

《原著》

***Bacillus drentensis* sp. 사균과 polysulfone으로 이루어진 미생물담체를 이용한 수용액 내 벤젠 제거**

박상희 · 이민희*

부경대학교 지구환경과학과

Removal of Benzene in Solution by using the Bio-carrier with Dead *Bacillus drentensis* sp. and Polysulfone

Sanghee Park · Minhee Lee*

Department of Earth Environmental Sciences, Pukyong National University

ABSTRACT

Laboratory scale experiments to remove benzene in solution by using the bio-carrier composed of dead biomass have been performed. The immobilized bio-carrier with dead *Bacillus drentensis* sp. and polysulfone was manufactured as the biosorbent. Batch sorption experiments were performed with bio-carriers having various quantities of biomass and then, their removal efficiencies and uptake capacities were calculated. From results of batch experiments, 98.0% of the initial benzene (1 mg/L) in 1 liter of solution was removed by using 40 g of immobilized bio-carrier containing 5% biomass within 1 hour and the biosorption reaction reached in equilibrium within 2 hours. Benzene removal efficiency slightly increased (99.0 to 99.4% ± 0.05) as the temperature increased from 15 to 35°C, suggesting that the temperature rarely affects on the removal efficiency of the bio-carrier. The removal efficiency changed under the different initial benzene concentration in solution and benzene removal efficiency of the bio-carrier increased with the increase of the initial benzene concentration (0.001 to 10 mg/L). More than 99.0% of benzene was removed from solution when the initial benzene concentration ranged from 1 to 10 mg/L. From results of fitting process for batch experimental data to Langmuir and Freundlich isotherms, the removal isotherms of benzene were more well fitted to Freundlich model ($r^2 = 0.9242$) rather than Langmuir model ($r^2 = 0.7453$). From the column experiment, the benzene removal efficiency maintained over 99.0% until 420 pore volumes of benzene solution (initial benzene concentration: 1 mg/L) were injected in the column packed with bio-carriers, investigating that the immobilized carrier containing *Bacillus drentensis* sp. and polysulfone is the outstanding biosorbent to remove benzene in solution.

Key words : *Bacillus* sp., Biosorption, Benzene, Bio-carrier, Polysulfone

1. 서 론

휘발성유기오염물(VOCs: volatile organic compounds)인 BTEX에 속하는 벤젠은 국내 토양 및 지하수의 주요 오염물질로, 지난 10년간 군부대를 포함한 여러 오염부지에서 벤젠 제거를 위한 복원사업이 이루어져왔다(Jung et al., 2004). 벤젠은 IARC(International Agency for Research on Cancer)에서는 ‘Group 1’으로 EPA의 IRIS(Integrated Risk Information System)에서는 ‘Group A’로 지정할 만

큼 독성이 강한 발암성 물질이다(IARC, 1987; USEPA, 2002). 국내에서도 벤젠의 독성을 고려하여 지하수 생활용수 기준치를 0.015 mg/L로, 음용수 기준치는 0.01 mg/L로 정하고 엄격한 수질 관리를 하고 있으나, 용해도가 비교적 높고(1750~1800 mg/L), 휘발성이 강하며(증기압 : 75 mmHg at 20°C), 점도가 낮아(0.604 cP at 25°C) 지하에서 쉽게 이동하여 다량의 지하수를 오염시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(KME, 2011; KME, 2012; Banerjee et al., 1980; NFPA, 1994).

*Corresponding author : heelee@pknu.ac.kr

원고접수일 : 2012. 11. 2 심사일 : 2013. 2. 6 게재승인일 : 2013. 2. 12
질의 및 토의 : 2013. 4. 30 까지

벤젠과 같은 VOCs로 오염된 토양과 지하수를 정화하기 위해 다양한 물리/화학/생물학적인 방법들이 적용되어 왔으며, 이 중에서 미생물의 생분해 기작을 이용하는 생물학적 처리방법은 다른 방법들에 비하여 가격이 저렴하고, 처리 후 부산물이 적으며, 친환경적이라는 장점을 가지고 있어서 국내외에서 널리 연구되어왔다(Volesky and Holan, 1995). 토양과 지하수에서 활동하는 미생물을 분리/동정한 후 배양한 생균(live microorganism)의 생분해능을 이용한 오염지하수 처리 방법은 최근 10년 동안 실험실 규모의 실험에서는 특정 유기오염물에 대하여 높은 제거율을 나타내었으나, 실제 오염 현장에서는 낮은 제거효율을 나타내고 제거효율이 장시간 지속되지 않는 등 현장 오염 지하수에 적용하는데 많은 한계를 나타내고 있다(Kim et al., 2009; Riser-Roberts, 1998; Choi et al., 2009; Bedient et al., 1994; Atlas and Philp, 2005). 기존의 연구처럼 복잡한 생균의 대사(metabolism)에 의존하는 제거기작을 규명하는 것은 학술적 가치는 있으나, 생균의 활동성에 영향을 미치는 많은 변수들을 현장에서 최적의 조건으로 유지하는 데 제약이 많아 현장 오염 부지에서 성공적인 제거 효율을 달성하기가 매우 어렵다고 인식되고 있다. 따라서 오염 지하수 정화를 위해 생균의 신진대사를 이용하는 기작보다는 오염 현장에서의 적용성이 뛰어나고 장기간 제거효율을 높게 유지할 수 있는 새로운 생물학적 제거 기작을 개발하고 있는 추세이다(Bai and Abraham, 2003; Aksu and Gönen, 2004; Lázaro et al., 2003; Texier et al., 2002). 이 중 미생물의 사균(dead microorganism)을 이용하여 제조한 미생물 고정 담체(bio-carrier)를 이용한 오염 지하수 처리 방법으로, 오염물 흡착능이 뛰어나고 사균의 기질과 유기중합체(polymer)의 결합력이 뛰어난 내구성이 높은 담체를 개발하여 이를 실제 오염수에 적용하는 연구가 진행되고 있다(Lee et al., 2010; Zouboulis et al., 2003; Cabuk et al., 2006; El-Naas et al., 2009). 벤젠과 같은 VOCs로 오염되어 있는 지하수를 펌프를 이용해 지상으로 채수하여 처리한 후 다시 주입하는 전통적인 채수주입(pumping and treat)법은 지상 처리 공정을 추가로 운전하는 것 이외에도 집중적인 시스템 유지 및 지속적인 지하수위 관리가 필요하여 비용 대비 처리 효율이 높지 못한 것으로 나타났다(Mackay and Cherry, 1989). 따라서 VOCs로 오염된 지하수 정화를 위해 현장원위치 air sparging(공기분산) 방법이 널리 사용되었으나 이는 공기와 함께 대기 중으로 방출하는 VOCs를 집적하기 위한 후처리 시설이 필요하고, 지하의 불균질성에 의해 공기 흐름의 'thief zone'이 형성

되는 경우 제거효율이 급격히 떨어지는 것으로 보고되고 있다(USEPA, 1994). 따라서 현장원위치방법이며 최소한의 유지 관리가 요구되는 방법으로 지하수 흐름을 방해하지 않은 투수성반응벽체(PRB: permeable reactive barrier)를 설치하여, 반응벽체에 충전된 물질과 지하수 내 VOCs와의 흡착/분해 반응 등을 유도하여 반응벽체를 통과한 지하수를 정화하는 방법에 대한 연구가 활발히 진행 중이다(USEPA, 1998). 현재까지 주로 사용된 반응벽체 물질로는 영가철(zero-valent iron), 합성 zeolite 등이며 이들은 유기물 오염 지하수보다는 중금속 오염 지하수 처리에 사용되었으나, 최근 지하수의 VOCs 제거를 위한 반응벽체 물질을 개발하는 연구가 진행되고 있다(Chung and Lee, 2012).

본 연구는 VOCs로 오염된 토양/지하수 현장의 토착미생물 사균의 기질과 유기중합체인 polysulfone을 결합하여 제조한 미생물담체의 수용액 내 벤젠 제거효율과 제거능을 규명하는 배치 및 칼럼 실험으로 이루어져 있으며, 배치실험 결과를 흡착등온곡선에 적용하여 미생물담체의 벤젠 흡착특성을 정량적으로 규명하고자 하였다. 본 연구를 통해 검증된 미생물담체는 VOCs로 오염된 지하수 처리를 위한 투수성반응벽체 물질로 사용될 수 있으며, 오염지하수의 다양한 지상처리방법에도 활용될 수 있을 것이다.

2. 실험 방법

VOCs로 오염된 군부대 토양으로부터 분리한 토착 미생물 *Bacillus drentensis* sp. 사균과 유기중합체 polysulfone으로 만든 미생물담체를 흡착제로 이용하여 벤젠으로 오염된 수용액을 정화하는 배치, 칼럼실험을 실시하였다. 고정담체 내 사균의 비율을 다양하게 적용하여 최적의 벤젠 제거 효율을 나타내는 사균 농도를 결정하였으며, 오염 수용액 내 다양한 담체량을 주입하는 배치실험을 통하여 오염수량 대비 최적의 담체 주입량을 결정하였다. 배치실험 결과를 흡착등온과 비교하여 미생물담체의 벤젠 제거 기작인 흡착특성을 정량적으로 규명하고자 하였고, 연속 칼럼실험을 통하여 미생물담체의 처리 오염수량과 벤젠 제거능(removal capacity: mg/g)을 구하였다.

2.1. 미생물담체(bio-carrier) 제조에 사용한 토착미생물 분리/동정

VOCs로 오염된 국내 OO 군부대 내 오염 토양에서 서식하는 토착 미생물을 추출하여 실험에 이용하였다. 오염 토양의 평균 TPH와 BTEX 농도는 각각 5100 mg/kg과

Table 1. Biochemical and microscopic characteristics of *Bacillus drentensis* LMG 21831^T (from Heyrman et al., 2004)

Characteristic	<i>Bacillus drentensis</i>	Characteristic	<i>Bacillus drentensis</i>
Gram strain	+/v	Acid production from :	
Cell ends	Tapered	Amygdalin	v
Spore shape	Ellipsoidal/	D-Cellobiose	-
	Circular	L-Fucose	-
Spore position	Paracentral	β -Gentiobiose	-
	(Subterminal)	Glycerol	-
Sporangia swollen	+	Glycogen	-
	+	Lactose	+
Growth at 50°C	+	D-Mannitol	-
Anaerobic growth	+	D-Melibiose	+
Hydrolysis of :		D-Melezitose	v
		D-Turanose	v
Casein	-	Raffinose	v
Gelatin	-	Ribose	v
ONPG	+	Salicin	+
Storage inclusions	+	Starch	v
Urease	-	Sucrose	v
Nitrated reduction of N ₂	v		
G + C content (mol %)	39.3-39.4	Methyl α -D-glucoside	v

* +: positive; -: negative; v: results vary between strains

15 mg/kg으로 주 오염원은 항공유 저장탱크의 누출에 의한 것으로 보고된 지역이다(Lee, 2011). 토양자동차시료채취기로 지하수위 경계부(지하 1~1.5 m 깊이) 하부에서 토양시료를 채취하여 토양 1 g을 15 mL 용량의 멸균 튜브에 넣고 멸균증류수 10 mL를 추가한 후 분리용 고체배지(peptone 5 g/L, beef extract 3 g/L, agar 17 g/L와 증류수에 도달하여 35°C에서 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 선정하여 16S rRNA gene sequencing을 이용한 분자생물학적 동정을 실시하였다(Moyer et al., 1994). 미생물의 계통도(phylogenetic tree)를 작성하여 동정한 결과 *Bacillus* 속이었으며, *Bacillus drentensis*와 99.16% 일치하는 것으로 나타나(type strain IDA1967^T = R-16337^T = LMG 21831^T = DSM 15600^T), *Bacillus drentensis* sp.인 것으로 밝혀졌다(Park, 2012). 미생물의 생물학적 특성은 Table 1에 나타내었다. 미생물의 다량 확보를 위해 동정한 미생물 균주를 영양배지(nutrient broth medium: 1

리터 당 beef extract 10 g, NaCl 5 g and peptone 20 g)가 포함된 100 ml 플라스크에 주입하여 무균실에서 35°C 조건으로 48시간 동안 1차 배양하였고, 1차 배양액을 500리터 미생물배양기(모델명: BioS 500 L BioTron)에서 같은 조건으로 48시간 배양한 후 원심분리(15,000 rpm)하여 균체 기질만 분리하여 동결 건조(모델명: (주)일신랩 PVTFD30V)하였다. 담체 제조를 위한 사균을 얻기 위해 동결 건조된 *Bacillus drentensis* sp. 기질을 고압증기멸균기에 넣고, 120°C, 1기압에서 30분간 멸균한 후 무균실에 저장하였다.

2.2. *Bacillus drentensis* sp. 사균과 polysulfone을 이용하여 미생물담체 제조

기존의 연구에서 오염수 처리를 위해 사용한 담체 물질은 크게 polysulfone, PVA(polyvinyl-alcohol), polyacrylamide, polyisoprene과 같은 유기중합체(polymer)와 silica, clay 등의 무기물로 나눌 수 있다(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 산성/염기성 물질에 안정하고, 다양한 크기의 비드(beads)로 제조하기 쉬운 polysulfone(Sigma-Aldrich 회사 제품)을 유기중합체로 사용하였다(Beolchini et al., 2003; Lee et al., 2010). Polysulfone은 1965년 Union Carbide 회사에서 처음 상품화하였으며, ‘aryl-SO₂-aryl’기로 이루어진 ‘sulfone’ 구조가 반복적으로 연결되어있는 유기중합체(polymer)이다(Wikipedia, 2012).

내부가 균질한 담체를 제조하기 위하여 동결 건조된 사균 기질을 막대사발을 이용하여 분말화한 후 체거름(입경 150 μ m)하여 사용하였다. 담체 제조 방법은 Spinti et al.(1995)과 Kapoor and Viraraghavan(1998)이 제시한 담체 제조 방법을 변형하여 미생물 사균 담체를 제조하였다. 먼저 200 ml 플라스크에 90 g의 DMF(*N,N*-dimethylformamide; (CH₃)₂NC(O)H) 용액과 polysulfone 10 g을 혼합하고, DMF의 휘발을 막기 위해서 파라필름으로 봉한 후, 125 rpm으로 상온(20°C)에서 16시간 진탕하여 10% polysulfone 용액을 제조하였다. 10% polysulfone 용액에 체거름 한 분말형 사균 *Bacillus drentensis* sp.을 일정량 첨가한 후 교반기를 이용하여 균일하게 혼합하였다. 사균과 혼합된 polysulfone 현탁액(slurry)을 연동펌프와 바늘 크기가 18 G인 주사기를 이용하여 일정한 속도로 80% 메탄올 수용액에 떨어뜨려, 떨어지는 슬러리들이 수용액과의 표면장력에 의해 지름 2 mm 이하의 균질한 비드

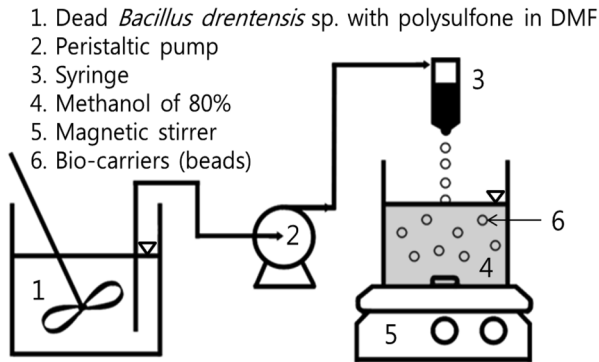


Fig. 1. Schematic of the process to produce the bio-carriers.

(bead) 형태의 담체가 형성되게 하였다. 형성된 담체는 항온진탕기를 이용하여 증류수에 1시간 동안 shaking 시킨 후, 상온에서 48시간 동안 건조하여 미생물담체로 사용하였다. 미생물담체 제조 과정을 Fig. 1에 나타내었다.

2.3. 미생물담체를 이용한 오염수의 벤젠 제거 배치실험

오염수로부터 벤젠을 가장 효과적으로 제거할 수 있는 미생물담체의 제조와 오염현장 적용 조건을 도출하기 위하여 다양한 조건에서 수용액 내 벤젠 제거효율을 규명하는 배치실험을 실시하였다. 99.9% 이상 순도를 가지는 표준시약용 벤젠(Aldrich Chemical Co. 제품)을 사용하였으며, teflon 마개로 이루어진 50 ml 유리용기(Wheaton 회사 제품)를 사용하였다.

2.3.1. 최적의 제거효율을 나타내는 담체 내 사균 혼합 비율 및 수용액 내 담체 첨가량 결정 실험

담체 제조 시 polysulfone 용액에 혼합하는 사균 Bacillus drentensis sp. 비율을 달리하여 제조한 미생물담체들을 이용하여 수용액 내 벤젠 제거효율을 규명함으로써 높은 벤젠 제거효율을 가지는 미생물담체 제조를 위한 최적의 사균 첨가 비율(%)을 결정하였다. 또한 벤젠 오염수에 대하여 첨가하는 미생물담체량에 따른 벤젠 제거효율을 규명

하는 배치실험을 실시하여, 최적의 벤젠 제거효율을 가지는 수용액 내 미생물담체 첨가량(수용액 L당 첨가한 담체 g으로 표시)을 결정하였다. 10% polysulfone이 용해된 DMF 용액(총 100 g)에 첨가하는 사균량을 0, 1, 2, 5, 10, 15%로 각각 달리하여 미생물담체를 제조하였으며, 메탄올에 벤젠 표준용액을 혼합한 후 혼합액을 증류수에 첨가하여 벤젠 농도를 1 mg/L로 적정한 인공 오염수 40 mL를 유리용기에 담은 후, 사균의 농도가 다른 미생물담체별로 각각 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 g씩 첨가하고 용기 내 빈 공간이 없도록 다시 인공 오염수를 첨가한 후(총 오염수는 50 ml ± 0.2 ml) teflon 마개로 밀봉하였다. 이 혼합액을 항온진탕기(20°C, 120 rpm)를 이용하여 24시간 교반시켜 여과시킨 후, GC/FID(purge and trap 장치 포함)를 이용하여 수용액 내 벤젠 농도를 측정하여 초기 수용액의 벤젠 농도인 1 mg/L와 비교함으로써 미생물담체에 의한 벤젠 제거효율을 %로 나타내었다. 수용액의 벤젠 농도를 분석하기 위해 사용한 GC/FID(purge and trap 장치 포함)의 분석 조건은 Table 2에 나타내었다.

2.3.2. 반응시간과 온도 변화에 따른 미생물담체의 벤젠 제거효율 변화 규명 실험

미생물담체의 오염물 제거효율이 높다하더라도 정화 목표 제거효율까지 도달하는 반응시간이 길면 현장에서 다량의 오염 지하수를 처리하는데 사용하기 어려워, 처리 비용 및 수량 측면에서 미생물담체의 벤젠 제거 반응시간은 짧을수록 좋다. 본 실험에서는 벤젠 오염수를 대상으로 미생물담체와 오염수의 반응시간에 따른 제거효율을 구하여, 최적의 반응시간을 결정하고자 하였다. 위의 배치실험 결과 벤젠 제거효과가 좋은 것으로 나타난 Bacillus drentensis sp. 사균 5%를 첨가하여 제조한 미생물담체 2g을 50 ml 오염수에 첨가하여(40 g/L), 반응시간을 5분, 10분, 15분, 20분, 25분, 30분, 60분, 180분, 300분, 480분, 720분, 1440분으로 설정하여 반응시간 별 벤젠 제거효율을 구하였으며, 실험조건은 2.3.1.의 실험과 같다.

Table 2. Conditions of GC-FID (Purge/Trap) for benzene analysis

Purge and trap condition	Purge for 10 min → desorb at 210°C → baking for 10 min at 310°C
Trap column type	BTEX Trap (from Supelco)
GC column type	Capillary VOC column (ID: 530 µm, length: 30 m, film thickness: 3 µm)
Carrier gas	N ₂ (degree of purity over the 99.99%)
Inlet temperature	200°C
Detector	Flame Ionization Detector (FID) at 220°C
Oven temperature condition	45°C (10 min hold) → (5°C/min) → 70°C (1 min hold) → (10°C/min) → 155°C (0.5 min hold)
Run time	Total 25 min

오염 현장에서 계절별 지하수의 온도 변화에 대하여 미생물담체의 제거효율이 안정하게 유지되어야만 추가 처리 비용이 발생하지 않으며 제거 공정을 장시간 동안 운전할 수 있기 때문에, 온도 변화에 따른 미생물담체의 벤젠 제거효율 변화를 규명하는 배치실험이 추가로 실시되었다. 현장 오염수 온도를 고려하여 실험 온도를 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C로 각각 유지 시킨 후, *Bacillus drentensis* sp. 사균 5%를 첨가하여 제조한 미생물담체 2g을 50 ml 오염수에 첨가하여 배치실험을 반복하였다.

2.3.3. 오염수의 벤젠 농도에 따른 미생물담체의 제거효율 변화 규명 실험

미생물담체에 의해 오염 지하수로부터 제거 가능한 벤젠의 농도 범위를 규명하기 위하여 수용액의 벤젠 농도별 담체 제거효율을 구하는 실험을 실시하였다. 증류수와 메탄올에 희석한 벤젠 표준용액을 이용하여 수용액의 농도가 각각 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg/L인 인공오염수를 제조한 후, 각각의 오염수 50 mL에 *Bacillus drentensis* sp. 5%와 polysulfone으로 제조한 담체 2g을 첨가하여 항온진탕기에서 120 rpm(20°C)으로 24시간 교반한 후, 용액 내 벤젠 농도를 분석하여 오염수의 벤젠 농도에 따른 미생물담체의 제거효율을 계산하였다.

2.4. 흡착등온선을 이용한 미생물담체의 흡착 특성 규명

미생물담체의 벤젠 제거 기작을 규명하고자 배치실험 결과를 대표적인 흡착등온선(sorption isotherm curves)에 대응시켜 수용액으로부터의 벤젠의 주 제거 기작이 담체 내 흡착에 의한 제거 기작임을 입증하고자 하였다. 미생물담체에 대한 용존상 벤젠의 흡착반응이 평형상태에 도달하게 되었을 때, 용액 내에 잔류하는 용존 벤젠의 농도(C_e)와 미생물담체의 단위질량당 흡착된 벤젠농도(q_e)의 관계를 흡착평형식으로 정의하였으며, 흡착평형식은 미생물담체와 벤젠간의 흡착특성에 의해 결정되므로 흡착평형 관계로부터 벤젠 흡착에 의한 미생물담체의 제거량을 정량화하여 미생물담체의 제거능을 평가하였다. 본 연구에서는 흡착평형식으로 많이 사용되는 Langmuir 등온식과 Freundlich 등온식을 적용하였다. Langmuir 등온식은 흡착제의 표면에너지가 균일한 미생물담체에 벤젠이 단분자층으로 흡착이 이루어지는 경우 미생물담체 표면은 한정되어 있으므로 일정량 만큼만의 벤젠이 흡착될 수 있고 흡착된 분자들 사이에는 상호작용이 적은 경우 적용할 수 있다. 따라서 Langmuir 등온식에 대응하는 경우 일정량의 벤젠 흡착이 이루어진 후 제거율은 더 이상 증가하지 않

고 평형에 도달하게 된다. Freundlich 등온식은 표면에너지가 균일하지 않고 흡착된 분자들 사이의 상호작용이 존재하여, 벤젠 흡착능이 담체 표면적의 제약을 적게 받는 경우 적용이 가능하다. Langmuir 등온식과 Freundlich 등온식의 수학적 표현은 아래 Eq. 1과 Eq. 2에 각각 나타내었다(Langmuir, 1918; Freundlich, 1906).

$$q_e = \frac{q_m \cdot b \cdot C_e}{(1 + b \cdot C_e)} \quad (1)$$

여기서, q_e 는 평형상태에서 미생물담체에 대한 벤젠의 흡착농도[mg/g], C_e 는 평형상태에서 미생물담체에 대한 용액의 용존농도[mg/L], q_m 는 미생물담체에 대한 벤젠의 최대흡착농도[mg/g], b 는 흡착 친화도(sorption affinity)를 나타내는 Langmuir 상수이다.

$$q_e = kC_e^{1/n} \quad (2)$$

여기서, k 와 $1/n$ 은 흡착능과 흡착강도를 나타내는 Freundlich 상수이다.

흡착등온식에 대응하는 상수값들을 결정하여 미생물담체에 대한 벤젠의 흡착이 평형상태에 도달하였을 때의 최대흡착농도와 벤젠에 대한 친화도를 정의함으로써 미생물담체의 벤젠 흡착 특성을 규명하고자 하였다.

2.5. 오염수의 벤젠 제거 연속 칼럼실험

비평형상태에서 미생물담체의 벤젠 제거효율과 다량의 오염수를 대상으로 장기간 동안의 벤젠 제거능을 규명하기 위한 연속 칼럼실험을 실시하였다. 배치실험을 통해 제거 효율이 높았던 담체 내 미생물 양이 5%인 미생물담체를 제작하여 사용하였으며, 직경 2.5 cm, 높이 100 cm인 유리칼럼(25 cm 높이 마다 물 시료 채취 밸브가 장착됨)을 사용하였으며 칼럼 내부 전체를 미생물담체 61.8 g으로 충전하였다. 증류수를 이용하여 1 pore volume의 양(260.1 ml)을 칼럼 하부로부터 주입한 다음, 벤젠 농도가 1.0 mg/L로 제조한 인공 오염수를 일정한 속도(2.2 ml/min)로 주입 하였으며, 시료 채취 밸브 연결 4지점에서 일정 pore volume 간격(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 78, 114, 126, 174, 318, 420, 450 p.v.)으로 물 시료를 각각 1 ml 채취하였다. 칼럼실험 과정은 Fig. 2에 나타내었다. 채수한 시료의 벤젠 농도를 GC로 분석하여 용액의 초기 벤젠 농도인 1.0 mg/L와 비교함으로써 제거효율을 계산하였다. 총 450 pore volume 오염수를 주입하여 주입량에 따

른 벤젠 제거 효율 변화를 관측하여 처리수의 농도가 허용기준치 이하로 유지되는 미생물담체의 제거 오염수량(L)과 벤젠 제거능(mg/g)을 산출하였다.

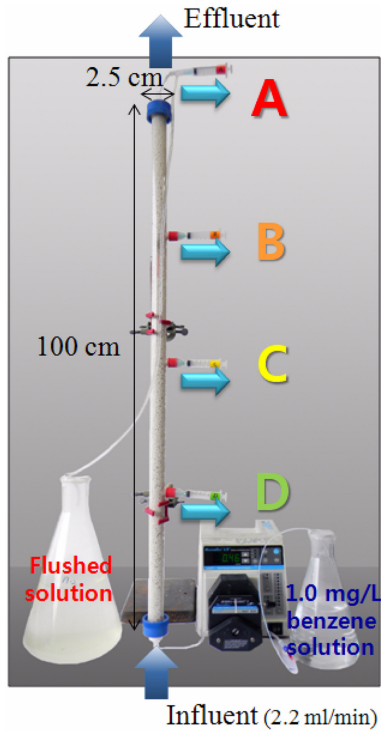


Fig. 2. Schematic of the column experiment (A, B, C and D: sampling points).

3. 결과 및 토의

3.1. *Bacillus drentensis* sp. 사균과 polysulfone을 이용하여 제조한 미생물담체 특성

Bacillus drentensis sp. 사균 양을 5%로 polysulfone 유기중합체에 고정하여 제조한 미생물담체(비드)의 특성 및 구조를 파악하기 위하여 담체 외표면과 절단한 단면을 SEM을 이용하여 분석하였다(Fig. 3). 분석결과 미생물담체는 지름이 약 1~2 mm 크기인 구형으로 표면에서부터 내부까지 다공질을 형성하고 있었으며, 표면에서부터 내부 중앙으로 갈수록 다공의 크기가 증가하지만 내부 다공의 표면은 수 μm 크기의 구형입자들로 이루어져 벤젠을 흡착할 수 있는 충분한 공간(표면적)을 확보하고 있는 것으로 밝혀졌다(Fig. 3(c)와 Fig. 3(d)).

3.2. 미생물담체를 이용한 오염수의 벤젠 제거 배치실험 결과

3.2.1. 최적의 제거효율을 나타내는 담체 내 사균 혼합비율 및 수용액 내 담체 첨가량 결정 실험 결과

Bacillus drentensis sp. 사균 양을 달리하여 오염수의 벤젠 제거 효율을 규명한 실험 결과, 벤젠 제거량이 매우 높아 담체 내 사균 양이 1% 이상인 경우, 오염수 1L에 미생물담체 40 g을 주입 시 모두 99.0% 이상의 높은 제거효율을 나타내어 실험 후 수용액의 벤젠 농도가 음용수 기준치인 0.01 mg/L보다 낮았다(Fig. 4(a)). 담체 내 미생

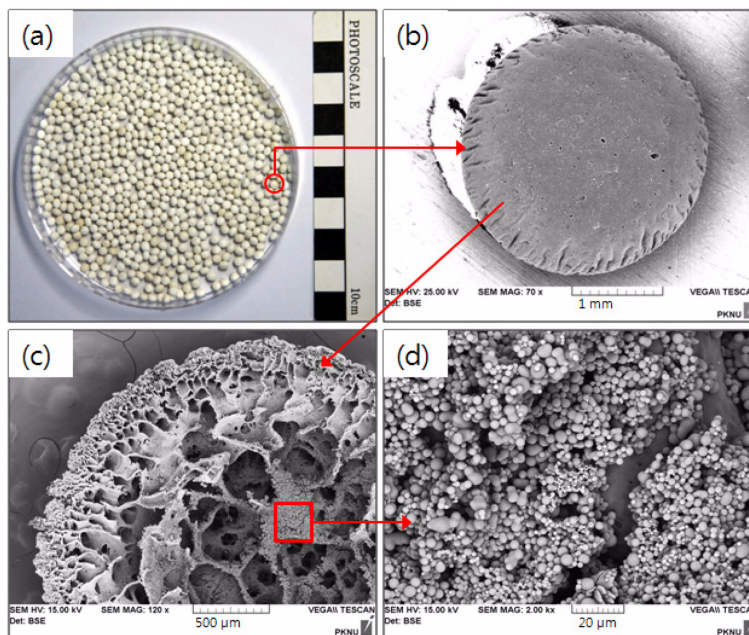
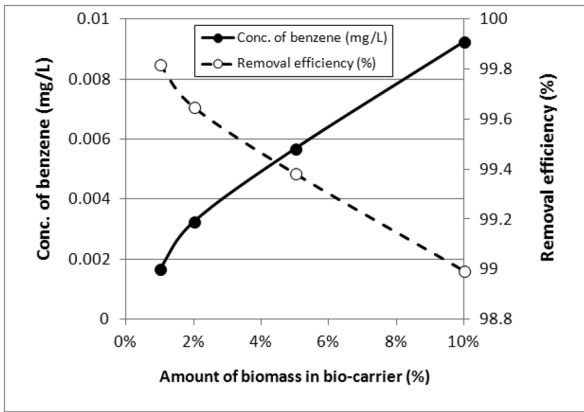
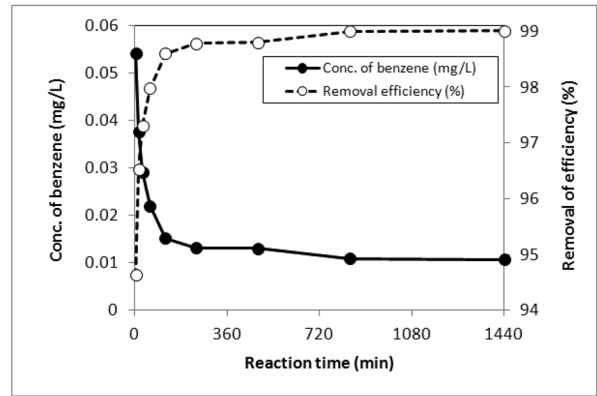


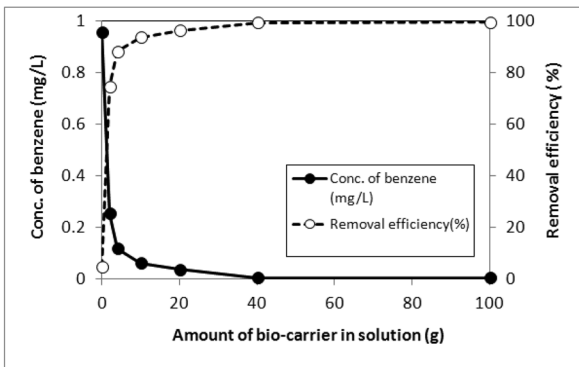
Fig. 3. SEM images of a bio-carrier ((b) modified from Lee et al., 2010)).



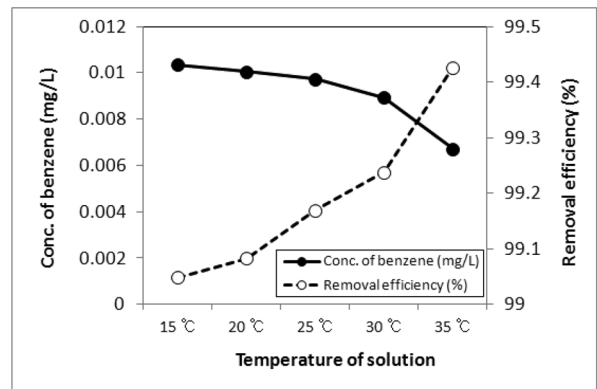
(a)



(a)



(b)



(b)

Fig. 4. Results of the benzene concentrations in solution and the benzene removal efficiencies for (a) bio-carriers produced with various amounts of dead biomass *Bacillus drentensis*. sp. and (b) various amounts of immobilized bio-carriers in solution.

Fig. 5. Results of the benzene concentrations in solution and the benzene removal efficiencies of bio-carriers (a) at different reaction time and (b) at different temperature conditions.

물 양이 증가할수록 담체의 벤젠 제거효율은 감소하였으나, 오염수에 첨가한 담체 g 당 벤젠 제거량인 제거능 (mg/g)은 담체 내 미생물 농도가 증가할수록 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 담체 제조 비용을 고려하여 처리수의 벤젠 농도가 음용수 기준치의 60% 이하로 유지되며, 기존의 연구(Lee et al., 2010)에서 높은 중금속 제거 효율을 유지하는 최소 미생물 양이 5%이었음을 감안하여 담체 내 사균의 농도가 5%인 경우가 벤젠의 제거에 가장 적절하다고 판단하였으며, 이후에 진행되는 실험에서는 담체 내 5% 미생물 양을 첨가하여 제조한 담체를 사용하였다.

오염수 내 적정 담체 주입량을 선정하기 위한 배치실험 결과, 오염수 내 주입하는 담체량이 증가할수록 수용액 내 벤젠의 제거효율이 높아져 오염수 1 L당 10 g 주입 시 제거효율은 93.8%를 나타내었고 40 g 주입 시 99.4%로 높아져 벤젠 농도가 음용수 기준치인 0.01 mg/L보다 낮았다

(Fig. 4(b)). 100 g 주입 시 제거 효율은 99.5%를 나타내어 주입량 증가에 따른 제거효율 증가는 더 이상 크지 않았다. 제거효율과 비용을 고려하는 경우 오염수 1 L당 담체 40 g 주입이 가장 적절하다고 판단하여, 이후에 진행되는 실험에서는 오염수 1 L당 미생물담체 40 g을 주입하여 배치 실험을 실시하였다. 오염수에 담체를 전혀 넣지 않은 경우(blank 시료: Fig. 4(b)에서 '0 g'), 벤젠 제거효율은 5% 이하를 나타내어 실험 과정 동안 벤젠의 휘발이 제거효율에 큰 영향을 미치지 않았음을 알 수 있었다.

3.2.2. 반응시간과 온도 변화에 따른 미생물담체의 벤젠 제거효율 변화 규명 실험 결과

제거 반응 시간 5분 후에 94.6%라는 높은 제거효율을 나타냈고, 2시간 이후에는 98.6%의 제거효율을 나타내며 거의 평형에 도달하는 것으로 나타났다(Fig. 5(a)). 이러한 결과는 미생물담체를 이용하여 다량의 벤젠 오염수를 단

시간 내에 처리할 수 있다는 것을 의미한다. 오염수의 온도변화에 따른 담체의 벤젠 제거 민감도를 규명하여 적정 현장 운영 온도를 설정하기 위한 배치실험 결과, 반응 온도가 증가함에 따라 제거효율도 증가하였다(Fig. 5(b)). 다만 모든 온도 조건에서 99% 이상의 높은 제거효율을 나타내었고, 15~35°C 온도 변화 범위에서 제거효율 차이가 0.5% 이하로 나타나 제거효율은 오염수 온도에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 밝혀져 국내 오염 지하수 정화 현장에서 특별한 온도 설정이 필요하지 않을 것으로 판단되었다.

3.2.3. 오염수의 벤젠 농도에 따른 미생물담체의 제거효율 변화 규명 실험 결과

벤젠 오염수의 초기 농도에 따른 미생물담체의 제거효율 실험 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 오염수의 초기 벤젠 농도 0.05~0.5 mg/L 범위에서 91% 이상의 높은 제거효율을 유지하였으며, 1~10 mg/L 범위에서는 99% 이상의

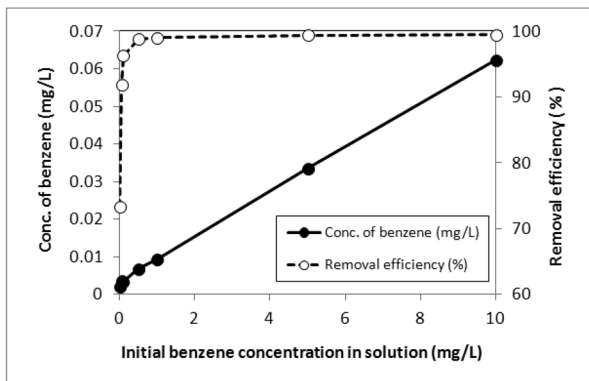


Fig. 6. Results of the benzene concentration in solution and the benzene removal efficiency of the bio-carriers according to the different initial benzene concentration in solution.

높은 제거효율을 나타내었다. 벤젠 초기 농도가 0.01 mg/L 일 경우 제거 효율은 73%의 다소 낮은 제거효율을 보였으나 이는 초기 농도가 매우 낮았기 때문으로 판단되며 (Rosen, 1989), 특히 초기 농도 0.01~1 mg/L 범위에서 실험 후 처리수의 벤젠 농도가 0.009 mg/L 이하로 유지되어 음용수 기준치인 0.01 mg/L 보다 낮게 나타났다. 이러한 결과는 국내에서 BTEX와 같은 휘발성 유기오염물에 의한 초기 오염지하수 농도가 대부분 수 mg/L 수준이라는 것을 감안하면 다양한 벤젠 농도 범위에서 효과적으로 오염지하수 정화가 가능할 것으로 판단되었다. 본 배치실험 결과는 미생물담체의 제거기작을 예측할 수 있는 흡착등온선을 이용한 흡착모델의 흡착상수들을 계산하기 위한 기초 자료로 사용하였다.

3.3. 흡착등온선을 이용한 미생물담체의 제거기작 규명 결과

오염수의 초기 벤젠 농도가 0.01~10.0 mg/L인 범위에서 수행한 배치실험 결과를 두 흡착등온식에 적용하였고, 회귀분석을 실시하여 그 결과를 Fig. 7와 Table 4에 나타내었다. 배치실험 결과를 등온식과 비교한 결과 Langmuir 등온식($r^2 = 0.7453$)보다 Freundlich 등온식($r^2 = 0.9242$)에 더 잘 일치하였으며, 미생물담체는 Fig. 7(b)에서 나타난 바와 같이 오염수의 벤젠 농도가 증가함에 따라 최대 제거능(q_m : mg/g)에 수렴되는 Langmuir의 특성을 보이기도 하는 수행된 초기 벤젠 농도 범위에서 선형적으로 제거능이 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 오염수 1 L 당 40 g의 담체를 이용하는 경우, 오염수의 벤젠 농도가 10.0 mg/L까지는 내부가 다공성인 미생물담체 내/외부의 많은 공극과 큰 표면적이 벤젠 흡착 공간의 제약을 극복하여 빠른 속도로 담체에 흡착되어 제거될 수 있음을 의미한다.

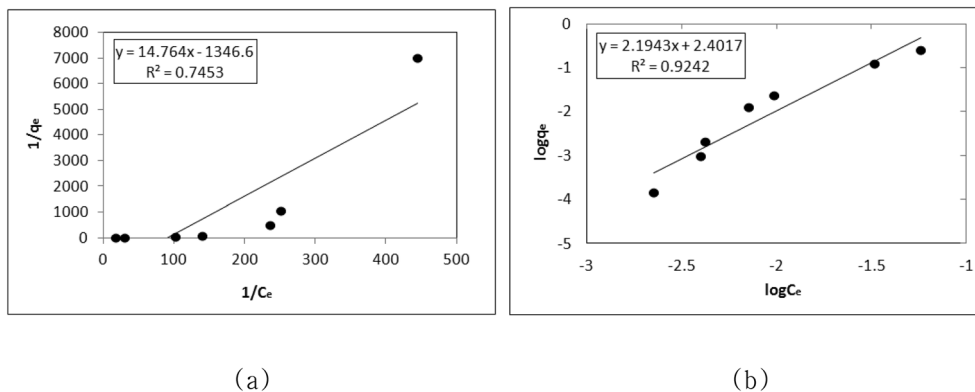


Fig. 7. Results of the isotherm curve fitting for batch experiments ((a) Langmuir model and (b) Freundlich model).

Table 3. Benzene removal efficiency, residual concentration and removal capacity of bio-carriers for various amounts of biomass in the immobilized bio-carriers

The amount of biomass in a bio-carrier	Removal efficiency (%)	Benzene concentration (mg/L) after experiment	Removal capacity (mg/g)
1%	99.82	0.00167	0.01971
2%	99.65	0.00324	0.02023
5%	99.38	0.00569	0.02108
10%	98.99	0.00925	0.02196

Table 4. Langmuir and Freundlich sorption parameters derived from the isotherm curve fitting for benzene in the bio-carrier

Langmuir parameters		Freundlich parameters	
q_m (mg/g)	91.2083	k	252.1738
b	0.0007426	n	0.4557262
r^2	0.7453	r^2	0.9242

* q_m : maximum benzene uptake, b : sorption affinity, k : indicator of sorption capacity, n : sorption intensity and r^2 : correlation coefficient of curve fitting

3.4. 오염수의 벤젠 제거 연속 칼럼실험 결과

연속 칼럼실험 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 칼럼 하부 D지점(칼럼 하부에서 25 cm 높이)에서는 32 pore volume 오염수(벤젠 농도; 1 mg/L)가 처리되는 동안, C지점(하부에서 50 cm 높이)과 B지점(하부에서 75 cm 높이)에서는 각각 174와 318 pore volume 오염수가 처리하는 동안 99% 제거 효율을 유지하는 것으로 나타났다. 칼럼 최상부인 A지점에서는 오염수 420 pore volume(총 109.2 L 오염수)을 처리할 때까지 처리수의 벤젠 농도가 0.01 mg/L 이하를 유지하였다. 칼럼에 주입되는 오염수량이 증가할수록 처리수의 벤젠 농도는 칼럼 하부지점에서부터 서서히 증가해 D지점의 경우 450 pore volume 처리 시 벤젠 농도가 0.39 mg/L로 증가하여 제거 효율은 60.7%로 낮아져 칼럼하부에서부터 벤젠 제거효율이 서서히 감소하였다. 처리수의 벤젠 농도가 음용수 기준치(0.01 mg/L) 이하로 유지되는 칼럼 내 담체 1 g 당 처리가능 오염수량을 계산하면(450 L / 61.8 g), 담체 1 g 당 벤젠 농도 1 mg/L 인 오염수 1.77 L를 처리할 수 있는 것으로 나타났고, 이를 제거능(mg/g)으로 환산하면 담체 1 g 당 1.75 mg의 벤젠을 제거할 수 있음을 의미한다. 이러한 결과는 기존의 연구(Lee et al., 2010)에서 계산된 담체 1 g 당 납(Pb) 제거능(1 g 당 0.25 mg)보다 약 7배 높은 값으로, 미생물을 이용한 담체는 중금속보다 유기오염물 제거능이 더 높았다. 배치 및 칼럼실험을 통하여, 본 실험에서 사용된 조건을 적용하여 미생물담체를 이용할 경우 매우 효과적으로 지표수나 지하수의 벤젠 제거가 가능할 것이라 판단되었다.

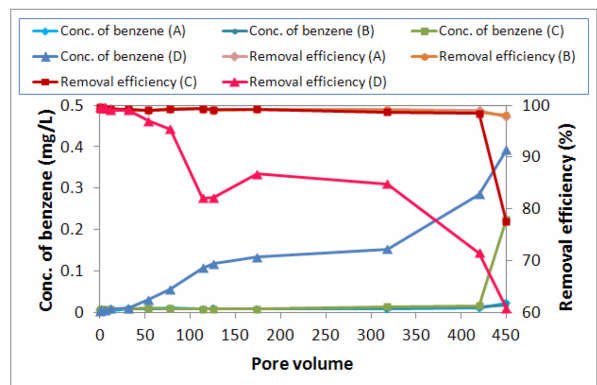


Fig. 8. Results of the continuous column experiment (the benzene concentration and the removal efficiency of the effluent at different locations (A, B, C and D) of the column).

4. 결 론

유류 및 중금속 오염 토양으로부터 분리한 미생물 *Bacillus drentensis* sp. 사균과 유기중합체 polysulfone으로 만든 고정화 담체의 수용액 내 벤젠 제거효율을 배치와 칼럼실험을 수행하여 규명하였다. 담체 제조비용과 제거효율을 고려했을 때 담체 내 사균 양을 5%로 제조하여 오염수 1 L 당 40 g의 미생물담체를 적용하는 경우 가장 효과적으로 벤젠을 제거할 수 있는 것으로 나타났으며, 칼럼실험 결과 초기 벤젠 농도가 1 mg/L인 오염수를 음용수 기준치인 0.01 mg/L 이하로 처리하는 경우 미생물담체 1 g 당 오염수 1.77 L를 처리할 수 있는 것으로 나타났다. 배치 및 칼럼실험을 통하여, 본 실험에서 사용된 조건을 적용하여 미생물담체를 이용할 경우 지표수나 지하수로부터 효과적인 벤젠제거가 가능할 것이라 판단되었다. 본 연구는 미생물 사균 담체의 벤젠 제거능을 규명하는 학술적 영역에 제한되어있어서, 상용화를 위해서는 향후 대규모 현장 효율 검증시험과 다른 유사 흡착제와의 제조비용 비교/평가가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(2011-0085781).

참 고 문 헌

Aksu, Z. and Gnen, F., 2004, Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves, *Process Biochemistry*, **39**, 599-613.

Atlas, R.M. and Philp, J., 2005, Bioremediation: applied microbial solutions for real-world environment cleanup, Washington, DC, America Society for Microbiology.

Bai, R.S. and Abraham, T.E., 2003, Studies on chromium(VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass, *Bioresource Technology*, **87**, 17-26.

Banerjee, S., Yalkowsky, S.H., and Valvani, S.C., 1980, Water solubility and octanol/water partition coefficients of organics. Limitations of the solubility-partition coefficient correlation, *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 1227-1229.

Bedient, P.B., Rifai, H.S., and Newell, C.J., 1994, Groundwater contamination: transport and remediation, Prentice Hall PTR, Englewood Cliffs, NJ.

Beolchini, F., Pagnanelli, F., Toro, L., and Vegli, F., 2003, Biosorption of copper by *Sphaerotilus natans* immobilised in polysulfone matrix: equilibrium and kinetic analysis, *Hydrometallurgy*, **70**, 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*, **136**, 317-323.

Choi, A.J., Wang, S.K., and Lee, M.H., 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*, **13**(4), 331-341.

Chung, S. and Lee, D., 2012, Remediation of PCE-contaminated groundwater using permeable reactive barrier system with M0M-bentonite, *J. Soil and Groundwater Environ.*, **17**, 73-80.

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*, **164**, 720-725.

Freundlich, H., 1906, Adsorption in solution, *Phys. Chem. Soc.*, **40**, 1361-1368.

Heyrman, J., Vanparys, B., Logan, N.A., Balcaen, A., Rod-

riguez-Diaz, M., Felske, A., and Vos, P.D., 2004, *Bacillus novalis* sp. nov., *Bacillus vireti* sp. nov., *Bacillus soli* sp. nov., *Bacillus bataviensis* sp. nov. and *Bacillus drentensis* sp. nov., from the drentse a grasslands, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **54**, 47-57.

IARC, 1987, Monographs, *Suppl.*, **6**, 120-122.

Jung, H., Do, W., Lee, M., and Ok, G., 2004, Investigation of sorption properties for benzene, TCE, 1,2,-dichlorobenzene, and lindane depending on soil characteristics, *J. Geol. Soc. Korea*, **40**, 241-254.

Kapoor, A. and Viraraghavan, T., 1998, Removal of heavy metals from aqueous solutions using immobilized fungal biomass in continuous mode, *Water Res.*, **32**, 1968-1977.

Kim, S., Chon, H., and Lee, J., 2009, Biosorption of Pb and Cd by Indigenous Bacteria Isolated from Soil Contaminated with Oil and Heavy Metals, *Econ. Environ. Geol.*, **45**, 427-434.

Korean Ministry of Environment (KME), 2011, Regulation for drinking water and analysis.

Korean Ministry of Environment (KME), 2012, Regulation for groundwater.

Langmuir, I., 1918, The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *J. Am. Chem. Soc.*, **40**, 1361-1403.

Lázaro, N., Sevilla, A.L., Morales, S., and Marqués, A.M., 2003, Heavy metal biosorption by gellan gum gel beads, *Water Research*, **37**, 2118-2126.

Lee, J.Y., 2011, Biosorption of heavy metals from aqueous solutions using immobilized dead *Bacillus* sp. in polysulfone beads; Ms. Thesis, Pukyong National University, Korea.

Lee, M., Lee, J., and Wang, S., 2010, Remediation of heavy metal contaminated groundwater by using the bio-carrier with dead *Bacillus* sp. B1 and polysulfone, *Econ. Environ. Geol.*, **43**, 555-564.

López, A., Lázaro, N., and Marqués, A.M., 1997, The inter-phase technique: a simple method of cell immobilization in gel-beads, *Journal of Microbiological Methods*, **30**, 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*, **20**, 182-190.

Mackay, D.M. and Cherry, J.A., 1989, Groundwater contamination: Pump-and -treat remediation, *Environ. Sci. Technol.*, **23**(6), 630-636.

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 Environment Microbiology*, **60**, 871-879.

- NFPA: Fire protection guide to hazardous materials, 1994, 12th Edition, National fire protection association, Quincy, MA.
- Park, S.H., 2012, Study of the benzene removal in solution for the immobilized carriers using dead *Bacillus* sp. and polysulfone; Ms. Thesis, Pukyong National University, Korea.
- Riser-Roberts, E., 1998, Remediation of petroleum contaminated soils: Biological, physical, and chemical processes, Lewis Publishers, Boca Raton.
- Rosen, M.J., 1989, Surfactants and interfacial phenomena, 2nd ed., John Wiley & Sons, pp. 431.
- Spiniti, M., Zhuang, H., and Trujillo, E.M., 1995, Evaluation of immobilized biomass beads for removing heavy metals from wastewater, *Water Environ. Res.*, **67**, 943-952.
- Texier, A.C., Andrs, 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*, **47**, 333-342.
- USEPA, 1994, Air Sparging, available at http://www.epa.gov/oust/pubs/tum_ch7.pdf.
- USEPA, 1998, Permeable Reactive Barrier technologies for contaminant remediation, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, EPA-600-R-98-125.
- USEPA, 2002, Integrated risk information system (IRIS) on benzene. Toxicological review of benzene, National center for environmental assessment, Office of research and development, Washington, DC. EPA-635-R-02-001F.
- Veglio, F., Beolchini, F., and Toro, L., 1998, Kinetic modelling of copper biosorption by immobilized biomass, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **77**, 1107-1111.
- Volesky, B. and Holan, Z.R., 1995, Biosorption of heavy metals, *Biotechnol. Prog.*, **11**, 235-250.
- Wikipedia, 2012. Wikipedia; the free encyclopedia. available at <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*, **212**, 185-195.