

해양 유류오염 방제 및 환경회복 기술연구

김상진

한국 해양 연구소

최근 국내연안에서 발생하는 유류유출사고는 발생빈도가 높아지며 대형화 추세에 있다.

그러나 해양 유류유출사고에 대한 현재 방제방법의 기술수준은 해상의 유출유류 제거를 해결하기에는 매우 미흡할 뿐 아니라 특히 잔류된 유류로 인한 해양환경 회복에는 속수무책인 상황이다. 따라서 유류에 오염된 해양환경 특히 유류오염이 심한 해안가를 신속하고, 환경에 무해한 방법으로 회복시키는 기술개발이 매우 필요한 시점이다. 본고에서는 G-7과제에서 수행한 해양 유류오염방제 및 환경회복 기술연구 결과를 소개한다.

I. 서론

해상에서의 유류유출사고는 수백억원에 이르는 어민 피해보상액 외에도 어자원의 손실, 해양환경의 파괴등을 유발시켜 측량하기조차 힘든 경비 및 시간의 손실을 가져온다. 그러나 현재 흔히 사용되고 있는 물리·화학적 유출유 처리방법만으로는 완전한 효과를 기대할 수 없을 뿐만 아니라 방제 비용이 많이 들고 화학물질인 유류분산제의 경우 독성으로 인한 2차 오염이 문제점으로 대두되고 있다. 현재 한국연안에서 발생하는 각종 유출사고는 년 평균 200건을 상회하고 있으며, 최근 90년대에 들어서는 사고건수가 급증하여 300여건을 상회한다.

향후 석유 에너지의 사용량이 급증하고, 서해안 개발 등으로 해상 물동량이 급증하고 있으며 중국과의 항

로가 빈번히 이용되면서 각 선박과 유조선의 유류유출 및 대형 유출사고등에 의한 해양오염이 심각해질 것으로 예측된다. 또한 리우협약의 체결 등으로 해양오염의 방제 및 신속한 처리는 국제관계에서도 매우 중요한 문제로 등장하였다. 특히 공해상의 오염발생시에는 국가간 협력체제가 필수적이며, 피해보상 등과 관련하여 국제분쟁이 발생하므로 지역간 피해보상 체제가 필요하다. 또한 UN해양법, 생물학적 다양성 협약의 발효로 해양환경의 보호와 지속적인 해양자원의 개발이용에 필요한 국가적 의무 준수의 측면에서도 해양유류오염방지 및 처리시스템 개발의 중요성이 증가하고 있으며 국민생활수준의 향상과 더불어 깨끗한 환경에서의 건강한 삶에 대한 요구가 증대되고 있다. 이에 따라 저렴한 비용으로 신속하고 2차오염의 문제가 적은 유출유류의 방제기술이 요구되고 있다. 이러한 목적으로 본 연구에서는 우수유류분해 균주연구를

통한 유류분해용 미생물제제 개발 및 이를 이용한 생물정화기술 개발을 통하여 저렴한 비용으로 해상 유류오염을 신속히 방제할 수 있는 기술을 개발하고자 한다. 이에 따라 본 과제는 1992년 부터 미생물제제 개발 및 생물정화기술에 관한 연구, 다기능 유류분해 미생물의 유전공학적 개발연구, 난분해성 유류화합물 방제기술 개발연구를 수행하여 다음과 같은 연구결과를 얻었다.

I. 미생물제제 개발 및 생물정화기술 연구

1. 유류분해 우수균주 분리

① 호기성 유류분해 균주

호기성 유류분해 균주를 다양한 시료로부터 수 천종 분리하여 분해력이 우수한 균주를 다음과 같이 선별하였다.(표 1)

(표 1) 유류분해 우수균주의 aliphatic 탄화수소 및 방향족 탄화수소의 분해율

Number of bacterial strains	Degradation Aliphatic Hydrocarbon	rate(%) of Aromatic Hydrocarbon	Genus name
K12-1	79	87	
2	74	63	
3	75	70	
4	86	89	
5	82	46	<i>Pseudomonas</i>
6	89	91	
7	90	85	<i>Moraxella</i>
8	91	80	<i>Acinetobacter</i>
9	74	62	
10	72	72	
K12-1	85	88	<i>Acinetobacter</i>
2	81	91	<i>Acinetobacter</i>
3	80	79	
IC-10	87	26	<i>Acinetobacter</i>
SZ-180	94	-	<i>Candida lipolytica</i>

*Degradation rates(%) = concentration of control(mg) - final concentration of aliphatic or aromatic hydrocarbons in the experiments inoculated with each bacterial strains(mg) / concentration of control

② 혼합균주

한편 분리된 우수 유류분해 균주를 다양하게 조합하여 유류분해도가 더욱 우수한 균주조합을 선별하였다. 그 결과 K-12-5, K12-7, K12-8로 구성된 혼합그룹 1과 K12-8, K 2-1, K 2-2로 구성된 혼합그룹 2가 고농도의

탄화수소 즉 5%의 원유농도에서도 90%이상의 높은 분해율을 나타냈다(표 2). 이와 같은 결과는 혼합균주에 의한 유류분해력이 균주상호간의 상호작용에 의해 단일균주보다 높음을 시사하고 있고 이는 유류분해 미생물제제 개발 및 유류오염 정화기술에 응용할 수 있다는 중요한 의미를 갖고 있다.

(표 2) 혼합 균주의 탄화수소 분해율.

	Degradation rates of aliphatic hydrocarbon	Degradation rates of aromatic hydrocarbon
Mixed Group 1 K12-5 K12-7 K12-8	93	91
Mixed Group 2 K12-8 K 2-1 K 2-2	93	92

③ 혐기성 유류분해 균주

혐기성 상태하에서 유류분해능이 우수한 15주의 혐기성세균을 분리, 동정하였고 유류분해능 범위는 원유농도 5%, 10℃배양조건에서 4주 후 55-91%로 나타났다(표 3).

(표 3) 혐기성상태하에서 aliphatic탄화수소의 분해율과 동정결과

Number of bacterial strains	Degradation rates*(%)	Genus name
ASR1	55	<i>Desulfomonas</i>
ASR2	68	<i>Desulfobacter</i>
ASR3	70	<i>Desulfococcus</i>
ISSA	87	<i>Megasphaera</i>
I2HA	65	<i>Bacteroides</i>
I2HB	84	<i>Bacteroides</i>
SBN1	86	<i>Vibrio</i>
SBN2	91	<i>Wolinella</i>
SBN3	91	<i>Bacteroides</i>
SBN4	80	<i>Wolinella</i>
SBNN	75	<i>Vibrio</i>
2BN1	88	<i>Bacteroides</i>
2BN2	80	<i>Acidaminococcus</i>
2BN3	88	<i>Leptotrichia</i>
2BN4	58	<i>Bacteroides</i>

* Degradation rate(%) = 89.1(mg) - final concentration of aliphatic hydrocarbon in the experiments inoculated with each bacterial strains (mg)/89.1(mg)

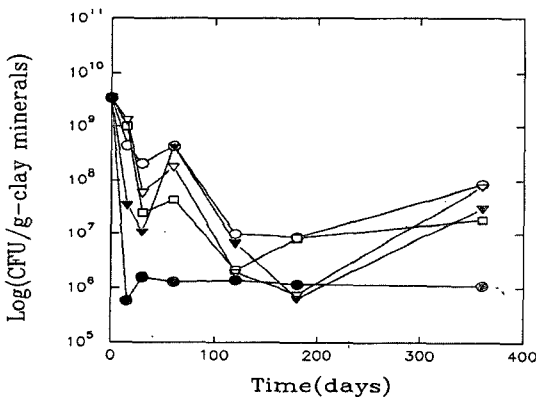
2. 담체 이용기술

① 미생물보존

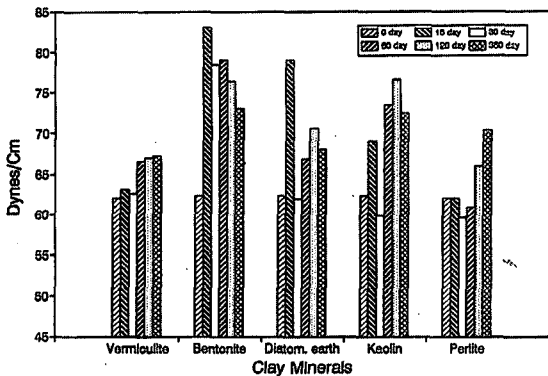
미생물제제를 생산하기 위해서는 유류분해 미생물의 특성이 변하지 않은 상태로 오랫동안 생존하여야 한

다. 이를 위해 다양한 clay mineral을 이용하여 유류분해 세균의 보존성을 실험한 결과 그림 1과 같다.

그림에 나타난 바와 같이 vermiculite, diatomaceous earth, kaolin 순으로 세균 생존률이 높았고 특히 실온에서 Vermiculite를 이용하여 유류분해 세균을 보존한 1년 후에도 초기농도의 2% 이상으로 높은 생존율을 확인하였다. 또한 유류분해 세균의 유효능을 확인한 결과 1년 후에 표면장력값이 유지되는 것으로 미루어 세균의 특성이 변하지 않은 것으로 사료된다.(그림 2). 따라서 본 방법은 미생물제제 대량생산시 활용이 가능하다.



(Fig 1) Changes of the number of survived bacteria from clay minerals preserved at room temperature. (○ Vermiculite; ● Bentonite; ▽ Diatomaceous earth; ◇ Kaolin; □ Perlite)



(Fig 2) Compatween surface tension values of the bacteria survived from different clay minerals preserved at room temperature.

②미생물고정

해양 유류오염 발생은 주로 연근해에서 발생하게 되며 유출된 유류는 해수운동과 기상조건에 의해 주위로 확산되어 해상에 잔류하거나 가까운 육지로 이동하여 해변을 오염시키게 된다. 해상유출사고가 발생할 때 가장 이상적인 방제방법은 유출된 유류를 신속히 제거하는 것이다. 그러나 해상상태나 기상조건 등에 의해 대부분의 유류는 육상을 오염시키거나 수층으로 침강하게 된다. 따라서 유류유출사고가 발생하는 초기에 유출유류를 담체에 신속히 흡수시켜 이 담체내에서 분해시킨다면 유류오염으로 인한 피해를 최소화할 수 있을 것이다. 이러한 용도로 사용할 수 있는 유류방제용 해수용 미생물제제의 개발을 위해선 몇가지 전제조건을 만족시켜야만 한다. 우선, 유출된 유류는 초기 수표면에 존재하기 때문에 해수용 미생물제제는 수면에 부상할 수 있는 능력을 갖고 유출유류와 쉽게 접할 수 있어야 한다. 두번째로, 부상물질의 표면에 소수성을 부여하므로써 유류를 쉽게 흡수 또는 부착시킬 수 있어야 한다. 세번째로, 부상한 제제에 유류분해능을 가진 미생물을 고정시킴으로써 미생물이 수층으로 확산 희석되는것을 방지하면서 유류분해를 할 수 있어야 한다. 마지막으로 제제에 고정된 미생물이 유류분해를 효율적으로 할 수 있게끔 무기영양물질인 질소와 인을 첨가하여 주는 것이다. 특히 영양원이 일시에 방출되는것을 방지하기위해 지속적으로 미생물이 이용할 수있도록 용출되어야 한다. 이 외에도 유류분해에 필요한 원활한 산소공급도 매우 중요하다. 이와 같은 조건을 만족시키기 위한 해수용 유류분해 미생물제제 개발을 위하여 실험을 수행하였다.

3.생물정화기술

①영양염제 및 유처리제의 영향

1차 현장실험에서 지속성 무기영양염제의 투여가 해변모래에 오염된 유류의 제거에 우수한 효과를 나타내었으나 유처리제는 유의한 효과를 보지 못하였다 (김 등 1994). 그러므로 2차 현장실험에서는 지속성

무기영양염제에 의한 효과를 재검증하고 지속성 무기영양염제와 유처리제를 동시에 투여하였을 때 유류분해에 미치는 영향을 살펴보고 1차 현장실험이 수행된 시기(하절기)와는 다른 절기에서도 동일한 효과가 나타나는지를 알아보려고 하였다.

2차 현장실험을 1차 현장실험과 같이 경기도 시흥시 군자동에 위치한 시화간척지구(한화그룹 지역)중 모래로 이루어진 지역을 선택하여 실험구를 설치하였다. 실험구는 반지름(r) 180mm, 높이(h) 250mm의 밑이 뚫려있는 원형의 Plastic 용기를 묻어 주변과 격리시켰다. 실험구의 조건은 표4와 같이 설정하였으며 실험구 설치 0일, 3일, 7일, 15일, 30일 그리고 50일 째에 시료를 채취하여 잔류 유류의 양과 C17/Pristane 비율, C18/Phytane 비율을 구하였으며(Wade et al, 1988), 종속영양세균수와 유류분해세균수의 변동을 함께 확인하였다. 온도, 암모니아염질소(NH₄⁺-N), 아질산염 질소(NO₂⁻-N), 질산염 질소(NO₃⁻-N), 인산염 인(PO₄²⁺-P)의 양을 standard method(1985)에 의하여 측정하였다. 해사의 함수율과 건조량 및 ash weight도 측정하였다.

(표 4) 현장실험 조건

	3% Arabian Light Oil ¹⁾	Slow Release Fertilizer ²⁾	Corexit 9527 ³⁾
I	+		
II	+	+	
III	+	+	+

1) 150 ml arabian light oil/0.005m² sand

2) 240g of mixed form and 170g of urea form/0.005m² sand

3) 6 ml of corexit 9527/0.005m² sand

본 실험은 1994년 10월부터 12월에 수행되었으며 일일 평균기온이 16°C에서 -2°C로 온도의 변화가 심하고 점진적으로 감소하는 시기에 수행되어 졌다(그림 3). 모래의 함수율은 초기 평균 15%에서 시작하여 2주후 5%이하로 감소하였으며 ash weight도 점진적으로 감소하였다. 실험구 III은 첨가된 유처리제에의해 초기 표면장력 값이 41.4 dynes/cm을 나타냈으나 7일 이후 표면장력이 71.4 dynes/cm으로 상승하여 유처리제의 능력이 소실되어 졌음을 알 수 있었다 (그림 4). 지속

성 무기영양염제를 첨가한 실험구는 대조구에 비해 전 실험기간동안 평균 무기질소 염이 24 - 35 배 그리고 무기인염이 12.6 - 57.6배 높게 나타났다. 또한 암모니아염 질소의 농도가 3일 이후 급격히 상승하여 질소원으로 공급된 요소형태가 암모니아 형태로 전환되었음을 알 수 있었다. N/P비율은 실험시작 3일 이후 1 이하로 감소되어 상대적으로 인의 농도가 높음을 알 수 있었으며 향후 적절한 N/P 비율을 유지할 수 있도록 첨가 영양염제의 농도조절이 필요한 것으로 사료된다.(그림 5). 잔류유량양은 50일 째에 대조구를 제외한 실험구 II, III에서 2 - 8%를 나타내 92 - 98%의 제거율을 보였다(그림6). 실험구 II와 III에서 7-15일 사이에 70% 정도를 분해되어 초기에 급격한 분해가 이루어졌음을 알 수 있으며 유처리제 실험구 III은 15일 째까지 지속성 무기영양염제 실험구 II에 비해 19%정도 낮은 제거 양상을 나타내었다. 또한 유류의 생물분해 지표로 이용되는 C17/Pristane과 C18/Phytane 비율도 잔류유류의 양과 유사한 양상을 보여주고 있으며 실험시작 50일째에 실험구 II에서 0을 나타내었고 실험구 III은 0.5이하를 나타내어 유류분해가 생물에 의한 것임을 시사하고 있다. 종속 영양세균과 유류분해세균의 수는 대조구인 실험구 I과 비교해 실험시작 3일째에 10배, 7일째에 100배의 증가양상을 이후 일정한 수준을 유지하고 있음을 보여주고 있다(그림 7). 그러나 실험시작15일째까지 실험구 III이 실험구 II보다 종속영양세균과 유류분해세균에서 다소 높은 분포양상을 보여주고 있다. 그러므로 유처리제와 지속성 무기영양염제를 첨가한 실험구 III은 지속성 무기영양염제만을 첨가한 실험구 II보다 미생물 개체수의 증가에는 유의한 효과를 나타내었으나 유류분해 활성 능력에는 다소 부정적인 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

이상의 결과로 해변모래환경에 오염된 유류제거를 위한 환경회복실험에서 지속성무기영양염제와 유처리제를 동시투여시 보다는 지속성 무기영양염제 투여시 초기의 유류제거 효과가 높음을 알 수 있었다.

기획시리즈 - 3

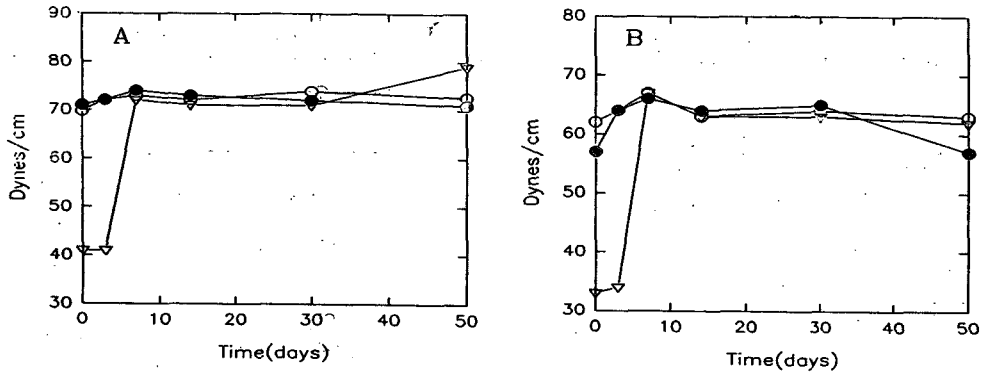


Figure 3. Fluctuations of surface tension(A) and interfacial tension(B) of the sand extracts during the in situ experiment (○: I; ●: II; ▽: III)

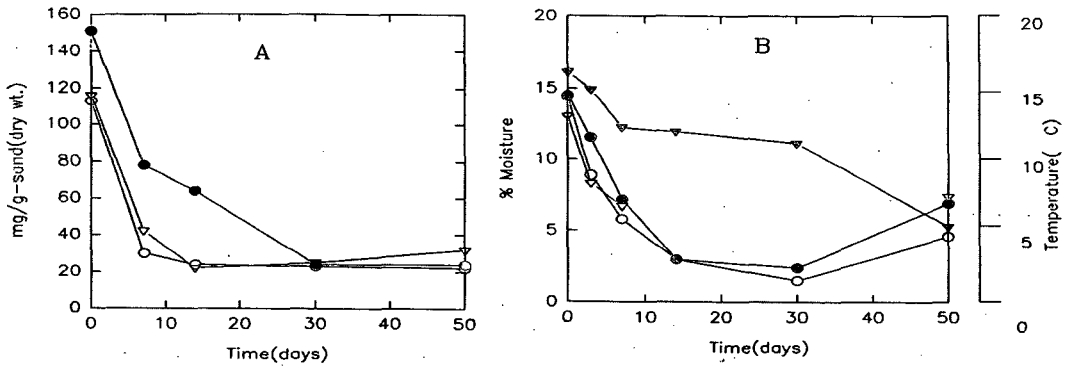


Figure 4. Variations of ash weight(A), water content of sand(B) and air temperature(B) during the in situ experiment (○: I; ●: II; ▽: III; ▼: Air temperature).

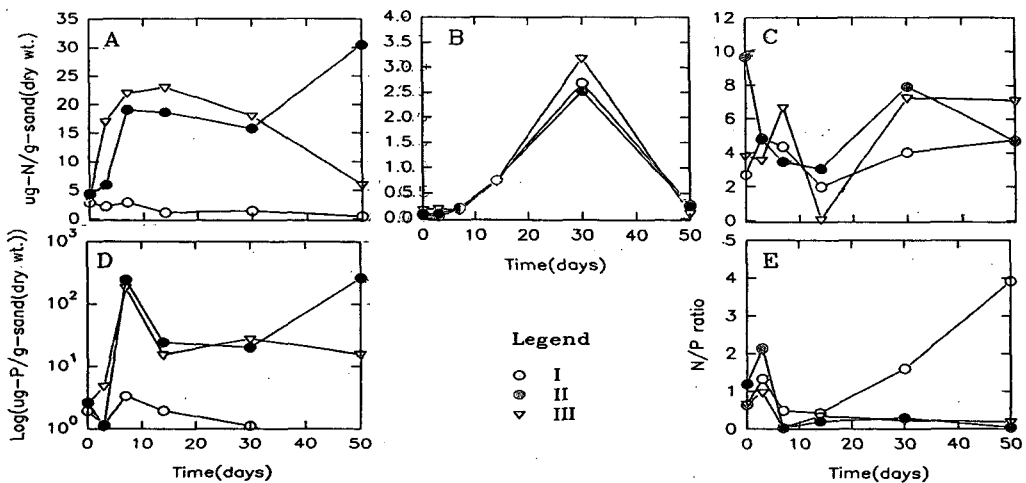


Figure 5. Fluctuations of the amounts of dissolved inorganic nitrogen and phosphate during the in situ experiment (A: inorganic ammonium ion; B: inorganic nitrite ion; C: inorganic nitrate ion; D: inorganic phosphate ion; E: N/P ratio)

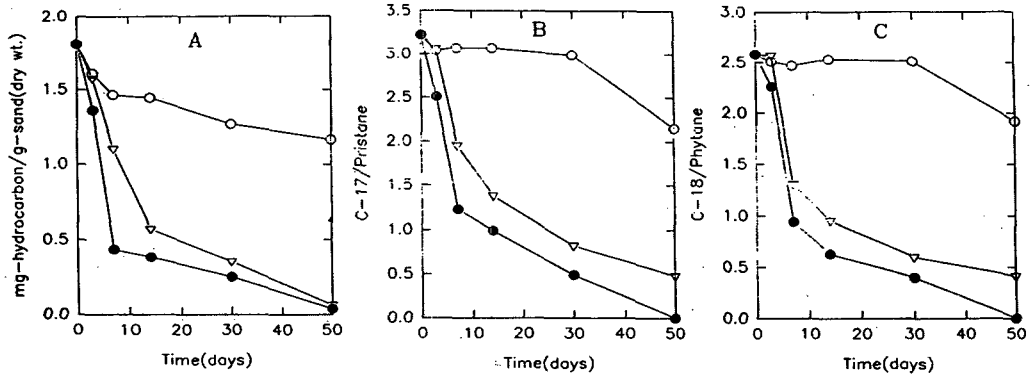


Figure 6. Fluctuations of crude oil contents in sand during the in situ experiment. A: Residual crude oil weight ; B:C-17/Pristane ratio; C:C-18/Phytane ratio. (○: I; ●: II; ▽: III).

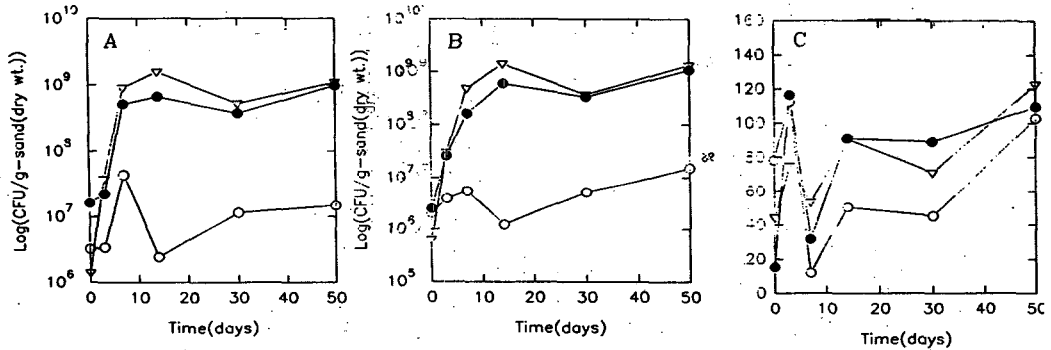


Figure 7. Fluctuations of bacterial number during the in situ experiment. A: Heterotrophic bacteria; Petroleum degrading bacteria; C: Ratio for petroleum degrading bacteria to heterotrophic bacteria (○: I; ●: II; ▽: III).

② 미생물 첨가에 의한 영향

우수 유류분해 균주를 이용하여 제조한 미생물제제를 활용하여 유출유류의 분해에 미치는 영향을 현장에서 실험하였다. 본 실험의 조건은 표 5과 같다.

(표 5) 현장 실험 조건

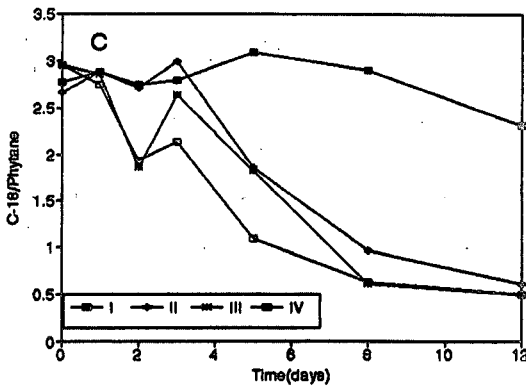
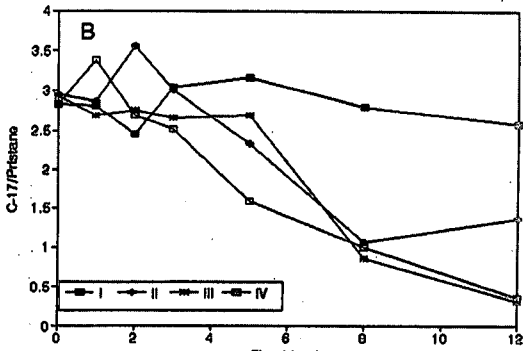
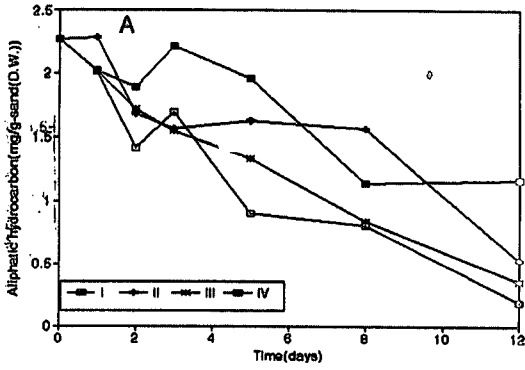
실험구	Crude oil ¹⁾	SRF ²⁾	M/O ³⁾	M/O ⁴⁾
I	+			
II	+	+		
III	+	+	+	
IV	+	+		+

- 1) 3% Arabian light oil(150 ml arabian light oil./0.005m³ sand)
- 2) Slow Release Fertilizer(69g of mixed form and 17g of urea form/0.005m³ sand):C:N:P=100:10:3
- 3) Mixed microorganisms(3 × 10⁸ cells/g sand)
- 4) Mixed microorganisms(3 × 10⁸ cells/g sand)

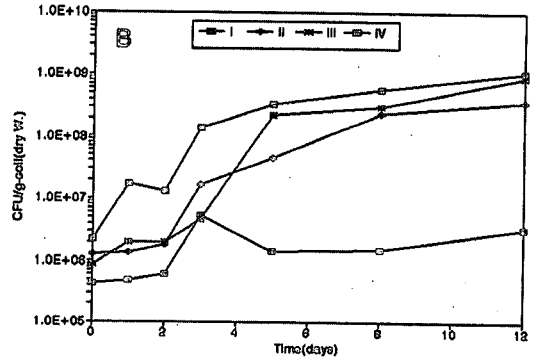
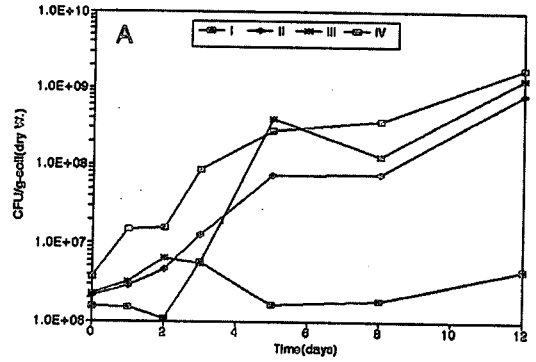
본 실험에서는 온도, pH, 함유율, ash weight, 무기영양

물질의 양, 표면장력, 계면장력을 포함한 물리화학적 조사와 잔류유류량, C17/Pristane, C18/Phytane 비율, 총 종속영양세균, 유류분해세균 등을 조사하였다. 그 결과 잔류유류량은 그림 8-A에서 보는 바와 같이 실험구 IV에서 5일 후 다른 실험구에 비해 높은 분해율을 나타냈고 실험구 III, II, I 순으로 분해율이 낮음을 알 수 있었으며, 12일후에도 역시 비슷한 경향으로 나타났다. 이와 같은 경향은 C17/Pristane, C18/Phytane 비율에서도 유사하였다. 또한 각 실험구의 총 종속영양세균수와 유류분해 세균수의 변화(그림 9)는 실험구 IV, III, II, I 순서로 낮은 분포를 나타내어 그림 8-A에 나타난 높은 유류분해능은 미생물의 분포변화와 일치함을 알 수 있었다. 이 결과는 유류분해가 미생물에

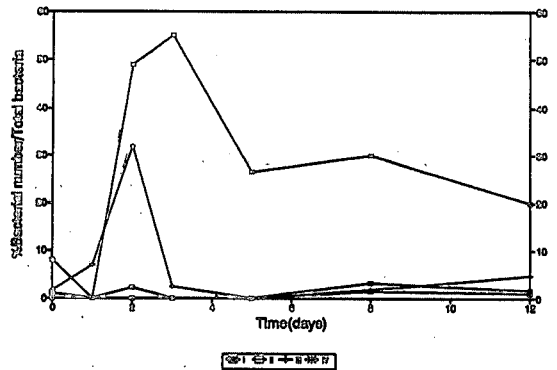
기획시리즈 - 3



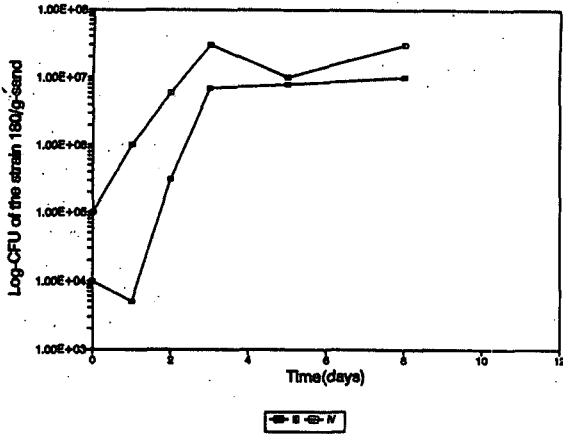
(Fig. 8) Changes of the remaining aliphatic hydrocarbon(A), C-17/Pristane ratio(B) and C-18/phytane ratio(C) during the in situ experiment.



(Fig. 9) Fluctuations of heterotrophic bacterial number(A) and oil degrading bacterial number(B) during the in situ experiment.



(Fig.10) Fluctuations of the ratio for strain k2-2 to total heterotrophic bacterial number



(Fig.11) Fluctuation of the number of strain 180

의해 진행됐음을 시사한다. 한편 미생물제재에 포함된 균주분포의 추이를 살펴본 결과, 조성 균주 중 하나인 K 2-2의 경우 전 실험기간 동안 20%이상의 높은 분포를 보여 미생물제재 균주가 자연환경 조거에서도 사멸하지 않고 유류분해에 중요한 역할을 함을 확인할 수 있었다(그림 10). 또한 SZ-180균주의 경우도 실험구 Ⅲ,Ⅳ에서 실험이 진행되는 동안 균수가 상승하는 분포를 나타내어 역시 유류분해에 중요한 역할을 했음을 알 수 있었다(그림 11). 이와 같은 결과는 유류분해 미생물제재가 유류분해에 중요한 역할을 할 수 있다는 가설을 현장실험을 통해 직접 증명한 최초의 실험결과이다.

결론

1. 다양한 우수 유류분해 균주를 확보하여 미생물제재 생산에 활용이 가능하다.
2. 유류분해 미생물제재 개발에 필수적인 미생물보존 방법을 향상하였다.
3. 현장실험을 통하여 유류분해 미생물제재의 효과를 입증하였다.

4. 해수용 유류분해 미생물제재 개발에 필요한 기초기술을 확립하였다.

참고문헌

- Atlas, R., 1984. Petroleum Microbiology, Macmillan Co, New York.
- Atlas, R. and R. Bartha, 1992. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation in Advances in Advances in Microbial Ecology Vol.12(ed. by K.Marshall), pp287-338, Plenum Press, New York.
- Mueller, J., Sresnick, M. Shelton and P.Pritchard, 1992. Effect of inoculation on the biodegradation of weathered Prudhoe Bay crude oil. J. Ind. Microbiol.10:95-102.
- Olivieri, R., P. Bacchin, A. Robertiello, N. Oddo, L. degen, and A. Tonolo.1976. Microbial degradation of oil spills enhanced by a slow-release fertilizer. Appl. Environ. Microbiol. 31:629-634
- Pritchard, H. T., and C.F. Costa. 1991. EPA's Alaska oil spill bioremediation report. Environ. sci. Technol. 25:372-379.
- Rivet, L., G. Mille, A. Basseres, A. Ladousse, C. Gerin, M. Acquaviva, and J.Bertrand, 1993. n-Alkane biodegradation by a marine bacterium in the presence of an oleophilic nutrient. Biotech. Letters 15:637-640.