

《原著》

## 토양 경작법을 이용한 유류오염토양 정화사업 타당성 연구

조은혜<sup>1</sup> · 류혜림<sup>2</sup> · 신도연<sup>3</sup> · 김영진<sup>2</sup> · 최용주<sup>4</sup> · 남경필<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 건설환경공학부

<sup>2</sup>삼성물산

<sup>3</sup>한국지질자원연구원

<sup>4</sup>Stanford University

## Field Applicability Study of Landfarming for Petroleum Hydrocarbons Contaminated Soils

Eun Hea Jho<sup>1</sup> · Hyerim Ryu<sup>2</sup> · Doyun Shin<sup>3</sup> · Young-Jin Kim<sup>2</sup> · Yong Ju Choi<sup>4</sup> · Kyoungphile Nam<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Civil and Environmental Engineering, Seoul National University

<sup>2</sup>Samsung C&T Corporation

<sup>3</sup>Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources

<sup>4</sup>Stanford University

### ABSTRACT

The landfarming treatment for the remediation of the petroleum contaminated soil at the returned U.S. Military bases was investigated in this study. Specifically, the bioaugmentation performance using various commercially available petroleum-degrading bacteria was evaluated and the directions for enhancing the performance of the landfarming treatment were suggested. The environmental factors of the soils at the returned U.S. Military bases chosen for remediation indicate that the landfarming treatment can be used as the remediation technique; however, the addition of nitrogen or phosphorus is required. The lab-scale landfarming treatment tests using the model soil and the site soil showed that the degradation efficiency was greater with the model soil than the site soil and that the treatment performance was not affected by the number of bacteria present in the soil in the range of 10<sup>6</sup>-10<sup>12</sup> CFU/g. These results suggest that the successful landfarming treatment depends on the petroleum degradability of bacteria used and the environmental conditions during the treatment rather than the number of petroleum-degrading bacteria used.

**Key words:** Landfarming, Petroleum-contaminated soil, Soil remediation, Petroleum-degrading bacteria, Contaminant aging

### 1. 서 론

연합토지관리계획(LPP, Land Partnership Plan)에 따라 반환된 주한미군기지 토양유류오염은 환경적 문제가 되고 있다. 토양유류오염은 토양 생태계에 영향을 미칠 뿐 아니라, 토양에서 다른 매체로의 오염확산 가능성이 있어, 국내에서는 1995년 토양환경보전법 제정 이후 본격적으로 토양 오염관리를 하고 있다. 현재 우리나라에서는 오염토양 복원을 위해 다양한 지중 또는 지상 생물학적, 물

리화학적, 열적 처리방법이 적용되었고, 이들 기술 중 토양 경작법은 물리화학적 처리방법에 비해 친환경적이고 처리 비용이 저렴하다는 장점과 원위치 생물학적 분해법에 비해 정화기간이 비교적 짧다는 장점이 있어 2006년부터 2008년까지 3년간 국내에서 가장 많이 적용되었다(MoE, 2010).

토양경작법은 오염토양을 굴착하여 경작장에 일정한 두께로 펼친 후 정기적인 뒤집기를 통한 공기 공급을 통해 미생물의 호기성 생분해를 촉진시켜 유기오염물질을 분해하는 생물학적 정화기술이다(MoE, 2007). 토양경작에서는

\*Corresponding author : kpnam@snu.ac.kr

원고접수일 : 2012. 8. 17 심사일 : 2012. 11. 19 게재승인일 : 2012. 11. 19

질의 및 토의 : 2013. 6. 30 까지

크게 두 가지의 미생물 활성화 방법이 적용되는데 이는 영양분 주입 및 환경조건 조절 등의 방법으로 오염토양 내 이미 존재하는 토착미생물의 생장을 촉진하고 대상 오염물질을 분해하는 미생물의 활성을 증진시키는 생물촉진법(biostimulation)과 특정 오염물질에 대한 분해능이 우수한 선발된 미생물을 외부에서 배양하여 주입하는 생물증진법(bioaugmentation)이다. 토양경작 적용 시 오염물질의 분해능이 우수한 미생물 제제의 사용은 제제 내 영양분과 오염물질 분해 미생물의 동시 주입으로 인한 오염물질의 분해가 촉진되게 되고, 이는 여러 기존 연구들에 의해 뒷받침되고 있다. 기존 토양경작과 관련된 연구들이 토양 내 토착 미생물만 사용할 때보다 미생물 제제 또는 오염물질 분해능이 있는 미생물을 주입한 토양 내에서 유류오염물질 분해가 향상되는 것을 보고하고 있다(Trindade et al., 2004; Benyahia et al., 2005).

본 연구는 연합토지관리계획 협정에 따라 반환된 18개의 정화대상 미군기지 중 토양경작법 적용을 위한 토양경작 환경 평가가 가능했던 14개의 반환기지를 대상으로 유류오염물질 정화방법으로서 토양경작법의 적용 가능성을 검토하는데 목적이 있다. 또한 본 연구에서는 반환기지 정화에 생물촉진법을 적용하기 위해 다양한 유류분해 미생물 제제를 주입하여 토양경작을 실시하고 분해효율 결과를 비교·분석하여 각 미생물 제제의 토양경작법 적용 적합성을 판별하였으며, 그 결과를 바탕으로 미생물 제제 사용을 통한 토양경작법 효율향상을 위한 방안을 제시하였다. 특히, 각 미생물 제제가 실제 유류분해물질 분해능이 있는지 그리고 미생물 제제 주입 후 토양 내 미생물 수의 변화와 유류오염물질 정화와의 관계를 알아보고자 하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 분석방법

#### 2.1.1. 미생물 분석

반환미군기지 토양 내 총 종속영양균수 측정을 위해 토양시료 5 g을 0.85% NaCl 용액 25 mL에 담고 15분간 혼합한 다음 멸균 증류수로  $10^3$ - $10^7$ 배 희석하였다. 이후 각 시료를 1 mL씩 배지에 도말하여 20°C 항온기에서 약 7일간 배양하여 형성된 집락의 균수를 계산하였다(Reasoner and Geldreich, 1985, Margesin and Schinner, 1998). 미생물 제제의 총균수와 방향족/지방족 탄화수소를 분해하는 미생물 수 측정을 위해 각 미생물 제제를  $10^1$ - $10^6$ 배 희석한 후 배지에 도말하여 상온에서 3일 배양한

후 형성된 집락의 수를 계산하였다. 토양경작 시험 전후 토양의 미생물 총균수와 방향족/지방족 분해균수 측정을 위해 토양 2 g에 PBS(phosphate-buffered-saline) 완충용액 20 mL를 더하여 1분간 강하게 vortex mixer를 사용하여 교반한 후 토양 입자로부터 미생물을 분리하였다. 이후 rotary shaker에서 220 rpm의 속도로 30분간 교반한 후 상등액을 10의 배수로 희석하여 배지에 도말·배양하여 배지 내 균수를 계산하였다. 모든 균수 측정은 두 번의 반복 측정 후 평균값을 사용하였고, 최종적으로 희석 배수를 고려하여 미생물 수를 결정하였다.

총 종속영양균수 측정을 위해 R2A 고체배지를 사용하였고, 조성은 yeast extract 0.5 g/L; proteose peptone (Difco No.3) 0.5 g/L; casein hydrolysate 0.5 g/L; glucose 0.5 g/L; soluble starch 0.5 g/L; sodium pyruvate 0.3 g/L;  $K_2HPO_4$  0.3 g/L; anhydrous  $MgSO_4$  0.04 g/L; agar 15.0 g/L이었다. 방향족 탄화수소 분해균수 측정을 위해 사용된 배지 조성은  $KH_2PO_4$  1 g/L,  $K_2HPO_4$  1 g/L,  $NH_4NO_3$  1 g/L,  $MgSO_4$  0.5 g/L,  $FeSO_4$  포화용액 0.001%,  $CaCl_2$  포화용액 0.001%이었다. 방향족 탄화수소의 대표적인 물질인 나프탈렌을 유일 탄소원으로 사용하였으며, 밀폐된 용기에 고체상 나프탈렌과 고체배지가 담긴 페트리디쉬를 함께 보관하여 휘발된 나프탈렌을 미생물이 이용할 수 있게 배양하였다. 지방족 탄화수소 분해균수 측정을 위해 위와 동일한 조성의 배지에 유일 탄소원으로 나프탈렌 대신 액체 파라핀 1%를 첨가하였다(Li et al., 2000).

#### 2.1.2. 토양 pH 및 수분함량 분석

토양시료의 pH는 토양오염공정시험법에 준하여, 시료 5 g과 증류수 50 mL를 100 mL 비이커에 넣고 때때로 유리막대로 저어주면서 1시간 방치 후 pH 미터를 사용하여 측정하였다. 토양시료의 수분함량은 토양오염공정시험법에 준하여, 식 (1)을 이용하여 결정하였다.

$$\text{수분(\%)} = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100 \quad (1)$$

여기서  $W_1$ 은 105-110°C에서 1시간 건조시켜 데시케이터에서 방냉한 후 측정된 증발접시 무게,  $W_2$ 는 적당량의 시료와  $W_1$ 을 합한 무게,  $W_3$ 은  $W_2$  무게 측정 후, 105-110°C 건조기 안에서 4시간 건조 후 데시케이터 안에서 방냉한 후 측정된 무게를 각각 의미한다.

#### 2.1.3. C : N : P비율 분석

질소(N) 측정을 위해 풍건 토양 5 g에 2 N KCl용액

25 mL를 가하고 30분간 혼합기를 이용해 섞은 후 여과하여 시료를 준비하였다. 유기성 질소와 암모니아성 질소의 합인 총킬달질소(Total Kjeldahl Nitrogen)는 킬달법을 이용하여 측정하였고(Halvorson, 1991), 아질산성 질소 및 질산성 질소는 이온크로마토그래피(IC)를 이용해 측정하였다(Jones, 1999). 총 인(P)은 탄산소다( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 용융법(fusion method)을 사용해 측정하였다 (Jackson, 1958). 유기탄소(C)는 작열감량법(loss-on-ignition method)을 이용하여 간접적으로 토양의 유기물 함량을 측정 후, 유기물 함량으로부터 유기탄소함량을 구하였다(Jung, 1995). 측정된 C, N, P 함량을 사용하여 C:N:P 비율을 구하였다.

#### 2.1.4. 석유계총탄화수소(Total Petroleum Hydrocarbon, TPH) 측정

토양경작 모사시험 기간 중 매주 1회 토양 내 잔류하는 TPH 농도를 분석하여 오염저감율을 관측하였다. 토양의 TPH 분석을 위해 초음파추출법(sonication extraction)을 사용하였다. 토양 5 g과 무수황산나트륨(anhydrous sodium sulfate) 5 g 이상(> 1:1)을 잘 교반한 후, 디클로로메탄( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 25 mL를 넣은 후 초음파추출기를 사용하여 추출하였다(출력: 130 W, Duty cycle: 50%, 펄스모드: 1초, 추출시간: 3분). 이 때 초음파추출기의 원추형 팁이 토양에 닿지 않도록 하였고, 추출조작을 2회 이상 반복하여 얻어진 추출액을 원심분리한 다음 소량의 디클로로메탄으로 세척하였다. 이 추출액과 세척액을 합한 후 무수황산나트륨을 충전시킨 크로마토그래피용 분리관을 통과시켜 탈수시켰다. 시료 중 간섭물질 제거를 위해 농축된 추출액에 활성이 없는 실리카겔을 넣고 약 5분간 진탕하고 정치시킨 후 상등액을 가스크로마토그래프(GC/FID)를 이용하여 분석하였다. 컬럼은 DB-5(안지름 0.32 mm, 필름두께 0.25  $\mu\text{m}$ , 길이 30 m)를 사용하였고, 온도 프로그램은 50°C로 2분간 유지 후 8°C/min씩 승온시켜 320°C에 도달하면 10분간 항온을 유지하였다. 운반가스는 1-2 mL/min의 헬륨이었고, 시료 주입구와 검출기 온도는 각각 300과 320°C로 조절하였다. 토양오염공정시험방법을 기준하여 크로마토그램에 나타나는 유류의 성분을 확인하고, 짝수의 노말알칸(C8-C40) 표준물질의 총면적과 시료 피이크의 총면적을 비교하여 TPH 농도를 정량하였다.

#### 2.2. 미생물 제제 분해능 시험

모델토양 내에서 각 미생물 제제의 토양에서의 유류분해능 시험을 위해 오염이력이 없는 토양을 채취하여 풍건

한 후 2 mm체를 통과한 부분을 JP-8 10,000 mg/kg으로 오염시킨 후, 토양 내 영양분만을 사용한 미생물의 JP-8 저감율을 측정하였다. 토양 오염 시 토양경작을 적용할 수 있는 최대 석유계 물질 농도가 10,000 mg/kg이고, 대부분의 현장오염토양이 4,000-5,000 mg/kg으로 오염되어 있었기 때문에 휘발에 의한 손실 등을 고려하여 토양을 JP-8 10,000 mg/kg으로 오염 시켰고, 별도의 숙성 기간 없이 오염 후 바로 실험에 사용하였다. 각 미생물 제제의 분해능을 보기 위한 실험이기 때문에 높은 농도의 오염물질을 사용함으로써 인위적으로 야기될 수 있는 오염물질의 각 미생물 제제 내 미생물에 대한 독성은 따로 고려하지 않았다. 또한 각 미생물 제제는 다양한 영양분을 포함한 액상배지와 같이 공급되거나 분말형태, 또는 별도의 영양분과 함께 제공되는 등 다양한 형태로 제공되었기 때문에, 접종된 미생물 제제가 토양 내 영양분만을 사용하여 유류를 분해하는 능력을 검증하기 위해 16개의 미생물 제제를 PBS(phosphate-buffered saline) 완충용액으로 2회 세척하여 미생물 제제 용액이 함유하고 있는 다양한 영양분을 제거한 후,  $10^8$  CFU/g의 미생물을 오염토양에 접종한 30일 후의 JP-8 저감율을 측정하였다. 모든 실험은 250 mL 삼각 플라스크에서 세 번의 배치형태로 수행되었고, 이와는 별도로 각 미생물 제제의 최대한의 능력 발휘를 위해 추천 사용 방법과 배지, 영양분 등을 사용한 분해능 실험에 대한 방법은 토양경작 모사시험(2.3 참고)에 설명하고 있다.

#### 2.3. 토양경작 모사시험

토양경작 모사시험은 0.5 cm 두께의 아크릴 판을 이용하여 가로x세로x높이(20 × 10 × 15 cm)의 반응기를 제작하여 실내 실험에 이용하였고, 모델토양과 현장오염토양을 이용하여 수행하였다. 모델토양은 유류로 오염된 이력이 없는 토양을 채취하여 풍건한 후 2 mm 체를 사용해 체 거름을 한 후 제조하였다. 모델토양의 토성은 sandy loam으로 약 1%의 유기탄소를 포함하고 있었다. 토양 2.4 kg에 12 g의 JP-8을 주입하여 5,000 mg JP-8/kg의 농도로 오염시켜 제조한 모델토양을 16개의 반응기에 10 cm 두께로 채웠다. 현장오염토양은 14개 반환기지 중 한 기지 내 두 개 지점에서 채취한 토양(2m 깊이 지점)을 이용하였다. 채취한 시료는 냉암소에 보관되어 실험실로 운반된 뒤 24시간 내에 큰 입경의 토양과 혼합물질을 제거한 후 골고루 혼합하여 3일 이내에 각 미생물 제제 제조사의 권장 방법에 따라 미생물 제제 접종을 실시하였다. 모든 실험은 3회 반복으로 이루어졌다. 액상 미생물 제제의 경우,

원심분리 후 방향족/지방족 탄화수소 분해균수 측정을 위해 사용된 배지(2.1 참조)를 사용하여 희석한 후 토양과 균일하게 혼합하였고, 원심분리가 되지 않는 제제의 경우, 토양과 바로 균일하게 혼합하였다. 고체상 미생물 제제의 경우, 위와 동일한 배지에 섞은 후 토양과 균일하게 혼합하였다.

경작 시험 시 수분함량은 포장용수량(field capacity)의 60%로 유지하였고, 8주간의 경작 기간 중 매일 1회 5 cm 깊이로, 매주 2회 10 cm 깊이로 뒤집기를 실시하였다. C:N:P 비율은 석유계총탄화수소(C8-C40)의 평균 분자량을 233이라 가정하여 토양 내 존재하는 총 탄소양을 파악하고(Lee et al., 1992), 이를 기준으로 100:10:1의 비율이 되도록  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 와  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 를 물에 녹인 후 수분조정 시 첨가하여 골고루 섞어주었다(Alexander, 1994). 이 때, 토양 내 이미 존재하고 있는 질소와 인의 농도는 고려하지 않았다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 반환미군지 토양분석에 따른 토양경작법 적용 용이성 평가

토양경작법의 생분해 효율 및 경제성에 영향을 미치는 인자로는 오염물질의 오염농도, 수분함량, 토양 pH, 미생물 수, 영양염류 농도, 토성, 토양뒤집기 비율/횟수 등이 있다. 이러한 요인들이 토양경작법에 적절하지 않을 경우, 미생물의 성장 유지 및 촉진을 위해 추가적으로 질소와 인을 포함한 영양분과 수분을 첨가하고, pH를 조절하기 위해 석회를 사용하기도 한다(MoE, 2007). 토양경작법을 적용하기 위해 적절한 토양 내 유류 관련 오염물질의 오염농도는  $\leq 10,000 \text{ mg/kg}$ 이고, 효과적인 처리를 위해서는 이보다 적은 2,000-4,000 mg/kg 수준이 적절하다(MoE, 2007). 총 14개 기지의 토양시료 중 상당 부분이 토양경작에 적절한 수준으로 오염되어 있는 것으로 조사되었다. 또한 모든 토양시료의 pH값은 중성(pH 6-8)으로 토양경작법에 적절한 토양의 pH값 범위로 알려진 6-8(MoE, 2007)에 속하였다. 수분 함량의 경우, 14개 지 중 2개 지(무게 기준으로 9-11% 수분함량)를 제외한 나머지 시료는 13-22%의 적정 범위의 수분(무게 기준으로 12-30%(MoE, 2007))을 함유하고 있었다. 토양경작법에 이용되는 미생물은 주로 호기성 종속영양미생물이다. 총 14개 기지의 토양시료에서 종속영양균의 수는  $5.5 \times 10^7$ 에서  $2.4 \times 10^8 \text{ CFU/g}$ 의 범위를 가지고 있었고, 모든 시료가  $10^7 \text{ CFU/g}$  이상의 균을 가지고 있었다. 이는 일반적으로

토양경작이 가능한 것으로 보고되어 있는  $10^3 \text{ CFU/g}$  이상의 값이고, 또한, 효과적인 토양경작법의 적용을 위한 미생물 수인  $10^6 \text{ CFU/g}$ 보다(MoE, 2007) 큰 값으로, 본 연구에서 사용한 모든 토양 시료 내 미생물 수는 토양경작의 제한요소로 작용하지 않을 것으로 판단된다. 토양경작법에 영향을 미치는 이러한 주요 요인들이 적정 값 범위 내에 존재하고 있어, 토양환경 분석을 한 총 14개의 미군반환기지의 오염지역 토양에 경작법을 이용하여 정화 시 추가적인 조절 없이도 적용이 적절할 것으로 판단된다. 하지만 모든 토양 시료가 유기물에 대한 질소 및 인의 비율이 적정 C:N:P 비율인 100:10:1-100:10:0.5(MoE, 2007)보다 낮은 것으로 나타나(Table 1) 토양경작 시 영양분, 특히 질소와 인의 추가 주입이 필요할 것으로 판단된다. 또한 현장에서 토양경작 수행 시 외부 환경요인 및 영양염류 농도 조정 등에 따라서 토양의 pH와 수분함량이 변화될 수 있으므로, 추후 필요에 따라 pH 조절과 주기적인 수분공급을 해 주는 것이 정화 효율 향상에 유리할 것으로 판단되었다.

#### 3.2. 미생물 제제 내 미생물 수와 각 제제의 TPH 분해능 시험 결과

총 16개의 미생물 제제 분석 결과, 제제 내 총 종속영양균수, 방향족 탄화수소 분해균수(나프탈렌 분해균수), 지방족 탄화수소 분해균수(파라핀 분해균수)는 각각  $2.4 \times 10^6$ - $9.5 \times 10^{10}$ ,  $1.0 \times 10^6$ - $1.8 \times 10^{10}$ ,  $1.0 \times 10^6$ - $1.7 \times 10^{10} \text{ CFU/mL}$ 이었다. 각 제제에 의해 오염된 토양 내에서의 JP-8 분해능 시험 결과, 모든 제제에서 제제주입 30일 후

**Table 1.** C/N, N/P, C/P ratios for soil samples from the 14 returned U.S. military bases in Korea

Site No.	C/N	N/P	C/P
1	56	55	3072
2	59	29	1723
3	44	21	935
4	18	16	289
5	29	79	2297
6	66	24	1574
7	36	5	190
8	72	20	1463
9	82	9	741
10	220	3	767
11	38	4	148
12	20	19	391
13	21	28	590
14	155	13	2049

**Table 2.** The number of bacteria in the 16 hydrocarbon-degrading bacteria cultures and their TPH degradability test in the model soil contaminated with 10,000 mg/kg JP-8 for 30 days

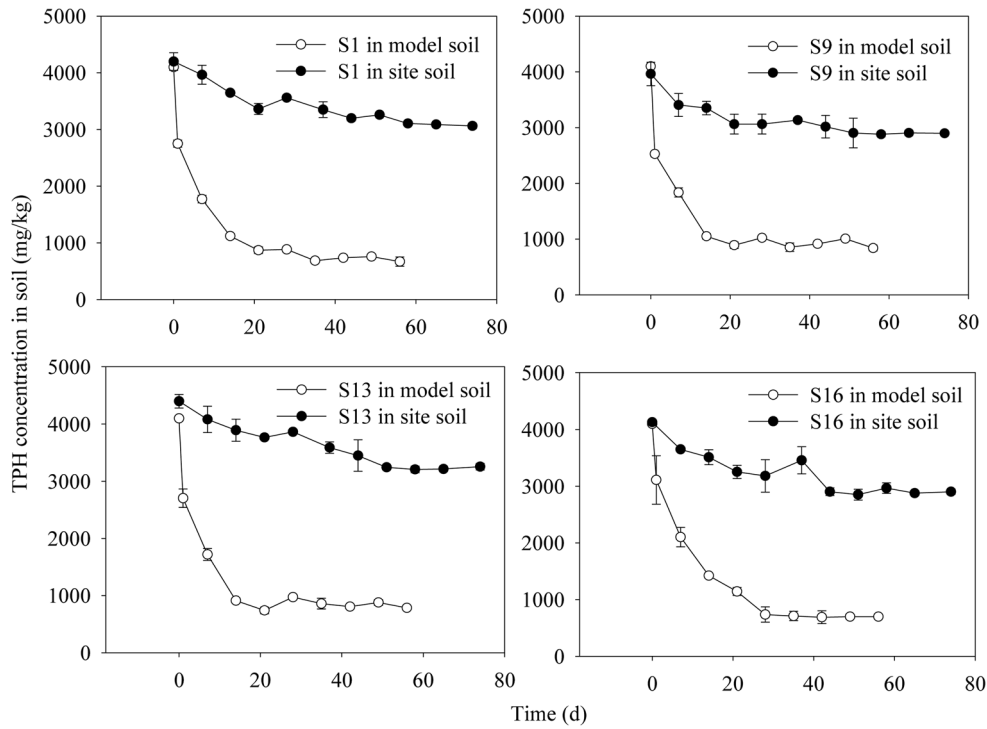
Hydrocarbon-degrading bacteria culture	Total number of bacteria (CFU/mL)	Aliphatic hydrocarbon degrading bacteria (CFU/mL)	Aromatic hydrocarbon degrading bacteria (CFU/mL)	Residual TPH in model soil after 30 d (%)
S1	$1.4 \times 10^{10} \pm 0.5$	$9.4 \times 10^7 \pm 0.6$	$2.4 \times 10^8 \pm 0.6$	66.4 ± 15.04
S2	$2.5 \times 10^8 \pm 0.7$	$3.0 \times 10^8 \pm 0.1$	$2.6 \times 10^8 \pm 0.8$	62.1 ± 11.4
S3	$1.4 \times 10^{10} \pm 0.9$	$1.7 \times 10^{10} \pm 0.5$	$9.5 \times 10^9 \pm 0.7$	50.8 ± 3.81
S4	$4.1 \times 10^{10} \pm 0.2$	$1.0 \times 10^{10} \pm 0.0$	$1.1 \times 10^{10} \pm 0.7$	62.97 ± 15.83
S5	$1.6 \times 10^8 \pm 0.3$	$2.9 \times 10^7 \pm 0.3$	$2.2 \times 10^7 \pm 0.2$	61.97 ± 10.62
S6	$4.1 \times 10^7 \pm 0.1$	$1.2 \times 10^6 \pm 0.3$	$1.3 \times 10^7 \pm 0.1$	62.9 ± 13.7
S7	$5.0 \times 10^8 \pm 0.1$	$4.0 \times 10^7 \pm 0.1$	$3.0 \times 10^8 \pm 0.1$	65.9 ± 11.8
S8	$9.5 \times 10^{10} \pm 0.7$	$1.7 \times 10^9 \pm 0.4$	$1.3 \times 10^{10} \pm 0.2$	66.2 ± 6.96
S9	$1.3 \times 10^{10} \pm 0.4$	$9.5 \times 10^9 \pm 0.7$	$1.8 \times 10^{10} \pm 0.1$	62.6 ± 17.84
S10	$1.8 \times 10^8 \pm 0.3$	$3.6 \times 10^8 \pm 0.6$	$8.5 \times 10^7 \pm 0.2$	53.8 ± 15.77
S11	$2.6 \times 10^8 \pm 0.8$	$2.1 \times 10^8 \pm 0.1$	$2.5 \times 10^8 \pm 0.8$	58.2 ± 9.35
S12	$5.0 \times 10^7 \pm 0.1$	$2.0 \times 10^7 \pm 0.0$	$2.4 \times 10^7 \pm 0.2$	57.9 ± 1.62
S13	$1.0 \times 10^8 \pm 0.1$	$5.0 \times 10^6 \pm 0.1$	$1.2 \times 10^7 \pm 0.2$	51.6 ± 16.44
S14	$2.2 \times 10^8 \pm 0.2$	$1.7 \times 10^8 \pm 0.4$	$4.3 \times 10^8 \pm 0.4$	71.8 ± 8.03
S15	$1.8 \times 10^9 \pm 0.3$	$2.3 \times 10^9 \pm 0.5$	$1.7 \times 10^9 \pm 0.1$	77.8 ± 1.2
S16	$2.4 \times 10^6 \pm 0.1$	$1.0 \times 10^6 \pm 0.1$	$1.0 \times 10^6 \pm 0.1$	64.6 ± 11.43

JP-8의 잔류량은 53-78%이었다. 각 미생물제제 내의 미생물 수와 경작 후 토양 내 TPH 잔류량에 대한 결과는 Table 2에 정리하였다. 이 결과를 통해 각 제제를 주입한 토양 내에서 각 제제 내 미생물들이 토양 내 영양분만을 사용하여 유류를 분해하는 능력이 있음을 확인하였으나 제거율은 모든 제제가 50%를 넘지 못했다. 이는 분해능 시험이 최대 분해능을 발휘할 수 있는 조건이 아닌 토양 내 영양분만 존재하는 조건(최적 경작을 위해 필요한 것보다 질소와 인의 비율이 탄소에 비해 상대적으로 낮은 조건) 하에서 분해능을 확인하였기 때문에 나타난 결과라고 볼 수 있다. 토양 내 평균 TPH 분해율은 62.4 ± 7.0%로 오차 범위가 약 11% 정도 수준으로 분해율에 큰 차이를 보이지 않았는데, 이는 토양 내 초기 미생물 수를 10<sup>8</sup> CFU/g으로 맞춘 후 분해능을 확인하였기 때문이라고 보여진다. 본 연구에서 검증한 미생물 제제 내의 미생물 수는 총균 뿐만 아니라 유류분해균 모두 일정 수준 이상 (> 10<sup>6</sup> CFU/mL)이 존재하였고, 실제 토양경작 시 TPH 분해율과는 관계가 없는 것으로 생각된다. 이보다는 제제 주입 후 토양 내 미생물 수가 더 중요할 것이라고 판단되지만, 이 경우 역시 토양 gram 당 10<sup>6</sup> CFU 이상이면 큰 차이가 없을 것으로 예상된다.

**3.3. 모델토양과 현장오염토양을 사용한 토양경작 시험 결과**  
 JP-8은 대략 방향족 탄화수소 18%와 노말알칸 82%로

구성되어 있으므로(Dietzel et al., 2005), JP-8 기준 5,000 mg/kg 수준으로 오염시킨 토양 내 노말알칸(즉, TPH)의 이론적인 농도는 4,100 mg/kg이라고 추정할 수 있고, 현장에서 채취한 현장오염토양에서 추출된 TPH의 농도는 평균 4,234 ± 6 mg/kg이었다. 모델토양과 현장오염토양을 16개의 미생물 제제를 이용하여 각각 56일(8주)과 74일 동안 토양경작하였고, 그 기간 중 TPH의 분해능을 측정된 결과는 Fig. 1에 정리하였다.

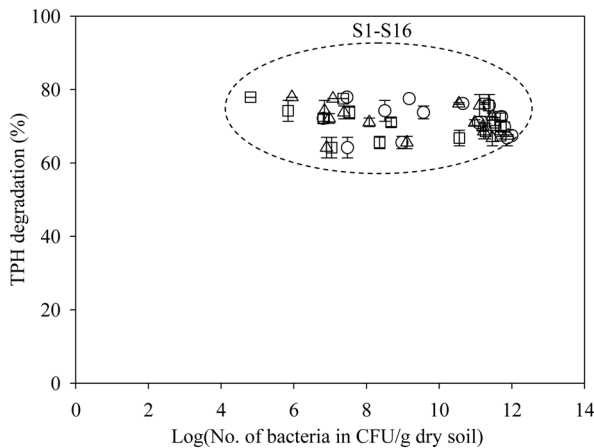
모델토양의 경우, 토양경작 실험 개시 1일 후 토양에서 추출된 TPH의 평균농도는 2,518 ± 7 mg/kg으로 약 38%의 질량 손실이 있었다. 이러한 초기의 급격한 감소는 모두 미생물 제제의 분해능에 의한 것은 아닌 것으로 생각되며, 토양과 JP-8을 혼합하는 단계와 TPH 추출단계 등에서의 휘발에 의한 손실 및 추출효율 등도 그 원인일 것이다. 그러나 이러한 감소 역시 토양경작법 수행과정 중의 일부로 판단하는 것은 타당하다. 또한 모든 제제에서 초기 2주 동안에는 빠른 속도로 약 50% 이상의 TPH가 제거되었고, 2주 이후부터는 느린 속도로 제거되었다. 각 제제별 TPH 분해율(%)과 경작 전후의 균수를 측정된 결과를 Table 3에 정리하였다. 미생물 제제 처리 토양에서 토양경작 기간 동안 제제 주입 직후 초기 토양 내 미생물 수와 상관없이 10<sup>1</sup>-10<sup>6</sup>배 정도 증가되어 총균 뿐 아니라 유류분해균이 10<sup>6</sup>-10<sup>12</sup> CFU/g 존재하고 있었고, 이를 통해 파라핀과 나프탈렌을 탄소원으로 사용하는 지방족과



**Fig. 1.** TPH degradation in the model soil contaminated with 5,000 mg/kg JP-8 and the contaminated site soil during the landfarming treatment after bioaugmentation with different products of petroleum-degrading bacteria (S1, S9, S13, and S16).

**Table 3.** Changes in the number of bacteria and the TPH degradation (%) in the model soil after the 56 days of landfarming treatment and the TPH degradation (%) in the contaminated site soil after 74 days of landfarming treatment

Petroleum-degrading bacteria cultures	Total number of bacteria (CFU/g)		Aliphatic hydrocarbon degrading bacteria (CFU/g)	Aromatic hydrocarbon degrading bacteria (CFU/g)	TPH degradation in model soil (%)	TPH degradation in site soil (%)
	Day 0	Day 56	Day 56	Day 56	Day 56	Day 74
S1	$1.2 \times 10^7 \pm 0.01$	$2.4 \times 10^{11} \pm 0.2$	$1.3 \times 10^{11} \pm 0.4$	$2.3 \times 10^{11} \pm 1.1$	$75.66 \pm 2.98$	$27.05 \pm 4.58$
S2	$1.4 \times 10^7 \pm 0.01$	$4.5 \times 10^{10} \pm 0.2$	$3.5 \times 10^{10} \pm 0.4$	$1.8 \times 10^{11} \pm 0.1$	$76.20 \pm 0.23$	$30.75 \pm 2.98$
S3	$6.6 \times 10^7 \pm 1.7$	$1.5 \times 10^{11} \pm 0.1$	$1.2 \times 10^8 \pm 0.0$	$4.8 \times 10^8 \pm 0.3$	$71.09 \pm 1.15$	$22.07 \pm 5.50$
S4	$7.0 \times 10^7 \pm 0.3$	$5.2 \times 10^{11} \pm 0.4$	$2.9 \times 10^{11} \pm 0.3$	$4.8 \times 10^{11} \pm 1.1$	$72.60 \pm 0.99$	$27.32 \pm 1.95$
S5	$4.1 \times 10^5 \pm 0.3$	$6.2 \times 10^{11} \pm 0.6$	$1.7 \times 10^{11} \pm 0.1$	$1.9 \times 10^{11} \pm 0.6$	$68.61 \pm 2.05$	$23.84 \pm 9.65$
S6	$6.4 \times 10^6 \pm 2.3$	$9.5 \times 10^8 \pm 0.4$	$1.3 \times 10^9 \pm 0.5$	$2.3 \times 10^8 \pm 0.7$	$65.57 \pm 1.67$	$24.65 \pm 3.26$
S7	$1.3 \times 10^7 \pm 0.4$	$3.0 \times 10^7 \pm 0.4$	$8.0 \times 10^6 \pm 0.5$	$1.1 \times 10^7 \pm 0.1$	$64.18 \pm 2.81$	$26.32 \pm 7.61$
S8	$3.5 \times 10^7 \pm 0.2$	$1.0 \times 10^{12} \pm 0.1$	$7.9 \times 10^{11} \pm 1.2$	$4.9 \times 10^{11} \pm 1.2$	$67.44 \pm 0.22$	$27.84 \pm 1.16$
S9	$4.1 \times 10^6 \pm 0.1$	$7.4 \times 10^{11} \pm 0.4$	$2.9 \times 10^{11} \pm 0.1$	$3.6 \times 10^{10} \pm 0.1$	$66.79 \pm 2.12$	$26.88 \pm 1.95$
S10	$3.6 \times 10^4 \pm 0.6$	$3.2 \times 10^8 \pm 0.1$	$7.0 \times 10^6 \pm 0.4$	$7.0 \times 10^5 \pm 0.4$	$74.21 \pm 2.84$	$31.14 \pm 2.44$
S11	$1.3 \times 10^7 \pm 0.5$	$6.3 \times 10^{11} \pm 0.5$	$1.6 \times 10^{11} \pm 0.2$	$5.0 \times 10^{11} \pm 0.4$	$69.86 \pm 1.24$	$26.08 \pm 5.75$
S12	$1.8 \times 10^5 \pm 0.5$	$6.5 \times 10^6 \pm 0.4$	$9.5 \times 10^6 \pm 0.7$	$6.5 \times 10^6 \pm 0.5$	$72.13 \pm 1.31$	$27.96 \pm 1.61$
S13	$9.9 \times 10^6 \pm 0.1$	$1.2 \times 10^{11} \pm 0.3$	$9.5 \times 10^{10} \pm 1.1$	$3.4 \times 10^{11} \pm 0.2$	$70.97 \pm 0.79$	$25.99 \pm 5.20$
S14	$1.2 \times 10^8 \pm 0.3$	$3.7 \times 10^9 \pm 0.8$	$2.4 \times 10^7 \pm 0.1$	$3.4 \times 10^7 \pm 0.4$	$73.77 \pm 1.75$	$27.64 \pm 6.52$
S15	$8.3 \times 10^5 \pm 0.4$	$2.9 \times 10^7 \pm 0.1$	$8.9 \times 10^5 \pm 0.2$	$6.5 \times 10^4 \pm 0.4$	$77.91 \pm 0.01$	$29.85 \pm 6.07$
S16	$5.6 \times 10^6 \pm 0.6$	$1.4 \times 10^9 \pm 0.2$	$1.2 \times 10^7 \pm 0.1$	$2.3 \times 10^7 \pm 0.3$	$77.53 \pm 0.02$	$29.67 \pm 3.83$



**Fig. 2.** Relationship between the number bacteria at the end of the landfarming treatment and the TPH degradation during the landfarming treatment in the model soil with the initial TPH concentration of 4,100 mg/kg. ○: Heterotrophic aerobic bacteria, □: Aromatic-degrading bacteria, △: Aliphatic-degrading bacteria.

방향족 탄화수소 분해 미생물이 유류오염토양 내에서 정상적으로 활동하고 있음을 알 수 있었다. 모델토양을 이용한 토양경작 후의 총균수가  $10^6$ - $10^{12}$  CFU/g의 범위에 있는 반면 TPH 분해율은 평균  $71.5 \pm 4.2\%$ 로 모든 제제가 비슷한 수준의 분해율을 보여 주어, TPH 분해는 미생물 수와 관련이 없는 것으로 나타났다(Fig. 2). 대조군의 경우, 평균 38.5%의 TPH 분해율을 보였고, 잔류 TPH 농도는 평균 1577 mg/kg으로 제제를 적용한 모델오염토양(잔류 TPH 농도: 평균 762 mg/kg)에 비해 분해 정도가 현저히 낮았다. 각 미생물 제제에 의한 토양 내 미생물 수 증가의 차이는 주입 전 제제 내 미생물 수의 차이(Table 1), 업체에서 규격한 최대 분해능을 발휘할 수 있는 제제 주입 방법의 차이, 미생물 군집의 차이로 인한 오염물질의 미생물에 대한 독성 영향의 차이, 미생물의 토양 내 생태적 지위 형성 정도의 차이(Postma et al., 1990) 등에 의한 것으로 볼 수 있다.

현장토양의 경우, 미생물 제제 주입을 통해 토양 내 총균수를 최소  $10^6$  CFU/g 이상으로 조절하였으나 모델토양에 비해 전반적으로 분해율( $27.2 \pm 2.5\%$ )이 낮았다. 이는 미생물의 문제라기 보다는 오랜 오염기간 동안 유류오염물질이 토양 유기물로 또는 공극 속으로 흡착 또는 이동하는 숙성(aging) 현상에 의한 것이라 볼 수 있다. 오염 초기 휘발(또는 쉽게 분해되는 것들) 후, 상대적으로 분해가 어려운 물질의 부분들(fractions)이 잔류하고 있을 가능성에 의한 것이라 볼 수도 있다.

토양경작법을 사용한 유류오염 토양정화 실험 결과, 주

어진 경작 기간 후 모델토양에서는 20-30%의 TPH 잔류량이 있었고, 현장오염토양에서는 70-80%의 TPH 잔류량이 있었다. 또한,  $10^6$  CFU/g 이상의 미생물 수를 가지고 있는 토양에서의 유류분해는 미생물 수와는 직접적인 관계가 없는 것으로 나타나, 모두 일정 수준 이상의 유류분해능을 보유하고 있는 미생물 제제를 주입하여 토양경작을 할 경우, 일정 수준 이상(본 연구 결과를 바탕으로는  $10^6$  CFU/g)의 미생물 수를 가지는 토양에서 미생물 수만으로 유류분해 효과를 판단하는 것은 부적절한 것으로 판단된다. 물론, 토양경작 적용을 위한 미생물 수로  $10^6$  CFU/g은 권장하는 값이지만, 이보다 적은 미생물 수( $\geq 10^3$  CFU/g)에서도 가능하다고 알려져 있다(MoE, 2007). 하지만 본 연구에서는 미생물 제제 주입을 통해 토양 내 미생물 수가 증가할 것으로 판단하고 토양 내 미생물 수를  $10^6$  CFU/g 이상 수준으로 유지하여 경작법의 적용 용이성을 살펴보았다.

본 연구의 모델오염토양 처리 결과에 따르면 모든 미생물 제제는 일정 수준 이상의 유류분해능을 보이고 있었으나, 현장오염토양에 적용하였을 경우 분해능이 20-30%로 미비하였다. 따라서, 본 연구에서 적합성 판별을 위해 사용한 16개의 미생물 제제를 현장오염토양의 경작에 적용할 경우, 미생물 제제의 주입량 증가를 통한 미생물 수 증가보다는 제제 내 유류분해능이 높은 미생물만을 선별 후 주입 또는 토양 내 토착 미생물의 동정을 통한 선별 및 배양 후 주입을 통해 토양경작의 효율을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 또한 유류분해능이 높은 미생물의 주입 외에도 영양분 등의 주입을 통해 토착 미생물에 의한 오염물질 분해를 향상시킬 수 있는 환경 조성 등이 필요하다(Harmsen et al., 2007; Schroll et al., 2004). 또 적절한 환경 조성을 통해 토착 미생물의 분해능을 향상시킬 수 있다면, 분해능 향상을 목적으로 하는 미생물 제제와 같은 외부 미생물 주입을 피할 수 있다(Vincent et al., 2011). 분해능이 높은 토착 미생물이 존재하지 않을 경우, 특정 오염물질에 적응하여 분해능이 높은 외부 미생물을 주입하여 오염 토양 내 오염물질 분해를 향상시킬 수 있으나(Schroll et al., 2004), 주입한 미생물의 환경 조건에의 적응 및 다른 미생물과의 경쟁에서의 생존 등이 필요하다(Riser-Roberts, 1998). 따라서 분해능이 높은 미생물을 주입하는 생물증진법과 특정 오염물질과 환경조건에 적응한 토착 미생물의 사용을 접목하여 분해능이 뛰어난 토착 미생물을 추출하여 농축시킨 후 오염토양 내로 다시 주입하면(Odokuma and Dickson, 2003), 외부 주입 미생물에 비해 환경 조성 필요가 크지 않아 특정 오염물

질 분해능 향상에 더 유리할 것이다. 하지만 토양 내 유류분해능이 낮은 토착 미생물이 이미 존재하거나 우선적으로 주입된 미생물이 생태적 지위를 형성하는 경우, 추후 주입된 미생물은 이미 존재하는 미생물과 경쟁하여 생태적 지위를 형성하기 어렵게 된다(Compeau et al., 1988). 따라서, 미생물을 주입하는 경우, 토양 내 토착 미생물과의 경쟁에서 살아남을 수 있는 생태적 지위를 형성할 수 있는 조건을 조성하는 것이 중요하다(Postma et al., 1990). 또한, 미생물 주입 시 미생물 제제를 먼저 운반체 역할을 할 수 있는 clay 등과 같은 물질에 부착시켜 오염 지역에 주입하는 것도 분해효율을 높일 수 있는 한 가지 방법이다(Veen et al., 1997; Wang et al., 2010).

대부분의 국내 유류오염토양 정화현장에서 유류로 토양 경작법을 실시하는 것으로 파악되고 있고(MoE, 2010), 토양경작법의 기술적 또는 지역적 적용에 한계가 존재할 경우 다른 공정과의 연계를 통한 정화효율 향상 노력이 계속되고 있다. 예를 들어, 계면활성제와 산화제 주입을 통해 토양으로부터 TPH를 제거한 후 오염물질 분해균을 접종하여 TPH 제거효율을 높일 수 있음을 보고한 바 있다(Bae et al., 2011). 따라서, 현장오염토양과 같이 오랜 시간이 흘러도 생물학적 방법으로 정화되지 않고 잔류하는 오염물질의 비율이 높을 것으로 예상되는 경우, 잔류오염물질의 효율적인 제거를 위해 토양경작법과 경작 전처리 또는 후처리로 화학적산화법을 연계하여 오염 토양의 처리 효율을 높일 수 있을 것으로 보인다.

#### 4. 결 론

본 연구 결과를 통해 토양경작에 사용한 16개의 미생물 제제가 유류오염물질로 오염된 토양 처리를 위한 토양경작법에 적합함을 확인하였으나, 현장오염토양에서는 모델 오염토양에서와 같이 비생물학적 요소에 의해 신속한 오염물질 감소가 적으므로 현장오염토양 처리 시, 토양경작 효율 향상을 위한 노력이 필요함을 확인하였다. 또한 본 연구에서 사용한 미생물 수 범위에서의 TPH 분해율 결과에 따르면,  $10^6$  CFU/g 이상의 미생물이 존재할 경우 토양경작법에 의한 유류오염 토양정화는 미생물 수에는 영향을 받지 않음을 확인하였다. 따라서 토양경작의 효율을 높이기 위해서는 미생물 수를 증가시키는 것보다는 유류분해능이 뛰어난 미생물을 사용하고, 이들이 활발한 활동을 할 수 있는 환경 조건을 조성해 주는 것이 더 중요하다. 더 나아가 토양 내 토착 미생물 중에서 유류분해능이 뛰어난 미생물을 선별하여 배양한 뒤 다시 토양으로 주입하

여 유류 분해에 사용하거나 또는 연계공정을 통해 효율을 높이는 것이 이상적인 토양경작법일 것이라 판단된다.

#### 사 사

본 연구를 위해 주한반환미군기지 오염토양을 제공해준 국방부, 한국환경관리공단과 유류분해용 미생물제제를 공급해준 업체에 감사드립니다. 또한, 서울대학교공학연구소의 기술적 지원에도 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- Alexander, M., 1994, Biodegradation and Bioremediation, Academic Press, San Diego, CA, 302 p.
- Bae, J.-S., Kim, J.-H., Choi, J.-H., Ekpeghere, K., Kim, S.-G., and Koh, S.-C., 2011, Efficient remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils through sequential Fenton oxidation and biological treatment processes, *Korean J. Microbiol.*, **47**(4), 356-363.
- Benyahia, F., Abdulkarim, M., Zekri, A., Chaalal, O., and Hasanain, H., 2005, Bioremediation of crude oil contaminated soils: A black art or an engineering challenge?, *Process. Saf. Environ.*, **83**(B4), 364-370.
- Compeau, G., Al-Achi, B.J., Platsouka, E., and Levy, S.B., 1988, Survival of rifampin-resistant mutants of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* in soil systems, *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(10), 2432-2438.
- Dietzel, K.D., Campbell, J.L., Bartlett, M.G., Witten, M.L., and Fisher, J.W., 2005, Validation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the quantification of aerosolized jet propellant 8, *J. Chromatogr. A*, **1093**(1-2), 11-20.
- Harmsen, K., Rulkens, W.H., Sims, R.C., Rijtema, P.E., and Zweers, A.J., 2007, Theory and application of landfarming to remediate polycyclic aromatic hydrocarbons and mineral oil-contaminated sediments; Beneficial reuse, *J. Environ. Qual.*, **36**(4), 1112-1122.
- Halvorson, J.J., Smith, J.L., and Franz, E.H., 1991, Lupine influence on soil carbon, nitrogen and microbial activity in developing ecosystems at Mount St. Helens, *Oecologia*, **87**(2), 162-170.
- Jackson, M.L., 1958, Soil Chemical Analysis, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 498 p.
- Jones, Jr., J.B., 1999, Soil Analysis Handbook of Reference Methods, CRC Press, Boca Raton, FL, 264 p.
- Lee, L.S., Hagwell, M., Delfino, J.J., and Rao, P.S.C., 1992, Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel fuel into water, *Environ. Sci. Technol.*, **26**(11), 2104-2110.



- Li, G., Huang, W., Lerner, D.N., and Zhang, X., 2000, Enrichment of degrading microbes and bioremediation of petrochemical contaminants in polluted soil, *Wat. Res.*, **34**(15), 3845-3853.
- Margesin, R. and Schinner, F., 1998, Low-temperature bioremediation of a waste water contaminated with anionic surfactants and fuel oil, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**(4), 482-486.
- Ministry of Environment (MoE), 2007, Guideline for Contaminated Soils Remediation, Ministry of Environment, 214 p.
- Ministry of Environment (MoE), 2010, Standards and Competitiveness Development Plans for Vitalizing Soil Remediation Industries, Ministry of Environment, 558 p.
- Odokuma, L.O. and Dickson, A.A., 2003, Bioremediation of a crude oil polluted tropical rain forest soil, *Glob. J. Environ. Sci.* **2**(1), 29-40.
- Postma, J., Hok-Hin, A.C.H., and Van Veen, J.A., 1990, Role of microniches in protecting introduced *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* against competition and predation in soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**(2), 495-502.
- Reasoner, D.J. and Geldreich, E.E., 1985, A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**(1), 1-7.
- Riser-Roberts, E., 1998, Remediation of petroleum contaminated soils (biological, physical and chemical process), Lewis Publishers, Boca Raton, 542 p.
- Schroll, R., Brahushi, F., Dörfler, U., Kühn, S., Fekete, J., and Munch, J.C., 2004, Biomineralisation of 1,2,4-trichlorobenzene in soils by an adapted microbial population. *Environ. Pollut.*, **127**(3), 395-401.
- Trindade, P.V.O., Sobral, L.G., Rizzo, A.C.L., Leite, S.G.F., and Soriano, A.U., 2004, Bioremediation of weathered and recently oil contaminated soils from Brazil: a comparison study, *Chemosphere*, **58**(4), 515-522.
- Van Veen, J.A., Van Overbeek, L.S., and Van Elsas, J.D., 1997, Fate and activity of microorganisms introduced into soil, *Microbiol. Mol. Biol. R.*, **61**(2), 121-135.
- Vincent, A.O., Felix, E., Weltime, M.O., Ize-iyamum, O.K., and Daniel, E.E., 2011, Microbial degradation and its kinetics on crude oil polluted soil, *Res. J. Chem. Sci.*, **1**(6), 8-14.
- Wang, F., Dörfler, U., Schmid, M., Fischer, D., Kinzel, L., Scherb, H., Much, J.C., Jiang, X., and Schroll, R., 2010, Homogenous inoculation vs. microbial hot spots of isolated strain and microbial community: What is the most promising approach in remediating 1,2,4-TCB contaminated soils?, *Soil Biol. Biochem.*, **42**(2), 331-336.