

담체의 소수성과 표면거칠기가 미생물 부착에 미치는 영향

박 영 식 · 서 정 호 · 송 승 구
부산대학교 화학공학과
(1997년 6월 2일 접수)

Effect of the Hydrophobicity and the Surface Roughness of Support Material on the Microbial Attachment

Young-Seek Park, Jung-Ho Suh, and Seung-Koo Song
Dept. of Chem. Eng., Pusan National University, Pusan, Korea.
(Manuscript received 2 June 1997)

This paper discussed effect of the surface roughness and the hydrophobicity of support material on the microbial attachment in a rotating biological contactor. The hydrophobicity of each support material was determined by the measurement of contact angle of water and the surface roughness was measured by the surface roughness instrument. Microorganisms have well attached on the surface of more hydrophilic support material like Nylon6 than that of the hydrophobic support material like PE. When the relatively hydrophilic surface was roughen, the microbial attachment was increased but when the relatively hydrophobic surface was roughen, the attachment was slightly increased because the hydrophobicity of support material was increased by roughening the hydrophobic surface. Although both variables, the surface hydrophobicity and the surface roughness, have influenced the microbial attachment, the influence of the surface roughness overruled that of the surface hydrophobicity. Support material whose surfaces were roughened about $1\mu\text{m}$, $6\mu\text{m}$ and $11\mu\text{m}$ were allowed for attached 3, 7 and 24hr, but the differences of maximum and minimum attachment of each material gave nearly constant values and similar trend with time.

Key words : Microbiological attachment, hydrophobicity, contact angle, surface roughness.

1. 서 론

고체표면의 미생물의 부착은 biofouling의 발생이나 폐수처리 등의 응용으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 선박, 석유 굴착장비, 송수관, 열교환기와 같은 유수계(flowing system) 표면에 미생물이 부착되면 관을 부식시키거나 막히게 하여 구조물의 기능을 약화시킨다. 그러나 불활성 담체에 미생물의 부착은 고정화세포를 이용하는 생물공학 산업과 생물학적 폐수처리

공정에 유용하게 이용되고 있다(Pringle과 Fletcher, 1983).

담체에 미생물을 고정화시키는 방법에는 담체결합법(부착법), 가교법, 포괄법(캡슐화) 등이 있다. 포괄법에 의한 미생물 고정화는 최근의 생물공학 발전과 더불어 급속히 진보하였으며, 폐수처리 분야에 이용되고 있는 살수여상, 회전원판 및 유동층 등의 생물막을 이용한 폐수처리 공정은 각각 여재(濾材), 회전원판 및 모

래 등의 담체에 미생물을 결합시키는 담체결합법이라고 말할 수 있다(정재춘, 1991).

담체에 미생물을 부착시키는 방법은 다른 방법에 비하여 여러 가지 이점을 가지고 있다. 즉, 고정화 비용이 낮고, 생물막을 구성하고 있는 미생물의 생존력(viability)과 높은 활성도(activity)를 유지할 수 있고, 재생 가능성이 높으며, 또한 기질과 생성물의 전달에 따른 확산 저항이 매우 낮다(Hermesse et al, 1987).

담체에 미생물이 부착하는 기본적인 메커니즘을 설명하는 구체적인 이론은 없으며, 더욱이 상황이 너무 복잡하기 때문에 하나의 단일 메커니즘으로 부착성을 표현하기도 어렵다. 부착에 영향을 주는 인자들은 다음과 같이 Van der Waals 힘(Ho, 1986), 전기 이중층의 형태(Marshall et al, 1971), 고분자 fibril을 생산하는 미생물의 능력(Allison과 Sutherland, 1987), 담체의 표면조직(Pedersen, 1990), 담체의 표면하전(Kida et al, 1992)과 담체의 표면소수성(hydrophobicity)(Pringle과 Fletcher, 1986)등이다. 미생물이 금속표면에 부착될 때에는 표면하전이 중요한 인자로 작용하고, 플라스틱과 같이 하전이 거의 없는 담체에 부착될 때에는 표면조직과 표면소수성을 고찰하는 것이 바람직한 것으로 사료된다(Fletcher와 Loeb, 1976). 담체의 표면거칠기는 유체의 전단력으로부터 흡착된 미생물의 피난처가 되고 탈착속도를 감소시키는 역할을 하며 미생물-담체 접촉에 이용될 수 있는 표면적을 증가시켜서 흡착을 증가시킨다.

본 연구에서는 미생물 부착공정에서 담체의 주요성질인 표면거칠기와 소수성이 미생물 부착에 미치는 영향을 조사하고 미생물 부착에 미치는 두 변수의 상호작용을 고찰하고자 한다.

2. 이 론

2.1 소수성

소수성이라는 개념은 일반적으로 하전되지 않고, 수소결합을 형성할 수 없거나 낮은 표면 에너지를 가지고 물을 피하는 분자나 입자와 관련되며, 물에서 비극성 물질의 상대적인 불용성(insolubility)을 설명하는데 사용된다(Mozes 와 Rouxhet, 1987).

액체의 접촉각 측정(contact angle method)

과 소수성 상호작용 크로마토그래피(hydrophobic interaction chromatography), 탄화수소에 미생물 부착(MATH : microbial adhesion to hydrocarbons), 상 분배(phase distribution) 및 염 응집테스트(salt aggregation test)등의 기술이 박테리아나 콜로이드 입자의 상대적인 소수성을 나타내는데 사용되지만(Mozes와 Rouxhet, 87; van der Mei et al, 87) 고체 표면의 상대적인 소수성은 접촉각을 측정하여 나타낸다(Chaudhury, 92).

2.2 평형 접촉각

액체 한 방울을 평평한 고체표면에 놓으면 방울이 표면 전체에 완전히 퍼지든지, 그렇지 않으면 명확한 접촉각(contact angle)을 가진다. 이상적으로 매끄럽고 균질한 평면에서 액적(liquid droplet)에 대한 평형 접촉각(θ)은 계면 장력에 관계되며 다음 식과 Fig. 1(a)로 표현된다(Wu, 1982).

$$\gamma_{LV} \cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad (1)$$

액체-고체 사이의 인력이 액체-액체 사이의 인력과 같거나 그보다 클 경우 액적의 접촉각은 0° 이 되고, 한편 액체와 액체사이의 인력이 클 때에는 0° 이상의 접촉각을 가지게 된다. 접촉각이 0° 인 경우는 고체는 액체로 완전히 적셔지고, 접촉각이 일정한 값을 가지면 부분적으로 적셔지는 것을 의미하며, 액체에 의해 전혀 적셔지지 않을 때의 접촉각이 180° 이다. 접촉각이 크면 소수성이고 고-액 계면에서 임계표면장력이 낮고 물에 젖기 어려우며, 접촉각이 작으면 임계표면장력이 높고 친수성이고 물에 젖기 쉽다.

2.3 Wenzel equation

고체표면의 거칠기, r 은 겉보기 표면적, A' 에

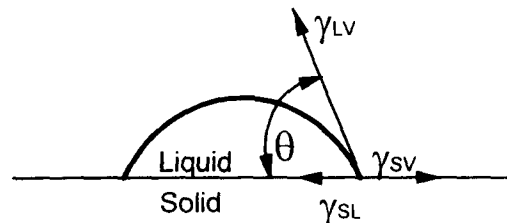
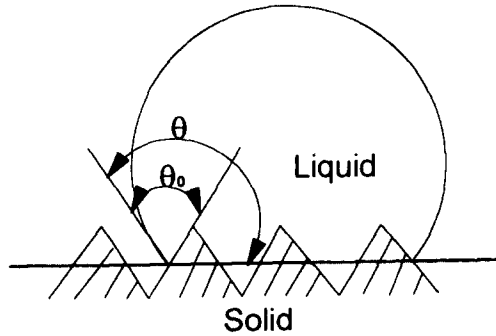


Fig. 1(a). Contact angle equilibrium on a smooth, homogeneous, planar, and rigid surfaces.



θ_0 : true contact angle
 θ : superficial contact angle

Fig. 1(b). Wettness of rough surface.

대한 참된 표면적, A(표면의 peak와 valley를 고려한 표면적)로 정의되고 접촉각과 다음 Wenzel 식으로 표현되며, 거친 면이란 $r > 1$ 의 경우를 의미한다(Fig. 1(b))(국윤환 외, 1993).

$$\cos \theta = r \cos \theta_0 \quad (2)$$

이 식으로부터 다음과 같은 사실을 알 수 있다.

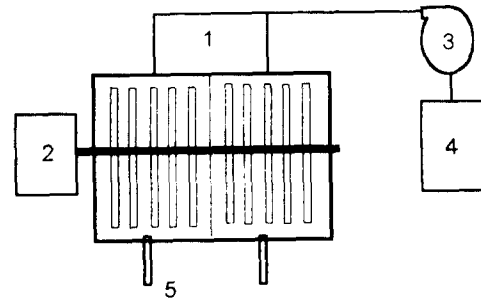
(1) $\theta_0 < 90^\circ$ 일 때 즉, 젖기 쉬운 표면을 가진 입자에서는 표면을 거칠게 한 경우는 $\theta < \theta_0$ 가 되어 더 젖기 쉽게 되어 소수성이 감소된다.

(2) $\theta_0 > 90^\circ$ 일 때 즉, 젖기 어려운 표면을 가진 입자에서는 표면을 거칠게 할 경우 $\theta > \theta_0$ 가 되어 오히려 더 젖기 힘들게 되며 소수성이 증가하게 된다.

3. 재료 및 방법

3.1 실험장치 및 운전조건

본 실험에서 사용된 장치의 구조는 Fig. 2와 같으며 반응기의 구조 특성은 Table 1과 같다. 반응기 부피는 2.6 L이고, 자동온도 조절 장치를 사용하여 반응기 내의 온도를 일정하게($20 \pm 1^\circ \text{C}$), 수리학적 체류시간(HRT)은 6시간으로, 원판의 회전수는 10 rpm으로 유지되었다. Table 2와 같이 조성된 폐수를 COD 400 mg/L의 일정한 농도로 유입하였으며, 이때의 disk 단위면적당 유기물 부하량은 $12.7 \text{ gTCOD/m}^2 \cdot \text{day}$ 이었다. 부착미생물로는 부산광역시 소재의 수영 하수종말처리장의 반송슬러지를 3000 mg/L로 희석하여 사용하였다.



- 1. Reactor
- 2. DC moter
- 3. Peristaltic pump
- 4. Feed reservoir
- 5. Outlet

Fig. 2. A schematic diagram of a RBC reactor.

Table 1. Specifications of an experimental rotating biological contactor

Contents	Values
Number of stage per unit operation	2
Total disc number	10
Number of disc per stage	5
Disc diameter(cm)	15
Disc thickness(cm)	0.3
Submergence(%)	40

Table 2. Compositions of synthetic wastewater

(Basis : COD_{cr} = 2500mg/L)

Item	Values(g/L)
Glucose	4
Na ₂ HPO ₄	1
KCl	0.14
Urea	1
CaCl ₂	0.14
NaCl	0.3
MgSO ₄	0.1

3.2 표면거칠기와 젖음도 실험

PE (Polyethylene), PVC (Polyvinylchloride), Nylon6의 고분자 물질 담체를 60Aw, 120Aw 및 1000Aw 사포로 연마하여, 2.5 cm x 2.5 cm의 시료로 만들고 초음파 장치(Elma Transsonic TP690)로 세척하였다. 담체의 표면거칠기는 표면거칠기 측정장치(Mitutoyo surftest-501)를 이용하여, 장치의 철필(stylus)이 표면을 5 mm 그어 그 표면 윤곽(profile)을 확대하여 centre line average(CLA)를 얻고,

6회 측정하여 평균한 값으로 얻었다. 담체의 소수성을 나타내는 접촉각을 접촉각 측정장치(Erma contact angle meter G-1)로 담체 표면에 증류수를 떨어뜨려 측정하였으며, 각 입자마다 15회 측정하고 평균하였다.

3.3 부착실험

각각의 담체를 회전원판 반응기의 원판에 부착시키고 반송슬러지를 미생물로 사용하고 폐수를 일정한 량으로 유입시키면서 3, 7 및 24시간 동안의 미생물 부착 실험을 행하였다. 일정시간 후 떼어 낸 시편을 증류수가 20 mL 들어 있는 시험관에 넣고, 미생물 군집을 파쇄시키기 위해 vortex mixer(Vision KMC-1300V)에서 5분간 분리시킨다. 시험관에서 1 mL 취하여 8.5 % 생리식염수 9 mL를 넣음으로써 10배씩 10^5 , 10^7 및 10^9 배로 희석하여 페트리 디쉬에 1 mL를 넣고 plate counter agar(Difco)를 첨가하고 agar가 굳어지면 30°C 로 고정된 배양기에서 24시간 동안 배양 후 colony counter(Fisher Accu-lite Model 133-8002)로 배양된 미생물 군집수(CFU : colony forming unit)를 측정하였다.

4. 결과 및 고찰

4.1 표면거칠기와 접촉각의 관계

담체 접촉각에 대한 표면거칠기의 영향을 Fig. 3에 나타내었다. Nylon6는 거칠기가 $1.0 \mu\text{m}$ 일 때 초기 접촉각이 56° 인데 표면거칠기가 $10.3 \mu\text{m}$ 로 증가함에 따라 접촉각은 44° 로 감소되어 소수성이 감소되었다. 초기 표면거칠기가 $0.9 \mu\text{m}$ 이고 초기 접촉각이 86° 인 PE는 표면을 거칠게 하였을 때($10.6 \mu\text{m}$) 접촉각이 93° 으로 증가하여 소수성이 증가하였다. 약 71° 의 초기 접촉각을 가지는 PVC 표면을 거칠게 하는 것($1.0 \mu\text{m} \rightarrow 11.9 \mu\text{m}$)은 표면의 접촉각에 거의 영향을 주지 않았다.

4.2 미생물 부착에 대한 담체 젖음도와 표면거칠기의 영향

Fig. 4는 담체를 거칠게 하였을 때($1 \mu\text{m} \rightarrow 11 \mu\text{m}$) 접촉각의 변화와 미생물 부착과의 관계를 나타내었다. Nylon6는 접촉각이 56.4° 에서 44.3° 으로 감소함에 따라서 소수성이 감소하고 부착되는 미생물 수는 $9.6 \times 10^7 \text{CFU/}$

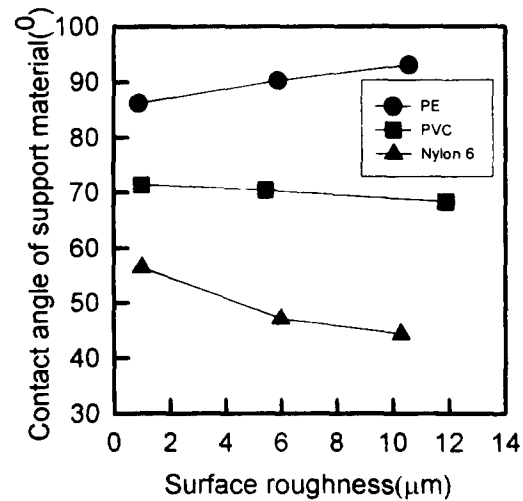


Fig. 3. Relationship between the surface roughness and the contact angle of support materials.

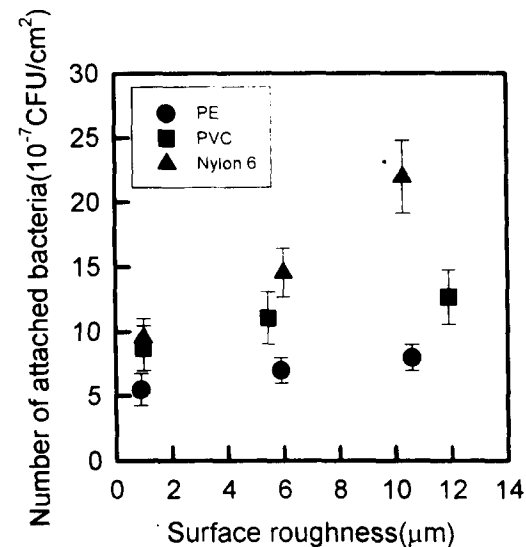


Fig. 4. Effect of contact angle of support materials on microbial attachment.

cm^2 에서 $21.9 \times 10^7 \text{CFU/cm}^2$ 로 부착이 2.3배 증가하였으며, PVC의 접촉각은 71.3° 에서 68.2° 로 감소되어, 소수성은 약간 감소되었다. 부착된 미생물 수는 $8.7 \times 10^7 \text{CFU/cm}^2$ 에서 $12.6 \times 10^7 \text{CFU/cm}^2$ 로 1.5배 증가하였다. PVC에서 미생물 부착 증가는 담체 소수성의 영향보다는 표면거칠기 효과와 거칠어진 표면 부착점

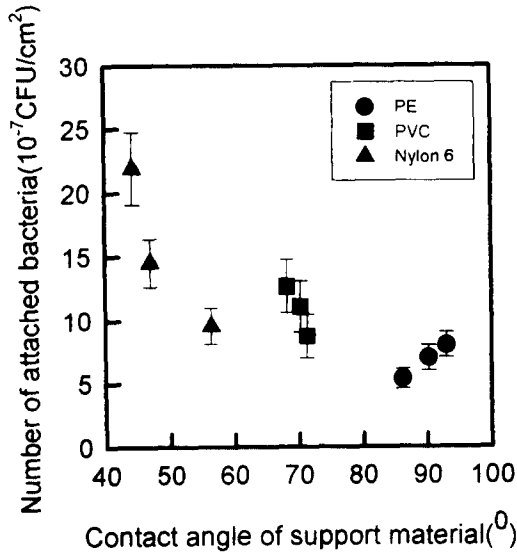


Fig. 5. Effect of surface roughness of support materials on microbial attachment.

의 증가 때문인 것으로 사료되었다. PE는 표면을 거칠게 함에 따라 접촉각이 86.2°에서 93°으로 증가하고 소수성이 증가하였다. 부착된 미생물 수는 5.4×10^7 CFU/cm²에서 8.0×10^7 CFU/cm²로 1.5배 정도 증가하였다. 접촉각이 증가됨으로써 소수성이 증가되어 미생물 부착이 감소될 것으로 사료되었으나, 부착점의 증가와 표면거칠기 효과가 이를 상쇄시켜서 부착이 약간 증가되는 것으로 사료되었다.

위의 결과로 보아 PE와 같은 소수성인 담체보다 Nylon6와 같이 친수성인 담체가 미생물 부착에 더 유리함을 알 수 있었다. 또한 담체 표면이 거칠어질수록 미생물이 잘 부착되는 것으로 나타났다.

거친 담체 표면에 미생물이 더 많이 부착하는 것은 표면 부착점이 더 많고 미세 표면거칠기는 부착된 미생물의 피난처가 되어 유체의 전단력으로부터 미생물을 보호하므로 미생물의 탈착속도가 감소된다(Characklis, 1990). SEM에 의한 관찰에서도 미생물의 초기 부착이 담체의 홈에서 시작한다는 것을 알 수 있었으므로 담체의 표면거칠기는 미생물 초기 부착에 많은 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

Fig. 5는 부착 3시간이 지난 후 각 담체에

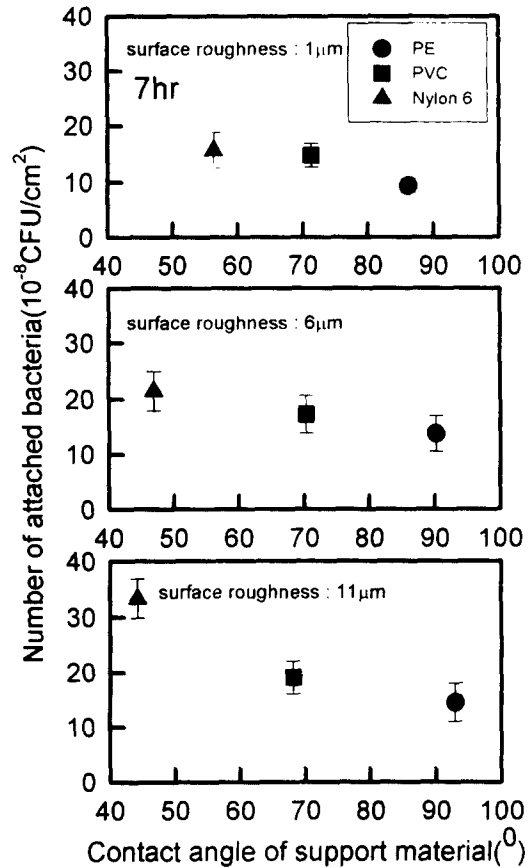


Fig. 6. Effect of surface roughness and contact angle of support materials on bacterial attachment.

부착된 미생물 수를 나타낸 것으로 Nylon6는 같은 실험조건에서 초기 표면거칠기가 1.0 μm에서 표면거칠기가 6.0 μm 및 10.3 μm로 증가됨에 따라 부착되는 미생물의 수는 9.6×10^7 CFU/cm²에서 21.9×10^7 CFU/cm²로 2.3배 정도 부착이 증가되었으며, PVC의 경우에는 8.7×10^7 CFU/cm²에서 12.6×10^7 CFU/cm²로 1.5배 정도의 증가를 보였다. PE는 5.4×10^7 CFU/cm²에서 8.0×10^7 CFU/cm²로 1.5배 정도로 증가하였다. 세 담체의 표면거칠기가 약 1.0 μm일 때 Nylon6는 PE에 비해 1.7배정도 부착량이 많았고, 표면거칠기가 10 μm 정도였을 때는 2.7배정도 많았다. Nylon6는 표면을 거칠게 할수록 부착되는 미생물 량이 증가하였고 PVC는 표면거칠기 효과

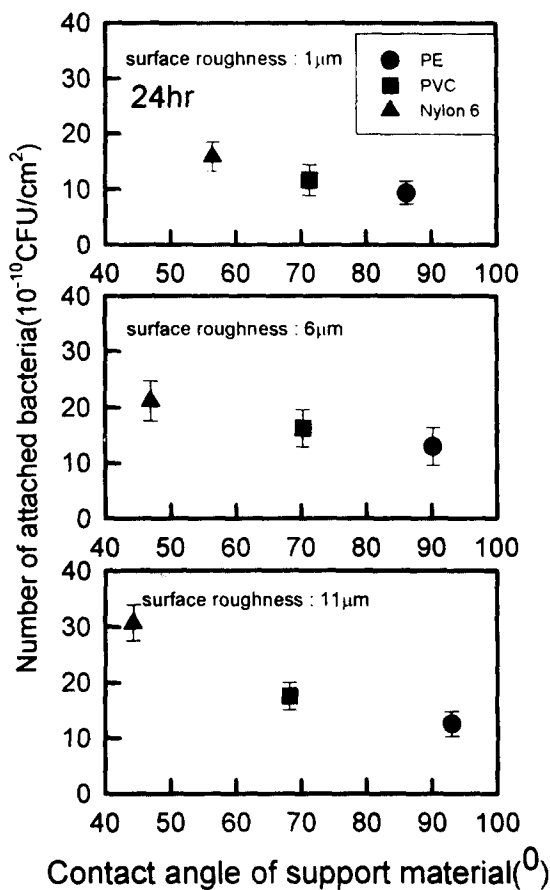


Fig. 7. Effect of surface roughness and contact angle of support materials on microbial attachment.

가 Nylon6 만큼 나타나지 않았으며, PE는 표면거칠기 효과가 적게 나타났는데, 이러한 현상은 표면거칠기뿐만 아니라 접촉각 변화에 의한 소수성 효과에 크게 기인되는 것으로 판단되었다.

Fig. 6은 7시간이 지난 후 각 재료의 표면거칠기와 접촉각에 따른 부착 미생물의 관계를 나타낸 그림이다. 7시간 후에서 미생물 부착량이 가장 많은 담체는 표면거칠기가 10.3 μm 인 Nylon6이며 부착량은 33.3 x 10⁸CFU/cm²였으며 가장 부착이 적게 된 담체는 표면거칠기가 0.9 μm였을 때의 PE였으며 부착량은 9.3 x 10⁸CFU/cm²였다.

부착시간이 3시간이고 세 담체의 표면거칠기가 약 1.0 μm일 때 Nylon6는 PE에 비해 1.

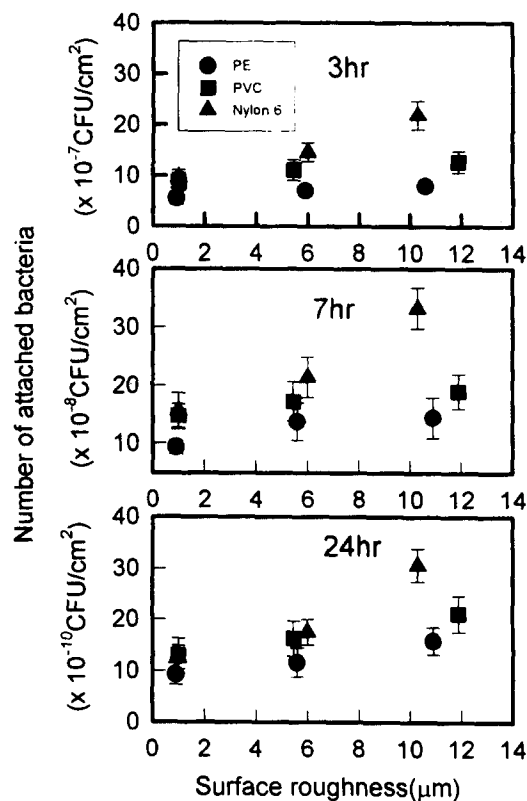


Fig. 8. Effect of surface roughness of support material and attachment time on microbial attachment.

7배 정도 부착량이 많았고, 표면거칠기가 11.0 μm 정도였을 때는 2.7배 정도 부착량이 많았다.

7시간에서 각 담체의 표면거칠기가 대략 1.0 μm였을 때 미생물이 최대로 부착된 Nylon6에서의 부착량과 PE에서의 부착량은 1.4배, 표면거칠기가 대략 11 μm였을 때 Nylon6에서의 부착량과 PE에서의 부착량 차이는 2.3배였다.

24시간(Fig. 7)에서도 표면거칠기가 대략 1.0 μm였을 때 Nylon6에 부착된 미생물 량과 PE에 부착된 미생물 량은 각각 15.4 x 10¹⁰CFU/cm²와 9.3 x 10¹⁰CFU/cm²로 1.7배 차이이며, 표면거칠기가 대략 11 μm였을 때는 Nylon6와 PE에 부착된 미생물 량은 각각 13.7 x 10¹⁰CFU/cm²와 33.3 x 10¹⁰CFU/cm²로 2.4배 차이났다.

Fig. 8에 시간 변화에 따른 각 재료의 부착 미생물 수를 나타내었는데 3시간, 7시간 및

24시간의 부착시간에 대해 담체의 표면거칠기가 대략 1.0 μm 였을 때 담체에 따른 미생물의 부착량 차이는 1.4 ~ 1.7배 정도로 나타났고, 담체의 표면거칠기가 대략 11.0 μm 였을 때는 2.3 ~ 2.7배 정도 차이 나기 때문에 시간이 지남에 따라서 미생물 부착은 선형적으로 증가하는 경향을 보여주었다.

5. 결 론

담체 표면의 소수성과 표면거칠기는 미생물의 초기부착에 중요한 영향을 주는 것으로 나타났다. 담체의 표면거칠기 변화는 표면의 소수성을 변화시키며 친수성인 담체(Nylon6)를 거칠게 하면 친수성이 증가되고 초기 소수성이 높은 담체(PE)를 거칠게 하면 소수성이 증가되었다. PE와 같이 접촉각이 높아 상대적으로 소수성인 물질보다 Nylon6와 같이 접촉각이 낮아 친수성인 물질에서 부착되는 미생물량이 많았으며 친수성인 물질을 거칠게 하면 친수성이 증가되고 표면거칠기 효과가 덧붙여져 미생물의 부착이 증가되나 소수성인 물질을 거칠게 하면 접촉각이 증가되어져 소수성이 증가하여 미생물 부착을 감소시킬 수 있는 요인이 되나, 표면거칠기 효과가 이를 상쇄시켜서 부착이 조금 증가되는 것으로 판단되었다. 소수성이 가장 낮고 표면거칠기(10.3 μm)가 거친 Nylon6에서 미생물 부착이 최대로 되었다. 최대 부착량과 최저 부착량은 부착시간(3시간, 7시간 및 24시간)에 관계없이 3.3 ~ 3.6배의 차이를 보여주었다.

기 호 설 명

Y_{LV} : 포화증기와 평형에 있는 액체의 표면장력

Y_{SV} : 액체의 포화증기와 평형에 있는 고체의 표면장력

Y_{SL} : 고체와 액체사이의 계면장력

θ : 겔보기 접촉각(Wenzel 접촉각)

θ_0 : 참된(Intrinsic) 접촉각

감사의 글

본 연구는 부산대학교 환경기술·산업개발 연구센터와 삼환기연(주) 및 영화금속(주)의 지원경비에 의하여 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 정재춘, 1991, 미생물 고정화법에 의한 배수처리, 동화기술, 30pp.
- 국윤환, 이정매, 조형채, 1993, 콜로이드와 계면활성제, 대광서림, 70pp.
- Allison, D.g., and I.W. Sutherland, 1987, The role of exopolysacchrides in adhesion of freshwater bacteria, *J. Gen. Microbiolgy*, 133, 1319~1327.
- Fletcher, M. and G.I. Loeb, 1976, The influence of substratum surfaces proerties on the attachment of a marine bacterium, *J. of Collid Interface Sci.*, 3, 459~469.
- Hermesse, M.P., C. Derpee, Y. Bartholome and P. Rouxhet, 1987, Immobilization of *cetobactor acetby* adhesion, *Can. J. Microbiol.*, 34, 638~644.
- Ho, C.S., 1986, An understanding of the forces in the adhesion of micro-organisms to surfaces, *Process Biochemistry*, October, 148~152.
- Kida, K., Y. Morimura, Y. Sonada and T. Yanoh, 1992, The importance of the surface charge on support media for microbial adhesion, *J. of Ferment. Bioeng.*, 73(4), 323~325.
- Marshall, K.C., R. Stout and T. Mitchell, 1971, Mechanism fo the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces, *J. Gen. Microbiol.*, 68, 337~348.
- Pedersen, K, 1990, Biofilm development on stainless steal and PVC surfaces in drinking water, *Wat. Res.*, 24(2), 239~244.
- Pringle, J.H., and M., Fletcher, 1983, Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces, *Appl. Environ. Micorbiol.*, 45(3), 811~817.
- Pringle, J.H., and M. Fletcher, 1986, Influence of substratum and adsorbed macromolecules on bacterial attachment to surfaces., *Appl. Environ.*

- Micorbiol., 51(6), 1321-1325.
- Mozes, N., and P.G. Rouxhet, 1987, Methods for measuring hydrophobicity of microorganisms, J. of Microbiological Methods, 6, 99-112.
- van der Mei, H.C., A.H. Weerkamp, and H.J. Busscher, A comparison of various methods to determine hydrophobic properties of streptococcal cell surfaces, J. of Microbiological Methods, 6, 277-287.
- Chaudhury, M.K., and G.K. Whitesides, 1992, How to make water run uphill, Science, 256, 1539-1541.
- Characklis, W.G. and K.C. Marshall, 1990, Biofilms, John Wiley & Sons, 219-224pp.
- Wu, S., 1982, Polymer Interface and Adhesion, Marcel Dekker, INC., New York. 12-17pp.