

# 호기/혐기성 조건에서의 BTEX 및 MTBE 동시 분해특성

## Microcosm Study on BTEX and MTBE (Methyl Tert-Butyl Ether) Biodegradation under Aerobic-Anaerobic Conditions

오 인 석<sup>1)</sup> · 이 창 열<sup>2)</sup> · 이 종 인<sup>2)</sup> · 김 지 태<sup>3)</sup> · 장 순 응<sup>†</sup>

Inseok Oh · Changyeol Lee · Jongin Lee · Jitae Kim · Soonwoong Chang

Received: January 14<sup>th</sup>, 2014; Revised: February 5<sup>th</sup>, 2014; Accepted: April 11<sup>th</sup>, 2014

**ABSTRACT** : The objectives of this study were to determine biodegradation and characteristics of BTEX and MTBE under aerobic-anaerobic conditions and evaluate the potential of natural attenuation method in denitrifying condition. In the single-substrate experiments, all of the BTEX compounds were degraded under all the conditions. but, lower degradation of benzene and p-xylene were observed under aerobic condition due to the lack of oxygen initially supplied. In the mixed-substrate experiments, BTEX degradation was delayed compared to that in the single-substrate experiments due to a competition of the substrates. Biodegradation of MTBE was observed only under denitrifying conditions and we expected that MTBE mineralized to CO<sub>2</sub> without the accumulation of TBA. We also conducted to determine the effect of initial nitrate concentration on BTEX and MTBE degradation. At low nitrate concentration (<50 mg/L), BTEX degradations were limited by the lack of electron acceptor and BTEX degradation was inhibited at high nitrate concentration (>200 mg/L). The results in this study indicated that biotransformation could be applied to the gasoline-contaminated region under aerobic-anaerobic.

**Keywords** : BTEX, MTBE, Denitrification, Natural attenuation

**요 지** : 본 연구에서는 다양한 호기/혐기조건에서 유류오염물질인 및 MTBE의 생분해 특성을 비교하고, 특히 탈질 조건에서 질산염 영향을 조사하여 유류오염지역의 혐기적 자연정화방법의 적용 가능성을 평가하고자 한다. 단일기질 및 혼합기질 분해실험 결과, BTEX는 3가지 실험조건에서 차이는 있었으나 모두 분해가 일어났다. 그러나 benzene과 p-xylene은 호기성 조건에서 초기 공급된 용존 산소의 부족으로 인하여 분해가 지연되는 것으로 나타났다. 또한 혼합기질에서는 단일기질에 비해 BTEX 분해가 기질 경쟁 관계로 인해 다소 지연되는 경향이 관찰되었다. MTBE는 탈질 조건에서만 생분해가 관찰되었으나, TBA 축적 없이 CO<sub>2</sub>로 무기화되는 것으로 추정된다. 또한 BTEX 및 MTBE 분해에 대한 질산염 농도의 영향 실험 결과, 저농도(>50 mg/L)에서 BTEX 분해는 제한되었으며, 고농도 질산염(<200 mg/L) 조건하에서는 BTEX 분해가 억제되는 현상이 관찰되었다. 본 연구에서 도출된 결과는 유류오염지역의 경우 호기/혐기성 조건에서 자연 생분해를 유도할 수 있을 것으로 예상된다.

**주요어** : BTEX, MTBE, 탈질산화, 자연정화

## 1. 서 론

MTBE(Methyl Tert-Butyl Ether)를 포함한 유류물질의 오염으로 토양 및 지하수 복원과 관련한 연구는 20여 년 전부터 다양한 연구가 이루어지고 있다. 반면 국내에서는 이로 인한 문제가 있음에도 실질적 연구사례는 많지 않은 상황이다. 특히 BTEX(Benzene, Toluene, Ethylbenzene, *o*-, *m*-, *p*-Xylene)는 발암 혹은 잠재적 발암물질로 분류되어 미국 환경청(USEPA)에서 우선적으로 처리되어야 할 주요 오염물질로 분류하고 있고, 90년대 이후에 휘발유의 산소첨가제로 이용되고 있는 MTBE(Methyl Tert-Butyl Ether)의 경

우도 위해성 문제로 인해 미국의 경우 20~60 ppb로 지하수 수질규제농도를 정하고 있는 반면 국내에서는 아직 법적인 규제가 이루어지지 않고 있다(Korea Institute of Policy Evaluations, 2002; U.S. EPA, 1997; Yeh & Novak, 1994).

국내의 현장 여건과 처리비용을 고려할 때 현재까지 유류오염지역을 정화하기 위한 방안으로 고려되는 처리기술로는 열탈착법, 토양세척법, 화학적산화, 토양경작법, 생물학적정화법, 토양증기추출법 등이 대표적으로 국내·외에서 현장에 적용되는 처리기술의 사례들이다.

본 연구에서는 적용 가능한 여러 공법 중 환경친화적이고, 저농도로 오염된 지역의 처리에 적용 가능한 방안을 검토하

1) Pyeongtaek-city

2) SK Chemicals

3) Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University

† Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University (Corresponding Author : swchang@kyonggi.ac.kr)

고자 한다. 가장 많은 연구가 이루어진 BTEX인 경우, BTEX의 호기성 조건에서의 생분해는 유류 오염물질의 복원에 가장 효과적이다. 그러나 일반적으로 유기오염원으로 오염된 지하수에서의 산소 농도는 낮게 분포하게 되어 호기성 조건보다는 혐기성 미생물에 의한 분해 기작이 효과적일 것이라고 알려지고 있다. 산소가 고갈된 지하대수층에서는  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$  등이 미생물 성장을 위한 전자수용체로 이용될 수 있다(Borden et al., 1997; Bradley et al., 2001; Finneran & Lovely, 2001; Mormile et al., 1994; Madeline & Bahr, 1999; Waul et al., 2009). 이 중에서도 질산염은 산소를 대용하는 전자수용체로써 효과적으로 미생물에 의해 이용될 수 있다.

질산염은 높은 용해도를 갖고 있으며, 일반적으로 지하대수층의 미생물에게 500 mg/L 이하에서는 독성을 띄지 않는다고 알려져 있다. 또한 질산염을 소비하는 미생물은 대수층에서 일반적으로 발견되는데, 혐기성-환원조건에서의 생분해에 부정적인 연구가들도 있다(Finneran & Lovely, 2001). 그럼에도 많은 연구자들이 실험실 규모의 연구에서 질산염이 BTEX를 혐기성 상태에서 분해하는 능력이 있다고 기술하고 있으며(Borden et al., 1997; Bradley et al., 2001) 다양한 환원조건에서의 MTBE의 분해가 보고되고 있다.

또한 국내 사례를 보면 축사농가 등의 분포로 인해 Ki et al.(2013)은 지하수에서의 질산염의 농도는 49 mg/L로 관측되는 사례도 있어 질산염 자체의 오염도 문제가 되고 있다. 따라서 본 탈질산화 조건에서 유류물질의 효과적인 생분해는 유기오염원과 질산염의 동시처리 효과를 기대할 수 있다.

자연정화(natural attenuation)는 다양한 지층의 메카니즘을 포함하고 있기 때문에 현장규모에서 BTEX 및 MTBE의 생분해를 직접적으로 설명하기는 어렵다. 이러한 이유 때문에 생분해(bioremediation)능력을 설명하는데 특별히 실험실 규모의 microcosm 연구가 유용하다고 알려져 있다(Anthony, 1999; Waul et al., 2008). 따라서 본 연구에서는 혐기성 조건에서, 오염된 토양의 분리된 혼합 균주를 이용하여 질산염을 전자수용체로 하고 이용할 경우, BTEX 및 MTBE의 분해에 따른 기질 상호작용 및 영향 인자에 대한 특성을 살펴보고 이를 통한 자연정화(natural attenuation)기술 적용 가능성을 알아보 고자 한다. 그리고 탈질산화 조건에서 오염 토양 미생물에 의한 BTEX 및 MTBE의 분해에 따른 질산염( $\text{NO}_3^-$ )의 영향과 최적 생분해능 증대를 위한  $\text{NO}_3^-$  주입농도를 결정하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1 회분식 실험

다양한 산화/환원 조건에서의 BTEX 및 MTBE 생분해

가능성을 조사하기 위한 회분식실험은 120 mL amber serum bottle에 배양액 50 mL, 그리고 나머지는 공기로 채우고 나서 teflon-silicon septa와 aluminum crimp cap으로 닫았다. 혐기성 조건을 만족시키기 위해서는  $\text{N}_2$  가스로 headspace를 3분 동안 purging하는 과정을 진행하였다. 실험조건에 따라 주입 질산염 양은  $\text{KNO}_3$ 를 사용하여 화학양론적 관계에 따라 bottle에 주입하였다. 유류오염도양 상등액에서 1 mL를 취해 미생물 seeding용으로 취해 각 serum bottle에 주입해 실험을 시작하였다. 또한 각각의 실험조건에 따라 질산염 농도와 용존산소 농도 변화를 주어 실행하였다. BTEX 및 MTBE의 분해에 따른 질산염 소비 실험은 각각의 실험조건에 따라 질산염 농도와 용존산소 농도 변화를 주어 실행하여 질산염과 생분해 관계 및 영향을 평가하였다. 정확한 분해를 측정하기 위해 동일한 bottle에 미생물의 활동을 방해하는 염화수은( $\text{HgCl}_2$ ) 500 mg/L를 넣어 비교실험을 진행하였다.

### 2.2 분석방법

Benzene, toluene, ethylbenzene, *p*-xylene, MTBE, TBA 분석은 불꽃이온화검출기(Flame Ionization Detector, FID)와 HP-5 칼럼(Crosslinked 5 % Ph Me Silicon, 25 m×0.32 mm×0.52  $\mu\text{m}$  film), 그리고 HP 3494의 integrator가 연결된 Hewlett-Packard 5890 II를 이용하였다. 100  $\mu\text{L}$  gas-tight syringe(Hamilton)로 50  $\mu\text{L}$ 의 시료를 채취하여 GC에 주입하여 분석했다. GC의 운전조건은 오븐(oven), 주입부(injector), 그리고 검출기(detector)의 온도는 80  $^\circ\text{C}$ , 250  $^\circ\text{C}$ , 250  $^\circ\text{C}$  각각 등온(isothermal condition)으로 분석하였다. 운반가스(carrier gas)는 1 mL/min의 속도로 nitrogen gas를 사용했으며, 이때 TBA, MTBE, benzene, toluene, ethylbenzene, *p*-xylene의 체류시간(retention time)은 각각 3.82, 4.00, 4.86, 6.29, 8.91, 9.21 min 이었다.

질산염 농도 측정은 실험용 bottle에서 1 mL를 취해 10 mL 석영셀에 넣은 후 HR/4000 handbook에 따라 HACH DR/4000U Spectrophotometer를 이용하여  $\text{NO}_3^-$ -N(0.2~30 mg/L) mg/L 단위(unit)로 분석하였다. 그리고 용존산소(DO)는 YSI 58 Portable DO Meter(0~20 mg/L)를 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 BTEX 단일기질과 혼합기질의 분해특성

본 실험은 단일 기질인 benzene, toluene, ethylbenzene, *p*-xylene, MTBE 그리고 혼합기질인 BTEX+MTBE의 생분해 특성을 통해 단일기질과 혼합기질에서의 상호 분해특성

을 관찰하였다. 실험조건은 현장의 다양한 환경조건을 반영하기 위해 i) 질산염(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)을 첨가하지 않고 공기를 주입한 호기성 조건, ii) 공기와 질산염을 첨가한 호기성/질산염(aerobic/nitrate) 조건, 그리고 iii) 질산염만 첨가한 혐기성(denitrifying) 조건으로 구분하여 실험을 수행하였다. 이러한 실험조건은 각각의 산화/환원 조건에 따른 생분해능 차이 및 분해경향을 설명해줄 수 있는 기초실험이 될 것이다. 각 실험조건에 따른 이론적 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 요구량 산정 및 주입량 그리고 실험종류 후 BTEX 및 MTBE 생분해에 요구되었던 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>량을 분석하였다(Table 1). 본 실험에서 호기성은 용존산소 농도(DO)가 범위가 1.8~6.5 mg/L였고, 혐기성은 DO의 범위가 0.5 mg/L 이하였다.

Fig. 1은 호기성 조건에서 BTEX의 단일 및 혼합기질로서의 다양한 조건에서의 생분해 특성을 보여주고 있다. BTEX 각각의 초기 질량 0.4 mg(각각 액상기준으로 10 mg/L) 일 때, toluene과 ethylbenzene은 단일과 혼합기질일 경우 20일 이내에 모두 분해되었고(Fig. 1(b), (c)) 그다음으로는 benzene, *p*-xylene 순으로 분해가 나타났다. La(1999)가 제시한 분해실험 결과와 유사하나, 관찰된 단일기질의 분해순서와는 다소 차이가 있는 것으로 나타나기도 했으며, Hutchins et al.(1991)은 BTEX 및 1, 2, 4-Trimethylbenzene의 회분식 분해 실험결과 호기성 조건에서 모든 화합물이 10일 이내에 지연기간 없이 빠르게 분해되었음을 보여주기도 하였다(각각의 초기 BTEX 농도 4~7 mg/L, 미생물 배양온도 12 °C). 그러나 본 연구에

서는 호기성에서 benzene과 *p*-xylene이 30일 이후에도 80 % 미만의 분해율을 보이고 있는데, 이 결과는 초기 용존산소의 고갈로 인한 생분해가 더 이상 일어나지 않았음을 관찰하였다(Fig. 1(a), (d)). 이와 마찬가지로 일차분해 상수는 초기 30일 이내에는 0.013~0.054 d<sup>-1</sup>을 보이다가 산소가 고갈된 30일 이후의 일차분해 상수는 0.001 d<sup>-1</sup>로 적은 값을 나타내었다. 이러한 현상은 호기성 조건에서의 불충분한 산소의 공급 및 대용 전자수용체의 부재에 기인하는 것으로 사료된다.

Fig. 2는 호기성/질산염(aerobic/nitrate) 조건에서 단일과 혼합기질로써 분해 특성을 보여준다. 분해순서는 toluene, ethylbenzene, benzene, *p*-xylene 순으로 호기성일 때와 동일했으며 toluene과 ethylbenzene은 호기성 조건과 마찬가지로 지체기 없이 산소를 전자수용체로 이용하여 생분해되었다(Fig. 2(b), (c)). NO<sub>3</sub><sup>-</sup>이 없는 호기성 조건에서는 30일 이후 생분해가 지연되었지만, 호기성/질산염 조건에서는 30일 이후에도 생분해 속도는 느리지만 계속적으로 생분해가 진행됨을 관찰하였다(Fig. 2(a), (d)). 이러한 결과는 산소를 대신하여 질산염이 전자수용체로 효과적으로 사용된 것에 기인한 것으로 사료된다.

이와 유사하게 Alvarez & Vogel.(1993)은 회분식 실험결과 질산염이 산소를 대신하는 전자수용체로 이용되어 benzene의 분해가 이루어짐을 제시하였다. 그러나 Hutchins et al.(1991)의 칼럼실험에서는 benzene, *o*-xylene을 제외한 toluene, ethylbenzene, *m*-xylene, 그리고 1, 2, 4-Trimethylbenzene이 제

Table 1. Summary of the results of BTEX and MTBE biodegradation in various conditions

|                   | Compounds        | Conditions      | First-order degradation rates [d <sup>-1</sup> ] | Theoretical nitrate required [mg/L] | Initial nitrate provided [mg/L] | Observed amount of nitrate [mg/L (loss %)] |
|-------------------|------------------|-----------------|--|-------------------------------------|---------------------------------|--|
| Mixed substrates  | BTEX+MTBE        | aerobic         | 0.021  | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0.027  | 186.2                               | 200                             | 118(43)                                    |
|                   |                  | denitrifying    | 0.014  | 186.2                               | 200                             | 12(94)                                     |
| Single substrates | Benzene          | aerobic         | 0.006  | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0.012  | 38.4                                | 50                              | 9(82)                                      |
|                   |                  | denitrifying    | 0.007  | 38.4                                | 50                              | 5(90)                                      |
|                   | Toluene          | aerobic         | 0.053  | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0.079  | 45                                  | 50                              | 40(20)                                     |
|                   |                  | denitrifying    | 0.016  | 45                                  | 50                              | 12(76)                                     |
|                   | Ethyl benzene    | aerobic         | 0.05   | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0.05   | 64.24                               | 50                              | 38(24)                                     |
|                   |                  | denitrifying    | 0.015  | 64.24                               | 50                              | 10(80)                                     |
|                   | <i>p</i> -Xylene | aerobic         | 0.004  | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0.01   | 58.4                                | 50                              | 8(84)                                      |
|                   |                  | denitrifying    | 0.006  | 58.4                                | 50                              | 3(94)                                      |
|                   | MTBE             | aerobic         | 0  | -                                   | -                               | -  |
|                   |                  | aerobic+nitrate | 0  | 4.36                                | 50                              | 43(14)                                     |
|                   |                  | denitrifying    | 0  | 4.36                                | 50                              | 40(20)                                     |

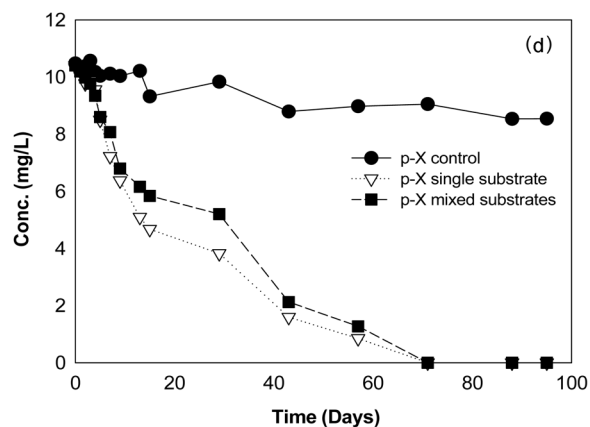
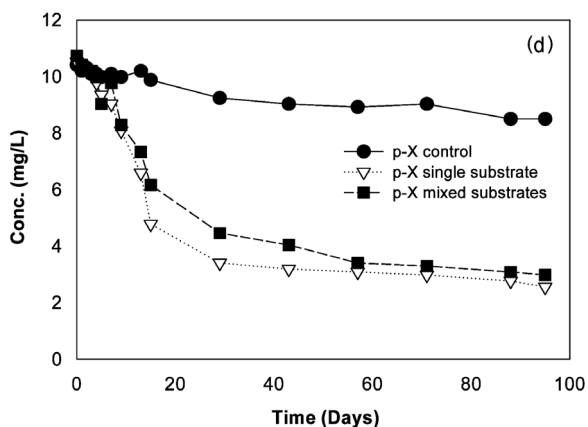
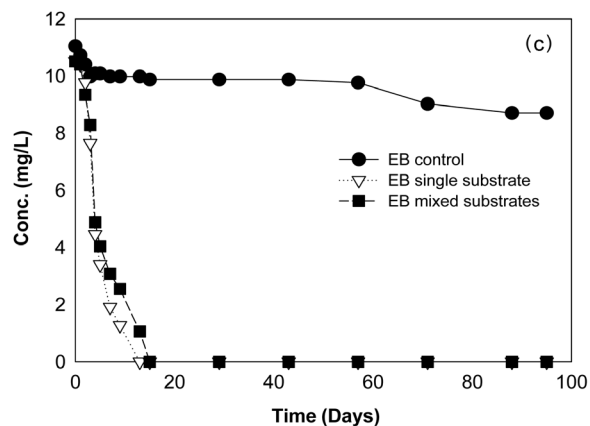
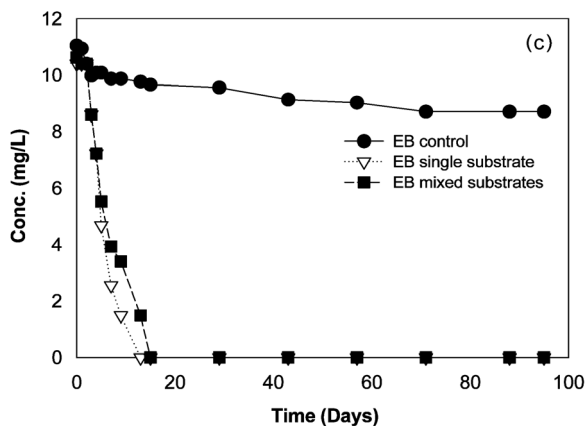
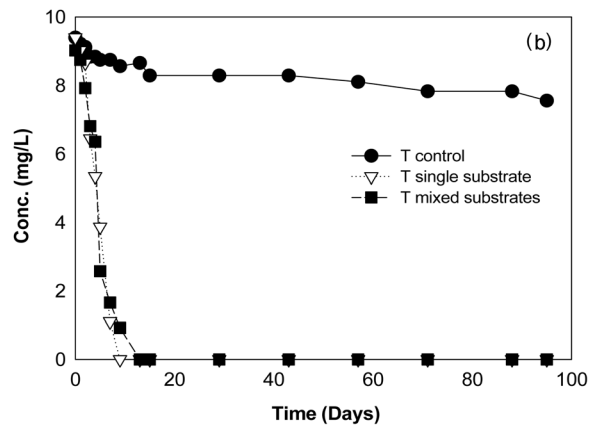
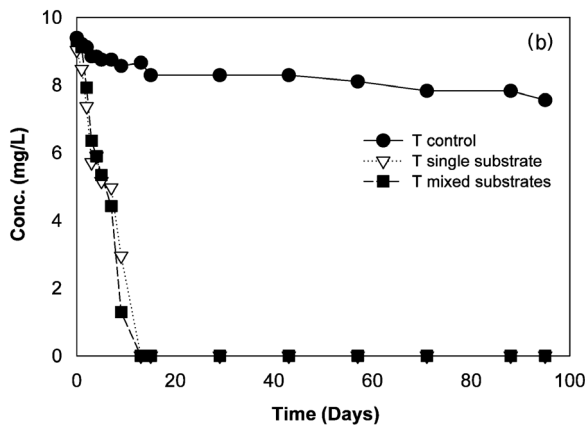
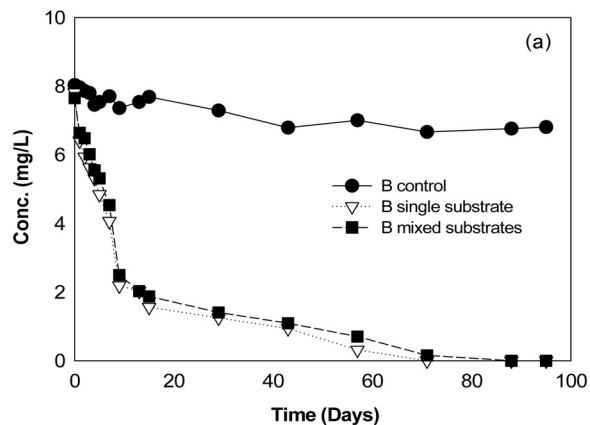
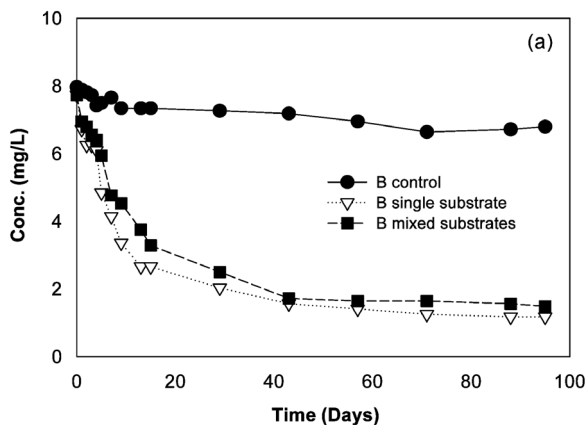


Fig. 1. Biodegradation of BTEX under aerobic condition at 25 °C: (a) Benzene (b) Toluene (c) Ethylbenzene (d) *p*-Xylene in a control (●), a single substrate (▽) and a mixed substrates (■), respectively. All data points are the average of duplicate bottles

Fig. 2. Biodegradation of BTEX under aerobic/denitrifying condition at 25 °C: (a) Benzene (b) Toluene (c) Ethylbenzene (d) *p*-Xylene in a control (●), a single substrate (▽) and a mixed substrates (■), respectively. The initial dissolved nitrate concentration was 50 mg/L and 200 mg/L, respectively

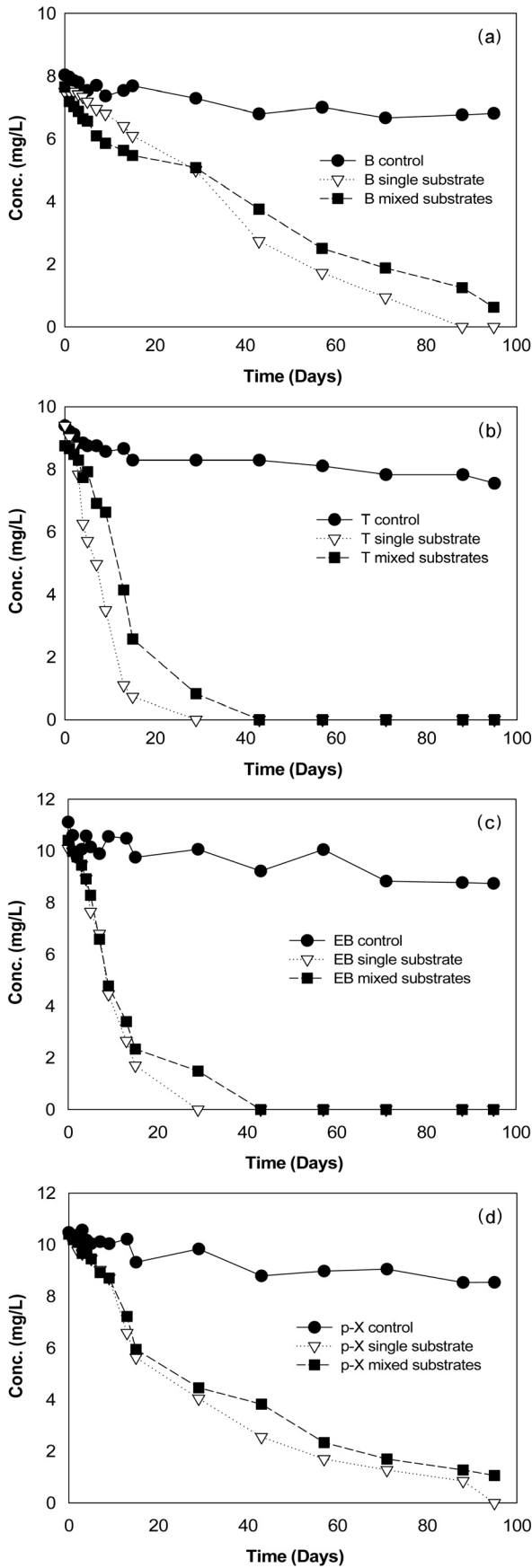


Fig. 3. Biodegradation of BTEX under denitrifying condition at 25 °C: (a) Benzene (b) Toluene (c) Ethylbenzene (d) *p*-Xylene in a control (●), a single substrate (▽) and a mixed substrates (■), respectively.

한된 산소와 질산염 조건에서 50일 이내에 모두 분해되기도 하였다. 본 연구에서는 모든 BTEX의 분해를 관찰할 수 있었으며, 호기성 조건과 호기성/질산염 실험 결과로써 질산염은 산소를 대용할 수 있는 전자수용체로 호기성 조건만큼 지속적인 생분해 속도를 유지함을 알 수 있다.

Fig. 3은 혐기성(denitrifying) 조건에서 BTEX 혼합기질의 분해 특성을 보여주고 있다. 혐기성(denitrifying) 조건에서는 호기성/질산염(air/nitrate) 조건과 비교할 경우, 분해속도는 느리지만 100일 이상 생분해가 계속적으로 진행되었다(호기성/질산염 0.003~0.079 d<sup>-1</sup>, 혐기성 0.001~0.024 d<sup>-1</sup>).

또한 질산염의 소비에 따른 아질산염(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 축적 경향과 다르게 나타났다(Fig. 4). 생분해 기간 중 탈질산화에 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 축적은 탈질산화(denitrification)가 진행되었음을 보여주며, 실험기간 100일 동안 탈질산화 조건하에서 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 축적은 70일에 최대를 보이다가 이후 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4). NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 축적이 진행되는 동안 탈질산화는 계속적으로 발생한 것으로 사료된다. 하지만 호기성/질산염 조건에서는 질산염의 소비가 낮게 나타났다. 이러한 결과는 초기 용존산소 존재 유무에 기인하는 것으로 사료되며, Hutchins et al.(1991)의 칼럼을 통한 실험결과와 비교할 때 유사하였다. 하지만 탈질산화 조건하에서 질산염 소비에 따른 BTEX 분해를 일차분해 상수로 구한 값은 0.18~0.38 d<sup>-1</sup>로 나타나서 본 연구를 통해 도출된 0.006~0.024 d<sup>-1</sup>에 비해 다소 낮았다.

본 연구에서는 탈질산화 조건에서 분해가 비교적 빨랐던 toluene(76 % NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비)과 ethylbenzene(80% NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비)이 분해가 지연되었던 benzene(90% NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비)과 *p*-xylene(94 % NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비)에 비해 상대적으로 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소모량이 적음을 알 수 있다(Table 1). 이것은 탈질미생물이 비교적 분해가 용이한 물질에 대해 효과적으로 질산염 이용을 하는 것으로 사료된다. 또한 탈질산화 조건하에서 오염원별 분해 순서는

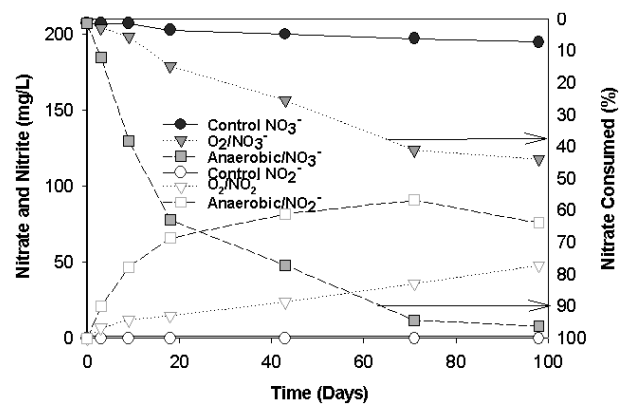


Fig. 4. Nitrate removal and nitrite accumulation under aerobic/nitrate and denitrifying conditions : control nitrate (●), aerobic/nitrate (▽), anaerobic/ nitrate (■), control nitrite (○), aerobic/nitrite (▽) and anaerobic/nitrite (□)

toluene(0.016 d<sup>-1</sup>), ethylbenzene(0.015 d<sup>-1</sup>), benzene(0.007 d<sup>-1</sup>), *p*-xylene(0.006 d<sup>-1</sup>) 순으로 나타났다. Gusmao et al.(2007)과 Riberio et al.(2013)은 혐기적 탈질산화 칼럼실험에서 BTEX의 단기적 제거 특성을 보여주기도 하였다.

### 3.2 MTBE의 분해 특성

MTBE는 BTEX 오염지역에서 함께 검출될 가능성이 높은 가솔린 첨가제이며 BTEX에 비해 상대적으로 분해능이 떨어지는 것으로 알려져 있다. 본 실험은 일반적으로 호기성에서 분해가 어려운 MTBE의 분해가 탈질 조건에서 BTEX와 함께 생분해될 수 있음을 보여주고 있다. 또한 BTEX의 분해에 MTBE가 기질방해 작용을 하지 않음을 관찰할 수 있었다.

Serum bottle에서의 MTBE 초기질량이 0.05 mg(액상기준으로 1 mg/L)일 때 혐기성(denitrifying) 조건에서 혼합기질에 대한 분해 특성을 보여준다(Fig. 5). 단일기질 실험에서는 호기성, 호기성/질산염, 그리고 혐기성 조건하에서 MTBE의 분해는 이루어지지 않아 MTBE 자체가 탄소원으로 쉽게 이용되지 않음을 보여주고 있다. 그러나 혼합기질 혐기성(denitrifying) 조건에서 탈질미생물(denitrifiers)에 의한 MTBE의 분해가 관찰되었다. BTEX의 생분해가 이루어진 100일 이후 MTBE가 점차 분해되어 140일 이후 완전한 분해가 이루어졌다. MTBE의 분해능을 재검토하기 위해 140일 이후 같은 농도의 MTBE를 재주입한 결과 다시 재분해 됨을 확인하였다. 그러나 초기 MTBE 농도가 상대적으로 낮아 대표적인 분해 중간산물로 알려진 TBA는 생성 즉시 축적되지 않고 바로 분해가 일어났다. 최근 다양한 환원 조건하에서 MTBE의 생물학적인 분해가 가능성이 여러 실험을 통해 보고되고 있다(Finneran & Lovley, 2001; Landmeyer et al.,

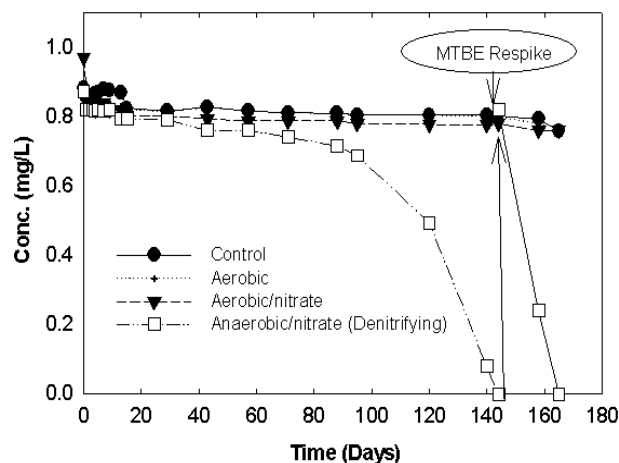


Fig. 5. Biodegradation of MTBE under denitrifying conditions. All experiment condition was similar with previous experiments

1998; Mormile et al., 1994; Yeh & Novak, 1994; Waul et al., 2009). 최근까지의 연구에서 MTBE가 분해되어 생성되는 중간생성물인 TBA의 축적은 sulfate-reducing 조건을 제외한 Fe(III)-reducing과 nitrate-reducing 조건에서는 나타나지 않고 곧바로 CO<sub>2</sub>로 무기화된다고 보고한 사례도 있다 (Bradly et al., 2001; Finneran & Lovley, 2001).

### 3.3 질산염(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) 농도 변화에 따른 BTEX 분해특성

무산소 탈질 조건(denitrifying condition)에서 초기 질산염의 농도에 따른 분해경향을 단일기질별로 알아보았다(Fig. 6).

BTEX와 MTBE의 초기 질량은 각각 0.4 mg(액상기준으로 10 mg/L), 0.05 mg(액상기준으로 1 mg/L)이었고 단일기질에서 영향을 관찰하였으며, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 분석은 배양 100일 이후에 실행하였다. Toluene과 ethylbenzene은 이론적 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비량인 50 mg/L 이하에서 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 소비에 따른 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 부족으로 인해 생분해가 제한됨을 확인하였고, 초기 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도 200 mg/L에서는 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도에 의한 방해작용이 없었다. 그러나 500 mg/L에서는 분해능이 떨어짐을 보였다. Benzene과 *p*-xylene은 toluene과 ethylbenzene에 비해 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도에 민감한 분해능을 보였다. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도가 이론적 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 요구량에 미치지 못한 50 mg/L 이하에서 생분해가 매우 느렸고 고농도인 200 mg/L 이상에서 초기 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 주입 농도에 따른 분해능이 떨어지는 것으로 나타났다. 이와 같은 탈질산화 조건에서 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도는 탈질 미생물의 생분해능을 결정하는 중요한 인자이다.

유사한 결과로 Hutchins et al.(1991)과 Madeline & Bahr (1999)는 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도를 30 mg/L(low), 75 mg/L(high)로 변화를 주어 60일 동안 실험한 결과 저농도 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 보다 고농도 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 농도에서 방향족 화합물의 분해능이 촉진(stimulation)됨을 확인했다. 또한 Deeb et al.(2000)은 혐기성 미생물인

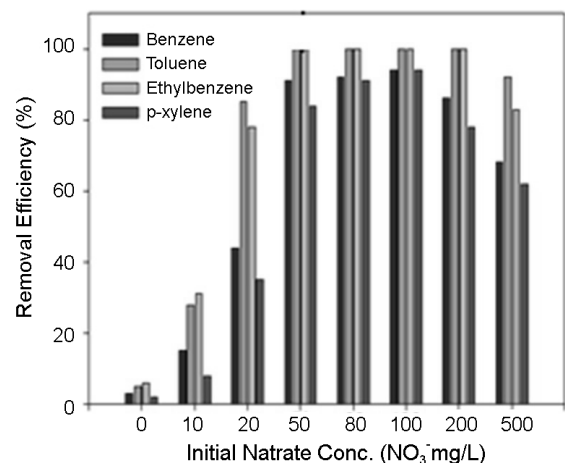


Fig. 6. Effect of initial nitrate concentrations on the BTEX degradation under denitrifying condition after 100 days of incubation

XQ3라는 순수 균주와 열역학 모델을 이용하여 toluene 분해와 관계된 질산염과 아질산염의 분해영향을 관찰했다. 실험결과 toluene 분해가 2.5 mM( $\text{NO}_3^-$  155 mg/L) 이하의 낮은  $\text{NO}_3^-$  농도에서는 제한된 전자수용체에 의한 제한된 분해를 보였으나, 2.5 mM 이상의 높은  $\text{NO}_3^-$  농도는 오히려 분해능을 방해했다고 한다. 본 연구에서는 200 mg/L 이상에서 BTEX의 생분해능이 저하되었다(Fig. 6).

## 4. 결 론

본 연구는 오염토양 혼합 균주를 이용하여 혐기성 조건에서  $\text{NO}_3^-$ 을 전자수용체로 이용할 경우, BTEX와 MTBE의 분해에 따른 기질 상호작용 및 영향 인자에 대한 특성을 살펴보고  $\text{NO}_3^-$  영향과 최적 생분해능 강화를 위한  $\text{NO}_3^-$ 의 주입농도를 결정을 통한 in-situ 처리 공정의 적용 가능성을 알아보았다. 이를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

- (1) 호기성/질산염, 탈질산화 조건에서의 BTEX 및 MTBE의 단일·혼합 기질의 분해 특성을 살펴보면 분해능 순서는 BTEX의 경우 toluene, ethylbenzene, benzene, *p*-xylene으로 관찰되었다.
- (2) MTBE의 경우, 혼합기질-탈질산화조건에서 BTEX가 완전히 생분해된 100일 이후에 MTBE의 농도가 역상 1 mg/L일 경우에만 분해가 관찰되는 제한적인 생분해가 이루어졌다.
- (3) 탈질산화를 이용한 BTEX 및 MTBE의 분해능은 이론적 질산염이 부족할 경우 생변형이 제한되었다(50 mg/L 이하). 그리고 과량의 초기 질산염을 첨가할 경우에는 분해능이 떨어짐을 확인할 수 있었다(200 mg/L 이상). 이를 통해 질산염의 초기 주입농도는 BTEX와 MTBE의 분해능을 결정하는 중요 인자임을 알 수 있었다.
- (4) 본 연구실험실 규모의 microcosm 연구로서 자체 생분해(intrinsic bioremediation) 능력을 설명하는데 유용하게 이용될 수 있으며,  $\text{NO}_3^-$ 는 혐기성조건에서 생복원을 위한 이차적인 중요 전자수용체임을 확인할 수 있었다. 하지만 적절하지 못한  $\text{NO}_3^-$ 의 주입은 생분해를 저하시킬 수 있음을 알 수 있었다. 본 연구는 현장규모의 실험을 위한 기초단계 연구로써 탈질 조건에서의 가솔린 화합물의 분해특성 및  $\text{NO}_3^-$  소비특성 위한 질산염 초기 주입량 결정 실험을 통해 자연정화능 강화를 제시하기 위한 기초 자료로 이용될 수 있을 것이다.

## 감사의 글

본 과제는 환경부 “글로벌탑 환경기술개발사업”으로 지원받은 과제입니다(과제번호: GT-11-B-02-008-3).

## References

1. Alvarez, P. J. and Vogel, T. M. (1993), Biodegradation of monoaromatic hydrocarbons in aquifer columns amended with hydrogen peroxide and nitrate, *Water Research*, Vol. 27, No. 4, pp. 685~691.
2. Anthony, J. W. (1999), Methodology to evaluate natural attenuation of methyl tertiary-butyl ether In : Natural attenuation of chlorinated solvents, hydrocarbons, and other organic compounds, Battelle, Columbus, Ohio, pp. 121~133.
3. Borden, R. C., Daniel, R. A., LeBrun I. V. and Davis, C. W. (1997), Intrinsic Biodegradation of MTBE and BTEX in a gasoline-contaminated aquifer, *Water Resources Research*, Vol. 33, No. 5, pp. 1105~1115.
4. Bradley, P. M., Chapelle, F. H. and Landmeyer, J. E. (2001), Methyl t-butyl ether mineralization in surface-water sediment microcosms under denitrifying conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, No. 4, pp. 1975~1978.
5. Deeb, R. A., Scow, K. M. and Alvarez-Cohen, L. (2000), Aerobic MTBE biodegradation: an examination of past studies, current challenges and future research directions, *Biodegradation*, Vol. 11, No. 2-3 pp. 171~186.
6. Finneran, K. T. and Lovley, D. R. (2001), Anaerobic degradation of Methyl Tert-Butyl Ether (MTBE) and Tert-Butyl Alcohol (TBA), *Environmental Science & technology*, Vol. 35, No. 9, pp. 1785~1790.
7. Gusmao, V. R., Chinalia, F. A., Sakamoto, I. K. and Varesche, M. B. (2007), Performance of a reactor containing denitrifying immobilized biomass in removing ethanol and aromatic hydrocarbons (BTEX) in a short operating period, *J. of Hazardous Materials*, Vol. 139, No. 2, pp. 301~309.
8. Hutchins S. R., Sewell, G. W., Kovacs, D. W. and Smith, G. A. (1991), Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions, *Environmental Science & technology*, Vol. 25, No. 1, pp. 68~76.
9. Ki, M. G., Koh, D. C., Yoon, H. S. and Kim, H. S. (2013) Characterization of nitrate contamination and hydrogeochemistry of groundwater in an agricultural of northeastern Hongseong, *Journal of Soil & Groundwater Env.*, Vol. 18, No. 3, pp. 33~51.
10. Korea Institute of Policy Evaluations (2002), The seminar of risk and management necessity to the fuel additive MTBE, pp. 24~26.
11. La, H. J. (1999), The removal of gasoline by contaminated soil microbial, Master's thesis, Kyonggi University. pp. 22~26 (in Korean).
12. Landmeyer, J. E., Chapelle, F. H., Bradley, P. M., Pankow, J. F., Church, C. D. and Tratnek, P. G. (1998), Fate of MTBE relative to benzene in a gasoline-contaminated aquifer, *Groundwater Monitoring & Remediation*, Vol. 18, Issues 4, pp. 93~102.
13. Madeline E. S. and Bahr, J. M. (1999), Spatial electron acceptor

- variability: implications for assessing bioremediation potential, *Bioremediation Journal*, Vol. 3, No. 4, pp. 363~378.
14. Mormile, M. R., Liu, S. and Suflita, J. M. (1994), Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates: extrapolation of information to multiple sites and redox conditions, *Environmental Science & Technology*, Vol. 28, No. 9, pp. 1727~1732.
  15. Ribeiro, R., Nardi, I. R., Fernandes, B. S., Foresti, E. and Zaiat, M. (2013), BTEX removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor under denitrifying conditions, *Biodegradation*, Vol. 24, No. 2, pp. 269~278.
  16. U.S. Environmental Protection Agency (1997), Chemical summary for methyl tert-butyl ether, EPA-822-F-97-009, Vol. 79, pp. 1~3.
  17. Waul, C., Arvin, E. and Schmidt, J. E. (2009), Long term studies on the anaerobic biodegradability of MTBE other gasoline ethers, *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 163, No. 1, pp. 427~432.
  18. Yeh, C. K. and Novak, J. T. (1994), Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates in soils, *Water Environment Research*, Vol. 66, No. 5, pp. 744~752.