

## 생물계면활성제를 이용한 디젤 오염토양세척기술에 관한 연구

문혜준<sup>1</sup> · 임영경<sup>1</sup> · 김윤관<sup>1</sup> · 주춘성<sup>1</sup> · 방기연<sup>1</sup> · 정옥진<sup>1</sup> · 이승우<sup>2</sup>

<sup>1</sup>명지대학교 청정기술원, 환경생물공학과 · <sup>2</sup>에코솔루션

### **A Study on Remediation of Diesel-Contaminated Soil by Biosurfactant-Enhanced Soil Washing**

**Hye-Joon Moon<sup>1</sup> · Young-Kyong Lim<sup>1</sup> · Yoon-Kwan Kim<sup>1</sup> · Choon-Sung Joo<sup>1</sup> · Ky-Youn Bang<sup>1</sup> · Wook-Jin Chung<sup>1</sup> · Seung-Woo Lee<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Research Institute for Clean Technology,

Dept. of Environmental Engineering and Biotechnology, Myong-ji University

<sup>2</sup>Ecosolution

## ABSTRACT

Soil washing by surfactants is a technology to enhance mobilization and subsequent degradation of oil pollutants by reducing the surface tension of pollutants which is combined with soil. In this study, biosurfactant, rhamnolipid was produced from *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 which had an excellent biodegradable activity in soil without causing secondary pollution. Effects of chemical surfactants on the removal of diesel from diesel-contaminated soil were compared to those of biosurfactants including rhamnolipid.

Diesel removal efficiency by rhamnolipid extracted from *P. aeruginosa* culture broth was over 95% in both batch and column washing test in 5,000ppm diesel-contaminated soil with 1% surfactants after washing for 24 hours. On the contrary, the results of chemical surfactants were below 50~80%. The chemical surfactants with HLB value(8~15) showed more than 75% efficiency of diesel removal. But, when the HLB values were below 8 or over 15, their efficiency were observed as less than 60% of diesel removal. Rhamnolipid, biologically produced surfactants, may also be promising agent for enhancing diesel removal from contaminated soil.

---

\* Corresponding author : wookjin@mju.ac.kr

원고접수일 : 2001. 8.30 게재승인일 : 2001.12.20

**Key Words** : surfactant, biosurfactant, rhamnolipid, *Pseudomonas aeruginosa* 9027, soil washing

## 요 약 문

본 연구에서는 토양에 오염된 디젤 성분을 제거하기 위한 토양세척 기술 중에서 적절한 계면활성제를 사용하여 토양입자에 결합되어 있는 유해 유기물질의 표면장력을 약화시켜 제거하는 기술을 이용하기 위해 생분해성이 우수하고 2차 오염문제가 없는 생물계면활성제를 생산하였다. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027를 이용하여 생산된 생물계면활성제인 rhamnolipid와 기존에 사용되고 있는 화학계면활성제와의 디젤 세척효능을 비교분석하였다.

회분식, 연속식 세척실험 결과 디젤 오염토양 초기농도 5,000ppm에서 계면활성제 1%, 세척시간 24시간 경과 후 본 연구에서 생산된 rhamnolipid의 세척효율이 모두 약 95%로 사용된 계면활성제 중에서 가장 우수한 세척효율을 보였다. 화학계면활성제들은 대부분 50~80% 미만의 세척효율을 나타내었으며, HLB값이 8에서 15사이에서의 화학계면활성제의 경우 75%이상의 분해효율을 나타내었다. 그러나, HLB값이 8이하이거나 15이상에서는 60%이하의 낮은 디젤 분해효율을 나타내었다.

**주제어** : 계면활성제, 생물계면활성제, rhamnolipid, *Pseudomonas aeruginosa* 9027, 토양세척

## 1. 서 론

토양의 주요오염원인으로는 비위생 매립지나 공업단지내에서 배출되는 침출수, 부주의한 환경관리에 의한 토양오염, 유해물질의 부적절한 폐기, 주유소나 터미널 같은 유류 지하저장탱크의 부식, 그리고, 유류 운송과정에서 발생된 사고에 의한 방출 등, 매우 다양하고 광범위한 형태로 발생된다. 이 중, 국내에 설치되어 있는 주유소 및 유류저장시설은 전국적으로 8,300개 이상 산재해 있고 대부분 일반 주거지역에 인접해 있다는 점으로 보아 그 유해도 및 중요성이 가장 크다고 할 수 있다<sup>1, 2)</sup>. 실제, 환경부에서 1993~1995년까지 전국 175개소의 주유소에 대한 초음파 정밀탐사를 통하여 조사한 바에 의하면, 약 75% 정도인 129개소 주유소가 누유되고 있으며, 이들 주유소에 설치된 총 지하저장탱크 중 약 36% 정도가 누출되고 있는 것으로 보고되었다. 특히, 자동차용 연료로 사용되는 가솔린과 경유에는 TPH(total petroleum hydrocarbon)라 총칭되는 BTEX(benzene, toluene, ethylbenzene, xylene) 및 PAH (polyaromatic hydrocarbon), 유

기 염소화합물 등을 포함하여 150여 가지 발암물질이 함유되어 있어 토양으로 유출된 이들 가솔린과 경유로부터 유래되는 지하수의 오염과 이들이 기화한 휘발성 유기탄소(VOC : volatile organic compounds)에 의한 대기오염문제는 이미 주민들의 건강과 주변 생태계를 심각하게 위협하고 있다<sup>3)</sup>.

토양에 오염된 유류성분을 제거하기 위한 토양세척 기술은 NAPLs(nonaqueous phase liquids)로 오염된 토양에 적절한 계면활성제를 사용하여 토양입자에 결합되어 있는 유해유기물질의 표면장력을 약화시키는 방법으로 계면활성제의 CMC(critical micelle concentration)값 이상의 농도에서 유기오염물질이 micelle구조 내부로 분배되는 용해화(solubilization) 과정과 토양내 NAPLs가 계면활성제에 의해 계면장력이 감소하여 이동성이 생기는 이동화(mobilization)과정을 기초로 하여 오염물질의 제거가 이루어진다<sup>4, 5)</sup>. 기존의 계면활성제로는 대부분 화학계면활성제를 이용하였으나 계면활성제 자체가 난분해성이고, 환경에 유독성을 가짐으로써 2차 오염을 유발하여 재처리비용이 소요되는 문제점을 가지고 있기 때문에, 최근에는 생

분해성이 뛰어나고 2차 오염 문제가 없는 생물계면활성제에 대한 연구가 국외적으로 활발히 진행되고 있다. 그러나, 국내에는 생물계면활성제의 생산은 물론 이를 이용한 토양오염 정화기술 개발에 대한 시도가 미약한 단계에 있다<sup>6,7</sup>.

이에 본 연구에서는 생물계면활성제를 생산하는 균주로부터 추출된 생물계면활성제를 사용하여 디젤로 오염된 토양에서의 세척실험에 대한 공정을 확립하고자 하였다. 생산균주로서 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 균주를 선정하였으며, 생성된 생물계면활성제인 rhamnolipid와 화학계면활성제 등을 사용하여 효율적인 토양세척능을 확립하고자 실험을 수행하였다<sup>8</sup>.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 토양특성실험

본 연구에서 사용된 토양은 경기도 용인시 아산에서 채취하였고, #12(1.7mm)체를 통과시킨 후 사용하였다. 토양의 물리적 특성인자로 pH, 함수율, 입도 분포도, 유기물질 함량, 유효인산 함량을 다음과 같이 측정하였다. pH와 함수율 측정은 국내 토양오염공정 시험법에 제시된 방법에 준하여 분석하였고, 토양입도 분포도는 오염되지 않은 건조된 자연토양 100g을 크기별로 채가름(mesh size : 0.075mm, 0.2mm, 0.425mm, 1mm, 2mm)하여 분리하였으며, 크게 sand와 silt로 분리하였으며, 각 크기별 구분은 통일분류법(USCS : Unified Soil Classification System)을 기준으로 정해진 크기에 따라 구분하였다. 유기물질 함량과 유효인산 함량은 토양학실험방법에 준하여 측정하였다<sup>9,10</sup>. 유효인산 측정방법으로는 건조토양 2.85g에 추출용매(1N-NH<sub>4</sub>F 15ml와 0.5N-HCl 25ml를 혼합) 20ml를 주입하여 1분간 급속혼합 후 여과하였고, 그 여액 5ml에 혼합용액 5ml와 증류수 50ml를 혼합하여 10분 동안 정체시킨 후 620nm에서 흡광도를 측정하였다. 유기물질함량 분석방법으로는 건조토양 0.5g을 500ml 플라스크에 넣고 1N K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 10ml와 20ml의 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 200ml 증류

수를 넣어 혼합시킨 후, 0.5N FeSO<sub>4</sub> 적정법에 의하여 측정하였다. 이때 지시약으로는 o-phenanthroline을 사용하였다<sup>11</sup>.

### 2.2 생물계면활성제 rhamnolipid 생산과 추출

생물계면활성제 생산균주로 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027를 선정하였으며 배지조성과 배양조건은 다음과 같고 균주는 *Pseudomonas agar* P(Difco) slant에 한달마다 계대배양하여 사용하였다. Kay's minimal medium 조성은 0.33% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.2% glucose, 0.5mg Fe, 0.1% MgSO<sub>4</sub> 이며, 배지 25mL에 *P. aeruginosa*를 접종하여 250rpm, 37°C에서 24hr동안 배양시켰다. 배양액 2mL를 PPGAS(Phosphate-limited proteose peptone -glucose-ammonium salts) 배지에 재접종하여 배양하였다. 배지조성으로는 0.02M NH<sub>4</sub>Cl, 0.02M KCl, 0.12M Tris-HCl, 0.5% glucose, 1% proteose pepton, 0.0016M MgSO<sub>4</sub>이며 pH 7.2, 37°C 조건에서 배양하였다.

균주 생장은 600nm에서의 OD(Optical density) 값으로 측정하였다. 포도당 소모량 측정은 페놀분석법에 따라 배양액 1.0ml에 5%(w/v) phenol 1.0ml와 5.0ml 진한황산을 혼합하여 30초간 vortexing 한 후 30분간 방치하였고, 490nm에서의 흡광도 값으로 측정하였다. 균주 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 후, pH 2.0인 1N-HCl로 산성화시킨 다음 ethyl acetate로 세 번 반복 추출하였고, 80°C에서 휘발시켜 rhamnolipid를 추출하였다. 노란색 잔류물은 0.05M sodium bicarbonate(pH8.6)로 용해시켰다.

본 연구에서는 추출한 crude biosurfactant의 성분분석을 위해 전개용매로 chloroform:methanol:water:acetic acid(65/15/1/1)을 사용하여 TLC(thin layer chromatography)로 정성분석하였다.

### 2.3 회분식 토양세척실험조건

계면활성제 종류, 농도, 시간에 따른 세척 실험을

**Table 1. Biosurfactant for washing on diesel-contaminated soil**

Surfactant Type	Commercial Name	HLB	Maker
Nonionic	Tween 20	16.7	Yacuri(Japan)
	Tween 60	14.9	Yacuri(Japan)
	Tween 80	15.0	Yacuri(Japan)
	Span 20	8.6	Sigma(U.S.A)
	Span 80	4.0	Sigma(U.S.A)
	Span 85	1.0	Sigma(U.S.A)
Anionic	SDS	-	Sigma(U.S.A)
Biosurfactant	Biosolve	-	Jeil Co., Korea
	SR	-	Nature's way
	Rhamnolipid	-	P. aeruginosa ATCC 9027

회분식, 연속식으로 수행하여 계면활성제에 의한 최적 디젤 오염토양세척 조건에 대하여 검토하였다.

오염되지 않은 건조토 1kg에 5g의 디젤 (5,000ppm)을 첨가하여 세척실험을 수행하였으며, 오염토양은 밀봉된 상태로 0~4℃의 냉장상태로 보관하여 실험에 사용하였고, 본 실험에 사용된 디젤은 국내 L정유회사의 제품을 사용하였다.

계면활성제 종류에 따른 디젤 제거효율을 비교 검토하였다. 화학계면활성제 선택시 비이온계 계면활성제로서 HLB (hydrophilic-lipophilic balance)값이 다른 계면활성제를 선택하여 HLB값에 따른 제거효율에 대해서도 검토하였다. 실험에 사용한계면활성제는 Table 1에 나타내었다. 50ml vial에 상기의 유류오염 토양 5g과 본 연구에서 선정한 계면활성제(1%, w/v) 각각 25ml씩을 혼합하여 250rpm, 25℃에서 24시간 동안 토양세척을 하였다. 토양세척 후 상등액 1ml을 분취하여 7,770×g로 원심분리시키고, 상등액 0.5ml와 n-hexane 1ml을 혼합하여 층 분리를 시켰고, 층 분리시 핵산층에 남아있는 수분을 제거하기 위하여 무수황산나트륨(sodium sulfate) 0.1g을 첨가하였다<sup>12)</sup>. 디젤 분석은 미국의 EPA method 8015에 의하여 TPH 함량으로 정량분석하였으며 GC-FID를 사용하였다. 분석에 사용된 GC model은 Hewlett-

Packard Model 6890 이고, detector는 flame ionization detector(FID)를 사용하였으며, column은 HP-5MS capillary column(30 m × 0.53 mm, 0.5% Phenyl Methyl Siloxane)을 사용하였다. Detector의 온도는 250℃로 유지하였고, carrier gas로는 helium을 사용하였다. Oven은 초기 45℃로 3분간 유지한 다음 12℃/min의 승온속도로 275℃까지 승온시키고, 12분동안 유지한 후 분석하였다.

각 계면활성제의 농도를 0.2%에서 10%로 변화시켜 계면활성제 농도에 따른 디젤 오염토양의 유류 세척율을 조사하였다. 또한, 각 계면활성제의 농도를 1%로 고정된 후, 24시간동안 세척 후 세척시간에 따른 디젤 제거능에 대해 동일한 조건으로 실험하였다.

#### 2.4 연속시 토양세척실험조건

회분식 플라스크 실험에서 얻어진 결과를 토대로 연속식 실험을 수행하기 위하여 유효깊이 200mm, 직경 50mm의 원통형 아크릴 column을 제작하였다. 유류 오염토양의 제조는 회분식 실험에 제시된 바와 동일하며 토양의 유실을 방지하기 위해 column 내부 밑부분에 필터를 설치하였다. 각 column마다 오염된 토양 300g을 채우고, 계면활성제 용액(1%)을 5mL/min의 유량으로 Masterflex 펌프를 이용하여 상향류 방식으로 주입하였다. 세척시간 1~6 시간에 따른 디젤 제거효율에 대한 실험을 수행하였다.

### 3. 실험결과 및 고찰

#### 3.1 토양특성실험

본 연구에서 토양세척실험용으로 채취한 토양의 pH와 함수율을 토양오염공정시험법에 따라 측정된 결과, pH는 약 6.4, 함수율은 약 16.5%로 나타났고, 유기물질의 함량과 유효인산농도는 각각 1.5%와 7,501 ppm으로 분석되었다. 또한, 사용된 토양의 입도분포는 sand부분 중 coarse가 51.65%, fine이 46.25%로 전체 토양의 97% 이상을 차지하고 있었으며, silt

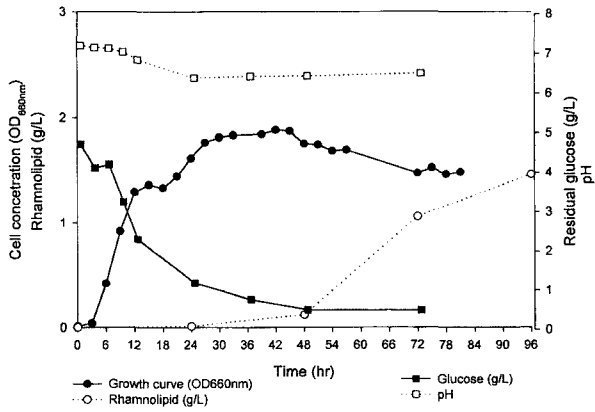


Fig. 1. Time course of rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* 9027.

이하 크기의 토양은 2.1%였다.

3.2 생물계면활성제 rhamnolipid의 생산 및 추출

*P. aeruginosa* 9027 균주의 성장곡선을 분석한 결과 비성장속도( $\mu$ )는  $0.024hr^{-1}$ 였고, 배양 96시간 후 계면활성제 최대생산량  $1.46g/L$ ( $V_{max}$   $0.0152h^{-1}$ )을 보였다 (Fig. 1). 이는 batu 등<sup>13)</sup>에 의한 생산 결과 (specific product formation rate,  $V_{max}$   $0.0062 h^{-1}$ ) 보다 매우 높은 생물계면활성제 생산량을 나타내었다. pH는 초기 7.2에서 72시간 경과 후 6.5로 감소되었으며, 포도당 소모량은 72시간 경과 후 4.71g/l에서 0.49g/l로 81%가 3일 내에 소모되었다. 토양 영양분인 포도당이 거의 소비되고, 균의 증식이 안정기를 거쳐 감소되는 시점에서 rhamnolipid의 생산량이 계속 증가되는 추세를 보였다. 이러한 배양조건을 고려하여 rhamnolipid를 최대로 추출하기위한 조건은 OD<sub>600</sub>으로 균의 증식을 측정하여 최대균주농도에 도달 후 감

Table 2. Color reaction of the biosurfactant on TLC

Biosurfactant	Rf	1	2	3	4
Type I	0.65	+	-	+	+
Type II	0.40	+	+	+	+

+ : positive reaction

- : negative reaction

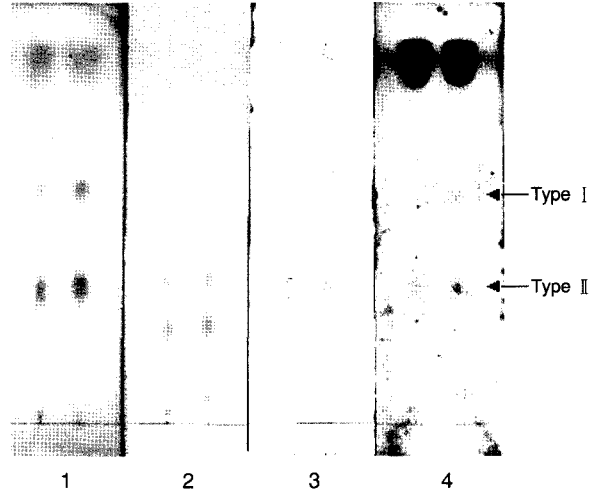


Fig. 2. Color reaction of the biosurfactant by TLC

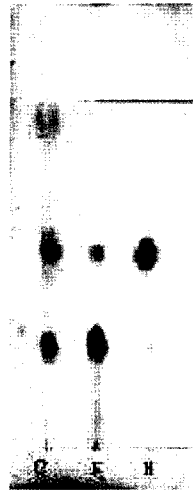
1. Thymol-sulfuric acid reagent
2. Ninhydrin : free amino acid
3. DPH(1,6-diphenyl-2,3,5-hexatriene)
4. 30% sulfuric acid

소되는 시점에서 배양을 정지하여 추출하였다. 추출된 생물계면활성제의 성분을 TLC로 분석한 결과 Fig. 2 과 Table 2의 결과를 얻었다. 여기서 type I은 R<sub>f</sub>=0.65의 glycolipid였으며, type II는 R<sub>f</sub>=0.4로 소수성의 단백질과 유사한 물질로 추정되었다<sup>14, 15, 16)</sup>. Type I과 추출된 생물계면활성제를 TLC로 분석하였고, standard rhamnolipid와 비교한 결과, type I이 rhamnolipid로 확인되었고, 생산된 rhamnolipid는 추출하여 토양세척실험에 사용하였다(Fig. 3).

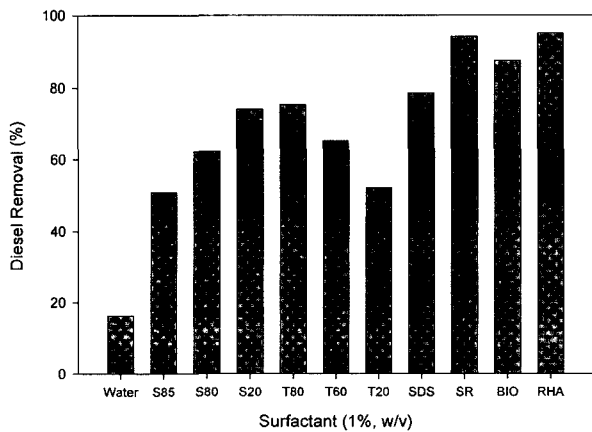
3.3 회분식 토양세척실험

화학계면활성제에 비해 생물계면활성제의 디젤 제거효율이 20~30% 높았다(Fig. 4). 생물계면활성제 rhamnolipid, Biosolve, SR의 디젤 제거효율은 각각 약 95%, 88%, 94%로 *P. aeruginosa* 9027 균주에서 생산된 rhamnolipid의 세척효율이 가장 높음이 확인되었다.

화학계면활성제 중 HLB값에 따른 제거효율은 HLB값이 8~15일때 계면활성제들(Tween 80, Tween 60, Span 20)의 제거효율이 약 70%였으며,



**Fig. 3. Color reaction of the biosurfactant by TLC (thymol-sulfuric acid)**  
 (C : Standard of rhamnolipid  
 I : Type I of produced biosurfactant  
 II : Type II of produced biosurfactant)



**Fig. 4. Diesel removal rate by various surfactants in batch test.**  
 (S85:Swan 85, S80:Swan 80, S20:Swan 20, T80:Tween 80, T60:Tween 60, T20:Tween 20, SDS: Sodium dodecyl sulfate, BIO:Biosolve, RHA:Rhamnolipid)  
 (5 g diesel/kg dried soil, washing time : 24 hr, soil:surfactant=1:5, 250 rpm, 25 °C)

**Table 3. Efficiency of chemical surfactant in removal diesel from contaminated soil**

Surfactant Type	Commercial Name	HLB	Removal Efficiency(%)
Nonionic	Tween 20	16.7	52.14
	Tween 60	14.9	65.21
	Tween 80	15.0	75.31
	Span 20	8.6	74.05
	Span 80	4.0	62.21
	Span 85	1.0	50.80

HLB값이 8이하인 Span 80, Span 85인 경우 60% 이하의 낮은 제거효율을 보였다. HLB값이 15이상인 Tween 20의 경우 약 52%로 약 75%의 제거효율을 보인 HLB 15의 Tween 80 보다 낮은 제거효율을 나타내었다(Table 3).

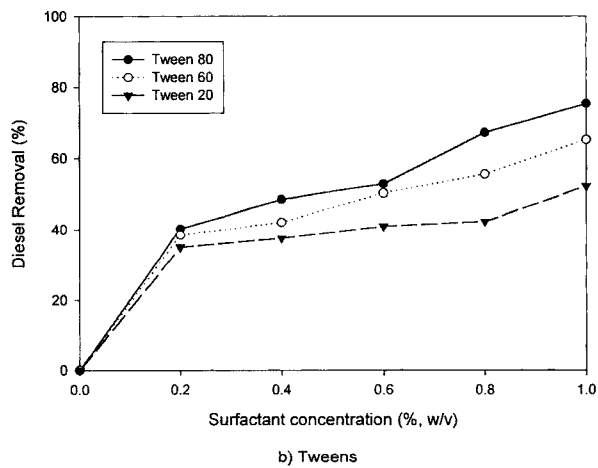
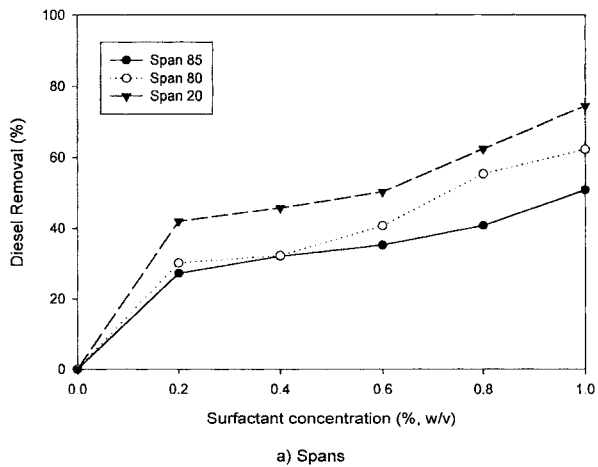
계면활성제는 분자내에 극성과 비극성기를 지닌 화합물질로서 토양입자에 결합되어 있는 소수성 유기오염물질의 표면장력을 약화시켜 이를 토양으로부터 분리시킨다. 계면활성제는 친수기인 head group과 소수성기인 tail group의 두 부분으로 이루어져 있으며, 친수성기가 물에 용해되었을 때 양이온인 경우, 음이온인 경우, 비이온성인 경우가 있으며, 이들을 각각 양이온계, 음이온계, 비이온계 계면활성제로 분류된다. 계면활성제 분자의 친수성기와 소수성기의 상대적 크기 (HLB)에 따라 계면활성제의 용해도 특성이 변한다. HLB값은 micell을 형성할 때 소요되는 계면활성제 응집수 및 소수성 유기오염물질의 용해도에 대한 상대적 지표로 사용한다. HLB값은 0~20사이의 수치로 나타내며 낮은 값일수록 친수성을, 높은 값일수록 친수성을 나타낸다고 보고되었다<sup>17, 18)</sup>.

본 실험결과에서 보면, HLB값이 8~15인 계면활성제가 가장 높은 제거효율을 보였는데, 이는 극단적인 소수성이거나 친수성보다는 친수성과 소수성의 성질을 모두 가지고 있을 때 디젤 제거효율이 높음을 의미한다. 즉, 친수성과 소수성의 성질을 모두 가지고 있음에 의해 물과 디젤에 쉽게 용해되어 물과 디젤을 혼합시켜 디젤이 쉽게 세척될 수 있어 제거효율이 높아진다고 사료된다.

계면활성제의 농도를 0.2~1.0%에 따라 24시간 동안 세척실험한 결과, 계면활성제 농도가 높을수록 세척효율이 높았다(Fig. 5).

계면활성제 농도를 1%로 하여 6시간동안 세척효율의 변화를 알아본 결과 세척시간 6시간 경과 후 화학계면활성제 중 Span 계열은 HLB값이 8이하인 Span 80, Span 85의 경우 약 35%이하의 저조한 세척효율을 보인 반면 HLB값이 8.6인 Span 20의 세척효율은 약 58%를 보였다(Fig. 6-a). HLB값이 1인 span 85

와 HLB값이 4인 span 80은 유사한 디젤 제거경향을 보였으며, HLB값이 8.6인 span 20의 경우 6시간 경과후에도 제거율이 좀 더 증가할 가능성을 보여주었다. 또한, Tween 계열은 HLB값이 15인 Tween 80이 기타 Tween계열보다 약 25% 이상의 높은 세척효율을 보였다(Fig. 6-b). Tween 계열은 HLB값이 15인 Tween 80과 14.9인 Tween 60의 초기 디젤 제거 경향이 유사하였다. 5시간경과 후, Tween 80은 제거효율이 계속 증가하였으나, Tween 60의 제거효율은 더 이상 증가하지 않았다. 생물 계면활성제의 경우 본 연구에서 추출한 rhamnolipid와 SR, 그리고 Biosolve 모두 유사한 디젤 제거 경향을 보였으며, 이 중 rhamnolipid와 SR은 6시간 경과후의 제거효율이 76%와 75%로 차이가 없었고, Biosolve는 64%로 약간 낮게 나타났다(Fig. 6-c).

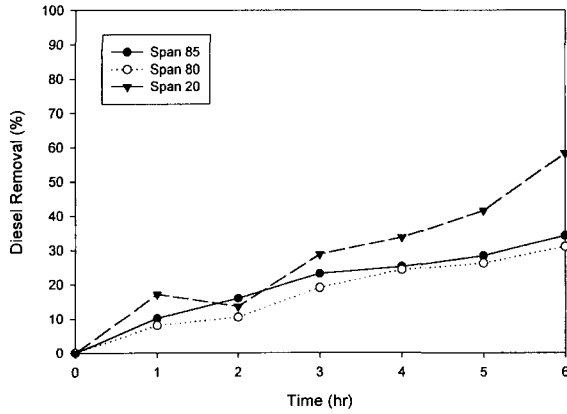


**Fig. 5. Effect of surfactant concentration on diesel removal in batch test.**  
**a) Spans, b) Tweens**  
 (5 g diesel/kg dried soil, washing time : 24 hr, soil:surfactant=1:5, 250 rpm, 25 °C)

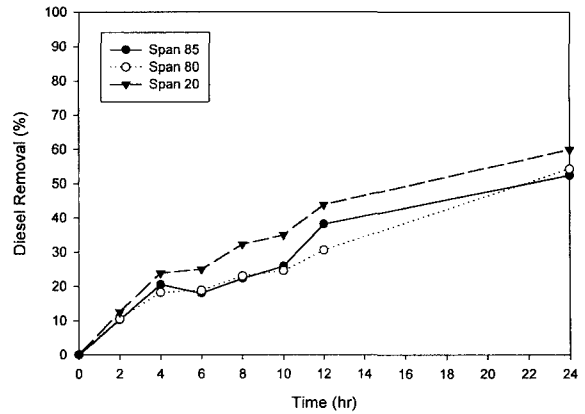
### 3.4 연속식 토양세척실험

플라스크 실험에서의 회분식 결과를 토대로 컬럼반응기에서의 연속적인 세척효율을 분석하기 위하여 화학계면활성제인 span, Tween계와 생물계면활성제의 농도를 1%로 고정하여 각각 컬럼을 이용하여 24시간 동안 연속적으로 디젤 제거실험을 수행한 결과를 Fig. 7에 나타내었다.

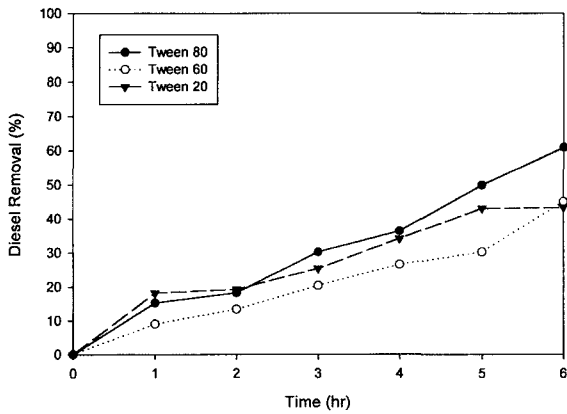
시간별로 시료를 채취하여 디젤 제거효율을 비교 분석한 결과, 세척시간 24시간 후 rhamnolipid의 경우 약 92.5%로 사용된 화학 및 생물 계면활성제 중 세척효율이 가장 좋았음이 확인되었다. 화학계면활성제의 세척효율은 약 70% 미만의 저조한 세척효율을 보인 반면, 생물계면활성제는 SR의 경우 약 86%, Biosolve의 경우는 약 82%로 전반적으로 생물계면활성제의 세척효율이 화학계면활성제 보다 우수한 것으로 나타났다. 이 결과에서 보면, 초기 2시간내의 디젤 제거속도에서 차이가 있음을 알 수 있다. 즉, 생물계면활성제의 경우 초기 2시간 경과 후의 제거율이 40%이상이나, 화학계면활성제의 경우에는 10~20%로 차이가 있었을 뿐, 2시간 이후에는 제거율에 큰 차이가 없었다. 이는 초기 제거율의 영향이 크을 보여주며, 초기 제거후 계면활성제를 2차 투입하여 세척한다



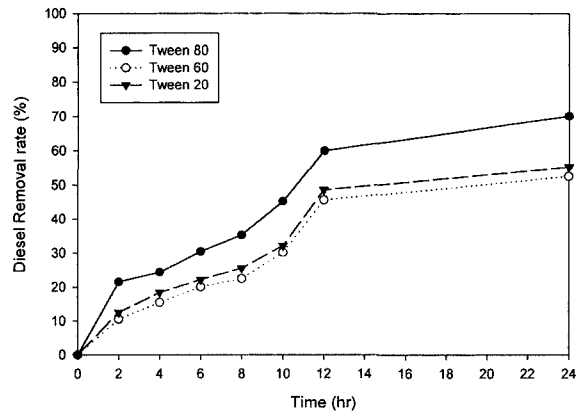
a) Spans



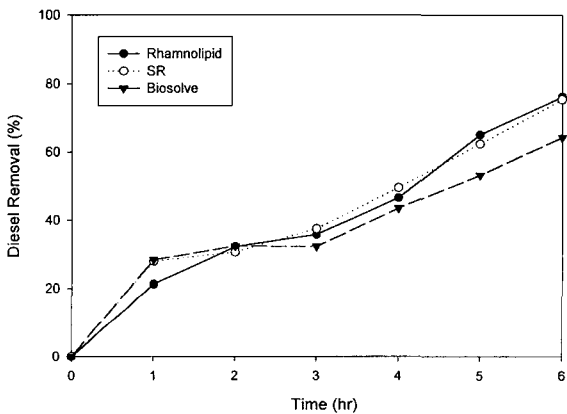
a) Spans



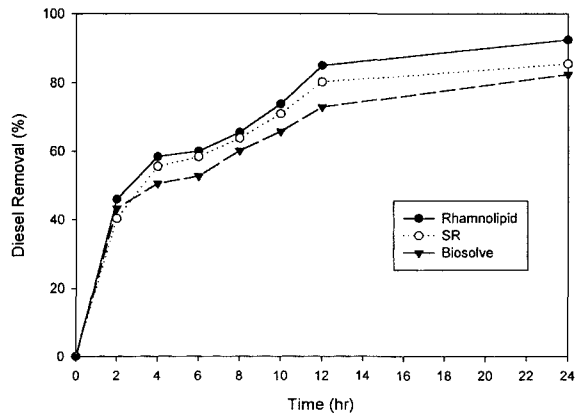
b) Tweens



b) Tweens



c) Biosurfactants



c) Biosurfactants

**Fig. 6. Time course of diesel removal rate by various surfactants in batch test.**  
**a) Spans, b) Tweens c) Biosurfactants**  
**(5 g diesel/kg dried soil, surfactant concentration:1%, 250 rpm, 25 °C)**

**Fig. 7. Time course of diesel removal rate by various surfactants in soil column.**  
**a) Spans, b) Tweens c) Biosurfactants**  
**(5g diesel/kg dried soil, surfactant concentration:1%, 250rpm, 25 °C)**



면 좀 더 높은 디젤 제거효율을 얻을 수 있으리라 사료된다.

계면활성제에 의한 유류오염토양 세척 실험은 주로 화학계면활성제에 의해 이루어져왔으나<sup>19, 20, 21</sup>, Exxon Valdez 오염사고 이후 현장 세척용 실험에서 생물계면활성제의 사용이 많이 증가되고 있다<sup>22</sup>. 생물계면활성제를 이용한 세척 실험에서 Michele 등<sup>23</sup>에 의한 세척효율은 최고 80% 정도이나 본 연구진에 의해 분리된 rhamnolipid의 디젤 제거효율은 90%이상으로 매우 우수한 디젤 제거용 생물계면활성제임이 밝혀졌다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 생물계면활성제 생산 균주인 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027를 선정하여 biosurfactant인 rhamnolipid를 생산하여 그 특성을 조사하였고 화학계면활성제와의 유류세척능에 대한 비교 실험을 수행하였다.

회분식 플라스크실험의 결과 계면활성제 1%, 세척시간 6시간을 기준으로 세척효율을 비교한 결과, 본 연구에서 생산하여 토양세척에 사용된 rhamnolipid가 약 95%로 화학 및 생물 계면활성제 중에서 가장 우수한 세척효율을 보였다. 또한, 화학계면활성제의 HLB 값에 따른 세척효율을 검토한 결과, 회분식 플라스크 세척실험에서 계면활성제 1%, 세척시간 6시간을 기준으로 HLB값이 8~15사이인 Span 20과 Tween 20의 경우 세척효율은 약 75%로 분석되었으며, 그 이상과 이하에서는 약 60% 미만의 저조한 세척효율은 보였다. HLB값이 16~20사이인 계면활성제는 친수성이므로 디젤에 대한 용해도가 낮고, HLB값이 8이하인 계면활성제는 소수성으로 물에 대한 용해도가 낮으므로 세척효과가 떨어진다고 사료된다. 그리고, 계면활성제에 의한 디젤 제거효율은 초기 제거율이 큰 비중을 차지하고 있음이 밝혀졌다.

#### 사 사

본 연구는 2001년 중소기업청 중소기업기술혁신개

발사업에 의해 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

1. 이광래 외 “최신환경공학”, 동화기술, pp639-666 (2001)
2. Nyer E. K. “Practical techniques for groundwater and soil remediation”, Lewis Publishers, pp1-42 (1993)
3. 박용하, 이승의 “토양환경보전을 위한 오염방지기준 및 관리대책”, 한국환경기술개발원, pp131 (1995)
4. West C. C. and Harwell J. H. “Surfactants and subsurface remediation”, *Environ. Sci. Technol.*, 26, pp 2324-2330 (1992)
5. Harwell J. H. “Factors affecting surfactant performance in groundwater remediation applications”, *Transport and Remediation of Subsurface Contaminants*, Chapter 10, ACS (1992)
6. Hisatsuka K., Nakahara T., Minoda Y., and Yamada K. “Formation of protein-like activator for n-alkane oxidation and its properties”, *Agr. Biol. Chem.*, 41, pp445-450 (1976)
7. Chang H. P., Son C. K., Kim S. H., and Ahn D. G. “Effect of pH and temperature on the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* YPJ-80 and its separation”, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 13, 5, pp511-517 (1998)
8. Yimin Z. “Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a *Pseudomonas* Rhamnolipid Surfactant (Biosurfactant)”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(10), pp3276-3282 (1992)
9. 최정 외 “토양학실험”, 형설출판사 (1994)
10. David S. B. and Judith L. S. “Ground Water Issue : Fundamentals of Soil Science as Applicable to Management of Hazardous Wastes”, U. S. EPA, EPA /540/S-98/500, April (1999)
11. “환경오염공정시험법”, 동화기술 (1996)

12. 최상일 외 “토양세척기법을 이용한 오염토양 정화기술의 적용성 실험”, 삼성물산(주) 건설부문 기술연구소 보고서 (1996)
13. Batu P. S., Vaidya A. N., Bal A. S., Kapur R., Juwarkar A., and Khanna P. “Kinetics of biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2 from industrial wastes”, *Biotech. Lett.* 18 (3), pp263-268 (1996)
14. Itoh, S. and Honda H. “Rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa*, grown on n-paraffin”, *J. Antibio.*, 24(12), pp855-859 (1971)
15. Hisatsuka, K., Nagahara T., and Yamada K. “Protein like activator for alkane oxidation by *Pseudomonas aeruginosa* S7B1”, *Agri. Biol. Chem.* 36, pp1361-1369 (1972)
16. 김대원, 김민주, 강상모, “*Pseudomonas aeruginosa* 가 생산하는 biosurfactant의 분리 및 특성”, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23(3), pp337-345 (1995)
17. Abdul A. S. and Gibson T. L. “Laboratory studies of studies of surfactant- enhanced washing of polychlorinated biphenyl from sandy material”, *Environ. Sci. Technol.* 25, pp665-671 (1991)
18. Geroge G., Lin S. C., and Sharma M. M. “Surface-active compounds from microorganisms”, *Bio/Technol.*, 10, pp60-65 (1992)
19. Jitendra D., Desai and Ibrahim M. B. “Microbial production of surfactants and their commercial potential”, *Microbiol. and Mol. Bio. Rev.* 61(1), pp47-64 (1997)
20. Aronstein B. N., Calvillo Y. M., and Alexander M. “Effect of surfactants at low concentrations on the desorption and biodegradation of sorbed aromatic compounds in soil”, *Environ. Sci. Technol.* 25, pp1728-1731 (1991)
21. Ellis W. D., Payne J. R., and McNabb G. D. “Treatment of contaminated soils with aqueous surfactants” U. S. Environ. Prot. Agency Res. Dev. Rep. No. EPA/600/S2-85/129 (1985)
22. Harvey S., Elashvilli I., Valdes J. J., Kamely D., and Chakrabarty A. M. “Enhanced removal of Exxon Valdez spilled oil from Alaskan gravel by a microbial surfactant” *Bio/Technol.*, 8, pp228-230 (1990)
23. Michele I. V. D., Gulley S. L., Lee H., and Trevors J. T. “Evaluation of microbial surfactants for recovery of hydrophobic pollutants from soil”, *J. Indus. Microbiol.*, 11, pp163-170 (1993)