

유류 오염 토양의 생물학적 토양복원 실패를 위한 사전 조사 및 이를 이용한 현장복원

김국진, 고일원, 이광표, 이철효

(주)오이코스 (oikos@oikos.co.kr)

<요약문>

본 연구에서는 경유와 윤활유로 오염된 토양에서 유류분해능이 우수한 분해균주 5종을 분리하여 동정하였고, 분리된 미생물을 이용하여 실험실 및 현장 Pilot Test 수행으로 현장 복원에 필요한 설계인자를 도출하여 실제 현장 토양복원에 적용하였다. 미생물의 투입량은 2.0×10^6 CFU/g 이상으로 투입하고, 투입 영양분의 조성은 오염된 탄소원의 물비 농도와 비교하여 질소원으로는 황산암모늄, 요소, 질산암모늄 등을 질소 몰수로 첨가하고, 인산원으로는 인산칼륨, 이인산칼륨 등을 인산 몰수로 공급하여 토양의 C/N/P 비율이 100:10:1 ~ 100:1:0.5 범위 이내로 조절되도록 오염 토양에 영양분을 공급하였으며, 경작 횟수는 3회/주 이상으로 수행하여 오염토양 TPH 5,000ppm을 40일 동안 2,000ppm 이하로 복원하였으며, 이때 생분해상수 k는 0.0229/day로 확인되었다.

key word : 생물학적 복원, 미생물, 영양분, 생분해상수, 토양경작

1. 서론

오늘날의 산업은 기계공업을 근간으로 하고 있음으로 하여 거의 모든 기계는 윤활유나 연료와 같은 유류를 직접 필요로 하고 있으며, 유류의 운송과 저장 및 사용 중의 부주의와 필연적인 이유에 의해 상당량의 유류가 외부로 유출되어 토양을 오염시키고 있는 실정이다.

근래에 들어 유류에 의해 오염된 토양의 복원에 대한 관심이 점차 증대되고 있으며, 유류로 오염된 토양을 복원하는 방법 또한 크게 물리화학적 방법과 생물학적 방법등의 다양한 기술이 개발되고 있다. 물리화학적 방법으로는 토양 세척, 소각, 고정화, 안정화 및 용매 추출 등의 방법이 있으며, 복원 기간이 짧은 반면 처리비용이 고가인 동시에 2차적인 환경 오염을 야기시킬 수 있다. 생물학적인 방법으로는 토양 경작, 콤포스팅(composting), 바이오벤팅(bioventing), 식물 복원 등의 방법이 있으며, 복원 기간이 긴 반면 처리비용이 상기 물리화학적 방법에 비하여 저렴한 동시에 2차적인 환경 오염을 발생시키지 않는다는 장점이 있다. 특히, 토양을 치명적으로 오염시키는 유류는 그 분해에 비록 시간이 걸리기는 하지만 미생물에 의해 완전히 분해된다는 사실에 의거하여 근래에는 생물학적인 방법으로서 미생물학적 처리법이 개발됨으로써 더욱 더 안전하고 경제적으로 유류 오염 토양을 복원시킬 수 있게 되었다.

본 연구에서는 윤활유와 경유에 오염된 토양에서 유류를 분해하는 미생물을 개발하고 생물학적 토양 복원을 위한 미생물 및 영양제 투입, 경작 횟수 등의 다양한 인자들을 실험실 및 현장 Pilot Test를 통하여 사전 확인하여 실제 현장 복원에 이용하여 검증하는 연구를 수행하였다.

2. 본론

유류분해 미생물을 분리하기 위하여 탄소원을 제외한 영양분이 풍부한 배지에 유류로 오염된 토양으로부터 채취된 시료를 접종한 후 탄소원으로 경유 또는 윤활유를 혼합하여 10,000ppm이 되도록 추가로 첨가하여 유류분해 미생물 균주들이 성장할 수 있도록 배양하였다. 10일 후 배양액 내에서 우점을 차지한 미생물 균주들 중 탄소원으로 경유와 윤활유를 함유한 고체상 평판배지에서 성장하는 미생물 균주를 분리하고, 분리된 미생물 균주 중 탄소원으로 10,000ppm의 유류를 함유한 액체 영양배지에서 성장력이 우수한 미생물 균주 5종을 재분리하여 각각 MH1, MH3, MH8, MH9, MH16으로 명명하였다.

최종 선별된 미생물 균주들을 16S rDNA의 부분 염기서열 결정 및 유사도 분석으로 동정하여, 각각 *Acinetobacter junii*, *Comamonas tesosteroni*, *Pseudomonas migilae*, *Sphingomonas sdhaesiva*, *Pseudomonas jessenii*에 해당하는 신규한 균주임을 확인하였으며, 각각 *Acinetobacter junii* MH1, *Comamonas tesosteroni* MH3, *Pseudomonas migilae* MH8, *Sphingomonas sdhaesiva* MH9, *Pseudomonas jessenii* MH16으로 명명하여 2002년 10월 31일 균주의 국제기탁기관인 생명공학연구소 유전자은행(KCTC)에 기탁번호 KCTC 10361BP, KCTC 10360BP, KCTC 10359BP, KCTC 10358BP 및 KCTC 10357BP로 기탁하였다.

개발된 균주들의 유류 분해능을 최대화하기 위하여, 균주들이 유류성분을 분해하는데 필요한 질소원과 인산원을 오염된 탄소원의 물비 농도와 비교하여 질소원으로는 황산암모늄, 요소, 질산암모늄 등을 질소 몰수로 첨가하고, 인산원으로는 인산칼륨, 이인산칼륨 등을 인산 몰수로 공급하여 토양의 C/N/P 비율이 100:10:1 ~ 100:1:0.5 범위 이내로 조절되도록 오염 토양에 영양분을 공급하였고, 미생물 투입량은 토양 1g당 2.0×10^6 CFU/g 으로 투입하였다.

분리 균주와 영양제를 사용하여 경유 및 윤활유로 TPH 7,000ppm으로 오염된 토양을 아래와 같은 실험실 수준에서 복원 실험을 수행하였다.

- ① 처리구 1 : 무처리구
- ② 처리구 2 : 오염토양 멸균 처리구
- ③ 처리구 3 : 분리 균주 및 영양제 처리구

처리구 2의 경우 오염토양 멸균을 121°C에서 20분간 3회 실시하여 토양내의 미생물을 멸균함으로써 복원 기간 동안 자연적으로 휘발되는 TPH 양을 측정하였으며, 처리구 1의 경우 자연 중에 존재하는 미생물에 의해서 복원되는 TPH 양을 측정하였다.

그리고, 처리구 3에서는 분리된 미생물 균주와 영양제를 공급하여 이루어지는 토양 복원(Bioaugmentation) 양과 유류분해 균주의 농도를 측정하였다(그림1, 그림2).

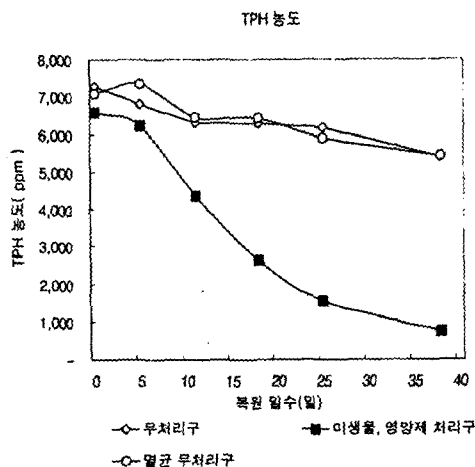


그림 1. 분리 미생물의 복원 효율

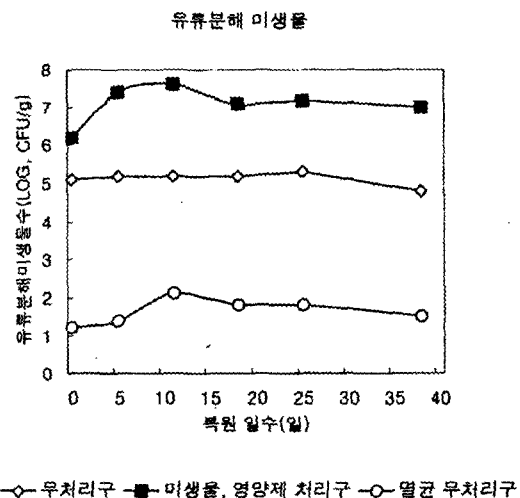


그림 2. 실험실 복원과정에서의 미생물 변화

이때, 복원 과정에서의 뒤집기는 3회/주 실시하였으며, 토양의 수분 함량은 10~20% 내외로 유지되도록 멸균 증류수를 공급하여 조절하였다. 분리 균주 및 영양제가 처리된 처리구 3의 경우 38일 후 초기 7,000ppm을 나타내었던 TPH 농도가 800ppm 이하로 복원되었고 7,000ppm에서 2,000ppm까지 복원되는 과정에서 평균 생분해상수 k는 0.051/day임을 확인되었으나, 무처리된 처리구 1과 멸균처리된 처리구 2의 경우에는 자연 휘발되는 정도와 비슷한 수준으로서 7,000ppm의 TPH 농도가 38일 이후 5,600ppm으로 감소되어 이때 평균 생분해상수 k는 0.0059/day로 낮은 복원 효율을 보였다.

현장복원 실험의 경우 처리장을 만든 후 하부에 침출수 수집을 위한 모래, 부직포, 집수정 등을 설치하고 그 위에 오염된 토양을 적층하여 미생물 및 영양제를 투입하여 복원하였다. 오염 토양 1톤당 1×10^9 CFU/ml로 배양된 균주를 2.0×10^6 CFU/g 이상으로 첨가한 후 오염된 유류성분의 탄소 몰수와 질소 및 인산 농도를 확인하여 C/N/P 농도를 100/10/1~100/1/0.5 범위가 되도록 영양제를 제조하여 균주 투입 3일전 공급하였으며, 오염된 토양의 뒤집기는 굴삭기를 이용하여 주당 3회 이상 실시하였고, 수분의 공급은 하우스 상부에 설치된 분무장치를 이용하여 매일 분무하였다. 그림3에서의와 같이 40일 후 TPH 5,000ppm으로 경유와 윤활유로 오염된 토양이 2,000ppm 이하로 복원됨을 확인할 수 있었고 이때 평균 생물학적 생분해속도상수 k는 0.0229/day으로 확인되었다. 이는 실험실 실험의 생분해 상수 k값인 0.051/day와 비교하여 45%의 효율로 모든 조건을 만족하는 실험실 조건과 현장 조건의 차이로 보인다. 투입된 영양분의 변화는 그림4에 나타내었다.

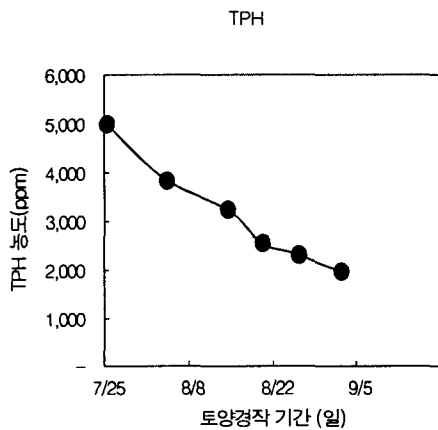


그림 3. 현장복원에서의 TPH 농도 변화

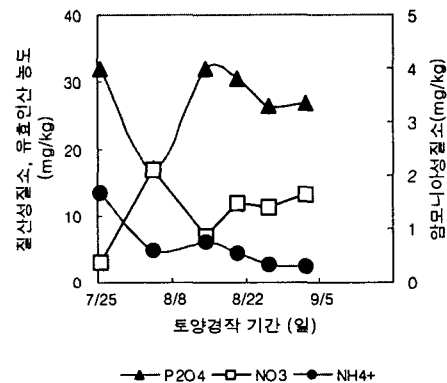


그림 4. 현장복원에서의 영양분의 농도변화

처리장내에 여러 개의 방형구를 구분하여 미생물 투입량을 다양화하여 무처리구에서 투입 미생물의 양을 다양하게 투입하여 복원효율을 관찰한 결과 그림3의 2.0×10^6 CFU/g 이상으로 투입한 방형구들의 생분해속도상수 k는 0.0229/day 이상으로 유사하게 나타났다. 그 이하의 미생물수를 투입한 경우에는 생분해속도상수 k는 0.015/day 이하로 저조하였다. 또한 경작횟수에 대한 복원효율은 주1회에서 5회 까지 경작횟수가 많을수록 복원 기간이 단축됨을 확인할 수 있었고, 주당 3회 이상 경작 실시한 방형구의 생분해속도상수 k가 0.020/day 이상으로 안정되게 복원됨을 확인하였다.

3. 결론

생물학적인 복원의 경우 그 복원의 주체가 미생물에 의한 복원으로 미생물이 오염된 유류를 복원하기

위해 필요한 생물학적, 물리화학적 조건들을 만족 시켜 주는 것이 중요하다. 본 연구에서는 유류로 오염된 토양에서 그 현장의 오염된 유류에 적응된 유류분해 미생물을 분리하여 실험실 실험에서부터 현장 복원까지 다양한 생물학적 복원을 수행하였다. 투입 미생물의 양, 분해 미생물에 필요한 영양분의 종류 및 투입 비율, 경작 횟수에 이르기까지 다양한 복원설계 인자를 도출하여 현장 복원에 이용하였으며, 현장 복원 초기 설계 인자들의 산출로 경제적인 복원을 수행할 수 있었다. 그러나 본 연구에서 확인된 다양한 생물학적 복원 인자들이 다양한 오염원과 토질, 기후 등의 모든 현장 여건에 충족될 수는 없으며, 그 현장 여건에 맞는 실내실험 및 Pilot Test 등이 선행되어 복원 기술 및 공정이 설계 되어야 할 것으로 본다. 또한 확인된 설계 인자에 따른 설계와 경제성을 비교 분석하여 현장 여건에 맞게 원활한 복원 효율과 경제성을 다각적으로 검토하여야 할 것으로 본다.