

ORIGINAL ARTICLE

MTBE를 포함한 기타 가솔린 첨가제의 생 분해 적용 가능성 평가(I) : 호기성 조건

정우진 · 장순웅^{1)*}

경기대학교 일반대학원 환경에너지공학과, ¹⁾경기대학교 환경에너지공학과

An Assessment of the Feasibility of (I) : Condition of Aerobic

Woo-jin Chung, Soon-woong Chang^{1)*}

Department of Environmental Energy Engineering, Graduate School of Kyonggi University, Suwon 16627, Korea

¹⁾*Department of Environmental Energy Engineering of Kyonggi University, Suwon 16627, Korea*

Abstract

MTBE and other gasoline additives contained in gasoline are known to be a refractory substance resistant to biodegradation. As a method of removing these substances, a research of method using native microbes of polluted soil was progressed and among these, bio-degradation possibility under aerobic condition was evaluated. All of the experiments were progressed based on batch experiment of lab scale and analyzed by GC-FID using HS-SPME technique. The result of bio-degradation experiment based on MTBE and other additives(ETBE, TAME) was observed below 1 mg/L, which initial concentration were 100 mg/L for each method. And through production of by-product and CO₂, partial mineralization was confirmed. Degradation velocity of each additive was promptly represented in the order of TBA>ETBE>MTBE>TAME. Through this study, bio-degradation possibility of native microbes of oil polluted soil, MTBE and other gasoline additives was confirmed and it was considered that the result could be used for basic experiment data in removing oil pollutants of soil.

Key words : MTBE, Bio-degradation, Aerobiv, TBA

1. 서론

가솔린은 원유 생산물의 대표적인 물질로 다양한 탄화수소로 구성되며, 연료 요구 성능 및 환경 규제 기준에 따라 정제 시 그 성분함량이 조정된다. 가솔린의 18%(Wet.) 이상을 구성하는 BTEX(benzene, toluene, ethylbenzen, o-, m-, p-xylene)는 주로 유류저장탱크와 다양한 산업공정으로부터 배출된다. BTEX는 다른 가솔린 성분 중에서 상대적으로 물에 대한 용해성이 크

며, 인체에 유독하고, 특히, 대표적인 발암성 물질로 분류된다(Lee, 2005).

가솔린의 옥탄가 향상, 무연휘발유 생산과 자동차 배출가스내의 CO와 HC를 감소시키는 환경 친화적인 첨가제로 MTBE(methyl tertiary butyl ether)와 기타 가솔린 첨가제(ETBE, TAME 등)를 혼합하였다. 이와 같은 물질들은 1990년 미국에서 일산화탄소 기준 미달성 지역 41개 도시에 산소함량 2.7%(vol.) 이상의 함산소 기재를 첨가하는 대기정화법 개정안(CAAA, clean air

Received 12 January, 2016; Revised 6 May, 2016;

Accepted 17 May, 2016

*Corresponding author : Soon-woong Chang, Department of Environmental Energy Engineering, Kyounggi University, Suwon 16627, Korea

Phone : +82-31-249-9739

Email : swchang@kyonggi.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

act amendments)이 미 의회에서 통과되어 휘발유의 완전 산화를 보조하는 산소첨가제(oxygenates)로 본격적으로 사용되었다(Peaff, 1994).

유류 탄화수소인 BTEX는 NAPLs (non-aqueous phase liquids) 상태로 지하에 존재한다. 대수층에서 소수성 물질로 존재하는 방향족 탄화수소는 토양에 흡착되어 오염을 악화시키고, 지하수의 오염원으로 오랜 시간 동안 존재하여, 질량변화가 매우 느리다. 반면에, MTBE는 BTEX에 비해 수용해도가 더욱 높아 지하물질에 거의 흡착이 되지 않아 유동이 흡착에 의해 지연되기 어렵기 때문에 오염지역이 광범위하다. Borden 등에 따르면, MTBE의 생분해 경향이 BTEX에 비해 효율이 낮게 나타났다고 보고하였다(Borden et al., 1997).

MTBE의 생분해는 BTEX 성분과는 달리 생물학적으로 분해가 쉽지 않아 난분해성 물질로 분류되며, 이는 에테르(C-O-C)결합이 화학적으로 안정하기 때문이다(White et al., 1996). 생물학적 MTBE 분해는 MTBE 자체를 탄소원과 에너지원으로 사용하는 미생물을 이용하는 방법(Landmeyer et al., 1998; Salanitro et al., 1994a)과 일차성장기질(primary growth substrate)을 이용하는 미생물에 의해 MTBE의 생분해를 유도하는 공대사적 분해(cometabolic degradation)로 나뉜다(Hyman and O'Reilly, 1999).

호기성 조건에서 BTEX 분해연구는 대부분의 오염지역에서 BTEX가 동시에 존재하므로 이들 물질 간의 상호 기질 반응에 대한 연구가 활발히 이루어졌다(Alvarez and Voge, 1991; Deeb and Lisa, 1999; Yeom and Yoo, 1997). 하지만 BTEX와 함께 존재하는 MTBE 및 기타 가솔린 첨가제와의 상호 기질 반응에 대한 연구는 분해능이 밝혀진 순수균주와 혼합균주를 이용한 생 분해 연구가 일부만 진행된 실정이다. Anthony 등에 따르면 현장규모에서 BTEX 및 MTBE 생분해를 설명하기 어렵기 때문에 자체 생분해(intrinsic bioremediation) 능력을 설명하기 위해서는 실험실 규모의 microcosm 연구가 시급하며, 실험실 규모의 연구 결과는 현장규모의 실험을 위한 기초단계 연구로써, BTEX 및 MTBE의 생분해 가능성과 분해특성을 제시할 수 있을 것으로 시사하였다(Anthony, 1999).

본 연구에서는 실험실 규모의 회분식 실험을 통하여 국내의 유류오염토양의 토착미생물(indigenous microcosms)

을 이용하여 호기성 조건에서 MTBE와 기타 가솔린 첨가제의 생분해 특성을 분석하여 지중 생물학적 처리(in-situ bioremediation)의 적용 가능성을 파악하였다.

2. 연구방법

2.1. 시약재료

실험에 사용된 시약은 가능한 분석용 고순도의 시약을 구입하여 사용하였다. MTBE(99%, Methyl *tert*-Butyl ether), ETBE(97%, Ethyl Tertiary Butyl Ether), TAME(94%, Tertiary Amyl Methyl Ether)는 ACROS ORGANICS(New Jersey, U.S.A.)에서 구입했다. TBA(99%, *tert*-Butyl alcohol)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입했고 TBF(99%, *tert*-Butyl formate)와 TAA(*tert*-amyl alcohol)는 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, U.S.A.)에서 구입했다. O₂ gas (99%)는 (주)성강가스에서 구입했으며, 상기에 나타내지 않은 시약은 Aldrich Chemical Co.(U.S.A.), Fisher Scientific Co.(U.S.A.) 또는 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)로부터 구입했다. 실험을 위한 모든 저장용액(stock solution)은 제조 시 수용해도를 초과하지 않는 범위로 만들었으며, 멸균된 120 mL 갈색시약병에 넣어 테프론 실리콘 격막과 알루미늄 마개로 막은 후 냉장보관 하였다.

2.2. 미생물 배지 조성

탄소원이 없는 basal salt medium (BSM)은 다량영양소와 미량영양소 두 무기영양물질의 stock solution으로 준비하였으며, 4°C에서 보관하여 필요 시 적당량 취하여 121°C에서 15분간 멸균 후 사용하였다. BSM media를 만들기 위해 다량영양소의 20배 농축액인 stock A와 미량영양소의 20배 농축액인 stock B를 만들었다. 먼저 stock A는 멸균된 1 L 용량플라스크에 증류수 700 mL를 채우고, potassium phosphate(K₂HPO₄ · 3H₂O) 85 g, sodium phosphate(NaH₂PO₄ · H₂O) 20 g, ammonium chloride (NH₄Cl) 40 g을 넣어 1 L 까지 증류수로 채우고 녹인다. Stock B는 HCl로 pH 4~5로 맞춘 증류수를 1 L 용량플라스크에 700 mL를 채우고, nitrilotriacetic acid(N(CH₂CO₂Na)₃ · H₂O) 2.46 g, magnesium sulfate (MgSO₄ · 7H₂O) 0.4 g, ferrous sulfate(FeSO₄ · 7H₂O) 0.24 g, manganese sulfate(MnSO₄ · H₂O) 0.06 g, zinc

Table 1. The composition of the basal salt medium (BSM) medium

Stock A (per 1 L)		Stock B (per 1 L ; using D.W. at pH 4~5)	
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	85 g	N(CH ₂ CO ₂ Na) ₃ ·H ₂ O	2.46 g
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	20 g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.40 g
NH ₄ Cl	40 g	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.24 g
		MnSO ₄ ·H ₂ O	0.06 g
		ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.06 g
		CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.02 g

sulfate(ZnSO₄ · 7H₂O) 0.06 g, cobalt chloride(CoCl₂ · 6H₂O) 0.02 g을 넣어 1 L까지 증류수로 채우고 녹인다. Stock A 50 mL와 stock B 50 mL를 1 L의 용량플라스크에 넣고 나머지는 증류수로 표선까지 채운 후 pH를 6.8~7.1로 맞추어 사용하였다(Table 1).

2.3. MTBE 및 기타 가솔린 첨가제의 호기성 생분해 실험

실험에 사용된 모든 초자류 및 기기는 고압증기 멸균기를 이용하여 121 °C, 15분간 멸균하여 사용하였으며, 광합성에 의한 미생물 성장을 최소화하기 위해 갈색시약병(120 mL)을 이용하였다. 호기성 생분해 실험에서는 유류오염토양 5 g(건조토양)을 갈색시약병(120 mL)에 넣고 각각 BSM 배지 50 mL를 첨가하고 테프론 실리콘 격막과 알루미늄 마개로 막은 후, 진공 펌프로 bottle 내부의 공기를 제거하고 호기성 조건을 유지시켜주기 위해 O₂ 10 mL를 주입하고 나머지 headspace는 공기로 채워 주었다. 부식물질의 존재여부에 따른 토착미생물의 생분해 경향을 알아보기 위해 부식물질이 포함되지 않은 유류오염토양 5 g의 24시간 호기성 배양액 1 ml와 유류오염토양 5 g의 24시간 호기성 배양액 1 ml를 갈색시약병에 넣고 BSM 배지 50 mL를 첨가하고 MTBE 초기 주입 농도를 100 mg/L(액상농도)로 조정하여 140일 동안 생분해 경향을 관찰하였다. 더하여, 시약병 내의 생물학적 분해를 정확히 관찰하고 휘발 및 비생물학적인 요인에 의한 시료의 손실을 보정하기 위해 실험 조건과 동일한 시약병에 HgCl₂ 20 mg/L를 주입하여 killed control로 준비하여 비교실험을 하였다. 초기 주입량은 MTBE 50, 100 mg/L이며 진탕배양기에서 25 °C, 150 rpm으로 배양하였다. 실험 조건에 따라 MTBE, TAME, ETBE,

TBA 각각 100 mg/L(액상농도)를 주입하였다.

2.4. MTBE 및 기타 가솔린 첨가제의 분석 방법 및 CO₂ 측정 방법

MTBE 및 기타 가솔린 첨가제의 동시 분석을 위하여 HS-SPME (head space-solid phase micro extraction) 기법을 이용하였으며, CAR/PDMS 75 µm fiber를 사용하여 bottle의 headspace에서 10분 흡착, 5분 탈착하여 GC-FID에서 분석하였다. 분석에는 Agilent 6890N 가스 크로마토그래피를 사용하였다. GC의 운전 조건은 주입부(injector), 검출기(detector)의 온도가 각각 270 °C이며, MTBE, TBA, TBF 분석시 오븐(oven) 온도는 40 °C 등온(isothermal mode)으로 7 분을 유지하였다. 시료의 연속 분석시 유류오염토양의 기타 물질이 GC peak로 나타나 MTBE, TBA의 peak와 겹치는 문제를 없애기 위해 250 °C에서 5분을 post run한 후 다음 분석이 이루어졌다. TAME, ETBE, TAA 분석시 오븐 온도는 40 °C 등온(isothermal mode)으로 11분을 유지하고, 위의 분석과 유사하게 연속 분석시 GC peak 겹침 문제를 해결하기 위해 250 °C에서 5분을 post run하여 총 분석시간을 최적화하였다(Table 2).

CO₂ 측정에는 HP 6890 가스 크로마토그래피를 이용하였으며, 검출기는 TCD (thermal conductivity detector)를 사용하여 headspace의 농도를 분석하였다. 가스 주입부는 150 °C로 조정했으며, 검출기 온도는 250 °C로 조정하였다. Oven 온도는 50 °C에서 3분을 유지하다가, 20 °C/min으로 100 °C까지 승온하여 3분을 유지하고, 20 °C/min으로 180 °C까지 승온한 뒤 1.5분을 유지하였다 (Table 3).

Table 2. GC/FID operating parameters

GC system	Agilent 6890N 가스크로마토그래피
Detector	FID (flame ionization detector)
Column	HP-5 (5% Phenyl Methyl Siloxane, Capillary, 50.0 m × 200 μ m × 0.33 μ m film)
Carrier gas	N ₂ (1.0 mL/min)
Injection port system	split mode=2
Injector Temp.	270°C
Detector Temp.	270°C
Oven Temp.	MTBE, TBA, TBF 7 min at 40°C, post run 5 min at 250°C
	TAME, ETBE, TAA 11 min at 40°C, post run 5 min at 250°C

Table 3. GC/TCD operating parameters

GC system	Agilent 6890N 가스크로마토그래피
Detector	TCD (thermal conductivity detector)
Column	HP-5 (Carboxen 1000, Packed, 15 ft × 1/8")
Carrier gas	He (35 mL/min)
Detector Temp.	250°C
Oven Temp.	3 min at 50°C, 20°C/min to 100°C, held 3 min, 20°C/min to 180°C, held 1.5 min

3. 결과 및 고찰

3.1. 유류오염토양에서 분리된 토착훈합균주에 의한

MTBE의 호기성 생분해 특성

본 실험은 토착미생물을 이용하여 국내유류오염토양의 MTBE를 제거하는 실험을 진행하였다. 실험조건은 호기성조건에서 진행하였으며 회분식 실험을 통해 평가하였다.

호기성 직접 산화(direct aerobic oxidation)는 분해 대상이 미생물 물질 대사와 성장에 직접적인 연관을 맺고, 이를 미생물이 분해하는 메커니즘이다. 본 실험에서는 유류오염토양의 토착미생물을 대상으로 MTBE와 BTEX를 전자공여체(electron donor)로 이용하고 전자 수용체(electron acceptor)로는 산소를 이용하여 MTBE의 분해 경향을 평가하였다.

일반적으로 유류오염토양 내에는 현장 특성에 따라 차이가 있겠지만, 토양 내에는 부식물질이 존재할 것이다. Lovley et al.(1996)은 MTBE의 혐기성 생분해에서 부식물질이 Fe(III) oxides에게 전자 이동자 역할을 함으

로써 부식질 추가는 MTBE 생변형을 증진시킬 수 있다고 보고되었다. 본 호기성 생분해 실험에서 이러한 현장 토양의 부식물질이 호기성 조건에서도 MTBE 생변형에 미칠 영향을 조사하였다. 실험 결과, 유류오염토양을 대상으로는 약 90일 후에 MTBE 100 mg/L가 호기성 조건하에서 1 mg/L 이하로 분해됨이 관찰되었다. 부식물질이 포함되지 않은 동일한 유류오염토양의 24시간 배양액의 경우에는 MTBE 100 mg/L의 호기성 생분해에 약 140일 이상이 소요되는 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 이는 호기성 배지 이외에 유류오염토양 내에 존재하는 부식물질은 토착 미생물에 의한 MTBE의 생분해를 촉진시키는 것으로 보이며, 따라서 처리대상 현장의 토양특성의 다양성에 따라 생분해 경향도 다르게 나타날 것으로 예상된다.

MTBE 초기 주입 농도에 따른 분해경향을 알아보기 위하여 유류오염토양을 대상으로 MTBE의 초기 주입 농도를 각각 50, 100 mg/L(액상농도)로 조정하여 실험한 결과, 50 mg/L의 경우 60~70일경에 MTBE 농도

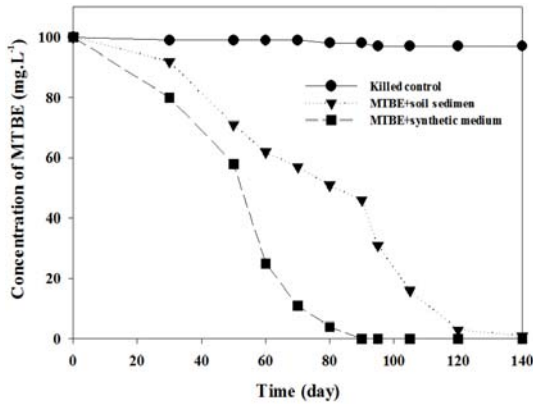


Fig. 1. Effect of humic substances of soil microcosms on MTBE utilization. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L. Data represents the means of duplicate analyses.

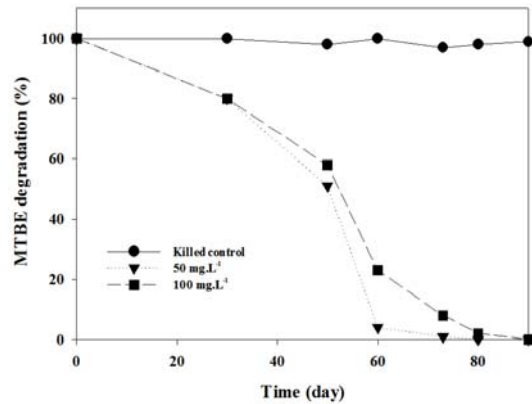


Fig. 2. Effect of the initial MTBE concentration (50, 100 mg/L) on MTBE utilization in soil microcosms. Data represents the means of duplicate analyses.

1 mg/L로 분해되는 것으로 나타났으며, 100 mg/L의 경우에는 90일 이후에 MTBE 농도 1 mg/L 이하로 분해됨이 관찰되었다. 또한 MTBE 초기 생분해 속도는 거의 비슷하지만 50일 이후부터 MTBE 50 mg/L의 농도에서는 빠르게 분해되었다(Fig. 2). 이 결과는 MTBE의 농도가 낮은 토착혼합균주가 농도가 높은 토착혼합균주보다 MTBE 농도에 대한 부하를 적게 받아 생분해 속도가 증가된 것으로 사료된다.

3.2. 유류오염토양에서 분리된 토착혼합균주에 의한

MTBE의 호기성 생분해 중간 생성물 특성

Borden et al.(1997)은 대수층을 대상으로 263일 동안 MTBE 5 μmol 을 주입하고 MTBE와 TBA의 생분해 경향을 살펴보았다(Pruden and Suidan, 2004). 이 실험에서 MTBE는 실험시작 후 93일부터 제거되었는데, 분해속도는 0.001 day^{-1} 이었으며, TBA는 최고 MTBE의 17 %가 축적되는 것으로 나타났다. 본 실험에서의 MTBE의 주입농도와 위의 실험에서 주입된 MTBE 농도가 틀린 점을 감안하고 분해속도만 비교해 본다면, MTBE 100 mg/L의 생분해 속도는 0.043 day^{-1} 로서 위의 실험 결과와 비교해 매우 빠른 분해속도를 나타냈으며 TBA는 축적되지 않고 계속적으로 분해되었다. TBA는 MTBE 지질대사(mammalian metaboism)의 산물로서 MTBE 생 자연감쇠(bioattenuation)에 대한 중요한 지시자로서 여겨지며(Kharoune et al., 2001), 공대사에

서 TBA의 산화는 MTBE의 산화에 비해 어려워 MTBE 분해속도에 비해 느린 것으로 보고되어 있다. 또한 일반적으로 프로판 등의 일차기질을 이용하여 MTBE 생분해를 유도하는 공대사 반응에서는 생분해에 의한 TBA 축적이 미생물에 독성으로 작용하여 생분해를 억제하는 것으로 보고되어져 있다(Steffan et al., 1997). 그러나 본 실험에서는 TBA의 분해속도가 MTBE의 분해속도에 비해 빨라 MTBE 초기산화에 의한 TBA의 축적이 발생되지 않아 토착혼합균주에 미치는 독성 효과 없이 MTBE 분해와 동시에 TBA의 분해가 이루어진 것으로 사료된다. 75일 이후 MTBE의 농도가 1 mg/L 이하로 분해된 시점을 미생물의 기질이용도가 활성화된 시점으로 보고, MTBE 100 mg/L(액상농도)를 재주입했을 경우에는 지체 없이 초기 생분해 속도보다 빠르게 분해되었다. 이는 초기 주입시보다 기질에 대하여 미생물이 이용도가 활성화된 상태에서 재주입할 경우에는 생분해율이 증가하여 분해속도가 증가하는 것으로 사료된다.

본 실험에서 중간생성물 생성을 관찰한 결과, TBA와 TBF가 생성되었으며 TBA와 TBF는 축적되지 않고 계속적으로 분해되었다(Fig. 3). 또한 MTBE의 생분해에 따른 CO_2 생성량은 MTBE 농도와 반비례하는 경향을 보여주었으며, MTBE 100 mg/L의 생분해가 완전하게 이루어진 90일 후 시약병의 head space 내 CO_2 생성량은 3.8%(v/v)로 관찰되었다. 이는 미생물의 호흡에 의한

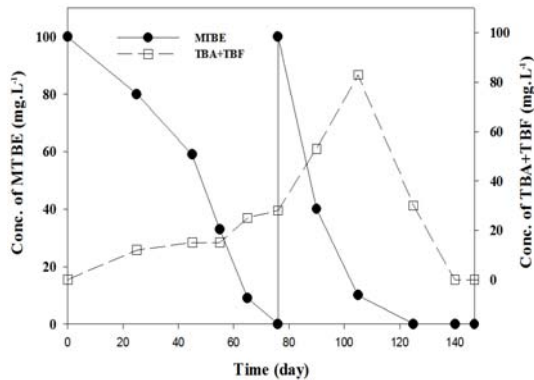


Fig. 3. Time course of aerobic biodegradation of MTBE (A) and TBA, TBF (B) production in soil microcosms. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L. Arrow indicate the respire of MTBE after 75 days and 100 mg/L MTBE was respiked. Data represents the means of duplicate analyses.

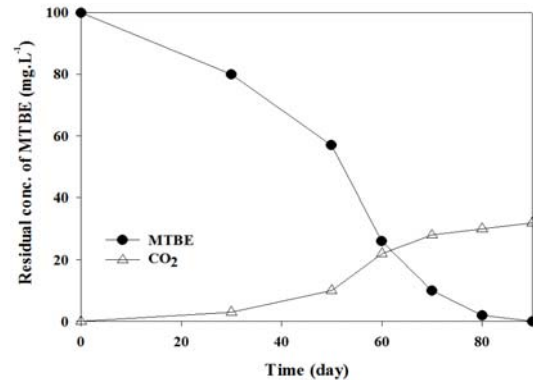


Fig. 4. Time course of aerobic biodegradation of MTBE and CO₂ production in soil microcosms. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L and data represents the means of duplicate analyses

CO₂ 생성 및 MTBE 생분해와 동시에 부분적인 무기화가 진행되고 있음을 나타낸다(Fig. 4).

MTBE 생분해 중간생성물인 TBA의 지속적인 생분해를 재확인하기 위하여 MTBE의 농도가 1 mg/L 이하로 분해되어 미생물이 기질에 대해 활성화된 시점을 기준으로 TBA 100 mg/L(액상농도)를 주입하여 수행한 실험 결과, TBA의 생성과 동시에 분해가 이루어지는 것으로 관찰되었으며, 축적되지 않고 계속적으로 분해되었다(Fig. 4). 또한 75일 이후 MTBE의 재주입한 경우(Fig. 3)의 MTBE 생분해 속도보다 86일 이후 TBA 주입한 경우(Fig. 5)의 TBA의 생분해 속도가 보다 빠른 것으로 관찰되었다. 이는 MTBE의 생분해 속도보다 중간생성물인 TBA의 생분해 속도가 빠른 것을 나타내며, 중간생성물 생성에 따른 미생물의 생분해 활성도 저하가 나타나지 않아 TBA가 축적되지 않고 다음 단계의 분해산물로 계속적으로 생분해됨을 알 수 있다. MTBE의 중간생성물로 TBA는 MTBE의 물질대사가 종료된 이후에 물질대사가 일어나는 것으로 보고된 바 있다(Salanitro et al., 1999b). Schirmer et al.(1999)은 MTBE 0.5~2 μmol 을 대수층을 대상으로 주입하여 실험하였는데, 이 실험에서 중간생성물인 TBA는 축적되지 않고 본 실험과 비슷한 경향으로 계속적으로 분해되었으며, 이 실험에서 TBA 1차반응속도는 0.12 day^{-1} 로

서 MTBE 1차반응속도 0.04~0.07 day^{-1} 에 비해 빠른 경향을 보여주었으며, 이는 본 실험에서 MTBE 반응속도가 중간생성물인 TBA 반응속도에 비해 느린 것과 같은 분해경향이 나타났다(Borden et al., 1997). TBA의 지속적인 생분해는 TBA의 반응속도가 MTBE 반응속도에 비해 빠르기 때문에 TBA의 축적으로 인한 독성작용의 영향을 받지 않는 것으로 사료된다.

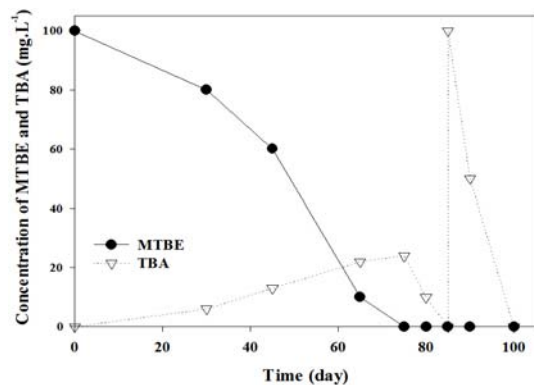


Fig. 5. Time course of aerobic biodegradation of MTBE and TBA production in soil microcosms. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L. Arrow indicate the spike of TBA after 86 days and 100 mg/L TBA was respiked. Data represents the means of duplicate analyses.

Table 4. The first order degradation rate constant of MTBE and TBA in this study

Condition	Experimental time (days)	Sample	Substrate	MTBE degradation rate (day ⁻¹)	TBA+TBF degradation	TBA degradation rate (day ⁻¹)
aerobic	0-140	synthetic medium	MTBE= 100 mg/L	0.027		
	0-80		MTBE= 100 mg/L	0.043	yes (not accumulated)	-
	75-125	soil microcosms	respike MTBE= 100 mg/L	0.121		
	86-100		spike TBA= 100 mg/L	-	-	2.649

본 연구의 MTBE 호기성 생분해 실험을 바탕으로 1차반응속도를 구한 결과, 유류오염토양에서 80일 이후 MTBE 농도가 1 mg/L 이하로 분해된 시점까지의 MTBE 1차반응속도는 0.043 day⁻¹로서, 부식물질이 포함되지 않은 호기성 배양액에서 140일 이후 MTBE 농도가 1 mg/L 이하로 분해된 시점까지의 MTBE 1차반응속도 0.027 day⁻¹에 비하여 1.57배 빠른 것으로 나타났다. 또한 유류오염토양에서 75일 이후 MTBE를 재주입한 경우의 MTBE 1차반응 속도는 0.121 day⁻¹로서 초기 주입시의 MTBE 1차반응속도보다 약 2.8배 증가한 것으로 나타났으며, 86일 이후 TBA를 주입한 경우의 TBA 1차반응속도는 2.649 day⁻¹로서 상대적으로 MTBE 재주입시의 MTBE 생분해 속도에 비해 상당히 빠른 분해율을 나타내었다(Table 4).

3.3. MTBE 분해 균주에 의한 기타 가솔린 첨가제의 호기성 생분해 특성

국내 유류오염토양의 토착 미생물을 이용하여 MTBE와 더불어 가솔린 옥탄가 향상제로 쓰이는 ETBE, TAME, TBA의 생분해 실험을 위해서 초기 탄소원인 MTBE 주입량을 100 mg/L(액상농도)로 하고, MTBE 농도가 1 mg/L 이하로 감소되어 미생물의 MTBE 분해 활성도가 높아진 시점에서 각각 가솔린 첨가제인 MTBE, TBA, ETBE, TAME 100 mg/L(액상농도)를 주입시켜 각 물질을 생분해 경향을 살펴보았다.

실험 결과, ETBE, TAME를 주입한 후 약 40일 경과 후 100 mg/L에서 1 mg/L이하로 생분해되었으며, 앞서

실험한 MTBE의 재주입시의 분해경향(Fig. 3)과 유사한 분해 경향을 보여주었다(Fig. 6, Fig. 7).

몇 가지 연구결과에서 MTBE의 에테르 결합은 지배적인 관찰 가능한 물질대사 중간생성물로서 Formaldehyde와 효소적인 반응으로 쪼개진 TBA로 제시되고 있다(Salanitro et al., 1999). 이것은 빠른 가수분해에 기인하며, TBA로의 빠른 변환은 관찰 가능한 수준에서 추적되지 않는다고 보고하였다(Landmeyer et al., 1998). Hernandez et al.(2001)에 따르면, TBA는 MTBE, ETBE와 TAME에 의해 분해되어진 TAA로부터 생산되며, 선택성이 다양한 효소시스템에 의해서 분해되어졌다고 보고하였다. Church et al.(2000) 또한 같은 분해과정을 보고하였으며, TBA가 생성되는 모든 과정이 유사한 효소 시스템에 의해 진행됨을 주장하였다. MTBE의 농도가 1 mg/L 이하로 감소되어 ETBE 100 mg/L를 주입한 경우에도 TBA의 지속적인 생성이 관찰되었으며, TBA는 추적되지 않고 계속적으로 분해되었다. 또한 ETBE의 분해량에 비해 양론적으로 TBA의 생성량이 적은 것으로 보아 TBA의 생성과 분해가 동시에 일어나는 것으로 보인다. ETBE 100 mg/L의 호기성 생분해에 따른 CO₂ 생성량은 ETBE 농도 감소와 반비례의 경향을 보여주었으며, 이는 미생물의 호흡에 의한 CO₂ 생성 및 ETBE 생분해와 동시에 부분적인 무기화가 진행되고 있음을 나타낸다(Fig. 6).

TAA는 TAME의 생분해 중간생성물로서, MTBE의 농도가 1 mg/L 이하로 감소되어 TAME 100 mg/L를 주입하여 생분해 경향을 관찰한 결과, TAA의 지속적인

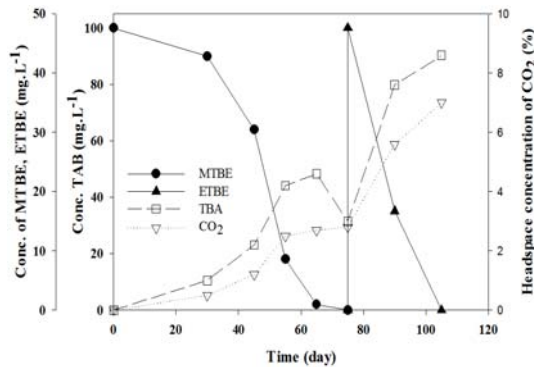


Fig. 6. Time course of MTBE and ETBE biodegradation in soil microcosms (A). The graph (B) and (C) represent the production of TBA and CO₂. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L and 100 mg/L ETBE was respiked after 75 days. Data represents the means of duplicate analyses.

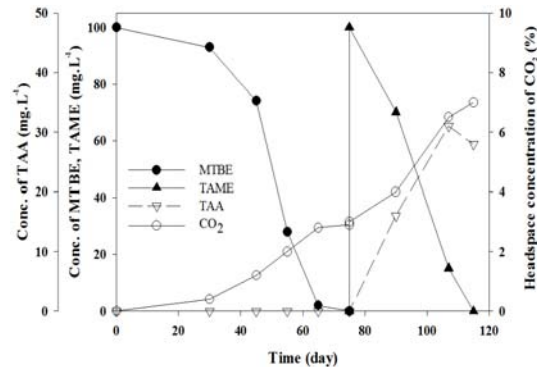


Fig. 7. Time course of MTBE and TAME biodegradation in soil microcosms (A). The graph (B) and (C) represent the production of TAA and CO₂. The initial conc. of MTBE was 100 mg/L and 100 mg/L TAME was respiked after 75 days. Data represents the means of duplicate analyses.

생성이 관찰되었으며, TAME의 분해량에 비해 양론적으로 TAA의 생성량이 적은 것으로 보아 TAA의 생성과 분해가 동시에 일어나는 것으로 사료된다. TAME의 생분해에 따른 CO₂ 생성량은 TAME 농도 감소와 반비례의 경향을 보여주었으며, 미생물의 호흡에 의한 CO₂ 생성 및 부분적인 무기화가 진행되고 있음을 나타냈다(Fig. 7).

본 연구의 ETBE, TAME 호기성 생분해 실험을 바탕으로 각 물질의 1차반응속도를 구한 결과, 유류오염토양에서 ETBE 주입시점인 75일부터 ETBE 농도가 1 mg/L 이하로 분해된 107일까지의 1차반응속도는 0.167 day⁻¹로서, TAME 주입시점인 75일부터 TAME 농도가 1 mg/L 이하로 분해된 115일까지의 1차반응속도 0.059 day⁻¹에 비하여 2.8배 정도 빠른 것으로 나타났다. 이는 앞서 실험한 MTBE 재주입시의 1차반응속도 0.121

day⁻¹와 비교하여 ETBE 주입시의 1차반응속도가 1.4배 정도로 가장 빠른 생 분해율을 나타내었다. TAME의 경우 MTBE보다 2.1배 정도 느린 생분해율을 지닌 것으로 관찰되었다. MTBE, ETBE의 중간생성물인 동시에 가솔린 첨가제로 직접 사용될 수 있는 TBA의 재주입시 1차반응속도는 2.649 day⁻¹로서 MTBE 재주입시 1차반응속도 0.121 day⁻¹에 비해 빨랐으며, TBA > ETBE > MTBE > TAME의 순서로 빠르게 나타났다 (Table 5).

4. 결론

본 연구에서는 국내 유류오염토양의 토착 미생물을 이용하여 실험실 규모의 회분식 실험을 통하여 호기성 조건에서 가솔린 첨가제인 MTBE, ETBE, TAME의 생

Table 5. The first order degradation rate constant of MTBE, TBA, ETBE and TAME in this study

Culture	Condition	Experimental time (days)	Sample	Substrate	Degradation rate (day ⁻¹)
MTBE oxidizing mixed culture	aerobic	75-125	soil microcosms	MTBE=100 mg/L	0.121
		86-100		TBA=100 mg/L	2.649
		75-107		ETBE=100 mg/L	0.167
		75-115		TAME=100 mg/L	0.059

분해 가능성 및 특성을 살펴보았다. 이를 통해 지중 생물학적 처리(In-situ Bioremediation)의 적용 가능성을 검토하였다.

1. 호기성 MTBE 생분해 실험에서 유류오염토양내에 존재하는 부식물질은 토착 미생물에 의한 MTBE 및 중간생성물인 TBA의 생분해를 촉진시켰다.

2. 호기성 조건하에서 MTBE 재주입시에는 생분해속도가 증가했으며, MTBE에 비해 중간생성물인 TBA의 생분해 속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 중간생성물 생성에 따른 생분해 활성도 저하가 나타나지 않아 TBA가 축적되지 않아 계속적으로 생분해되었다. MTBE 생분해됨에 따라 미생물의 호흡과 부분적인 무기화에 의해 CO₂가 생성되었다.

3. ETBE, TAME 등 기타 가솔린 첨가제의 호기성 생분해 실험에서는 MTBE의 재주입시의 분해 경향과 유사하게 재주입시에는 생분해율이 증가했으며, 각각 ETBE와 TAME의 생분해 중간 생성물인 TBA와 TAA가 생성되었고, 축적되지 않고 계속적으로 분해되었다. 1차반응속도는 ETBE > MTBE > TAME의 순서로 빠르게 나타났다.

이를 통해 지중 생물학적 처리 시 가솔린 첨가제의 호기성 생분해 가능성을 확인 하였다. 또한, 중간 생성물의 생성 및 제거, 각각의 첨가물의 반응속도를 통해 호기성 생분해 특성을 제시하였다. 추후, 미생물 호흡에 기인한 지하수의 산소 희박 조건(혐기성 조건)에서의 생분해 가능성을 확인하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 2013학년도 (2016년) 경기대학교 대학원 연구원장학생 장학금 지원에 의하여 수행되었음.

REFERENCES

- Alvarez, P. J., Vogel, T. M., 1991, Substrate interactions of benzene, toluene and para-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries, *Applied and Environmental Microbiology*, 57(10), 2981-2985.
- Anthony, j. w., 1999, Methodology to evaluate natural attenuation of methyl tertiary-butyl ether, *Natural attenuation of chlorinated solvents, petroleum hydrocarbons, and other organic compounds*, B. C. Alleman and A. Leeson, (Eds.), Battelle, Columbus, Ohio, 121-133.
- Borden, R. C., Robert, A. D., Louis, E., leBrun, I. V., Charles, W. D., 1997, Intrinsic biodegradation of MTBE and BTEX in a gasoline-contaminated aquifer, *Water Resources Research*, 33(5), 1105-1111.
- Church, C. D., Tratnyek, P. G., Scow, K. M., 2000, Pathways for the degradation of MTBE and other fuel oxygenates by isolate PM1, *ACS National Meeting Book of Abstracts.*, 2 ed., 40, 261-263.
- Deeb, R. A., Lisa, A. C., 1999, Temperature effects and substrate interactions during the aerobic biotransformation of BTEX mixtures by toluene -enriched consortia and *Rhodococcus rhodochrous*, *Biotechnology and Bioengineering*, 62(5), 526-536.
- Eve, R. R., 1998, Remediation of petroleum contaminated soils, LEWIS Publishers, U.S.
- Hernandez, P. G., Fayolle, F., Vandecasteele, J. P., 2001, Biodegradation of ethyl t-butyl ether (ETBE), methyl t-butyl ether (MTBE) and t-amyl methyl ether (TAME) by *Gordonia terrae*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55(1), 117-121.
- Hyman, M. R., O'Reilly, K., 1999, Physiological and enzymatic features of MTBE-degrading bacteria, *In Situ Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons and Other Organic Compounds*, B. C. Alleman and A. Leeson (Eds.), Battelle Press, Columbus, OH., 7-12.
- Kharoune, M., Pauss, A., Lebeault, J. M., 2001, Aerobic biodegradation of an oxygenates mixture: ETBE, MTBE, and TAME in an upflow fixed-bed reactor, *Water Research*, 35(7), 1665-1667.
- Landmeyer, J. E., Chapelle, F. H., Bradley, P. M., Pankow, J. F., Church, C. D., Tratnek, P. G., 1998, Fate of MTBE relative to benzene in a gasoline-contaminated aquifer (1993~1998), *Groundwater Monitoring & Remediation*, 18(4), 93-102.
- Lee, K. H., 2005, Laboratory-scale microcosm studies in assessing enhanced bioremediation potential of BTEX and MTBE under aerobic and anaerobic conditions in contaminated soil, *Kyonggi University*, 1-3 (in Korean).
- Lovley, D. R., Woodward, J. C., Chapelle, F. H., 1996, Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of

- chelated Fe(III) forms, *Applied and Environmental Microbiology*, 62(1), 288-291.
- Peaff, G., 1994, Court ruling spurs continued debate over gasoline oxygenates, *Chemical and Engineering News*, 72(39), 8-13.
- Pruden, A., Suidan, M., 2004, Effect of benzene, toluene, ethylbenzene, and p-xylene (BTEX) mixture on biodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) and tert-butyl alcohol (TBA) by pure culture UC1, *Biodegradation*, 15(4), 213-227.
- Salanitro, J. P., Diaz, L. A., Williams, M. P., Wisniewski, H. L., 1994, Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl ether, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(7), 2593-2596.
- Salanitro, J. P., Spinnler, G. E., Neaville, C. C., Maner, P. M., Steams, S. M., 1999, Demonstration of the enhanced MTBE bioremediation in-situ process, B. C. Alleman, A. Leeson, (Eds.), Battelle, Columbus, Ohio, 37-46.
- Schirmer, M., Butler, B. J., Barker, J. F., Church, C. D., Schirmer, K., 1999, Evaluation of biodegradation and dispersion as natural attenuation processes of MTBE and Benzene at Borden field site, *Phys. Chem. Earth (B)*, 24(6), 557-560.
- Steffan, R. J., McClay, S. V., Condee, C. W., Zhang, D., 1997, Biodegradation of the gasoline oxygenates methyl t-butyl ether, ethyl t-butyl ether, and tert-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(11), 4216-4222.
- White, G. F., Russell, N. J., Tidswel, E. C., 1996, Bacterial scission of ether bonds, *Microbial Rev.*, 60(1), 216-232.
- Yeom, S. H., Yoo, Y. J., 1997, Substrate interaction analysis in the degradations of benzene and toluene by *Alcaligenes xylosoxidans* Y234, *Environ. Eng. Res.*, 2(4), 245-250.