

활성 Sludge에 의한 Benzene의 생물학적 처리

유재근¹·김정현²·이형환^{2*}

¹국립환경연구소 생물공학과 ²건국대학교 생물학과

Biological Treatment of Benzene by Activated Sludge

Ryu, Jae-Keun¹, Jung-Hyon Kim², Hyung-Hoan Lee^{2*}

¹Division of Wastewater Engineering, National Institute of Environmental Research,
Seoul 122-040, Korea

²Department of Biology, Kon Kuk University, Seoul 133-701, Korea

Treatability and maximum no inhibitory effect concentration of benzene were measured in the synthetic wastewater medium by the activated sludge in the continuous activated sludge reactor. The maximum no inhibitory effect concentration was 1,600 mg per liter. Benzene concentration over 500 mg per liter inhibited the growth of microorganisms by the measurement of E/BOD, and the treatability of benzene at the maximum no inhibitory effect concentration was over 95%.

벤젠은 방향족 화합물의 기본물질로서 유기화학 공업분야에서 널리 사용되고 있으나, 구조적 특성으로 인해 독성작용 및 난분해성을 띄고 있어 환경오염의 주요 원인물질로서 폐수에 축적되어 있다(1). Slooff 등(2)의 연구결과에 의하면 금붕어가 벤젠이 6.6 mg/l 함유된 물에서 치사되고, 양서류인 Mexican axolotl도 370 mg/l에서 치사되는 것으로 나타났고, 또한 원생동물인 *Uronema paduczi*를 순수배양한 후 벤젠 486 mg/l을 넣어주면 증식이 억제되었다고 보고했다. 세계보건기구의 음료수 기준에는 벤젠이 10 µg/l 이하로 규정되어 있으며(3), 벤젠은 발암물질이기 때문에 엄격하게 관리하고 있다. 이와 같이 독성작용이 큰 벤젠의 생물학적 처리연구에는 *Pseudomonas*속(4)과 *Achrombacter*속(5)의 균들의 이용이 되고 있다. 그러나 실제 그 폐수처리에서 중요한 역할을 하는 대부분의 미생물과 처리효율과 관련된 연구는 미약하여 국내에서는 Ryu와 Suh(11)이 보고한 환경오염물질 처리를 위한 생물공학적 연구와 산업폐수의 생물학적 처리성 평가에 관한 연구는 Suh와 Ryu(6) 이외에는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 활성슬러지(미생물 혼합배양)에 의

한 벤젠 처리실험을 통하여 활성슬러지의 벤젠 처리 가능 최대 농도와 처리효율을 연구하였다.

재료 및 방법

사용한 미생물군

중량친 하수처리장에 있는 반송슬러지(sludge)에 함유되어 있는 미생물을 이용했다.

배 지

합성폐수배지를 이용하였으며, 그 조성은 다음과 같다. 즉 Glucose 300 mg, (NH₄)₂SO₄ 1500 mg, MgSO₄·H₂O 1.5g, CaCl₂ 1.13 mg, KH₂PO₄ 25.5 mg, K₂HPO₄ 62.25 mg, Na₂HPO₄·7H₂O 100.2 mg과 NH₄Cl 5.1 mg을 1l의 증류수에 용해하여 사용했고, 벤젠 첨가때는 일정농도를 합성폐수에 맞춰 넣었다.

전해질 산소요구량(electrolytic biological oxygen demand: E/BOD)실험에 사용한 배양액은 표준방법(7)에서 제시한 BOD에 사용되는 희석수에 일정농도의 벤젠을 첨가했다.

Key words: Activated sludge, microbiological treatment of benzene.

*Corresponding author

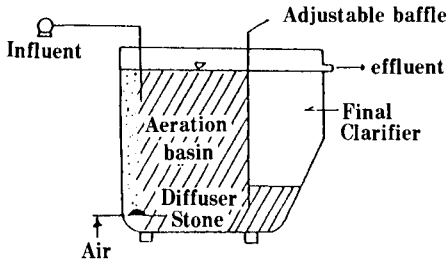


Fig. 1. Structure of activated sludge reactor.

슬러지(혼합 미생물군)의 배양

모든 처리실험에 사용되는 슬러지 성상을 일정하게 유지하기 위하여 Fig.1과 같은 실험실적 규모 (bench scale)의 활성슬러지 반응조를 일정한 운전 조건으로 운전하여 폭기조 내에 균일한 성상의 미생물군이 자라도록 하였으며, 실험장치의 운전조건은 다음과 같다. 폭기조 용량은 17l로 수리학적 체류시간(HRT : hydraulic retention time)은 8시간, 고형물 체류시간(SRT : solid retention time)은 6일, 혼합액 부유물질(MLSS : mixed liquor suspended solid)은 약 2,000 mg/l로 운전하였다. 운전 형식은 혼합연속흐름식(CFSTR : continuous flow stir tank reactor)과 회분식(batch type)을 사용하여 균일한 미생물군을 배양했다. 미생물 접종은 중량천하수처리장 반응슬러지를 사용하였다. 유입수로는 합성폐수를 사용했으며, COD(chemical oxygen demand)농도는 약 300 mg/l이 되도록 유지하였고, 반응조 내의 수온, 용존산소, pH, MLSS, 유출수, COD 등을 주기적으로 측정하였으며 반응조가 정상 상태에 도달한 후 일정농도의 MLSS를 3,000 mg/l로 유지시켜 주며 실험을 수행하였다(12).

슬러지 내생호흡률 측정

활성슬러지 반응조에서 성장하고 있는 표준화된 혼합미생물군 배양이 벤젠처리에 적합한가를 판단하기 위해 미생물의 내생호흡률(endogenous respiration rate)측정 방법을 택했으며 실험방법은 다음과 같다. Fig.1로부터 1l의 슬러지(MLSS는 약 2,000 mg/l)를 비이커에 옮겨 표준방법에서 제시된 BOD에 사용되는 0.4M 인산 완충액을 40배 희석한 용액으로 3번 세척하였다. 이것을 실온에 정치하여 침전시킨 후 상등액은 버리고 슬러지에 인산 완충액을 채워 1분정도 폭기시키며 세척해준 후 다시 침전과정을 3회 반복한 후 원래의 부피(1l)로 인산 완충액을 채워주었다. 벤젠을 대상으로 실험하기 전에 완충액으로 세척하여 외부기질이 완전히 제거된 상태의 슬러지로 만든 후 이것을 사용하여 산소 소모율

(oxygen uptake rate)을 측정하여 내생호흡률을 측정하고 난후 벤젠의 농도를 500, 1,400, 1,700, 2,000, 2,500 mg/l로 증가시키면서 주입시켜 각 벤젠의 농도에 따른 산소 소모율의 변화를 측정하였다. 미생물에 의한 산소 소모율 측정용 시료 100 ml를 준비하고, 내생 호흡률의 경우는 활성슬러지 반응조의 혼합 배양액으로부터 세척되어 준비된 슬러지 90 mg에 증류수 10 mg을 첨가하고, 벤젠 주입시는 슬러지 90 ml에 계산된 농도의 벤젠양을 주입하고 나머지 부피만큼만 증류수로 채워 100 ml로 준비하였다. 준비된 시료는 산소를 불어넣어 포화시킨 후 60 ml BOD병으로 옮겨 자체혼합기와 프로브(probe)가 부착된 DO측정기(YS model 57)에 의해 포화농도로부터 서서히 감소되는 양을 측정하여 포화 산소농도의 30% 정도의 산소가 소모될 때까지 측정하였다. 이와같은 방법에 의해 측정되는 산소 소모율은 다음식에 의하여 계산하였다(8).

$$\text{산소 소모율} = \frac{Cs(Pi - Pf)}{100 \times t \times VSS} \times 60$$

Cs는 포화 산소농도(mg/l),
Pi는 to에서의 포화율(%),
Pf는 tn에서의 포화율(%)

VSS는 슬러지의 휘발성고형물 농도(mg/l)이고, 산소 소모율 단위는(mgO₂/mg VSS-hr)로 나타냈다.

이와같이 벤젠의 농도별 산소 소모율을 구한 다음에 내생 호흡률과의 상대값(R)을 다음식에 의거 구했다.

$$R = \frac{\text{벤젠의 농도별 산소 소모율}}{\text{내생 호흡률}}$$

또한, 미생물의 내생호흡에 영향을 미치지 않는 벤젠의 최대 농도를 최대허용농도(maximum no inhibitory effect concentration : MNIEC)라 정의하여 측정하였다.

E/BOD 호흡률 측정

본 실험을 위하여 Fig.2와 같은 Respirometer (Model 3-206, O. I. Co)를 사용하였으며, 자료분석을 위한 준비단계로 계기 보정을 위해 아황산나트륨(Na₂SO₃)을 이용하여 계기 표준화 실험을 실시하였다. 3번의 측정결과 1.0g의 아황산나트륨에 의한 이론적 산소소비식(126.4±2 mgO₂)에 근접한 값(124.3, 123.9, 125.7 mgO₂)을 얻을 수 있어 벤젠의 분석시 신뢰성 있는 자료를 구하였다. E/BOD 측정을 위한 벤젠의 농도는 1l용기에 100, 200, 300, 500, 1,000, 1,500 mg/l가 되도록 희석하여 주입하였으며, E/BOD 병에 접종은 균일화된 혼합 미생물군에

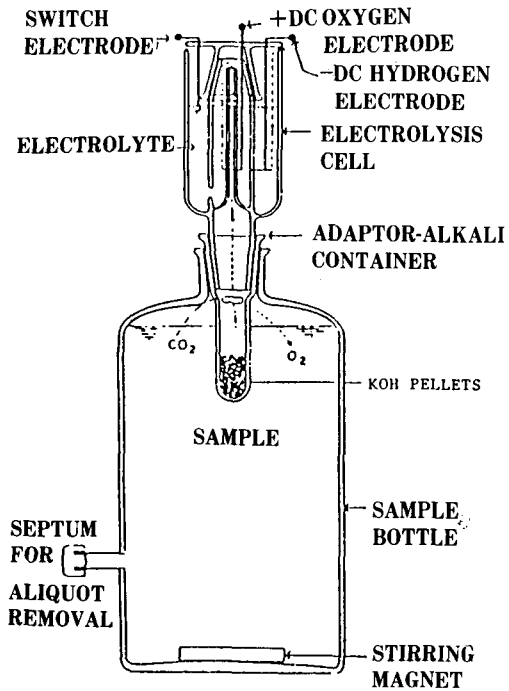


Fig. 2. Structure of electrolytic BOD respirometer.

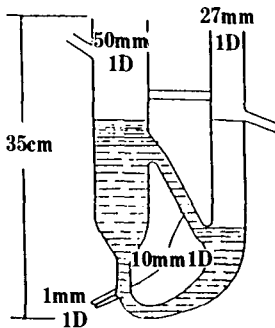


Fig. 3. Structure of Davis-Swisher reactor.

서 10ml/씩 하였다. 또한 여기서 벤젠을 첨가하지 않은 대조실험도 실시하였다.

슬러지 처리도 측정

처리도 실험을 위해서 Fig. 3을 이용하여 실시하였으며, 합성폐수를 미생물의 먹이로 첨가했다. 실험중에 반응조(組)로 나누어 운전하였으며, 3개조는 벤젠을 농도별로 증가시켜 주며 유지하고 나머지 1조는 대조실험으로 유지하여 주었다. 운전조건은 다음과 같다. 반응기의 폭기조 용량은 350ml, 수리학적 체류시간은 8시간, 고행물 체류시간은 1주일, MLSS는 약 2,000mg/l, 운전형태는 완전혼합 연속 흐름식, 접종은 Fig.1의 균일화된 혼합 미생물 반응

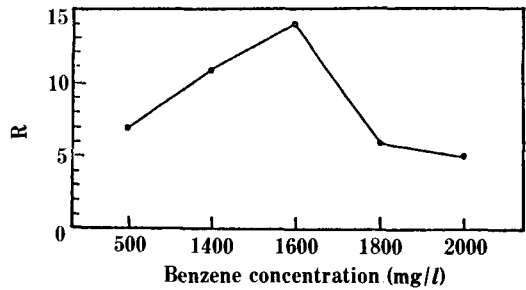


Fig. 4. Maximum no inhibitory effect concentration of benzene.

R = oxygen uptake rate at different benzene concentration/endogenous respiration rate

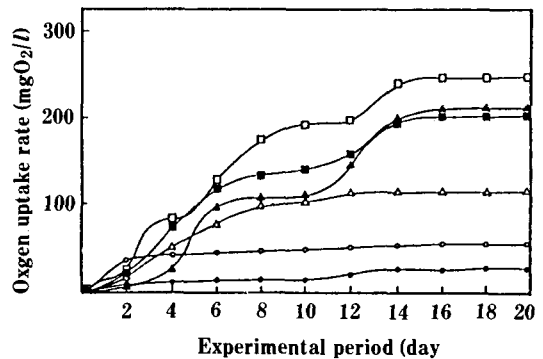


Fig. 5. Variation of oxygen uptake rate for increasing benzene concentration.

Symbols: (△), 100 mg of benzene per liter; (▲), 200; (□), 300; (■), 500; (○), 1000; (●), 1500

조의 슬러지로 하였다. 측정방법은 표준방법(7)에 제시된 COD 크롬법과 MLSS 측정법을 사용하였다.

결과 및 고찰

슬러지의 호흡률 측정

최대허용농도 측정(MNIEC): 활성슬러지내 미생물의 내생호흡에 미치는 영향을 측정하여 미생물의 내생호흡에 영향을 미치지 않는 최고농도의 벤젠을 대상으로 MNIEC를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 측정된 MNIEC는 벤젠의 농도가 활성슬러지에 의해 분해되는 양을 정량하는 것이 아니라 단지 상대적인 농도의 범위를 나타낸 것이다. 벤젠 농도 160mg/l 까지 농도가 증가함에 따라 미생물 호흡률이 증가하였으며, 벤젠 농도 1,800mg/l에서는 호흡률이 급격히 떨어졌다. 그런 결과를 보아 벤젠 농도 1,800mg/l가 슬러지 미생물에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 본 실험은 실험조건이 활성슬러지로부터 미생

물 자체를 제외한 탄소원을 완전히 제거시킨 후 벤젠을 유일한 탄소원으로 첨가한 상태이기 때문에 실제 처리장에서는 다른 탄소원이나 영양소가 많아 본 실험에서의 MNIEC보다 높은 농도까지도 처리가 가능할 것으로 생각된다. 특히 MNIEC 측정은 회분식 실험인 만큼 실제 처리장에서의 운전조건인 연속운전의 경우에서와 같이 일정농도가 계속 유입될 경우에서의 영향을 알기 위해서는 실험적인 규모의 연속식 반응조를 사용하여 처리도 실험을 하여야만 한다. 그러한 이유로 처리도 실험은 벤젠의 MNIEC 농도인 1,600 mg/l을 상한 선으로 하여 실시하였다.

E/BOD 호흡률 측정: 생물학적 처리방법에 의해 벤젠을 처리할 때 호흡률 측정은 미생물학적 독성을 측정하기 위해서 지금까지 많이 사용되어온 방법으로, E/BOD 호흡률 측정계기는 미생물이 희석된 상태에서 측정이 되므로 MNIEC의 결과보다는 훨씬 낮은 농도의 벤젠에 영향을 보여 줄 가능성이 많다.

유일한 탄소원으로 사용한 벤젠의 각 농도별 초기농도에서 시간이 경과함에 따라 미생물에 의한 전체 산소 소모량이 변화하는 것을 보여주고 있는데, 벤젠 농도가 100, 200, 300, 500, 1,000, 1,500 mg/l로 증가함에 따라 시간에 따른 산소 소모량은 Fig. 5와 같이 나타났다. 벤젠 농도가 100-300 mg/l까지는 호흡률이 높게 나온 것으로 보아 벤젠에 대한 독성 영향이 없는 것으로 생각된다. 반면에 500 mg/l 이상에서는 미생물이 벤젠에 의해 성장방해를 받은 것으로 나타났으며, 벤젠 농도 1,000 mg/l 이상에서는 독성영향이 강하게 나타났다. 또한, 벤젠 농도 200, 300, 500 mg/l의 경우 여러개의 유도기 (lag phase)를 가진 모양을 나타내고 있다. 이는 벤젠고리의 생분해 과정에서 여러 중간화합물들이 생성되어(9), 벤젠 농도 200, 300과 500 mg/l에서 여러개의 유도기를 가진 그래프가 나타난 것으로 추정된다. 또한 독성작용으로는 *Pseudomonas putida*의 경우 증식을 억제시키는 농도가 92 mg/l인 것(10)과 비교할 때

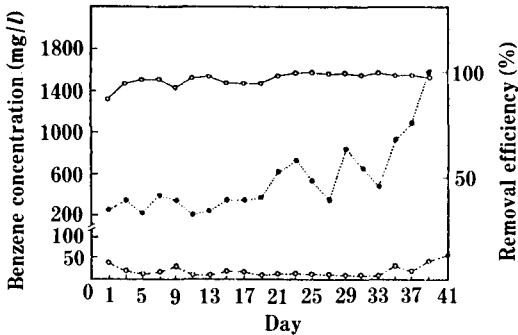


Fig. 6. Daily variation of influent and effluent COD, and COD removal efficiency in reactor 1.

Symbols: (○-○), removal efficiency; (●---●), influent COD; and (○---○), effluent COD.

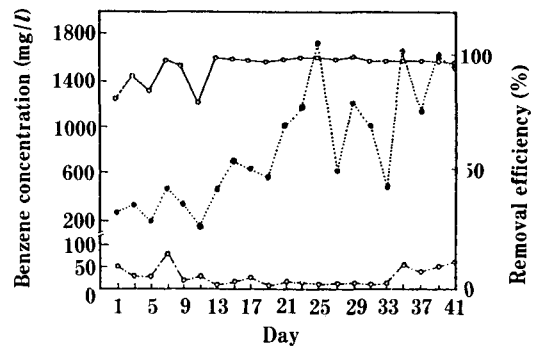


Fig. 8. Daily variation of influent and effluent COD, and COD removal efficiency in reactor 3.

Symbols: (○-○), removal efficiency; (●---●), influent COD; and (○---○), effluent COD.

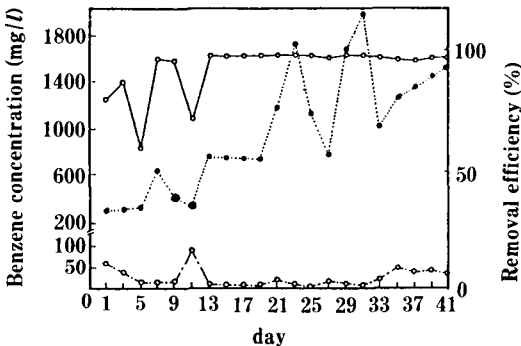


Fig. 7. Daily variation of influent and effluent COD, and COD removal efficiency in reactor 2.

Symbols: (○-○), removal efficiency; (●---●), influent COD; (○---○), effluent COD.

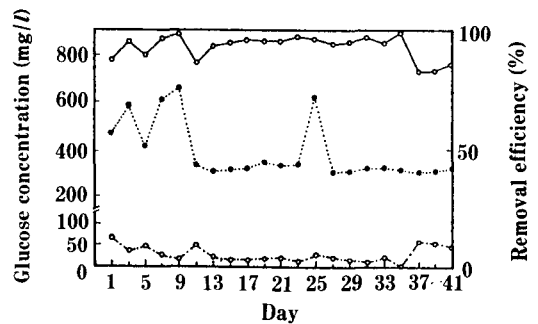


Fig. 9. Daily variation of influent and effluent COD, and COD removal efficiency in reactor 4.

Symbols: (○-○), removal efficiency; (●---●), influent COD; and (○---○), effluent COD.

많은 차이를 낸 것은 단일균주의 경우 이들 물질에 대한 분해능력이 결여될 수 있으나 혼합미생물군 (mixed culture)에서는 이들에 적용할 수 있는 다른 균종들의 활동에 의해 더 높은 농도에서 억제효과가 나타나기 때문이라고 사료된다.

벤젠의 처리도

본 실험은 벤젠을 기질로 사용하였을 경우 미생물에 의한 벤젠 처리농도를 측정하기 위한 것으로 미생물의 활성에 영향을 끼치지 않는 최대허용농도 (MNIEC) 이하에서 실시하였다. 반응기 1, 2, 3의 경우 시간변화에 따라 벤젠 농도 증가폭을 변화시켜 가며 미생물에 의한 벤젠처리 정도를 측정하였으며, 반응기 4는 대조실험으로서 벤젠대신 글루코스를 사용한 실험이다. 벤젠 농도 변화에 따른 처리율의 변화는 Fig. 6, 7과 8의 경우 모두 95% 이상의 높은 처리효율을 보여주고 있으며 벤젠 농도 증가폭에 따른 처리효율의 변화는 나타나지 않았다. Fig. 9는 글루코스농도를 약 400 mg/l에서 활성슬러지에 의한 글루코스 처리효율을 나타낸 그래프로서 실험기간 동안 처리효율이 90% 이상을 보여주고 있다. 실험 결과 반응기 1, 2, 3, 4 모두 90% 이상의 처리효율을 보여주고 있다.

요 약

활성슬러지법에 의한 벤젠 폐수처리실험을 통하여 활성슬러지의 벤젠처리 가능농도와 효율을 연구하였다. 내생호흡을 측정법에 의한 활성슬러지의 벤젠 최대허용농도는 1,600 mg/l로 측정되었고, electrolytic BOB의 측정결과 벤젠 농도가 500 mg/l에서는 미생물의 증식을 억제하였으며, 미생물의 활성에 영향을 끼치지 않는 최대허용농도 이하에서 활성슬러

지의 벤젠의 처리능력은 95% 이상이었다.

참고문헌

1. Environmental protection agent: Identification of organic compounds in effluents from industrial sources. EPA 560, 3-75-002 (1975).
2. Slooff, W., and R. Baerselman: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, 439 (1980).
3. WHO: Guidelines for drinking water quality. **1**, 6 (1984).
4. Gibson, D.T.: *CRC Critical Res. Microbiol. Rev. Microbiol.*, **1**, 199 (1972).
5. Leisinger, T.: Microbial degradation of xenobiotic and recalcitrant compounds. Academic Press, London. (1981).
6. Suh, Y.S., and J.K. Ryu: The Report of Natl. Environ. Protection Inst., Korea. Vol. 2, 190 (1980).
7. American Public Health Association: Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th ed., Washington D.C., (1985).
8. Young, J.C.: E/BOD respirometer system, operating procedures manual. O.I. Co., p14 (1987). USA
9. MacKinney, R.E.: *Microbiology for sanitary engineers*. MacGraw-Hall Co., p66 (1982).
10. Brigmann, G., and R. Kuhn: *Water Res.*, **14**, 231 (1980).
11. Ryu, J.K., and Y.S. Suh: The Report of Natl. Environ. Protection Inst., Korea. Vol. 8, 261 (1986).
12. Lee, S.E., C.H. Park, Y.S. Suh, J.K. Ryu, and Y.T. Rim: *J. Kor. Soc. of Water Pol. Res. & Cont.*, **4**, 1 (1987).

(Received August 16, 1988)