

## 펜톤산화 및 생물학적 연속처리를 통한 유류오염토양의 효율적 처리

배재상<sup>1</sup> · 김종향<sup>2</sup> · 최정혜<sup>1</sup> · 칼루 이베 엑페게어<sup>1</sup> · 김수곤<sup>3</sup> · 고성철<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국해양대 환경공학과, <sup>2</sup>경남보건환경연구원, <sup>3</sup>큐엔솔루션(주)

## Efficient Remediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soils through Sequential Fenton Oxidation and Biological Treatment Processes

Jae-Sang Bae<sup>1</sup>, Jong-Hyang Kim<sup>2</sup>, Jung-Hye Choi<sup>1</sup>, Kalu I. Ekpeghere<sup>1</sup>,  
Soo-Gon Kim<sup>3</sup>, and Sung-Cheol Koh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Korea Maritime University, Busan 606-791, Republic of Korea

<sup>2</sup>Institute of Health & Environment at Gyeongnam Provincial Government Changwon 641-702, Republic of Korea

<sup>3</sup>QENSolution, Inc., Ulsan 689-852, Republic of Korea

(Received November 22, 2011 / Accepted December 9, 2011)

The accidental releases of total petroleum hydrocarbons (TPH) due to oil spills frequently ended up with soil and ground water pollution. TPH may be degraded through physicochemical and biological processes in the environment but with relatively slow rates. In this study an attempt has been made to develop an integrated chemical and biological treatment technology in order to establish an efficient and environment-friendly restoration technology for the TPH contaminated soils. A Fenton-like reaction was employed as a preceding chemical treatment process and a bioaugmentation process utilizing a diesel fuel degrader consortium was subsequently applied as a biological treatment process. An efficient chemical removal of TPH from soils occurred when the surfactant OP-10S (0.05%) and oxidants (FeSO<sub>4</sub> 4%, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5%) were used. Bioaugmentation of the degrader consortium into the soil slurry led to an increase in their population density at least two orders of magnitude, indicating a good survival of the degradative populations in the contaminated soils (10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> CFU/g slurry). TPH removal efficiencies for the Fenton-treated soils increased by at least 57% when the soils were subjected to bioaugmentation of the degradative consortium. However, relatively lower TPH treatment efficiencies (79-83%) have been observed in the soils treated with Fenton and the degraders as opposed to the control (95%) that was left with no treatment. This appeared to be due to the presence of free radicals and other oxidative products generated during the Fenton treatment which might inhibit their degradation activity. The findings in this study will contribute to development of efficient bioremediation treatment technologies for TPH-contaminated soils and sediments in the environment.

**Keywords:** bioaugmentation, diesel fuel, Fenton oxidation, polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE), total petroleum hydrocarbons (TPH)

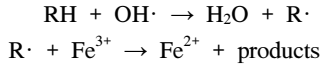
현재 국내에서는 유류오염토양 정화를 위한 기술로 화학적 처리를 선택하여 처리를 하고 있다. 화학적 처리는 처리공정에 적합한 다양한 화학제품을 사용하여 신속하고 다량의 오염물질들을 제거할 수 있는 이점을 가지고 있다. 널리 사용하는

화학적 처리로는 토양세척, 펜톤 유사반응 및 계면활성제를 사용하여 유류오염토양을 처리하고 있다. 화학적 처리 방법인 펜톤 유사반응을 사용하여 부유 유기물과 오염된 토양을 처리할 수 있다. 이 기법은 과산화수소의 반응메커니즘을 통하여 강력한 산화제인 hydroxyl radical (OH·)을 형성하여 촉매반응을 할 수 있다(7).

\* For correspondence. E-mail: skoh@hhu.ac.kr; Tel.: +82-51-410-4418; Fax: +82-51-410-4415



유기화합물의 경우 위의 반응기작은 아래의 반응을 수행하게 된다.



이러한 연구들은 과산화수소 분해력인 펜톤 반응의 원리를 기초한 것으로 철분 또는 다른 변화된 요소들이 촉매작용을 한다(5). 강력한 hydroxyl radical의 과산화수소 분해는 유기화합물의 확산속도를 조절하여 비특이성 산화반응을 한다(6). 토양은 칩철광, 적철광, 또는 자철광과 같은 광물산화물(oxyhydroxide minerals)를 포함하고 있으므로 오염지역에서 이러한 천연광물들은 과산화수소 주입 시 펜톤과 같은 촉매반응을 한다(12). 이러한 반응기작을 통하여 오염된 토양으로부터 유류 및 중금속 오염토양을 정화할 수 있다. 그러나 강력한 산화제인 만큼 생물학적 기법과의 동시 적용면에서 다수의 제한적 요소를 가지고 있다. 산화제처리에 의한 토양환경의 물리화학적 변화와 토착생물(토양 동물 및 미생물 등)의 사멸로 인하여 토양의 비옥도가 감소되고 토양고유의 정화능력이 저감될 가능성이 높다.

토양 slurry 생물반응기는 오염물질의 생분해를 촉진하기 위한 비생물적 조건을 최적화하는 과정이다(11). 이 반응기는 토양을 여러 비율로 물에 혼합하여 분해미생물, 오염물질(탄화수소 등), 영양물질 및 산소 등을 서로 최대한 접촉하게 함으로서 처리효율을 높이게 한다(9, 15). 저질토양의 유기성 오염물질은 그들이 생물이용성(bioavailability)이 낮을 경우 처리효율이 낮다는 사실이 보고되고 있다(8, 14). 토양 slurry 생물반응기의 장점은 토양수분이 충분하므로 오염물질의 생물이용성을 증가시킬 수 있다(13). 또한 처리가 자동 운전되는 반응기에 의해 진행이 되므로 토양과 같은 고형폐기물 처리에 비해서 처리효율이 일정하다는 장점이 있다(4).

현재 유류로 오염된 토양은 물리, 화학, 생물학적 방법을 사용하여 정화 및 복원을 하고 있다. 화학적 처리는 오염된 토양이나 지하수에 직접적으로 주입하여 처리하는 방식으로 고농도로 오염된 토양을 정화할 시 높은 효율을 가진다. 그러나 이러한 화학적 처리는 토양에 직접 처리를 하였을 경우 토양에서 많은 비특이적 화학작용을 일으켜 추가적인 문제점들을 유발시킬 수 있다. 더구나 생물학적 공법과 통합하여 처리할 경우 토양 pH의 감소로 인한 토착미생물의 생장억제를 유발시키고, 화학약품에 의한 필요 이상의 영양분 공급으로 인하여 토양환경에 부작용을 일으킬 수 있다. 또한 화학약품과 토양 속에 존재하는 미량의 금속들과 반응이 일어날 수 있어 중금속에 의한 오염을 야기시킬 수 있다(10). 생물학적 처리는 오염물질을 호기성 또는 혐기성 조건에서 미생물의 생화학적 대사과정을 통하여 토양, 물, 그리고 가스 등으로부터 환경오염물질을 분해할 수 있다(1, 2, 10). 그러나 고농도의 오염물질에는 독성작용으로 인하여 적용하기가 어렵고, 생분해반응이 비교적 느리게 진행되므로 처리시간에 따른 문제점이 발생

하게 된다. 현재 오염토양 정화에 대한 연구는 화학적 및 생물학적 기술들의 개별적인 적용으로 인해 각 기술의 장점을 최대한으로 활용을 못하고 있는 실정이다. 따라서 대표적인 오염토양 정화기술들의 통합적 적용을 통하여 정화효과는 상승시키고 환경에의 부담을 저감시킬 수 있는 기술의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서는 유류로 오염된 토양을 화학적 처리로서 펜톤유사 산화반응을 1차로 거친 토양을 연속적으로 우수 유류 분해균을 활용한 생물학적 처리(bioaugmentation)를 실시하여 고농도TPH의 신속한 제거와 TPH분해균에 의한 잔류 TPH의 효율적 제거와 아울러 토양생태계회복이 이루어짐으로써 신속한 환경친화적 토양정화 및 회복기술을 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 오염토양시료의 채취

본 연구에 사용된 토양시료는 휘발유 및 디젤유 등으로 오염된 김해시의 A주유소 토양으로서 표층 약 60 cm 깊이의 토양을 채취하여 사용하였다. 채취된 토양은 실온의 음지에서 2-3일 풍건한 후 적절히 마쇄한 후 2.38 mm의 체(8 mesh)를 통과시켜 사용하였다.

### TPH 추출 및 농도의 측정

본 연구에서는 토양시료내의 복합유류오염물질을 총칭하여 총석유계탄화수소(total petroleum hydrocarbon: TPH)로 명명하였다. 일반적으로 slurry 토양의 경우 시료(5 g)를 40 ml vial (National Scientific Company, USA)에 5 g을 취한 후 실온에서 24시간 건조를 시켰다. 이후 시료의 잔류 수분을 제거하기 위하여 시료의 중량비 1.5배의 무수황산나트륨(Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>)을 첨가하여 혼합하였다. 수분이 제거된 시료에 아세톤과 헥산을 1:1 비율로 혼합한 액을 10 ml주입한 후 2 min간 혼합하여 12시간 정치시켰다. 이후 상등액을 screw cap vial (Agilent, USA)에 1 ml씩 분주를 하여 경남환경보건연구소(창원)에 분석 의뢰를 하였다. TPH 분석은 GC-FID [Agilent Technologies 6890 Network System; HP-5 capillary column (50 m×0.2 mm×0.33 μm)]로 실시하였다. 상세한 분석은 이전의 보고(3)에 따라서 진행하였으며, 분석조건을 간단히 언급하면 80°C에서 2분간 머문 후 8°C/min로 승온시켜 최종온도 320°C에서 10분간 정지하였다. 이때 주입기와 검출기의 온도는 각각 300°C와 320°C로 설정하였다. Carrier gas는 질소를 사용했으며, 주입량은 1 μl였다.

### 효율적 펜톤유사 반응을 위한 계면활성제 선별

큐엔솔루션사에서 9 종의 다양한 상용계면활성제(surfactants)를 제공받아 이들 중 본 오염토양에 적절한 계면활성제를 선정하고자 하였다. 선정을 위한 펜톤유사 반응(화학적 처리)은 우선 펜톤 산화보조제인 FeSO<sub>4</sub> 4% (w/w)와 수용액 상태로 만든 계면활성제 5% (또는 10%)를 처리토양 대비 10% (w/w) 수준으로 주입하여 실온 (25°C)에서 30분 이상 충분히

**Table 1.** Experimental conditions for optimal Fenton-like reaction to remove TPH from the contaminated soil using representative surfactants

Treatment	Conditions*	Surfactant
1	Control (no treatment)	None
2	FeSO <sub>4</sub> 4% + surfactant 0.05% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05%	OP-1015
3	FeSO <sub>4</sub> 4% + surfactant 0.05% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05%	LX-CONC

\* %, w/w

토양과 반응시켰다. 이후 산화제인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5%와 수용액 상태로 만든 계면활성제 5% (또는 10%)를 추가로 주입하여 충분히 혼합한 후 실온 (25°C)에서 24시간 동안 방치시켰다. 각 계면활성제 처리구는 3회 반복으로 하여 실험을 수행하였다.

### 선정 우수계면활성제 및 적정 펜톤유사반응조건에서의 효율적 TPH 분해실험

선발된 계면활성제인 OP-1015 (octylphenyl ether) 및 LX-CONC는 동남합성(주)(인천)에서 구입하였으며, 효율적인 TPH 분해를 위한 펜톤유사반응(Fenton-like reaction) 조건 중 적정 계면활성제 및 펜톤 산화보조제 농도 및 처리량을 결정한 후 적정 펜톤유사반응 조건에서 효율적 TPH 분해실험을 통하여 처리효율을 파악하고자 하였다. 실험조건은 Table 1에 제시하였다.

### Bioaugmentation용 TPH 분해 혼합균 분리

농화배양기법(enrichment)을 이용하여 유류오염토양으로부터 TPH 분해미생물군집을 분리하였다. 사용한 배지는 Bushnell-Haas (BH)로서 그 배지조성은 아래와 같다: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1 g/L), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1 g/L), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (1 g/L), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.2 g/L), FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.083 g/L), 및 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0.02 g/L); pH 7.0 ± 0.2. 본 배지를 250 ml 삼각 플라스크에 100 ml 채운 후 샘플토양 5 g을 넣고 단일 탄소원으로 시중판매 경우 50 µl를 첨가한 후 27°C 진탕항온기 (190 rpm)에서 1주일 간격으로 계대배양하였고 이를 4회 연속적으로 실시하였다(4주). 4주째 배양한 배양액 100 µl를 BH agar에 도말한 후, 우점화 TPH 분해균주를 순수배양을 통하여 분리하고 계수하였다. 본 4주째 배양액은 향후 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> (CFU/g soil slurry)의 농도로 토양슬러리에 처리하여 bioaugmentation 실험에 이용하였다.

### 총중속영양세균 및 TPH 분해세균 밀도측정

화학적 처리 및 생물학적 처리를 거친 토양시료를 채취하여 총중속영양세균 밀도를 생균수계수법(viable count)을 이용하여 측정하였다. 생균수측정은 복합배지 TSA (tryptic soy agar) 1/5 strength 배지를 이용하여 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> 및 10<sup>-5</sup>으로 희석하여 도말하되 2회 반복으로 수행하였다. 또한 같은 시료에 대해서 TPH 분해세균 밀도를 측정하였는데, Bushnell-Haas 배지를 이용하였으며 역시 생균수계수법을 이용하여 수행하였다(3). 즉 시료를 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>으로 희석, 도말하여 2회 반복 실험

**Table 2.** Conditions for the sequential chemical and biological treatment for the TPH-contaminated soils using two different Fenton-like reactions

Treatment	Conditions*
Control 1	No treatment
Control 2	Autoclaved (121°C, 15 min)
Treatment 1	FeSO <sub>4</sub> 4% + OP-1015 0.05% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5% + OP-1015 0.05%
Treatment 2	FeSO <sub>4</sub> 4% + Tween 80 0.05% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5% + Tween 80 0.05%

\* %, w/w; the enriched diesel fuel degraders were inoculated at a 10% level of the soil slurry when the biological treatment was performed.

을 수행하였다.

### TPH 오염토양의 화학적/생물학적 통합처리 및 미생물군집 확인

본 연구에서 수행한 적정 화학처리조건은 TPH 오염토양 150 g에 대해 실시하였으며 실험조건은 계면활성제의 경우 상기 실험으로 선발된 OP-1015와 대조구로서 Tween 80을 사용하였다. 각 실험구는 3회 반복실험을 수행하였으며 구체적인 처리조건을 Table 2에 제시하였다.

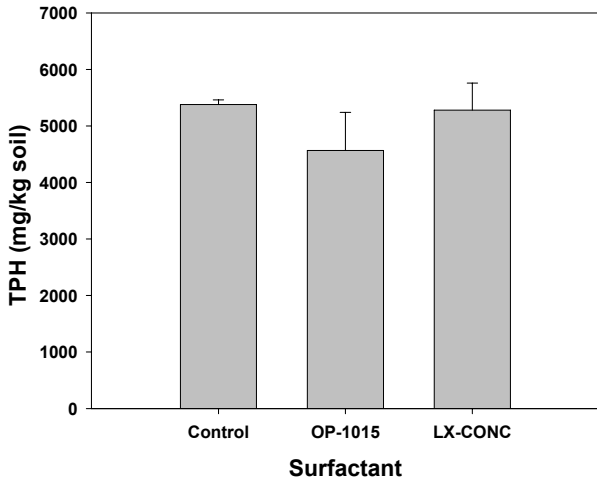
상기 실험에서 화학적으로 처리된 토양을 연속하여 TPH 분해 미생물 군집을 이용한 생물학적 처리를 시도하였다. 우선 처리대상 토양을 BH 배지로 12.5% slurry 상태로 만든 다음, 1 M NaOH로 pH를 7.2로 조정 후 분해혼합미생물을 접종하였다(10<sup>8</sup> CFU/g soil). pH 조정은 시료혼합의 편의성을 위하여 증류수 10% 추가 후 실시하였다. pH가 조정된 각 시료토양에 배양한 혼합미생물을 접종한 후 4주 동안 반응을 모니터링하였다(단, 대조구의 경우 같은 농도의 조건을 맞추기 위하여 증류수를 첨가). 미생물 성장조건을 맞추기 위하여 매주 slurry의 10% 농도로 유류분해 미생물을 접종하였으며, C:N:P=100:15:1 (10)의 비율로 영양원을 첨가하였다. 질소원은 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 인은 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 탄소원의 함량은 디젤유에 함유된 TPH 농도(4,000 mg/L slurry)를 기준으로 계산하였다.

처리과정 중의 미생물군집변화 확인은 이전의 보고된 PCR-DGGE 기법(3)에 따라서 실시하였으며 본 연구에서는 DGGE의 band profile을 확인하여 미생물의 군집다양성을 확인하고자 하였다.

## 결과 및 고찰

### 계면활성제가 유류로 오염된 토양의 화학적 처리에 미치는 영향

9종의 다양한 상용 계면활성제를 토양의 화학적 처리시 적용한 결과 상대적으로 가장 높은 처리효율을 나타낸 제품은 LX-CONC으로 나타났다(본 연구팀의 미발표자료). 또한 LX-CONC과 또 다른 상용 계면활성제 (OP-1015)를 비교 실험하였다(Fig. 1). 이 실험의 경우 LX-CONC은 약 2%의 분해촉



**Fig. 1.** Removal of soil TPH through the Fenton-like reaction utilizing the two representative surfactants. The reaction conditions were: FeSO<sub>4</sub> 4% (w/w) + surfactant 0.05% and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05%.

진효과를 보였으나 OP-1015의 경우 약 15%의 분해촉진효과를 나타내었다. 여기서 통계적으로 유의한 수준으로 차이를 보이지 않았으나 향후 화학적, 생물학적 통합처리실험에서는 대표적 계면활성제로서 OP-1015를 사용하였다.

또한 펜톤산화제 처리 농도에 따른 TPH 분해효율을 비교한 결과 펜톤산화제[FeSO<sub>4</sub> 4% + surfactant 0.05% 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05% (w/w) 순차적으로 처리]의 농도가 5%일 때와 10%일 때 분해율의 차이는 거의 나지 않았다. 따라서 적정 펜톤산화제 농도는 4-5%로 조정하여 실험을 수행하였으며 구체적인 펜톤산화 조건은 아래와 같았다. 즉 처리 토양대비 FeSO<sub>4</sub> 4% + surfactant 0.05%를 잘 혼합한 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05% (w/w)를 30분간 연속적으로 처

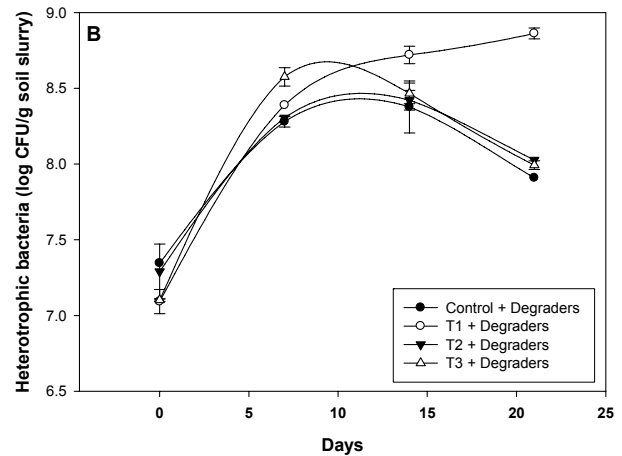
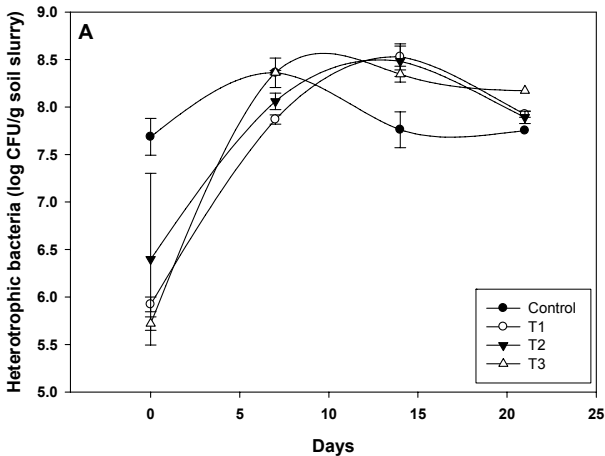
리한 후 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% + surfactant 0.05% (w/w)를 24시간 추가처리를 실시하였다.

**화학적 및 생물학적 통합처리 시 총중속영양세균 밀도변화**

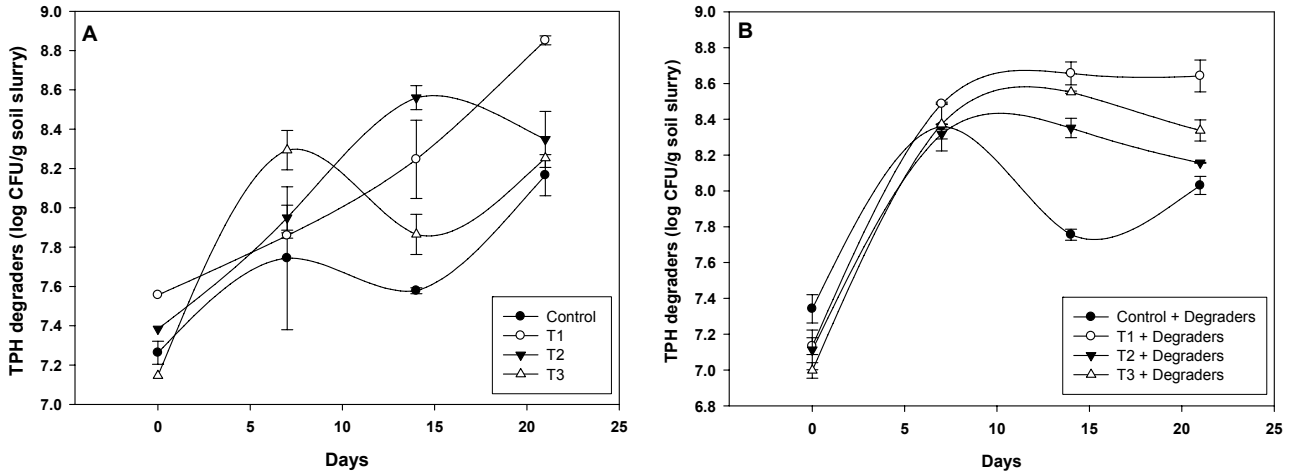
호기성 중속영양세균의 밀도는 5.05-7.46 (log CFU/g slurry), 유류분해균은 접종 후 7.86-8.14 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었고 생물학적 처리 적용 3주 후 9.67-9.88 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었다. 그러나 3주 모니터링 이후 9.06-9.46 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었다(Fig. 2). 초기 미생물 밀도는 대조구보다 화학처리를 거친 토양의 경우 낮은 밀도를 나타내었다. 이것은 화학처리에 사용되는 산화제(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)의 영향으로 토착미생물의 감소로 인한 결과라 사료된다. 생물학적 처리 후 3주 동안 모니터링한 결과 초기 밀도보다 약 100배의 높은 증가를 나타내었다. 이것은 매주 분해균과 영양원소의 주입으로 인하여 유류분해균 증가 및 기존 토착미생물의 성장으로 인한 결과라 사료된다.

**화학적 및 생물학적 통합처리 시 TPH 분해 세균 밀도의 변화**

유류분해세균의 밀도는 6.26-6.46 (log CFU/g slurry), 유류분해균은 접종 후 7.55-7.89 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었고 생물학적 처리 적용 3주 후 9.72-10.6 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었다. 그러나 3주 모니터링 이후 8.96-9.19 (log CFU/g slurry)의 밀도를 나타내었다(Fig. 3). 초기 미생물 밀도에 비해 생물학적 처리 후 약 100배의 증가를 나타내었다. 이는 매주 미생물 성장조건을 유지하기 위하여 영양원소의 주입과 분해균의 주입으로 인한 분해미생물 성장 및 유지에 기인한 것으로 사료된다. 따라서 적절한미생물의 영양원을 공급할 경우 분해세균의 활성유지 및 토양 토착세균의 회복이 가능하며 아울러 잔류 TPH의 처리도 가능할 것으로 판단된다. 그러나 3주 모니터링 후 밀도가 감소하였는데, 이는 TPH제거에 따른 탄소원의 감소로 인한 결과라 사료된다.



**Fig. 2.** Population dynamics of total heterotrophic bacteria from TPH-contaminated soil slurries undergoing sequential Fenton-like reaction and bioaugmentation process. (A) Control, no treatment; T1, autoclaved (121°C, 15 min); T2, Fenton-like reaction using the surfactant OP-1015; T3, Fenton-like reaction using the surfactant Tween 80. (B) Control, T1, T2, and T3 inoculated with diesel fuel degraders.

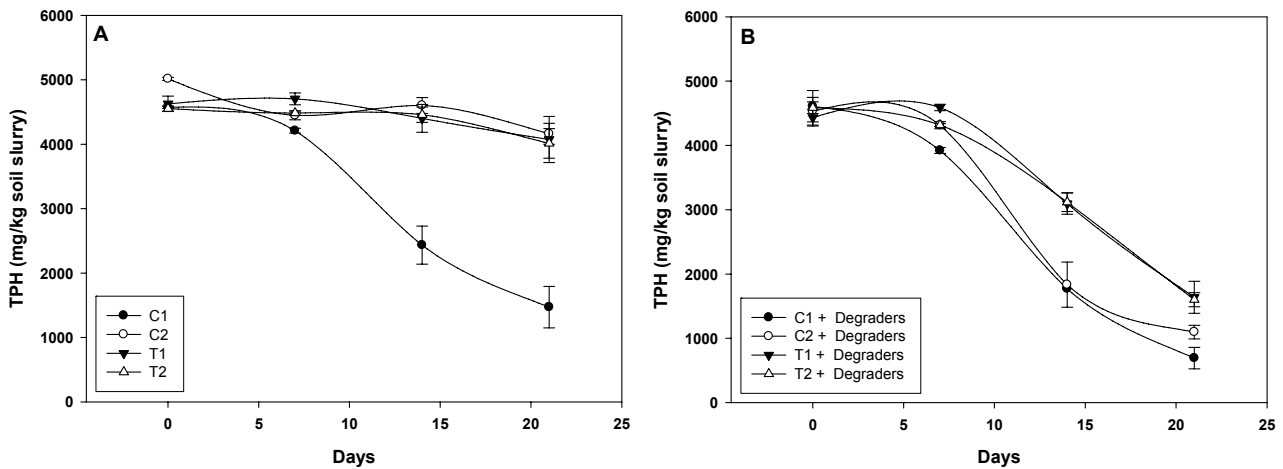


**Fig. 3.** Population dynamics of diesel fuel-degrading bacteria from TPH-contaminated soil slurries undergoing sequential Fenton-like reaction and bioaugmentation process. (A) Control, no treatment; T1, autoclaved (121°C, 15 min); T2, Fenton-like reaction using the surfactant OP-1015; T3, Fenton-like reaction using the surfactant Tween 80. (B) Control, T1, T2, and T3 inoculated with the diesel fuel degraders.

**화학적 및 생물학적 통합처리 시 TPH 농도변화**

그림 4는 펜톤산화 및 생물학적 처리(생물증강, bioaugmentation)를 거친 토양의 TPH 잔류농도를 나타낸 것이다. 초기 TPH농도는 4,200-5,100 (mg/kg)정도의 농도를 나타내었으나, 4주 모니터링한 결과 생물학적 처리 전 TPH농도는 약 3,700 (mg/kg), 생물학적 처리 후 약 210-980 (mg/kg)정도로 나타났다. 각 처리구에 따른 효율은 대조구의 경우 생물학적 처리 전의 TPH 제거효율은 78.7%, 생물학적 처리 후는 91-95%의 TPH제거효율을 나타내었다. 펜톤처리구의 경우 생물학적 처리 전의 TPH효율은 20-25%이었으며, 생물학적 연속처리 후의 경우는 78.6-81%의 TPH처리효율을 나타내었다(Fig. 4).

각 처리구마다 TPH제거효율은 상승하였으나, 펜톤산화 및 생물학적 처리를 거친 토양보다 대조구의 경우 TPH처리효율이 더 높게 나타났다. 펜톤산화를 거친 토양은 강한 산화제로 인한 토착균의 사멸이 이루어진 것으로 판단되었다. 그러나 대조구의 경우 토착균의 서식이 가능하고 또한 유류분해균주의 주입으로 인하여 토착균 및 분해균의 상승작용으로 인하여 보다 높은 처리효율을 나타낸 것으로 사료된다. 따라서 생물학적 처리를 시행할 경우 토착균의 작용에 의한 분해의 촉진이 이루어질 수 있기 때문에 펜톤산화는 비교적 낮은 농도의 TPH분해에 있어서는 다소 역효과가 있을 것으로 판단된다.



**Fig. 4.** Residual concentration of TPH in the TPH-contaminated soil slurries undergoing sequential Fenton-like reaction and bioaugmentation process. (A) C1, no treatment; C2, autoclaved (121°C, 15 min); T1, Fenton-like reaction using the surfactant OP-1015; T2, Fenton-like reaction using the surfactant Tween 80. (B) C1, C2, T1, and T2 inoculated with the diesel fuel degraders.

**PCR-DGGE 기법에 의한 TPH 오염토양의 화학적 및 생물학적 처리중의 분해 및 토착 미생물 군집변화 추적**

펜톤산화처리 후 미생물 군집의 다양성은 처리 전에 비해 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 5). 이것은 산화제의 영향으로 토착미생물의 사멸로 인한 결과라 사료된다. 그러나 유류분해균을 접종할 경우 잠재적 유류분해균과 토착미생물의 증가로 인한 종수의 증가를 확인할 수 있었다. 최소한 수 십종이 존재하는 것으로 관찰이 되며, 차후에 이들을 동정하여 TPH 오염 토양의 bioaugmentation 처리 시 그들의 역할을 검토할 필요가 있다. 그리고 화학처리구에 비해서 보다 높은 미생물 군집 다양성을 보이는 것으로 관찰이 되므로(Fig. 5의 화살표로 표시된 부분) 분해균의 처리가 화학적 방법으로 처리된 토양의 생물적 복원과 생태계의 회복에 기여할 것으로 판단된다. 이 경우 적절한 유기물(퇴비 등)의 첨가를 실시하면 오염토양의 화학처리로부터의 빠른 회복을 기할 수 있을 것으로 사료된다.

**화학적 및 생물학적 통합처리 시 퇴비추출물 처리에 따른 TPH 농도변화**

오염된 TPH 토양을 화학적으로 처리한 후 TPH 분해균의 성장을 위한 추가기질로서 퇴비추출물 첨가효과를 시험하였다(Fig. 6). 여기서 보는 바와 같이 분해미생물과 퇴비추출물을 첨가하지 않은 대조군은 28일 후 약 52% 정도의 TPH가 제거되는 효과가 나타났다. 이는 토착유류분해균의 역할에 기인한 것으로서 추정된다. 한편 대조군에 퇴비추출물만 첨가하거나 화학처리(펜톤유사반응)후 퇴비추출물만 첨가한 경우는 28일

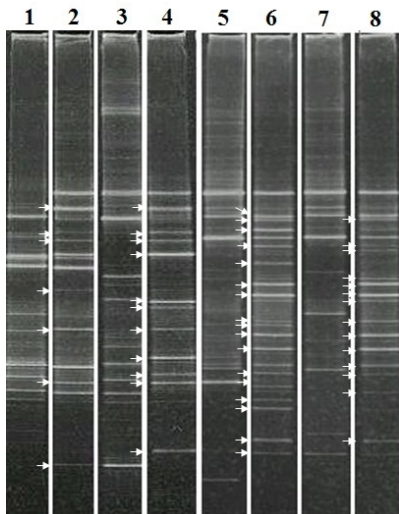
후 약 30% 정도의 TPH가 제거되는 효과가 나타난 바 대조군에 비해 오히려 처리효과가 낮게 나타났다. 반면에 퇴비추출물과 분해균만을 동시 처리한 경우는 약 92% 정도의 TPH 제거효과를 나타내 가장 높은 처리효율을 나타내었다. 그러나 화학처리 후 퇴비추출물과 분해균을 동시 처리한 경우는 약 82%의 처리효과를 나타내었는데 이는 화학처리가 상대적으로 저농도의 TPH (10,000 mg/kg 이하) 오염된 토양의 경우는 다소 비효율적임을 의미하며 오히려 순차적으로 진행될 생물학적 처리의 효율을 저감시킬 수 있음을 의미한다.

**화학적 및 생물학적 처리를 거친 토양의 pH 변화**

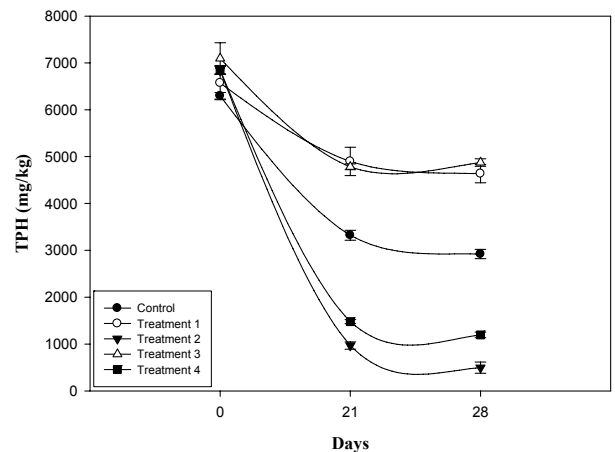
펜톤산화 및 생물학적 통합 연속처리 후 처리토양의 pH 변화를 조사하였다(Fig. 7). 여기서 보는 바와 같이 펜톤산화반응을 거치지 않은 시료는 대체로 약산성(6.4-6.5)에서 약알칼리(7.0-7.2)로 서서히 증가하는 경향을 보였으나, 펜톤산화반응을 거친 경우는 퇴비추출물의 처리전의 강산성(3.4-3.5)에서 추출 후 급격히 증가하는 경향을 보였다. 따라서 퇴비추출물을 포함하는 생물학적 처리는 화학처리(펜톤산화)된 토양 pH의 정상적인 회복에 기여하는 것으로 나타나고 있으므로 향후 이러한 공법을 도입할 경우 친환경적인 토양처리에 상당히 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

**결론**

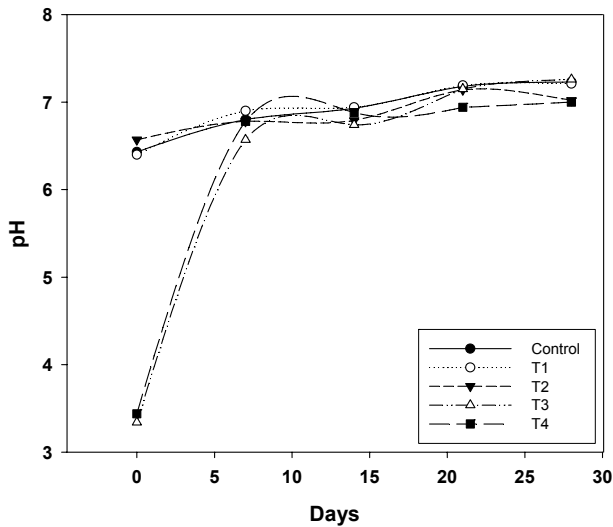
본 연구에서는 TPH로 오염된 토양에 화학적 및 생물학적 통합처리 기법을 적용할 경우 어떻게 잔류 TPH가 감소되며, 이때 분해미생물이 오염토양 내에서 어떤 작용을 하는지를 생



**Fig. 5.** Microbial community profiles based on PCR-DGGE of TPH-contaminated soils undergoing sequential Fenton-like reaction and bioaugmentation process after 28 days. Lanes: 1, no treatment; 2, no treatment + degraders; 3, autoclaved; 4, autoclaved + degraders; 5, Fenton-like reaction using the surfactant OP-1015; 6, Fenton-like reaction using the surfactant OP-1015 + degraders; 7, Fenton-like reaction using the surfactant Tween 80; 8, Fenton-like reaction using the surfactant Tween 80 + degraders.



**Fig. 6.** Residual concentration of TPH in the soil slurries amended with compost extract (10%, w/w) undergoing sequential Fenton-like oxidation and bioaugmentation. Control, no treatment; Treatment 1, Control + compost extract; Treatment 2, Control + compost extract + degraders; Treatment 3, Fenton-like reaction + compost extract; Treatment 4, Fenton-like reaction + compost extract + degraders. Fenton-like reaction, FeSO<sub>4</sub> 4% + surfactant (OP-1015) 0.05% and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% + surfactant (OP-1015) 0.05%.



**Fig. 7.** pH changes for the soil slurries amended with compost extract (10%, w/w) undergoing sequential Fenton-like reaction and bioaugmentation. Control, no treatment; T1, Control + compost extract; T2, Control + compost extract + degraders; T3, Fenton-like reaction + compost extract; T4, Fenton-like reaction + compost extract + degraders. Fenton-like reaction,  $\text{FeSO}_4$  4% + surfactant (OP-1015) 0.05% and  $\text{H}_2\text{O}_2$  5% + surfactant (OP-1015) 0.05%.

태학적 측면에서 규명하고자 하였다. 이를 위해 유류오염토양으로부터 우수분해미생물을 선별하여 TPH처리(bioaugmentation)실험을 실시하였다. 또한 이와 유사한 화학적, 생물학적 통합처리 기법을 현장에 적용할 경우 TPH분해가 어떻게 진행되는지 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 적정 화학적 처리조건(펜톤유사반응)을 탐색하기 위하여 계면활성제 및 산화제 농도에 따라 실험을 수행한 결과 계면활성제의 경우 OP-1015 (0.05% w/w 처리)가 15%의 분해율로 가장 우수하였으며, 산화제( $\text{H}_2\text{O}_2$ )는 5% (w/w) 처리가 적절한 것으로 나타났다.
2. 상기의 화학적 처리 후 분리된 혼합 TPH 분해균을 이용하여 생물학적 처리를 실시할 경우 분해미생물이  $10^8$ - $10^9$  (CFU/g slurry)의 밀도로 유지되었으며, 초기에 비해 최소한 100배 이상의 분해균 밀도 증가 효과가 있었다.
3. 화학적, 생물학적 통합처리 결과 대조구 및 화학 처리구의 경우 분해미생물에 의한 TPH 처리효과가 인정이 되었다. 그러나 화학처리구만의 경우는 10% 효율을 보여 분해미생물의 처리가 필수적임을 확인하였다. 그리고 연속하여 미생물을 처리할 경우도 대조구에 비해 13-17% 정도의 차이로 처리효율이 낮게 나타났다. 이는 화학적 처리 토양내에 존재하는 free radical 등의 산화 부산물과 기타 물질이 분해미생물의 TPH 분해활성을 억제한 것으로 사료되었다. 따라서 비교적 낮은 농도(10,000 mg/kg 이하)의 TPH로 오염된 토양의 경우는 별도의 화학적 처리를 거치지 않고 바로 생물학적 처리(bioaugmentation)를 실시하는 편이 바람직한

것으로 판단되었다.

## 적요

유류의 유출로 인한 총석유계탄화수소(total petroleum hydrocarbons: TPH)는 종종 토양과 지하수의 오염을 초래하고 있다. TPH는 환경에 노출이 될 경우 물리화학적 과정을 거쳐 분해가 되나 그 반응은 상대적으로 느리다. 본 연구에서는 TPH로 오염된 토양의 환경친화적인 처리기법을 궁극적으로 개발하기 위해서 화학적 및 생물학적 통합기술을 도입하고자 시도하였다. 여기서 펜톤유사반응을 전처리단계로 도입하고 이후 디젤분해 혼합균을 처리하여(생물증강법) 오염유류를 처리하고자 하였다. 계면활성제 OP-10S (0.05%)과 산화제( $\text{FeSO}_4$  4%, 및  $\text{H}_2\text{O}_2$  5%)를 사용할 경우 토양으로부터 효율적으로 TPH를 처리, 제거할 수 있는 것으로 나타났다. 디젤분해 혼합균을 토양슬러리에 접종할 경우 100배 이상 분해균의 밀도 상승이 관찰되었는데 이는 접종된 분해균이 오염된 토양에서 성공적으로 존재할 수 있음을 의미한다( $10^8$ - $10^9$  CFU/g slurry). Fenton으로 처리된 토양에서의 TPH 제거 효율은 분해균으로 생물증강을 실시할 경우 최소한 57% 정도 상승되는 것으로 나타났다. 그러나 화학적, 생물학적 연속처리를 실시할 경우 대조구(무처리; 제거효율 95%)에 비해 상대적으로 낮은 처리 효율(79-83%)을 나타내었는데, 이는 화학처리 중에 발생하는 자유기(free radicals) 함유 산화물질이 분해를 억제한 것에 기인하는 것으로 보인다. 본 연구에서의 얻어진 결과는 환경에 있어서 TPH로 오염된 토양과 저질을 효율적으로 정화하고 토양생태계의 신속한 회복에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 말

본 연구는 한국해양대학교 2007년도 학술연구지원사업 (2007. 10. 1 - 2008. 9. 30)과 국토해양부의 지원으로 수행한 해양에너지 전문인력 양성사업의 지원으로 진행이 되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

1. Balba, M.T., N. Al-Awadhi, and R. Al-Daher. 1998. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *J. Microbiol. Methods* 32, 155-164.
2. Collin, P.H. 2001. Dictionary of Ecology and the Environment, 4th. Peter Collin Publishing, London, UK.
3. Ekpeghere, K.I., H.-J. Bae, S.-H. Kwon, B.-H. Kim, D.-J. Park, and S.-C. Koh. 2009. Clean-up of the crude oil contaminated marine sediments through biocarrier-mediated bioaugmentation. *Kor. J. Microbiol.* 45, 354-361.
4. Ferrari, M.D., E. Neirotti, C. Albornoz, M.R. Mostazo, and M. Cozzo. 1996. Biodegradation of hydrocarbons from oil tank bottom sludges in soil slurry. *Biotechnol. Lett.* 18, 1241-1246.
5. Fenton, H.J.H. 1984. Oxidation of tartaric acid in presence of iron, *J. Chem. Soc.* 65, 899-910.

6. Haag, W.R. and C.D.D. Yao. 1992. Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1005-1013.
7. Kong, S.-H, R.J. Watts, and J.-H. Choi. 1998. Treatment of Petroleum-contaminated soils using iron mineral catalyzed hydrogen peroxide. *Chemosphere* 37, 1473-1482.
8. Launen, L.A., J. Dutta, R. Turpeinen, M.E. Eastep, R. Dorn, V.H. Buggs, J.W. Leonard, and M.M. Häggblom. 2008. Characterization of the indigenous PAH-degrading bacteria of the *Spartina alterniflora*-dominated salt marshes in the New York / New Jersey harbor. *Biodegrad.* 19, 347-363.
9. Meckstroth, W.K., L.M. Dorfman, and R.E. Heikkila. 1980. Reactivity of the hydroxyl radical with amygdalin in aqueous solutions. *Biochem. Pharmacol.* 29, 3307-3309.
10. Riser-Roberts, E. 1998. Remediation of petroleum contaminated soil: biological, physical, and chemical Processes. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
11. Rutherford, M.P., D.K. Banerjee, S.M. Luther, M.R. Gray, M.J. Dudas, W.B. McGill, M.A. Pickard, and M.J. Salloum. 1998. Slurry-phase bioremediation of creosote and petroleum contaminated soils. *Environ. Technol.* 19, 683-696.
12. Watts, R.J., et al. 1991. Treatment of contaminated soils using catalyzed hydrogen peroxide chemical oxidations; technology for the 90's. In W.W. Eckenfelder et al. (eds.), Technomic Press, Lancaster, Pennsylvania, USA.
13. Weber Jr., W.J., and H.S. Kim. 2005. Optimizing contaminant desorption and bioavailability in dense slurry systems 1. Rheology, mechanical mixing, and PAH desorption. *Environ. Sci. Technol.* 39, 2267-2273.
14. Yu, K.S.H., A.H.Y. Wong, K.W.Y. Yau, Y.S. Wong, and N.F.Y. Tam. 2005. Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments. *Marine Pollution Bulletin* 51, 1071-1077.
15. Zhou, E. and R. Crawford. 1995. Effects of oxygen, nitrogen, and temperature on gasoline biodegradation in soil. *Biodegrad.* 6, 127-140.