

## 유류 오염지역으로부터 분리된 균주를 이용한 항공유의 분해

박천보, 남보현, 허병기, 윤현식

인하대학교 생물공학과, 생물반응공학실험실

전화 (032) 860-8751, FAX (032) 872-4046

### Abstract

Bioremediation has been showing promise as an alternative to conventional environmental cleanup technologies. The objective of this study is to maximize the degradability of jet fuel in the soil system. The cells isolated from petroleum contaminated site was used for the degradation of jet fuel. When this strain was cultured in the MSM(minimal salt media) containing jet fuel for ten days, the degradability of jet fuel was almost 100%. The concentration of jet fuel did not affect the degradability much and the increased inoculation of strain and addition of nitrogen source decreased the time for complete degradation of jet fuel in the liquid culture. Inoculation of this strain increased the jet fuel degradability in the soil column by 15% and the aeration(50ml/min) and the addition of nutrients( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) enhanced the jet fuel degradability(about 90%).

### 서 론

최근 매스미디어를 통해 자주 유류에 의한 토양오염의 심각성이 전해지고 있다. 특히 석유 지하 저장시설 및 주유소의 누출로 인한 오염, 군부대에서 토양의 부적절한 관리로 인한 유류 오염 및 공업단지 지역에서 배출되는 오염 등은 단순한 오염으로 그치지 않고 그 피해범위가 계속적으로 확산되어 나가고 있다. 유류물질로 오염된 토양을 처리하기 위해서 많은 방법들이 개발 적용되어왔으며 현재는 물리화학적 복원방법의 대안으로 비교적 낮은 비용과 환경에의 친화성 등의 이유로 생물학적인 방법이 많이 연구되고 있다. 그러나 토양 생태계는 매우 복잡하며 유기화합물의 거동은 토양화학, 토양물리학 및 토양미생물의 함수이다(1). 따라서 토양 시스템에서의 유류의 거동 및 제거는 많은 요소들에 의해 의존하며, 이런 주요한 요소의 상호효과에 대한 연구가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 현재 가솔린 및 디젤유와 함께 유류오염의 상당부분을 차지하고 있으며 비교적 낮은 비등점과 간단한 화학조성을 갖는 항공유의(2) 효과적인 분해에 초점을 맞추었다. 항공유를 토양시스템에서 좀더 효과적으로 분해하기 위해 유류 오염지역으로부터 우수한 항공유 분해능을 보인 균주를 분리하여 액상 배지와 토양컬럼에서의 항공유 분해능을 측정하였으며 질소원의 첨가 및 통기가 토양 시스템에서의 항공유 분해효율에 미치는 영향에 대하여 고찰하였다.

## 재료 및 방법

### 균주의 분리 및 배양

유류로 오염되어있는 토양으로부터 sample을 채취해 향공유를 분해할 수 있는 균주를 분리하였다. 분리 및 배양에는 LB배지(tryptone 10g/l, NaCl 5g/l, yeast extract 5g/l)와 향공유를 포함하는 MSM(minimal salt media)을 사용하였다.

### 액체배지에서의 향공유 분해능

향공유를 포함하는 MSM을 기본 유류배지로 사용하였으며 접종량을 2%로 하여 1%의 향공유 농도에서 10일간 배양하였다. 그리고 향공유의 농도, 접종량, 질소원 첨가의 비율 등을 변화시키면서 분해능을 측정하였다.

### 토양컬럼에서의 향공유 분해능

컬럼은 Widrig와 Manning의 연구(3)를 기초로 8개를 제작, 사용하였으며, 채취된 토양시료는 멸균후 향공유로 오염시킨 후 균주 및 필요에 따른 영양염류를 주입하여 컬럼에 충전시켰다. 각각의 컬럼은 분해능에 영향을 주는 인자를 달리하여 설치하였고, 그 분해능을 각각 분석하였다(표 1).

표 1. 컬럼의 설치 및 조건

Column No.	1차 설치 및 조건			2차 설치 및 조건
	Strains	Aeration	Nutrients	
1	×	×	×	· Control (without cell)
2	○	×	○ (N)	· Control (with cell)
3	○	○	○ (N)	· Aeration : 10ml air/min
4	○	×	×	· Aeration : 50ml air/min
5	×	○	○ (N,P)	· Jet fuel conc. : 5,000ppm
6	○	○	×	· Jet fuel conc. : 20,000ppm
7	○	×	○ (N,P)	· Inoculum size : 50%
8	○	○	○ (N,P)	· Inoculum size : 200%

### 향공유의 분석

향공유의 분석은 GC를 이용한 TPH(total petroleum hydrocarbons)분석법을 사용하였다. 향공유의 유형 및 GC를 통한 분석의 특징은 Lai와 Song의 연구결과(4)를 참조하였다.

### 결과 및 고찰

그림 1은 각각 액체배지 및 토양컬럼에서의 각각의 분해능을 나타낸 것으로 액체배지의 경우 균주의 접종으로 100%에 가까운 향공유 분해능을 보였으며 토양컬

럼에서는 적절한 통기와 영양염류의 첨가로 약 90%의 분해능을 보였다. 온도가 상온(25°C ~ 29°C)으로 거의 일정하여 항공유의 분해에 큰 영향을 주지 않았음(5,6)을 감안할 때 액체배지 및 토양컬럼에 투입된 미생물이 우수한 항공유 분해능을 가진다는 것을 알 수 있었다.

또한 액체배지의 경우 분리된 균주는 항공유의 농도변화(0.5%~4%)에 영향을 받지 않고 고른 분해능을 보였으며, 균주의 접종량을 늘렸을 경우 늘리지 않았을 때보다 대략 24시간 정도 일찍 거의 모든 항공유를 분해하였고 질소원의 첨가 역시 항공유 분해시간을 줄이는데 효과적이었다.

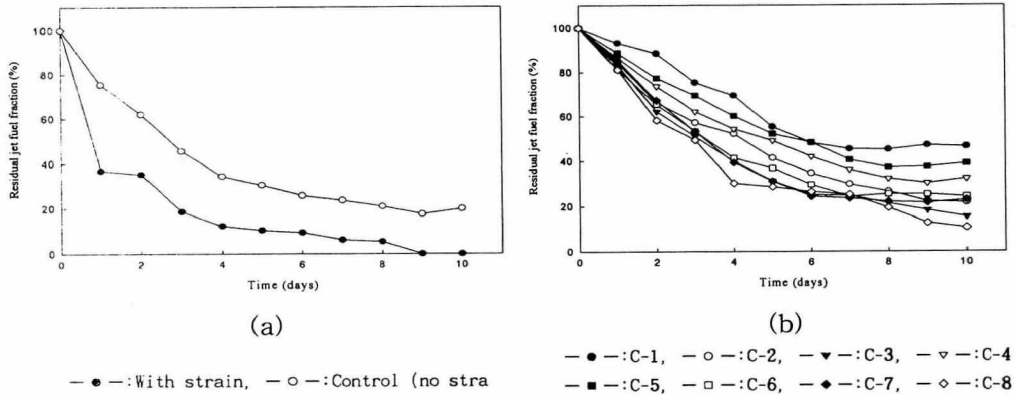


그림 1. 액체배지 및 토양컬럼에서의 항공유 분해

(a) : 항공유를 포함하는 MSM에서의 항공유 분해

(b) : 다른조건외의 컬럼내에서의 항공유 분해

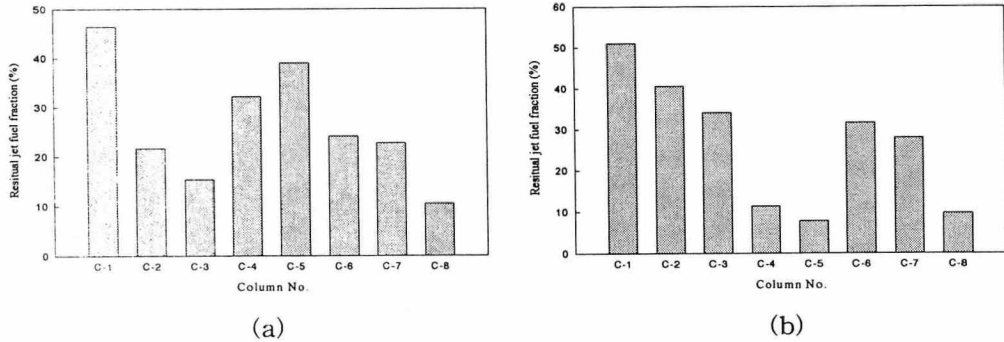


그림 2. 컬럼의 조건에 따른 분해능의 변화

(a) : 균주, 통기, 영양염류의 유무에 따른 항공유 분해능

(b) : 접종량, 통기, 항공유 농도의 변화에 따른 항공유 분해능

항공유로 오염된 토양에 균주의 접종이나 통기, 영양소의 첨가 등을 일체 하지 않은 컬럼 1의 경우 약 55%의 항공유가 휘발 등의 이유로 분해된 반면 균주의 접종, 적절한 통기, 영양소의 첨가 등을 한 컬럼 8의 경우 90%에 가까운 높은 항공유 분해능을 보였으며 이는 유류의 분해에 있어 통기의 중요성을 강조한 기존의 연구들(5,7) 및 비율별 영양염류 첨가의 필요성을 강조한 연구들(8,9)과 일치하는 결과였다(그림 2-a). 통기의 차이(column 3, column 4) 및 접종량의 크기(column 7, column 8)에 따라 대략 20%의 분해능이 차이가 났으며, 항공유 농도는 큰 영향을 미치지 않았다(그림 2-b).

## 감 사

본 연구는 환경부지정 인천지역환경기술개발센터의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. S. C. Kim, W. Namkoong, and D. W. Park, "Effects of initial concentration and nutrients in treatment of petroleum hydrocarbon contaminated soils using a slurry-phase bioreactor"(1998), J. of KoSES, Vol. 3, pp. 45~53
2. J. C. David, I. Peter, and B. E. Smith, "Composition-property relations for jet and diesel fuels of variable boiling range"(1995), Fuel, Vol. 4, pp. 70~78
3. D. L. Widrig, and J. F. Manning Jr., "Biodegradation of No. 2 diesel fuel in the vadose zone : a soil column study"(1995), Environ. Toxicol. and Chem. Vol. 14, pp. 1813~1822
4. W. C. Lai, and C. Song, "Temperature-programmed retention indices for g.c. and g.c.-m.s. analysis of coal and petroleum-derived liquid fuel"(1995), Fuel, Vol. 74, pp. 1436~1451
5. A. R. Autry, and G. M. Ellis, "Bioremediation of petroleum fuel contaminated soils, Federal environmental restoration conference proceedings"(1993), pp. 99~100
6. M. P. Peramaki, and K. R. Blomker, "Practical design considerations for composting contaminated soil *In In situ* and on-site bioremediation Vol. 2"(1997), Battel press, pp. 103~112
7. R. M. Atlas, "Bioremediation of fossil fuel contaminated soils *In in situ* bioremediation: applications and investigations for hydrocarbons and contaminated site remediation"(1991), Battle Memorial Institute, pp. 14~32
8. M. L. Bradford and R. Krishnamoorthy, "Consider bioremediation for waste site cleanup"(1991), Chem. Eng. Prog., February, pp. 80~85
9. R. Margesin and F. Schinner, "Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in alpine soils"(1997), Appl. Environ. Microbial., Vol. 63, pp. 2660~2664