

Bacillus sp. B1 사균과 Polysulfone으로 이루어진 미생물 담체를 이용한 중금속 오염 지하수 정화

이민희^{1*} · 이지영¹ · 왕수균²

¹부경대학교 지구환경과학과, ²부경대학교 에너지자원공학과

Remediation of Heavy Metal Contaminated Groundwater by Using the Bio-carrier with Dead *Bacillus* sp. B1 and Polysulfone

Minhee Lee^{1*}, Jiyoung Lee¹ and Sookyun Wang²

¹Department of Earth Environmental Sciences, Pukyong National University, Busan, 608-737, Korea

²Department of Energy and Resource Engineering, Pukyong National University, Busan, 608-737, Korea

Remediation process by using the bio-carrier (beads) with dead *Bacillus* sp. B1 and polysulfone was investigated for heavy metal contaminated groundwater. Sorption batch experiments using the bio-carrier were performed to quantify the heavy metal removal efficiencies from the contaminated solution. The analyses using SEM/EDS and TEM for the structure and the characteristic of precipitates on/inside the beads were also conducted to understand the sorption mechanism by the bio-carrier. Various amounts of freeze-dried dead *Bacillus* sp. B1 were mixed with polysulfone + DMF(*N,N*-dimethylformamide) solution to produce the bio-carrier (beads; less than 2mm in diameter) and 5% of *Bacillus* sp. B1 in the bio-carrier was optimal for Pb removal in the solution. The removal efficiency ratings of the bio-carrier for Pb, Cu and Cd were greater than 80% after adding 2g of bio-carrier in 50ml of aqueous solution (<10mg/L of each heavy metal concentration). Reaction time of the bio-carrier was very fast and most of the sorption reaction for heavy metals were completed within few hours. Batch experiments were duplicated at various pH conditions of aqueous solutions and Cu and Pb removal efficiencies highly maintained at wide pH ranges (pH 2-12), suggesting that the bio-carrier can be useful to clean up the acidic waste water such as AMD. From SEM/EDS and TEM analyses, it was observed that the bio-carrier was spherical shape and was overlapped by many porous layers. During the sorption experiment, Pb was crystallized on the surface of porous layers and also was mainly concentrated at the boundary of *Bacillus* sp. B1 stroma and polysulfone substrate, showing that the main mechanism of the bio-carrier to remove heavy metals is the sorption on/inside of the bio-carriers and the bio-carriers are excellent biosorbents for the removal of heavy metal ions from groundwater.

Key words : bio-carrier, polysulfone, *Bacillus* sp., groundwater contamination, metal sorption

유류 및 중금속 오염 토양으로부터 분리한 토착 미생물인 *Bacillus* sp. B1 사균(dead biomass)과 유기중합체인 polysulfone + DMF(*N,N*-dimethylformamide) 용액을 혼합하여 제조한 비드(지름 2mm 이하)형 미생물 담체를 이용하여 중금속 오염 지하수를 정화하는 배치실험을 실시하였으며, 담체에 흡착된 중금속의 특성과 구조를 분석하여 미생물 담체에 의한 중금속 제거 기작을 규명하였다. 담체 내 *Bacillus* sp. B1 사균 비율을 달리하여 제조한 담체들을 이용하여 오염수로부터 납 제거효율을 규명함으로써 미생물 담체 제조에 사용되는 최적의 사균 농도(%)를 결정하였으며, 오염수에 대하여 첨가하는 미생물 담체의 농도변화에 따른 중금속 제거효율을 규명하는 실험을 실시하여 최적의 중금속 제거효율을 가지는 오염수 내 담체 첨가량(농도; g/L)을 결정하였다. 담체 내 사균 농도가 0%(유기중합체로만 형성)와 1%인 경우 제조된 담체의 납 제거효율이 3% 미만으로 polysulfone + DMF 만으로 이루어진 담체는 중금속 제거효과가 거의 없으며, 담체 내 미생물 기질 부분에 의해 대부분의 중금속이 제거되는 것으로 나타났다. 실험 결과 미생물 담체 비용과 제거효율을 고려하면 사균 5%를 혼합하여 제조한 미생물 담체를 2g/50mL 농도로 오염수에 주입

*Corresponding author: heelee@pknu.ac.kr

하는 것이 가장 효과적인 것으로 밝혀졌다. 담체와 오염수의 반응(흡착)시간에 따른 납과 구리의 제거 반응 실험 결과 두 시간 이내에 평형상태에 도달하여, 현장에서 다량의 중금속 오염 지하수를 짧은 시간(수 시간 이내)에 처리할 수 있을 것으로 판단되었다. 미생물 담체의 중금속 제거효율은 넓은 pH 범위에서 높게 나타났으며, 특히 pH 2-3인 경우 제거효율이 최대로 나타나 pH가 낮은 침출수, 산성폐수의 중금속 처리에도 효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 오염수의 중금속(Pb, Cu, Cd) 초기 농도변화에 따른 미생물 담체의 제거율 실험 결과 납, 구리, 카드뮴의 경우 10mg/L 이하의 농도를 가지는 오염수에서 80% 이상의 제거 효율을 나타내어, 대부분의 국내 오염 지하수의 중금속 농도가 이보다 낮은 것을 감안할 때 본 실험에서 사용된 조건을 적용하여 미생물 담체를 이용하는 경우 다량의 중금속 오염 지하수를 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 판단되었다. 미생물 담체를 이용한 납 제거 배치 실험 전/후 미생물 담체(bead)의 내/외부 구조를 SEM/EDS 및 TEM으로 분석한 결과 담체 내/외부 모두 다양한 크기의 다공질로 형성되어 있었으며, 외부 표면뿐 아니라 내부 면까지 납이 다량 흡착되어있는 것으로 나타나 본 실험에서 제조한 미생물 담체가 외부 표면 흡착에만 제한되었던 기존의 polysulfone 담체보다 중금속 제거 능력이 뛰어난 것으로 밝혀졌다. 미생물 담체에 형성된 납의 구조를 분석한 결과 담체의 주된 중금속 제거기작은 담체 내/외부 표면(특히 사균 기질과 polysulfone 물질 경계부)에 의한 다양한 형태의 흡착이었다.

주요어 : 미생물 담체, polysulfone, *Bacillus* sp., 지하수정화, 중금속 흡착

1. 서 론

중금속이나 유기오염물로 오염된 지하수 정화를 위해 미생물을 사용하는 방법은 지표수의 생물학적 처리 방법에 근거하고 있으며, 주된 기작은 살아있는 미생물(생균: live microorganism)의 신진대사(metabolism)를 이용하여 오염물을 분해/분리하는 것이다(Eweis *et al.*, 1998; Tchobanoglous *et al.*, 2003). 오염 토양 복원을 위해 적절한 미생물 종을 토양으로부터 분리/동정하는 연구는 20여 년 전부터 꾸준히 진행되어왔으며, 최근 10년 동안 특정 오염 부지에서 분리한 살아있는 미생물을 대상으로 오염물의 제거효율을 규명하는 연구가 활발히 이루어져왔다(Riser-Roberts, 1998; Choi *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2009). 그러나 이러한 생균의 활동도를 이용한 오염 토양/지하수 처리 방법은 실험실 규모의 제거효율 규명에는 많은 발전을 이루었으나, 실제 오염 현장의 적용성 평가에서 매우 낮은 제거효율을 나타내어 현장 적용에 한계를 나타내고 있다(Bedient *et al.*, 1994; Atlas and Philp, 2005). 이러한 한계는 주로 생균의 대사에 의존한 오염물 제거 기작을 이용하기 때문으로 밝혀지고 있으며, 기존의 연구들이 복잡한 생균의 제거 기작들을 규명하는데 집중하고 있어서, 생균의 활동성에 영향을 미치는 많은 변수들의 상호 연관 작용에 대한 정량적인 연구 결과 도출이 매우 어려운 현실이다(Cummings, 2009). 이러한 연관 작용이 규명되어 주요 영향인자들이 밝혀진다면 하여도 대규모 오염 현장에서 생균의 반응성을 유지하기 위한 주변 환경의 적절한 관리에 많은 제약이 있으며, 특히 오랜 분해 시간, 환경변화에 따른 제거효율 감소 등의

문제를 아직까지 극복하지 못하고 있는 것이 현실이다.

최근 오염 지하수에 적용하는 생물학적 정화와 관련된 국외 연구는 생균의 신진대사를 이용한 제거 기작의 개발보다는 현장에서 보다 쉽게 관리할 수 있고, 현장 적용성이 뛰어나며, 제거 시간을 단축할 수 있는 새로운 생물학적 제거 기작들의 개발에 집중되고 있는 추세이다(Bai and Abraham, 2003; Aksu and Gönen, 2004; Lázaro *et al.*, 2003; Texier *et al.*, 2002). 이 중 미생물 사균(dead microorganism)을 이용하여 제조한 미생물 담체의 흡착 기작을 이용한 수처리 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 생물공학분야에서 폐수처리에 활용하는 미생물 고정 담체의 크기는 폐수 처리를 위한 mega size(직경 2mm 이상)의 고정 담체가 대부분으로 고정 담체의 단위용적 당 오염물 제거율이 높지 않아 폐수보다 중금속이나 유기오염물 농도가 훨씬 낮은 지하수를 처리하는데 효율적이지 못하며, 따라서 가능한 한 작은 다공성 담체를 형성하여 단위용적 당 제거효율이 높은 담체를 형성하여야 하는데, 이에 대한 연구는 아직 초보적 단계이다(Suh *et al.*, 2001; Zouboulis *et al.*, 2003; Cabuk *et al.*, 2006; El-Naas *et al.*, 2009). 또한 오염 지하수는 폐수와는 달리 탁도가 낮아 사용한 미생물 고정 담체로부터 기질의 분해가 발생하는 경우 오히려 지하수의 오염을 유발할 수 있으므로, 미생물 기질과 유기중합체(polymer)의 결합력이 뛰어나고 내구성이 높은 담체를 형성해야 하며, 이러한 미생물 담체 제조와 담체의 물리/화학적 특성에 대한 연구는 최근에서야 비로소 진행되고 있는 실정이다.

본 연구는 국내 오염 토양/지하수 현장에서 채취한

미생물 사균의 기질과 유기중합체인 polysulfone을 결합하여 제조한 미생물 담체의 중금속 제거효율을 규명하는 실내 실험으로 이루어져 있으며, 담체에 흡착된 중금속 성상을 영상화하고 분석하여 중금속 제거 기작을 보다 정량적으로 규명하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 실험에 사용한 미생물 분리/동정

실험에 사용한 미생물은 유류와 중금속(납)으로 오염된 OO 군부대 내 오염 지역의 토양에서 활동하는 토착 미생물을 이용하였다. 오염도양의 평균 TPH 농도는 5,100mg/kg 이고 납농도는 248mg/kg 이었다. 토양자동 시료채취기로 지하수위 경계부(지하 1-1.5m 깊이)에서 토양 시료를 채취하여 토양 1g 을 15mL 용량의 멸균 튜브에 넣고 멸균증류수 10mL를 추가한 후 분리용 고체배지(peptone 5g/L, beef extract 3g/L, agar 17g/L 와 증류수)에 도달하여 35°C 에서 1일 동안 배양하여 총 16개의 미생물 종을 동정하였으며, 이 중 오일배지 ((NH₄)₂SO₄ 0.3%, Na₂HPO₄, 0.3%, KH₂PO₄ 0.08%, MgSO₄·7H₂O 0.04%, MnCl₂·2H₂O and CaCl₂·2H₂O 0.0002%, crude oil 2% 와 증류수)에서 가장 많은 colony를 형성한 미생물을 담체제조에 사용할 미생물로 선정하였다. 선택된 미생물은 16S rRNA gene sequencing을 이용한 분자생물학적 동정을 실시하여 계통도(phylogenetic tree)를 작성하여 동정한 결과 *Bacillus* 속이었으며, 위의 결과를 가지고 동정한 미생물을 *Bacillus* sp. B1으로 명명하였다(Moyer *et al.*, 1994)(Fig. 1(a)). 선별된 균주를 미생물배양기(모델명: BioS 500L BioTron)에서 배양한 후, 균체만 모아서 동결건조(모델명: (주)일신랩 PVTFD30V)한 후, 사균을 얻기 위해 동결건조된 *Bacillus* sp. B1을 고압증기멸균

기에 넣고, 120°C, 1기압에서 30분간 멸균한 후 무균실에 저장하였다. TEM(모델명: JEOL JEM 1200EX-II)을 이용하여 *Bacillus* sp. B1의 형태학적인 모습을 영상화한 사진을 Fig. 1(b)에 나타내었다.

2.2. 동정한 미생물 사균을 이용한 미생물 담체 형성

기존의 연구에서 수처리를 위해 고정 담체로 사용되었던 성분은 크게 polysulfone, PVA(polyvinyl-alcohol), polyacrylamide, polyisoprene과 같은 유기중합체(polymer)와 silica, clay등의 무기물로 나눌 수 있다(Park *et al.*, 1994; López *et al.*, 1997; Lozinsky *et al.*, 1997; Veglio *et al.*, 1998; Lázaro *et al.*, 2003). 본 연구에서는 위의 물질 중에서 비용이 저렴하고 담체 제조 방법이 간단하며 광범위한 농도범위에서 2mm 이하의 비드(beads)로 제조하기 쉬운 polysulfone(Sigma-Aldrich 회사 제품을 유기중합체로 사용하였다(Beolchini *et al.*, 2003). polysulfone은 1965년 Union Carbide 회사에서 처음 상품화하였으며, ‘aryl-SO₂-aryl’ 기로 이루어진 ‘sulfone’구조가 반복적으로 연결되어있는 유기중합체(polymer)로서 열에 강하고 산성, 염기성물질과 산화물에 대하여 매우 안정적인 물질로 알려져 플라스틱의 주원료(특히 세립질 멤브레인의 원료)로 사용되고 있다(Wikipedia, 2010). Polysulfone의 분자구조를 Fig. 2에 나타내었다.

먼저 90g의 DMF(*N,N*-dimethylformamide; (CH₃)₂NC(O)H) 용액에 polysulfone 10g을 혼합하고, DMF의 휘발을 막기 위해서 파라필름으로 봉한 후, 125rpm으로 상온(20°C)에서 16시간 진탕하여 10% polysulfone 용액을 제조하였다. 10% polysulfone 용액에 150-sieve를 통과한 가루형 사균 *Bacillus* sp. B1을 일정량 첨가한 후 교반기를 이용하여 균일하게 혼합하였다. 사균과 혼합된 polysulfone 현탁액(slurry)을 연동펌프

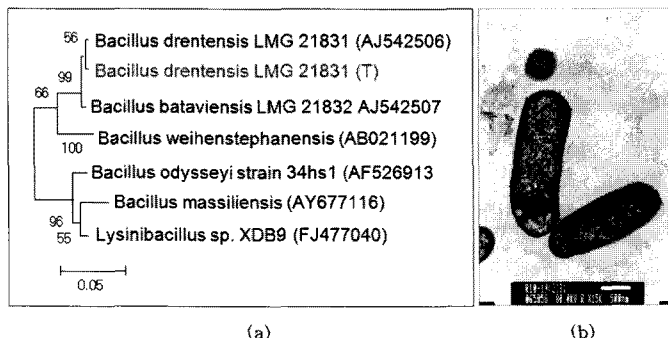
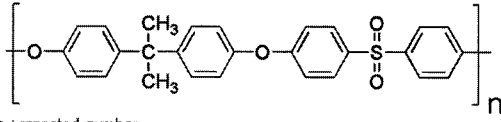


Fig. 1. Phylogenetic tree derived from 16S rRNA gene sequence of *Bacillus* sp. B1 (a) and SEM image of *Bacillus* sp. B1 (magnified at 15000) (b).



* n : repeated number

Fig. 2. Molecular structure of polysulfone (Modified from Wikipedia, 2010).

와 바늘 크기가 18G인 주사기를 이용하여 일정한 속도로 80% 메탄올 수용액에 떨어뜨려, 떨어지는 슬러리들이 수용액과의 표면장력에 의해 지름 2mm 이하의 비드가 형성되게 하였다. 형성된 비드는 항온진탕기를 이용하여 증류수에 1시간 동안 shaking시킨 후, 상온에서 48시간 동안 건조하여 오염수로부터 중금속을 제거하는 미생물 담체로 사용하였다. 미생물 담체 제조 과정을 Fig. 3에 요약하여 나타내었다.

2.3. 미생물 담체를 이용하여 오염 지하수로부터 중금속 제거를 위한 배치 실험

지하수로부터 중금속을 가장 효과적으로 제거할 수 있는 미생물 담체의 제조와 적용 조건을 도출하기 위하여 다양한 환경에서 미생물 담체를 이용하여 수용액 내 중금속 제거효율을 규명하는 배치실험을 실시하였다.

2.3.1. 최적의 중금속 제거효율을 나타내는 담체 내 사균 비율 및 수용액 내 담체 주입농도 결정 실험

담체 내 *Bacillus* sp. B1 사균 비율을 달리하여 제조한 담체들을 이용하여 수용액 내 중금속 제거효율을 규명함으로써 미생물 담체 제조에 사용되는 최적의 사균 농도(%)를 결정하고자 하였다. 또한 50mL의 중금속 오염 수용액에 대하여 첨가하는 미생물 담체량에 따른 중금속 제거효율을 규명하는 실험을 실시하여, 최적의 중금속 제거효율을 가지는 수용액 내 담체 첨가

량(농도; g/L)을 결정하였다. 토양시료 내 농도가 국내 토양오염우려기준(가지역)을 초과하는 것으로 나타난 납(Pb)을 대상으로 실험을 실시하였다. 10% polysulfone 이 용해된 DMF 용액(100g)에 첨가하는 사균의 농도를 0, 1, 2, 5, 10, 15%로 각각 달리하여 미생물 담체를 제조하였으며, 증류수와 납 표준용액(Sigma-Aldrich 회사 제품; ASC 등급)을 이용하여 10mg/L로 적정한 인공 오염액 50mL를 삼각 플라스크에 담은 후, 사균의 농도가 다른 미생물 담체별로 각각 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5g씩 첨가하였다. 이 혼합액을 항온진탕기(15°C, 120rpm)를 이용하여 교반시켜 여과시킨 후, ICP/OES(PerkinElmer; Optima 3300XL)를 이용하여 수용액 내 납 농도를 측정하여 초기 수용액의 납 농도인 10mg/L와 비교함으로써 미생물 담체에 의한 납 제거 효율을 %단위로 계산하였다.

2.3.2. 오염 지하수의 pH와 반응시간에 따른 미생물 담체의 중금속 제거효율 변화 규명 실험

다량의 오염 지하수를 현장에서 빠른 시간 내에 처리해야하기 때문에 미생물 담체의 중금속 제거 시간은 짧을수록 좋다. 본 실험에서는 납을 대상으로 미생물 담체와 오염수의 반응시간에 따른 제거효율을 구하여, 최적의 반응시간을 결정하고자 하였다. 위의 배치실험 결과 납 제거효과가 좋은 5% *Bacillus* sp. B1 사균으로 제조된 미생물 담체 2g을 사용하여 반응(흡착시간)을 5분, 10분, 15분, 20분, 25분, 30분, 60분, 180분, 300분, 480분, 720분, 1440분으로 설정하여 실험을 실시하였으며, 실험조건은 위의 배치실험과 같다.

제조된 담체를 현장 오염 지하수에 적용 시 제거효율이 높은 지하수의 적정 pH 범위를 규명하는 실험을 실시하였다. 수용액의 pH 변화에 따른 고정담체의 중금속 제거율 변화 실험은 미생물 담체를 적용할 수 있

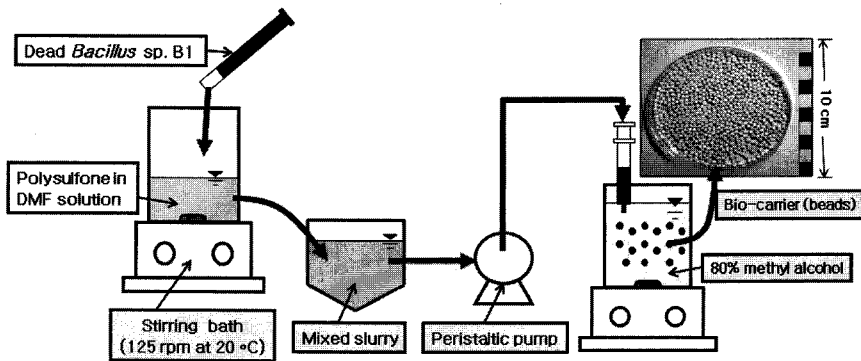


Fig. 3. Schematic of the process to produce the bio-carrier (beads) with polysulfone + DMF + dead *Bacillus* sp. B1.

는 오염 지하수의 pH 범위를 규명하는 것 이외에, 담체의 중금속 흡착실험에서 발생할 수 있는 단순 pH 변화에 의한 중금속 침전현상과 미생물 담체에 의한 흡착현상을 구별할 수 있는 중요한 실험이다. 구리 농도가 10mg/L 인공오염수를 HCl과 NaOH 용액을 이용하여 pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12로 각각 제조한 50mL 수용액에 5% *Bacillus* sp. B1 로 고정화된 담체 2g을 첨가하여 15°C, 120rpm으로 24시간 교반한 후 용액 내 중금속 농도를 분석하여 제거효율을 계산하고, 담체를 첨가하지 않은 pH 별 오염수를 같은 조건에서 교반한 후 제거효율을 계산한 결과와 비교함으로써 담체에 의해 중금속 제거가 가능한 오염수의 pH 범위를 규명하고자 하였다.

2.3.3. 오염수의 중금속 농도에 따른 미생물 담체의 제거효율 변화 규명 실험

미생물 고정 담체에 의해 오염 지하수로부터 제거 가능한 중금속의 농도 범위를 규명하기 위한 중금속 농도별 담체의 제거효율을 구하는 실험을 실시하였다. 중류수와 표준용액을 이용하여 Pb, Cu, Cd 농도가 각각 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0mg/L인 인공오염수를 제조한 후, 각각의 오염수 50mL에 *Bacillus* sp. B1 5%와 polysulfone 으로 제조한 담체 2g을 첨가하여 항온진탕기에서 120rpm(15°C)으로 24시간 교반한 후 용액 내 중금속 농도를 분석함으로써, 오염수의 중금속 농도에 따른 미생물 담체의 제거효율을 계산하였다.

2.4. 미생물 담체의 중금속 제거 기작 규명을 위한 담체 구조 분석 및 중금속 흡착 특성 분석

미생물 담체에 의한 중금속 제거는 막연히 담체의 중금속 흡착에 의한 것으로 알려지고 있으나, 담체의 어느 부분에 중금속이 흡착되는 지를 규명하는 것은 항 후 수치모델링과 열역학방정식에 의해 담체의 중금속 제거능을 예측하고, 담체의 중금속 제거 기작을 이해하는데 매우 중요하다. 본 실험은 중금속이 담체 구조 내에 나타나는 형상과 실험 후 담체의 구조적인 변화를 살펴보기 위해 SEM(HITACHI S-2700)과 TEM(JEOL JEM 1200EX-II) 분석을 통하여 Pb 흡착 후의 담체 비드의 표면과 내부를 영상화하였으며 EDS(HITACHI S-2700)를 이용하여 담체 내 납으로 보이는 부분을 분석하여 고상으로 흡착된 납결정을 확인하고자 하였다. 납농도가 500mg/L인 인공오염수를 제조한 후, 오염수 50mL에 *Bacillus* sp. B1 5%로 제조한 미생물 담체 2g을 첨가하여 항온진탕기에서 120rpm

(15°C)으로 24시간 교반한 후 수용액으로부터 분리한 담체 표면과 중앙부를 절단한 절단면에 대한 이미지 및 성분 분석을 실시하였으며, 반응시키지 않은 담체와 비교하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. *Bacillus* sp. B1 사균과 유기중합체를 이용하여 제조한 미생물 고정 담체(beads) 특성 규명 결과

위에 서술한 제조 과정에 의해 만들어진 미생물 담체(비드)의 특성 및 구조를 파악하기 위하여 비드 외표면과 절단한 단면을 SEM과 TEM을 이용하여 영상화하였으며, EDS로 성분을 분석하였다. 분석결과 담체는 지름이 약 1-2mm 크기인 구형으로 표면에서부터 내부까지 다공질을 형성하고 있었으며 표면에서부터 내부 중앙으로 갈수록 공의 크기가 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 4(a) and (b)). TEM을 이용한 담체 절단면 사진 분석 결과, 담체 내에서 polysulfone 부분과 사균인 *Bacillus* sp. B1의 기질부분이 매우 치밀하게 결합되어 있어서 오염 지하수 정화에 이용될 경우 담체 구조가 안정적으로 유지되어 수차례 재활용이 가능할 것으로 판단되었다(Fig. 4(d)).

3.2. 미생물 담체를 이용하여 오염 지하수로부터 중금속 제거를 위한 배치 실험 결과

3.2.1. 최적의 중금속 제거효율을 나타내는 담체 내 사균 비율 및 수용액 내 담체 주입농도 결정 실험 결과

중금속 제거효율이 가장 좋은 polysulfone+DMF+사균 담체를 제조하기 위하여 다양한 농도의 사균 *Bacillus* sp. B1(0, 1, 2, 5, 10, 15%)을 이용하여 고정화시킨 담체(beads)를 0.1-5g 사용하여 납 농도가 10mg/L인 50mL 수용액으로부터 흡착되어 제거되는 납 제거율을 계산하였으며, 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 담체 내 사균 농도가 0%와 1%인 경우 납 제거효율이 3.3% 미만으로 polysulfone+DMF 만으로 이루어진 담체는 중금속 흡착이 거의 일어나지 않음을 알 수 있었고, 담체에서 중금속을 흡착하는 부분은 주로 사균의 기질 부분인 것으로 밝혀졌다. 사균 농도가 2%인 담체 비드를 2g 이하로 첨가하였을 때에는 11.5%의 낮은 제거효율을 보였으나 5g으로 증가한 경우 86.1%의 높은 제거율을 보였으며, 사균 농도가 5%인 비드를 사용한 경우, 비드를 1g 이하로 첨가하였을 때에는 19.8%의 낮은 제거율을 보였으나 2g 첨가하였을 때에는 88.7%로 급격히 증가하였다. 실험 결과 담체 내

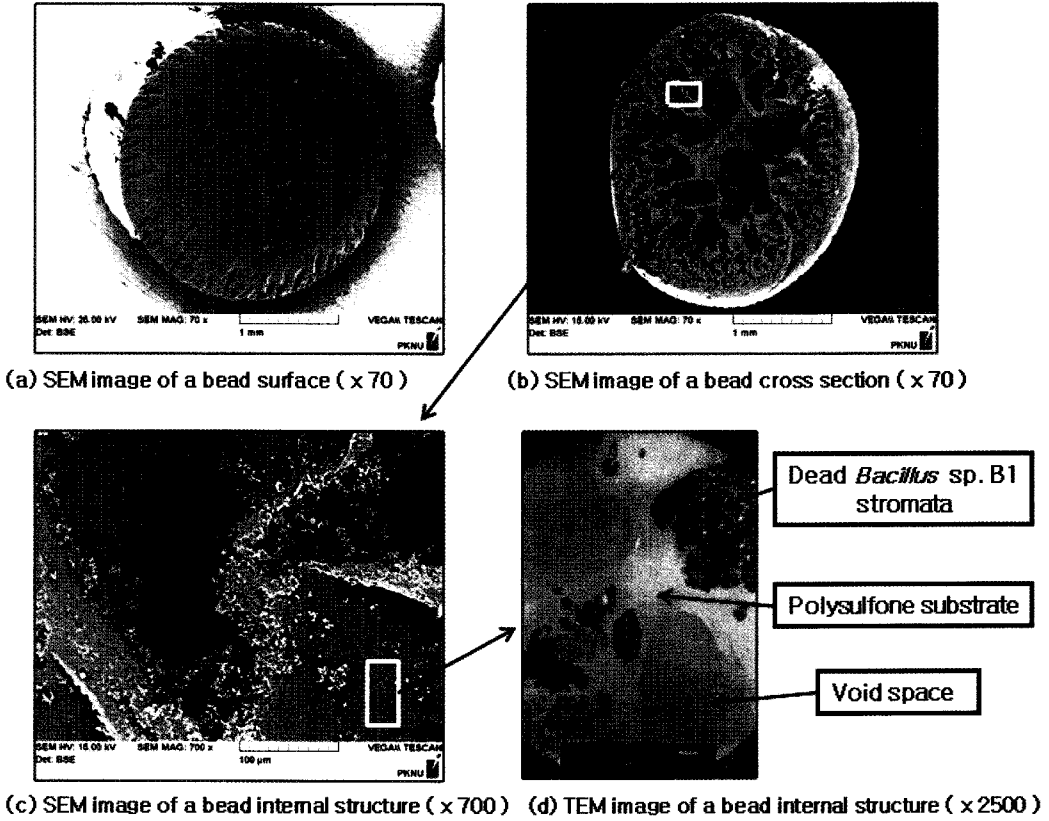


Fig. 4. SEM and TEM images of the bio-carrier (bead) used in the experiments.

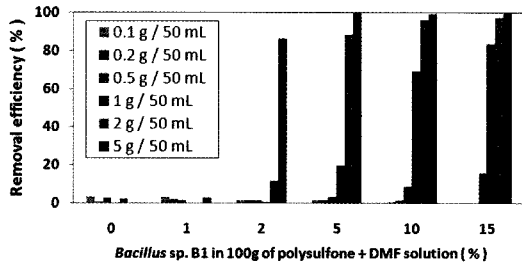


Fig. 5. Pb removal efficiencies of the bio-carrier according to the mass ratio (%) of *Bacillus* sp. B1 in the bio-carrier and its concentration in solution (g/50mL).

Bacillus sp. B1 사균 농도가 높아짐에 따라, 그리고 오염 수용액 내 담체량이 많아짐에 따라 수용액 내 납의 제거효율이 높아짐을 알 수 있었으며, 담체 내 사균 농도가 5% 이상인 경우와 오염수에 주입하는 담체량이 2g/50mL 이상인 경우 제거율이 급격히 증가하였으며, 그 이상의 농도에서는 거의 비슷한 제거효과를 나타내었다. 따라서 중금속 제거효율과 비용적 측면을 고려하여 이 후 실험에서는 사균 5% 첨가로 제조된 미생물

담체를 오염수 50mL 당 2g 씩 주입하였다.

3.2.2. 오염 지하수의 pH와 반응시간에 따른 미생물 담체의 중금속 제거효율 변화 규명 실험 결과

담체(polysulfone + DMF + 사균 *Bacillus* sp. B1) 와 오염수의 반응(흡착)시간에 따른 납과 구리의 제거율 실험 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 반응시간이 30분 일 경우 납과 구리의 제거효율은 각각 76%와 51%를 나타내어, 두 중금속 모두 30분 이내에 50% 이상의 제거율을 보였다. 납은 1시간 이후에 80% 제거율을 나타내며 거의 평형상태에 도달하였고, 구리는 이보다 긴 2시간 이후에 거의 평형에 도달하는 것으로 나타나, 현장에서 미생물 담체를 이용하여 다량의 중금속 오염 지하수를 단시간(수 시간 이내)에 처리할 수 있을 것으로 판단되었다. 실험 결과로부터 이후 실험은 반응시간을 24시간으로 설정하여 실험을 실시하였다.

미생물 담체를 첨가하지 않은 오염수에 대하여 pH 변화에 따른 오염수의 구리농도 변화 결과와 미생물 담체를 첨가한 오염수의 pH 변화에 따른 오염수의 구

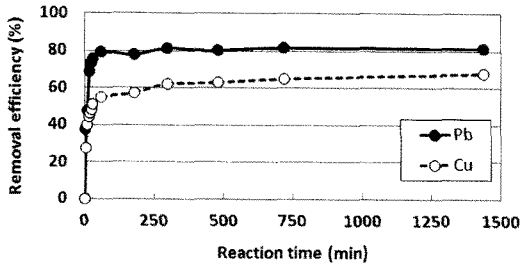


Fig. 6. Pb and Cu removal efficiencies of the bio-carrier according to the reaction time (min).

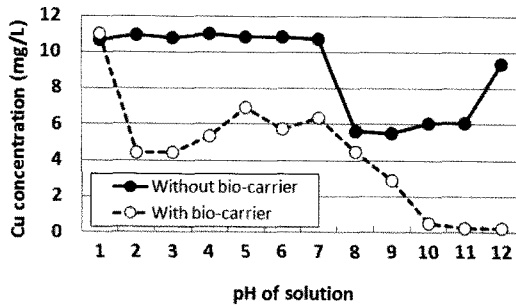


Fig. 7. Cu removal efficiencies of the bio-carrier according to pH of solution.

리농도 변화 결과를 Fig. 7에 함께 나타내었다. 미생물 담체를 포함하지 않는 오염수의 경우 pH가 7이하에서 수용액 내 구리농도는 거의 일정하지만, pH 7이상에서 수용액의 구리농도는 급격하게 감소하기 시작하여 pH 8-11범위에서 초기 농도의 절반으로 낮게 유지되었다. 이러한 현상은 구리농도가 10mg/L인 오염수의 경우 pH 증가에 의한 구리-수산화물이 형성되어 일부 침전되므로 오염수의 구리농도가 감소하는 현상으로 판단되었다(미생물 담체의 영향과는 무관함). 미생물 담체를 주입한 경우, 오염수의 pH가 2이상 되면서부터 오염수의 구리농도는 급격하게 감소하며, pH 7까지 낮은 농도를 유지하는데 이것은 pH 증가에 따른 구리-수산화물의 침전효과가 아닌 순수 미생물 담체의 구리흡착에 의한 농도 감소 효과이며 실제적인 미생물 담체의 구리 제거능으로 볼 수 있다. 오염수의 pH가 7이상 되면서 구리농도는 급격히 감소하여 오염수에 녹아있던 대부분의 구리가 제거되는데, 이것은 '미생물 담체의 흡착 + 구리-수산화물의 침전'의 복합효과로 판단되었다. 따라서 미생물 담체의 중금속 제거 효과를 규명하기 위한 배치실험은 오염수의 pH를 7이하로 유지하는 것이 바람직하여, 이 후 모든 실험을 pH 7이하인 조건에서 실시하였다. 오염수의 pH가 7이하의 경우만 고려했을

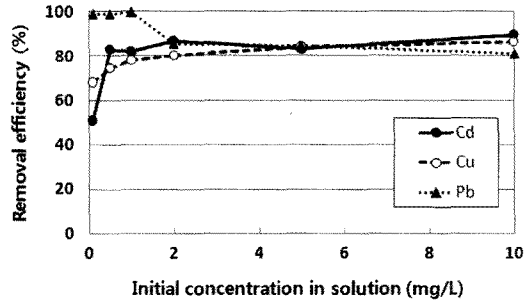


Fig. 8. Pb, Cu and Cd removal efficiencies of the bio-carrier according to the initial heavy metal concentration in solution.

때, 낮은 pH 3에서 제거 효율 90%로 가장 높았으며, 구리는 pH 2에서 제거 효율 60%로 가장 높게 나타나, pH가 낮은 산성폐수의 중금속 처리에도 효과적으로 미생물 담체를 활용할 수 있을 것으로 판단되었다.

3.2.3. 오염수의 중금속 농도에 따른 미생물 담체의 제거효율 변화 규명 실험 결과

오염수의 중금속(Pb, Cu, Cd) 초기 농도변화에 따른 미생물 담체의 제거효율 실험 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 오염수의 납 농도가 0.1 - 1.0mg/L 범위에서 98% 이상의 높은 제거효율을 보이고, 1.0 - 10.0mg/L 범위에서 약간 감소하나 82% 이상을 유지하였다. 구리의 경우 오염수의 농도가 0.1mg/L에서 69% 제거효율을 보였으며, 오염수 농도가 증가함에 따라 서서히 증가하여 10.0mg/L에서 85% 제거효율을 나타내었다. 카드뮴의 경우에도 오염수의 농도가 0.1mg/L에서 53% 제거효율을 나타내었으며 0.5mg/L 이상에서는 82% 이상의 높은 제거효율을 보였다. 실험결과 납, 구리, 카드뮴의 경우 0.5 - 10.0mg/L 농도를 가지는 오염수에서 80% 이상의 제거 효율을 나타내어, 대부분의 국내 오염 지하수의 중금속 농도가 10mg/L보다 낮은 것을 감안할 때 본 실험에서 사용된 미생물 담체를 이용하여 다량의 중금속 오염 지하수를 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 판단되었다.

3.3. 미생물 담체의 중금속 제거 기작 규명을 위한 담체 구조 분석 및 중금속 흡착 특성 분석 결과

미생물 담체를 이용한 납 제거 배치 실험 후 미생물 담체(bead) 표면에 형성된 고상 결정들에 대한 SEM 분석 결과를 Fig. 9에 나타내었다. 담체 표면에 형성된 결정들에 대한 EDS 성분 분석 결과 담체 표면에 생긴 결정들은 납인 것으로 밝혀져 담체 표면에서 다량

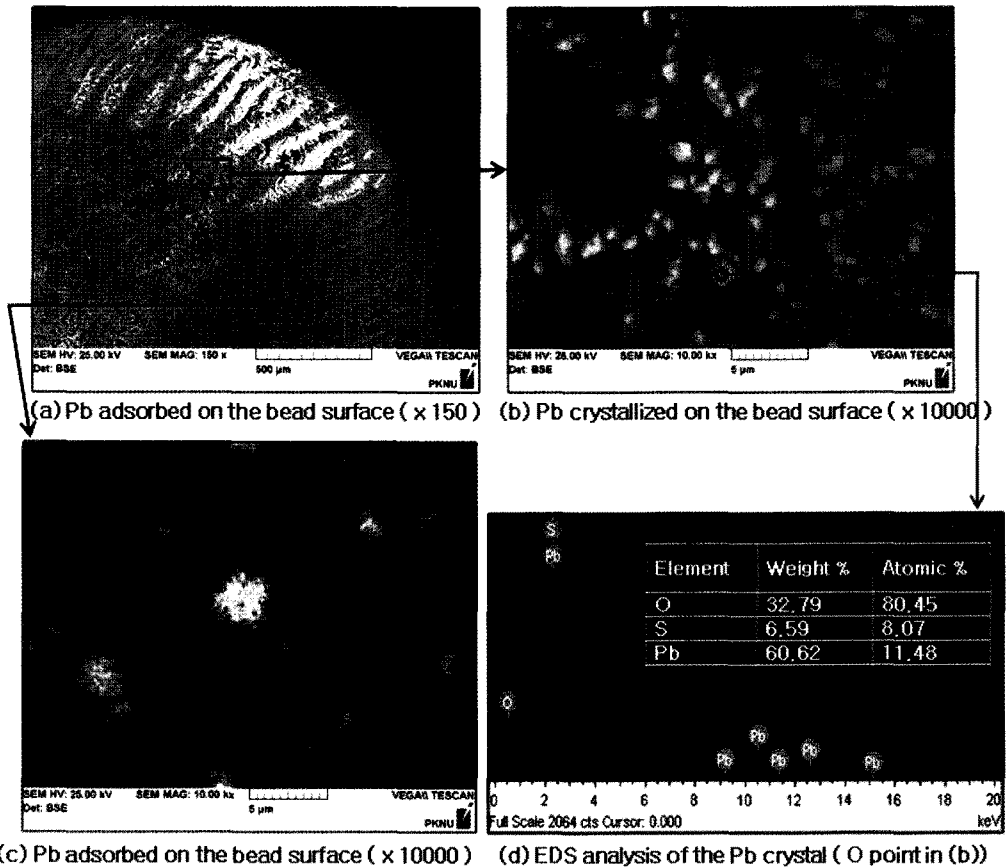


Fig. 9. Photographs of SEM images ((a), (b) and (c)) and EDS analysis ((d)) for Pb adsorbed on the bead surface.

의 납흡착이 발생하며 이에 의해 오염수의 납이 제거 되는 것임을 알 수 있었다(Fig. 9(d)). 담체 내부에도 표면과 같은 납 흡착이 일어나는 지를 알아보기 위해 납 오염수와 반응시킨 담체를 절단한 단면을 SEM과 EDS로 분석한 결과, 담체 내부 여러 곳에서 표면과 비슷한 납결정들이 다량 발견되어, 중금속 흡착이 담체 표면 뿐 아니라 내부면에서도 일어나고 있었다(Fig. 10). Polysulfone을 이용하여 제조한 기존의 담체들의 흡착능이 대부분 담체 표면에 제한되었던 것을 고려하면, 본 연구에서 제조한 미생물 담체는 내부면의 흡착 능이 추가되어 기존의 담체보다 오염 지하수로부터 중금속을 흡착하는 흡착능이 훨씬 뛰어남을 알 수 있었다(Jeffers *et al.*, 1993; Beolchini *et al.*, 2003). 담체 표면 SEM 사진을 보면 표면에 아주 작은 크기(1 μ m)의 공극들로 이루어져있음을 알 수 있었으며(Fig. 9(c)와 Fig. 10(c)), 이러한 공극을 통하여 오염수로부터 담체 내부까지 납이 이동하여 내부 면에 흡착하며 결정을 형성하는 것으로 나타났다. 담체 내/외부 표면에

흡착되는 납의 결정은 크기가 1 μ m 내외의 큐빅 형태를 나타내는 경우와(Fig. 9(b)와 Fig. 10(b)) 특별한 결정형을 가지지 않는 괴상(massive)형으로 구분되었으며(Fig. 9(c)와 Fig. 10(c)), TEM 분석결과 *Bacillus* sp. B1 기질과 polysulfone 경계면에 주로 납이 흡착되고 있음을 알 수 있었다(Fig. 10(e)). 미생물 담체의 구조 및 성분 분석 결과 담체의 중금속 제거는 수용액으로부터 담체 내/외부 표면에 흡착한 후 다양한 형태의 고상 침전물을 형성하는 기작에 의한 것으로 판단되었다.

4. 결 론

본 연구를 통하여 도출된 결론은 아래와 같다.

(1) 중금속으로 오염된 지하수를 정화하기위해 polysulfone 과 오염부지의 토착 미생물인 *Bacillus* sp. B1 을 이용하여 중금속 흡착능이 뛰어난 직경 2mm 이하의 비드형태의 미생물 담체를 제조하였다. 제조된 미생물 담체의 중금속 제거효율은 납, 구리, 카드뮴의

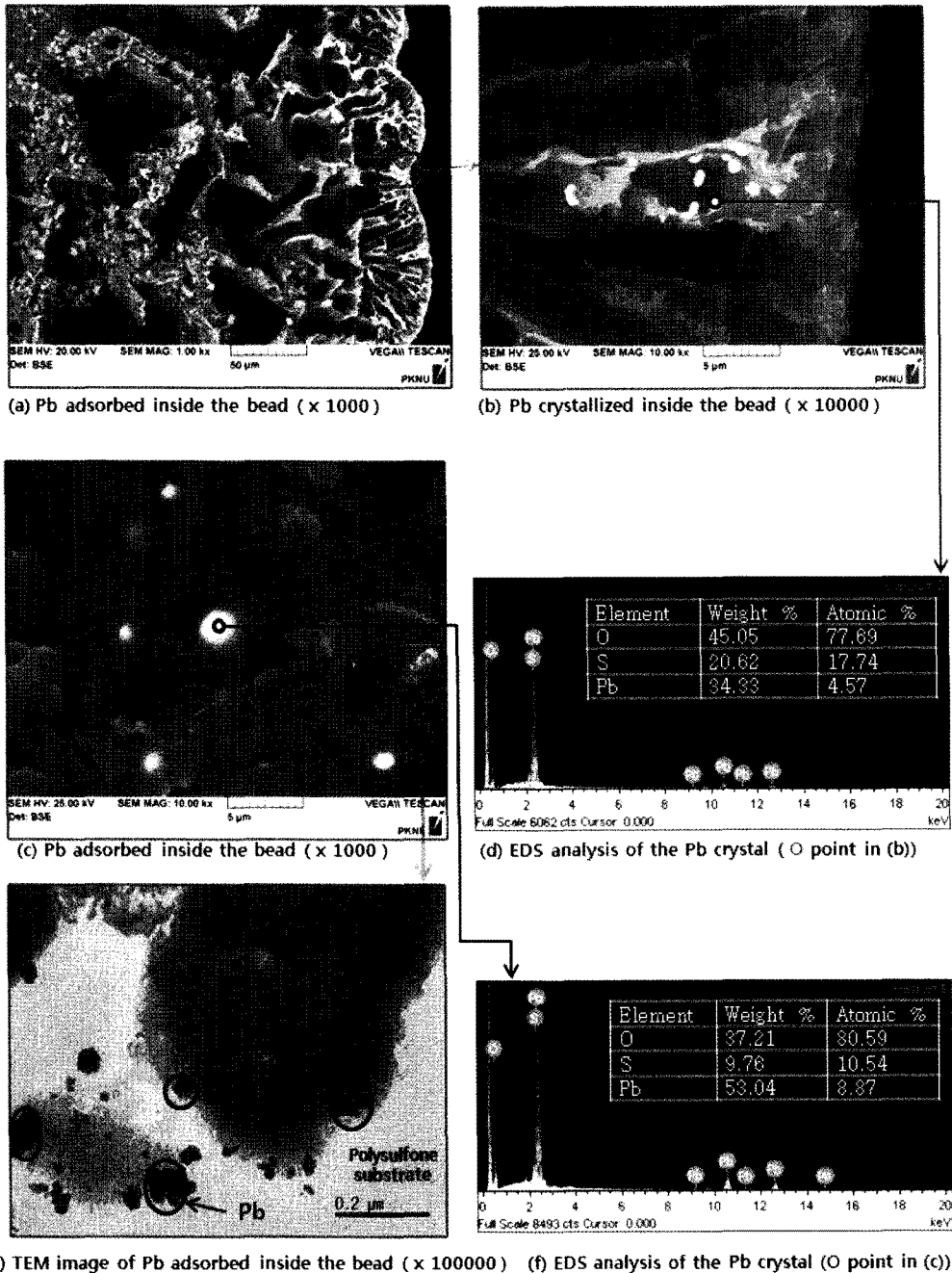


Fig. 10. Photographs of SEM/TEM images ((e) is TEM image) and EDS analysis ((d) and (f)) for Pb adsorbed inside the bead.

경우 오염수의 농도가 10mg/L 이하일 때 40g/L 추가에 의해서 82% 이상(최대 99.8%)의 제거효율을 나타냄으로서 미생물 담체를 이용하여 중금속 오염 지하수를 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 판단되었다.

(2) 미생물 담체의 중금속 제거 반응시간을 측정한다

결과 30분 이내에 76%의 제거 효율을 보였고 1시간 이내에 80% 제거 효율을 나타내었으며 수 시간 내에 평형에 도달함으로써, 현장에서 다량의 오염 지하수를 단시간 내에 제거할 수 있을 것으로 판단되었다.

(3) 미생물 담체의 구조 및 성분을 분석한 결과 담

체 외부 표면뿐 아니라 내부 면까지 중금속이 다량 흡착된 것으로 나타나, 외부 표면 흡착에 제한되었던 기존의 polysulfone 담체보다 중금속 제거 능력이 뛰어난 것으로 나타났다.

현재 본 연구와 관련하여 미생물 담체의 중금속 탈착 및 재활용 실험을 하고 있으며, 평형 흡착 모델을 통한 흡착평형 상수 도출과 비평형 연속 칼럼 실험을 실시하여 오염수로부터 정량적인 중금속 제거효과를 규명하는 연구를 진행 중이다. 담체의 중금속 흡착 기작이 담체 표면의 전기적 끌림현상과 관련되어 있는지를 규명하기 위해 표면의 영점전하를 측정할 계획이다.

사 사

이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업인(2009-0085781). 논문을 세심하게 검토하여 주신 익명의 심사자들에게 감사드립니다.

참고문헌

- Atlas, R.M. and Philp, J. (2005) Bioremediation; applied microbial solutions for real-world environment cleanup. America Society for Microbiology.
- Aksu, Z. and Gönen, F. (2004) Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves. *Process Biochemistry*, v.39, p.599-613.
- Bai, R.S. and Abraham, T.E. (2003) Studies on chromium(VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. *Bioresource Technology*, v.87, p.17-26.
- Bedient, P.B., Rifai, H.S. and Newell, C.J. (1994) Groundwater contamination, transport and remediation. Prentice Hall PTR.
- Beolchini, F., Pagnanelli, F., Toro, L. and Vegliò, F. (2003) Biosorption of copper by *Sphaerotilus natans* immobilised in polysulfone matrix: equilibrium and kinetic analysis. *Hydrometallurgy*, v.70, p.101-112.
- Çabuk, A., Akar, T., Tunali, S. and Tabak, Ö. (2006) Biosorption characteristics of *Bacillus* sp. ATS-2 immobilized in silica gel for removal of Pb(II). *Journal of Hazardous Materials*, v.136, p.317-323.
- Choi, A., Wang, S., and Lee, M. (2009) Biosorption of cadmium, copper, and lead ions from aqueous solutions by *Ralstonia* sp. and *Bacillus* sp. isolated from diesel and heavy metal contaminated soil. *Geosciences Journal*, v.14, p.331-341.
- Cummings, S.P. (2009) Bioremediation; methods and protocols. Springer Verlag.
- El-Naas, M.H., Al-Muhtaseb, S.A. and Makhlof, S. (2009) Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol(PVA) gel. *Journal of Hazardous Materials*, v.164, p.720-725.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P. and Schroeder, E.D. (1998) Bioremediation principles. WCB/McGraw Hill.
- Jeffers, T.H., Bennett, P.G. and Corwin, R.R. (1993) Biosorption of metal contaminants using immobilized biomass-field studies. Report of Investigations 9461, United States Department of The interior.
- Kim, S.H., Chon, H.T. and Lee, J.U. (2009) Biosorption of Pb and Cd by indigenous bacteria isolated from soil contaminated with oil and heavy metals. *Econ. Environ. Geol.*, v.42, p.427-434.
- Lázaro, N., Sevilla, A.L., Morales, S. and Marqués, A.M. (2003) Heavy metal biosorption by gellan gum gel beads. *Water Research*, v.37, p.2118-2126.
- López, A., Lázaro, N. and Marqués, A.M. (1997) The interphase technique: a simple method of cell immobilization in gel-beads. *Journal of Microbiological Methods*, v.30, p.231-234.
- Lozinsky, V.I., Zubov, A.L., and Titova, E.F. (1997) Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 2. Entrapped cells resemble porous fillers in their effects on the properties of PVA-cryogel carrier. *Enzyme and Microbial Technology*, v.20, p.182-190.
- Moyer, C.L., Dobbs, F.C., and Karl, D.M. (1994) Estimation of diversity and community structure through RFLP distribution analysis of bacterial 16S rRNA genes from a microbial mat at an active, hydrothermal vent, Loihi Seamount, Hawaii. *Applied and Environmental Microbiology*, v.60, p.871-879.
- Park, Y.K., Lee, C.H. and Park, S.J. (1994) Treatment characteristic of polyvinylalcohol(PVA) wastewater by immobilized microorganisms. *Journal of Korean Society of Environ. Eng.*, v.16, p.985-993.
- Riser-Roberts, E. (1998) Remediation of petroleum contaminated soils; Biological, physical, and chemical processes. Lewis Publishers, Boca Raton.
- Suh, K.H., Kim, B.J. and Oh C.S. (2001) Removal of NH₃-N by using immobilized nitrifier consortium in PVA(Polyvinyl Alcohol)-I. effect of packing fraction and aeration rate on ammonia nitrogen removal. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, v.16, p.314-319.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L. and Stansel, H.P. (2003) Wastewater engineering, treatment and reuse. McGraw Hill.
- Texier, A.C., Andrès, Y., Faur-Brasquet, C. and Le Cloirec, P. (2002) Fixed-bed study for lanthanide (La, Eu, Yb) ions removal from aqueous solutions by immobilized *Pseudomonas aeruginosa*: experimental data and modelization. *Chemosphere*, v.47, p.333-342.
- Vegliò, F., Beolchini, F. and Toro, L. (1998) Kinetic modelling of copper biosorption by immobilised biomass. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, v.77, p.1107-1111.
- Wikipedia (2010) Wikipedia; the free encyclopedia. <http://en.wikipedia.org/wiki/Polysulfone>.
- Zouboulis, A.I., Matis, K.A., Loukidou, M. and Šebesta, F. (2003) Metal biosorption by PAN-immobilized fungal biomass in simulated wastewaters. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v.212, p.185-195.