

# 미생물 공정을 이용한 수질오염 총량제의 응용에 따른

## 비점오염원문제 해결과, 인 회수.

이태혁<sup>1</sup>, 노지현<sup>1</sup>, 강보람<sup>1</sup>, 이태권<sup>1\*</sup>

Tae H. Lee<sup>1</sup>, Ji H. No<sup>1</sup>, Bo R. Kang<sup>1</sup>, Tae K. Lee<sup>1</sup>

연세대학교 환경공학부

Department of Environmental Engineering, Yonsei University

### 1. 서론.

우리나라의 수질오염문제의 대부분은 점오염원보다 비점오염원에서 일어나고 있고 비점오염원의 문제는 좀처럼 해결되지 않고 있다. 이에 따라 최근 우리나라의 호소, 강, 댐 등에 부영양화 현상이 급속도로 증가하고 있으며 녹조류현상이 잇따르고 있다. 환경부에 의하면 2013년 창녕함안보에서 9월 9일 최대 202,792 cells/mL, 2014년 합천창년보에서 6월 23일 최대 297,331 cells/mL만큼의 높은 수치의 녹조가 발생하였다고 조사된 바 있다. 녹조현상에 의해 독소생성 (Aphanizomenon), 저층 용존산소 고갈, 여과장애 등 많은 보건, 사회적 문제를 야기시키고 있고 녹조현상의 대응책으로 현재 우리나라는 녹조 모니터링, 천변저류지 구축, 녹조차단막 설치 등이 존재한다. 하지만, 위 정책들은 조류의 근본적인 발생원인을 해결하지는 못하고 있다. 환경부에서는 이런 근본적인 비점오염원(논, 밭, 축산지 등)에 의한 부영양화 현상 (TN, TP)을 감소 시킬수 있는 수질오염 총량제를 실시하고 단위 유역을 나누어 비점오염원을 관리하고 있다. 그러나 이러한 투자와 관리에도 불구하고 부영양화 현상에 의한 녹조현상의 문제 해결은 되지 않고 있다. 결국 우리나라가 앞으로 비점오염원의 근본 해결을 위해서 해야 할 것은 선, 면 단위에서 배출되어 희석되고 확산되어 차집하기 힘든 TN, TP 그 외의 유기물들을 차집하고, 농도를 감소시켜 방류하여 녹조현상 근본원인을 차단시키는 것이다. 이번 논문에서는 채취한 미생물이 조류의 제거 및 부영양화 현상을 해소할 수 있는지에 대한 여부를 확인하고자 N, P, CNP 환경 조건을 각 각 다르게 하고 조류와 함께 주입하여 Chl-a, TN, TP, TOC를 측정 실험을 수행하였다. 그리고 마지막으로 실험을 한 미생물들의 특징을 토대로 비점오염원에 대한 해결을 할 수 있는지에 대한 여부를 환경부에서 시행하는 수질오염총량제와 최적공정에 적용시켜 평가하였다.

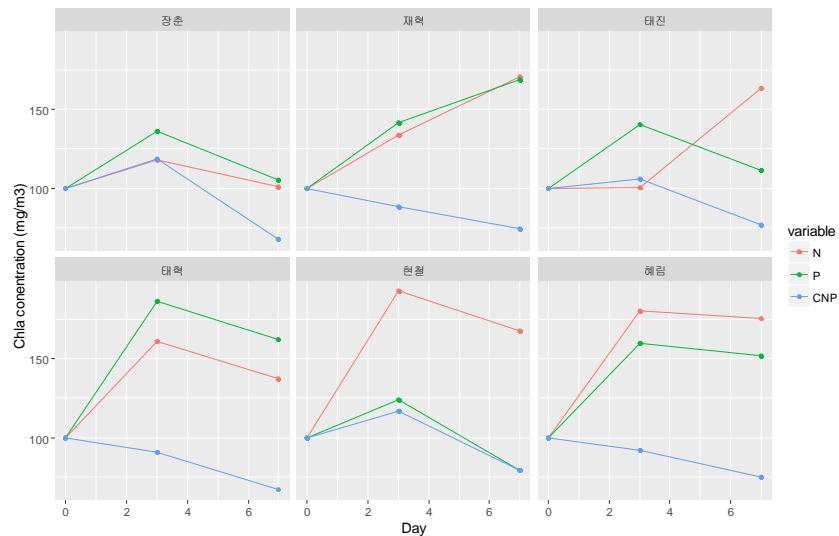
## 2. 실험재료 및 방법

호수에 있는 미지의 미생물을 채취하기 위해 '매지호수'에 들어가 시료를 채취하였다. 그 후 채취한 시료중 50 mL를 따로 메스실린더로 담아내었다. 이 중 300  $\mu\text{g}$ 을  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ 배수로 희석하여 Nutrient Agar 배지에 도말하여 2일동안 배양하게 되었다. 2일 후 배양했던 미생물들 중 8개 Colony를 따서 다시 NA 배지에 각 8개 종을 8등분으로 나누어 배양하였다. 이후 배양한 8종 미생물들을 B.G. 11배지에 각 각 주입을 하였다. 선택 배양 이후 8종의 미생물과 조류 배율을 1:10으로 하여 조류가 있는 시료에 주입하여 육안으로 확인하여 8개종중 가장 조류를 잘 제거 하는 미생물을 선택하여 본격적인 0일차 프로젝트에 들어갔다. 이 프로젝트에서는 주변 자연환경과 최대한 비슷하게 만들어 주기 위해서 그리고 어떤 무기, 유기영양인자에 더 많은 영향을 받는가를 알아 보기 위해서 N, P, Peptone Water(C, N, P)를 각 0.1 M의 농도로 맞추어 2개씩 총 6개의 샘플을 준비하였다. 이후 배양하던 조류의 배지를 원심 분리하여 제거한 이후 조류 100 mL와 선택한 미생물 10 mL를 각 준비된 샘플 6개에 집어 넣었다. 이후 0일 3일 4일 간격으로 3번 CFU, pH, 온도( $^{\circ}\text{C}$ ), Chl-a (Chl-a), 를 측정하였고 TN, TP, TOC는 마지막 7일차에 한꺼번에 측정하였다. CFU는 3일차 7일차때  $10^{-4}$ - $10^{-1}$  범위에서 희석을 하여 각 6개 샘플을 NA배지에 도말을 하고 다음날 Colony개수를 세었다. pH와 온도는 pH미터기 (Thermo scientific, Orion star A211와)로 측정하였다. Chl-a은 각 시료를 10 mL와 증류수 90 mL를 메스실린더에 담아내어 압력 여과장치로 조류를 걸러내고 여과된 조류는 여과지와 함께 아세톤 8 mL에 녹여 원심 분리하여 엽록소 a, b, c 그리고 탁도 등을 측정하기 위해서 각 6개 샘플의 상층액을 을 각 300  $\mu\text{g}$ 씩 4개의 96well- Eco- Plate에 모두 주입하였다. 그리고 각 파장에 맞게 663 nm, 645 nm, 630 nm, 750 nm에서 흡광도를 spectrophotometer (주)씨맥, QVIS-5000H)를 이용하여 측정하여 Chl-a를 계산하였다. Chl-a를 측정할 때 여과된 시료액은 추후에 TN, TP, TOC를 측정하기 위한 샘플이 되므로 각 각 필터링하여 50 mL Conical Tube에 담아내어 7일차때 TN, TP 그리고 TOC를 측정하였다.

## 3. 실험결과 및 해석

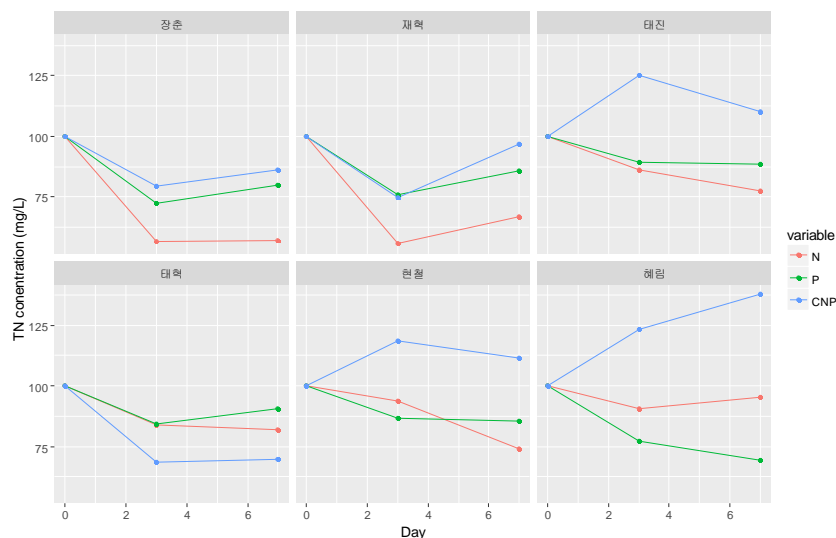
이번 실험 결과 또한 6개의 샘플 모두 pH평균 7.4에서 최대 8.8 - 9까지 올라 간 것을 관찰 할 수 있었다. 이는 질소의 동화작용중  $\text{NO}_3^-$ 의 형태나  $\text{NO}_2^-$ 의 형태는 환원에 의해  $\text{NH}_3$ 형태로 만들어주어 주변 시료의  $[\text{H}^+]$ 를 감소시킨 것으로 사료된다. 그리고 미생물의 군집단위 (CFU)는 6개 실험 중 3개는 시간이 지남에 따라 꾸준히 증가하는 모습을 보였으나 군집이 셀 수 없을 만큼 자라거나 거의 자라지 못하여 측정이 불가능한 경우, 자라

다가 수가 감소한 경우, 시간에 상관없이 크게 변하지 않는 경우가 총 4가지의 경우가 관찰되었다.



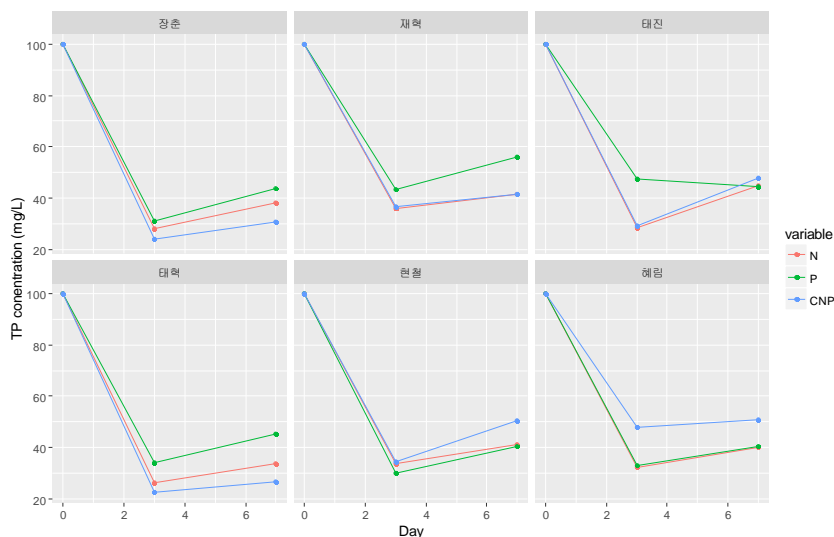
[Fig. 1 Temporal changes of Chl-a concentration]

Fig 1은 시간에 따른 Chl-a의 농도 변화를 보여주고 있다. N, P 환경에서는 Chl-a이 증가하다 감소하거나 계속 증가하는 2가지 경우가 존재했으며 최종적으로는 Chl-a은 증가하였다. 반대로 CNP환경에서는 6개 샘플 3 day까지 5%- 12%까지 감소하는 형태와 0%- 10% 증가하는 2가지 형태로 나뉘었다. 하지만 결국 3 day - 7 day에 샘플에 따라 25%- 35% 감소하여 최종적으로 초기 Chl-a대비 감소%는 25% - 30% 로 관찰되었다. 이에 근거하여 6개의 샘플 모두 부영양화 상태 (CNP 환경)에서 녹조류의 제거가 가능하며 근본 원인인 비점오염원문제 에서 효과를 기대 할 수 있다.



[Fig. 2 Temporal changes of TN concentration]

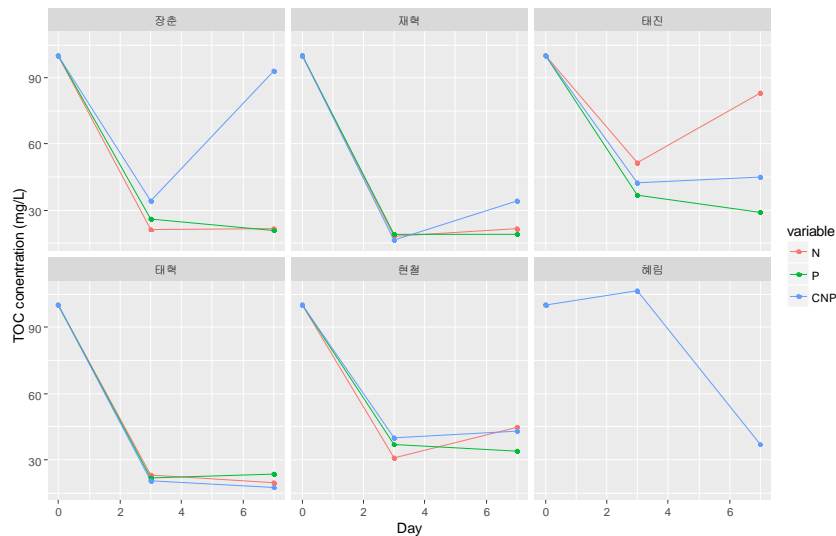
Fig 2은 시간에 따라 TN의 농도변화를 보여주고 있다. 미생물의 동화작용이나 대사작용에 필요한 질소를 섭취하기 때문에 0 day - 3 day에는 CNP, N, P환경에서는 6개 샘플 대부분 감소하는 형태를 보여진다. 반대로 3 day - 7 day에 미생물들은 질소를 합성할 뿐만 아니라 자체적으로 산화하여 NH<sub>3</sub>를 생성하고 또한 시간에 따라 죽고 사체가 분해되어 단백질이 나오고 단백질이 분해되어 TN값을 높인다. 결과적으로 3 day 이후 TN이 유지되거나 증가하는 양상을 보아 TN의 소모량보다 증가하는 양이 좀 더 많거나 소모하는 양과 비슷하게 보여진다. CNP환경에서는 TN값이 오히려 증가하는 예외적인 현상은 태진, 혜림, 현철 미생물에서 관찰 되었다. 이에 대해서 높은 농도의 C, N, P에 대한 미생물의 지연시간이라 사료된다. 결과적으로 부영양화 상태와 제일 유사한 CNP환경에서 TN을 가장 크게 줄일 수 있는 미생물은 태혁-미생물임을 확인 할 수 있었다.



[Fig. 3 Temporal changes of TP concentration]

Fig 3는 시간에 따른 TP의 농도변화를 보여준다. 인 성분 또한 미생물에게 물질대사, 원형질 구성성분으로써 흡수해야 할 물질이다. 결과적으로 CNP환경에서 0 day - 3 day에 6개 샘플 모두 미생물들이 인을 흡수하여 50% - 80%까지 감소시킴을 관찰 할 수 있었다. 그리고 이번 실험에서 직접 용존산소의 농도는 측정하지 않았지만, 시료내의 용존산소는 미생물, 조류의 호흡과 물질대사에 의해 빠르게 감소한다는 것을 줄-겔법으로 확인한 바 있다. 이에 따라 3일차를 기점으로 호기조건에서 혐기조건으로 바뀔 수 있으며 이에 따라 미생물 체내의 Poly-P가 가수분해 되어 인이 오히려 용출 되었음을 알 수 있었다. 그리고 혐기조건에서 인을 배출시킨 이후 호기조건으로 보내주면 일반 미생물의 원형질의 구성과 대사에 필요한 양만을 섭취하는 것이 아니라 과잉 섭취 (4%~8% 증가)가 일어난다고 알려져 있다. CNP환경에서 호기조건 (0 day - 3 day)에서 인을 70% 이상 제

거 할 수 있는 미생물은 태진, 장춘, 태혁-미생물로 관찰 되었고 혐기조건 (3 day - 7 day)에서 인을 가장 높은 비율 (40%)로 용출하는 미생물은 태진-미생물로 관찰 되었다.



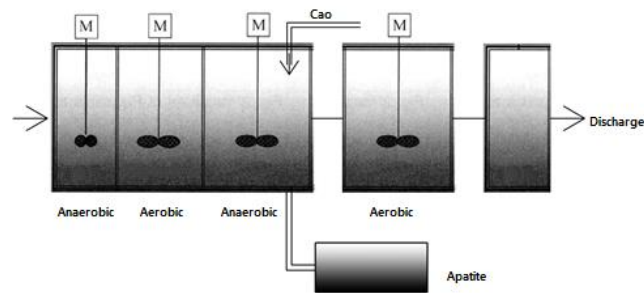
[Fig. 4 Temporal changes of TOC concentration]

Fig 4는 일수에 따른 TOC농도를 나타낸다. TOC 유기물들은 모든 생명체 인지질부터 단백질까지 구성하는 필수 요소 중 하나이다. 이에 따라 CNP환경에서 헤림-미생물을 제외한 다른 미생물들은 탄소 흡수에 의해 0 day - 3 day에 TOC가 급감하는 것을 관찰 할 수 있다. 3 day 이후는 Fig 2의 TN 농도 그래프와 형태가 비슷한 것을 고려하여 자체 산화와 미생물 사체에 의한 단백질 분해로 농도가 거의 비슷하게 유지되고 있음을 알 수 있었다. TOC의 농도를 제일 크게 (85%) 낮추는 미생물로는 태혁, 재혁-미생물로 확인 되었다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 미생물을 '매지 호수'에서 채취하여 C, N, CNP환경 샘플을 만들어 조류와 함께 배양하였다. 그리고 수질의 부영양 상태에 맞추어 CNP환경을 기준으로 시간에 따라 미생물이 부영양화 현상과 조류현상을 해결 할 수 있는지 (Chl-a, TN, TP의 감소)에 대한 여부를 확인 하였다. CNP환경에서 TN, TP, TOC, Chl-a를 가장 크게 감소시킬수 있는 미생물로는 태혁-미생물로 확인되었다.

이번 실험에 사용된 미생물들로 부영양화현상을 해결 할 수 있는 공정과 정책에 적용 시켰다. 부영양화 현상의 근원인 비점오염원은 오염물이 희석되고 확산되어 차집하기 어렵다고 알려져 있다. 환경부의 수질오염 총량제에서 임의로 단위유역 4개를 하나의 단위로 묶어 하나로 합쳐지는 본류에서 일부 흐름을 끌어들이 인의 회수하고 TN, TOC를 낮추는 공정에 적용 시켰다.



[Fig. 5 Optimized Process of Nonpoint pollution source]

태진 미생물을 이용하여 Anaerobic상태에서 인을 3일간 용출시킨 후 Aerobic으로 넘어가 미생물에게 인을 과잉섭취 시킨다. 이후 다시 혐기조건으로 가게 되면 인을 과잉섭취한 미생물들은 평소보다 더 많은 인을 배출하게 되고 이 때 CaO석회를 넣어 침전시킨후 침전된 인석회를 시스템 밖으로 빼내어 인의 비료 재료로 다시 사용한다. 태진 미생물은 호기조건에서 TN이 25% 증가하는 특징이 있어 방류하기 전에 높아진 TN을 감소시키기 위해 TN제거 효율이 제일 좋은 태핵-미생물로 TN을 낮춘다. 이 때 호기조의 DO값은 최소 0.5 mg/L이상을 유지시켜줘야 한다. 마지막으로 여과와 침전으로 미생물의 방류를 방지한다. 비점오염원에 의한 부영양화 현상과 동시에 인의 회수까지 효과를 기대 할 수 있다.

## 5. 참고문헌

1. 이상준, 이건, 손홍주, 이태호, 응용환경미생물학, 동화기술, 2판 (개정판), 232-260
2. 박희문, 신현동, 오덕철, 윤권상, 이종규, 기초 균류학, 월드사이언스, 303-305, 264-265
3. 균류생물학번역위원회, 균류 생물학, 4판, 월드 사이언스, 134-136
4. REECE, TAYLOR, SIMON, DICKEY, 생명과학, 7판, PEARSON, 30-43
5. 이영기, 허규회, 낙동강 창녕함안보 녹조관리 현황, 환경부
6. 박종일, 이태진, 생물학적 질소제거 공정에서 용존산소변화에 따른 미생물 군집변화, 2008, 대한환경공학회지, 939-947
7. 이상형, 박명균, 신항식, BNR 공정에서 미생물 특성을 이용한 무산소성 인섭취 현상 분석, 2004, 제 24권 제 5B호, 509-514
8. 김선용, 김춘광, 손옥재, 이종일, 24-웰 마이크로 플레이트를 이용한 미생물 발효공정에서 pH 및 용존산소의 모니터링, 2009, 24, 207-211