

活性슬릿지법에 의한 炭化水素 함유 廢水의 淨化

고영환*, 강경수*, 김재하*, 고정삼**

Treatment of Artificial Wastewater Containing Hydrocarbon with Activated Sludge

Ko Young-hwan*, Kang Kyung-soo*, Kim Jai-ha*, Koh Jeong-sam**

ABSTRACT

Activated sludge process which has been widely applied to the treatment of wastewater was slightly modified to remove hydrocarbons from wastewater. The process of wastewater treatment consisted of two consecutive reactors. Cells of *Acinetobacter calcoaceticus* were first cultivated in synthetic wastewater containing 3% (W/V) of hydrocarbons. The resulting culture was then exposed to acclimatized active sludge. Hydrocarbon concentrations of the effluent from the process were 0.19-0.21% (W/V). The contents of suspended solid were reduced to 17-53 mg/l. The data imply that *A. calcoaceticus* can be used for the treatment of wastewater containing hydrocarbons.

서 론

탄화수소는 원유의 구성분으로서 원유의 생산, 저장, 운반, 사용, 그리고 사용후의 처리문제등에서 유출되어 심각한 환경오염문제를 일으킬 수 있다. 원유중의 탄화수소 성분은 다양하여 휘발성이 높은 저분자의 것으로부터 상온에서도 고체상을 띄는 고분자의 화합물이 있으며 일부는 휘발, 또는 광분해에 의해서 제거될 수도 있다¹⁾.

탄화수소를 분해하는 미생물 또한 다양하며, 세균으로는 *Pseudomonas*, *Xanthomonas* 및 *Acinetobacter* 등이 대표적이다^{2,3)}. 그러나 탄화수소중에는 특성상 생물의 생육을 저해하는 성분이 있으며, 소수성으로 인하여 분산이 이루어지지 않고 덩어리를 이루고, 수분의 침투를 막음으로써 미생물에 의한 분해를 어렵게 하기도 한다. 폐수중의 탄화수소는 다른 유류성분과 혼재되어 있는 경우가 많으며, 미생물에 의한 분해 이전에

* 식품공학과

** 농과대학 농화학과

부유상태의 성분을 물리적으로 분리제거할 수도 있다. 여타 제거되지 않은 성분들은 활성슬러지법으로 제거할 수 있다. 활성슬러지법⁴⁾은 광범위하게 이용되고 있는 폐수처리방법으로 여러종류의 미생물들이 복합적으로 관여하여 호기적 조건하에서 유기물을 탄산가스와 물로 분해시키고, 여기서 생기는 균체 및 기타 부유물질들은 침강시켜 제거하고 청정한 상등액은 흘려보내는 방법이다.

본 연구에서는 폐수중의 alkane계 탄화수소를 *Acinetobacter calcoaceticus*로 분해제거하는 방법을 모색하고자, 활성슬러지법을 변형하여 먼저 탄화수소를 분해시키고 순차적으로 균체 등의 부유물질을 제거하는 2단계 처리법을 시도하여 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주 : Koh⁵⁾에 의해서 분리동정된 유지 및 탄화수소 자화세균 *A. calcoaceticus*를 탄화수소 분해세균으로 사용하였고, *Bacillus cereus*, *Rhizobium fredii*, *Zoogloea ramigera* 등의 세균은 활성오니를 만드는데 사용하였다. *A. calcoaceticus*는 Table 1과 같은 조성의 배지에서 배양, 보존하였고, *R. fredii*는 Mannitol-Glutamate배지⁶⁾에서, 그리고 *B. cereus*와 *Z. ramigera*는 nutrient broth(또는 nutrient agar)배지에서 각각 배양, 보존하였다. 배양온도는 *A. calcoaceticus*의 경우는 39°C, 나머지 균주는 28°C였다.

Table 1. Medium composition for the growth of *Acinetobacter calcoaceticus*

Components	Concentration (% W/V)	Components	Concentration (% W/V)
carbon source	2-3	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.6
KH ₂ PO ₄	0.4	Na ₂ HPO ₄	0.6
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.001
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.001	Corn steep liquor	0.01-0.10
Tween 20	0.2	Agar as needed	1.5
pH	7.0		

탄화수소의 정량법 : Bligh-Dyer법⁷⁾을 다음과 같이 변형하여 배양전후의 탄화수소를 정량하는데 사용하였다. 균체 배양액 5ml에 methanol과 chloroform 혼합액(2.45 : 1.21) 18.3ml를 가해서 잘 섞고 난 후 3000rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 원심분리후 하부액(용매층)을 취하여 거기에다 12.1ml의 물과 chloroform 혼합

액(1.21 : 1.21)을 섞고 위와 같이 원심분리하여 하부액(용매층)을 취하고 질소가스하에서 용매를 휘발시킨 후 105°C에서 건조시켰다. 건조후의 무게를 측정함으로써 탄화수소의 양을 결정하였다.

균체농도 측정법 : 배양액중의 균체농도는 탁도를 측정하여 표준곡선으로부터 추정하여 결정하였다. 그 방법⁸⁾은 다음과 같다. 1ml의 배양액

을 시험관에 취하고 증류수로 6배 희석하였다. 희석액 1ml를 새로운 시험관에 취하여 5ml의 dioxane과 ethylacetate 혼합액(3:2)을 가하고 균질하게 섞은 후 560nm에서 흡광도를 읽었다. 흡광도에 상응하는 균체농도를 표준곡선상에

서 추정하였다. 균체농도와 흡광도와와의 관계를 나타내는 표준곡선은 일정량의 균체를 사용하여 상기한 바와 같은 방법으로 흡광도를 읽음으로써 작성하였다.

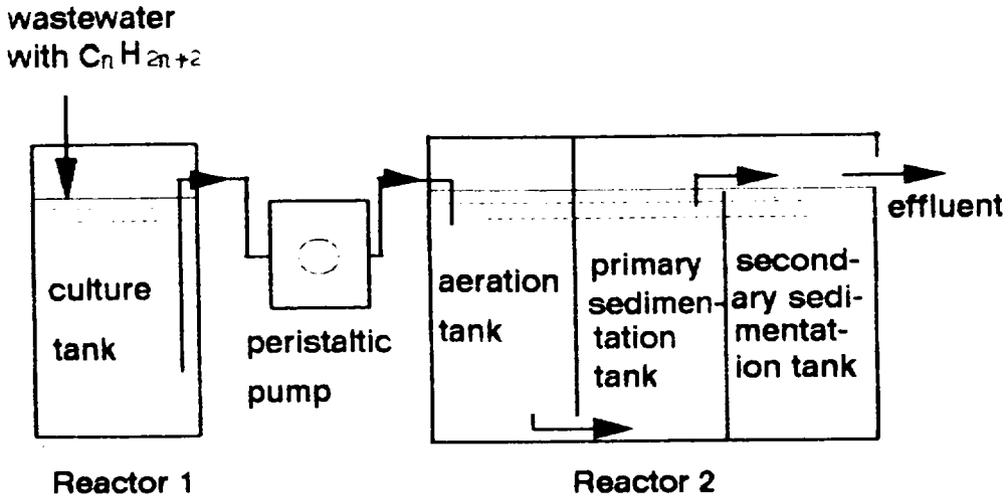


Fig.1. Scheme of the process for the wastewater treatment.

폐수처리: 탄화수소를 함유하고 있는 폐수를 정화시키기 위하여 *A. calcoaceticus*를 배양해드 배양액중의 균체 및 대사산물등의 영향으로 탁도가 높고 부유물질의 함량이 높았다. 더구나, 배양액을 오랫동안 정치시켜두어도 균체가 가라앉지 않아서 상기세균을 단일 균주로 폐수정화에 이용하는데는 문제가 있었다. 그리하여 탄화수소를 일차적으로 *A. calcoaceticus*로 분해처리한 다음 2차적으로 그 배양액을 정화하는 2단계 처리법을 시도하였다. 실험에 사용된 폐수처리장치는 폭기조(10 liter)와 1차 침전조(5 liter) 및 2차 침전조(5 liter)로 구성되어 있으며(Fig.1 참조), pH 6.0-7.0, 15°C 내외에서 한달이상 예

비 가동하여 sludge의 생성을 유도하고 탄화수소 배양액을 지속적으로 첨가시켜 sludge의 환경적용을 유도하였다. sludge의 주요구성 미생물로는 *Rhizobium*, *Bacillus*, *Zoogloea*속의 세균을 사용하였다. 처리효과를 보기 위해서 *A. calcoaceticus* 24시간 배양액을 연속적으로 통과시켜(0.2 liter/hr) 나오는 유출수 중의 부유물질(SS)과 탄화수소의 농도를 측정하였다.

부유물질(suspended solid)시험법: 환경오염공정시험법⁸⁾에 따라 시료를 유리섬유(CF/C, Whatman)로 여과하고 여과 전후의 여지 무게차로부터 부유물질의 함량을 산출하였다.

결과 및 고찰

1. *A. calcoaceticus*에 의한 탄화수소의 분해 이용

탄화수소 함유 폐수를 활성 슬러지법에 의해서 정화시키기 위해서는 우선 탄화수소 분해 미생물이 있어야 한다. 세균에 있어서 탄화수소중 Alkane의 분해는 P₄₅₀ monooxygenase에 의하여 분자상의 산소가 탄화수소의 말단에 들어감으로써 alcohol형태로 전환되고 지속적으로 더

산화과정을 밟으면 aldehyde와 fatty acid 형태를 거쳐 beta-oxidation에 의하여 궁극적으로 CO₂와 H₂O로 분해되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. *A. calcoaceticus*에 의한 탄화수소 분해여부를 결정하기 위해서 hexadecane과 octadecane을 약 2.4% 함유한 액체 배지에서 24시간 동안 39°C에서 진탕배양하면서 배양중의 균체농도와 탄화수소의 양을 측정된 결과는 Table 2와 Table 3에 나타낸 바와 같다.

Table 2. Effects of cultivation time on the growth of *Acinetobacter calcoaceticus* and the utilization of hexadecane

Cultivation time (hr)	0	3	6	9	24
Cell mass (g/l)	0.75	1.15	1.80	2.55	4.10
Increase in cell mass (g/l)	0.00	0.40	1.05	1.80	3.35
Hexadecane concentration (% W/V)	2.452	2.312	2.064	1.684	1.476
Hexadecane consumed (% W/V)	0	5.7	15.8	31.3	39.8
Hexadecane consumed (g/l)	0	1.40	3.88	7.68	9.76
Cell yield#	NA	0.29	0.27	0.23	0.34

Abbreviation : NA, not applicable.

Cell yield = Increase in cell mass (g/l) / Hexadecane consumed (g/l)

Table 3. Effects of cultivation time on the growth of *Acinetobacter calcoaceticus* and the utilization of octadecane

Cultivation time (hr)	0	3	6	9	24
Cell mass (g/l)	0.65	1.25	1.95	2.65	4.05
Increase in cell mass (g/l)	0.00	0.60	1.30	2.00	3.40
Octadecane concentration (% W/V)	2.424	2.312	2.028	1.588	1.464
Octadecane consumed (% W/V)	0	4.6	16.3	34.5	39.6
Octadecane consumed (g/l)	0	1.12	3.96	8.36	9.60
Cell yield#	NA	0.54	0.33	0.24	0.35

Abbreviation : NA, not applicable.

Cell yield = Increase in cell mass (g/l) / Octadecane consumed (g/l)

배양시간이 경과함에 따라 균체농도가 증가하고 그와 반면에 기질탄소원인 hexadecane과 octadecane의 농도가 감소함을 알 수 있었다. 뿐만 아니라, 탄소원의 분해가 일어나면서 배양액의 유화작용이 일어나고 있음을 배양액의 탁도 증가와 탄화수소의 액중분산으로 부터 유추할 수 있었다. 이는 탄화수소의 분해과정에 생성된 지방산의 염이나, 또는 *A. calcoaceticus*가 생성하는 일종의 계면활성을 가진 물질 때문이라고 생각된다. 24시간 배양후의 기질 소비율은 약 40%였고, 소비된 기질에 대한 균체수율은 약 35%였다. 배양액 중의 최초 탄화수소 농도는 2.4% 내외로 비교적 높은 편이며 그렇기 때문에 기질 소비율 및 균체수율이 낮은 것으로 생각된다. Table 2와 Table 3는 *A. calcoaceticus*가 탄화수소를 유일한 탄소원으로 하여 생육할 수 있음을 명확히 보여주고 있다. 더구나 hexadecane

과 octadecane이외의 탄화수소도 *A. calcoaceticus*에 의하여 분해이용될 수 있음을 시사하고 있다.

2. 활성슬러지 법에 의한 폐수처리 효과

전술한 바와 같이 탄화수소를 분해하는 세균 *A. calcoaceticus*를 탄화수소를 함유한 폐수를 정화하는데 이용하기 위한 방법을 모색하고자 하였다. 그러기 위해서 먼저 Table 1과 같은 조성을 가진 합성폐수를 만들되 hexadecane과 tetradecane의 농도가 3.0%가 되도록 하였다. 합성폐수에 *A. calcoaceticus*를 접종하여 24시간 동안 진탕배양하여 탄화수소의 1차적인 분해를 유도하고 2차적으로 활성슬러지법에 의한 정화작업을 시도하였는데 그 결과는 Table 4와 Table 5에 나와 있는 바와 같다.

Table 4. Treatment of synthetic wastewater containing hexadecane with activated sludge#

Items	Before treatment	After treatment
Suspended solid (mg/l)	2090	53
Hexadecane concentration (% W/V)	0.19	0.05

Synthetic wastewater containing hexadecane (3.0%, W/V) was inoculated with cells of *Acinetobacter calcoaceticus* and cultivated at 39°C for 24hrs prior to treatment with activated sludge as mentioned in Materials and Methods.

Table 5. Treatment of synthetic wastewater containing tetradecane with activated sludge#

Items	Before treatment	After treatment
Suspended solid (mg/l)	1730	17
Tetradecane concentration (% ,W/V)	0.21	0.01

Synthetic wastewater containing tetradecane (3.0%,W/V) was inoculated with cells of *Acinetobacter calcoaceticus* and cultivated at 39°C for 24hrs prior to treatment with activated sludge as mentioned in Materials and Methods.

균체 배양액중의 부유물질(suspended solid 기준)은 활성슬러지 처리전에는 2090mg/l (hexadecane 함유폐수의 경우)와 1730mg/l (tetradecane 함유폐수의 경우)였으나, 처리후에는 각각 53mg/l와 17mg/l로 낮아졌다. 탄화수소의 함량도 hexadecane은 0.19%에서 0.05%로, tetradecane은 0.21%에서 0.01%로 각각 감소하였다. 부유물질의 감소는 활성슬러지를 구성하는 생물들의 특성에 의한 것으로서 정화작업이 진행되는 과정에 부유물질의 감소와 더불어 슬러지양의 증가를 관찰할 수 있었다. 합성폐수 중의 탄화수소 함량의 감소는 *A. calcoaceticus*와 활성슬러지중의 미확인 미생물에 의한 것이라고 추측된다. 활성슬러지법에 의한 반응조의 용량(20 liter)과 폐수 유입속도(0.2 liter/hr)를 고려하면 폐수의 체류시간(HRT)은 100hr(약 4 일)이었다.

본 연구에서는 *A. calcoaceticus*에 의한 탄화수소의 1차분해에 이어서 2차적으로 활성슬러지에 의해 탄화수소 함유 폐수를 정화시키는 방법을 시도하여 전술한 결과(Table 4및 Table 5)를 얻었으나, *A. calcoaceticus*를 활성슬러지에 접종하여 혼합배양으로, 1차적인 탄화수소의 분해과정을 거치지 않고, 폐수정화를 시도해 볼 수도 있다. 그러나, 탄화수소의 분자량이 클수록 용융점이 높고, *A. calcoaceticus*의 최적 성장온도가 39°C인 점⁵⁾과 현실적인 폐수처리장의 실온(대부분 15-25°C)을 고려하여야 할 것이다.

사 사

이 연구는 1990년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 지방대육성 학술연구조성비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드린다.

참 고 문 헌

- 1) 김상진. 1991. 유류오염처리. 생물산업, 4 (1), 77-86.
- 2) 김성희, 김창숙, 조인선, 최순영, 민경희. 1990. 미생물에 의한 원유중 Alkane 성분의 분해. 한국미생물학회지, 28(1), 71-75.
- 3) 송재욱, 박경량, 박용근, 이영록. 1990. 다양한 난분해성 방향족탄화수소를 분해하는 *Pseudomonas* 개발균주의 폐수에의 적용. 한국미생물학회지, 28(3), 243-248.
- 4) 김갑수, 김오식. 1988. 제1장 활성슬러지법. 신활성슬러지법, pp.11-54. 녹원출판사. 서울.
- 5) Koh, jeong-sam. 1984. Microbial utilization of palm oil. A dissertation, The University of Tokyo, Japan.
- 6) Sherwood, M.T. 1970. Improved synthetic medium for the growth of *Rhizobium*. J. Appl. Bacteriol., 33, 708-713.
- 7) Bligh, E.G. and W. J. Dyer. 1967. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911-917.
- 8) 환경오염공정시험법. 1983. 수질편, 제7항 부유물질 시험법, pp. 602-603. 환경청.
- 9) Walsh, Christopher. 1979. Chapter 15. Hemoprotein oxidases, monooxygenases, and reductases. in Enzymatic Reaction Mechanisms, pp.464-500. W.H. Freeman and Company. USA.