한국환경과학회 봄 학술발표회지 제15권(제1호), 395~398, 2006
Proceedings of the Korean Environmental Sciences Society Conference, May, 19~20, 2006

OB1)

울산광역시 삼산동 매립장 침출수 정화를 위한 AquaMats® 상에서 미생물의 분리 및 동정에 관한 연구

이준우*, 김좌관
부산가톨릭대학교 응용과학대학 환경공학과

1. 서 론

현재 국내에서 운용되고 있는 위생매립시설의 설계 및 시공에 있어서 가장 중요한 요소 중의 하나가 침출수 처리 시설이다. 적절하게 처리되지 않은 침출수는 인근의 지하수, 지표수 등 수자원과 토양을 오염시키고 주변 생태계 파괴를 초래할 수도 있어 침출수 처리는 매립지 운영단계에서 뿐만 아니라 사후관리에 있어서도 매우 중요한 문제이다. 또한 매립지 내부로 침투한 빗물은 불균질한 폐기물 층을 통과하면서 각종 오염물질을 용출시키며 복잡한 성분의 침출수로 발전된다.[1)-4)]

AquaMats®는 종래 미생물에 의한 생물학적 처리 공법과는 달리 여재 제조 방법(ultra Weave Technology)의 특허기술로 여재의 유효표면적을 증대시켜 자연생태계의 하부구조인 식물성 플랑크톤이나 박테리아의 빠른 착생이 가능하게 하여 먹이사슬을 형성시켜 줌으로써 수 생태계의 자정능력을 부여하는 신개념의 생물학적 처리 공법이다. AquaMats®를 이용한 고농도 미생물 처리 공정(AMTP : Advanced Microbial Treatment Process)은 다공성의 여재에 여러 종류의 미생물이 공생 및 고밀도의 증식으로 인해 호기 및 혐기화 반응을 동시에 진행시킬 수 있어 용존 유기물 및 질소, 인의 제거에 탁월한 효과를 나타내고 수질 생태계의 자정능력을 극대화시킬 수 있어 파괴된 수질 생태계의 균형을 복원시킬 수 있는 생물학적 처리공법이다.

본 실험에서는 현재 획기적인 생물학적 처리공정으로 알려진 AquaMats®를 이용한 침출수 처리 공정에는 어떤 호기적 미생물이 관여하는지에 중점을 두었다. 이에는 울산광역시 삼산동 매립지 침출수의 처리 공정에서 이용된 AquaMats®에서 시료를 채취하여 미생물을 분리한 다음 그 미생물이 어떤 균인지를 알아보고 그 미생물을 직접 침출수 처리에 활용하고자 하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 미생물 균주의 분리 및 배양 조건

매립장에서 가져온 AquaMats®에 서식하고 있는 미생물을 분리하기 위해서 다음과 같은 방법을 취하였다. 즉, 미생물 시료는 AquaMats®의 끝부분을 소량 70%(w/w) 에탄올로 살균한 가위로 절단하여 채취하였으며, 다음 멸균증류수를 사용하여 추출한 다음 원심분리 하였다. 이 때 원심분리(Hanil Refrigerate Centrifuge, Hanil Co. Ltd.)의 조건은 4°C, 500rpm,

5분간이었으며 주로 미생물과 함께 혼입된 토양같은 부유물질을 제거하기 위해서였다. 미생물의 분리는 우선 미생물 추출 시료를 최소영양배지(nutrient agar) 상에서 미생물의 성장 여부를 확인하였으며 우점종의 확인과 단일 개체군을 얻기 위해서는 희석평판배양법(dilution agar plate method)을 통해 확인하였다.

다음 접종된 미생물 현탁액은 37 ± 2°C에서 24시간 항온배양기(Vision Scientific Co. Ltd)에서 배양한 다음 나타난 미생물을 관찰하였으며, 이때 나타난 미생물의 집락은 colony counter를 사용하여 관찰하였다. 나머지 모든 미생물의 배양은 37 ± 2°C에서 이루어졌다.그리고 API 20 NE kit의 배양은 29 ± 2°C의 배양기에서 이루어졌다.

2.2. 시약 및 재료

최소영양배지는 미국 Difco사의 최소영양배지(nutrine agar)를 사용하였으며, 현미경은 일본 Olympus 회사의 것을 사용하였으며 고배율의 현미경 사진 촬영을 위해서는 Motic® MCCamera (Motic China Group Co., Ltd)를 사용하였다. 현미경 검경을 위한 cedar oil은 일본 Kanto Chemica 회사의 것을 사용하였다. 미생물을 동정하기 위해서는 API kit를 사용하였는데 이는 프랑스 Biomerieux 회사의 장내세균 이외의 그램 음성 간균을 동정하는 API 20 NE을 사용하였다. 한편 AquaMats®는 SDF(surface development front) Type으로 미국 AquaMats®사의 것을 사용하였다.

2.3. 미생물의 동정

미생물을 분류하는 가장 선결방법은 미생물을 그램 염색하는 방법이다. 미생물을 그램 염색을 위해서는 Hucker의 방법[5]을 사용하였다. 다음 현미경(Olympus Model CX 40, 일본 Olympus Co. Ltd.)으로 1,000배의 배율에서 관찰하였다.

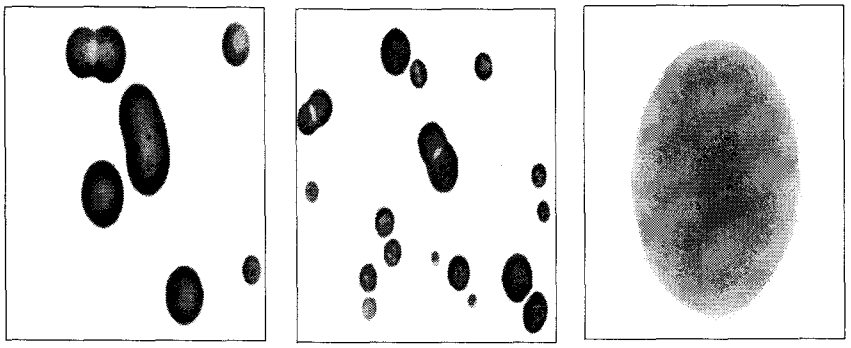
분리된 미생물을 동정하기 위해서는 고전적인 미생물 동정법으로써 널리 사용되는 API Kit를 사용하였다. 이 미생물들은 그램 염색 결과 모두 그램 음성 간균으로 나타났기 때문에 주로 장내 세균 이외의 그램 음성 간균을 동정하는 API 20 NE를 이용하여 API Manual[6]대로 실험하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 미생물의 그램 염색 및 동정

우점종으로 판명된 미생물의 수는 3종이었다. 각각의 미생물 집락 형태는 그림 1과같다. 또한 미생물들은 그램 염색 결과 모두 간균의 형태로 그램 음성으로 판명되었는데 집락의 모습은 한 종은 흰색이었으며 한 종은 연노랑색, 나머지 한 종은 노란색을 나타냈다. 동정을 위해 API 20NE를 이용한 실험결과는 그림 2와 같다.

위 결과들을 가지고서 API의 website(http://apiweb.biomerieux.com)에서 균을 대조한 결과 흰색 집락의 미생물은 *Agrobacter radiobacter*(%동정확률 = 98.9%)임이 판명되었고 연노랑색 집락의 미생물은 *Pseudomonas cepacia*(%동정확률 = 87.8%)임이, 노란색 집락의 미생물은 *Flavobacterium indologenes*(%동정확률 = 99.8%)임이 판명되었다.



A B C

Fig. 1. The type of microbial colonies. A: White colony, B: Weak-yellow colony, C: Yellow colony.

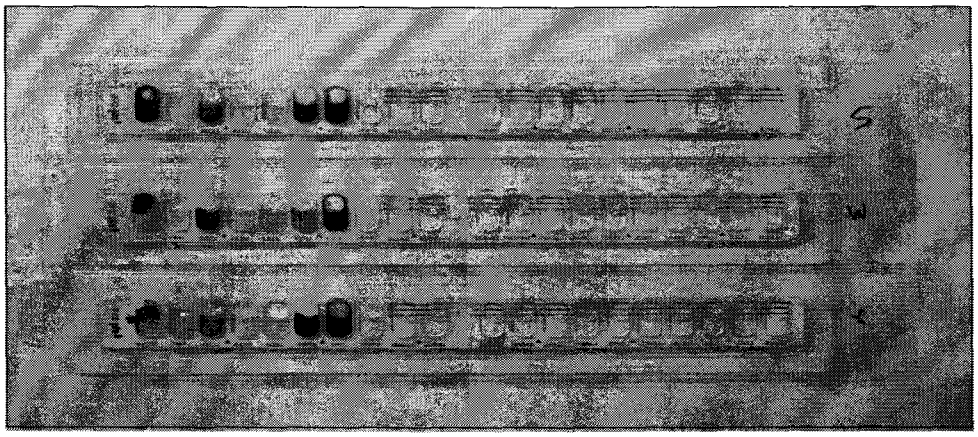


Fig. 2. The identification results by API 20NE.

3.3. 침출수 내 미생물의 증식

침출수를 syntered glass로 한번 거른 후 이를 미생물의 배양 배지 A로 하였다. 그다음 배양 배지를 다시 pore size 0.45㎛의 여과막으로 거른 다음 이를 배양 배지 B로 하였다. 이들 미생물을 키웠을 때 배양 배지 A, B에는 모두 자라지 못하였으나 이들 배지에 생장촉진물질인 yeast extract를 첨가 하였을 때는 모두 빠른 증식을 보여주었다.

4. 요 약

울산 삼산동 매립장 침출수의 수질정화 공정을 위해 새로운 여재인 AquaMat®가 사용되었다. 본 실험에서는 AquaMat®에 서식하고 있는 여러 미생물 중 우점종으로 여겨지는 3종의 미생물을 각각 분리하여 동정하였다. 이들 미생물은 그램 염색 결과 모두 간균 형태의 그램 음성으로 나타났으며, 각각 *Agrobacterium radiobacter*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium indologenes*로 판명되었다. 이들 3종의 미생물은 모두 침출수에서는 잘 자라지 못하였으나 yeast extract같은 생장촉진물질의 존재 하에서는 침출수에서 빠른 생장속도를 보여주었다.

참 고 문 헌

Saint-Fort, Roger, 1992, Fate of municipal refuse deposited in sanitary landfills and leachate treatability, J. Environ. Sci. Health, 27(2), 369-401.

Lema, J. M. *et al.*, 1998, Characteristics of landfill leachate and alternatives for their treatment A review, Water, Soil Pollution, 40, 223-250.

김성호, 1995, 침출수 처리 현황과 문제점 및 대책, 고려대 부설 환경기술·정책 연구소 창립기념 기념 심포지움, pp.138-168.

(주)대우 건설기술연구소, 1994, 폐기물 매립지 주변수계의 오염방지시설에 대한 최적화 기술 연구.

Doetsch, R. N., 1981, Determinative methods of light microscopy, *In* the Manual of methods for general bacteriology, Ame. Soc. for Microbiol., 26pp.

API manual, The Identification of All Microorganisms, Ver. 3, pp.15-24.