

유류오염 지역내 지층 특성이 지하수 수질에 미치는 영향 연구

고경석^{1*} · 오인숙¹ · 김을영² · 이광식³ · 양재하⁴ · 이장근⁴

¹한국지질자원연구원, ²한국농촌공사, ³한국기초과학지원연구원, ⁴서울대학교
e-mail: kyungsok@kigam.re.kr

요 약 문

유류누출지역의 수리지질, 수리지화학 및 미생물 분석을 통하여 지층특성이 지하수 흐름, 수질 및 미생물 특성에 미치는 영향을 고찰한 결과 지표에서 심도 1.8~3.5m 구간에 수십 cm에서 2m 정도의 두께를 갖는 투수성이 상대적으로 양호한 지층이 존재함을 확인할 수 있었다. 이러한 지층의 존재에 의하여 상하부의 지하수대의 수두차이가 현저함을 관측하였으며 유류 수송관에서 누출된 유류가 이 투수성 지층을 따라 이동하여 이 구간의 토양 및 지하수가 오염되었다고 판단할 수 있다. 지하수 수질은 이러한 지층의 특성에 따라 다른 이온성분 및 동위원소 특징을 보여주었으며 이는 다변량통계분석에 의해서도 확인할 수 있었다. 미생물 DGGE 분석결과 역시 유사한 특징을 보여주어 이러한 수리지화학, 수리지질 및 미생물 특징이 서로 밀접한 상관성을 보여줌을 확인할 수 있었다.

Key words: 유류누출지역, 미생물 DGGE, 수리지화학, 다변량통계분석

1. 서언

송유관이나 지하저장 탱크로부터 누출된 유류에 의한 토양 및 지하수 오염은 지층 특성에 의해 크게 영향을 받는다. 이러한 유류오염지역에서 유류성분은 자유상(NAPL) 또는 지하수 용존상태로 이동되어 오염이 점차로 확산되게 된다. 따라서 지층 특성과 이에 따른 토양 및 지하수 오염에 대한 수리지화학 및 미생물학적 분석은 오염확산 메카니즘에 대한 정보를 제공하여 오염복원에 중요한 역할을 한다. 미생물학적 연구에서 유전자 정보를 이용한 DGGE 분석은 유류성분의 생분해를 유도하는 토착 미생물의 동정을 할 수 있는 연구방법으로 최근 들어 널리 활용되고 있다(Dewettinck et al., 2001).

본 연구에서는 유류누출지역의 수리지질, 수리지화학 및 미생물 분석을 통하여 지층특성이 지하수 흐름, 수질 및 미생물 특성에 미치는 영향을 고찰하고자 하였다. 지하수의 수질 특성은 오염 성분 및 동위원소 특징을 통하여 지층 특성에 따른 상하부 지하수 수질의 변화를 추적하였으며, 지하수에 대한 DGGE 분석을 통하여 수리지화학적 특성과 미생물 동정과의 상호 관계를 규명하고자 하였다.

2. 연구방법 및 결과

2.1. 부지특성 및 수리지질

연구지역은 유류 오염 부지(K-site)로서 송유관으로부터 누출된 가솔린 및 케로젠에 의하여 지하수 및 토양이 오염된 지역이다. 연구지역은 소규모 공장, 인구가 밀집된 지역으로 도로 등 시설물이 많아 지하수계가 매우 복잡한 형태를 가지고 있다. 지질은 편마암 지역으로 상부는 매우 치밀한 점토질이 우세하나 하부에 부분적으로는 투수성이 양호한 모래나 자갈층이 존재한다. 지층 특성 조사 결과, 지표에서 심도 1.8~3.5m 구간에 수십 cm에서 2m 정도의 두께를 갖는 투수성이 상대적으로 양호한 지층이 존재함을 확인할 수 있었다. 투수성 지층 상하부에 상대적으로 저투수성의 점토질의 토양층이 있으며, 저투수성층은 건기에는 지하수 흐름이 거의 없고 수위도 저 투수성 하부에 형성되고 있다가 우기에는 급격히 수위가 상승하고 지하수 흐름이 형성되었다. 투수성 지층 하부에 저투수성 층이 있으며 풍화대를 포함하는 하부에 하부 지하수대가 존재하며, 상부와 하부 지하수대의 수두차이가 현저함을 관측할 수 있었다. 따라서 유류 송유관에서 누출된 유류가 이 투수성 지층을 따라 이동하여 이 구간의 토양 및 지하수가 오염되었다고 판단할 수 있다.

2.2. 시료 채취 및 분석

수리지화학 분석 및 미생물 분석을 위한 시료는 8개 지하수 공에서 채취 분석되었다. 유류 오염과의 상관관계를 밝히기 위하여 휘발성 유기성분의 채취 및 분석도 동시에 이루어졌다. 유류오염원으로부터 거리, 지하수 오염 정도, 지하수 흐름을 고려하여 시료를 채취하여 분석을 실시하였다. pH, 전기전도도 및 알카리도는 현장에서 직접 측정되었으며 산화-환원 조건을 제시하는 Fe, Mn, H₂S 등은 현장에서 DR-2010(Hach Co.)으로 직접 분석되었다.

DGGE 미생물 분석을 위한 시료는 채취 즉시 냉장 보관하여 실험실로 운반되었다. 먼저 지하수 시료(W-2, BH-10)는 원심분리법으로, 생물량이 적은 것으로 판단되는 나머지 시료는 여과법을 이용하여 각 시료로부터 부유물질 (biomass 포함)을 회수하였다. 지하수 시료에서 DNA를 직접적으로 추출하기 위해서 Somerville (1989)의 방법을 이용하여 Genomic DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA 시료를 template로 하여, 다음과 같은 방법에 의해 PCR을 수행하였다. PCR에 사용한 primer는 bacterial primer 341fGC(5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3')과 518r(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')이었다. PCR amplicon 시료는 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE, Dcode™ System, BIO-RAD, USA)를 이용하여 전기영동하였으며, DGGE band의 유사성은 Gel ComparII version 3.5 software를 이용하였다.

3. 연구 결과 및 토의

3.1. 수리지화학적 특성 및 통계분석

연구지역에 설치된 지하수 관정의 수위 측정을 통하여 지하수 흐름을 분석한 결과 지하수는 지형을 따라 남동방향으로 구배가 형성되어 있음을 알 수 있었다. 이는 지형의 분포와 비교적 일치하는 특징이며, 따라서 송유관에서 유출된 유류는 지하수 흐름에 따라 구배가 이루어짐을 예측할 수 있었다. 지하수 흐름은 상하부 대수층에서 모두 유사한 양상을 보여주고 있으며, 상부의 대

수층의 수위는 강수의 영향에 따라 큰 차이를 보여줌을 알 수 있었다. 오염물질의 이동은 지하수 흐름에 영향을 받으나 상부의 자유상(Free Phase)의 유류성분은 연구지역을 가로지르는 도로 하부 지층 특성 즉 수도관, 전기시설, 매립토 등의 특성에도 영향을 받는 것으로 조사되었다.

수리지화학적 특성과 미생물분석을 위하여 채취된 시료에 대한 분석결과, 오염원이 위치한 GW-13은 Ca-SO₄ 유형에 가까우며 지하수 하류구배 지역에 위치한 W-01, W-02, W-03은 Ca-HCO₃ 유형으로 분류됨을 알 수 있다. 비교적 배경지하수인 GW-07은 Ca-SO₄ 유형에 가깝게 도시됨을 알 수 있었다. 이는 연구 지역 지하수가 농업활동과 인간활동이 활발한 지역에 위치하여 이들로부터 유입되는 오염원에 의해 영향을 받는 것에 기인하는 것으로 판단된다. 하류부에 있는 관측공이 Ca-HCO₃ 유형이 되는 것은 오염물질의 분해에 따른 NO₃, SO₄의 급격한 감소와 HCO₃의 증가에 기인하는 것으로 판단된다.

파이피나 듀로브도에서 보여지는 지하수의 수리지화학적 특성은 Stiff diagram에서 또한 확인할 수 있었다. 그림 26에서 볼 수 있는 바와 같이 하류지역의 지하수 시료들(W-01, -02, -03)들은 모두 HCO₃의 부화된 양상을 전형적으로 보여주고 있음을 알 수 있었다. 상대적으로 상류구배에 위치한 지하수(GW-03, -07, -08) SO₄의 양이 많음을 또한 확인할 수 있었다.

지하수 화학분석결과는 오염원 근처의 지하수는 미생물의 분해 작용에 따라 혐기성 환경으로 이루어져 있는 것을 확인할 수 있었다. BTEX는 오염원으로부터 거리가 증가할수록 감소되는 양상을 보여주었으며 미생물에 의해 전자수용체(electron acceptor)로 사용되는 산소(DO), 질산염(NO₃) 및 황산염(SO₄)도 역시 점차적으로 감소되어짐을 확인하였다. 이는 오염물 분해에 따른 산화-환원과정이 순차적으로 이루어짐을 나타내는 결과이다. 이러한 결과는 향후 자연저감 모니터링 기법의 적용시 중요한 자료로 사용되어질 것이다. 반면 환원작용에 의해 증가되는 Mn과 Fe²⁺는 오염지역에 가까운 곳일수록 높은 농도를 나타냄을 알 수 있었다(그림 1). 이러한 수리지화학적 특징을 종합하여 보면 연구지역 지하수는 크게 5m 내외의 천부와 가정용 수도공급용으로 이용되는 5m 이상의 깊은 관정이 다른 특징을 보여줌을 알 수 있었다. 또한 5m 이상의 깊은 관정은 다시 유류오염의 영향을 받은 것과 그렇지 않은 것으로 분류되며 동위원소 분석 결과도 이러

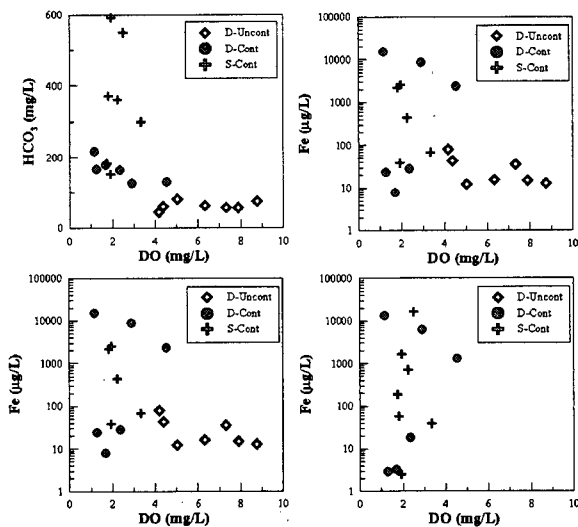


그림 1. Redox 성분에 대한 분포 특징.

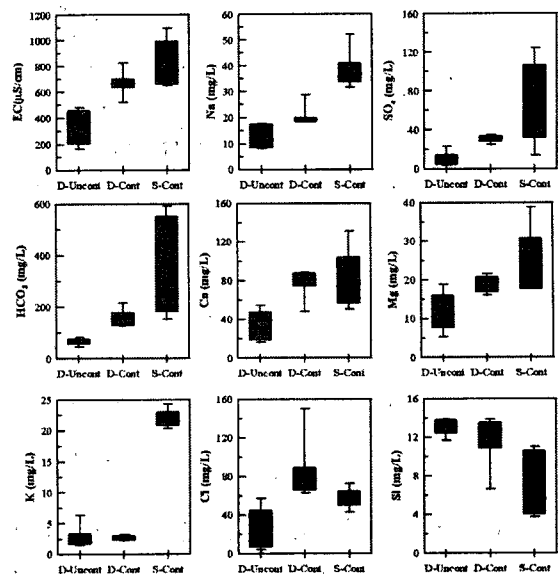


그림 2. 이온 성분에 대한 Box plot.

한 지층특성에 의한 관정 분류와 일치되는 결과를 보여준다.

주성분, 판별분석 및 군집분석의 결과도 이러한 특징을 명확하게 나타내어줌을 알 수 있다. 천부 지하수에서 높은 질산염과 황산염의 분포는 이 지역에 예전에 과수원과 밭으로 이용되었던 특징과 관계가 있는 것으로 사료된다.

3.2. 미생물 분석결과

각 지하수 시료로부터 원심분리법 혹은 여과법에 의해 회수한 suspended solid (SS) 농도를 계산한 결과를 살펴보면 유류로 오염된 지하수 시료의 경우 SS 농도가 높았다. 특히, BH-10의 SS 농도는 427 mg/L로 매우 높았고, W-1의 SS 농도도 230 mg/L로 높았다. 이와 같이 유류 오염 지하수에서 SS가 높은 이유는 유류는 생분해가 용이한 화합물로 유류가 미생물 증식을 위한 탄소원으로 제공되어 미생물량이 증가한 것으로 사료된다. 한편, GW-7과 GW-8의 SS 농도는 각각 4.14 mg/L, 3.26mg/L로 가장 낮은 값을 보였다.

지하수 시료로부터 회수한 SS로부터 genomic DNA를 추출하여 전기영동한 결과, GW-7과 BH-10 시료를 제외한 모든 시료에서 많은 양의 genomic DNA를 추출할 수 있었다. 16S rDNA 일부분을 증폭할 수 있는 eubacterial primer(341fGC-518r)를 이용하여 PCR한 결과, 모든 시료에서 약 180bp의 PCR products를 확인할 수 있었다. 각 시료의 DGGE band의 유사성을 비교함으로써 미생물 군집 유사성을 비교할 수 있는데, 각 DGGE fingerprints의 band 유사성을 Gel ComparII version 3.5 software를 이용하여 분석하고 Jaccard coefficient로 표현한 결과는 그림 3에 도시하였다.

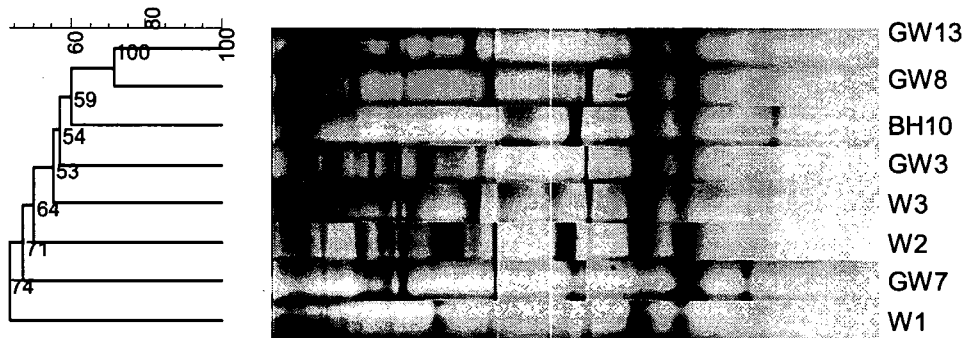


그림 3. DGGE 분석결과 지하수 시료의 유사도.

오염원이 가솔린과 케로젠인 유류 오염 지하수 시료의 Ecoplate의 각 well에 있는 탄소원 이용도를 조사하여 시료를 접종한 Ecoplate의 각각의 well의 색변화 값으로부터 다음과 같은 식을 이용하여 average well color development (AWCD)를 계산하였다(Garland and Mills, 1991).

$$AWCD = \frac{\sum(C_i - R)}{n}$$

(C: 각 well의 OD595nm 값 R: Control well의 OD595nm 값 n: 기질의 수 (31))

지하수 시료의 배양시간에 따른 AWCD 변화를 그림 50에 도시하였다. W-1 시료가 가장 빨

리 AWCD 값이 증가하였고, 그 다음이 W-2, W-3, BH-10, GW-3, GW-7, GW-8, GW-13 순이었다. 최종 AWCD값을 비교해보면, W-1과 W-3이 가장 높은 값을 보였고, W-2와 BH-10이 그 다음 순이었다. GW-7, GW-8 및 GW-13 시료의 AWCD값 변화는 매우 미미하였다. 각 시료의 탄소원 이용도 유사성을 통계적으로 분석하기 위해, 각 시료의 배양 마지막날의 AWCD값을 이용하여 principal component analysis를 수행한 결과를 그림 4에 도시하였다. 그림 5에 GW 시료의 PCA 결과를 도시하였는데, GW-13과 GW-8이 서로 근접한 위치를 차지하여 탄소원 이용도가 비슷함을 시사하였다. 또한, 나머지 시료가 서로 근접한 위치를 차지하였다.

W 시료의 DGGE band로부터 DNA를 추출하여 cloning, 염기서열 분석 및 동정을 수행하고 계통발생학적 유사도 분석한 결과, 오염되지 않은 지하수 시료(GW7)에서는 *Porphyrobacter* sp. 및 *Aeromicrobium* sp. 등이 검출되었다. 유류로 오염된 시료(BH10, GW3, GW7, GW8, W1, W2, W3)에서는 *Bacillus* sp., *Acidovorax* sp., *Azoarcus* sp., *Porphyrobacter* sp., *Sphingomonas* sp., *Runella* sp. 및 *Ruminococcus* sp. 등이 검출되었다.

W 시료의 DGGE band로부터 DNA를 추출하여 cloning, 염기서열 분석 및 동정을 수행하고 계통발생학적 유사도 분석한 결과를 Fig. 4-17~24까지 도시하였다. 오염되지 않은 지하수 시료(GW7)에서는 *Porphyrobacter* sp. 및 *Aeromicrobium* sp. 등이 검출되었다. 유류로 오염된 시료(BH10, GW3, GW7, GW8, W1, W2, W3)에서는 *Bacillus* sp., *Acidovorax* sp., *Azoarcus* sp., *Porphyrobacter* sp., *Sphingomonas* sp., *Runella* sp. 및 *Ruminococcus* sp. 등이 검출되었다.

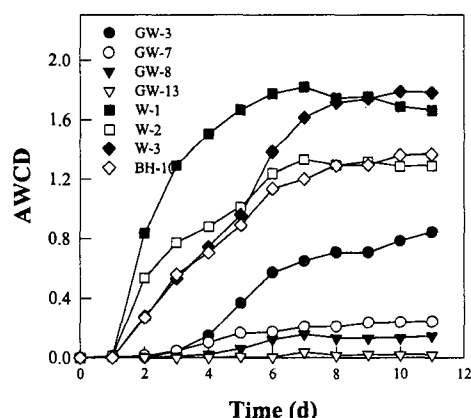


그림 4 Variation in average well color development over time in Ecoplates (GW samples).

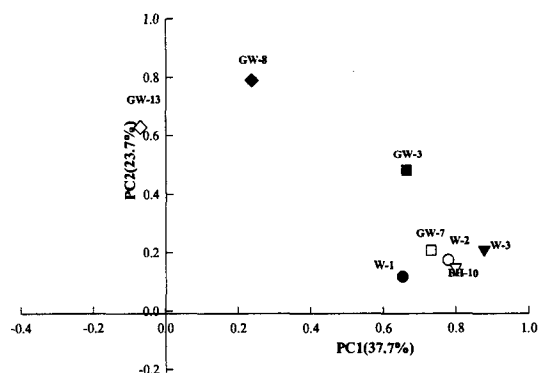


그림 5 Principal component analysis of average well color development (GW samples).

참고문헌

- Dewettinck, T., Hulsbosch, W., Van Hege, K., Top, E.M., and Verstraete, W. (2001) Molecular fingerprinting of bacterial populations in groundwater and bottled mineral water. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.57, p. 412-418.
- Somerville, H.C., Knight, I.T., Straube, W.L., and Colwell, R.R. (1989) Simple, rapid method for direct isolation of nucleic acids from aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.55, p. 548-554.