

# Laboratory-scale Microcosm Studies in Assessing Enhanced Bioremediation Potential of BTEX and MTBE under Various Electron Acceptors in Contaminated Soil

오인석 · 이시진 · 장순웅

경기대학교 토목환경공학부 환경공학과 (e-mail : inoh2002@hotmail.com)

## <요약문>

Accidental release of petroleum products from underground storage tank(USTs) is one of the most common causes of groundwater contamination. BTEX is the major components of fuel oils, which are hazardous substances regulated by many nations. In addition to BTEX, other gasoline constituents such as MTBE(methyl-t-butyl ether), anphthalene are also toxic to humans. Natural attenuation processes include physic, chemical, and biological trasformation. Aerobic and anaerobic biodegradation are believed to be the major processes that account for both containment of the petroleum-hydrocarbon plum and reduction of the contaminant concentrations. Aerobic bioremediation has been highly effective in the remediation of many fuel releases. However, Bioremediation of aromatic hydrocarbons in groundwater and sediments is ofen limited by the inability to provide sufficient oxygen to the contaminated zones due to the low water solubility of oxygen. Anaerobic processes refer to a variety of biodegradation mechanisms that use nitrate, ferric iron, sulfate, and carbon dioxide as terminal electron acceptors. The objectives of this study was to conduct laboratory-scale microcosm studies in assessing enhanced bioremediation potential of BTEX and MTBE under various electron acceptors(aerobic, nitrate, ferric iron, sulfate) in contaminated Soil. these results suggest that, presents evidence and a variety pattern of the biological removal of aromatic compounds under enhanced nitrate-, Fe(III)-, sulfate-reducing conditions.

**key word** : BTEX, MTBE, Electron Acceptors

## 1. 서론

토양오염 유발 유류물질로는 옥탄가 향상 및 산화촉진제로써 이용되는 MTBE(Methyl tert-Butyl Ether)와 휘발유의 주요 구성성분인 동시에 발암 혹은 잠재적 발암물질로 미국 환경청(U.S. EPA)에서는 우선적으로 처리되어야 할 주요 오염물질로 분류되는 BTEX(Benzene, Toluene, Ethylbenzene, o-, m-,p-Xylene)가 있다. MTBE에 관한 호기성 생분해에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 최근에는 혐기성 상태에서 다양한 전자수용체를 이용한 실험실 및 현장실험 결과가 보고 되고 있다. 최근 연구에

서는 산소의 부재로 생분해가 제한될 경우  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$  같은 전자수용체(EA; Electron Acceptor)가 미생물에 의해 이용되며, Methanogenic Condition에서의 방향족 탄화수소(aromatic compounds) 생분해도 가능성이 보고 되고 있다. 따라서 본 연구에서는 실험실 규모의 회분식 실험을 통하여 호기성 및 혐기성 조건하에서 다양한 전자수용체를 이용한 BTEX와 MTBE의 생분해능에 관한 최적조건 평가에 따른, 현장 적용 타당성을 검토하는데 있다.

## 2. 본 문

본 연구에서는 유류로 오염된 3지역과 오염되지 않은 1지역의 토양샘플에서 오염된 토양의 토착미생물을 직접적으로 이용하기 위해 토양은 건조되지 않은 혐기성 상태로 1달 이상 생분해를 유도 시킨 후, 질소가스로 탈기시켜 초기농도를 인위적으로 조절하여 생분해와 전자수용체의 소비를 관찰하였다. 실험에 이용된 모든 초차류는 121°C, 20분 동안 멸균하였고, 실험 중 광합성 미생물 배양을 방지하기 위해 120mL의 amber serum bottle을 이용하였다. 120mL amber serum bottle에 토양 10g 배양액 50ml, 그리고 나머지는 공기로 채운 후 teflon-silicon septa와 aluminum crimp cap으로 닫았다. 그리고 혐기성 조건을 만족시키기 위해 헬륨가스로 headspace를 20분 동안 세정하여 산소를 제거하였다.(DO $\leq$  0.2mg/L) 초기 오염농도는 BTEX는 각각 100uM, MTBE는 50uM로 조절하였다. BTEX와 MTBE의 무기화에 기여하는 전자수용체양( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ )을 화학 양론적 관계에 따라 계산하여 bottle에 주입한 후, 약 2달간 혐기성 조건에서 25°C에서 150rpm으로 진탕기에서 배양하면서 일정기간 마다 BTEX와 MTBE의 분해를 확인하였다. pH는 7 $\pm$ 0.3로 조정하였다. 또한 각각  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 를 사용하여 질산염, 황산염, 철(III)의 농도를 조절하였는데, 화학양론에 근거한 이론적 질산염 요구량 보다는 약간 더 높은 농도를 조절하여 실험에 사용하였다. BTEX, MTBE의 분해실험은 배양된 혼합미생물을 접종한 다음 위에서 기술한 배지와 동일 조건에서 실행하였고 각각의 실험조건에 따라 질산염 농도와 용존산소농도를 달리하여 실행하였다. 정확한 분해를 측정하기 위해 동일한 bottle에 미생물의 활동을 방해하는 염화수은( $\text{HgCl}_2$ ) 500mg/L를 넣고 비교실험을 진행하였다.

BTEX와 MTBE 분석은 불꽃이온화검출기(FID)와 HP-5 칼럼이 장착된 gas chromatography (HP58 90 II)를 이용하였다. 100 $\mu\text{l}$  gas-tight syringe(Hamilton)로 50 $\mu\text{l}$ 의 시료를 채취하여 GC에 주입하였다. GC의 운전조건은 오븐, 주입부, 그리고 검출기의 온도는 80°C, 250°C, 250°C 각각 등온으로 분석하였다. MTBE, benzene, toluene, ethylbenzene, p-xylene의 머무름시간은 각각 4.00, 4.77, 6.40, 9.30, 9.70 min 이었다. 또한 토양화학분석에 의거하여 토양 중  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Fe}(\text{II})$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ 을 분석하였다. 질산염 농도 측정에는 HACH DR/4000U Spectrophotometer를 이용하여 optical density(OD)를 550nm에서 측정하였다. 그리고 용존산소는 YSI 58 Portable DO Meter를 사용하였다.

## 3. 결 과

실험에 이용된 유류 오염 토양 및 오염되지 않은 토양에 대한 토양분석 결과 및 BTEX와 MTBE의 초기 오염도를 Table 1.에 정에 하였다. 4지역 모두의 토양은 전형적인 약산성 토양이었으며, C지점 토양을 제외한 나머지 토양에서 BTEX와 MTBE의 오염을 확인할 수 있었다. 오염된 토양의 경우  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ 가 오염되지 않은 C지점에 비해 현저히 낮고  $\text{Fe}(\text{II})$ 의 농도가 높게 나타난 것으로 미루어 A,B,D지점에서 토착미생물에 의한 유류오염 생분해가 활발히 진행되었음을 알 수 있었다. Fig. 1.~Fig. 5.는 Iron-reducing 조건에서 4지역의 토착미생물에 의한 BTEX와 MTBE의 생분해를 각각의 물질별로 나타낸 것이다.

Table 1. Laboratory analytical results for four soil samples.

site	A	B	C	D
pH	5.91	5.31	4.90	5.57
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	1.8	2.6	9.6	2.4
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	12	22	69	11.6
Iron(II)(mg/L)	48	22	0.8	32

Fig.1.은 Iron-reducing 조건에서 benzene의 생분해를 보여준다. 1차 분해율의 값은 각각 A, B, C, D 지역이 0.047, 0.17, 0.025, 0.026d<sup>-1</sup>로 A지역 토양의 분해율이 가장 높게 나타났다. Fig.2.는 Iron-reducing 조건에서 toluene의 생분해를 보여준다. 1차 분해율의 값은 각각 A, B, C, D지역이 0.021, 0.021, 0.85, 0.038d<sup>-1</sup>로 B지역 토양의 분해율이 가장 높았으며, 상대적으로 다른 토양에서의 분해율은 낮게 나타났다. Fig.3.는 Iron-reducing 조건에서 ethylbenzene의 생분해를 보여준다. 1차 분해율의 값은 각각 A, B, C, D지역이 0.025, 0.022, 0.07, 0.046d<sup>-1</sup>로 C지역 토양의 분해율이 가장 높게 나타났다. Fig.4.은 Iron-reducing 조건에서 p-xylene의 생분해를 보여준다. 1차 분해율의 값은 각각 A, B, C, D지역이 0.013, 0.013, 0.016, 0.018d<sup>-1</sup>로 모든 토양에서 유사한 생분해 경향을 보였다. Fig.5.는 Iron-reducing 조건에서 MTBE의 생분해를 보여준다. 1차 분해율의 값은 각각 A, B, C, D지역이 0.016, 0.002, 0.005, 0.006d<sup>-1</sup>로 A지역 토양의 분해율이 가장 높았던 걸로 미루어 볼 때, MTBE 분해 박테리아의 활성도가 다른 지역에 비해 높을 것으로 추정된다. MTBE는 BTEX보다 생분해율이 적음을 알 수 있었다. A지역에서 MTBE의 농도 감소에 따른 대표적인 부산물인 TBA의 생성은 확인하지 못했다.

Fig.6.는 각각의 지점에서 BTEX와 MTBE를 생분해 하는 동안 Fe(III)의 이용에 대응하여 생성된 Fe(II)의 농도증가는 생분해의 증거를 나타낸다. 초기 Fe(II)의 농도차이는 오염지역에 Fe(III)의 이용에 기인한 것이다. Fe(II)의 소비 순서는 A>B,C>D로 나타났다.

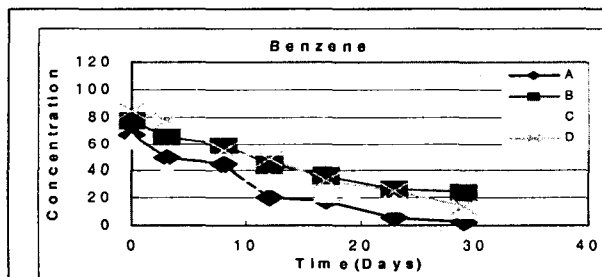


Fig.1. Biodegradation of benzene under iron-reducing conditions for four sites.

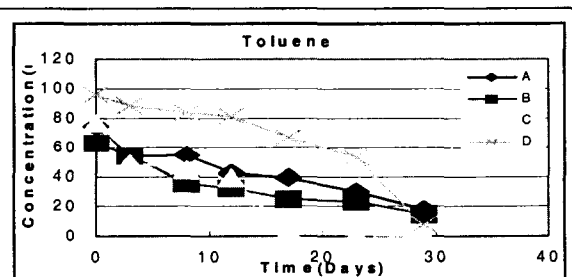


Fig.2. Biodegradation of toluene under iron-reducing conditions for four sites.

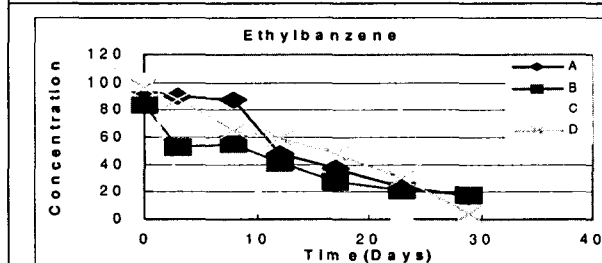


Fig.3. Biodegradation of ethylbenzene under iron-reducing conditions for four sites.

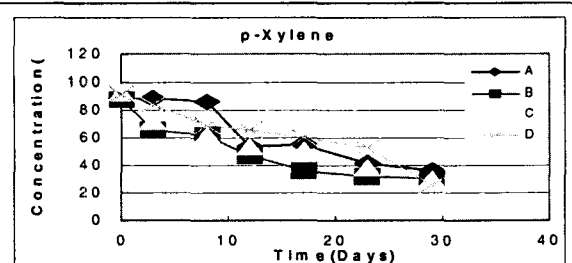


Fig.4. Biodegradation of p-xylene under iron-reducing conditions for four sites.

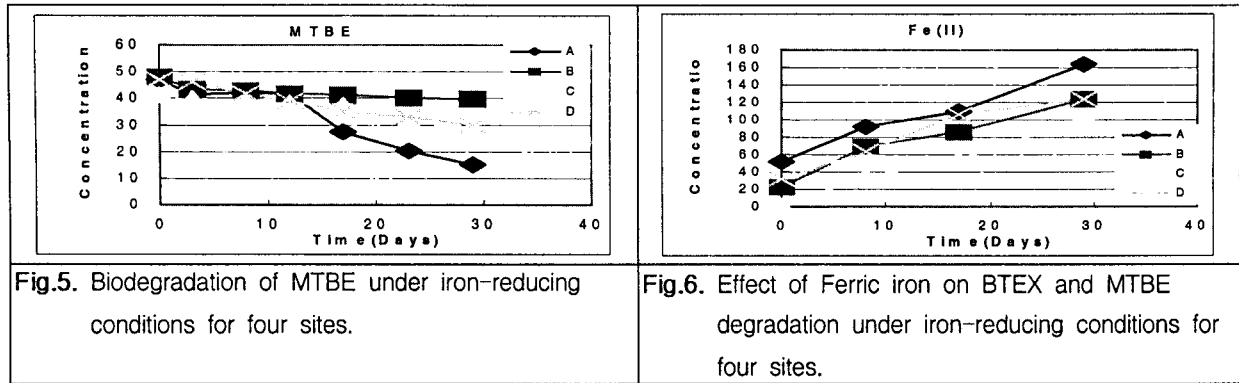


Fig. 1. ~ Fig. 6.으로부터 Iron-reducing 조건하에서 오염물질에 따른 분해율은 toluene>ethylbenzene>benzene>p-xylene>MTBE 순으로 이었으며, toluene과 ethylbenzene는 C,D지역 토양에서 분해율이 높았고, benzene과 MTBE는 A지역 토양에서 분해율이 높게 나타났다.

이상의 결과를 정리하면, 첫째, 오염토양과 비오염 토양에서 충분한 전자수용체의 존재는 유류오염물질의 생분해능을 증가시킬 수 있었음 알았다. 둘째, BTEX에 비해 MTBE의 분해가 매우 느림을 확인하였다. 결론적으로 유류에 의해 오염된 대부분의 혐기성 토양에서 다양한 전자수용체의 존재는 토착미생물에 의한 생분해를 증가시키는 에너지원으로 이용될 수 있음을 간접적으로 확인할 수 있었다.

#### 4. 참고문헌

- 1) Eric A. Seagren, A.M.ASCE, and Jennifer G. Becker., "Review of Natural Attenuation of BTEX and MTBE in Groundwater", Practice Periodical OF Hazardous, Toxic, and Raadioactive Waste Management, Vol. 6, No. 3, July 2002
- 2) Stephen R. Huchins, Guy W. Sewell, David A. Kovacs, and Garmon A. Smith., "Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons by Aquifer Microorganisms under Denitrifying Conditions", Environ. Sci. Technol., Vol. 25, No. 1, 1991
- 3) J.P. Salanitro, H.L. Wisniewski, D.L. Byers, C.C. Neaville, and R.A. Schroder., "Use of Aerobic Microcosms to Assess BTEX Biodegradation in Aquifer", SUMMER 1997 GWMR, Pages 210~221