

슬러리상 생물반응기를 이용한 석유계탄화수소 오염토양의 처리에 있어서 초기농도 및 영양소의 영향

김수철 · 남궁완* · 박대원

한국과학기술연구원 수질환경연구센터

*건국대학교 환경공학과

Effects of Initial Concentration and Nutrients in Treatment of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soils using a Slurry-Phase Bioreactor

Soo-Chul Kim · Wan Namkoong* · Dae-Won Pak

Korea Institute of Science and Technology, Water Environment Research Center

** Department of Environment Engineering, Konkuk University*

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate effects of initial concentration and nutrients in treatment of petroleum hydrocarbon contaminated soils. The reactor used in this study was slurry-phase bioreactor of in-vessel type. Performance results on treatment of diesel fuel contaminated soils and microbial growth were generated at the bench-scale level. The fate of TPH(Total Petroleum Hydrocarbon) and the microbial growth were evaluated in combination with biodegradation rate.

Effect of initial loading levels of 50,000 and 100,000mg TPH/kg soil was studied. Performance results with two reactors were showed at the total TPH removal rate of 90.5% and 90.8%, respectively. However, the reactor with the initial concentration of 50,000mg TPH/kg soil showed higher biological TPH removal efficiency except for removal by volatilization than the other.

Although the different amount of nutrients was applied in two reactors, there was no remarkable difference in microbial growth rate. However, considerable factor in this

results was that applied different initial concentration to two reactors. Although initial concentration was two times higher than it applied to the reactor without addition of nutrients, in total and biological TPH removal rate the reactor with addition of nutrients showed a higher than the other.

Key words : Slurry-phase bioreactor, Diesel fuel, TPH, Biodegradation

요 약 문

본 연구의 목적은 석유계탄화수소 오염토양의 처리에 있어서 초기농도 및 영양소의 영향을 평가하는 것이었다. 본 연구에서 이용한 반응기는 용기형태의 슬러리상 생물반응기였다. 디젤연료 오염토양의 처리 및 미생물성장에 대한 수행결과는 실험실규모에서 얻어졌다. TPH(총 석유계 탄화수소)의 거동 및 미생물성장은 생물학적 제거율과 관련하여 평가되었다.

50,000 및 100,000 mg TPH/kg soil의 초기부하수준에 대한 영향이 연구되었다. 두 반응기에서의 수행결과는 각각 90.5%와 90.8%의 총체적인 TPH제거율 나타내었다. 그러나 50,000mg TPH/kg soil의 초기농도가 적용된 반응기가 초기농도 100,000mg TPH/kg soil이 적용된 반응기에 비하여 휘발에 의한 제거를 제외한 순수한 생물학적 TPH 제거율에 있어서 우수한 결과를 보여주었다.

다른 영양소량이 두 반응기에 적용되었음에도 불구하고 미생물성장율에 있어서 현저한 차이를 보이지는 않았다. 그러나 본 결과에서 고려되어야 할 중요한 요소는 두 반응기에 대하여 초기농도가 다르게 적용되었다는 것이다. 초기농도가 영양소가 첨가되지 않은 반응기에 비하여 두배나 높았음에도 불구하고 총체적 및 생물학적 TPH 제거율에 있어서 영양소가 첨가된 반응기는 그렇지않은 반응기에 비하여 뛰어난 결과를 보여주었다.

주제어 : 슬러리상 생물반응기, 디젤연료, 총석유계탄화수소, 생물학적 분해

1. 서 론

모든 생물학적 처리기술은 다양한 매체를 오염시키는 유기화합물을 분해하기 위하여 미생물(주로 박테리아)의 이용을 포함하고 있는데 오염된 대기, 수질 및 토양은 모두 생물학적 처리기술을 이용하여 성공적으로 수행되어져 왔다. 그러나 토양생태계는 매우 복잡하고 유기화합물의 거동은 토양화학, 토양물리학 및 토양미생물학의 함수이다. 유기화합물로 오염된 토양의 경우 미생물을 이용한 처

리방법에 의하여 잘 처리되어지는 것으로 알려져 있다. 지방족 및 방향족 탄화수소의 생물학적 처리의 상대적 용이성 때문에 생물학적 처리의 대다수는 탄화수소로 오염된 특히 석유연료에 의해 오염된 토양에 일찍이 적용되어져 왔고 지방족, 단일지방족 및 다방향족 탄화수소화합물의 생물학적 분해에 대하여 잘 이해되어져 왔다. 더욱이 이러한 화합물들은 실험실 및 현장조건하에서 토양계에서 생물학적으로 분해된다는 것이 증명되어져 왔다.

토양시스템은 동적이고 여러가지 상호작용요소

들과 관련된 환경이다. 일반적인 유기화합물에서 그러하듯이 석유계 탄화수소의 거동 및 제거율은 많은 요소들에 의존적일 것이고 따라서 주요한 상호작용적인 효과는 생물학적 토양처리시스템의 이행에 앞서 충분히 이해되어야 할 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

1) 대상토양

본 실험에 이용된 토양은 아외의 임의지점에서 채취하였는데 채취된 토양의 특성은 Table 1에서 나타내었다. 채취된 토양은 빛이 차단된 그늘진 곳에서 25일간 풍건되었고 풍건 후 입도별로 분리된 토양중에서 입경 0.5mm미만의 토양만을 취하여 본 실험에 이용하였다.

2) 접종미생물의 준비

실험에 접종하기 위한 미생물의 배양은 다음과 같이 실시되었다.

토양 20g(건조중량)을 100mL유리비이커에 넣

은 후 적정 pH의 유지 및 영양소공급을 위하여 인산염 완충용액 80mL을 첨가하고 25℃에서 일주일 간 배양하였다. 인산염완충용액의 조성은 용액1L 당 K_2HPO_4 0.65g, KH_2PO_4 0.17g, $NaNO_3$ 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.03g 및 미량의 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 등으로 구성되었고 pH는 7.2 ± 0.1 로 유지되었다. 배양후 20,000 mg TPH/kg soil에 해당하는 0.48mL(0.4g)의 다이젤오일을 슬러리에 첨가하고 비이커를 폴리에틸렌 필름으로 덮어씌웠다. 폴리에틸렌 필름은 수분의 손실을 방지하고 산소공급을 가능하게 하는데 효과적인 것으로 알려져 있다. 배양비이커들은 다이젤오일내에 있는 유기화합물의 광분해를 방지하기 위하여 어두운 곳(BOD Incubator)에서 25℃로 배양되었다.

2.2 반응기 및 운전조건

1) 반응기

본 실험을 수행하기 위하여 이용된 반응기는 Figure 1에서 나타내었다. 반응기는 호기성미생물에 대한 최적조건의 유지 및 고형물의 부유상태유

Table 1. Characteristics of soil used in this study

Sieve analysis(weight %)	> 2mm	30.8
	2 ~ 0.5	41.1
	0.5 ~ 0.075	22.6
	0.075 <	5.5
Moisture content(by gravimetric analysis, %)	16.0	
pH	6.6	
Organic matter(VS, %)	5.76	
CEC(H^+ meq/100g)	3.3	
HUM ^{**} (cfu ^{***} /g soil)	2.6×10^6	

* CEC = cation exchange capacity

** HUM = hydrocarbon — utilizing microorganisms

*** cfu = colony forming unit

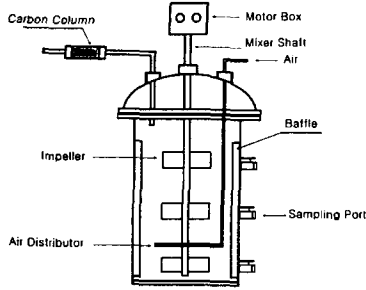


Fig. 1. Bioreactor used in this study.

지 등을 고려하여 설계되었는데 용량은 2.8L 이었다.

2) 운전조건

본 실험에서는 초기농도 및 영양소함량의 영향을 평가하기 위하여 Table 2에서 나타낸 조건으로 반응기의 운전을 수행하였다.

2.3 분석방법

1) 시료내 TPH의 추출

TPH측정을 위하여 이용된 방법은 캘리포니아의 "Leaking Underground Fuel Tank Field Manual" 및 EPA의 "Evaluation of Soils from In-Situ Treatment"를 기본으로 하였으며 일부수

정하여 본 실험에 이용하였다. 시료의 TPH농도를 결정하기 위하여 이용된 추출법은 다음과 같다.

약 10 ~ 20g의 시료를 슬러리상태로 유지되는 반응기로부터 취하였고 추출용매인 헥산 10mL를 각각의 샘플에 가하였다. 용매첨가 후 250rpm으로 30분간 shaking을 실시하였고 3,000rpm에서 15분간 원심분리되었다. 추출물은 수분 및 미세입자의 제거를 위하여 0.2 μ m의 공극을 가진 여과지에 여과되었고 여과된 분석용 추출물은 마개가 있는 갈색 8mL vial에 담겨진 후 가스 크로마토그래피법에 의한 분석이 수행될 때까지 냉장고에서 보관되었다.

2) 추출물의 분석

헥산추출물은 불꽃이온화검출기(Flame Ionization Detector, FID)가 장착되어 있는 Hewlett-Packard(HP) Model 5890 Series II 가스크로마토그래프(GC)를 이용하여 분석하였다. 분석에 이용된 column은 내경 0.32mm, 고정상 두께 0.52 μ m, 길이 25m의 사양을 가진 HP-1(Crosslinked Methyl Silicone Gum) capillary column 이었다. GC는 split mode상태에서 승온 프로그램으로 운전되었는데, 시료내 TPH의 경우 오븐온도는 초기온도 50 $^{\circ}$ C(2분)에서 최종온도 310 $^{\circ}$ C(5~7분)까지 10 $^{\circ}$ C/min의 상승을

Table 2. Experimental conditions

Parameter	K1	K2	K3
Diesel conc. (mg TPH/kg soil)	50,000	100,000	50,000
Temp. ($^{\circ}$ C)	25 \pm 1	25 \pm 1	25 \pm 1
pH		6.6 ~ 7.9	
Mixing speed(rpm)	70	70	70
Aeration(L/min)	0.4	0.4	0.4
Solids content(weight %)	20	20	20
Nutrients addition (phosphate buffer solution)	○	○	X

로 프로그래밍되었고 방출가스내 TPH의 경우 승온프로그램은 TPH의 경우와 동일하게 적용한 상태에서 최종온도 180℃까지 운전되었다. 주입구 온도 및 검출기온도는 모두 310℃로 설정되었다.

3) 탄화수소분해미생물(Hydrocarbon-utilizing microorganisms)의 측정

탄화수소분해미생물의 수를 평가하기 위하여 five-tube MPN법을 이용하였다. 배양액은 resazurin(1mg/L)이 첨가된 diesel fuel-supplemented Bushnell-Haas broth (Difco)였다. 고압멸균된 배양액(diesel fuel이 들어있지 않음) 5mL씩을 5개의 screw-cap tubes 3세트에 넣는다. 그리고 적당하게 희석된 토양부유액(각 세트마다 희석배율이 다르게 적용되도록 조절됨) 1mL씩을 각 세트마다 각각의 희석배율에 해당하는 조절된 희석액을 접종한 후 diesel fuel 50 L씩을 각각의 튜브에 첨가하였다. 첨가된 diesel fuel은 박테리아를 위한 carbon source로써 제공된다. 25℃에서 1주일간 배양 후 양성튜브의 수를 헤아리고 MPN값은 five-tubes에 대한 MPN index를 이용하여 계산되었다. 양성튜브의 색깔은 분홍색(시간이 더 경과됨에 따라 점진적으로 무색화됨)을 띠게 되는데 그 이유는 미생물의 산소소비에 의한 resazurin의 환원현상 때문이다.

3. 결과 및 고찰

3.1 초기농도에 따른 처리효율의 평가

USTs(Underground Storage Tanks)와 관련된 누출석유연료에 의한 토양오염의 경우에 있어서 그 오염의 정도를 예측하기는 매우 어렵다. 따라서 처리가능한 최대농도의 결정은 처리공정의 운영에 매우 중요한 요소로 작용할수 있다. 이러한 점에 초점을 맞추어 본 실험에서는 비교적 고농도로 인

식되는 100,000mg TPH/kg soil의 농도를 반응기에 적용하여 50,000mg TPH/kg soil의 농도를 적용한 반응기와 비교하여 실험을 수행하였다.

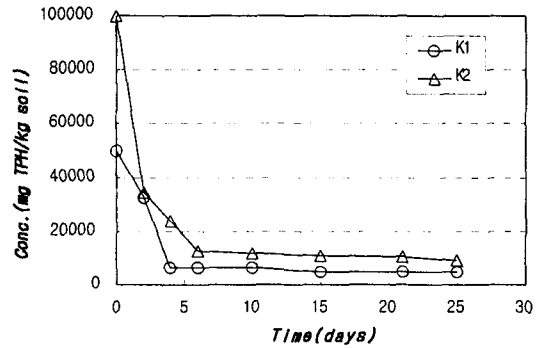


Fig. 2. Total TPH removal.

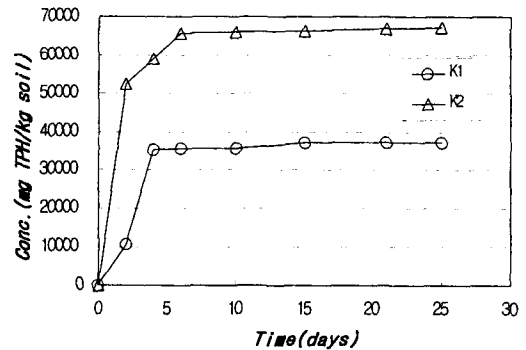


Fig. 3. Cumulative biological TPH removal.

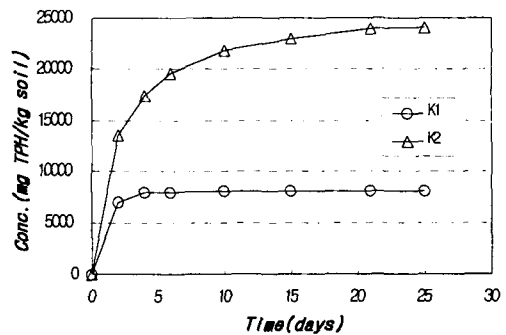


Fig. 4. Cumulative TPH removal by volatilization.

다른 운전조건은 예비실험에서 좋은 결과를 보여준 조건으로 유지하였고 처리효율을 비교평가하였다.

초기농도에 따른 TPH 제거율에 대한 결과를 Figure 2, Figure 3 및 Figure 4에서 도식화하여 나타내었다. 총체적인 TPH제거율을 살펴보면 초기농도 50,000 mg TPH/kg soil을 적용한 K1 반응기 및 초기농도 100,000 mg TPH/kg soil을 적용한 K2반응기를 25일간 운전한 결과 각각 90.5% 및 90.8%의 제거율을 나타내어 처리효율성에 있어서 거의 차이가 없는 것으로 나타났다(Figure 2).

그러나 휘발에 의한 제거를 제외한 순수한 생물학적 제거율만을 고려하였을 경우에는 K1반응기가 74.4%, K2반응기가 67.3%를 나타내어 생물학적 제거율에 있어서 다소 차이(7.1%)가 있는 것을 확인할 수 있었다(Figure 3). 이러한 결과는 1차분해속도상수인 k 값이 K1반응기가 0.045/day, K2반응기가 0.025/day로 나타난 사실에서도 알 수 있다. K2반응기의 경우 k 값이 반응기형태의 호기성처리에서 일반적으로 제시되는 수치에 비하여 비교적 낮은 결과를 나타내었는데, 이것은 초기농도의 부하가 높은 것이 원인이 되어 총체적인 제거율 중 생물학적 제거율이 차지하는 부분이 K1반응기에 비하여 낮기 때문인 것으로 분석되었다.

또한 휘발에 의한 제거손실율은 K1 및 K2 반응기에서 각각 16.1%, 24.0%를 나타내었는데, K2반응기에서 휘발손실율이 큰 이유는 고농도적용에 의한 미생물에 대한 독성작용이 원인인 것으로 판단된다(Figure 4).

3.2 영양소에 따른 처리효율의 평가

영양소는 미생물에게 있어서 세포합성을 위한 필수요소라는 점에서 미생물의 성장과 밀접한 관계를 가지고 있다. 생물학적 처리에 있어서 영양소는

일반적으로 그 처리시스템의 제한요소로서 작용하게 되는데 영양소의 첨가는 미생물에 의한 오염물의 분해를 촉진시킬 수 있다. 이러한 관점에서 본 실험은 미생물에 대한 영양소의 제공이 TPH의 처리효율에 어떠한 영향을 미치는가를 평가하기 위하여 수행되었다.

본 실험에서 실시한 평가방법은 처리수재순환에 의한 미생물량공급시 영양소를 처리용량에 따라 재주입한 경우(K1)와 재주입하지 않은 경우(K3)를 비교평가하는 방법이었다. 영양소공급 및 적정 pH의 유지를 위하여 용액1L당 K_2HPO_4 0.65g, KH_2PO_4 0.17g, $NaNO_3$ 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.03g 및 미량의 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 으로 구성된 인산염완충용액을 공급하였다. 이것을 영양성분비로 환산하면 50,000mg TPH/kg soil을 적용한 본 실험의 경우 TPH: N: P = 100:1:1이다.

영양소합량에 따른 TPH제거율에 대한 결과를 Figure 5, Figure 6 및 Figure 7에서 도식화하여 나타내었다. 총체적인 TPH제거율을 살펴보면 처리수재순환에 의한 미생물량 공급시 영양소를 처리용량에 따라 재주입한 경우(K1반응기)가 90.5%의 제거율(25일기준)을 나타내었고 재주입하지 않은 경우(K3반응기)가 66.0%의 제거율을 나타내어 처리효율성에 있어서 상당한 차이가 있음을 보여주었다(Figure 5).

또한 휘발에 의한 제거를 제외한 순수한 생물학적 제거율만을 고려하였을 경우, 25일 운전후의 생물학적 제거율이 K1반응기가 74.4%(25일기준)를 나타내었고 K3반응기가 41.8%를 나타내어 그 차이가 뚜렷함을 알 수 있었다(Figure 6). 특히 초기농도가 두배로 적용된 K2반응기의 생물학적 제거율이 67.3%인 점을 고려해보면 영양소의 결핍이 처리효율에 미치는 악영향이 얼마나 크게 작용하고 있는가를 알 수 있었다. 이러한 결과로 인하여 1차분해속도상수인 k 값이 K3의 경우

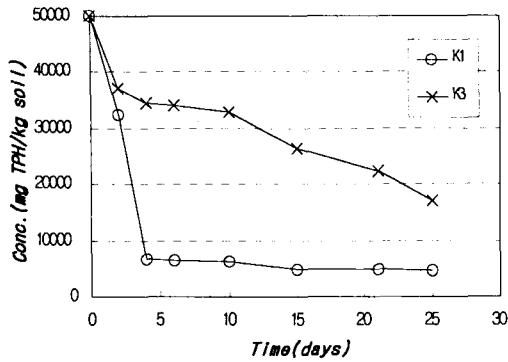


Fig. 5. Total TPH removal.

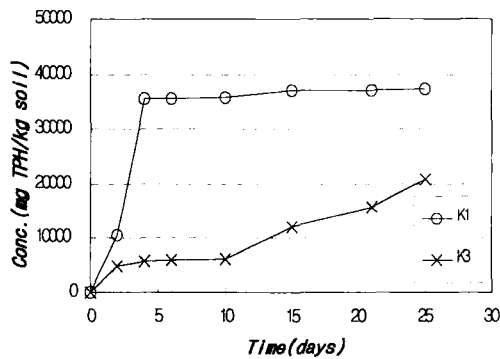


Fig. 6. Cumulative biological TPH removal.

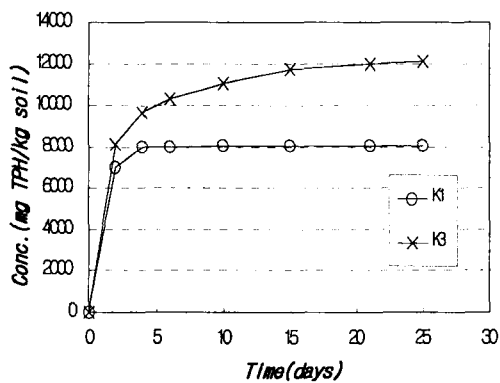


Fig. 7. Cumulative TPH removal by volatilization.

0.020/day를 나타내어 0.045/day를 나타낸 K1에 비하여 상당히 낮은 수치를 보여주었다.

회발에 의한 제거손실은 K1 및 K3 반응기에서 각각 16.1%, 24.2%를 나타내었는데 K3반응기에서의 회발손실이 큰 이유는 영양소가 제한요소로 작용하여 생물학적 제거율이 낮았기 때문에 나타난 결과로 분석된다(Figure 7).

3.3 운전기간 중 탄화수소분해미생물의 성장률변화

본 실험에서는 운전적 제어요소(농도 또는 영양소)가 미생물에게 어떠한 영향을 미치는가를 파악하는 것을 목표로 하였다. 미생물의 성장률변화는 반응기 K2 및 K3에서 관찰되었는데 반응기의 운전조건에 대한 사항은 2.1절의 Table 1에 제시되어 있다.

본 실험을 수행한 결과 최초의 적용농도가 두배나 더 높음에도 불구하고 K2에서의 성장률이 처리수 재순환시 영양소를 재주입하지 않은 K3에 비하여 미생물성장률에 있어서 높은 결과를 나타내었다(Figure 8). K3의 경우도 증가추세를 나타내고 있는데 그것은 처리수의 재순환을 통하여 미생물량 공급시 영양소를 다시 주입하지는 않았지만 잔류영양소가 일부 남아있었기 때문인 것으로 판단된다. 그러나 그래프를 통하여 알 수 있는 사실은 운전 2일 이후의 미생물량이 K2가 K3에 비하여 약 10배

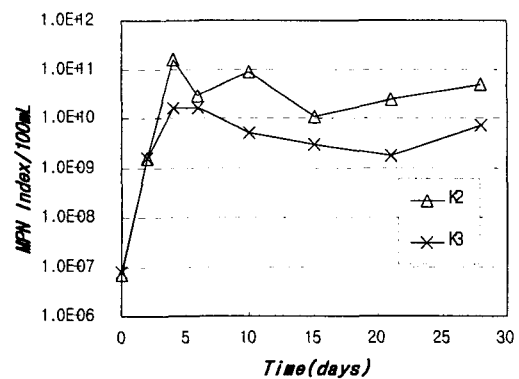


Fig. 8. Microbial growth according to nutrients amount.

가량 높은 수준으로 지속적으로 유지되고 있다는 점인데 이러한 결과는 영양소가 미생물에게 있어서 제한요소로 작용하고 있음을 나타내는 것이다.

전기간동안 미생물량이 약 10배정도 지속적으로 큰 경향을 나타내었다. 즉, 영양소가 미생물에 대한 제한요소로 작용하고 있음을 알 수 있었다.

4. 결 론

슬러리상 생물반응기를 이용한 석유계탄화수소(디젤) 오염토양의 처리에 있어서 초기농도 및 영양소함량이 처리효율에 미치는 영향을 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 50,000 및 100,000 mg TPH/kg soil 의 초기농도를 적용하여 처리효율을 평가한 결과 총체적인 TPH 제거율면에 있어서는 각각 90.5% 및 90.8%의 제거율을 나타내어 두반응기에서의 차이가 거의 없었고 순수한 생물학적 제거율면에 있어서는 각각 74.4% 및 67.3%를 나타내어 다소 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 휘발에 의한 제거손실율의 경우 각각 16.1% 및 24.0%를 나타내어 미생물에 대한 초기농도의 부하가 크게 작용할 경우 그만큼 휘발에 의한 손실율이 차지하는 부분이 커짐을 확인할 수 있었다.

2. 미생물량의 공급을 위한 처리수의 재순환시 처리용량에 따라 영양소를 재주입한 경우와 재주입하지 않은 경우를 비교평가한 결과 영양소를 재주입하지 않은 경우 비생물학적 요소(즉, 휘발)에 의한 제거를 제외한 순수한 생물학적 TPH제거율이 41.8%를 나타내어 영양소를 재주입한 경우의 74.4%에 비하여 상당히 낮은 제거율을 나타내었다. 휘발에 의한 제거손실율의 경우 영양소를 재주입하지 않은 경우(24.2%)가 재주입한 경우(16.1%)에 비하여 상대적으로 차지하는 비율이 큰 결과를 나타내었다.

3. 운전기간중 탄화수소분해미생물의 성장율을 관찰한 결과, 처리수의 재순환시 영양소를 재주입한 경우가 재주입하지 않은 경우에 비하여 초기농도가 두배의 고농도로 적용되었음에도 불구하고 운

참 고 문 헌

1. Autry, A. R., and Ellis, G. M.(1993). "Bioremediation of Petroleum Fuel Contaminated Soils", Federal Environmental Restoration Conference Proceedings, Hazardous Materials Control Resources Institute, 93-100
2. Britto, R., Sherrard, J. H., Truax, D. D.(1993). "Factors Affecting Continuous Bioreactor Treatment of Diesel Contaminated Sandy Soils", 48th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings, Lewis Publishers, 187-198
3. Custance, S. R., Sullivan, M. J., McCaw, P. A., and Kopf, A. C.(1993). "Environmental Fate of the Chemical Mixtures : Crude Oil, JP-5, Mineral Spirits, and Diesel Fuel", Hydrocarbon Contaminated Soils and Groundwater, Vol.3, Kostecki, P. T., and Calabrese, E. J., Eds., Lewis Publishers, Inc., 205-212
4. Dragun, J., Mason, S. A., and Barkach, J. H.(1991). "What Do We Really Know About the Fate of Diesel Fuel in Soil Systems?", Hydrocarbon Contaminated Soils, Volume I, Calabrese, E. J., and Kostecki, P. T., Eds., Lewis Publishers, 149-165
5. Einhorn, I. N., Sears, S. F., Hickey, J. C., Viellenave, J. H., and Moore, G. S.(1992). "Characterization of Petroleum Contaminants in Groundwater and Soils", Hydrocarbon Contaminated Soils, Volume II, Kostecki, P. T., Calabrese, E. J., and Bonazountas, M., Eds., Lewis Publishers, 89-143

6. Fletcher, R. D.(1994). "Practical Considerations During Bioremediation" , Remediation of Hazardous Waste Contaminated Soils, Wise, D. L., and Trantolo, D. J., Eds., Marcel Dekker, Inc., 39-53
7. Gaudy, A., and Gaudy, E.(1980). "Nutrition and Growth Conditions as Selective Agents in Natural Populations" , Microbiology for Environmental Scientists and Engineers, McGraw-Hill, Inc., 175-206