

## 탈질조건을 이용한 유류물질 생분해 기초연구

오인석 · 장순용 · 이시진

경기대학교 토목환경공학부 환경공학과

e-mail : inoh2002@hotmail.com

### 요 약 문

Leaking underground storage tanks are a major source of groundwater contamination by petroleum hydrocarbons. Bioremediation of aromatic hydrocarbons in groundwater and sediments is often limited by dissolved oxygen. Aerobic bioremediation has been highly effective in the remediation of many fuel releases. but Many aromatic hydrocarbons degrade very slowly under anaerobic conditions. Nitrate is a good alternative electron acceptor to oxygen and denitrifying bacteria are commonly found in the subsurface and in association with contaminated aquifer materials. Because nitrate is less expensive and more soluble than oxygen. it may be more economical to restore fuel-contaminated aquifers using nitrate rather than oxygen. This study show that biodegradation of BTEX and MTBE is enhanced by the nitrate-amended microcosms under aerobic/anaerobic conditons. Although aromatic hydrocarbons degrade very slowly under anaerobic conditions. Biodegradaton was observed for all of the test compounds.

key word : BTEX, MTBE, Denitrifying, Electron Acceptor

### 1.서론

전 세계적으로 유류저장탱크의 부식과 손상으로 인한 누출로 인한 토양 및 지하수의 오염문제가 대두되어 이에 따른 연구가 진행되고 있다. 휘발유의 산화촉진제로 사용하는 MTBE(Methyl tert-Butyl Ether)와 BTEX(benzene, toluene, ethylbenzene, o-, m-, p-xylene)는 발암 혹은 잠재적 발암물질로 분류되고 있으며 미국 환경청(EPA)에서는 우선적으로 처리되어야 할 주요 오염물질로 분류하고 있다. 오염된 지하수를 처리하기 위한 물리적인 대부분의 전통적인 방법은 오염된 지하수를 지상으로 뽑아 올린 후 처리하여 다시 지하로 주입하는 pump & treatment 처리방식이 이용되는데, 이 방식은 2차 처리와 관련되어 경제성에 많은 어려움이 있다. 식물복원(Phytoremediation)은 자연계에 존재하는 식물을 이용한 효율적 유류탄화수소 제거 수단으로 조합되어 사용되고 있다. 방향족 화합물의 혐기성 분해는 불가능하다고 생각되었다. 하지만, 최근 연구에서는 산소의 부재로 생분해가 제한될 경우  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Fe}^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$  같은 전자수용체(EA; Electron Acceptor)가 미생물에 의해 이용되며, Methanogenic Condition에서의 방향족 탄화수소(aromatic compounds) 생분해도 가능성이 보고되고 있다. 특히, 질산염은 토양에 일반적으로 존재하며 산소 다음으로 우세한 전자수용체로써 탈질산화 공정을 통한 유기화합물의 혐기성 생분해 에너지를 공급한다. 그리고 질산염의 높은 용해도(600g/L)와 500mg/L 이하에서 대수층 미생물에 독성을 띄지 않아 미생물에 의한 생분해에 이용이 가능하다. 따라서 본 연구에서는 하수처리장 반송라인으로부터 얻은 혼합미생물을 사용하여 실험실에서 회분식 실험을 실행하였으며, 산소가 제한되는 유류오염지역 내에서의 질산염 전자수용체를 이용한 탈질 박테리아의 질산염 이용 평가와 이에 따른, 현장 적용 타당성을 검토하는데 있다.

## 2.본문

본 연구에서는 하수종말처리장 폭기조 반송라인에서 슬러지를 취해 톨루엔(toluene)을 탄소원으로 하고 질산염을 에너지원으로 이용하는 균주로 우점화한 혼합미생물(mixed culture)을 배양하였다. 실험에 이용된 모든 초자류는 121℃, 15분 동안 멸균하였고, 실험 중 광합성 미생물 배양을 방지하기 위해 120mL의 amber serum bottle을 이용하였다. 혐기성 조건을 만족시키기 위해 질소 가스로 headspace를 20분 동안 세정하여 산소를 제거하였다.(DO≤0.5mg/L) 질산염양을 화학 양론적 관계에 따라 계산하여 bottle에 주입한 후, 약 2달간 혐기성 조건에서 25℃에서 150rpm으로 진탕기에서 배양한 균주를 BTEX와 MTBE 분해율을 측정하기 위한 접종 미생물(microcosms)으로 사용하였다. 또한, 일정기간 마다 톨루엔 분해를 확인하면서 혼합미생물의 OD(optical density)를 측정하여 혼합미생물의 성장을 관찰하여 일정한 세포성장을 보인 미생물을 실험에 사용하였다. 접종미생물의 평균적 OD(550nm)는 0.02~0.05 범위 이내였다. 배지(media)는 trace element solution 와 vitamin solution을 main reagent에 첨가하여 사용했으며, pH는 7±0.2로 조정하였다. 또한 KNO<sub>3</sub>를 사용하여 질산염의 농도를 조절하였다. 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(HgCl<sub>2</sub>) 500mg/L를 넣고 비교실험을 진행하였다. MTBE 등의 저장용액(stock solution)은 제조시 용해도를 초과하지 않는 범위로 만들었으며, 살균된 120ml amber serum bottle에 넣어 냉장보관 되었다. BTEX와 MTBE 분석은 불꽃이온화검출기(FID)와 HP-5 칼럼이 장착된 gas chromatography (HP58 90II)를 이용하였다. 100μl gas-tight syringe(Hamilton)로 50μl의 시료를 채취하여 GC에 주입하였다. GC의 운전조건은 오븐, 주입부, 그리고 검출기의 온도는 80℃, 250℃, 250℃ 각각 등온으로 분석하였다. MTBE, benzene, toluene, ethylbenzene, p-xylene의 머무름시간은 각각 4.00, 4.77, 6.40, 9.30, 9.70 min 이었다. 또한 일정한 미생물 접종을 위한 미생물성장측정과 질산염 농도 측정에는 HACH DR/4000U Spectrophotometer를 이용하여 optical density(OD)를 550nm에서 측정하였다. 그리고 용존산소는 YSI 58 Portable DO Meter를 사용하였다.

## 3.결과

실험에서는 탈질산화 조건에서 배양된 미생물을 이용하여 BTEX 구성물질인 benzene, toluene, ethylbenzene, p-xylene와 MTBE가 혼합된 조건에서 분해능을 살펴보았다. 질산염이 첨가되지 않은 호기성(초기 DO 5.2mg/L), 질산염이 첨가된 호기성(초기 DO 5.2mg/L), 질산염이 첨가된 혐기성(초기 DO 1mg/L 이하)으로 하여 살펴보았다. 또한 정확한 분해를 측정하기 위한 Control(대조 실험)를 두었다. 그 결과는 Fig. 1.~ Fig. 3.와 같은 혼합기질로 분해 특성을 보여준다. Fig. 1.은 실험기간중의 control의 농도 변화를 나타낸다. Fig. 2.는 질산염이 없는 호기성 조건에서의 실험 결과이다. 분해능은 toluene, ethylbenzene, p-xylene, benzene, mtbe, 순으로 나타났다. MTBE의 경우는 BTEX에 비해 분해속도가 느리게 나타났다. Fig. 3.는 질산염이 존재할 경우 혼합기질의 분해율을 관찰한 것이다. 질산염이 없는 호기성 반응과 유사한 분해속도를 나타냈다. 분해능은 toluene, ethylbenzene, benzene, mtbe, p-xylene순으로 나타났다. 질산염이 첨가되지 않은 Fig. 2.와 비교할 때 분해에 걸리는 시간이 상대적으로 줄어들었음을 알 수 있다. Fig. 4.는 혐기성 조건에서 질산염을 첨가한 경우이다. 호기성인 Fig.2 와 Fig 3을 비교할 때 분해시간이 느려짐을 관찰할 수 있었다. 특히, mtbe, p-xylene의 분해가 지연됨을 보였다. 호기성 조건에서 질산염의 추가가 있었던 Fig. 3.가 질산염이 없는 호기성 조건인 Fig. 2.에 비해 p-xylene의 경우 10hr이상 빠른 분해가 일어난 것을 미루어 볼 때, 질산염이 분해속도에 영향을 주었을 것이라고 사료된다. Fig. 5.는 BTEX를 제외한 MTBE의 분해를 혐기성 조건에서 질산염 부재와 질산염 추가할 경우의 분

해능을 보여준다. 분해는 매우 느렸으나, 질산염에 의한 생분해 강화가 있었음을 간접적으로 알 수 있었다. Fig. 3의 경우에는 질산염이 평균 28% 소비되었고, OD<sub>550</sub>는 초기 0.005에서 0.054로 나타났다. 호기성 조건에서의 기질분해는 지체기 없이 분해가 빠르게 이루어 졌고, 혐기성 조건에서도 얼마간의 지체기를 거쳐 생분해가 이루어짐을 관측할 수 있었다. 또한 산소가 부족한 오염도 양에서 질산염이 산소를 대신하여 미생물의 에너지원으로 전자수용체의 역할을 할 수 있음을 알 수 있었다.

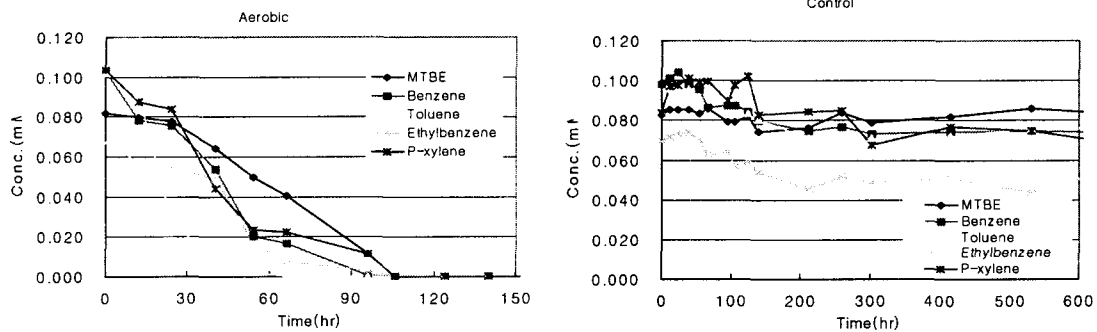


Fig. 1. Comparing of the control data of Fig. 2. Comparing the degradation rates of BTEX and MTBE by toluene-enriched mixed culture under toxic controtrbic conditon at 25°C

Fig. 2. Comparing the degradation rates of mixed substrates of BTEX and MTBE by toluene -enriched mixed culture under aerobic condition at 25°C

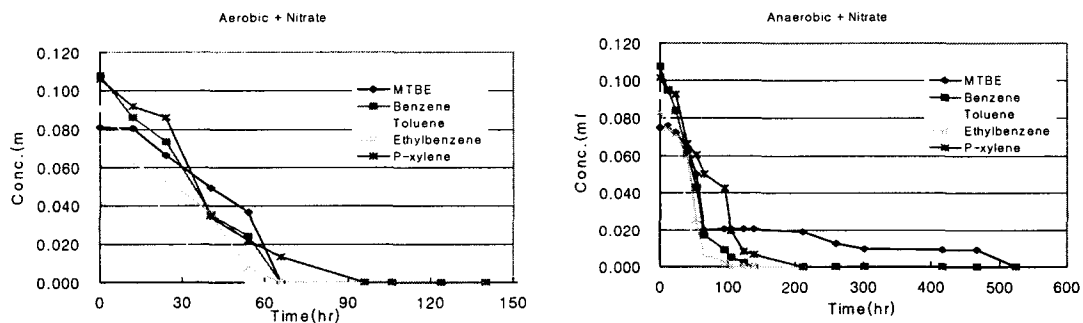


Fig. 3. Comparing of the control data of Fig. 4. Comparing the degradation rates of BTEX and MTBE by toluene-enriched mixed culture under aerobic/nitrate condition at 25°C

Fig. 4. Comparing the degradation rates of mixed substrates of BTEX and MTBE by toluene-enriched mixed culture under denitrifying condition at 25°C

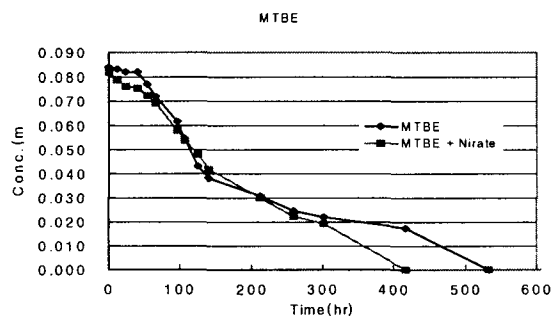


Fig. 5. Comparing the degradation rates of single substrate of MTBE by toluene-enriched mixed culture under denitrifying condition at 25

#### 4.참고문헌

- 1) Joacim Elmen, Wubin Pan, So Yan Leung, Andrew Magyarosy, J. D. Keasling., "Kinetics of Toluene Degradation by a Nitrate-Reducing Bacterium Isolated from a Groundwater Aquifer", *abaiotechnology and Bioengineering*, Vol. 55, No. 1, July 5, 1997
- 3) KEVIN T. FINNERAN AND DEREK R. LOVLEY., "Anaerobic Degradation of Methyl tert-Buthyl Ether(MTBE) and tert-Buthyl Alcohol(TBA), *Environ. Sci. Technol.* 2002, 35, 1785-1790
- 4) Robert C. Borden, Robert A. Daniel, Louis E. Lebrun IV, and Charles W. Davis., "Intrinsic biodergadation of MTBE and BTEX in gasoline-comtaminated aquifer", *Water Resources Research*, Vol. 33, No. 5, Pages 1105-1115, May 1997
- 5) 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