

## 유류분해 미생물을 이용한 세척 유출수 처리에 관한 연구

김형수 · 최상일 · 조장환

광운대학교 환경공학과

e-mail : kimhs1357@hanmail.net

### 요 약 문

계면활성제를 이용한 유류 오염토양 복원기술 적용시 발생하는 세척 유출수를 유류분해 미생물로 알려진 *Pseudomonas putida* F1, *Pseudomonas oleovorans*, *Acinetobacter calcoaceticus*를 이용하여 생물학적으로 처리하는데 필요한 기초 연구를 실시하였다. 세 종류의 미생물은 본 연구에 사용된 계면활성제(POE<sub>5</sub>, POE<sub>14</sub>)에 대하여 독성이 없는 것으로 판명되었으며, 배양 종료 후 계면활성제 농도에 따른 TPH 분해율은 0.1%, 0.5%, 1%의 계면활성제 농도에서 유사한 분해율을 나타냈으나, 배양 초기에는 0.1%가 0.5%나 1% 농도에 비하여 높은 분해율을 보였다. pH의 변화에 따른 TPH 분해율은 적용 pH 범위(4, 6.5, 9)내에서 모두 생육이 가능하였으며, 세 종류의 미생물은 pH 6.5에서 가장 높은 TPH 분해율을 나타내었다.

**key word** : surfactant, washing effluent, petroleum degrading microorganism, toxicity, TPH

### 1. 서론

산업자원부의 자료에 따르면 2001년 현재 우리나라는 석유수입 세계 4위, 석유소비는 세계 6위, 정제능력은 세계 5위이고 국내 판매하는 주유소는 10,955개로 나타났다<sup>1)</sup>. 그러나 급격히 증가하는 주유소 및 지하매설 유류 저장고에서 유출에 의한 토양오염, 사고에 의한 지하수계 오염물질의 유입 및 매립장 침출수에 의한 지하수의 오염 등 인간의 환경에 직접적인 악영향을 미치게 되므로 오염된 토양 및 지하수의 복원을 통해 이로 인한 2차오염을 방지하여야 한다. 토양과 지하수의 오염은 오염의 노출 속도가 대기오염 및 수질오염에 비해 상대적으로 느리기 때문에 현재에 와서 그 심각성이 노출되고 있는 상황이다.

본 연구에서는 계면활성제를 이용한 물리/화학적 처리 기술중 soil washing 기술이나 *in-situ* flushing 기술을 적용한 유류오염 토양 복원시 발생하는 계면활성제를 포함한 오염 유출수의 생물학적 처리 가능성에 대하여 연구하였다.

### 2. 실험재료 및 방법

본 연구에 사용된 미생물은 유류분해 미생물로 알려진 *Pseudomonas putida* F1과 *Pseudomonas oleovorans*(ATCC 29347), *Acinetobacter calcoaceticus*(ATCC 23055)이었다<sup>2)</sup>. 사용된 계면활성제는 비이온 계면활성제 중 POE<sub>5</sub>와 POE<sub>14</sub>이었으며 오염물질로는 L사의 디젤을 사용하였다.

#### 2.1 계면활성제의 독성 실험

계면활성제의 독성 여부를 파악하기 위해서, POE<sub>5</sub>와 POE<sub>14</sub>를 각각 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 3%(wt/v)로 첨가한 nutrient broth 배지(pepton 0.5%, beef extract 0.3%) 100mL에 미리 배양된 실험 대상 미생물인 *P. putida* F1, *P. oleovorans*, *A. calcoaceticus*를 1mL씩 접종하여 30°C, 24hr, 150rpm으로 배양한 후 Spectrophotometer (Shimadzu UV-1201,

Japan)를 이용하여 흡광도 600nm에서 OD를 측정함으로써 계면활성제에 대한 독성 여부를 간접적으로 평가하였다.

## 2.2 계면활성제 농도 변화에 따른 세척 유출수의 분해 실험

계면활성제의 농도 변화에 따른 미생물의 오염물질 분해율을 알아보기 위해, 탄소원으로 디젤 2%(v/v)를 공급한 최소배지(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3%, NaCl 0.5%, NH<sub>4</sub>Cl 1%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, CaCl<sub>2</sub> 0.01%)에 혼합 계면활성제(POE<sub>5</sub>:POE<sub>14</sub> = 1:1)를 각각 0.1%, 0.5%, 1% 농도로 첨가한 후, 각각의 미생물을 접종하여 30°C, 150rpm으로 배양하면서 시간에 따른 잔류 TPH를 측정하였다. 알아보았다. TPH 분석은 Table 1과 같다.

## 2.3 pH 변화에 따른 세척 유출수의 분해 실험

pH의 변화에 따른 미생물의 오염물질 분해율을 알아보기 위해, 혼합계면활성제(POE<sub>5</sub>:POE<sub>14</sub> = 1:1)와 디젤을 각각 1%(wt/v) 및 2%로 첨가한 최소배지를 HCl과 NaOH를 이용하여 pH를 4, 6.5, 9로 조절한 후 미생물을 접종하여 30°C, 150rpm으로 배양하면서 잔류 TPH를 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 계면활성제의 독성 실험

Fig. 1에는 세척제로 사용되는 계면활성제 POE<sub>5</sub>와 POE<sub>14</sub>의 농도를 각각 0.1~3%(wt/v)까지 증가시키며 미생물 성장을 간접적으로 측정한 결과를 나타내었다. *P. putida* F1과 *P. oleovorans*의 OD값이 *A. calcoaceticus*보다는 높은 것으로 나타났다. 계면활성제의 농도를 3%까지 증가시켜도 OD값은 감소하지 않는 것으로 보아 세 종류의 미생물에 대한 계면활성제의 독성은 없는 것으로 판명되었다. Tiehm 등에 의한 연구에서도 긴 ethoxylate 사슬을 가진 비이온 계면활성제에 대하여 방향족 화합물을 분해하는 미생물의 독성은 없다고 보고하고 있다<sup>3)</sup>. 따라서 POE<sub>5</sub>와 POE<sub>14</sub>를 이용한 토양 복원시 배출되는 유출수를 생물학적 처리를 하여도 적용 미생물에는 독성이 없을 것으로 생각된다.

Table 2.1 The analytical conditions of GC for the measurement of TPH

GC model	HP 5890 II	Injection Temperature [°C]	280°C
Column	HP-1	Initial Temperature [°C]	80°C, 3min
Injection Volume [μl]	1 μl	Temperature rate [°C/min]	10
Detector	FID	Final Temperature [°C]	290°C, 10min

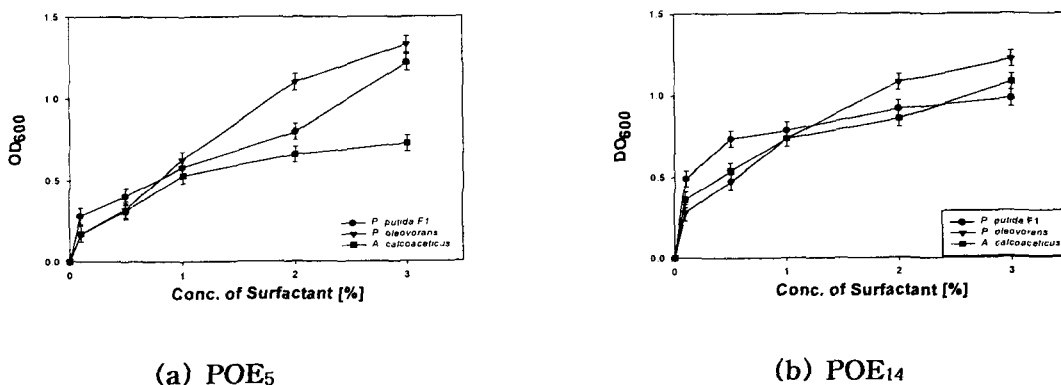


Fig. 1 The change of cell growth for each microorganisms depending on various surfactant concentration

### 3.2 계면활성제 농도 변화에 따른 세척 유출수의 분해 실험

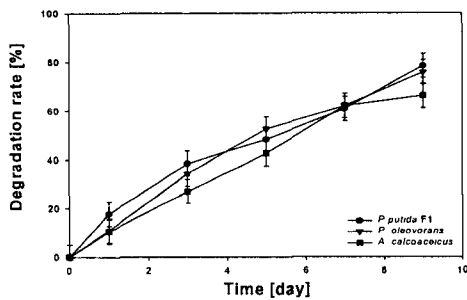
Figure 2는 배양시간에 따른 TPH의 분해율을 나타내었다. 토양세척 예비실험 결과 혼합계면활성제(POE<sub>5</sub>+POE<sub>14</sub>)의 농도가 1%(wt/v)일 때 가장 높은 세척효율을 보였으므로 본 실험에서는 혼합계면활성제의 농도를 0.1%, 0.5%, 1%로 조정하여 실험을 실시하였다. 9일간 배양한 결과 적용한 세 종류의 미생물 모두 60~80%의 TPH 분해율을 보였으나 배양초기에는 0.1%의 혼합계면활성제를 주입하였을 때가 0.5%나 1%보다 높은 분해율을 나타내었다. 이는 CMC값보다 높은 농도에서는 형성된 micelle로 인하여 micelle 내부의 TPH와 미생물의 접촉이 용이하지 않았기 때문인 것으로 판단된다<sup>4)</sup>.

### 3.3 pH 변화에 따른 세척 유출수의 분해 실험

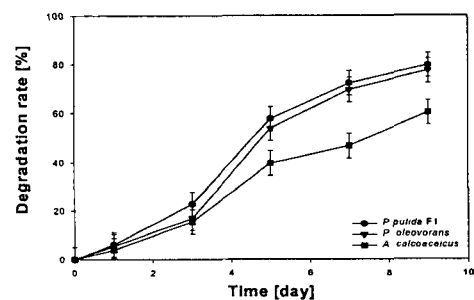
오염토양에서 배출되는 세척유출수의 pH 변화에 따른 적용 미생물의 오염물질 분해율을 알아보기 위해 pH 4, 6.5, 9의 범위에서 혼합계면활성제를 1%의 농도로 주입하여 실험을 실시한 결과 pH 6.5에서 *P. putida* F1의 경우 분해율이 81%였고, *P. oleovorans*는 67%, *A. calcoaceticus*의 경우는 69%의 분해율을 보였다. 배양 종료 후 배양액의 pH 변화는 pH 4와 pH 9에서 약 0.1~0.3 정도의 차이를 나타내었으나 pH 6.5의 경우 약 5.5정도를 나타내었다. 적용 pH 범위내에서 세 종류의 미생물 모두 성장이 가능하였으나 pH 6.5에서 활발한 미생물 대사과정으로 인한 중간 대사생성물의 생성으로 인해 pH가 감소한 것으로 판단되며 중성부근에서 성장이 잘되는 일반적인 미생물 성장양상과도 일치하는 것으로 보인다.

## 4. 결론

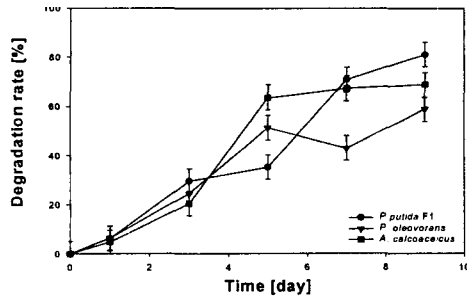
계면활성제를 이용한 유류 오염토양 정화시 배출되는 세척 유출수에 대한 유류분해 미생물의 독성 실험을 한 결과, 적용하고자 하는 세 종류의 미생물에 대한 독성이 없는 것으로 판명되었다. 또한 계면활성제의 농도에 따른 TPH의 분해율을 살펴본 결과 배양 초기에는 계면활성제의 농도가 0.1%일 때가 0.5%나 1%일 때보다 TPH 분해율은 높으며, 배양을 종료한 후 TPH 분해율은 60~80% 정도의 양상을 보였다. pH 변화에 따른 TPH 분해율 실험에서는, 적용 pH 범위에서 세가지 미생물 모두 성장하는 것으로 나타났으나 TPH 분해율은 pH 6.5에서 가장 높은 것으로 나타났다.



(a) Surfactant Conc. = 0.1%



(b) Surfactant Conc. = 0.5%



(c) Surfactant Conc. = 1%

Fig.2 Degradation of TPH in effluent depending on the various microorganisms and surfactant concentration

#### 감사의 글

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. 산업자원부, “석유 및 석유산업에 관한 이해”, 2001. 8.
2. Korda. A., P. Santas, A. Tenente, and R. Santas, Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, in situ treatments and commercial microorganisms currently used. Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 48, pp. 677-686. 1997.
3. Tiehm Anderson, Michael Stieber, Peter Werner, and Fritz H. Frimmel, Surfactant-Enhanced Mobilization and Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Manufactured Gas Plant Soil, Environmental Science and Technology, Vol. 31, pp. 2570-2576. 1997.
4. 김광수, 다환 방향족 오염물질의 분해에 미치는 계면활성제의 영향, 전주대학교 석사학위논문, 1998.