工學碩士學位 請求論文

디젤로 汚染된 土壤의 生物學的 處理에 관한 研究

A Study on Biological Treatment of Diesel-Contaminated Soils

2002年 8月

仁荷大學校 產業大學院

環境工學科

李 京 璇

工學碩士學位 請求論文

디젤로 汚染된 土壤의 生物學的 處理에 관한 研究

A Study on Biologocal Treatment of Diesel-Contaminated Soils

2002年 8月

指導教授 尹 泰 一

이 論文을 工學碩士學位 論文으로 提出합니다.

仁荷大學校 產業大學院
環境工學科
李 京 璇

이 論文을 李京璇의 碩士學位 論文으로 認定함

2002年 8月

主審 ㊞

副審 ㊞

委員 ㊞

要約文

우리나라의 토양오염정화기술은 아직 선진국의 기술을 도입하는 단계에 지나지 않는다. 그러므로 우리나라 환경에 맞는 기술의 개발이 시급한 실정이며 정부의 지원 또한 계속되고 있다. 이러한 기술들 중 생물학적 처리기술은 여러 가지의 장점 때문에 급속한 신장세를 보이며 발전하고 있다. 그러나 이 기술은 적용될 환경에 크게 영향을 받기 때문에 여러 가지 제한인자를 잘 조절하여야만 큰 효과를 얻을 수 있다. 예를 들어, 무기영양분의 경우 질소와 인을 모두 첨가해야만 좋은 미생물의 활성을 얻을 수 있으며 너무 많은 미생물 제재의 주입은 오히려 분해를 방해하는 것으로 확인되었다.

일반적으로 지하의 토양을 처리할 때 가장 큰 제한요소는 산소인데 그 산소원으로서 과산화수소의 적용가능성을 알아보았다. 과산화수소는 토양 내 존재하는 철광석에 의해 쉽게 분해되며 철광석의 농도가 증가함에 따라 산소의 발생량 또한 선형적으로 증가한다. 이러한 과산화수소의 분해는 Phosphate와 Citric Acid등의 Metal-Complexing Agents를 주입함으로써 그 분해속도가 감소됨을 확인하였다. 또한 과산화수소를 산소원으로 주입할 때 과산화수소 자체와 과산화수소가 철광석과 반응하여 생성되는 하이드록실 라디칼(Hydroxyl Radical)의 미생물에 대한 독성을 나타내는 문제점이 있는데 이러한 문제도 Phosphate와 Citric Acid를 첨가함으로써 해결할 수 있었다. 그리고 일반적으로 미생물은 250ppm이상의 과산화수소 농도에서는 성장을 하지 않았으나 Citric Acid가 첨가되었을 때는 그 이상의 농도에서도 좋은 활성을 보임으로 현장에 고농도의 과산화수소를 적용할 필요가 있을 때 Citric Acid를 적용하는 것이 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

Abstract

A Study on Biological Treatment of Diesel-Contaminated Soils

The contaminated-soil treatment technologies in Korea are still in a introducing stage of the technologies of advanced country. So it is greatly necessary to develop our own technologies which are suitable for our environment and at the same time the support of government continued. Among these technologies, in-situ bioremediation has been developed with rapid extension due to many advantages. However, because this technology is greatly affected by site environment, desired result can obtained if only several limiting factors are properly controlled. For example, the best microorganism activity can be sustained when both nitrogen and phosphate are added together to the mesocosm as inorganic nutrients. However, it was find that overdosing of nutrients it may inhibit the decomposition of hazardous organic matters.

Generally, the important limiting factor is oxygen when the contaminate-soil is treated and now the application possibility of hydrogen peroxide is investigated as an oxygen source. Hydrogen peroxide decomposes easily due to reaction with iron mineral in the underground soils and oxygen evolution increases linearly with an increase of iron mineral concentration. It was found that the decomposition rate of hydrogen peroxide decreased when metal-complexing agents such as phosphate or citric acid were added. And when hydrogen peroxide was used as an oxygen source, hydroxyl radical was generated due to the reaction between hydrogen peroxide and iron mineral in soils. Although this hydroxyl radical has toxicity to the microorgansm, it toxicity can be lessened if phosphate or citric acid are properly added. Generally, the microorganism can not survive in more than 250ppm of hydrogen peroxide, but if citric acid was added, it became active more than 300ppm of hydrogen peroxide.

It was decided that hydrogen peroxide can be efficiently used for aerobic bioremediation if citric acid can be properly applied for as stabilization and metal-complexing agents.

目 次

List of Tables

List of Figures

Ⅰ. 緖 論

현대사회는 산업의 고도화·복잡화로 수많은 종류의 화학물질이 생성·소비·배출됨으로써 각각의 오염물들에 대한 종합적이고 체계적인 통제 및 관리가 요구되고 있다. 특히 토양을 매개체로 한 오염물질의 거동 및 영향은 수질과 대기를 통한 피해보다 간접적이고 만성적이며 시간적으로나 경제적으로 개선이 어렵다는 특징으로 인하여 사회적 관심 및 기술개발이 미흡한 실정이었다.

그러나 최근 유엔의 국제인구행동연구소의 발표에 따르면 최근 세계가 심각한 물부족을 겪고 있으며 우리나라도 2006년에는 물부족국가에 포함될 것이라는 발표에 따라1), 21세기 물부족을 해결할 유일한 대안으로 지하수의 수질회복이 떠오르고 있다. 이와 관련 토양오염은 지하수 오염과 연결되어 오염지하수를 음용수로 사용할 경우 피해를 주며, 이외에도 지하수의 오염은 지표수의 오염과 연결되어 상수원을 오염시키는 요인이 된다. 더구나 우리나라의 경우 국토의 약 2%내에서 국민의 모든 활동이 이루어지고 있으므로 토양오염의 피해가 발생할 경우 엄청난 재앙을 수반한 사건이 발생될 수 있는 위험성을 지니고 있으므로 효과적인 토양오염 정화기술의 개발이 절실한 실정이다.

정부는 토양오염의 사전 예방 및 오염된 토양의 개선 등 토양환경을 종합적이고 효율적으로 보전한다는 취지하에 1995년 토양환경보전법을 제정하여 1996년부터 시행하고 있으나, 실제로 현장에 적용하기에는 아직 미흡한 부분이 많으므로 보다 구체적이고 종합적인 제도 마련이 필요한 실정이다2).

토양의 주요오염원은 전국도처의 불량폐기물 매립지에서 배출되는 침출수를 비롯한 오염물질, 공업단지 지역에서 배출되는 오염원, 군부대에서

토양의 부적절한 관리로 인한 오염, 전국의 주유소의 지하저장소의 누출로 인한 오염, 폐광산에서의 누출 등 오염원은 전국에 산재되어 있는 실정이다. 이 중 약 80% 이상이 석유류를 저장하는 유류저장시설이고 국내외의 자료를 볼 때 약 10 29%에 이르는 누출율을 보이고 있으며[3)], 또한 탱크의 부식에 의한 내구연한이 11년에서 25년 사이임을 감안할 때 지하저장시설에서 유류의 누출에 의한 토양오염은 막대할 것이다[4)].

이렇게 오염된 토양을 처리하기 위해 각국에서 상용화되어 있는 기술을 처리 위치별 및 처리 기술별로 구분하여보면 처리 위치별로는 오염토양 내에서 처리하는 in-situ 처리기술과 오염토양 밖에서 처리하는 ex-situ 처리기술로 구분되며, 처리 기술별로 보면 토양중의 오염물질을 분해·무해화 시키는 기술, 토양으로부터 오염물질을 분리·추출하는 기술, 오염물질을 고정화하는 기술 등으로 나누어 볼 수 있다[5)]. 여기에 해당하는 기술들을 살펴보면 분해·무해화 시키는 기술로는 열처리, 생물학적 처리, 화학적 처리 등이 있으며 분리·추출하는 기술에는 열탈착, 토양세정, 용매추출, 토양가스의 흡인 등이 있고, 고정화 처리기술로는 고형화, 안정화하여 봉입하는 기술 등이 있다. 다음 Table 1.은 각 토양오염 처리기술별 처리비용을 나타내고 있다[5)].

이러한 기술들 중 생물학적 처리 기술은 원위치에서도 처리가 가능하다는 점, 처리비용이 적게 소요한다는 점, 큰 규모의 지하오염토양의 처리가 가능하다는 점, 유해한 이차생성물에 의한 오염이 없다는 점등의 장점으로 인해 다른 기술들에 비해 급격한 신장세를 보이고 있다.

그러나, 토양의 온도, 습도, pH, 산소의 공급 등 여러 가지 환경조건이 구비되어야 한다는 제한 조건이 있으므로 생물학적 토양처리기술의 성공여부는 이러한 조건들을 최적화하는 것에 달려 있다 하겠다. 이러한 제한요소 중 가장 중요한 것은 적절한 산소의 공급으로 그 방법으로는 크게

공기를 주입하는 방법, 오존을 첨가하는 방법, 액체나 기체 산소를 주입하는 방법, 과산화수소를 주입하는 방법 등이 사용되고 있으며 이 중 지하수층 아래의 포화지역에 과산화수소의 적용이 검토되어 왔다[6,7,8,9)].

본 연구에서는 현재 오염된 지역에 Bioventing기술과 생물학적 처리기술을 적용할 때 필요한 최적 조건들을 규명하며, 산소원의 공급으로서의 과산화수소의 적용 타당성 및 과산화수소를 적용할 때 발생할 수 있는 미생물에 대한 독성을 최소화하는 방법들을 개발하여 우리나라 실정에 맞는 생물학적 처리기술을 개발하는 데 있다.

Table 1. Estimated Treatment Cost of Remediation Technologies

처리 위치	Technology	Treatment Cost (won)/(ton)
현장(지상) 또는 현장밖 처리	토양세정/추출	60,000 210,000
	열적처리	60,000 900,000
	화학적처리	12,000 120,000
	생물학적처리	60,000 180,000
	안정화/고형화처리	90,000
	소각	100,000 150,000
원위치 처리	열적처리	180,000 500,000
	화학적처리	150,000 250,000
	생물학적처리	30,000 120,000
	안정화/고형화처리	100,000 180,000

Ⅱ. 理論的 背景

2.1. 汚染土壤 處理技術

오염토양의 개선계획 수립시에는 오염토양처리 계획을 위한 기본적 개념의 도입, 처리기술상에서의 토양의 영향, 처리기술의 선정을 위한 토양 특성인자, 처리를 위한 기본적 기술 접근 방법, 처리기술 선정 및 발생 가능성 문제점 파악 및 연구과제 도출 등이 고려할 사항이다.

오염토양 처리기술은 처리하는 위치에 따라서 In-situ / Ex-situ로 분류되며, 오염된 Media에 따라 토양/지하수/배출가스로 분류할 수 있다.

2.2. 土壤 蒸氣 抽出法

토양 증기 추출법은 지중 처리와 지상 처리의 두 가지 방법이 있다. 지중 처리 토양 증기 추출법은 지하에 추출정을 설치하고 이에 진공을 걸어 지하의 오염 증기를 추출해 내는 방법으로 처리기기의 설치가 용이하며 오염물 제거 기간 중 지상의 시설물을 제거하지 않고 사용하면서 단시간 내에 고농도의 유류물질의 처리에 효과적인 장점을 가지고 있으나, 일정 기간의 처리 후 낮은 농도의 오염물 처리에서 효율이 급속히 감소하는 단점을 보인다.

지중 처리 토양 증기 추출법은 불포화 대수층에서 토양을 진공상태로 만들어줌으로써 토양으로부터 揮發性, 準揮發性 오염물질을 제거하는 기술이다. Extraction well, Injection well 등을 오염지역에 설치하고 Well을 이용하여 지중 토양에서 공기를 유동시킨다. 공기가 흡입될 때 저항이 가

장 적은 지역을 따라 공기가 흐르기 때문에 통기성이 가장 좋은 지역을 통해 공기가 흐르게 된다. Well은 오염지역까지 굴착되고 Blower는 Well을 통해서 오염된 지역으로부터 공기를 빨아들이는데 과도한 수분을 제거한 후 휘발성 유기오염물질을 제거하고, 가스는 통풍장치를 통해서 대기 중으로 배출된다. 부지가 넓은 경우에는 여러 개의 Well이 설치되어야 하며, 활성탄소, Blower등이 필요하다.

이 기술을 이용하는데 있어서 부작용은 거의 없고, 토양의 특성상 발생하는 제한 요인은 다른 기술에 비해 적은 편이며, 소요 비용이 저렴하고 광범위하게 오염된 토양 처리에 적합한 기법이다. 토양 증기 추출법은 상대적으로 설치가 용이하다. 다른 미생물 공정에 비해 소요 시간이 짧고, 독성물질은 분리되어 다시 토양에 부착되지 않으며, 토양으로부터 완전히 제거되어 분해된다. 이 기법은 지하수 펌핑 처리조작과 마찬가지로 다른 기술과 복합적으로 사용될 수 있다. 이러한 잇점 때문에 토양증기추출법을 이용한 토양세정방법이 많은 현장에서 적용되고 있다. Full Scale 운전에서 토양 증기 추출법의 제거효율이 낮다면 공기 주입이나 生分解와 같은 후속처리 기법과 복합적으로 사용하여야 한다.

2.3. Bioslurping 技術

Bioslurping 기술은 유류로 오염된 토양을 처리하기 위한 방법으로 減壓回收裝置를 이용하여 물을 제거하는 기술의 한 적용방법이다. 이 기술은 生物學的 排氣(Bioventing)와 流動오일 회수, 이 두 가지 기술의 요소를 이용하여 두 개로 나뉘어진 오염지역을 처리하는 기술이다10).

Bioslurping은 많은 양의 지하수를 추출하지 않고도 流動오일의 회수율을 높일 수 있으며, 지하수면의 높이의 변화를 최소화시키면서 지하수면에서 流動오일을 떼어냄으로서 오염지역의 생성을 최소화한다.

또한 불포화지역의 토양에 대한 생물학적 배기는 추출정을 통해 토양가스를 회수하기 때문에 토양내로 공기가 공급되므로 이루어질 수 있다. 이 시스템은 지하수와 토양가스의 환경으로의 유출을 최소화하도록 설계되어졌다.

Bioslurping은 깊은 지하수면(>30ft)을 갖는 현장에 적용가능하며 유동오일의 제거와 불포화지역에서의 토양을 동시에 처리할 수 있는 경제적인 In-situ 처리기술이기는 하나, 낮은 투과율과 적은 수분함량을 가진 토양에서는 그 효과가 제한적이다. Fig.1.에서는 전형적인 Bioslurping 장치를 나타내었다.

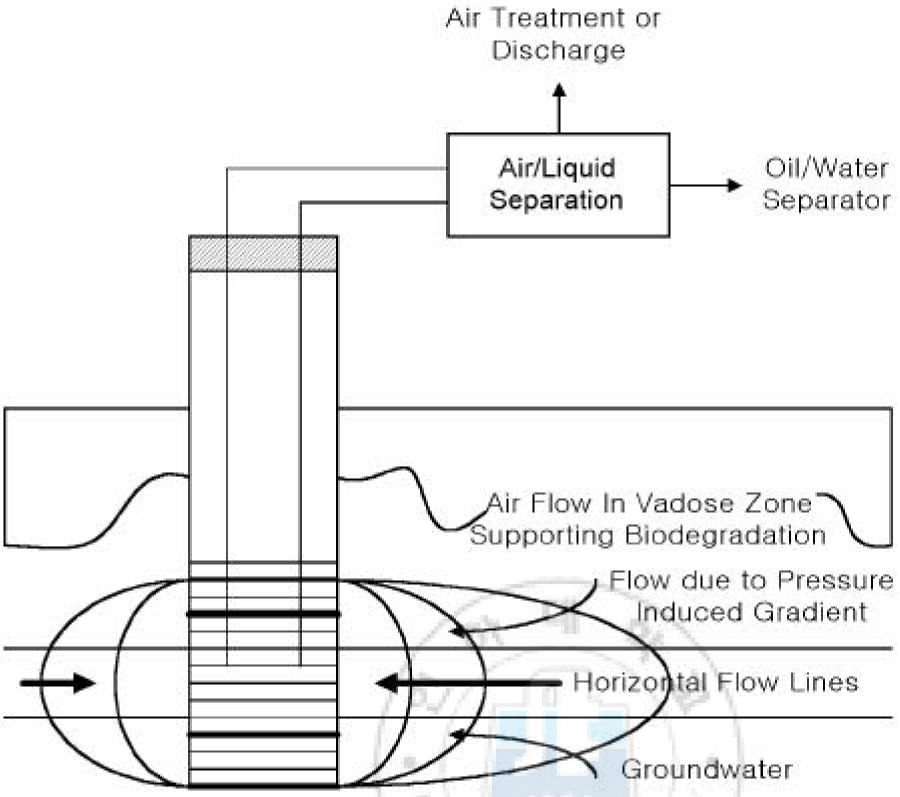

Figure 1. Typical In-Situ Bioslurping System

2.4. 微生物에 의한 油類의 分解

미생물을 이용한 토양 및 지하수 오염 처리기술은 환경 기술 중 환경오염 방지 및 폐기물 처리기술에 해당하는 핵심기술로서 각종 유기성 오염물질 및 중금속 등으로 오염된 토양 및 지하수를 처리할 경우 오염토양 및 지하수내에 자생하는 토착 미생물류의 활성을 증진하여 이들 오염물질의 미생물류에 의한 분해 및 처리능력을 증대시키는 기술이다. 이러한 미생물들이 호기적 조건에서 분해할 수 있는 유기물질에는 알킬벤젠, 다중고리 방향족 탄화수소(PAHs), 이종 원자고리 유기화합물 등이 있다6).

이러한 분해 반응의 기본 메카니즘은 미생물에 의해 이런 유기물질들이 무해한 물질인 이산화탄소와 물, 그리고 Biomass로 전환되는 것을 말한다11).

생물학적 처리기술을 현장에 적용할 때, 일반적으로 미생물의 성장을 제한하는 요인에는 토양내 수분의 함유량, 온도, pH, 중금속의 존재, 유기오염물질의 종류와 양, 전자 수용체, 질소·인과 같은 무기물의 존재 유무 등이 있다12).

원활한 미생물의 성장을 위해서는 일반적으로 30 90% 정도의 토양수분이 요구되고 있으며 현장의 온도는 10℃ 감소함에 따라 미생물의 반응속도가 2배 감소하는 것으로 알려져 있기 때문에 현장에서 처리하는 경우에 있어서 중요한 역할을 한다. pH의 경우는 일반적으로 6에서 8사이에서 미생물이 원활한 성장을 하는 것으로 알려져 있다.

유기물질의 경우 그 자체로 미생물의 탄소를 공급하면서 성장에 필요한 에너지를 공급하므로 중요하다. 그러나 너무 높은 농도의 석유탄화수소가 공급되면 오히려 생분해에 방해를 가져올 수 있으며 더 긴 적응기간을 필요로 하게 된다11).

미생물의 성장을 위해서는 영양분의 공급이 충분해야 하는데 탄소원은 위에서 언급했듯이 오염물질에서 얻을 수 있으나 질소나 인과 같은 성분들은 토양내 함유량이 낮은 경우를 흔히 접하게 된다. 일반적으로 미생물의 성장에 필요한 질소와 인의 양은 미생물의 구성성분에 의해 결정되는 것이 보통이나 대개의 경우는 C : N : P 가 100 : 10 : 1이 보편적이다13). 질소와 인의 경우 질소가 주된 제한 영양분이긴 하지만 여러 실험에서 보여진 결과에 의하면 질소와 인을 모두 주입한 경우에 최고의 미생물 활성이 보여졌다14). 다음 Table 2.는 미생물의 분자 구성성분을 나타내었다15).

Table 2. Molecular Composition of a Bacterial Cell

Element	Dry weight (%)	Element	Dry weight (%)
Carbon	50	Sodium	1
Oxygen	20	Calcium	0.5
Nitrogen	14	Magnesium	0.5
Hydrogen	8	Chloride	0.5
Phosphorus	3	Iron	0.2
Sulfur	1	Others	0.3
Potassium	1		

일반적으로 오염물질의 농도가 낮거나 충분한 양의 窒素源과 燐源이 자연적으로 존재할 때는 단지 산소의 공급만으로도 생물학적 공정을 진행시킬 수 있다. 그러나 자연적으로 존재하는 미생물의 수가 적거나 단시간내에 정화작용을 마치기 위해서 새 풍토에 익숙해진 미생물을 주입하기도

한다[16).

이렇듯 미생물을 이용한 오염토양 처리는 각종 토양 및 지하수 오염 처리기술 중에서 물리적/화학적 처리기술과 비교하여 소요비용대 처리효율 면에서 우수한 것으로 알려져 있으며 오염지역이 광범위할 경우에는 물리적/화학적 처리시 소요되는 비용이 상대적으로 생물학적 기술과 비교하여 너무 커서 대부분 생물학적 처리기술만이 적용되고 있는 실정이다. 또한 생물학적 처리기술만이 오염현장의 생태계등의 상태를 훼손하지 않고 현장을 오염전 원상태로 복원할 수 있는 유일한 기술로서 각종 지하수 및 토양복원 기술 중 가장 핵심이 되는 기술이라고 할 수 있겠다. 다음 Table 3.은 토양내에 분포하는 미생물의 수를 나타내었다[15).

Table 3. Microorganism Population Distribution in Soil and Ground Water

Soil/ Ground Water	Organism	Population Size	
		Typical	Extreme
Surface Soil (Cells/gram soil)	Bacteria	0.1 1 billion	> 10 billion
	Actinomycetes	10 100 million	100 million
	Fungi	0.1 1 million	20 million
	Algae	10,000 100,000	3 million
Sub Soil (Cells/gram soil)	Bacteria	1,000 10,000,000	200 million
Ground Water (Cells/㎖)	Bacteria	100 200,000	1 million

2.5. 酸素源으로서의 過酸化水素의 適用

유류로 오염된 토양과 지하수를 처리하는 생물학적 복원기술을 현장에 적용할 때 여러 가지 제한요소들이 존재하는 데, 이 중 가장 큰 영향을 미치는 것은 일반적으로 산소의 전달이다17). 산소를 공급하는 방법은 앞서 언급한 바와같이 여러 가지가 있지만 오염부하량과 오염물질의 위치, 산소의 전달속도, 산소 전달의 용이성 등을 고려해 산소가 오염물질과 충분한 접촉을 할 수 있도록 해야만 한다8).

이 중 과산화수소는 값이 싸고 안정하며, 물에 대한 용해도가 높고 다른 처리기술들과 병행하여 사용하기가 편하다는 잇점으로 주로 불포화지역에서 산소원으로 많이 사용되어져 왔다8,18,19). 그러나, 빛과 금속, 미생물에 의해 생성되는 효소 등에 의해 쉽게 분해되고, 반응성이 좋으며 미생물에 대한 독성을 나타내기 때문에 그 사용에 있어 제한이 있어왔다7,17,18). 또한, 과산화수소가 토양내에 존재하는 철이온과 반응하여 생성되는 하이드록실 라디칼(Hydroxyl Radical)은 TCE, PCE, 방향족 탄화수소 등을 산화시키는데 효과적으로 사용되나, 미생물에 독성을 나타내기도 하기 때문에 주목해야한다6). 다음은 과산화수소가 철광석 이온에 의해 분해되는 메카니즘을 나타내었다20).

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \Leftrightarrow Fe^{3+} + HO\cdot + HO^-$$

$$Fe^{3+} + H_2O_2 \Leftrightarrow Fe^{2+} \; HO_2\cdot + H^+$$

$$HO\cdot + H_2O_2 \Leftrightarrow H_2O + HO_2\cdot$$

$$Fe^{3+} + HO_2\cdot \Leftrightarrow Fe^{2+} + H^+ + O_2\cdot$$

$$Fe^{2+} + HO_2\cdot \Leftrightarrow Fe^{3+} + HO_2^-$$

$$Fe^{2+} + HO\cdot \Leftrightarrow Fe^{3+} + HO^-$$

과산화수소를 산소원으로 사용할 때에 유의해야할 또 다른 점은 과산화수소가 철광석에 의해 분해되거나 또는 미생물이 생성하는 효소에 의해 분해되어 생성되는 산소의 생성속도가 미생물이 소모하는 속도보다 빠르기 때문에 과잉산소가 기체의 형태로 전환되기 때문에 오염지역까지 충분한 산소의 전달이 어렵게 된다는 점에 있다17). 다음 Table 4.는 과산화수소의 분해에 관여하는 여러 촉매적 활동에 대한 것을 나타내었는데 미생물에 의해 생성되는 Catalase에 의한 분해가 모든 무기·효소적 촉매중 가장 크게 나타남을 알 수 있다20).

일반적으로 토양내에서 자연적으로 과산화수소를 분해시키는 능력이 상당히 크며 그 속도는 어떤 첨가제의 첨가가 없다면 90분 정도 내에 약 85%의 분해가 이루어진다고 보고되고 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 여러 가지 첨가제가 개발되어져 왔으며 그 대표적인 물질들이 Phosphate나 Citric Acid등이다20).

Phosphate의 경우는 미생물의 성장에 필요한 인을 공급하는 동시에 하이드록실 라디칼에 대해 Scavenger의 역할을 하며, Citric Acid의 경우는 토양내 잔존하는 중금속을 제거함으로서 미생물에 대한 독성을 줄일 수 있고 라디칼에 대해 Scavenger의 역할을 하기 때문에 주로 사용되어져왔다20,21).

이렇듯 과산화수소를 사용함에 있어 성공의 여부는 산소의 전환속도를 조절하는 것에 있음으로 이러한 문제를 해결해야만 과산화수소를 효과적으로 산소원으로 사용할 수 있게 될 것이다.

Table 4. Catalytic Activity of Several Ferric-centered Catalysts in the Decomposition of Hydrogen Peroxide

Catalyst	Activity(turnover number)
Catalase	9×10^4 (pH 7, 20℃, 0.01 mol peroxidase)
Peroxidase	4.0 (pH 7, 20℃, 0.01 mol peroxidase)
Fe(Ⅲ)-TETA	22.0 (pH 7, 25℃, 0.15 mol peroxidase)
Fe(Ⅱ) or Fe(Ⅲ) Ion	1.0 (pH 5, 0℃)

Ⅲ. 實驗

3.1. 實驗 材料

실험에 사용된 과산화수소는 Junsei Chemical Co. Ltd.의 35% Extra pure 등급을 희석하여 사용하였으며, Iron oxide로 사용한 Goethite의 경우는 Aldrich Chemical Co., Inc.로부터 구입하였으며 Catalytic grade로서 액상에서 완전 혼합을 위해 구입시 입경 30 50mesh(0.3 0.6mm)의 것을 분쇄하여 비 표면적이 202.29m^2/g인 170mesh(0.088mm)의 것을 전처리 없이 사용하였다.

Citric Acid는 3개의 카르복실기와 1개의 히드록실기를 가지고 있으며 Citric Acid Monohydrate를 Shinhyo Pure Chemicals Co., Ltd.로부터 구입하여 사용하였다.

미생물의 경우는 Diesel Degrader로서 Sybron Chemicals, Inc/Biochemical Division의 것을 사용하였으며 질소원과 인원으로 사용된 NH_3Cl과 KH_2PO_4의 경우는 Junsei Chemical Co. Ltd.를 사용하였다.

미생물 수의 변화를 측정하기 위해 사용된 Agar Plate를 제조하기 위해 사용한 Bacto Tryptone, Bacto Yeast Extract는 Difco Labolatories의 것을 사용하였으며 Glucose와 Agar의 경우는 Junsei Chemical Co. Ltd.의 것을 사용하였다. 희석용액을 만들기 위해 사용한 Bacto Peptone의 경우도 Difco Labolatories의 것을 사용하였다.

3.2. 實驗 方法

3.2.1. 殘存 過酸化水素의 濃度分析 實驗

250㎖ 삼각플라스크에 초순수를 200㎖가 되게 넣고 1N의 NaOH와 1N의 HCl을 이용하여 pH 7±0.2가 되게 조정하였다. 일정농도의 철광석(1.0g/L)과 과산화수소 500ppm을 주입하고, Phosphate와 Citric acid의 농도를 변화시켜 주입한 후 magnetic stirrer를 이용하여 완전 교반이 되도록 하였다. 빛에 의한 과산화수소의 분해를 막기 위해 모든 실험에서 플라스크를 알루미늄 foil로 감싸주었다.

3.2.2. 微生物에 의한 酸素消耗量 測定 實驗

미생물에 의한 산소소모량의 측정은 Comput-Ox Respirometer(Model OO-104 : N-Con Systems Company, Inc.)를 이용하였다. 이 장비는 미생물이 유기물을 분해할 때 요구되는 산소의 소모량을 측정하는 장비로써 KOH의 존재하에 호흡이 일어나는 동안에 발생되는 압력강하를 기초로 한다. 다음은 미생물의 호흡에 의해 발생되는 CO_2와 KOH의 반응식을 나타내었다.

$$CO_2 + 2KOH \rightarrow K_2CO_3 + H_2O$$

Fig 2.에 일반적인 respirometer의 장치도를 나타내었다.

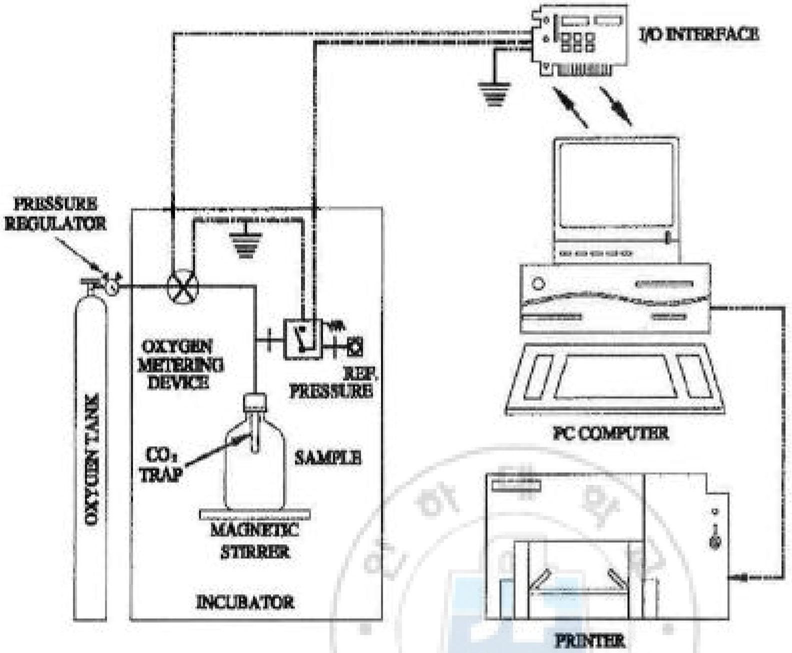

Figure 2. Schematic Diagram of Respirometer System

3.3. 分析 方法

① 잔존하는 과산화수소의 농도분석은 Spectrophotometer(Milton Roy Spectronic 20+)를 사용하였으며 분석 방법은 $TiSO_4$ 표준용액을 사용해 467nm에서 투과율을 측정하여 분석하였다24).

② 잔존하는 TPH(Total Petroleum Hydrocarbon)농도를 분석하기 위하여 Gas Chromatography(Hewlett Packard 6890)를 사용하였으며 GC의 초기 온도는 50℃, 초기 시간은 1분, 최종 온도는 300℃, 최종 시간은 5분, Program rate는 8㎖/min이었으며 column은 HP-5 Capillary column(내경 530㎛, 길이 30m, film thickness 0.88㎛)을 사용하였다. 이 때의 TPH농도는 integrator상에서 2 23분 사이의 모든 peak를 적분하여 계산하였다.

③ 실험조건에 따라 변화하는 미생물의 수를 측정하기 위해서 CFUs(Colony Forming Units)를 이용하였다. 이 때 사용된 배지로는 Bacto Plate Count Agar(Bacto Tryptone 5g, Bacto Yeast Extract 2.5g, Glucose 1g, Bacto Agar 15g)를 사용하였으며, 0.1% Bacto Peptone용액을 희석용액으로 사용하였다25).

Ⅳ. 結果 및 考察

4.1. 制限因子의 濃度 決定 實驗

4.1.1. 總窒素와 總燐의 濃度 決定 實驗

일반적으로 토양에 제한적으로 존재하는 무기영양물질은 窒素이다. 그러나 여기서는 인의 첨가에 따라서 미생물의 성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 4개의 반응기에 다음의 조건에 따라 질소원과 인원을 적량 첨가하였다.

① 窒素源과 燐源 모두 첨가하지 않음

② 窒素源만 첨가

③ 燐源만 첨가

④ 窒素源과 燐源 모두 첨가

Fig. 3에 따르면 질소원만 첨가했을 때에도 미생물의 활성이 증가함을 알 수 있었지만 질소원과 인원을 모두 첨가했을 때에 가장 활성이 뛰어난 것을 알 수 있었다. 이로써 현장에 적용할 때에 질소원과 인원을 모두 첨가하는 것이 더욱 좋은 효과를 거둘 수 있는 것을 확인했으며 그 적정 농도를 찾는 실험을 계속 실행하였다.

Fig. 4는 총질소의 농도를 고정시킨 후 총인의 농도를 변화시켰을 때 미생물의 산소소모량을 나타낸 그래프이다. 그림에서 알 수 있는바와 같

이 총인의 농도가 증가함에 따라 미생물의 산소소모율도 증가하였으나 총인의 농도가 8ppm **이상이 됨에 따라 그 값이 감소하였다**.

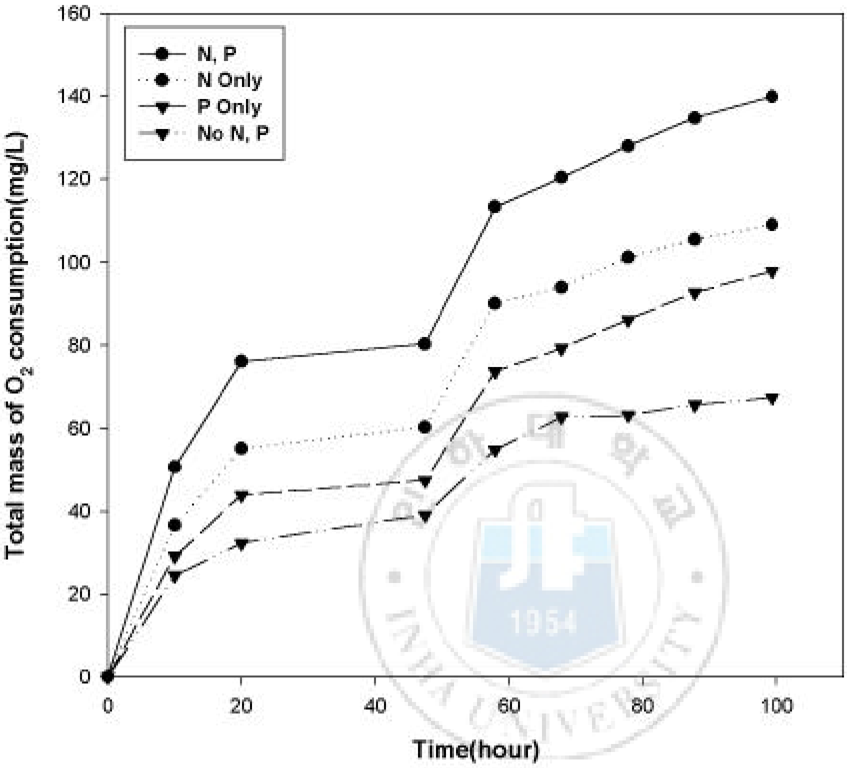

Figure 3. The Effect of Inorganic Nutrient Addition to the Microorganism Growth

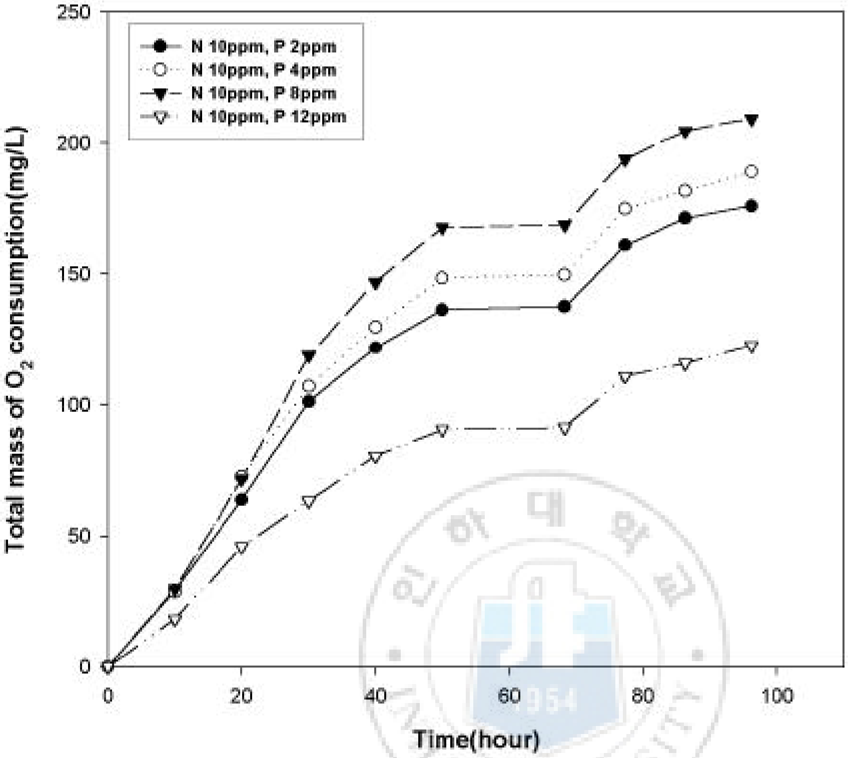

Figure 4. Total Mass of O_2 Consumption by Microbe at Different Inorganic Nutrient Concentration

4.1.2. 過酸化水素의 濃度 決定 實驗

과산화수소를 산소원으로 적용할 때 미생물에 독성을 끼치지 않는 적절한 농도를 찾기 위한 실험이 진행되었다. Respirometer 반응기에 이전 실험에서 결정된 농도의 질소원과 인원을 첨가한 후 탄소원 공급을 위해 초순수를 디젤로 포화시켜 사용하였다. 각각의 반응기에 과산화수소를 농도구배를 두어 250ppm, 100ppm, 50ppm, 25ppm이 되게 주입하였다.

Fig 5.에 의하면 과산화수소의 농도가 250ppm이 되었을때는 미생물이 성장하지 않음을 알 수 있었다. 이 실험결과로 현장에서 250ppm이상 농도의 과산화수소를 적용하는 경우에는 첨가제를 사용하는 실험이 계속되어야 하는 것으로 판단되었다.

4.1.3. 微生物 製材의 濃度 決定 實驗

현장에 주입할 미생물 제재의 적정농도를 찾는 실험을 진행시키기 위해 현장 토양과 비슷한 조성을 만들어 실험을 하였다. 인조토양은 80%의 모래와 20%의 Montmorillonite를 혼합한 후 디젤로 오염을 시켜 제조하였다. 오염된 토양을 각각 700g씩 반응기에 넣고 앞선 실험에서 결정된 질소원과 인원에다가 1%, 1.5%, 2%, 3%의 미생물 제재를 주입한 후 인조토양이 충분히 포화된 상태가 되게 주입하였다. 다음의 Fig 6.은 30℃에서 14일간 반응시켰을 때 토양에서의 TPH의 변화량을 나타내었다.

초기 TPH는 2,000ppm이 되게 하려 하였으나 風乾過程에서 휘발성분이 모두 증발되고 최종 TPH는 1,784ppm이었다. 14일이 지난 후 미생물의 농도에 따른 TPH의 변화는 미생물 제재의 농도가 각각 1%, 1.5%, 2%, 3%일 때 각각 872ppm, 835ppm, 781ppm, 829ppm으로 나타났다. 그래프

에 의하면 미생물 제재 주입농도가 높아질수록 TPH의 변화가 더 크게 나타남을 알 수 있었다. 2%이상을 주입했을 경우 변화의 폭이 감소되었으나 적정 주입농도를 찾기 위해서는 좀 더 많은 실험이 필요할 것으로 분석된다.

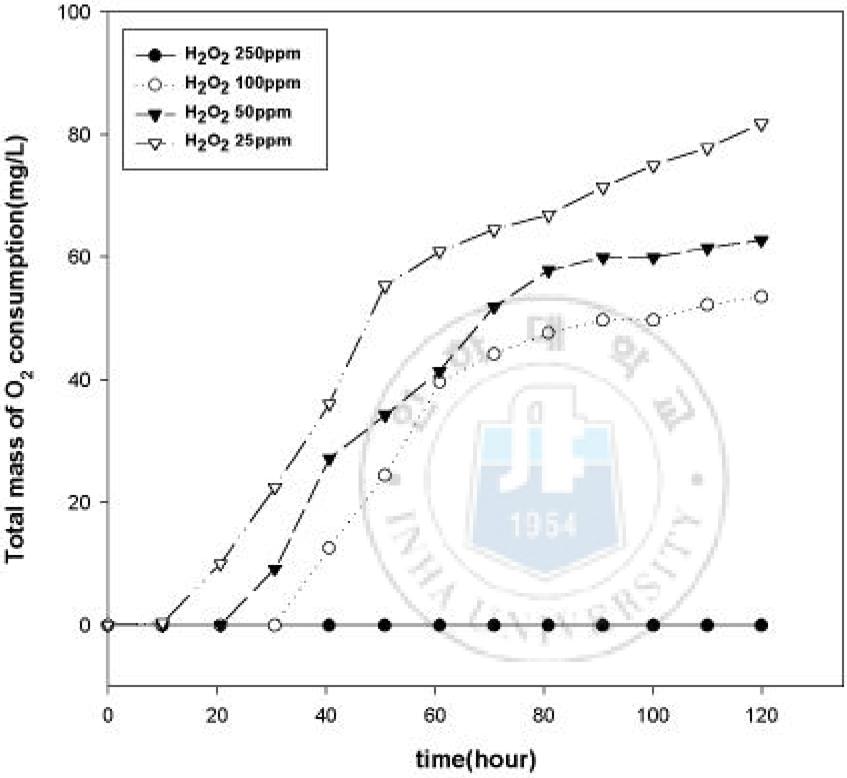

Figure 5. Total Mass of O_2 Consumption by Microbe at Different Hydrogen Peroxide Concentration

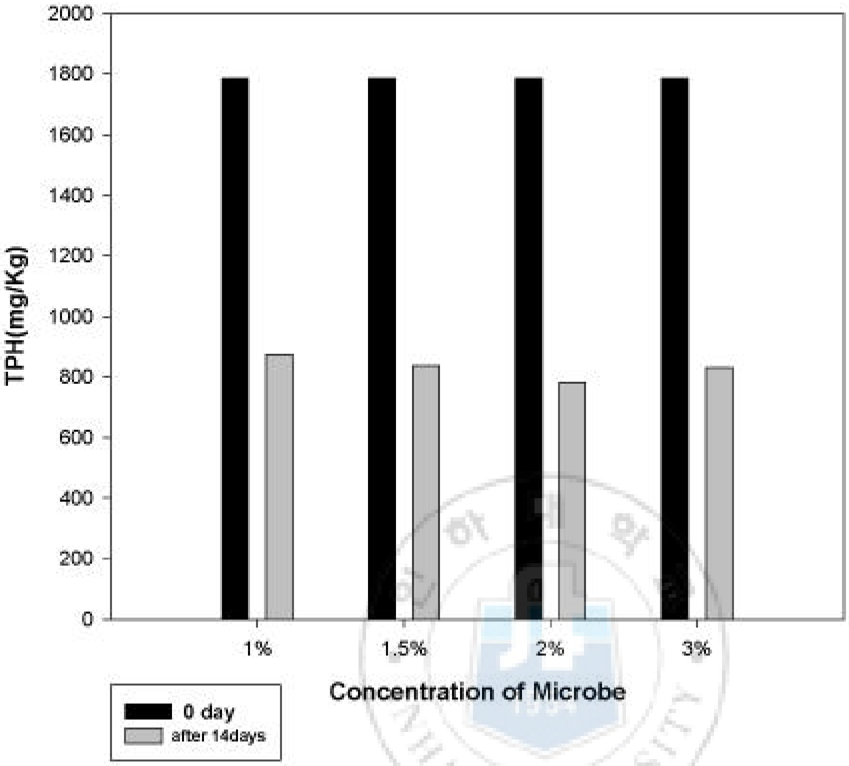

Figure 6. TPH Removal at Different Microbe Concentration

4.2. 鐵鑛石에 의한 過酸化水素의 分解時 Phosphate와 Citric Acid가 미치는 影響

일정농도의 과산화수소(500ppm)와 철광석(1.0g/L)이 존재하는 중성의 용액에서 Phosphate와 Citric Acid의 양이 변화함에 따라 과산화수소가 어떠한 경향으로 분해되는지를 각각 Fig 7.과 Fig 8.에 나타내었다. 두 그래프를 살펴보면 Phosphate와 Citric Acid의 농도가 커짐에 따라 과산화수소의 분해는 감소되며 분해 경향도 선형추세선에 잘 부합된다는 것을 알 수 있다.

일반적으로 Goethite에 의한 과산화수소의 분해 반응은 과산화수소에 대한 1차 반응속도식

$$\frac{-\ d[H_2O_2]}{dt} = k_{obs}[H_2O_2], \quad k_{obs} \text{ 는 유사 1차속도 상수}(\mathrm{min}^{-1})$$

으로 나타낼 수 있으며, 아래의 식에 의해 유사 1차속도 상수값을 구할 수 있다.

$$\ln([H_2O_2]/[H_2O_2]_0) = -\ k_{obs}t$$

위 식에 의해 각각의 경우 유사 1차속도 상수값을 구해보면 Phosphate의 경우 그 농도가 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0g/L로 변할 때 유사 1차속도 상수값은 0.0099, 0.0038, 0.0027, 0.0017, 0.0016을 나타내며, Citric acid의 경우에는 그 농도가 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0g/L로 변할 때 유사 1차속도 상수값은 0.0148, 0.0092, 0.0065, 0.0051, 0.0035을 나타낸다[26]. 같은 농도인

1.0g/L에서 비교하여 보면 Citric Acid에서의 값 0.0065가 Phosphate의 값 0.0016보다 큰 것을 알 수 있다. 이것은 Citric Acid가 존재할 때의 분해속도가 Phosphate가 존재할 때의 분해속도보다 더 빠르다는 것을 나타낸다. 그리고 두 물질 모두 첨가시 과산화수소의 분해가 감소되는 것을 알 수 있는데 이는 철광석 표면의 활성점과 과산화수소가 접촉하는 것을 이 두 물질이 방해하는데서 기인하는 것으로 여겨진다.

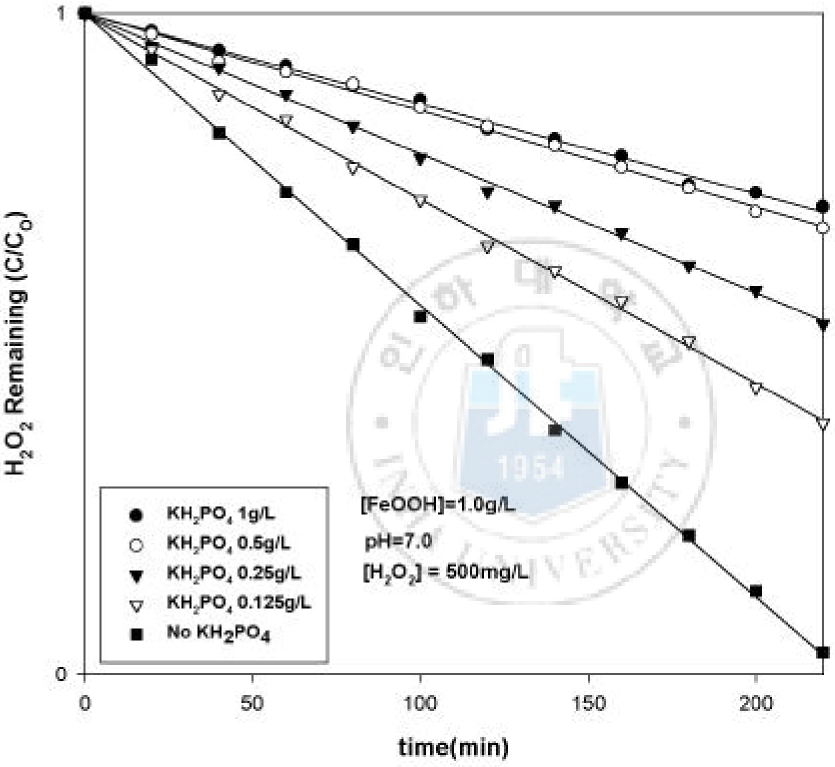

Figure 7. First-order Fit of Hydrogen Peroxide Decomposition for Different Concentrations of Phosphate

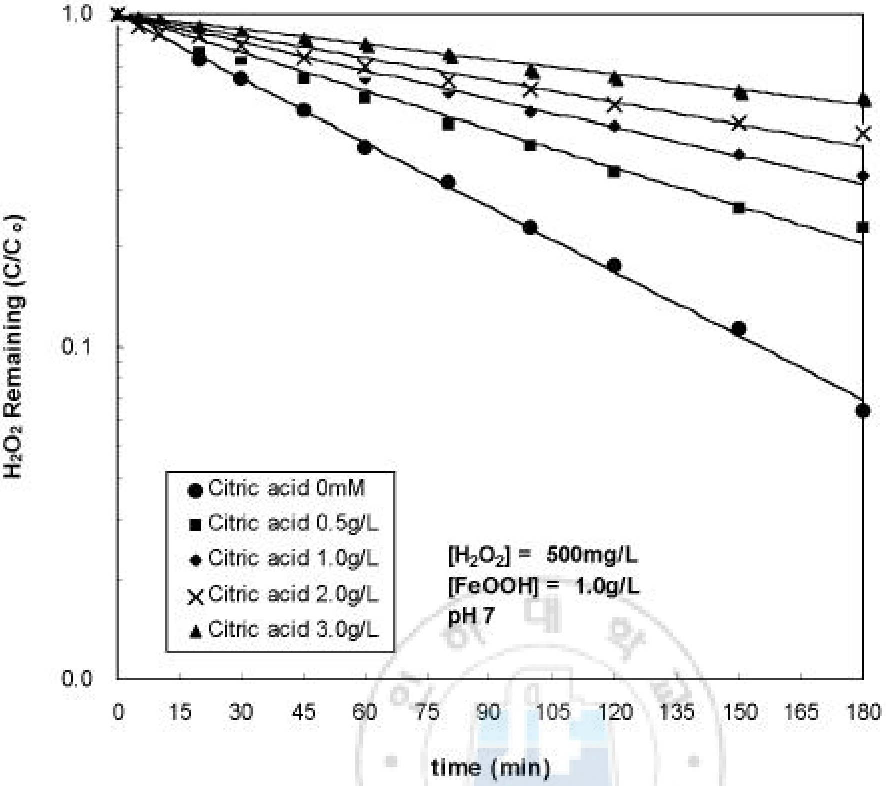

Figure 8. First-order Fit of Hydrogen Peroxide Decomposition for Different Concentrations of Citric Acid

4.3. Hydroxyl Radical이 微生物의 成長에 끼치는 影響

과산화수소가 철광석과 반응하여 생성되는 하이드록실 라디칼(Hydroxyl Radical)이 미생물의 성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위한 실험을 진행하였다. 디젤로 포화된 초순수에 질소원과 인원을 적량 주입한 후 4개의 반응기에 각각 0.125g/L, 0.25g/L, 0.5g/L, 1.0g/L의 농도가 되게 철광석을 주입한 후, 100ppm이 되도록 과산화수소를 주입하여 그 결과를 Colony Forming Units(CFUs)로 알아보았다.

Fig 9.는 시간이 지남에 따라 변화된 미생물의 개체수를 나타내었다. 초기 미생물의 개체수는 4.8×10^{6}이던 것이 1시간의 반응 후 반응기 별로 각각 4.1, 3.7, 3.1, 2.65×10^{6}으로 변화하였다. 이 결과에서 철광석의 농도가 높아질수록 미생물의 개체수가 감소하는 것을 알 수 있었다. 이는 과산화수소가 다량의 철광석과 반응하여 생성되는 Radical의 농도가 더 크기 때문인 것으로 판단된다. 또한 반응초기에 급격한 감소가 일어나다가 시간이 지남에 따라 그 변화의 폭이 줄어드는 것으로 보아 발생되는 Hydroxyl Radical의 지속시간이 그리 길지 않음을 알 수 있었으며 고농도의 Hydroxyl Radical이 미생물의 성장을 방해함을 알 수 있었다.

Fig 10.은 과산화수소가 미생물에 미치는 독성과 Hydroxyl Radical이 미치는 독성을 비교한 그래프이다. 과산화수소 100ppm과 50ppm에 각각 1.0g/L의 철광석을 주입하여 그 결과를 비교하였을 때, 저농도의 과산화수소 주입경우는 활성에 큰 차이를 보이지 않았으나 고농도의 과산화수소의 경우는 철광석을 주입하여 Hydroxyl Radical이 발생된 경우가 미생물의 성장을 더욱 방해하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과에서 과산화수소를 산소원으로 적용할 때 고농도의 과산화수소를 적용하기 위해서는 발생되는 Radical을 효과적으로 제어할 수 있는 방안이 필요함을 알 수 있었다.

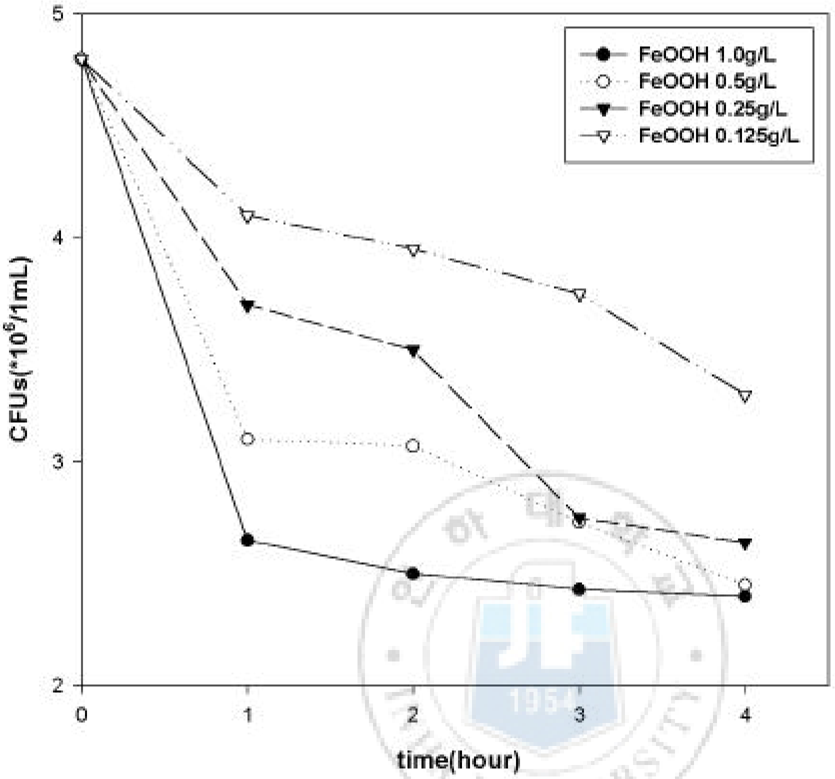

Figure 9. CFUs Variation at Different Hydroxyl Radical Concentration

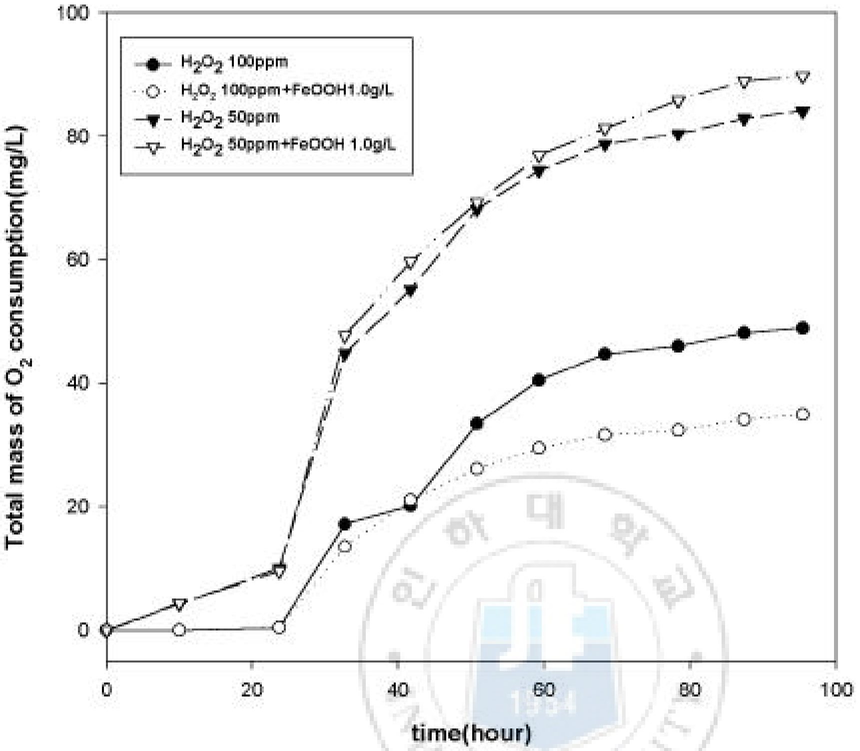

Figure 10. The Effect of Hydroxyl Radical Concentration to the Microorganism Growth

4.4. Metal-Complexing Agents로서의 Phosphate와 Citric Acid가 微生物의 成長에 끼치는 影響

Fig 11.과 Fig 12.는 각각 Phosphate와 Citric acid를 첨가했을 때 미생물의 산소소모량을 나타낸 것이다. 4개의 반응기에 탄소원으로서 디젤로 포화된 초순수를 넣고 이전에 실시된 실험에서 결정된 농도의 질소원과 인원을 주입한다. 그 후 같은 농도의 과산화수소와 철광석을 주입한 후 ([H_2O_2]=100ppm, [FeOOH]=1.0g/L) Phosphate와 Citric Acid를 각각 0.125, 0.25, 0.5, 1.0g/L의 농도로 주입하였다.

Fig 11.과 Fig 12.에서 알 수 있듯이 주입되는 Phosphate와 Citric Acid의 양이 증가할수록 미생물의 성장이 활발해 짐을 알 수 있었다. 이 두 물질을 주입하지 않은 상태에서 100시간이 경과했을 때 미생물에 의한 산소의 소모량은 60ppm이었으나, Phosphate을 주입했을 경우는 67ppm, Citric Acid를 주입했을 경우는 560ppm으로 두 경우 모두 주입 전보다 더 좋은 미생물의 활성을 보이는 것으로 나타났다. Citric Acid의 경우 그 값이 크게 나타난 이유는 Citric Acid가 Hydroxyl Radical의 발생을 방지하기도 하지만 탄소원으로 사용되어 산소의 소모량이 커진 것으로 보인다.

위의 실험에서 보인 결과에 의하면 Phosphate와 Citric Acid의 첨가가 Hydroxyl Radical에 의한 독성을 저감시키는 것으로 확인되었으므로 좀 더 고농도의 과산화수소에 대해서의 적용가능성을 확인하기 위해 다음과 같은 실험을 진행하였다. 4개의 반응기에 각각 1.0g/L의 철광석을 주입한 후 2개의 반응기에는 200ppm, 나머지 두 개의 반응기에는 300ppm의 과산화수소를 주입하였다. 그리고 두 개의 반응기에는 Phosphate를 1.0g/L로, 다른 두 개의 반응기에는 Citric Acid를 1.0g/L로 주입한 후 산

소의 소모량을 비교하였다.

Fig 13.에 의하면 200ppm과 300ppm의 과산화수소에서 Citric Acid를 주입했을 경우는 모두 미생물의 성장을 확인할 수 있었으나 Phosphate의 경우는 고농도의 과산화수소에서의 적용이 어려움을 알 수 있었다. 따라서 고농도의 과산화수소를 현장에 적용할 때는 미생물의 성장에 필요할 정도의 Phosphate를 주입하고 Hydroxyl Radical의 영향을 줄이기 위해서 Citric Acid를 사용하는 것이 적합한 것으로 판단된다.

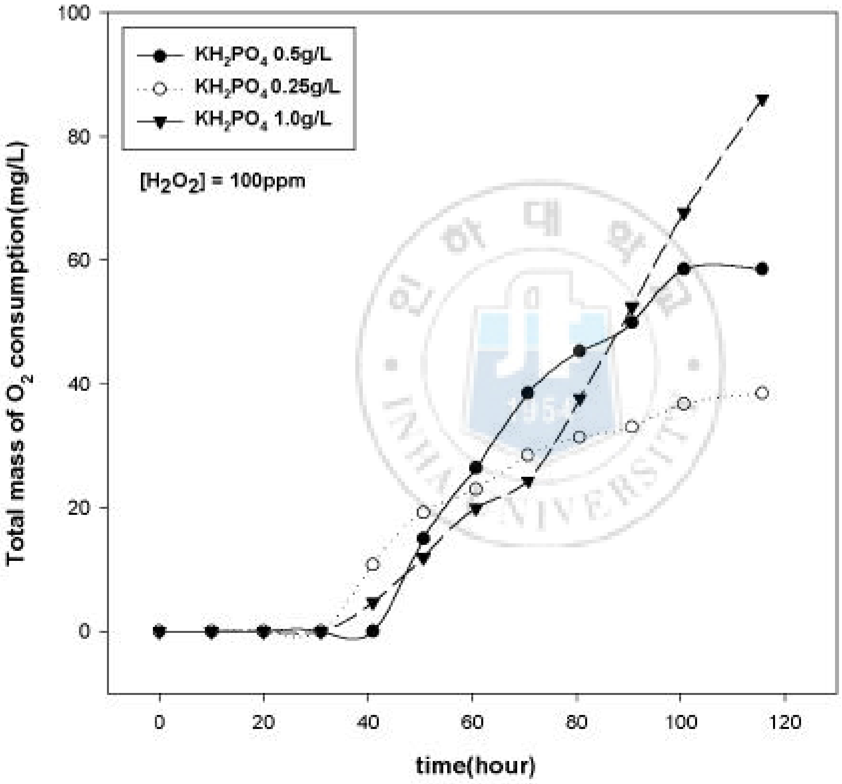

Figure 11. Total Mass of O_2 Consumption by Microbe at Different Phosphate Concentration ($[H_2O_2]$=100ppm, [FeOOH]=1g/L)

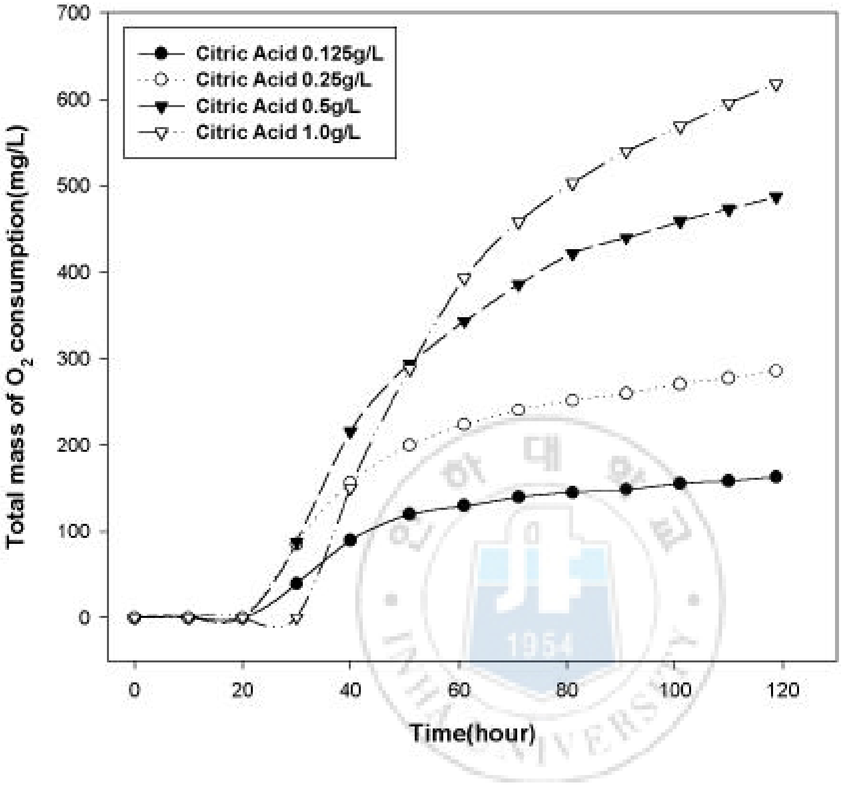

Figure 12. Total Mass of O_2 Consumption by Microbe at Different Citric Acid Concentration ($[H_2O_2]$=100ppm, [FeOOH]=1g/L)

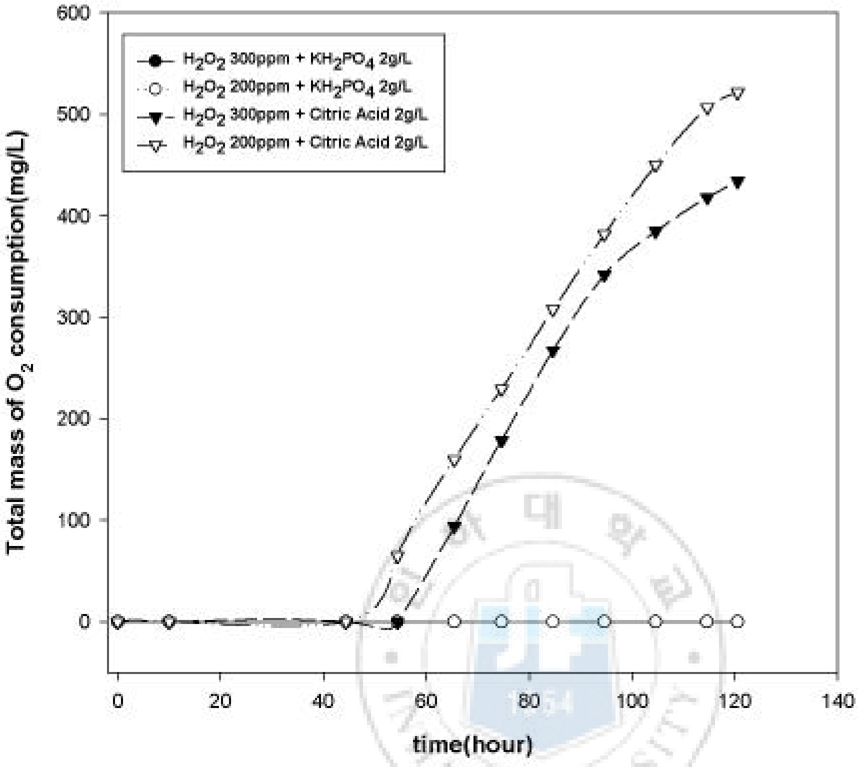

Figure 13. Total Mass of O_2 Consumption by Microbe at Different H_2O_2 and Metal-Complexing Agents ([FeOOH]=1g/L)

Ⅴ. 結論

우리나라 토양에 적용가능한 처리기술의 개발을 위해 Lab scale에서 그 制限因子의 濃度 決定과 過酸化水素의 酸素源 適用 可能性을 알아보았으며 일련의 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

(1) 자연계에서는 비록 질소가 限界營養分이나 질소와 인을 모두 첨가하였을 때 미생물의 성장이 가장 활발하게 일어남을 확인할 수 있었으며 窒素源과 燐源으로 NH_3Cl과 KH_2PO_4를 사용하여, 각각 10ppm과 8ppm을 주입했을 때 가장 좋은 활성을 보였다.

(2) 250ppm이상의 過酸化水素를 주입했을 때, 미생물은 활성을 나타내지 못했으며 미생물제제의 적용에서는 농도가 증가할수록 TPH의 감소가 증가했으나 2%이상의 미생물제재 적용시에는 좀 더 많은 연구에 의한 검토가 필요할 것으로 보인다.

(3) 과산화수소와 Goethite가 반응하여 생성되는 Hydroxyl Radical은 과산화수소 자체보다 더 크게 미생물에 독성을 나타냈으며 Phosphate와 Citric Acid를 첨가했을 때 그 독성을 줄일 수 있음을 확인하였다.

(4) Citric Acid를 첨가했을 때, 300ppm이상의 과산화수소가 존재했을 때도 미생물의 활성이 크게 나타남을 확인할 수 있었으며 이러한 결과로 볼 때 Hydroxyl Radical의 Scavenger역할과 과산화수소의 안정화제로서 Citric Acid의 적용이 더 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

參考文獻

1. **京鄕新聞**, 2000**년** 3**월** 2**일 월요일**

2. **環境白書**, **環境部**, p282 288, 1999

3. **이 민효**, “21C **土壤環境의 問題 및 發展方案**”, ’99 **환경의 날 기념** Seminar, **國立環境硏究院**, p15 42, 1999

4. Richard J. Watts, Hazardous Waste : Source, Pathways, Receptor, John Wiley & Sons, Inc., 1998

5. **이 민효**, “**土壤汚染復原技術 現況**”, **環境資料集** 2**集** 5**長 廢棄物分野**, **國立環境硏究院 環境硏究電子圖書館**, http://www.nier.go.kr, 2000

6. Richard J. Watts, Michael K. Foget, Sung-ho Kong, Amy L. Teel, “Hydrogen Peroxide Decomposition in Model Subsurface Systems.”, Journal of Hazardous Material, B69 p229 243, 1999

7. S Fiorenza, CH Ward, “Microbial Adaptation to Hydrogen Peroxide and Biodegradation of Aromatic Hydrocarbon.” Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 18 p140 151, 1997

8. Richard A. Brown, Jill R. Crosbie, “Oxygen Source for In Situ Bioremediation.” Bioremediation : Field Experience, p311 331, Lewis Publishers, 1994

9. John T. Wilson, John M. Armstrong, Hanadi S. Rafai, “A Full Scale Field Demonstration in the Use of Hydrogen Peroxide for In Situ Bioremediation of an Aviation Gasoline-Contaminated Aquifer” in Bioremediation : Field Experience, p333 359, Lewis Publishers, 1994

10. David S. Woodward, Michael S. Niederreither, Thomas L. McMonagle, “An Evaluation of Alternative Vacuum Systems for Implementing Bioslurping” in In Situ Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon and Other Organic Compounds, p143 148, Battelle Press 5(3), 1999

11. M. H. Huesemann, K. O. Moore, “The Effect of Soil Type, Crude Oil Type and Loading, Oxygen, and Commercial Bacteria on Crude Oil Bioremediation Kinetics as Measured by Respirometry” in Hydrocarbon Bioremediation, p58 71, Lewis Publishers, 1994

12. Katherine H. Baker, Diane S. Herson, Bioremediation, 10 17, McGraw-Hill, Inc, 1994

13. Robert D. Norris et al, Handbook of Bioremediation, 1 11, Lewis Publishers, 1994

14. John F. Braddock, Marian L. Ruth, Peter H. Catterall, James L. Walworth, Kathleen A. McCarthy, “Enhancement and Inhibition of Microbial Activity in Hydrocarbon-Contaminated Arctic Soils : Impl

ication for Nutrient-Amended Bioremediation" Environ. Sci. Technol., 31, p2078 2084, 1997

15. Evan Nyer et al, In Situ Treatment Technology, Lewis Publishers, 1996

16. John T. Novak, Kevin G. Robinson, "Effects of Cultured Organism Addition in Biodegradation of Gasoline Components in Soils" Virginia Polytechnic Institute & State University

17. Robert E. Hinchee, Douglas C. Downey, Pradeep K. Aggarwal, "Use of H_2O_2 as an Oxygen Source for In Situ Biodegradation Part 1. Field Studies" Journal of Hazardous Materials, 27, p287 299, 1991

18. R. A. Brown, R. D. Norris, "The Evolution of a Technology : Hydrogen Peroxide in In Situ Bioremediation" in Hydrocarbon Bioremediation, p148 162, Lewis Publishers, 1994

19. Sang-dae Kim, "A Study on the Treatment of Diesel-contaminated Soils Using Fenton-like Oxidation", Hanyang University, 1998

20. Pradeep K. Aggarwal, Jeffrey L. Means, Douglas C. Downey, Robert E. Hinchee, "Use of Hydrogen Peroxide as an Oxygen

Source for In Situ Biodegradation Part Ⅱ. Laboratory Studies”, Journal of Hazardous Materials, 27, p301 314, 1991

21. Hye-young, You, “A Study on the Copper-contaminated Soil Remediation Using Low Molecular Weight Organic Acids”, Hanyang University, 1998

22. **土壤環境保全法**, **環境部**, 1999

23. **土壤汚染公定試驗方法**, **環境部**, 1998

24. Eisenberg G. M, “Colormetric Determination of Hydrogen Peroxide”, in Industrial and Engineering Chemistry, Vol 15, No5, p327 328

25. “Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology” in Difco Manual 10th Edition, p679 680, DIFCO LABORATORIES, 1984

26. Jang-hoi, Kim, “Decomposition of Hydrogen Peroxide on Goethite in the Presence of Citric Acid”, Hanyang University, 1999