

발포 Polyurethane에 점착하는 미생물 Biomass 측정

송인상, 조대철, 허남수
순천향대학교 환경공학과
e-mail: daechul@sch.ac.kr

Biomass measurement on bacteria-adhered polyurethane

In Sang Song, Daechul Cho and Nam Soo Huh

Department of Environment Engineering, Soonchunhyang University

요 약

미생물 고정화를 위하여 PU 폼을 세 가지 처리 방법으로 처리하였다. 플라즈마 처리, 플라즈마 유도 그래프팅, 플라즈마 유도 그래프팅 후 플라즈마로 재처리 방법을 사용하였다. 플라즈마 처리는 bacteria adhesion에 큰 효과를 주지 못하였고, 아크릴산의 플라즈마 유도 그래프팅은 adhesion을 세 배 이상 증가시켰다. Bacteria의 adhesion 성능 향상은 표면의 친수성을 증가시키고 새로운 groove나 cavity들을 형성시킴으로 가능하였다. 반면, 그래프팅 후 plasma re-treatment는 미생물 고정화를 크게 향상시키지 못하였다. SEM 관찰을 통하여 대부분의 E.coli는 groove나 cavities라는 shear-free area에 서식함을 알 수 있었다. PU폼의 bacteria adhesion은 미생물과 고분자 표면 사이의 정전기적 인력이나 van der Waals 인력에 의해 주로 영향을 받는다고 사료된다.

1. 서론

본 연구는 폴리우레탄 폼을 미생물 고정화 담체로 선정하였다. Cell과 미생물 adhesion을 향상시키기 위해서는 고정화 담체의 표면에 친수성 표면 성질을 부여하는 것이 필요하다. 보통 폴리우레탄 폼은 고정화 능력은 낮기 위해서는 긴 시간을 필요로 한다. 그러나 낮은 바이오필름의 형성 속도는 표면에 관능기를 도입함으로써 극복될 수 있다. 우수한 bulk 성질과 넓은 표면적은 담체가 가질 수 있는 최대의 장점이지만 낮은 바이오필름 성장 속도는 개선되어야 할 문제이다. 이런 문제점은 표면 개질을 통해 본래의 장점은 유지하면서 고정화 속도를 향상시킬 수 있다. 표면 개질을 통하여 젖음성을 향상시키면 인공 조직의 성장 등과 같이 세포 및 미생물의 성장을 돕게 된다. 표면 개질 방법 중에서도 가장 잘 알려진 것은 플라즈마 표면 개질법으로 플라즈마의 화학적 성질을 이용하여 표면을 성공적으로 바꾼 연구가 많이 있었다.

본 연구에서는 대기압 플라즈마를 이용하여 표면을 처리를 수행하였다. 입체적 구조의 폴리우레탄 폼 표면에 관능기를 도입량을 증가시키기 위해 플라즈마 표면 처리 한 후 아크릴산을 그래프팅시켰다. Cell adhesion 실험을 통하

여 미생물 고정화 향상에 미치는 처리 효과의 영향을 조사하였다. 플라즈마 효과를 관찰하기 위해 FT-IR과 SEM를 사용하여 표면의 화학적 변화와 형상 변화를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

대기압 플라즈마 장치는 13.56 MHz DBD형태이고 플라즈마 처리 시간, 전압, 플라즈마로부터의 거리를 변화시키면서 각각의 효과를 측정하였다. 플라즈마를 발생시키기 위한 기체는 순수 아르곤을 사용하였고, 질량유량계로 유량을 조절하였다. 다공성의 폴리우레탄 폼은 에스테르계 10 PPI 형태로 유렉셀 테크놀로지(주)로부터 제공받았다. 아크릴산은 Junseighkgkr 회사(일본)에서 구입하였고, 세척을 위한 메틸 알코올은 덕산화학(한국)에서 구입하였다.

먼저 폴리우레탄 폼을 에탄올로 세척하고 건조한 후, 반응기 시료대에 위치시키고 100 W에서 100 s

동안 처리하였다. 아르곤 유량은 5 ml/min 이다. 처리된 샘플은 공기 중에 hydroxyl 그룹을 형성하기 위해 5분 동안 대기 중에 놓아두었다. 아크릴산 그래프팅은 30 vol% 아크릴산 용액을 제조한 후 70°C 에서 3시간 동안 반응을 시켰다. 이 때 질소를 흘려 주면서 산소와의 접촉을 배제하였다. 그래프팅 중합이 끝난 후 soxhlet extractor에서 메틸알코올로 24 시간 동안 세척을 하였고, 24시간 건조 후 무게를 측정하였다.

2.2. 분석방법

플라즈마 처리와 아크릴산 그래프팅 후에 폴리우레탄 폼의 표면 친수화는 EWC시험으로 알아보았다. EWC 값은 젖은 상태(m_w)와 건조상태(m_d)의 무게로부터 결정된다. PU-g-PAAc foam을 증류수로 팽윤시킨 후의 무게를 측정하고 이것을 40°C에서 48시간 동안 건조시킨 후의 무게를 측정한다. EWC 값은 다음식으로 계산된다.

$$EWC(\%) = -\frac{m_w - m_d}{m_d} \times 100$$

미생물 고정화 실험에는 점착력이 좋은 그람음성균인 E.coli를 사용하였고, LB (5 g/l yeast extract, 10 g/l tryptone, 10 g/l NaCl) 배양액에서 배양하였다. 먼저, 12시간 동안 100ml 플라스크에서 배양시킨 후 10 ml의 cell 부유물을 200 ml LB medium의 플라스크에 첨가하였다. 다음으로 adhesion 실험은 네 종류의 샘플을 새로운 플라스크에서 24시간 동안 수행하였다. Adhesion 실험 후 샘플을 증류수로 세 번 세척하고 상온에서 진공 건조하였다. 각 단계를 끝마친 후에는 무게를 달았다. 각 실험을 세 번 반복하여 평균값 구하였다. 에스테르계 폴리우레탄 폼은 가수분해로 인해 무게가 감소하므로 무게 손실을 감안하기 위하여 다음 인자를 미리 측정하였다.

$$r = -\frac{W_b - W_a}{\rho_{app} V_n} [g/g]$$

여기서, W_a 와 W_b 는 각각 폴리우레탄 폼의 가수분해 실험 전 후의 무게이고, ρ_{app} 는 겉보기 밀도이며, V_n 는 담체의 부피이다. 따라서, adhesion ratio A는 무게 손실을 고려함으로써 다음과 같이 된다.

$$A = -\frac{W_2 - (W_1 - rW_1)}{W_1} [g/g]$$

여기서, W_1 과 W_2 는 각각 adhesion 실험 전후의 무게이다. 모든 샘플의 무게는 실험 전에 미리 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

Water sorption and bacterial adhesion on the plasma modified surfaces

Bacterial adhesion 전, PU 폼의 표면 친수화 정도를 조사하였다. EWC 퍼센트는 아크릴산의 그래프팅율에 따라 증가함을 볼 수 있다. 이로써 표면 친수화 정도는 그래프팅에 따라 향상되었고, 아크릴산의 카르복실 그룹의 영향으로 판단도니다. 그러므로 그래프팅율이 높으면 높을수록 더 많은 수분을 PU 폼은 흡수할 수가 있다.

Bacterial adhesion 실험은 샘플 A, B, C, D에 대하여 수행하였다. Biomass는 손실 비를 고려하여 조정하였다. Bacteria가 없는 LB medium에 샘플을 담그기 전후의 PU 폼의 무게를 측정하였고, medium 용액에 있는 Na^+ 이온의 이온교환으로 인한 오차를 감안하기 위한 실험도 하였다. 실험 결과 이온 교환은 전체 무게 변화에 영향을 주기 못하였다. 샘플 A와 B에 대한 bacterial adhesion 무게는 0.1g/g-substrated 정도인 반면, 샘플 C와 D는 0.3g/g-substrated를 넘었다. 플라즈마 처리는 PU 표면에 peroxide 그룹을 형성시켰고, -OOH 그룹의 도입으로 표면을 친수성으로 변화시킬 수 있었기에 bacteria가 쉽게 adhesion될 수 있었다. 그러나 플라즈마 표면 처리만으로는 높은 친수성 표면임에도 adhesion을 더 높일 수가 없었다. 이런 결과는 플라즈마 etching 효과로 인해 플라즈마 처리동안 표면 거칠기와 형태의 변화를 초래하였고, 이런 특징은 cell adhesion에도 영향을 준다. 결과적으로 표면 거칠기는 bacteria의 adhesion을 증가시켰으나 플라즈마 처리 후 샘플 B에서와 같이 지대한 향상은 이루어지 못하였다.