

태안 유출 원유의 생물정화를 위한 유용미생물 적용

이은주 · 이상모* · 이군택* · 김인성 · 김용학
서울대학교 생명과학부, *서울대학교 농생명과학공동기기원
(2008년 4월 18일 접수; 2008년 6월 25일 채택)

Application of Effective Microorganisms for Bioremediation of Crude Oil Spill in Taean, Korea

Eun Ju Lee, Sang Mo Lee*, Gun Taek Lee*, In Sung Kim and Yong-Hak Kim

School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**National Instrumentation Center for Environmental Management, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

(Manuscript received 18 April, 2008; accepted 25 June, 2008)

Abstract

We have studied bioremediation of effective microorganisms on crude oil spill in Taean, west-coast of Korea. Oil contaminated soil samples were collected on December 14, 2007, seven days after the Hebei Spirit oil-spilled accident. Total petroleum hydrocarbon (TPH) was measured to evaluate the effectiveness of effective microorganisms (EM) which were composed with yeast, photosynthetic bacteria and lactic acid bacteria on oil degradation. TPH concentration before EM treatment was 323.8 mg/kg, whereas TPH concentrations on 2 days after EM treatment and that of control (without EM) was 102.1 mg/kg and 170.6 mg/kg, respectively. On six days after EM treatment TPH was 91.3 mg/kg and that of control was 127.7 mg/kg. Percentages of degraded crude oil were 47.3% without EM and 68.5% with EM, 60.6% without EM and 71.8% with EM on 2 and 6 days after EM treatment, respectively. These results clearly showed that the application of effective microorganisms toward oil-contaminated soil was quite useful to degrade crude oil spill. These results were derived from the effects of biostimulation of microbial media nutrients and bioaugmentation of effective microorganisms. If we carefully apply these effective microorganisms, it can be a useful bioremediation method to recover oil-contaminated marine ecosystems.

Key Words : Effective microorganisms, Bioremediation, Crude oil spill, Taean, Hebei Spirit

1. 서 론

2007년 12월 7일 오전 서해안 태안반도 해안에 정박 중이던 홍콩 선적 14만6천 톤급 유조선 '해베이 스피리트'호가 삼성중공업 소속 1만1천800 톤급

해상크레인과 충돌하면서 12,547 kl의 원유가 유출되는 사고가 발생했다. 21세기 세계 경제가 아시아 지역을 중심으로 급팽창하면서 동북아 중심에 있는 서해와 남해에는 매일 10여 대의 대형유조선들이 드나들면서 대형 해양 원유유출사고의 위험이 상존하고 있다. 지구의 기후변화와 잦은 일기변화 등 해양의 날씨가 점차 더 불안정해지면서 대형 해양 기름유출사고의 위험성이 높아지고 있는 상황이다.

Corresponding Author: Eun Ju Lee, School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
Phone: +82-2-880-6673
E-mail: ejlee@snu.ac.kr

우리나라의 주요 산업시설, 항만, 연안어업이 밀집된 남해와 서해는 많은 섬들과 침식지형으로 이루어진 폐쇄성이 높은 해안구조를 이루고 있다. 우리나라는 1993년과 1995년에 발생한 대형 선박사고와 유조선 사고이외에도 각종 산업시설과 선박 등에서 버려지는 폐유의 사고수가 증가하는 추세이며, 1991년 - 2006년 사이에 매년 400톤에서 15,800톤 가량의 기름이 바다로 유입되었다^{1,2)}. 우리나라 해양선박사고의 76% 가량이 서해와 남해의 연안에서 집중적으로 발생하고 있으며 전체 해양기름유출량의 80%를 차지하고 있다^{2,3)}. 또한 전체 해양기름유출량의 90% 이상이 기름유출량 100 kl 이상인 대형선박사고로 인하여 발생하고 있다¹⁾. 서해와 남해의 일부 항만이나 연안은 폐유로 인한 오염이 심각한 수준에 이르렀고, 이로 인한 해양생태계의 파괴가 우려되고 있다. 해양 기름유출에 의한 해양오염은 수산업, 해양생태계 등에 치명적인 영향을 준다. 예를 들어 1995년 발생한 '씨프린스'호 사고 후 방제를 위한 비용과 함께 직접적인 피해보상액만 연간 약 400억원 규모의 예산이 소요되었다⁴⁾.

대형 해양 원유유출사고는 피해지역의 어업과 주거환경, 경제활동, 그리고 환경과 생태계를 일시에 파괴하는 국가적 재난으로 피해지역의 복구와 피해보상, 그리고 생태복원에 많은 시간과 비용이 요구된다. 예로써 1989년 알래스카지역에서 좌초한 '엑손 발데즈'호에서 유출된 원유의 양은 '헤베이 스피리트'호가 유출한 양의 3배에 이르는데 17년 동안 주요 피해지역의 환경복구와 생태복원에 든 비용만 US \$ 286,000,000에 이르고 피해지역 주민들의 생계비 보상과 민사소송 등과 같은 다른 경제적 요인까지 감안한다면 그 피해액은 10조원에 이를 것으로 추정된다⁵⁾. 우리나라는 불과 12년 전 1995년 전남 여천 부근에서 좌초하여 약 5,000톤의 원유를 유출한 유조선 '씨프린스'호의 경험에도 불구하고 해양 원유유출사고에 대한 인식과 철저한 대비를 갖추지 못한 채 '헤베이 스피리트'호 사고를 맞이하여 그 피해가 수 조원에 이를 것으로 추정된다.

본 연구는 '헤베이 스피리트'호 사고가 남긴 여러 문제를 중 피해 해안가에서 일차적으로 물리적 방법으로 기름이 제거 된 모래 갯벌 속 원유에 유용미생물을 적용하여 원유 분해가 촉진되는가를 알아보기 위해 진행되었다. 이 결과를 통해 원유 유출 피해

를 입은 서해안에서 지속적인 환경생태복원을 진행할 수 있는 방안을 모색하고 유용미생물을 활용한 모래 갯벌 속의 중저 농도의 원유 분해를 통한 생물학적 방제 복구 및 복원노력을 극대화하는 대안을 제시하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 연구지 및 토양 시료 채취

본 연구에 사용한 토양 시료는 충남 태안군 소원면 백리포 해안가에서 사고 발생 후 1주일이 지난 2007년 12월 14일에 채집하였다. 위도와 경도는 다음과 같다(36° 49' N, 126° 10' E). 토양 시료를 채취한 장소는 원유 유출이 일어난 사고 현장으로부터 약 10 km 떨어져 있는 모래 해안가이며, 사고 이후 자원봉사자들에 의해 일차적인 해안가 원유 제거 작업이 이루어지고 있던 장소이다. 토양 시료는 백리포 해안가에서 원유가 스며든 토양을 표면에서부터 약 25 cm까지 삽으로 채집하였다. 채취한 시료에는 기름의 흔적이 있으며 기름 냄새가 났다. 채집한 시료는 이중 비닐백에 담아 연구실로 운반하였으며 실험에 사용할 때까지 5℃ 저온실에 보관하였다.

2.2. 분석 방법

유용미생물 분해 실험을 위해 2007년 12월 15일 채취한 토양을 플라스틱 통에 넣어 토양과 원유를 가능한 한 균질하게 섞이게 한 다음 50 ml tube에 20 g 씩 담았다. 바로 분석할 시료, 2일간 배양 미생물 무처리(대조구) 시료, 2일간 배양 미생물 처리 시료, 6일간 배양 미생물 무처리(대조구) 시료 및 6일간 배양 미생물 시료를 준비하였다. 반복수는 각 처리 시료 당 5개 씩 사용하였다. 분석 결과에서는 시료 5개 중 가장 높은 값과 가장 낮은 값을 제외한 시료 3개의 평균값을 사용하였다. 복합 배양한 유용미생물제는 처리 시료에 각각 0.04 ml 씩 처리하였다. 이 때 넣어준 미생물의 양은 토양 무게의 약 500분의 1 정도였다. 유용미생물(effective microorganisms)은 유산균(*Lactobacillus acidophilus*, 1.9×10^7 cfu/g), 효모(yeast, 4.3×10^2 cfu/g), 광합성균(photosynthetic bacteria, 4.8×10^2 cfu/g)을 복합 배양한 것을 이용하였다. 시료는 미생물 처리 후 뚜껑을 열어둔 채로 22℃ 상온 조건에서 배양하였다. 배양 후 시료 내에 잔류하는 원유의 분석은 가스크로마토그래피(Model

6890, Agilent)를 이용하여 분석하였다. 가스크로마토그래피 컬럼은 DB-5HT를 이용하였으며 50℃(2분), 15℃(1분), 320℃(10분)로 가열하였으며 컬럼 플로우는 2 ml/min을 이용하였다.

본 연구의 원유 분석에 사용한 표준물질은 C8~C40까지의 짝수 n-alkane 물질을 이용하였고 C8~C40 사이에 나타나는 피크 면적의 총합으로 정량하였다. 이 방법은 토양오염공정시험방법에 사용하고 있는 일반적인 방법이며, 표준물질을 일반 상용 유류로 사용할 때와 그 결과는 동일한 것으로 판단된다⁶⁾. 다만 원유의 경우에는 용매에 완전히 용해되지 않고 전처리시 물리적으로 여과되는 부분이 있어 실제 토양 중 원유의 무게보다 가스크로마토그래피에 의한 정량시 과소평가되는 경우도 있다. 또한 보완적인 방법으로 추출물질의 중량을 이용하는 US EPA의 HEM(n-Hexane Extractable Material, Oil and grease 방법이라고도 함) 방법이 있으나 이 방법 역시 황 성분, 유기 염료, 클로로필 II와 같은 불순물에 의한 중량 증가 등 방해 요인이 존재하고 n-hexane에 잘 용해되지 않는 물질을 포함하고 있는 일부 원유와 중유(heavy oil)의 경우에는 회수율이 낮아질 수 있다는 한계를 가지고 있다⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 일반적으로 토양의 유류오염 정도를 평가하는데 사용되는 가스크로마토그래프를 이용한 석유계 총탄화수소(TPH) 정량 방법을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

원유 유출 사고 후 7일이 지난 2007년 12월 14일

태안 백리포 앞 토양을 채집하여 유용미생물을 처리하기 전에 분석한 석유계 총 탄화수소(Total Petroleum Hydrocarbon: TPH) 농도와 유용미생물 처리구 및 대조구에서의 2일과 6일 후 TPH 농도 변화 결과는 Table 1에 나타내었다. 원유 유출 후 7일이 지난 후 태안 백리포 해안가 모래 토양에 존재하는 TPH의 농도는 323.8±7.2 mg/kg이었으며 유용미생물 처리 2일(48시간) 후 102.1±15.9 mg/kg, 대조구의 경우 170.6±4.2 mg/kg으로 미생물을 처리한 경우 TPH가 더 많이 감소하였다. 또한 유용미생물 처리 6일 후 91.3±3.4 mg/kg, 대조구의 경우 127.7±16.5 mg/kg으로 2일 후 결과보다는 차이가 줄어들었지만 여전히 유용미생물을 처리한 경우에 TPH 분해율이 높았다. 유용미생물 처리 2일 후 TPH 농도는 처리 전 농도에 비해 약 68.5% 감소하였으며, 처리 6일 후에는 약 71.8%가 감소하였다. 이 결과를 보면 유용미생물체를 처리한 경우 초기 유류 성분 중 석유계 총 탄화수소의 분해를 촉진한 것으로 보인다. 이것은 유용미생물체 내에 있는 미생물 배지 영양분과 유용미생물에 의한 유류 분해 효과가 상승작용으로 나타나 유류 분해가 촉진된 것으로 판단된다. 유용미생물 처리 2일 후 TPH 농도가 처리 전 농도에 비해 약 68.5% 감소한 것은 *Pseudomonas aeruginosa* 미생물처리에 의한 일본 토양에서의 디젤유의 분해 실험에서 얻어진 처리 1주일 후 51% TPH 감소보다는 높은 수치이다⁸⁾. 일반적인 원유의 비중은 0.85이며 증발(evaporation)에 의해 유류 성분이 휘발되어 자연히 감소한다. 연구에 의하면 증발에 의한 감소분은 원유의 원산지에 따라 조금 다르지만 약 35% 정

Table 1. TPH concentrations and percentages of crude oil degraded in crude oil contaminated soil without/with EM (effective microorganisms) treatment

	Incubation Period, Day		
	0	2	6
TPH concentration (mg/kg soil)			
without EM	323.8±7.2	170.6±4.2	127.7±16.5
with EM	323.8±7.2	102.1±15.9*	91.3±3.4*
Percentages of crude oil degraded(%)			
without EM	-	47.3	60.6
with EM	-	68.5	71.8

* significant at p<0.05 level (n=3)

도로 보고되고 있다⁹⁾. 이것을 본 연구 결과에 대입해 보면 초기 323.8 mg/kg에서 자연 증발분을 계산하면 약 113 mg/kg 감소는 자연적인 휘발 및 증발로 인한 감소로 생각할 수 있다. 유용미생물 처리 2일 후 원유의 자연증발에 의한 감소량(약 $323 \times 0.35 = 113$ mg/kg)을 제외한 생물 및 기타 분해 작용에 의한 TPH 감소량을 계산하면 대조구의 경우 약 40 mg/kg, 유용미생물 처리구의 경우 약 108 mg/kg이 감소하였다. 이 수치를 비교해 보면 유용미생물 처리구가 초기 2일 동안 대조구에 비해 TPH 분해량이 약 2.7배 정도 많았고 유용미생물 처리 6일 동안에는 약 1.4배 높았다. 처리 초기 2일 동안 분해가 높았던 이유가 미생물에 의해 비교적 분해가 쉬운 성분이 빨리 분해되고 나머지 분해가 어려운 난분해 성분이 남아 분해 효율이 낮아진 것으로 사료된다.

바다에 유출된 원유의 생물학적 정화는 비교적 시간이 걸리는 과정이며, 원유 성분의 상당 부분이 분해되기까지 종종 오랜 시간이 소요된다. 하지만 상대적으로 비용이 적게 들고, 주변 환경에 해가 거의 없는 것으로 보고되었다¹⁰⁾. 생물정화방법은 크게 영양분을 첨가해 자생 미생물의 활성을 촉진하는 biostimulation 방법과 유류 분해 미생물을 첨가해 주는 bioaugmentation 방법이 있다. 바다 환경의 독성, 수온, pH, 산소, 토양 내 수분 농도 등은 생물정화에 영향을 준다. 그 중에서 수온은 미생물의 활성에 따른 분해에 직접적으로 영향을 주며 이러한 이유로 찬 바닷물에서의 유류 분해가 따뜻한 바닷물에서 보다 어려운 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

이번 태안 원유 유출 사고는 비교적 기온이 낮은 겨울인 12월에 발생하였다. 원유는 다양한 탄화수소화합물로 구성되어 있으며 짧은 체인을 가진 alkane은 낮은 온도에서는 휘발성이 낮고 물에 잘 녹는 성질을 갖고 있다. 이 결과 증발 작용이 천천히 일어나며 미생물과의 접촉 가능성이 낮아져 분해가 지연된다. 또는 낮은 온도에서 다른 alkane은 원유로부터 왁스 형태로 변해 미생물 접촉 기회를 줄인다. 온도는 탄화수소의 이용에 영향을 미치는 데 세균의 경우 30°C에서는 isoprenoid를 쉽게 이용할 수 있지만 4°C에서는 이용이 쉽지 않다. *Acinetobacter*와 *Pseudomonas* 두 속의 미생물은 비교적 낮은 온도에서 원유를 잘 분해하는 것으로 알려져 있으며 탄화

수소만으로도 생존할 수 있다고 보고되었다¹¹⁾.

Biostimulation은 원유 오염의 정화를 위해 가장 많이 적용되는 방법이다. 현장에 부족한 영양분을 공급해 줌으로써 자생 미생물의 활성을 높여 탄화수소의 분해를 촉진하는 방법이다. 주로 질소와 인이 원유 유출 후 부족한 영양분으로 알려져 있다. 따라서 원유의 탄화수소는 C/N 비 또는 C/P 비를 급격히 높여준다¹⁰⁾. 따라서 원유 유출 사고 이후 해변이나 주변지역의 원유 오염은 해양생물과 인간에 위해하기 때문에 별다른 조건 없이 간단하게 영양분을 공급함으로써 미생물의 원유 분해를 촉진하는 방안은 좋은 선택이라 할 수 있다. 영양분은 주로 액비 형태로 공급되는데 한 실험실 실험에 따르면 디젤유 오염지의 경우 10°C 조건에서 질소 영양분 투입 시 30일 동안 43%의 분해율을 보였고(질소 비투입 시 9%), 155일 후에는 90%의 분해율을 보였다^{12,13)}. 이들은 분해률의 3분의 2는 미생물 분해 작용에 의해, 3분의 1은 다른 물리화학적 작용에 의해 분해된 것으로 분석하였다. 또 다른 연구에서는 인 영양분 투입 후 온도가 높았을 때 더 효과적인 것으로 보고되었다¹⁴⁾. 사고 현장에서의 생물정화에 따른 처리 효과는 미세 지형적인 요인으로 측정이 쉽지 않다. 하지만 alkane 비율에 의한 처리 효과는 영양분 처리를 해 준 경우 자연적인 분해보다 2배에서 최고 6배까지 더 효과가 높은 것으로 보고되었다^{15,16)}.

1989년 알라스카에서 '엑손 발데즈'호 사고가 난 해변에 지효성 영양분을 투입했을 때 120일 후 총분해가능 탄화수소 중 90% 가까이 감소한 것으로 보고되었다. 비슷한 효과가 인근 해안가 침적층에서 관찰되었지만 매우 가는 모래층에서는 산소부족과 영양분이 침투하지 못해 효과가 떨어졌다¹⁷⁾. 이스라엘 실험에서는 영양분 투입 시 28일 후 약 86%의 탄화수소가 분해되었다¹⁸⁾. 엑손 발데즈 사건에서 모니터링 한 바에 따르면 투입된 영양분에 의한 독성 현상은 해양생물에서 관찰되지 않았으며, 'Prince William Sound'호의 경우를 보면 조류의 대량증식 현상도 관찰되지 않았다¹⁵⁾. 따라서 유류 유출 사고 후 긴급 처리에 사용할 적절한 영양분 처리제의 기술 개발이 요구된다. 한 가지 대안으로 적절한 미생물을 사용해서 발효를 잘 시킨 음식물 처리액을 영양분 처리제로 고려해 볼만 하다.

Bioaugmentation은 유류 분해 미생물을 오염된 지역에 투입하는 방법이다. 이 방법은 여러 전제조건을 요구하지만 유류 오염물질이 잘 분해되지 않거나 유류가 유독해서 자생 미생물이 심히 감소한 경우에 사용을 고려해 볼 수 있다^{12,13)}. 문헌 조사에 따르면 사용하는 미생물이 유전적으로 조작된 미생물이 아닌 경우에는 미생물에 의한 생태계 교란의 위험성에 대해서 언급된 보고서는 그리 많지 않다¹⁰⁾.

4. 결 론

이번 연구에서 얻어진 결과를 요약하면 주변에서 음식이나 식품 제조할 때 흔히 활용하는 안전성이 확인된 미생물들로 이루어진 유용미생물 복합 배양액을 태안 원유 유출 토양에 적용하였을 때 미생물 배지에 들어가는 영양분 및 유용미생물의 작용으로 초기 원유 분해가 촉진되었다. 특히 초기 유류 분해율은 대조구에 비해 높게 나타났다. 원유 유출 사고 후 7일째 태안 백리포 해안에서 채취한 토양 시료의 석유계 총 탄화수소(TPH)의 농도는 323.8 ± 7.2 mg/kg이었으며 유용미생물 처리 2일 후 102.1 ± 15.9 mg/kg, 대조구의 경우 170.6 ± 4.2 mg/kg으로 미생물을 처리한 경우 TPH가 더 많이 감소하였고, 처리 6일 후 유용미생물 처리구의 경우 91.3 ± 3.4 mg/kg, 대조구의 경우 127.7 ± 16.5 mg/kg으로 여전히 유용미생물을 처리한 경우에 TPH 분해량이 많았다. 유용미생물 처리 2일 후 TPH 농도는 처리 전 농도에 비해 약 68.5% 감소하였으며, 처리 6일 후에는 약 71.8%가 감소하였다. 이 결과를 보면 유용미생물제를 처리한 경우 초기 유류 성분 중 석유계 총 탄화수소의 분해를 촉진한 것으로 보인다. 이러한 유용미생물을 적절하게 활용한다면 사고 이후 사람의 손이 잘 닿지 않는 태안의 유류 오염이 남아있는 모래벌, 압벽, 갯벌의 유류를 분해하는데 일조할 것이며 이에 따라 해양생태계가 더 빠른 속도로 회복되는 데 도움이 될 것이라 생각한다.

참 고 문 헌

1) 이창희, 이병국, 유혜진, 강대석, 남정호, 2002, 통합적 환경관리를 위한 연안수질관리체계 개선방안, 한국환경정책 평가연구원, 정책과제 연구보고

서 KEI/VO-12, 27-28.

- 2) 해양경찰청, 2007, 제 5장 깨끗한 해양환경 보전활동: 제 1절 해양오염사고 추세, 해양경찰청보고서, 272-288.
- 3) 해양경찰청, 2007, 제 3장 바다안전망 개선으로 안전한 해상활동 보장: 제 1절 해양재난관리 활동, 해양경찰청보고서, 82-122.
- 4) 홍석원, 홍기용, 1996, 해양장비 핵심기술개발: 해상유출유 확산방지 기술개발 III, 한국기계연구원, 선박 해양공학연구센터 UCN011-1586-D, 1-4.
- 5) <http://www.evostc.state.ak.us>
- 6) 환경부, 2002, 제18항 석유계총탄화수소(TPH), 토양오염공정시험방법, 190-195.
- 7) US EPA, 1998, n-Hexane extractable material(HEM) for sludge, sediment and solid samples, Method 9071B, 1-13.
- 8) Ueno A., Hasanuzzaman M., Yumoto I., Okuyama H., 2006, Verification of degradation of n-alkanes in diesel oil by *Pseudomonas aeruginosa* strain WatG in soil microcosms, *Current Microbiol.*, 52, 182-185.
- 9) Dutta T. K., Harayama S., 2000, Fate of crude oil by the combination of photooxidation and biodegradation, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1500-1504.
- 10) Heiser D., 1999, Bioremediation of petroleum pollutants in cold environment in reclamation of contaminated land and water, ed. by Heiser D., University of Minnesota, St. Paul, 1-10.
- 11) MacCormack W. P., Frail E. R., 1997, Characterization of a hydrocarbon degrading psychrotrophic Antarctic bacterium, *Antarctic Sci.*, 9, 150-155.
- 12) Margesin R., Schinner F., 1997a, Laboratory bioremediation experiments with soil from a diesel-oil contaminated site: Significant role of cold-adapted microorganisms and fertilizers, *J. Chem. Technol. Biotech.*, 70, 92-98.
- 13) Margesin R., Schinner F., 1997b, Bioremediation of diesel-oil contaminated alpine soils at low temperatures, *Appl. Microbiol. Biotech.*, 47, 462-468.
- 14) Walworth J. L., Reynolds C. M., 1995, Bioremediation of a petroleum contaminated cryic soil: Effects of phosphorus, nitrogen, and temperature, *J. Soil Contam.*, 4, 299-310.
- 15) Atlas R. M., 1995, Bioremediation of petroleum pollutants, *Intern. Biodeter. Biodegr.*, 35, 317-327.
- 16) Wardell L. J., 1995, Potential for bioremediation of fuel contaminated soil in Antarctica, *J. Soil Contam.*, 4, 111-121.
- 17) Laws E. A., 1993, *Aquatic pollution: An introductory text*, John Wiley and Sons, New York, 611pp.
- 18) Rosenberg E. R., Legman A., Kushmaro A., Taube R., Adler E., Ron E. Z., 1992, Petroleum bioremediation - a multiple problem, *Biodegradation* 3, 337-350.