Particle and Aerosol Research 제 7 권 제 1 호
PAAR Vol. 7, No. 1 (2011) pp. 9-19
(사)한국입자에어로졸학회

# 간헐적이고 불규칙적인 부하 조건에서 바이오필터의 Xylene 제거 성능 및 세균 활성

이은희 · 최선아 · 조경숙*
이화여자대학교 환경공학과

(2011년 2월 24일 투고; 2011년 3월 19일 게재확정)

# Biofilter performance and bacterial activity under intermittent and fluctuant xylene loads

Eun-Hee Lee, Sun Ah Choi, Kyung-Suk Cho*
*Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University*

(Received 24 February; accepted 19 March 2011)

## Abstract

The effects of different transient loading conditions on xylene removability and bacterial activity were evaluated in the polyurethane (PU) biofilter inoculated with *Rhodococcus* sp. EH831: BF1 (the control) was operated under continuous and constant loading (200±50 ppm); BF2 under continuous and constant loading after a 2-week long-term shutdown; BF3 under discontinuous (8 h on/16 h off on weekdays and a 2 day-shutdown at weekends); and constant loading BF4 under discontinuous and high loading (700±300 ppm); and BF5 under continuous and fluctuating loading (high loading for 8 h and low loading (75±25 ppm) for 16 h on weekdays and low loading at weekends). Xylene removal efficiencies in the BF1, BF2, BF3, and BF5 were ranged 83-89%, indicating that 2-week long-term shutdown, intermittent or fluctuant loading condition did not significantly influence the biofilter performance. However, discontinuous and high load condition (BF4) caused to deteriorate xylene removability to 52%. *Rhodococcus* sp. EH831 could be maintained at $10^9$~$10^{10}$ CFU/g-dry PU under 5 kinds of loading conditions. The result of polymerase chain reaction-terminal-restriction fragment length polymorphism showed that there was no significant change in bacterial community structures by different loading conditions.

Keywords : Biofilter, Xylene, Loading condition, *Rhodococcus* sp., Polyurethane

* Corresponding author.
Tel : +82-2-3277-2393, E-mail : kscho@ewha.ac.kr

## 1. 서 론

대기 중으로 배출되는 휘발성 유기화합물(VOCs)은 대기 질을 악화시키고 환경을 오염시키며 인체에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Saravanan and Rajamohan, 2009). 이러한 휘발성 유기화합물 중 xylene은 유독한 화학물질(hazardous chemical)로서, 인쇄소, 고무, 합성 섬유, 플라스틱, 제초제, 살충제 및 가죽공장에서 용매로서 이용되고, 세제(cleaner)와 페인트 희석제(paint thinner)로 사용된다(Jeong *et al.*, 2008; Saravanan and Rajamohan, 2009). Xylene은 인체의 간과 신장에 독성을 보이고 피부와 호흡을 통해 인체로 유입되면 중추 신경계를 방해하는 것으로 알려져 있어(Forsyth and Faust, 1994), 독성이 강한 대기오염물질로 분류되어있다(Clean Air Act Amendments of 1990 USA).

Xylene을 제거하기 위한 대표적인 방법에는 활성탄 흡착, 소각, 오존 처리(ozonation), 응축, 촉매산화, 그리고 바이오필터 기술(biofiltration) 등이 있다(Jeong *et al.*, 2008). 이 중 바이오필터 기술은 미생물을 이용하여 xylene을 무독한 이산화 탄소와 물로 전환시키는 기법으로, 환경 친화적이고 경제적인 기법으로 알려져 있다(Elmrini *et al.*, 2004). Xylene 제거용 바이오필터 기술에 있어, 운전조건에 따른 미생물 활성 변화는 바이오필터 성능을 좌우하는 주요 인자 중의 하나이다(Kim and Sorial, 2007). Xylene 제거 바이오필터에 관한 기존 연구는 정상상태(steady state)에서 바이오필터를 운전했을 때 바이오필터 성능을 조사한 연구가 대부분이다(Moussavi and Mohseni, 2007; Cho *et al.*, 2009; Saravanan and Rajamohan, 2009). 그러나, 현장에 설치되는(field scale) 바이오필터는 비정상 상태(unsteady state) 즉, 변동 부하조건(transient loading) 하에서 운전되는 경우가 많기 때문에 이러한 상태에서 운전되는 바이오필터 성능에 대한 정보는 바이오필터 상용화 확대의 최적화를 위해 매우 중요하다. 그러나 변동 부하 조건에서의 바이오필터 성능에 대한 연구는 benzene과 toluene 중심으로 수행되었고(Kim *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2009), 방향족(aromatic) 화합물 중에서 가장 난분해성 물질인 xylene을 대상으로 한 연구는 매우 적다(Qi and Moe, 2006; Moussavi and Mohseni, 2007; Jeong *et al.*, 2008; Mathur and Majumder, 2008).

그러므로 본 연구에서는 폴리우레탄을 담체로 사용하고 *Rhodococcus* sp. EH831을 미생물원으로 이용한 바이오필터의 간헐적이고 불규칙적인 부하조건 하에서 xylene 제거 성능을 조사하였다. 또한, EH831 활성을 정량적 real-time PCR(quantitative TaqMan real-time PCR) 기법을 이용하여 정량화 하였고, xylene 제거효율과 EH831 활성과의 상관관계를 조사하였다. 변동하는 부하 조건하에서의 EH831 균주를 포함한 일반세균의 군집 구조를 PCR-T-RFLP (polymerase chain reaction-terminal-restriction fragment length polymorphism) 기법을 이용하여 분석하였고, 일반세균 군집구조에 미치는 변동 부하조건의 영향을 고찰하였다.

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1 담체 및 접종원

본 연구에서 사용한 담체는 폴리우레탄(polyurethane, Seilsponge, Korea)으로 0.3×0.3×0.3 cm 이다. 폴리우레탄의 밀도, 공극 크기 및 표면적과 같은 정보는 Kown 등의 논문에 자세히 기술되어 있다(Kown *et al.*, 2003). 대상 오염 가스는 xylene 용액(J.T. Baker, Phillipsburg, USA)을 기화시켜 제조하였고(Lee *et al.*, 2009), *m, p, o*-xylene이 모두 포함되어 있다(*m*-xylene 40-60%, *p*-xylene <20%, *o*-xylene 15-20%). 접종원으로 사용한 *Rhodococcus* sp. EH831 균주는 모든 xylene 이성질체(isomer)를 분해할 수 있는 균주로 유류오염 토양으로부터 분리되었다(Lee and Cho, 2009). EH831을 바이오필터에 접종하고자 8 L Lunia-Bertani(LB, tryptone 10 $g \cdot L^{-1}$; Sodium Chloride 10 $g \cdot L^{-1}$; Yeast extract 5 $g \cdot L^{-1}$, Duchefa Biochemi, Haarlem, Netherlands) 배지에 30°C, 180 rpm에서 전배양하였다. LB 배지에서 전배양한 EH831 균주를 담체와 잘 섞은 후, 균이 담체에 흡착되도록 1일 후에 바이오필터에 접종하였다.

### 2.2 바이오필터 설치 및 운전 조건

간헐적이고 불규칙적인 부하조건을 모사하고자 총 5가지의 바이오필터를 설치하였고, 바이오필터의 운전조건은 Fig. 1에 도시하였다. 바이오필터의 크기

및 재질 특징은 Lee 등(2009)에 자세히 설명되어 있다(Lee *et al.*, 2009). 본 실험에 들어가기 전 바이오필터를 안정화 하기 위해 일정 농도 범위의 xylene (*m*, *p*-xylene, 320±120 ppm; *o*-xylene, 100±41 ppm) 가스를 공간속도 50 $h^{-1}$ 조건에서 xylene 제거효율이 일정해질 때까지 42일 동안 운전하였다(Fig. 1). 이렇게 정상상태에 도달한 바이오필터로부터 모든 담체를 꺼내 손으로 균일하게 혼합한 담체를 다시 5개의 바이오필터에 주입하고 운전 조건에 맞춰 바이오필터를 운전하였다. BF1은 대조군으로 지속적으로 일정하게(continuous and constant) xylene(200±50 ppm)을 공급하였다. BF2는 2주간의 운전정지(shutdown) 후 바이오필터를 BF1과 동일한 조건으로 2주일간 재가동 시켰는데, 정지 기간에는 공기는 물론 수분도 공급하지 않았다(Fig. 1). BF3은 하루에 8시간만 xylene(200±50 ppm)을 공급하고 하루에 16시간과 주말 2일은 영양물질과 xylene 공급을 일체 중단하였다. BF4는 BF3과 동일한 조건에 xylene 공급농도만 700±300 ppm로 높게 하였다(Fig. 1). BF5는 BF4의 조건에서 하루에 16시간과 주말 2일을 75±25 ppm의 xylene을 저농도로 공급하였다(Fig. 1). 모든 바이오필터는 공간속도 50 $h^{-1}$로 운전되었고, 정지기간을 제외하고는 영양물질로 하루에 한번씩 약 200 ml Bushnell-Hass 배지를(Lee *et al.*, 2009) 위쪽에서 아래로 공급하였다. 모든 바이오필터는 총 2주간에 걸쳐 운전되었고, 단 BF2는 2주간의 정지 후 재가동하였고, 2주간 운전되었다(Fig. 1).

### 2.3 담체 채취 및 생물량 추출

바이오필터 속 세균 군집과 EH831을 정량적으로 분석하고자, 담체로부터 생물량(biomass)을 다음과 같이 분석하였다. 생물량 채취 시기는 본실험에 들어가기 전 초기(42일) 조건과 본실험에 들어간 후 7일 마다(49일과 56일, 단 BF2는 63일과 70일) 채취하였다. 각 바이오필터는 채취시기별로 담체를 균일하게 섞은 후 약 0.5 g(습중량) 획득하였다. 획득한 담체에 멸균수 9 ml을 첨가한 후, 5분간 교반하여 담체로부터 생물량을 탈착시켰다. 담체의 생물량은

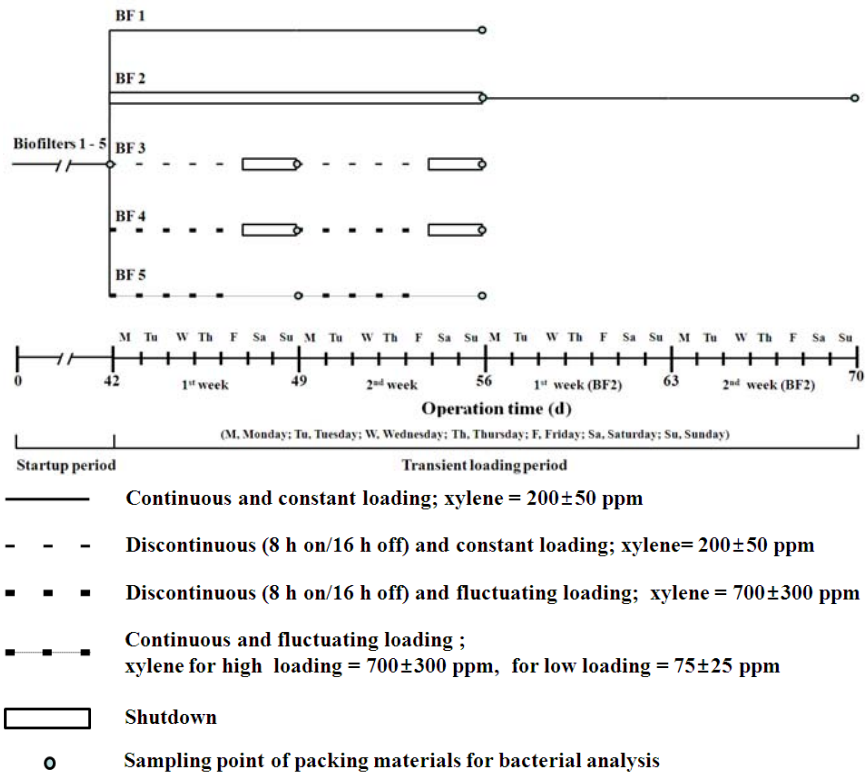


Fig. 1. Operating conditions of the five kinds of biofilter. Pre-operation period for steady-state condition until 6 weeks.

압착기를 이용하여 최종적으로 탈착되었고, 세균 군집과 EH831 정량 분석에 사용되었다.

### 2.4 Real-Time PCR을 이용한 *Rhodococcus* sp. EH831의 정량분석

바이오필터 속 *Rhodococcus* sp. EH831을 모니터링하기 위해, 정량적 real-time PCR 방법을 이용하였다(Lee *et al.*, 2009). EH831의 genomic DNA는 탈착된 생물량 1 ml로부터 BIO101 FastDNA SPIN KIT를 이용하여 추출되었고(Q-Biogene, CA, USA), 추출방법은 설명서를 참고하였다. 모든 genomic DNA는 삼반복으로 추출되었다. 추출된 genomic DNA는 QIAquick purification kit(QIAgen, CA, USA)를 이용하여 정제되었고, real-time PCR 반응의 시료로 사용되었다. Real-time PCR은 MicroAmp Optical 96-well reaction plate와 MicroAmp Optical Caps(Applied Biosystems, USA)를 사용하여 총 25 ㎕로 수행되었다. Genomic DNA 3 ㎕를 시료로서 22 ㎕ PCR 반응용액에 첨가하였고, PCR 반응의 자세한 내용은 Lee 등(2009)을 참고하였다(Lee *et al.*, 2009). TaqMan primer와 probe의 염기서열은 다음과 같다 TaqMan forward primer는 5'-CGCAACCCTTGTCCTGTGT-3'이고 reverse primer는 5'-GTTGACCCCGGCAGTCT-3'이다. Probe 염기서열은 5'-CGTTAAGCCAACCC-3'이고 5'에 FAM(6-carboxyfluorescein)이 부착되었다(Lee *et al.*, 2009). PCR 조건과 결과 해석방법은 Lee 등에 자세히 기술되어 있다(Lee *et al.*, 2009). 모든 실험은 이반복으로 수행되었다.

### 2.5 PCR-T-RFLP 기법을 이용한 세균 군집 구조 분석

바이오필터 속 최종 세균 군집 구조를 분석하고자 바이오필터 운전 종료시점의 DNA(운전 56일, 단 BF2는 70일)를 가지고, PCR-T-RFLP 기법을 이용하여 분석하였다. 세균 군집분석을 위해, FAM이 부착된 27f(Egert and Friedrich, 2003)와 907r(Muyzer *et al.*, 1995)를 이용하여 16S rRNA gene 부분(ca. 880 bp)을 PCR로증폭하였다. PCR은 100 ng genomic DNA가 포함된 50 ㎕ 반응 용액으로 이루어졌고, 반응용액에는 5 g bovine serum albumin과, primer가 각각 0.4 M, 1 Ex *Taq* buffer, 0.75 U Takara Ex *Taq* DNA polymerase(TaKaRa Bio Inc., Shiga, Japan)와 200 M dNTP가 포함되어 있다. PCR 반응은 GeneAmp® PCR system Model 2700(Applied Biosystems Inc., Foster, USA)을 이용하여 수행하였고 PCR 조건은 Cho 등을 참고하였다(Cho *et al.*, 2005). 증폭된 DNA는 QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, USA)를 이용하여 정제하였고 설명서를 따라서 수행하였다.

정제된 16S rRNA gene amplicon 200 ng은 2.5 U의 제한효소 *HaeIII*(BEAMS Biotechnology, Seongnam, Korea)를 이용하여 37℃에서 4시간 동안 처리되었다. 각 샘플의 terminal restriction fragment(T-RF) 크기는 ABI 377 DNA auto sequencer(GMI Inc., Ramsey, USA)을 사용하여 denaturing polyacrylamide gel(6 M urea and 5% polyacrylamide)에 전기영동하여 분석되었다. 군집의 상대적인 분포는(%) 전체 peak 면적에 대한 각각의 T-RF의 peak 면적으로 계산하였다. 자료 분석은 fragment 길이가 30 bp이상의 자료만 가지고 분석하였다.

한편, 일반 세균의 T-RF profiles 사이의 유사도는 PC-ORD software version 4.0을(McCune and Mefford, 1999) 이용하여 분석하였고, 분석 시 UPGMA와 Bray-Curtis 상수 값을 사용하였다.

### 2.6 분석 방법

바이오필터의 xylene의 농도를 분석하고자 1 ml gas-tight syringe(Hamilton series no. 1001; Hamilton Co., USA)를 이용하여 가스를 채취하였고, 채취된 가스는 불꽃이온화 검출기(flame ionization detector)와 DBwax(30 m length, 0.32 mm diameter, and 0.25 ㎛ thickness; Agilent Co., USA) 컬럼이 장착된 가스크로마토그래피(gas chromatography, HP6890N, Agilent Co., USA)를 이용하여 분석하였다. 오븐, 주입부, 검출부의 온도는 각각 100, 230, 및 230℃로 설정하였다. 이동가스는 질소, 연소가스는 공기와 수소를 사용하였다. 이러한 방법으로 xylene을 분석하였을때, *m*, *p*-xylene은 체류시간(retention time) 2.2분에서 동일 peak로 검출되고, *o*-xylene은 체류시간 2.5분에서 분석되었다. Xylene의 검량선은 600 ml 혈청병에 xylene을 1 ㎕ 첨가하여 분석하였고, 자세한 방법은 Lee 등에 설명되어있다(Lee *et al.*, 2009).

바이오필터의 pH를 분석하고자, 매일 바이오필터의 배수관(drain)에서 용액을 20 ml 채취하여 pH meter (Orion420A, Orion, USA)로 분석하였다. 담체의 수분

함량을 분석하기 위해, 채취된 담체 5 g(습중량)을 70°C 오븐에서 하루 동안 건조하였고, 건조 전후의 무게 차이로부터 담체의 수분함량을 계산하였다.

## 3. 결 과

### 3.1 바이오필터의 xylene 제거성능에 미치는 간헐적, 불규칙 부하조건의 영향

*Rhodococcus* sp. EH831을 접종한 폴리우레탄 바이오필터에 xylene(*m, p*-xylene, 320±120 ppm; *o*-xylene, 100±41 ppm)을 공간속도 50 $h^{-1}$로 공급하였을 때 xylene은 지연기 없이 제거되었으며 12일 경과 후부터 평균 xylene 제거효율은 88±7%로 정상상태에 도달하였다(결과 미제시). 이렇게 42일 동안 바이오필터를 안정화시키고, 균일화 시킨 담체를 5개의 바이오필터에 재충전 한 후, xylene 부하 조건 변화에 따른 바이오필터 성능을 조사하였다. 지속적으로 일정하게 xylene을 공급한 BF1은 모든 xylene을 제거하였는데, 운전 첫날에(전체 운전 43일) *m, p*-xylene과 *o*-xylene의 제거효율은 각각 84±10와 81±12%로 다소 낮았으나, 운전 2일째부터(전체 운전 44일) *m, p*-xylene과 *o*-xylene의 제거효율이 각각 90±7와 89±7%로 향상되었다(Figs. 2a & 3a). 그런데, 바이오필터 운전시간이 경과할수록 xylene 제거 효율이 다소 낮아지는 현상이 관찰되었는데, 초기 1주일 동안의 *m, p*-xylene의 평균 제거효율은 88±3% 이었으나, 2주차의 제거효율은 80±9%이었다. 또한, *o*-xylene의 평균 제거효율도 1주차 82±9% 에서 2주차에는 73±13%로 저하되었다(Figs. 2a & 3a).

BF2는 2주간의 장기간 운전중단 후 재가동 시켰음에도 불구하고 xylene을 바로 제거할 수 있었는데, BF1과 유사하게 BF2에서도 바이오필터 운전시간이 경과함에 따라 xylene의 제거효율이 저하되는 경향이 관찰되었다. 즉, BF2의 재운전 1주차 평균 제거효율은 *m, p*-xylene과 *o*-xylene이 각각 88±6%, 73±16% 이었으나, 2주차에는 각각 83±13%, 68±21%로 다소 감소하였다(Figs. 2b & 3b). 이러한 BF2의 xylene 제거효율은 BF1의 제거효율과 비교했을 때 유의차가 없어 2주일 동안의 운전중단은 바이오필터의 xylene 제거성능에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

BF3은 하루에 8시간만 xylene을 바이오필터에 공급하고 나머지 16시간과 주말 2일 동안은 바이오필터를 운전을 중단하는 간헐적 부하조건으로 실험을 수행하였다(Fig. 1). BF3의 제1주차 *m, p*-xylene과

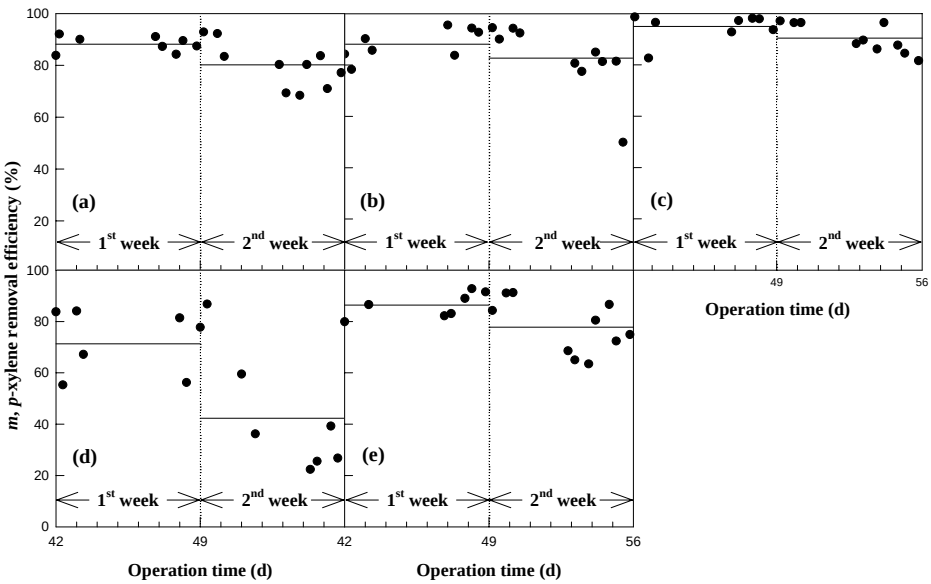


Fig. 2. Comparison of removal efficiencies *m, p*-xylene under intermittent and fluctuant loads of biofilters. (a), BF1; (b), BF2; (c), BF3; (d) BF4; (e) BF5.

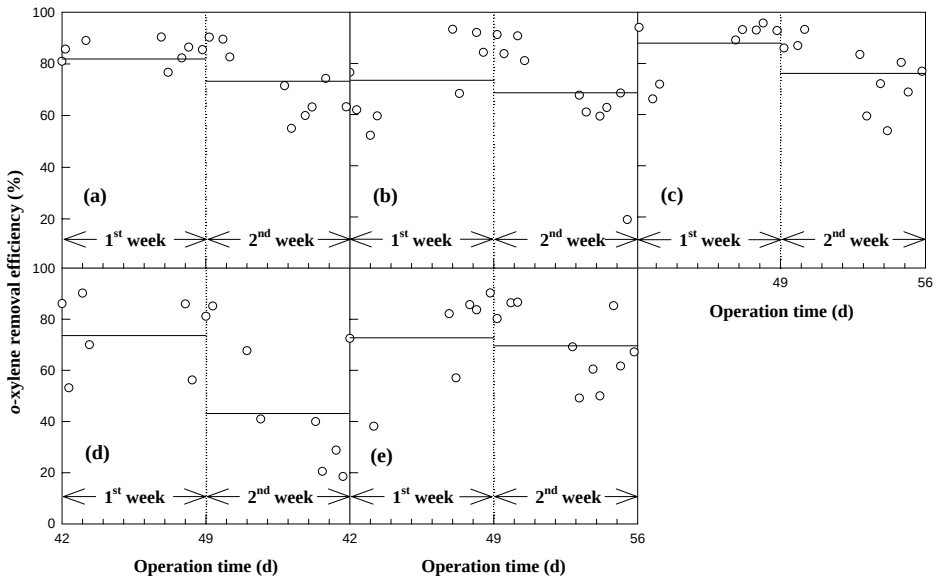


Fig. 3. Comparison of removal efficiencies *o*-xylene under intermittent and fluctuant loads of biofilters. (a), BF1; (b), BF2; (c), BF3; (d) BF4; (e) BF5.

*o*-xylene의 평균제거효율은 각각 95±5%, 88±11% 이었고, 제2주차에는 각각 90±6%, 76±13%으로 BF1과 비교했을 때 유의차가 없어(Figs. 2c & 3c), 간헐적인 부하 조건은 xylene 제거효율이 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

하루에 8 시간은 고농도(700±300 ppm)의 xylene을 공급하고, 나머지 16 시간과 주말은 운전 중단시킨 BF4는 운전 제1주부터 *m, p, o*-xylene의 제거율이 불안정하였고, 시간이 경과할수록 xylene 제거효율이 뚜렷하게 감소하여, 제2주차의 *m, p*-xylene과 *o*-xylene의 평균 제거효율은 각각 42±23%과 43±25% 이었다(Figs. 2d & 3d). 그러나, 하루에 8 시간은 고농도(700±300 ppm)의 xylene을 공급하고, 나머지 16 시간과 주말은 저농도(200±50 ppm) xylene을 공급한 BF5는 운전 첫 주에(전체 운전 43~49일) *m, p*-xylene과 *o*-xylene을 각각 86±27%, 73±23% 제거하여 안정적으로 운전되는 것을 알 수 있었다(Figs. 2e & 3e). 또한, 2주째에도 *m, p*-xylene과 *o*-xylene 제거율이 각각 78±10%, 70±14%로 BF4만큼 xylene 제거 효율이 현저히 감소하지 않았다(Figs. 2e & 3e).

5가지 부하 조건으로 운전한 BF1~BF5 바이오필터에서 xylene 부하량에 따른 xylene 제거용량을 계산하여 Fig. 4에 도시하였다. BF1~BF3, BF5의 xylene 제거능은 83~89%로 큰 차이를 보이지 않아 세조건의 xylene 부하영향은 미미한 것으로 보인다(Figs. 4a ~c & e). 하지만, BF4의 xylene 제거능은 52%로(Fig. 4d), BF1~3, BF5와는 달리 현저히 낮은 값을 보였다. 이것으로 보아 바이오필터의 성능에 영향을 미치는 부하조건은 운전중단과 고농도로 xylene이 공급 단독 조건보다는 두 조건이 복합적으로 이루어지는 BF4 조건이 바이오필터 성능에 상당한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

### 3.2 세균 활성 및 군집구조에 미치는 부하조건의 영향

본 연구에서 바이오필터에 접종한 *Rhodococcus* sp. EH831의 세균수에 미치는 xylene부하조건의 영향을 규명하고자, real-time PCR 기법을 이용하여 EH831 세균수를 정량 분석하였다(Table 1). 모든 바이오필터(BF1~BF5)에서 초기값($1.05\pm0.2\times10^{11}$ CFU/g-dry PU)에 비해 EH831의 수가 약간 감소하였으나, EH831의 세균수는 부하 조건은 물론 운전시간에 관계없이 $10^{9}$~$10^{10}$ CFU/g-dry PU 수준을 유지하였다(Table 1). EH831 세균수와 xylene 제거효율의 상관관계를 분석한 결과, *m, p*-xylene과 *o*-xylene 모두 상관관계가 없었다(결과 미제시).

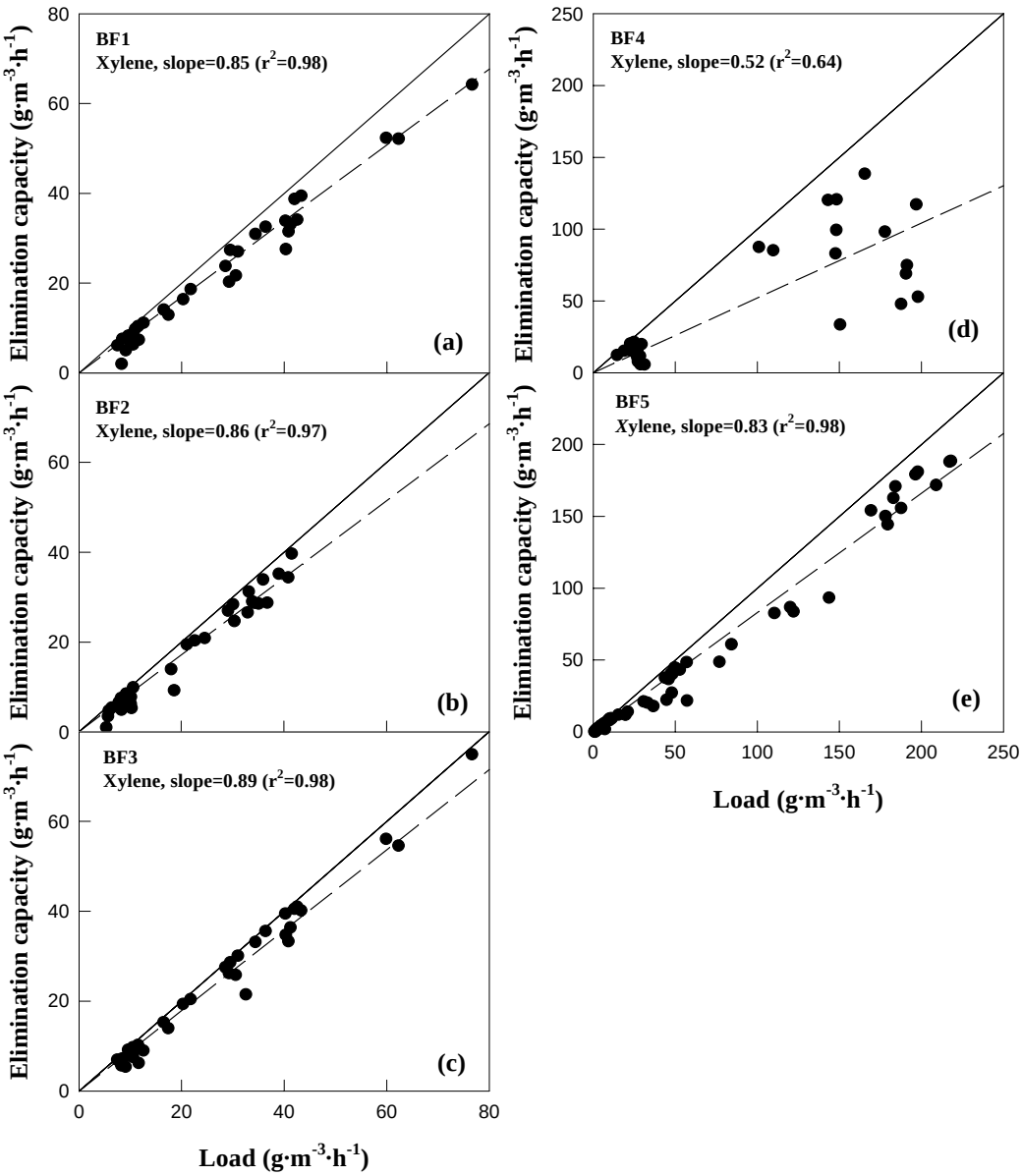


Fig. 4. Elimination capacities of biofilters versus xylene inlet loads under intermittent and fluctuant loading periods. (a), BF1; (b), BF2; (c), BF3; (d) BF4; (e) BF5.

Xylene 부하 조건이 바이오필터의 세균 군집 구조에 미치는 영향을 조사하기 위해, 일반세균을 검출할 수 있는 primer sets을 이용한 PCR-T-RFLP 기법을 이용하여 바이오필터 운전 종료시기의 세균 군집을 분석하여, xylene 부하 조건이 다른 5종의 바이오필터의 일반세균 군집구조 사이의 유사성 및 연관성을 분석한 결과를 Fig. 5에 도시하였다. 그 결과 BF1, BF4, 그리고 BF2의 유사성이 높았고(Fig. 5a), PCA 분석에서도 대조(control) 조건인 BF1와 BF4의 일반세균 군집이 가장 가깝게 위치하였고, BF3과 BF5로는 BF1가 상대적으로 멀리 떨어진 위치로 배열되었으나, 특별한 특성은 관찰되지 않았다. 즉,

Table 1. Changes of *Rhodococcus* sp. EH831 in the biofilters during intermittent and fluctuant xylene loads.

| Operation Time (d) | CFU of EH831/g-dry polyurethane | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | BF 1 | BF 2 | BF 3 | BF 4 | BF 5 |
| Initial | $1.05\pm0.19\times10^{11}$ | $1.05\pm0.19\times10^{11}$ | $1.05\pm0.19\times10^{11}$ | $1.05\pm0.19\times10^{11}$ | $1.05\pm0.19\times10^{11}$ |
| 1st week | $2.9\pm0.74\times10^{9}$ | $4.61\pm0.11\times10^{9}$ | $5.22\pm0.24\times10^{9}$ | $5.86\pm0.6\times10^{10}$ | $1.58\pm0.33\times10^{9}$ |
| 2nd week | $2.7\pm0.81\times10^{9}$ | $2.14\pm0.29\times10^{9}$ | $2.73\pm0.73\times10^{9}$ | $3.97\pm0.11\times10^{10}$ | $1.59\pm0.20\times10^{9}$ |

xylene 부하 조건에 의해 각 바이오필터의 일반세균 군집구조는 특정한 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

## 4. 고 찰

본 연구에서는 *Rhodococcus* sp. EH831을 접종한 xylene-제거 바이오필터의 간헐적이고 불규칙적인 부하조건하에서 바이오필터의 운전에 미치는 세균 활성과 군집 변화를 조사하였다. 지속적으로 일정하게 xylene을 공급한 BF1은 운전 시간이 길어질수록 xylene 제거 효율이 감소하였는데, 이는 접종원으로 사용한 *Rhodococcus* sp. EH831 균주의 xylene 제거 특성과 관련이 있는 것으로 보인다(Lee *et al.*, 2010). *Rhodococcus* sp. EH831은 모든 xylene(*m*, *p*, and *o*-xylene)을 분해할 수 있지만, *m*, *p*-xylene 분해속도에 비해 *o*-xylene의 분해 속도가 상대적으로 느렸는데(Lee *et al.*, 2010), 이는 *o*-xylene의 자체의 독성영향 혹은 분해 산물에 의한 저해 영향 때문으로 사료된다. 타 연구에서도 *o*-xylene은 xylene 이성질체 중에서 생물학적으로 가장 분해가 어려운 물질로 보고하고 있다(Moussavi and Mohseni, 2007; Jeong *et al.*, 2008; Cho *et al.*, 2009). 이러한 xylene 이성질체 분해 특성으로 인해 바이오필터 운전 시간이 길어질수록 상대적으로 제거가 힘든 *o*-xylene의 축적으로 바이오필터의 xylene 제거 성능이 감소된 것으로 사료된다.

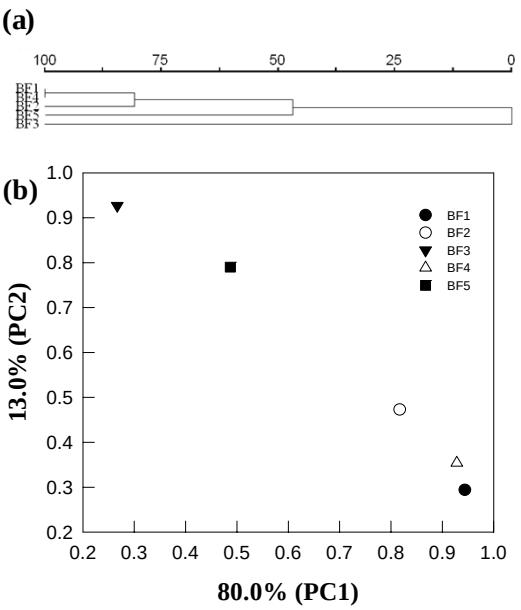


Fig. 5. Universal bacterial community dynamics by T-RFLP results. (a) Universal bacterial community similarities. (b) Principal component analysis. T-RF abundances were subjected for calculation of UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) and Bray-Curtis coefficient values.

BF2는 2주간의 운전중단 후에 바이오필터를 재가동 시킨 조건으로 재가동 후 바로 xylene을 제거 가능하였다. Jeong 등은 *Rhodococcus* sp. BTO62를 접종한 *o*-xylene-제거 바이오필터 연구에서 9일간의 운전중단 후에 바이오필터가 운전중단 전 상태로 돌아가는데 약 2일이 소요되었다고 보고하였다(Jeong *et al.*, 2008). 즉, 바이오필터 재가동 후 약 30%였던 제거 효율이 2일 후 80%로 빠르게 회복되어 운전중단 이전 상태와 동일한 성능을 보였다(Jeong *et al.*, 2008). Jiang 등은 $H_2S$와 $NH_3$ 제거 바이오필터 연구에서, 운전중단 후 바이오필터가 회복되는데 걸리는 시간이 운전중단 기간과 관련이 있음을 보고하였다(Jiang *et al.*, 2009). 즉, 운전중단 기간이 증가할수록

바이오필터 성능 회복에 걸리는 시간도 증가하였다(Jiang *et al.*, 2009). 그러나, Santos 등은 휘발성 유기화합물 제거 바이오필터 실험에서 12 일의 운전중단이 바이오필터 운전에 아무런 영향을 미치지 않음을 보고하였고(Santos *et al.*, 2007), Sempere 등 역시 3주 동안의 운전중단에도 바이오필터의 휘발성 유기화합물 제거 성능은 영향을 받지 않는다고 보고하였다(Sempere *et al.*, 2008). 동일한 조건에서 수행한 benzene 및 toluene-제거 바이오필터 실험에서도 동일한 결과가 관찰되었는데, BF2는 2주간의 운전중단 후에 운전중단 전 상태로 회복되는데 약 1일이 걸렸다(Lee *et al.*, 2009). 이와 같이 2주간의 운전중단 후에도 바이오필터가 빠르게 회복될 수 있었던 것은 EH831이 $10^9$ CFU/g-dry PU 이상 존재하였기 때문으로 보인다(Table 1). 기존 연구에서도 EH831이 $10^{10}$ CFU/g-dry PU 이상 존재하였기에 때문에 2주간의 운전중단 영향이 관찰되지 않았고 회복속도 역시 빨랐다(Lee *et al.*, 2009).

간헐적 부하조건이 바이오필터 성능에 미치는 영향을 조사한 BF3에서도 BF1과 마찬가지로 운전 시간이 경과할수록 xylene 제거효율이 감소하였고, xylene 제거효율도 BF1와 비슷하여, 간헐적 부하는 바이오필터 성능에 거의 영향을 주지 않음을 알 수 있었다(Figs. 2c & 3c). Qi 와 Moe 역시 *p*-xylene제거 바이오필터에 하루 8 h만 xylene을 공급한 간헐적 부하조건이 바이오필터 성능에 아무런 영향을 미치지 않는다고 보고하였다(Qi and Moe, 2006). Sempere 등은 휘발성 유기화합물 제거 바이오필터를 하루에 16 h만 휘발성 유기화합물을 공급하고 주말 2일은 운전중단 시킨 간헐적 부하조건으로 운전하였을 때, 주말의 가동중단 후 재가동 첫날 제거율이 5~10% 감소하였지만 바로 회복되었다고 보고하였다(Sempere *et al.*, 2008). 이러한 조건에서 바이오필터를 계속 운전하였을 때 2주 동안은 제거율이 90% 이상 유지되었지만, 2주 후부터는 제거율이 80% 전후로 다소 감소하였다. 하지만 운전 2주 후부터 최종 운전 10주까지 휘발성 유기화합물이 80% 제거되어 간헐적 부하영향은 크지 않다고 보고하였다(Sempere *et al.*, 2008). Rene 등 역시 styrene 제거 바이오필터는 3일 간의 운전중단에 아무런 영향을 받지 않았다고 보고하였다(Rene *et al.*, 2009). 하지만 이들의 연구에서는 단기간 운전중단이 1회만 이루어 졌기 때문에 본 연구와는 다소 차이가 있다(Rene *et al.*, 2009). 본 연구 결과에서도 2주까지는 단기간 운전중단의 영향이 크지 않았기 때문에 직접적인 비교는 힘들다. 하지만 본 연구자들의 이전 연구결과를 살펴 보면(Lee *et al.*, 2009), benzene 및toluene-제거 바이오필터의 운전에 단기간 운전중단은 운전 4주 동안 아무런 영향을 미치지 않는다고 보고하였고, 본 연구 결과를 뒷받침 해주고 있다.

Raghuvanshi 와 Babu는 methyl ethyl ketone (MEK) 제거 바이오필터 연구에서 유입 농도를 2배로 높여 고농도로 공급한 결과, 95% 였던 제거율이 67%로 급격히 감소하였고 그 후 최대 73%까지 회복이 되었다(Raghuvanshi and Babu, 2009). 또한, Rene 등은 styrene 제거 바이오필터 연구에서 유입 농도를 3~7배 높여 고농도로 공급한 결과, 유입 농도를 3배 높여 공급한 결과에서는 제거율이 100%로 유지가 되었지만, 7배 높인 조건에서는 제거효율이 70%로 급격히 감소하였다(Rene *et al.*, 2009). 그런데, 본 연구에서는 고농도 xylene을 간헐적으로 공급한 조건(BF4)에서는 xylene 제거효율이 저하되었으나(Figs. 2d & 3d), 고농도 xylene과 저농도 xylene을 번갈아서 공급한 조건(BF5)에서는 xylene 제거효율이 크게 저하되지 않았다(Figs. 2e & 3e).

일반적으로 미생물 활성은 바이오필터 성능에 영향을 미치는 가장 중요한 인자이다(Kim and Sorial, 2007; Devinny *et al.*, 1999). 본 연구에서 접종원으로 사용한 EH831는 5가지 부하 조건하에서 $10^9$~$10^{10}$ CFU/g-dry PU 수준을 유지할 수 있어, 다양한 xylene 부하 조건하에서 EH831의 균수는 안정적으로 존재할 수 있음을 알 수 있었다(Table 1). 본 균주 이용한 benzene 및 toluene-제거 바이오필터의 변동 부하조건 연구에서도 EH831은 $10^9$~$10^{10}$ CFU/g-dry PU로 부하조건에 관계없이 일정한 수준을 유지하였고, 이와같은 이유로 바이오필터는 안정적으로 운전되었다(Lee *et al.*, 2009). 그런데, 본 연구 결과는 2주간의 단기간 동안 바이오필터를 운전하면서 간헐적이고 불규칙적인 부하조건에서 xylene 제거 성능과 세균 활성을 조사한 것으로, 향후 장기간 운전 조건에서 부하 조건에 따른 바이오필터 성능 평가에 관한 연구가 필요하다.

## 5. 결 론

본 연구에서는 간헐적이고 불규칙적인 부하 조건이 xylene 제거 PU 바이오필터 성능에 미치는 영향을 알아보고자, 5가지 부하조건에서 xylene 제거효율을 조사하고, 접종원인 EH831을 정량적으로 분석하고 일반세균 군집 구조를 분석하였다. 그 결과, 2주일 동안의 운전정지는 바이오필터 성능에 거의 영향을 미치지 않았다. 또한, PU 바이오필터의 xylene 제거효율은 간헐적 부하와 xylene의 유입농도를 고농도/저농도로 변화시킨 불규칙적 부하에 영향을 받지 않았다. 그러나 xylene이 고농도로 간헐적으로 공급되는 부하조건에서는 바이오필터 성능이 저하되었다. 접종원으로 사용한 EH831 균주는 바이오필터 운전 조건에 관계없이 $10^9$~$10^{10}$ CFU/g-dry PU를 유지할 수 있었다. 본 연구로부터 도출된 결과는 향후 바이오필터 상용화 확대의 최적화를 위해 매우 유용한 정보로 활용 가능하다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단 지정 국가지정연구실사업(No. R0A-2008-000-20044-0) 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## 참 고 문 헌

Cho, E., Galera, M. M., Lorenzana, A., and Chung, W. J. (2009). Ethylbenzene, *o*-xylene, and BTEX removal by *Sphingomonas* sp. D3K1 in rock wool-compost biofilters., *Environmental Engineering and Science*, 26, 45-52.

Cho, W., Lee, E. H., Shim, E. H., Kim, J., Ryu, H. W., and Cho, K. S. (2005). Bacterial communities of biofilms sampled from seepage groundwater contaminated with petroleum oil, *Journal of Microbiology and Biotechnoloy*, 15, 952-964.

Devinny, J. S., Deshusses, M. A., and Webster, T. S. (1999). Biofiltration for air pollution control, Lewis Publishers, NY, USA.

Egert, M. and Friedrich, M. W. (2003). Formation of pseudo-terminal restriction fragments, a PCR related bias affection terminal restriction fragments length polymorphism analysis of microbial community structure, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2555-2562.

Elmrini, H., Bredin, N., Shareefdeen, Z., and Heitz, M. (2004). Biofiltration of xylene emissions: bioreactor response to variations in the pollutant inlet concentration and gas flow rate, *Chemical Engineering Journal*, 100, 149-158.

Forsyth, C. S. and Faust, R. A. (1994). Toxicity summary for xylene, Center for integrated Risk Assessment (http://cira.ornl.gov/).

Jeong, E., Hirai, M., and Shoda, M. (2008). Removal of *o*-xylene using biofilter inoculated with *Rhodococcus* sp. BTO62, *Journal of Hazardous Materials*, 152, 140-147.

Jiang, X., Yan, R., and Tay, J. H. (2009). Transient-state biodegradation behavior of a horizontal biotrickling filter in co-treating gaseous $H_2S$ and $NH_3$, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81, 969-975.

Kim, D. and Sorial, G. A. (2007). Role of biological activity and biomass distribution in air biofilter performance, *Chemosphere*, 66, 1758-1764.

Kim, D., Cai, Z., and Sorial, G. (2005). Behavior of trickle-bed air biofilter for toluene removal: effect of non-use periods, *Environmental Progress*, 24, 155-161.

Kown, H. H., Lee, E. Y., Cho, K. S., and Ryu, H. W. (2003). Benzene biodegradation using the polyurethane biofilter immobilized with *Stenotrophomonas maltophilia* T3-c, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13, 70-76.

Lee, E. H. and Cho, K. S. (2009). Effect of substrate interaction on the degradation of methyl *tert*-butyl ether, benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene by *Rhodococcus* sp., *Journal of Hazardous Materials*, 167, 669-674.

Lee, E. H., Kim, J., Cho, K. S., Ahn, Y. G., and Hwang,

G. S. (2010). Degradation of hexane and other recalcitrant hydrocarbons by a novel isolate, *Rhodococcus* sp. EH831, *Environmental Science and Pollution Research*, 17, 64-77.

Lee, E. H., Ryu, H. W., and Cho, K. S. (2009). Removal of benzene and toluene in polyurethane biofilter immobilized with *Rhodococcus* sp. EH831 under transient loading, *Bioresource Technology*, 100, 5656-5663.

Mathur, A. K. and Majumder, C. B. (2008). Biofiltration and kinetic aspects of a biotrickling filter for the removal of paint solvent mixture laden air stream, *Journal of Hazardous Materials*, 152, 1027-1036.

McCune, B. and Mefford, M. J. (1999). Multivariate analysis of ecological data, version 4, MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA.

Moussavi, G. and Mohseni, M. (2007). Using UV pretreatment to enhance biofiltration of mixtures of aromatic VOCs, *Journal of Hazardous Materials*, 144, 59-66.

Muyzer, G., Teske, A., Wirsen, C. O., and Jannasch, H. W. (1995). Phylogenetic relationships of *Thimicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments, *Archives of Microbiology*, 164, 165-172.

Qi, B. and Moe, W. M. (2006). Performance of low pH biofilters treating a paint solvent mixture: Continuous and intermittent loading, *Journal of Hazardous Materials*, B135, 303-310.

Raghuvanshi, S. and Babu, B. V. (2009). Exprimental studies and kinetic modeling for removal of methyl ethyl ketone using biofiltration, *Bioresource Technology*, 100, 3855-3866.

Rene, E. R., Veiga, M. C., and Kennes, C. (2009). Performance of a biofilter for the removal of high concentrations of styrene under steady and non-steady state conditions, *Journal of Hazardous Materials*, 168, 282-290.

Santos, S., Jones, K., Abdul, R., Boswell, J., and Paca, J. (2007). Treatment of wet process hardboard plant VOC emissions by a pilot scale biological system, *Biochemical Engineering Journal*, 37, 261-270.

Saravanan, V. and Rajamohan, N. (2009). Treatment of xylene polluted air using press mud-based biofilter, *Journal of Hazardous Materials*, 162, 981–988.

Sempere, F., Gabaldón, C., Martínez-Soria, V., Marzal, P., and Penya-roja, J. M. (2008). Performance evaluation of a biotrickling filter treating a mixture of oxygenated VOCs during intermittent loading, *Chemosphere*, 73, 1533-1539.