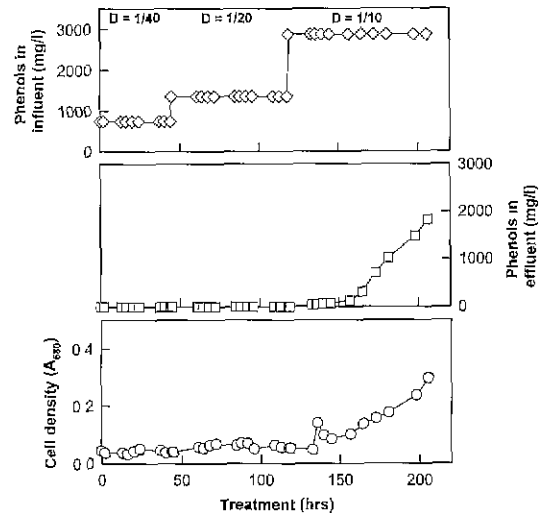


Fig. 5. Treatment of 1/40-, 1/20-, and 1/10-diluted phenolic resin wastewater by absorption in tertiary treatment. The absorbent was a mixture of activated carbon (1) and rice bran (1).

의 페놀류 화합물을 92% 정도까지 분해하였으나, 완전히 제거시키지 못하여 활성탄과 왕겨를 1:1(v:v)로 섞어 제조한 흡착제를 이용하여 3차 처리한 결과, 페놀류 화합물은 1/40과 1/20 희석비에서 1 mg/l 미만까지 제거할 수 있었다(Fig. 5). 흡착관을 통과한 폐수의 흡광도(680 nm)는 0.06 정도로 균체가 거의 제거되어 매우 맑게 보였다. 그러나 페놀수지 폐수를 1/10로 희석하였을 때는 미생물에 의한 처리가 이루어지지 않았다. 고농도의 페놀이 유입됨으로써 흡착에 의한 처리도 이루어지지 않아 최종 처리수에서도 페놀류 농도가 1,824 mg/l까지 증가하였다. 따라서, 페놀수지 폐수의 처리를 위해서는 생물학적 처리와 물리적 처리가 병행되어야 완전한 처리효과를 기대할 수 있으며 한 가지 방법만으로 처리하는 데는 한계가 있는 것으로 판단되었다.

Table 2. Changes of the concentration of phenols in different treatment systems which were first treated by *Candida tropicalis* PW-51 and then adsorbed on resin

Dilution of waste-water	Phenols in influent (mg/l)	Continuous treatment		Absorption treatment	
		Effluent (mg/l)	Removal efficiency (%)	Effluent (mg/l)	Removal efficiency (%)
1/40	745	58	92.2	0.27	99.9
1/20	1,357	101	92.6	0.76	99.9
1/10	2,875	2,584	10.1	1,824	36.6

페놀류 화합물 농도변화: 페놀수지 폐수의 생물학적 연속처리와 흡착처리의 결과를 Table 2에서 요약하였다. 1/40로 희석된 페놀수지 폐수는 초기 745 mg/l의 페놀류 화합물이 미생물에 의한 연속처리후 58 mg/l로 92.2% 제거되고, 흡착관을 통과한 후 0.27 mg/l의 농도로 99.9%까지 제거되었으며, 1/20로 희석된 폐수 역시 초기 1,357 mg/l의 페놀류 화합물을 연속처리후 92.6%가 제거되어 101 mg/l이 잔류하였으며, 흡착처리 후 0.76 mg/l로 99.9%가 제거되었다. 반면에 1/10로 희석된 폐수의 경우 초기 페놀류 화합물 농도가 2,875 mg/l로 연속처리에서 생분해가 이루어지지 않았고, 흡착처리 후 1,824 mg/l로 감소하였으나 계속적으로 흡착능이 떨어지는 관계로 방류수중 페놀류 화합물 농도가 증가하였다.

지금까지 페놀분해에 관련된 연구로서 황성탄에 고정화된 *P. putida*는 페놀 1,000 mg/l까지 분해하였으며(17), 황성탄과 calcium alginate에 고정화된 *Rhodococcus*는 1,000 mg/l의 페놀을 분해함이 보고되었다(16). 효모나 곰팡이를 이용한 페놀분해 연구로서 *Rhodotorula*는 200 mg/l의 페놀을 분해하였고(10), *C. tropicalis* HP15는 2,500 mg/l의 고농도 페놀을 분해하였다(12). Ehrhardt와 Rehm(8)은 황성탄에 세균을 고정화하여 페놀을 분해하였을 때 최고 분해율이 366 mg/h이었는데, 본 연구에 사용된 균주인 *C. tropicalis* PW-51은 황성탄에 고정화시키지 않은 상태에서 최고 분해율이 317 mg/h에 달하였으며, 실 폐수에서는 157 mg/h로 우수한 처리능을 나타내었다.

본 실험에서 알 수 있듯이 페놀수지 폐수의 처리를 위해서는 생물학적 처리가 가능한 농도까지 폐수를 희석하여야 하며, 생물학적 처리만으로 완전히 페놀류 화합물을 제거할 수 없으므로 다른 물리·화학적 처리가 필요하고, 3차 처리에서 페놀류 화합물을 저농도까지 제거하기 위해서는 세균, 곰팡이 등의 미생물에 의한 전처리가 효과적으로 이루어져야 한다.

참고문헌

- 김성빈, 김치경, 김희식, 이창호, 신기선, 권기석, 윤병대, 오희목. 1996. 페놀분해 효모 *Candida tropicalis* PW-51의 분리 및 분해특성. *산업미생물학회지* 24, 743-748.
- 김우식, 염경호, 김응식. 1985. 유동층 반응기에서 *Candida tropicalis*균에 의한 페놀함유 폐수 처리에 관한 연구. *산업미생물학회지* 13, 33-39.
- 백광현. 1991. Alcohol oxidase 생산균주의 분리 및 생산에 관한 연구. 건국대학교 대학원 석사학위논문.
- 서봉수. 1990. 폐수의 공동처리시 효율화 기법 개발에 관한 연구, 국립환경연구원보고서. 과학기술처.
- 오희목, 구영환, 안국현, 장감용, 고영희, 권기석, 윤병대. 1995. 세라믹담체를 이용한 페놀계 산업폐수의 생물학적 처리. *산업미생물학회지* 23, 755-762.
- 홍성용, 이숙희, 이정해, 하지홍. 1995. *Acinetobacter* sp. T5-7에 의한 Trichloroethylene 분해특성. *산업미생물학회지* 23, 255-262.
- Adroer, N., C. Casas, C.de Mas, and C. Sola. 1990. Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37, 510-517.
- Ehrhardt, H.M. and H.J. Rehm. 1989. Semicontinuous and continuous degradation of phenol by *Pseudomonas putida* P8 adsorbed on activated carbon. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30, 312-317.
- Greenberg, A.E., L.S. Clesceri, and A.D. Eaton. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (18th ed). American Public Health Association. Washington, D.C.
- Katayama, H.K., S. Tobita, and K. Hirayama. 1992. Aromatic degradation in yeast *Rhodotorula rubra*. *Water Sci. Technol.* 26, 773-781.
- Kjibanov, A.M., T.M. Tu, and K.P. Scott. 1983. Peroxidase-catalyzed removal of phenols from coal-conversion wastewater. *Science* 221, 259-261.
- Krug, M., H. Ziegler, and G. Straube. 1985. Degradation of phenolic compounds by the yeast *Candida tropicalis* HP15. *J. Basic. Microbiol.* 25, 103-110.
- Lee, G.O., S.J. Lee, and J.K. Lee. 1991. Numerical taxonomic studies of phenol-degrading bacteria isolated from soil. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19, 624-630.
- Mörtberg, M. and H.Y. Neujahr. 1985. Uptake of phenol by *Trichosporon cutaneum*. *J. Bacteriol.* 161, 615-619.
- Oh, H.-M., Y.-H. Ku, K.-H. Ahn, G.-S. Kwon, Y.-H. Kho, T.-I. Mheen, and B.-D. Yoon. 1996. Phenolic wastewater treatment by a mixed culture GE2 immobilized on activated carbon. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 6, 116-119.
- Pai, S.L., Y.L. Hsu, N.M. Chong, C.S. Sheu, and C.H. Chen. 1995. Continuous degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. immobilized on granular activated carbon and in calcium alginate. *Bioresour. Technol.* 51, 37-42.
- Rehm, H.J. 1984. Degradation of phenol by immobilized microorganisms. *Eur. Congr. Biotechnol.* 3, 27-33.
- Stephenson, T. 1990. Substrate inhibition of phenol oxidation by a strain of *Candida tropicalis*. *Biotechnol. Lett.* 12, 843-846

(Received June 30, 1999/Accepted August 28, 1999)

ABSTRACT: Treatment of Phenolic Resin Wastewater by *Candida tropicalis* PW-51

Seong-Bin Kim, Chi-Kyung Kim¹, Hee-Sik Kim, Byung-Dae Yoon, and Hee-Mock Oh*
(Environmental Microbiology Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Taejeon 305-600, ¹Department of Microbiology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea)

Phenolic resin wastewater contained 41,000 mg/l phenol, 2,800 mg/l formaldehyde and various chlorinated phenolic compounds. *Candida tropicalis* PW-51 isolated from the natural environment was able to degrade 1,000 mg/l phenol in the presence of 100 mg/l formaldehyde, but it took much time to degrade phenol with the increase of formaldehyde in phenolic resin wastewater. When the phenolic resin wastewater was diluted to 1/40, the initial concentration of phenolic compounds (phenols) was 882 mg/l and degraded to 81 mg/l by *C. tropicalis* PW-51 in batch culture. In a continuous biological treatment, the phenolic resin wastewater was diluted to 40 (745 mg/l), 20 (1,356 mg/l), or 10 (2,875 mg/l) times. The removal efficiency of phenols in 1/40- and 1/20-diluted phenolic resin wastewater was about 92%, but the phenols in 1/10-diluted wastewater were not degraded. The remained phenols in wastewater were absorbed by a mixture of activated carbon and rice bran (1:1, v:v) in the process of absorption which was connected to the biological treatment. The total removal efficiency of phenols in 1/40- and 1/20-diluted phenolic resin wastewater was 99.9%.