

## 혼합 균주의 유류 분해 특성에 관한 호흡을 연구

목지예<sup>1</sup>, 류두현<sup>1</sup>, 유병수<sup>1</sup>, 유지선<sup>1</sup>, 박준석<sup>2</sup>, 안병구<sup>2</sup>  
전주대학교 환경과학과<sup>1</sup>, (재)자연환경연구소<sup>2</sup>  
e-mail: dryoo@jeonju.ac.kr

### 요약문

Oxygen uptake characteristics of soil microcosm added by hydrocarbon degrading bacteria screened from polluted site in Korea was studied. The degradation of TPH was enhanced by additon of nonionic surfactants. The amount of oxygen consumed was decreased at higher concentration. The degradation rate of hydrocarbon was decreased by increasing the hydrcarbon concentration.

Key words : oxygen-uptake, biodegradation, hydrocarbon

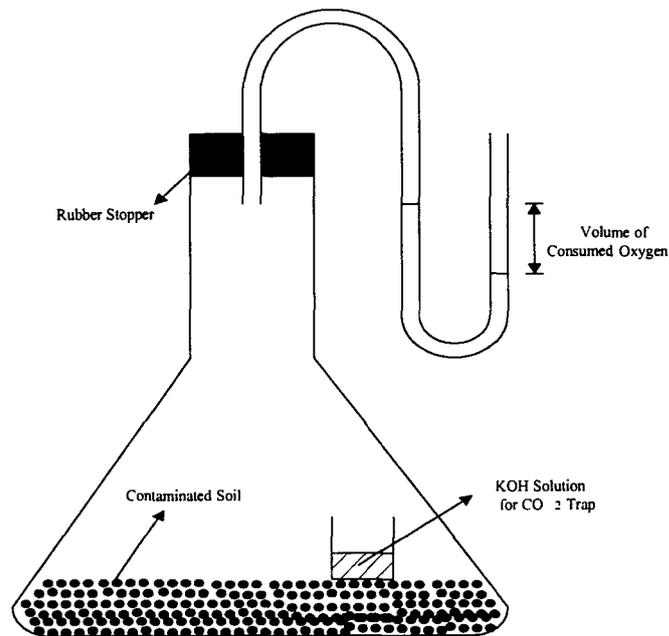
### I. 서론

토양내에 존재하는 호기성 미생물들은 산소를 이용하여 오염물질(유류)을 분해한 후 이산화탄소와 물을 배출하고 일부는 미생물 생체합성을 하여 개체증식을 한다. 미생물에 의한 오염물질의 분해속도를 평가하는 방법으로는 산소소비율 시험과 이산화탄소발생 시험을 들 수 있다. 이 중에서 이산화 탄소발생 시험은 측정이 용이하여 많은 연구자들이 생물학적 분해율을 간접적으로 평가하는데에 이용되어 왔다.(Chou and Huang, 1997; Chou and Wu, 1999; Deshusses, 1997; Lue 등, 2000; Sorial 등, 1997). 이산화탄소 발생량과 유류의 분해량과는 높은 상관성을 가지고 있다(Park, 2002). 그러나 이산화탄소 발생량만으로는 생물학적으로 제거되는 오염물질의 절대적인 양을 평가하는 데에는 무리가 있다. 산소소비율 시험은 호기성 미생물들에 의하여 소모되는 산소의 양을 측정함으로써 생물학적인 요인에 의하여 제거되는 오염물질의 양을 보다 절대적으로 평가할 수 있다. 산소가 많이 소비된다는 것은 그만큼 미생물의 유류분해효율이 우수하다는 것을 의미한다. 본 실험에서는 국내 오염지역에서 채취한 미생물들을 인위적으로 오염시킨 오염토양에 주입한 후 산소소비율을 시험하였다.

유류는 소수성(hydrophobic)이므로 토양공극내에 강하게 흡착되어 물로의 이동이 제한되고, 미생물들이 유류를 분해하기 위해 오염물질들을 세포내로 흡수하여야 하므로 소수성 물질일 경우에는 생물학적 분해가 용이하지 않다. 그러므로 유류에 계면활성제를 투입하여 토양내에 흡착되어 있는 소수성물질들을 용출시킬 필요가 있다. 계면활성제는 미생물에 독성을 나타내기도 하므로 첨가 시에는 미생물의 활성에 영향을 미치지 않는 정도로 최대의 효과를 얻을 수 있는 농도로 첨가하여야 한다. 본 연구에서는 계면활성제 첨가시 미생물 종에 따른 산소소비율이 어떠한 영향을 받는지에 대하여도 평가하여 보았다.

## II. 실험방법

미생물 첨가시 산소소비율을 시험하기 위하여 다음과 같은 과정에 의하여 실험하였다. 본 실험의 장치를 아래 그림에 나타내었다. 우선 국내 오염지역에서 배양한 미생물들을 인위적으로 오염시킨 토양에 주입한 후 산소소비율을 시험하였다. 250mL 삼각플라스크에 10,000mg/kg으로 오염시킨 토양 50g을 넣고 고무마개를 하였다. 고무마개에는 수두차를 측정할 수 있도록 마노미터를 설치하였다. 미생물의 대사과정에서 발생하는 이산화탄소가 마노미터의 수두차에 영향을 줄 수 있으므로 삼각플라스크 내에 KOH 용액을 넣은 비이커를 설치하여 이산화탄소 발생에 의한 영향을 배제시켰다. 측정된 수두차를 온도 등을 고려하여 표준온도에서의 산소부피로 환산하였다



Schematics of respiration test

각각의 미생물에 대하여 계면활성제 첨가의 영향을 살펴보기 위하여 4가지 실험을 실시하였다. 미생물로는 *Bacillus mycoides*로 판명된 R1과 R2를 사용하였다. 시료는 위의 방법과 동일하게 250mL 삼각플라스크에 10,000mg/kg으로 오염시킨 토양 50g을 넣고 고무마개를 하여 제조하였다. 미생물은 2개의 삼각플라스크에는 R2, No. 3 미생물만을 각각 단독으로 식중하였으며 나머지 2개에는 R1과 R2를 혼합한 미생물을 식중하였다. 계면활성제로는 가장 효율이 우수한 것으로 평가된 POE14을 CMC(1g/L)의 농도로 제조한 후 각 삼각플라스크에 15mL씩 첨가하였다. 삼각플라스크 4개 중에서 혼합 미생물을 식중한 1개의 삼각플라스크에는 콘트롤 시험으로서 계면활성제를 첨가하지 않았다.

## III. 실험결과

국내의 유류오염토양에서 배양된 미생물들 중의 하나와 동정분리한 미생물을 이용하여 산소소

비율 시험을 실시하였다. 국내 유류오염토양중 세 번째 시료에서 배양된 미생물은 No. 3라고 명명하였으며, 다른 하나는 동정분리한 결과 *Acinetobacter sp.*인 것으로 판명되었다. 1일후 수두차를 살펴보면 국내오염토양에서 배양된 미생물들을 첨가한 No. 3의 경우에는 150mmH<sub>2</sub>O로 동정분리된 미생물을 첨가한 R2의 경우(100mmH<sub>2</sub>O)보다 1.5배정도 많은 산소소비율을 보였다. 그러나 1일차 이후의 산소소비율 추세를 보면 No. 3에서는 산소소비율이 둔감하게 증가되는 데 반하여 R2의 경우에는 계속 꾸준한 증가를 나타내고 있다. 이는 오염토양에서 분리된 No. 3에서는 여러 가지의 미생물들이 혼합되어 있는 혼합균주이며, R2의 경우에는 유류분해가 우수하다고 알려져 있는 미생물들이기 때문이다. *Acinetobacter sp.*는 자연토양이나 하수슬러지 등에 존재하며 탄화수소류의 분해에 우수한 특성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Krieg와 Holt, 1984). 혼합균주는 단일 균주에 비하여 순응속도가 빠르기 때문에 초기에는 높은 산소소비율은 보였으며, 단일 균주(*Acinetobacter sp.*)는 유류분해에 적용하기 위한 시간이 필요하였던 것으로 판단된다. 그러나 단일 균주의 경우 4일차 이후 산소소비율이 현저하게 증가하였다. 이는 4일차 이후 *Acinetobacter sp.*의 오염물질에 대한 순응이 이루어 졌기 때문이다. 단일 균주를 사용한 경우에는 초기 순응에 소요되는 시간이 다소 지체되었으나 일정시간이 경과한 후에는 오히려 탄화수소류 분해에 유리한 것으로 평가되었다. *Acinetobacter sp.*가 탄화수소류 분해에 우수한 것으로 판명되었으므로 향후 진행될 미생물 첨가와 미생물 및 분해용매제 첨가의 실험에서는 본 균주들을 식종하여 가속화실험을 계속 진행할 것이다.

계면활성제 첨가가 미생물의 산소소비율에 미치는 영향을 살펴보면, R1과 R2의 두 가지 미생물을 혼합한 경우에는 계면활성제를 첨가하였을 때 산소소비율이 증가하였다가 계속 안정적인 상태를 유지하였다. 혼합 미생물에 계면활성제를 첨가하였을 때의 산소소비율은 콘트롤인 계면활성제를 첨가하지 않은 경우와 비교할 때 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. No. 3를 단독으로 사용한 경우에도 산소소비율에 의한 수두차가 계속 적으로 측정되었다. 그러나 R2를 단독으로 사용한 경우에는 계면활성제를 첨가하자 산소소비율이 거의 없는 것으로 나타났다. 결론적으로 두 가지의 미생물을 혼합한 경우에는 계면활성제 첨가의 영향을 덜 받았다.

인위적으로 효소를 첨가하였을 때 미생물의 분해속도가 증진될 수 있는 지를 평가하여 보았다. 첨가되지 않은 배지와 *Acinetobacter sp.*를 첨가한 배지 그리고 *Acinetobacter sp.*와 효소를 동시에 첨가한 배지를 각각 30mL씩 준비하였다. 각 배지에 가솔린 원액을 0.3mL씩 첨가한 후 미생물 배양기 안에서 배양 후 남아있는 잔류 가솔린량을 측정하였다. *Acinetobacter sp.*를 첨가한 경우에는 잔류 가솔린 양이 169ng이 검출되어 미생물을 첨가하지 않은 경우의 238ng으로 낮았다. 미생물과 효소를 첨가한 경우에는 잔류량이 154ng으로 가장 낮아 가장 제거가 잘되는 것으로 나타났다. 그러나 효소를 첨가하지 않고 미생물만을 첨가한 경우와 비교하여 보면 제거되는 양은 그리 크지 않았다.

다른 한 실험에서는 동일한 배지에 디젤을 0.3mL씩 첨가하여 남아있는 잔류량을 측정하였다. G2는 가솔린으로 오염된 국내 오염토양에서 배양된 미생물이며, D3는 디젤로 오염된 국내 오염토양에서 배양된 미생물들이다. 두 가지의 경우 모두 미생물을 첨가하였을 경우 TPH 분해량은 미생물을 첨가하지 않은 경우보다 높았다. 효소를 첨가한 경우에는 앞의 경우와 마찬가지로 디젤에 대하여도 약간의 효율 증진을 볼 수 있었다. 가솔린 오염부지에서 배양된 미생물의 경우에는 TPH 분해특성이 디젤 오염부지에서 배양된 미생물 보다는 다소 낮았다. 그러나 효소를 첨가한 실험에서는 가솔린 오염부지에서 배양된 G2의 경우에 보다 좋은 효과를 나타내었다.

## 감사의 글

본 연구는 '2001년도 차세대 핵심환경기술개발사업'의 연구과제로 수행되었으며, 연구비를 지원해주신 환경부에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Chou, M.S. and Huang, J.J. (1997), Treatment of Methyl ethyl ketone in Air Stream by Biotrickling Filters, *Journal of Environmental Engineering*, Vol.123, No.6, Jun., pp569-576
- Chou, M.S. and Wu, F.L. (1999), Treatment of Toluene in an Air Stream by a Biotrickling Filter Packed with Slags, *Journal of the Air and Waste Management Association*, Vol.49, Apr., pp386-398
- Deshusses, M.A. (1997), Transient Behavior of Biofilters: Start-up, Carbon Balances, and Interactions between Pollutants, *Journal of Environmental Engineering*, Jun., pp563-568
- Krieg, N.R. and Holt, J.G. (1984), *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology Vol.1*, Williams & Wilkins
- Lu, C., Chu, W., Lin, M. (2000), Removal of BTEX Vapor from Waste Gases by a Trickle Bed Biofilter, *Journal of the Air and Waste Management Association*, Vol.50, Mar., pp411-417
- Sorial, G.A., Smith, F.L., Suidan, M.T., Pandit, A., and Biswas, P. (1997), Evaluation of Trickle Bed Air Biofilter Performance for BTEX Removal, *Journal of Environmental Engineering*, Vol.123, No.6, Jun., pp530-537
- Park, J.S. (2002), Biofiltration of Gasoline Off-Gas from Simulated Soil Vapor Extraction, Ph.D. Dissertation, Konkuk University, Korea