

유류오염 토양의 화학·생물학적 통합처리 과정 중의 미생물 군집 변화

최정혜¹ · 배재상¹ · 박연정¹ · 김수곤² · 고성철³

¹한국환경기술(주) 환경복원연구소, ²한국환경기술(주), ³한국해양대학교
e-mail: skoh@mail.hhu.ac.kr

요약문

화학적 산화처리와 bioremediation 기법을 개별적 또는 복합적으로 동시에 적용함으로써 한 개별 기법의 단점을 보완하고 현장적용성을 증대시킬 수 있는 통합기법을 개발하고자 하였다. 펜톤유사 반응을 통해 고농도의 유류를 산화분해 시킨 후 미생물 처리를 통해 잔류 유류 오염물질을 제거하고자 하였다. 유류 오염토양의 화학·생물학적 통합처리 공정의 현장 적용성 및 토양 미생물에 미치는 영향을 검증하기 위해 처리과정 전 후의 미생물 군집구조를 분석하였다. 또한 토양 내 유류 분해균을 분리하기 위해 탄소원으로 경유와 벵커C를 이용하여 농화배양을 수행하였다. 경유 분해균 10여종, 벵커 C 분해균 6종을 분리하여 분해능 및 동정을 시도하였다. 또한 유류 분해미생물의 consortia를 분자생물학적 기법으로 분석을 시도하였다.

key word : Oil contaminated soil, Fenton oxidation, bioremediation, PCR-DGGE

1.서론

유류의 소비 증가로 인한 유류저장시설 및 배관시설 증가에 따른 오래된 시설의 관 노후, 관리 소홀로 인하여 유류저장탱크 및 배관의 파손에 의해 유류가 토양에 누출되어 토양 및 지하수를 오염시키고 있다. 오염된 유류들은 자연상태에서 물리·화학·생물학적 기작에 의해 일부 오염물질들이 자연정화에 의해 정화되고 있지만, 처리량이 미약하고 많은 시간을 요구하고 있다. 또한 토양은 물이나 공기와 달리 불균일하여 단일 기술에 의해서는 복원에 많은 제한이 따른다. 따라서 기존에 개발된 토양정화기술들의 조합을 통해 정화대상을 넓히면서 정화효과는 증대시키면서 정화비용을 감소시킬 수 있는 기술이 개발되어야 한다. 따라서 본 연구는 유류오염 토양을 정화하기 위하여 화학·생물학적 통합처리 공정을 이용하였다. 화학적 산화처리와 bioremediation 기법을 개별적 또는 복합적으로 동시에 적용함으로써 한 개별 기법의 단점을 보완하고 현장 적용성을 증대시킬 수 있는 통합기법을 개발하고자 하였다.

2.본론

(1) 시료채취

화학·생물학적 통합처리에 이용된 시료는 유류로 오염된 산악지역의 토양을 이용하였다. 시료채취 지점의 오염현황은 오염면적 520m², 오염토양 량 296m³(오염심도 평균0.3 ~ 1m)으로 광범위하게 오염되어 있었다. TPH의 양은 864mg/kg ~ 15,103mg/kg로 오염되었다. 오염토양은 유류분해제 처리 후 미생물 반응백에 투입하였다. 미생물 반응백은 미생물의 성장을 촉진시키기 위해 질소와 인을 포함한 영양분과 산소를 충분히 공급시키고 오염물질을 충분히 분해할 수 있도록 유류분해 미생물제제를 첨가하였다. 본 연구에 이용된 시료는 미생물 반응백에 적용 30일 후 채취된 토

양을 이용하였다.

(2) 온도 및 습도의 모니터링

유류 분해를 위한 미생물 활성화에 영향을 주는 인자인 온도를 주기적으로 확인하였다. 온도 모니터링은 2 지점으로 나누어 수행하였으며 표면(0 cm)과 40cm 깊이에서의 온도를 모니터링 하였다.

(3) 미생물 밀도 분석

총 중속영양세균 및 TPH 분해 세균의 밀도를 측정하기 위해 미생물 반응백 적용 30일 후 채취된 시료를 이용하여 viable cell counting법을 이용하여 수행하였다. viable cell counting은 복합배지 TSA (Trypticase Soy Agar) 1/2 strength 배지를 이용하였다. 또한 TPH 분해세균 밀도를 측정하기 위해 viable cell counting법과 MPN (Oil degrader)법 이용하여 수행하였다. TPH 분해세균을 분리 및 밀도를 측정하기 위해 Bushnell-Haas media를 이용하였으며, 대상오염지역의 오염원인 경유를 단일 탄소원으로 이용하여 실험하였다.

TPH(경유) 분해를 위한 미생물 활성화에 영향을 주는 인자인 온도 및 함수율을 주기적으로 확인하였다. 토양 온도와 습도를 모니터링 한 결과 온도의 경우 대체적으로 15 ~ 20°C 정도를 유지하였으나 기온의 변화로 인해 4 ~ 8°C 정도 상승하였다. 습도의 경우 전체적으로 50 ~ 60%의 함수율을 보여 전반적으로 함수율이 높게 유지되는 것으로 나타났다. 특히 A 지점의 함수율이 높게 나타나 40 ~ 50% 범위의 적절한 수분함량 수준으로 조절할 필요가 있다.

미생물 반응백 적용 25일 후 총 중속영양세균 밀도를 측정하였으며 viable cell counting법을 이용하여 수행하였다. viable cell counting은 복합배지 TSA (Trypticase Soy Agar) 1/2 strength 배지를 이용하였으며 미생물밀도는 A 지점 4.7×10^6 c.f.u./ml, B 지점 9.1×10^7 c.f.u./ml로 측정되었다. 유류분해 세균 밀도를 측정하기 위해 viable cell counting법과 MPN (Oil degrader)법 이용하여 수행하였다. TPH 분해세균을 분리 및 밀도를 측정하기 위해 Bushnell-Haas media를 이용하였으며, 대상오염지역의 오염원인 경유를 단일 탄소원으로 이용하여 실험하였다.

Viable cell counting법과 Micro-plate MPN법을 이용한 TPH 분해 세균 확인 및 정량분석 결과는 그림 1, 2에 각각 나타내었고 밀도 측정결과는 그림 3에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 viable cell counting 방법에 의해 조사된 결과 TPH(경유) 분해균의 밀도는 A 지역 (2.97×10^6 c.f.u./g)에 비해 B지역(3.96×10^7 c.f.u./g)이 10배 가량 높은 밀도를 가지는 것으로 나타났다. MPN의 경우는 A 지역(7.02×10^4 cells/100g)에 비해 B지역(2.42×10^8)이 10^4 배 가량 높은 밀도를 가지는 것으로 나타났다.

이와 같은 결과는 높은 함수율에 기인한 것으로 사료된다. 높은 함수율은 토양 공극 내 산소의 농도를 감소시켜 TPH 분해 미생물 활성을 저해하는 요인으로 작용할 수 있다. 이에 40 ~ 50% 범위의 적절한 수분함량 수준으로 조절할 필요가 있다. 이에 분해 미생물 및 기타 미생물의 성장과 유지를 위해 적절한 토양 함수율(40 ~ 50%)과 pH(6.5 ~ 7.5)를 유지하는 것이 매우 중요함을 관찰 할 수 있었다.

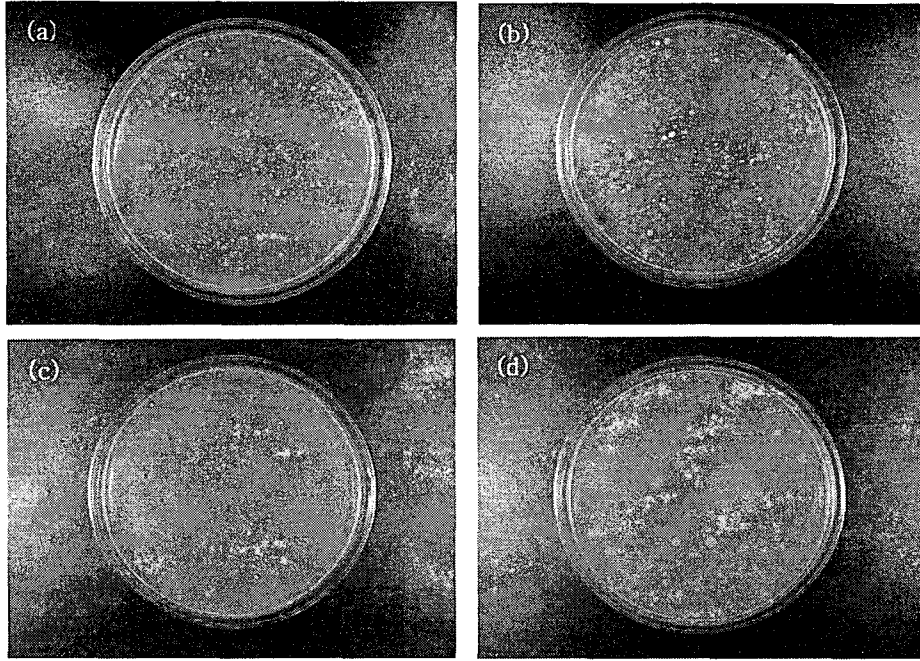


그림1. viable cell counting법을 이용한 TPH(경유) 분해 세균 밀도 a: A 지점; b: B 지점(희석배율: 10^{-2}); c: 미생물 제재 1(희석배율: 10^{-2}); d: 미생물 제재 2(희석배율: 10^{-2})

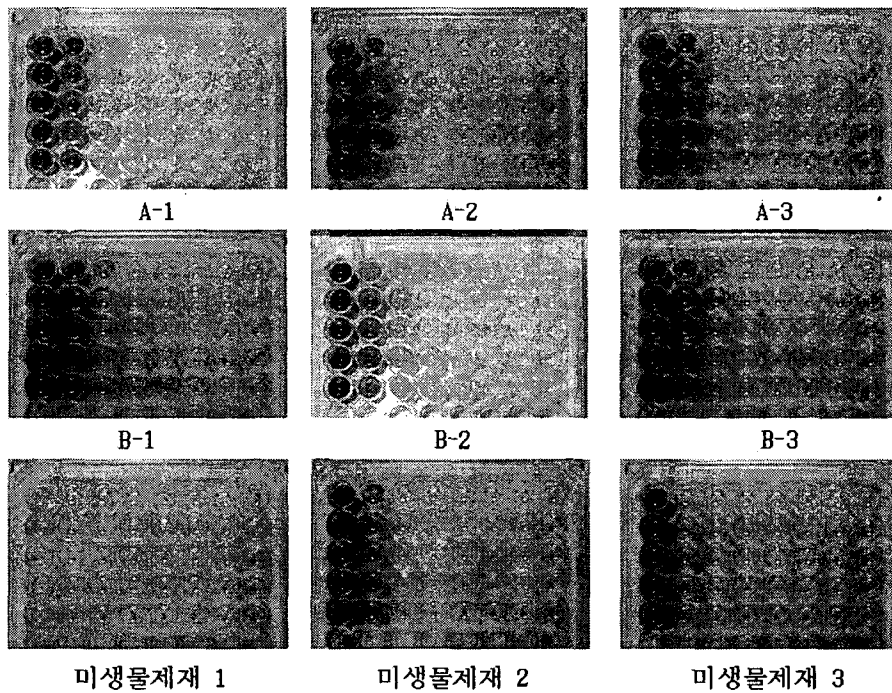


그림 2. Microplate MPN법을 이용한 시료채취 지역 A, B, 및 미생물제재 내의 TPH(경유) 분해 세균 확인

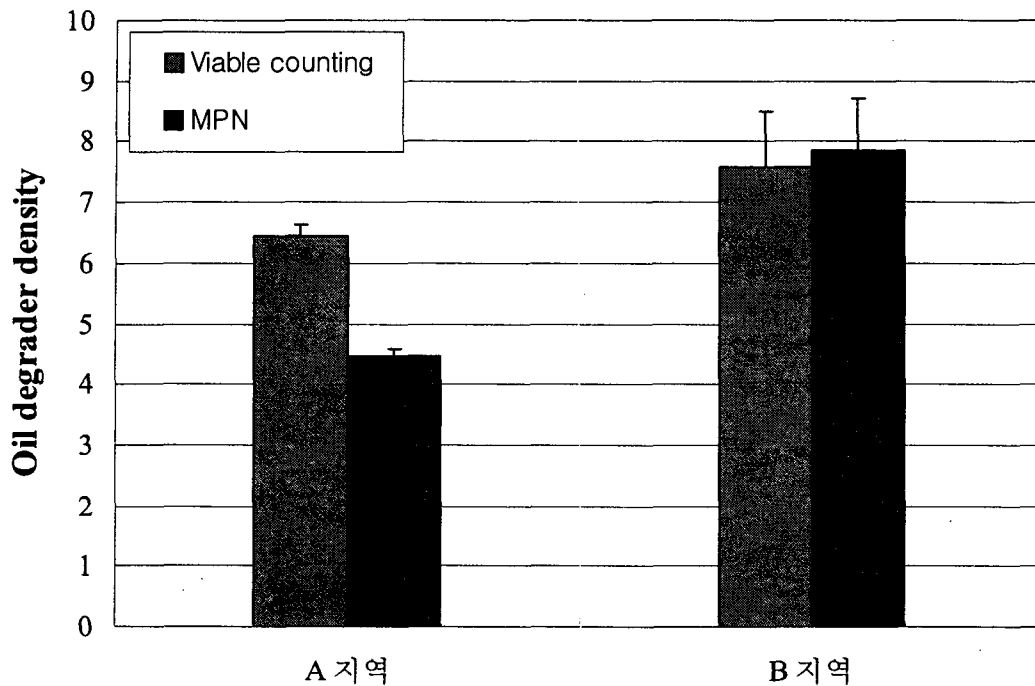


그림 3. viable cell counting법과 MPN법을 이용한 TPH 분해 세균 밀도

3. 결론

본 연구를 통해 대표적 오염물인 경유를 분해할 수 있는 분해균 10여종 및 벵커C유 분해균(혼합균)을 분리 하였으며 유류 분해 미생물 밀도를 측정하기 위한 viable counting 방법(생균 계수법)과 microplate MPN법과의 상관성을 확인할 수 있었다. 또한 이들 방법에 의한 다양한 유류 분해균을 분리, 확인할 수 있는 기법을 확립하였다. 또한 분자생물학적(PCR-DGGE) 기법을 활용하여 유류분해 consortia 내의 공존 미생물의 확인이 가능하였다.

4. 참고문헌

1. Nam, K. N., Wilson, R., Jerome, J. K. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified fenton reaction. *Chemosphere*, 45: 11-20. 2001
2. Goi, A., Kulik, N., Trapido, M. Combined chemical and biological treatment of oil contaminated soil. *Chemosphere*. 2005
3. Atlas, R. M. *Media for environmental microbiology*. CRC press. 1995