

Aspergillus niger를 고정화한 Alginate Bead에 의한 납 흡착

방 병 호*

서울보건대학 식품영양과 및 보건과학연구소

(2001년 3월 14일 접수, 2001년 6월 27일 수리)

알긴산은 일반적으로 미생물의 고정화에 널리 사용되는 biopolymer이다. 본 연구는 구연산 생산균인 *Aspergillus niger*를 calcium alginate로 고정화한 beads로 납의 흡착 특성을 조사하였다. *A. niger* beads는 CaCl₂를 사용하여 주사기로 제조하였으며 이 beads를 납계저에 이용하였다. 그 결과는 다음과 같다. 즉, *A. niger*를 구연산 생성배지에서 1일에서 7일까지 배양한 후 제조한 beads로 납흡착량을 측정한 결과는 3일간 배양된 곰팡이 beads에서 가장 높았다. 발아되지 않은 beads와 3일간 배양된 beads로 시간에 따른 납흡착량을 정량한 결과 30분까지는 그 흡착량이 동일하게 급격히 증가하였으며 그 후 발아되지 않은 beads는 더 이상 흡착이 일어나지 않았으나 3일간 배양된 곰팡이 beads는 시간이 지남에 따라 천천히 계속 흡착하여 1시간 후에는 480 ppm까지 흡착하였다. 납흡착시 최적 pH와 온도는 각각 6과 35°C로 나타났다. 납용액 50 ml (500 ppm)이 든 250 ml 삼각플라스크에 beads 50-100개가 최적이었으며 그 이상에서는 납흡착율이 감소하였다. 중금속에 대한 흡착율은 납 > 구리 > 카드뮴 순이었으며 0.1 M CaCl₂, 0.1 M NaOH 및 0.1 M KOH의 전처리의 효과는 없었으며 0.1 M HCl로 곰팡이 beads의 납탈착하여 beads를 재사용이 가능하였다.

Key words: 알긴산 bead, 납흡착, *Aspergillus niger*

서 론

공업의 발달로 인체에 유해한 중금속에 의한 환경오염이 심각해지고 있다. 중금속 특히, 납, 수은, 카드뮴 등과 같은 이들 중금속들은 수계에 방류되어 생태계를 파괴하고 여러 경로를 통해 인체에 축적되며 장기간 신체에 잔류하면서 치명적인 질병의 원인이 되고 있다.^{1,3)} 이러한 중금속을 처리하는 방법에는 산화, 환원, 침전, 여과, 수분증발, 이온교환수지 이용 등의 물리화학적 방법이 이용되고 있으나 고비용과 저효율의 문제가 있는 반면, 미생물을 이용하는 방법은 흡착능이 높고 선택적인 중금속 흡착이 가능하고 가격이 저렴하다는 장점이 있어서 최근 미생물을 이용한 다양한 방법이 이용되고 있다.^{4,6)}

미생물을 이용하여 중금속을 제거하는 방법에는 중금속이 미생물 세포벽에 결합하거나 세포의 exopolymer에 결합하는 흡착법과 metallothionein, sideropore 등이 관여하는 대사에 의하여 중금속을 제거하는 방법이 있다.^{1,7,8)} 새로운 흡착제로서 미생물은 저렴한 가격으로 다량 얻을 수 있고 미생물을 이용하여 수용액으로부터 중금속을 분리시 중금속의 흡수와 탈착이 비교적 빠른 시간 내에 이루어지며 중금속의 선택적 분리가 용이하므로 기존의 방법보다 더 효율적일 수 있다. 그러나 이러한 생흡착제를 이용하여 큰 규모로 중금속을 처리하고자 할 경우 중금속의 제거가 신속하여야 하며 용액으로부터 생흡착제의 분리 회수가 쉬워야 하고 생흡착제의 재사용이 가능하여야 한다. 이를 위하여 생흡착제는 고정화되어야 한다.

생흡착제로 이용되는 미생물은 주로 효모, 세균, 조류 및 곰

팡이로 다양하며^{9,10)} 여러 가지 고정화 방법 중 가장 보편적인 것은 미생물 균체를 beads에 고정화하는 것이다.¹¹⁻¹³⁾ 본 연구에서는 sodium alginate로 *Aspergillus niger*를 고정화하여 구연산을 산업적으로 생산하고 있으며 부산물로 다량 생산되는 이 beads를 현재까지 알려진 가장 독성이 강한 3대 중금속 중 납 흡착에 활용하고자 하였으며 고정화된 *A. niger* beads의 납 흡착 특성을 고찰하였다.

재료 및 방법

Aspergillus niger의 포자의 준비. 건조된 엇기름 찌꺼기 20 g을 100 ml Erlenmeyer flask에 넣은 후 수분을 적당히 조절하고 솜마개를 한 후 121°C에서 15분간 살균하고 식힌 다음 감자 사면배지에 보관 중인 *A. niger* 포자를 접종하고 30°C에서 약 1주간 배양하여 포자를 다량 생성시켰다. 여기에 살균증류수로 현탁하여 포자를 여지로 여과하고 3,000 rpm에서 원심분리하여 포자를 모아 다음 고정화 실험에 사용하였다.

미생물과 배지. 본 실험에 사용한 구연산 생산균인 *A. niger* KCTC 6144는 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양받았으며 감자 사면배지에 1주일 간격으로 계대배양하여 본 실험에 사용하였다. 그리고 beads에 고정화된 포자의 발아 생육 배지로는 구연산 생성배지인 12% sucrose, 0.5% NH₄NO₃, 0.1% KH₂PO₄, 및 0.025% MgSO₄를 사용하였다.

Alginate beads의 제조. Fig. 1과 같이 beads제조기를 만들고 이 제조기를 이용하여 beads를 2~2.5 mm크기로 제조하였으며 고정화 담체로는 sodium alginate(SHOWA Chemical Co. LTD) 1g을 250 ml 비이커의 90 ml 살균증류수에 녹여 미리 준비한 포자현탁액 10 ml과 혼합하여 magnetic bar로 회전시

*연락처

Phone: 82-31-740-7132, Fax: 82-31-746-7266

E-mail: gunnerbh@shjc.ac.kr

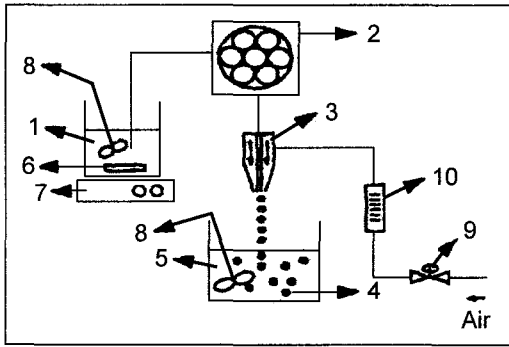


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of the beads using capillary extrusion method. 1. alginate solution containing spores of *A. niger*, 2. peristaltic pump, 3. capillary nozzle, 4. beads, 5. 1%-CaCl₂ solution, 6. magnetic bar, 7. magnetic stirrer, 8. magnetic bar, 9. needle valve, 10. flow meter.

키면서 또한 잘 회전하고 있는 250 ml 비이커의 1% CaCl₂ 경화용액에 1% sodium alginate-spore 현탁용액 (final conc. of spore 10⁷~10⁹/ml)을 방울방울 떨어뜨려 완전 구형의 beads를 만들었다. Beads의 크기는 분사기의 직경과 외부공기 사출기의 공기유속에 의해 좌우된다. 바깥주사바늘(12 gauge)로부터 압축산소의 유속을 조절하여 beads의 크기를 조절하였다. 그리고 내부주사바늘(15 gauge)은 1% sodium alginate-spore 현탁용액이 담긴 비이커와 호스로 연결되어 있으며 peristaltic pump로 용액의 양을 조절하였다. 제조된 beads는 1% CaCl₂에서 약 1시간 정도 숙성시킨 후 증류수로 3회 정도 씻고 다시 이 beads를 경화용액에 담아 5°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

납흡착 실험 및 정량. 사용된 중금속은 덕산약품(주) 1급시약인 lead nitrate, cupric nitrate 및 cadmium nitrate를 사용하여 증류수에 필요한 농도로 조제하여 사용하였다. 납흡착은 250 ml Erlenmeyer flask에 500 ppm 농도의 납용액 50 ml를 분주하여 3일간 배양한 곰팡이 고정화 beads 100개를 넣고 30°C에서 100 rpm/min 속도로 부드럽게 40분간 진탕하였다. 납의 정량은 50 ml 납용액 중 1 ml를 취하여 polarography(EG&G PAR Model 394 Electrochemical Trace Analyzer, EG&G PAR Model 303A SMDE, EG&G PAR Model 305 stirrer, EG&G Princeton Technology, USA)로 정량하였으며¹⁴⁾ 납의 흡착량은 용액으로부터 남아있는 납을 정량하여 흡착량으로 계산하였다. 즉, 데이터 처리는 EG&G PAR 프로그램을 사용하여 -0.3V~0.6V까지 주사하여 -0.45V 부근에서 납의 peak를 얻었다(EG&G PAR, Application Index). 표준곡선은 셀에 10 ml의 0.1 M 아세테이트 완충용액 (pH 4.5)을 넣고 마이크로 피펫으로 125, 250, 500 ppm의 농도의 표준용액을 100 µl 첨가한 뒤 EG&G PAR MODEL 305 stirrer로 교반하여 잘 혼합한 후 5초동안 안정시키고 분석하여 작성하였다. 공시료는 증류수로 보정하였으며 필요한 경우 이 표준용액들을 희석하여 낮은 농도범위를 측정하는데 사용하였다. 이외의 Cu와 Cd도 0.1 M 아세테이트 완충용액 (pH 4.5)을 사용하여 위와 똑 같은 방법으로 분석하였다.

납이온의 비흡착량(specific uptake) 계산방법은 아래와 같이 하였다. 즉,

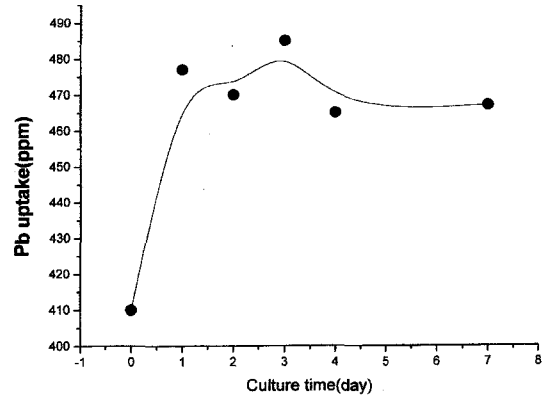


Fig. 2. Effect of culture time on lead uptake. The biomass of immobilized *A. niger* beads was prepared with citric acid medium (12% sucrose, 0.5% NH₄NO₃, 0.1% KH₂PO₄ and 0.025% MgSO₄). 100 beads in 50 ml lead solution of 250 ml Erlenmeyer flask was used, and initial concentration of lead solution and adsorption time of lead were 500 mg/l, and 40 mins, respectively.

$$q = \frac{V(C_i - C_f)}{M}$$

여기서 q(납 비흡착량)는 상기 공식으로부터 산출하였다. 즉, 용액에 존재하는 초기농도(C_i)와 최종농도(C_f)로부터 구하였다. V는 250 ml Erlenmeyer flask에 있는 용액의 양, 그리고 M은 고정화 *A. niger* beads의 건조무게이다.

결과 및 고찰

***A. niger* 고정화 beads의 배양일수의 영향.** *A. niger* 고정화 beads를 구연산 발효배지에 1일에서 7일까지 1일간격으로 진탕배양(150 rpm/min)한 후 각 beads를 여과하고 증류수로 2회 정도 씻은 후 재료 및 방법에서 설명한 납흡착 실험을 한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 균체가 자라지 않은 beads는 반응기의 체류시간 40분 후 약 400 ppm 정도 흡착을 하였으며 1일, 2일 및 3일 정도 포자가 발아하여 자란 beads는 460~485 ppm 정도 흡착하였다. 100개의 beads를 사용하여 곰팡이 균사가 자라지 못한 beads에 비해 곰팡이 균사가 자란 beads가 납의 흡착을 약 60~80 ppm정도 더 흡착한 결과가 되었다.

곰팡이 균사의 생육상태를 관찰하였는데(여기서는 사진은 제시하지 않았음), 2일 배양 후 곰팡이 균사가 마치 beads의 공으로부터 곰팡이 균사가 심어진 것처럼 내부로부터 밖으로 많이 뻗어 나와 있으며 이 때 beads의 크기는 4 mm 정도로 커졌으며 4일 후에는 균사의 정도가 더 길어졌어 6.5~8 mm로 커졌다. 시간이 경과함에 따라 beads에서 계속 균사는 자라났지만 진탕으로 균사가 끊어지기 시작하여 6일 이후에는 배양액에 끊어진 균사가 좁쌀 모양으로 엉기기 시작하였다.

흡착시간의 영향. 3일간 구연산 생성배지에서 자란 beads와 발아시키지 않은 beads와 시간별 납흡착량을 비교하여 보았다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 흡착체류시간 30분까지는 350 ppm으로 흡착속도가 거의 같았으나 그 이후부터는 곰팡이가

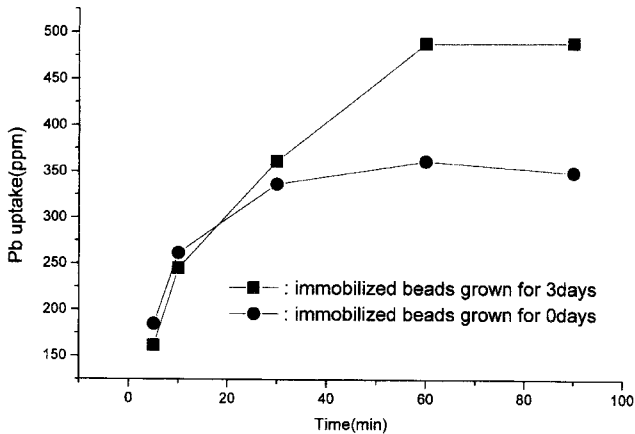


Fig. 3. Effect of time on Pb uptake. The biomass of immobilized *A. niger* beads was prepared with citric acid medium (12% sucrose, 0.5% NH_4NO_3 , 0.1% KH_2PO_4 and 0.025% MgSO_4) for 3 days on shaking (150 rpm/min). 100 beads in 50 ml lead solution of 250 ml Erlenmeyer flask was used, and initial concentration of lead solution and adsorption time of lead were 500 mg/l, and 40 mins, respectively.

자라지 않은 beads는 더 이상 흡착이 일어나지 않고 평형상태에 도달하였으나 곰팡이가 자란 beads는 흡착이 계속되어 약 1시간 후에는 480 ppm 정도 납을 흡착하고 평형상태에 도달하였다.

A. niger 포자를 alginate로 고정화 후 beads를 경화용액에 장기간 보관할수록 납의 흡착량은 감소하였는데(여기서는 data를 제시하지 않음), 곰팡이 포자를 고정화한 beads를 경화용액에 약 15일간 보관 후 구연산 생성배지에서 3일간 발효 후 이 beads로 납의 흡착량을 측정된 결과, 흡착체류시간 약 30분만에 150 ppm 흡수하고 곰팡이가 자라지 않은 beads는 더 이상 흡착이 일어나지 않았으며 곰팡이가 자란 beads는 흡착이 계속되었으나 3시간 지난 후 최대 양인 250 ppm 정도로 납을 흡착하였다. 곰팡이 포자를 alginate로 고정하자마자 바로 구연산 발효배지에서 3일간 발효 후 생성된 beads로 체류시간 30분에서 납의 흡착량과 비교해보면 150 ppm과 350 ppm으로 200 ppm 정도의 차가 발생한다. 이는 경화용액에 장기간 보관으로 beads 내의 납을 흡착할 수 있는 carboxyl기의 구조적 변화로 납의 흡착량이 감소하였다고 사료된다. 결론적으로 말해서 alginate beads로 납의 흡착 실험시 반드시 제조 후 곧장 사용하는 것이 바람직하다.

곰팡이가 자라지 않은 beads에 의하여 흡착된 납의 양은 곰팡이가 자란 beads에 의하여 흡착된 양의 70%에 달하고 있다. 두 값의 차이 즉, 곰팡이 고정화 beads에 의하여 흡착된 납의 양의 30% 정도는 beads에 고정화되어 있는 곰팡이 균사에 의하여 흡착된 납의 양으로 간주될 수 있다.

곰팡이를 alginate로 고정화하여 납 흡착에 관한 논문이 없어 직접 흡착량을 비교할 수는 없으나 식품공업에 많이 이용되는 *Saccharomyces cerevisiae*를 alginate로 고정화한 beads로부터의 납흡수량¹¹⁾과 비교해 보면 alginate에 고정화되어 있는 효모에 의한 순수한 흡착된 양은 50% 정도 되는 것으로 나타났는데, 본 연구의 30%보다 약간 높았다. 이는 alginate에 고정화된 효모의 농도는 beads 내부에서 출아로 증식할 경우 자유배양의

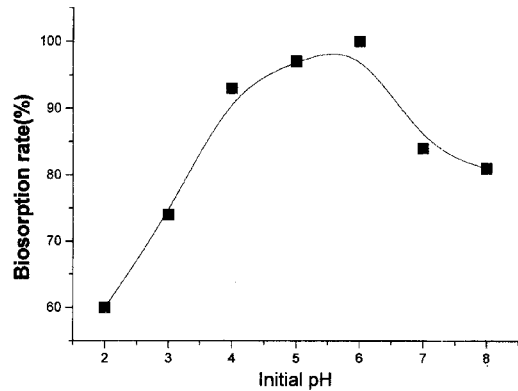


Fig. 4. Effect of pH on Pb uptake. Initial pH of lead solution was adjusted to pH 2-8. The other condition was the same as Fig. 3.

경우와 비교하여 70배나 증가하였다고 한다. 그러나 곰팡이의 경우는 beads 내의 균사보다 beads 외부의 균사가 훨씬 많으나, 균사가 어느 정도 자라면 진탕에 의해 끊어져 균체밀도를 더 이상 올리기가 어려운 형편이기 때문이다. 만약 beads 내로 균사의 밀도를 높일 수만 있다면 납의 흡착량도 증가시킬 수 있으리라 생각한다.

pH와 온도의 영향. 중금속 흡착에 있어서 pH는 균체의 흡착부위와 금속이온간의 물리, 화학적인 상호관계에 영향을 끼치기 때문에 각 금속별 최적 흡착 pH는 다양하게 나타날 수 있다. 구연산 발효배지에서 3일간 자란 *A. niger* beads 100개를 pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9로 조정된 납용액 50 ml(초기 납 농도를 500 ppm)에 넣고 40분 동안 각 pH별로 흡착시키고 납에 대한 흡착능을 조사한 결과(Fig. 4), pH 4.0에서부터 흡착량이 증가하여 pH 6.0에서 최고 흡착을 나타냈고 pH 7.0부터 흡착량이 줄어들었으나 pH 7.0부터는 경미하게 납의 침전이 일어나기 시작하여 pH 8.0에서는 그 정도가 좀더 심하였다. 따라서 beads의 흡착만에 의한 적정 초기 pH는 4-7로 그 이상의 pH에서는 사실 실험이 불가능할 정도로 침전이 일어났다.

Kuyucak과 Volesky¹⁵⁾는 수용액 내의 수소이온이 흡착제의 결합부위에 대하여 중금속이온과 경쟁관계이고 중금속이온의 강도를 변화시켜 흡착제의 활성에 영향을 끼치고 또한 수소이온은 중금속이온에 비하여 흡착제의 결합부위와 친화력이 크기 때문에 중금속을 탈착시키는 역할을 하여 중금속 흡착을 저해한다고 하였다. *Zoogloea ramigera*¹⁶⁾ 경우 세포표면의 carboxylate, phosphate, amino group과 polymer가 음전하를 띠다가 pH가 등전점 이하로 낮아지면 양전하를 띠게 되어 양이온인 중금속과 결합이 어려워 낮은 pH에서는 흡착량이 줄어드는 것으로 관찰되었다. 본 결과에서도 beads의 음이온인 carboxyl기가 산성하에서는 비이온형으로 변화하여 양이온인 납의 흡착이 감소하는 것으로 사료된다. 또한 beads에 고정화된 곰팡이균사에 납흡착도 pH의 변화에 따라 상당히 영향을 받지 않았나 생각된다. Kapoor와 Viraraghavan¹⁷⁾도 *Aspergillus niger* 균체에 의한 납흡착이 pH 6.0에서 최고의 흡착을 나타냈다고 하였으며 본 실험의 결과와 잘 일치하고 있다.

납흡착에 있어서 온도의 영향을 살펴본 결과는 Fig. 5에서와 같이 곰팡이의 최적 생리온도인 35°C에서 최고의 납흡착율을

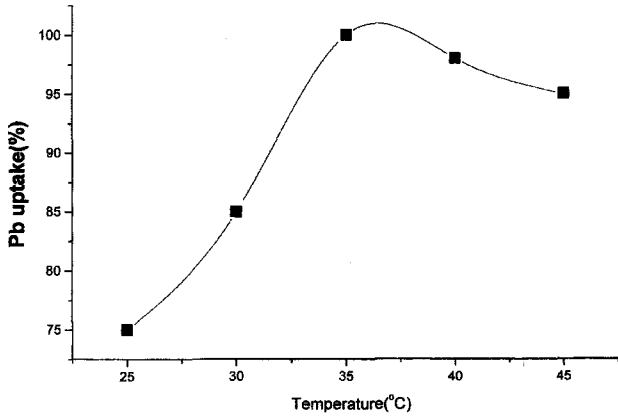


Fig. 5. Effect of temperature on Pb uptake. Initial temperature of lead solution was adjusted to 25°C~45°C. The other condition was the same as Fig. 3.

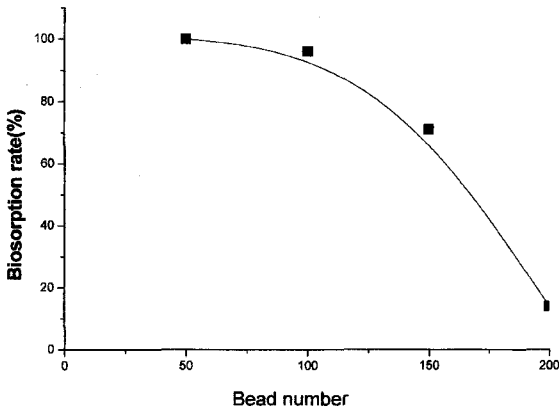


Fig. 6. Effect of bead number on Pb uptake. Initial bead number of lead solution was adjusted to each 50~200. The other condition was the same as Fig. 3.

나타내었으며 이 온도보다 5°C가 낮은 곳에서는 납흡착율이 15% 정도 떨어졌으나 35°C보다 10°C나 높은 온도에서는 그 흡착율은 거의 5%정도 감소하여 열 안정성을 나타냈다.

Beads수의 영향. 250 ml Erlenmeyer flask에 구연산 생성배지 50 ml를 넣고 살균 후 beads 100개씩 넣어 3일간 배양한 후 이 beads를 증류수로 2회 정도 씻고 beads수를 50, 100, 150 및 200개로 조합하여 재료 및 방법에 따라 납의 흡착정도를 정량하여 흡착율로 나타내었다.

일정한 용적에서 beads의 수에 따라 내부환경은 아주 달라진다. 즉, 일정한 납용액에 존재하는 용존산소와 납이 균체 및 beads로 이동하는데 방해되는 저항이 beads의 수에 따라 차이가 있기 때문에 납 흡착 실험시 beads 개수는 상당히 중요하다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 beads 150개에서는 50 및 100개에서의 납흡착율에 비해 70% 정도 흡착하였으며 beads 200개에서는 그 흡착율의 20%로 뚝 떨어졌다.

Cheong 등¹⁸⁾은 구연산 발효배지로 똑같은 용량에서 beads 개수를 달리하여 배양한 결과 beads수가 적정량을 초과하면 beads의 크기가 점점 작아지며 구연산 생성 또한 크게 감소하였다고 보고하였다. 고정화 beads로 발효나 중금속 흡착시 beads의 개수는 중요한 하나의 인자임에 틀림없다.

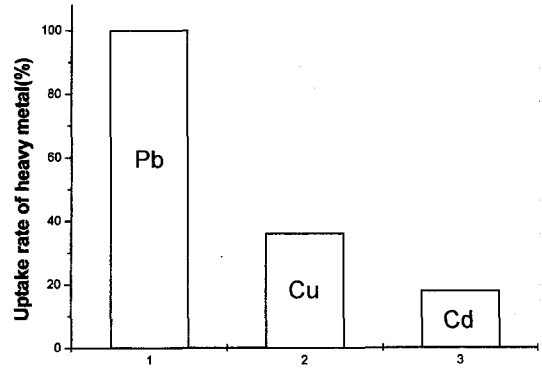


Fig. 7. Selectivity of heavy metal. Each initial solution Pb, Cu and Cd was 750 mg/l. The other condition was the same as Fig. 3.

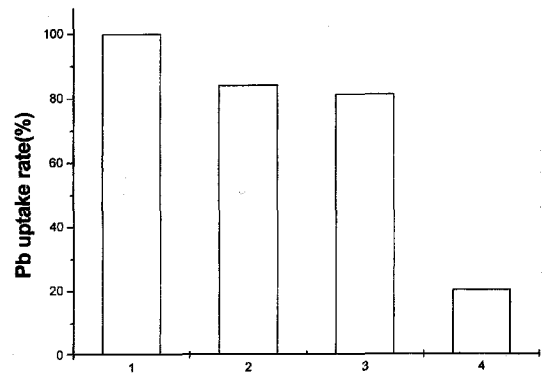


Fig. 8. Effect of pretreatment of CaCl₂, NaOH, KOH. (1. None, 2. 0.1 M CaCl₂, 3. 0.1 M NaOH, 4. 0.1 M KOH) The immobilized *A. niger* beads was pretreated with 0.1 M CaCl₂, 0.1 M NaOH and 0.1 M KOH for 1 hour and the beads were washed several times with distilled water. The other condition was the same as Fig. 3.

A. niger beads에 의한 중금속의 흡착. Pb, Cu 및 Cd의 초기농도를 750 ppm/ml로 조정하여 재료 및 방법에서의 납흡착 실험과 동일한 조건에서 수행한 결과 Fig. 7에서와 같이 *A. niger*를 sodium alginate로 고정화한 beads는 Pb에 대한 친화력이 가장 좋았으며 다음으로 Cu, Cd 순이었다. Ahn과 Suh¹⁹⁾의 *Saccharomyces cerevisiae* 균체에 의한 중금속의 흡착능력 순서도 본 연구의 결과와 일치하였으며 보통 효모생균체에 의한 중금속의 친화력은 Pb와 Cu순으로 흡수가 잘되는 것으로 나타났다.¹²⁾ 그리고 *A. niger*균체¹⁷⁾에 의한 Pb, Cd 및 Ni의 흡착실험에서 pH에 따라 약간 다르게 나타났으나 pH 4, 5, 6에서는 Pb, Cd순으로 흡착이 잘되었다고 하였다. 결론적으로 효모나 곰팡이 균체에 의한 중금속 흡착실험에서 본 실험에서와 마찬가지로 Pb가 가장 잘 흡착되는 것으로 나타났다.

CaCl₂, KOH 및 NaOH 전처리에 따른 Pb흡착. Pb이온의 흡착성능을 높이기 위하여 흡착실험 전에 3일간 배양된 *A. niger* beads를 0.1 M CaCl₂, 0.1 M KOH 및 0.1 M NaOH 용액에 각각 담구어 1시간 동안 천천히 교반하면서 전처리하였다. 전처리 후 증류수로 여러번 씻고 탈수한 후 Pb 흡착 실험을 수행하였다.

Fig. 8을 보면, 비처리구에 비해 모든 처리구가 전처리의 효과가 없는 것으로 나타났는데, 0.1 M CaCl₂와 0.1 M NaOH

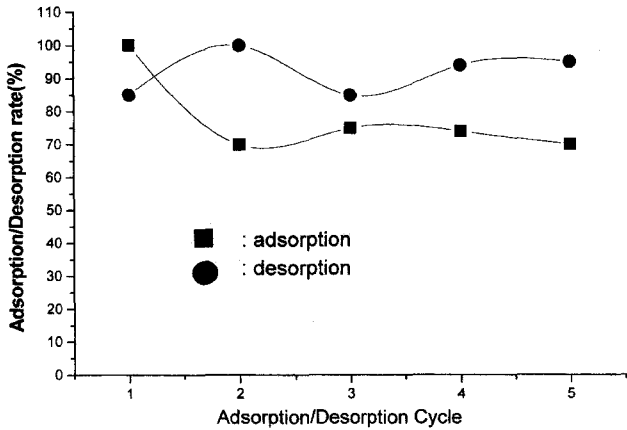


Fig. 9. Adsorption and desorption of lead from immobilized biomass of *A. niger*. The desorption of Pb from the immobilized *A. niger* beads was used with 0.1 M HCl for 30 min and the beads was washed several times with distilled water. The other condition was the same as Fig. 3.

처리구는 비처리구에 비해 납 흡착율을 약 20% 정도 저해된 80%였으나 0.1 M KOH처리구는 비처리구에 비해 Pb 흡착율이 80%나 떨어진 20%로 나타났다.

Kapoor와 Viraraghavan¹⁷⁾은 *A. niger* 균사체를 0.1 M NaOH 처리시 Cd와 Ni의 흡착은 거의 촉진 시키지 못하였으나 Pb의 흡착은 상당히 촉진시킨 결과를 얻었다는 결과와 본 연구와는 서로 상반된 결과인데, 본 연구에서는 alginate의 carboxyl기가 Ca, Na 및 K와 같은 양이온이 Pb의 흡착을 방해한 결과로 사료된다. Fig. 3에서 이미 검토한 바와 같이 alginate beads에서 70% 그리고 beads에 고정화된 곰팡이 균사가 약 30% 정도 Pb를 흡착한 것으로 보아 0.1 M NaOH의 전처리로 40분 정도에서는 alginate beads가 우선적으로 Pb를 흡착함으로써 효과가 떨어졌으나 더 흡착시간을 연장하면 촉진되는 결과는 없다하더라도 흡착할 수 있는 양이 증가하리라는 가정을 할 수 있다.

A. niger 고정화 beads의 재사용. 흡착에 사용된 beads를 재사용하기 위하여 탈착과정이 필요하다. 또한 실제공정에 적용하려면 탈착과정의 시간도 짧은 것이 유리하다. 미생물에 흡착된 중금속을 탈착하는 데는 HNO₃, H₂SO₄ 및 HCl 등이 사용된다. 이중 질산과 황산은 질소와 황 성분이 미생물에 큰 영향을 미치므로 HCl이 비교적 선호된다. 따라서 3일간 배양된 곰팡이 beads 100개를 0.1 M HCl로 30분간 전처리후 증류수로 수회 씻고 탈수후 납흡착 실험을 재료 및 방법에서 설명한 똑같은 방법으로 5회 반복한 후 흡 탈착 곡선을 Fig. 9에 나타내었다. 탈착시 가장 많이 사용하는 염산의 농도인 0.1 M HCl로 30분간 탈착한 결과 그림에서 처럼 약 80%정도 탈착되었으며 20% 정도는 그냥 beads 내부에 잔존하였다. 이 beads를 또 2차 흡탈착을 반복한 결과 1차에 비해 흡착율이 70% 정도로 10%정도 떨어졌다. 탈착은 2차로 흡착된 그 양이 모두 탈착되었다. 그 이후 3차, 4차, 5차도 2차와 마찬가지로 흡탈착율이 거의 일정하였다. 이렇게 5회 반복 후 곰팡이 beads를 눈으로 살펴본 외관은 전혀 문제가 없어 보였으며 Kim과 Park¹¹⁾은 효모를 alginate로 고정화한 capsule을 30회 반복한 후 캡슐

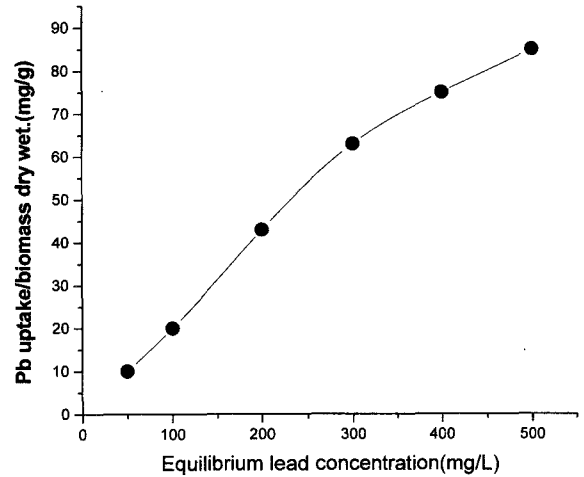


Fig. 10. Lead biosorption isotherm for immobilized biomass of *A. niger*. The other condition was the same as Fig. 3 except initial concentration of Pb.

이 약간씩 찌그러 들기 시작하였으나 50회까지도 흡탈착능에는 아무런 변화가 없었다고 하였다. 본 연구에서도 6회 이상은 사용해 보지 못했지만 Kim과 Park의 결과와 유사하리라 생각되며 캡슐의 강도와 beads 내의 곰팡이 균사의 변화 등에 관한 형태학적 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각한다.

초기 납농도의 영향. 납의 초기농도 50~500 mg/l에 곰팡이 beads 100개를 넣고 40분간 흡착시킨 후의 납의 흡착량이 Fig. 10에 나타나 있다. 그리고 beads의 건조량은 105°C 오븐에서 유리수분이 없을 때까지 건조하여 g단위로 납의 흡착량을 측정하였으며 일정시간(40분) 동안 흡착된 Pb의 양을 구하였다. Fig. 10에서와 같이 bead g당 납흡착량은 초기 납의 농도가 높을수록 비례하였으며 이는 실제 공정에 있어서는 *A. niger*를 alginate beads를 사용하여 짧은 시간 내에 많은 양의 납을 제거할 수 있을 것으로 판단된다.

*Saccharomyces cerevisiae*를 alginate로 캡슐고정화하여 납의 흡착량을 조사한 실험과 비교해 보면 초기 납의 농도가 낮은 100 ppm에서는 *Saccharomyces cerevisiae* 캡슐이 g당 50 ppm으로 본 연구의 20 ppm 결과보다 높았으나 초기농도 500 ppm에서는 거의 같은 80 ppm 정도로 흡착을 하였다.¹³⁾ 이 결과는 효모캡슐보다 곰팡이 beads가 납과의 친화력이 다소 떨어진다는 것을 의미한다. Kim과 Park¹¹⁾의 연구 결과와 비교해 보면 100 ppm으로 낮은 농도에서는 비슷한 결과로 나타났으나 고농도인 500 ppm에서는 효모캡슐은 약 50 ppm 정도 흡착하였으나 본 연구의 곰팡이 beads는 80 ppm 정도로 흡착량이 더 높았다.

참고문헌

1. Chung, D. H., Kim, D. O. and Seo, J. H. (1995) Characteristics of growth and metal removal in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* harboring a metallothionein gene. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **10**(5), 475-481.
2. Lee, M. G. and Suh, K. H. (1996) Study on adsorption of metal ions by Cheju Scoria. *J. Korean Environ. Sci. Soc.* **5**(2), 195-201.

3. Cho, J. S., Lee, W. K., Choi, H. S. and Heo, J. S. (1997) Distribution of heavy metal in the cell components of heavy metal-tolerant microorganisms. *Korean J. Environ. Agric.* **16**(1), 55-60.
4. Volesky, B. and Holan, Z. R. (1995) Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* **11**, 235-250.
5. Guibal, E., Roulph, C. and Le Cloirec, P. (1992) Uranium biosorption by a filamentous fungus *Mucor miehei*. pH effect on mechanisms and performances of uptake. *Water Res.* **26**, 1139-1145.
6. Deans, J. R. and Dixon, B. G. (1992) Uptake of Pb^{2+} and Cu^{2+} by novel biopolymers. *Water Res.* **26**, 469-472.
7. Kapoor, A. and Viraraghavan, T. (1995) Fungal biosorption-an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters. A review. *Biores. Technol.* **53**, 195-206.
8. Muralledharan T. R., Iyengar L. and Venkobachar, C. (1991) An attractive alternative for metal removal and recovery. *Curr. Sci.* **61**, 379-385.
9. Shumate II, S. E. and Strandberg, G. W. (1985) In *Accumulation of metals by microbial cells*. M. Moo Young, Robinson, C. N. and Howell, J. A. (eds.), Comprehensive Biotechnology. Pergamon Press, New York, Vol. 4, pp. 235-247.
10. Gadd, G. M. (1988) In *Accumulation of metals by microorganisms and algae*. Biotechnology 6b: Special Microbial Processes. (H.J. Rehm, ed.). VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany. pp. 401-433.
11. Kim, Y. B. and Park, J. K. (1997) Recovery of lead using encapsulated *S. cerevisiae*. *J. Korean Institute Chem. Eng.* **36**(2), 229-234.
12. Ahn, K. H. and Suh, K. H. (1995) Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces uvarum*. *J. Korean Environ. Sci. Soc.* **4**(5), 527-534.
13. Ahn, K. H., Shin, Y. K. and Suh, K. H. (1997) Removal, recovery, and process development of heavy metal by immobilized biomass methods. *J. Korean Environ. Sci. Soc.* **6**(1), 61-67.
14. EG&G (1994) In *Princeton Applied Research, Model 394. Analytical Voltammetry Software, User's Guide*.
15. Kuyucak, N. and Volesky, B. (1988) Biosorbents for recovery of metals from industrial solution. *Biotechnol. Lett.* **10**, 137-142.
16. Lee, H. K., Bae, W. C., Jin, W., Jung, W. J., Lee, S. P. and Jeong, B. C. (1998) Heavy metal adsorption capacity of *Zooletia ramigera* 115 and *Zooletia ramigera* 1155LR. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **26**(1), 83-88.
17. Kapoor, A. and Viraraghavan, T. (1997) Biosorption of heavy metals by *Aspergillus niger*. *Global Environmental Biotechnology* 139-156.
18. Cheong, S. H., Lee, T. J., Park, J. K. and Chang, H. N. (1995) Citric acid production using encapsulated *Aspergillus niger*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **10**(1), 78-88.
19. Ahn, K. H. and Suh, K. H. (1996) Pb biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **11**(2), 173-180.

Lead Biosorption by Alginate Beads Immobilizing *Aspergillus niger*

Byung-Ho Bang (Department of Food and Nutrition, and Institute of Health Research, Seoul Health College, Sunghnam 461-713, Korea)

Abstract: Alginate, a well-known biopolymer, is universally applied for immobilization of microbial cells. Biosorption characteristics of lead by waste biomass of immobilized *A. niger* beads, used in fermentation industries to produce citric acid, were studied. The immobilized *A. niger* beads, prepared via capillary extrusion method using calcium chloride, were applied in the removal of lead. Pb uptake was the highest in *A. niger* beads cells grown for 3 days with medium producing citric acid (12% sucrose, 0.5% NH_4NO_3 , 0.1% KH_2PO_4 , and 0.025% $MgSO_4$). Lead uptake by the immobilized *A. niger* beads and free *A. niger* mycellia beads increased sharply with time. However, while uptake by the immobilized *A. niger* beads continued to increase slowly, that by free *A. niger* mycellia beads stopped after 30 min. The optimum pH and temperature of lead uptake were found to be 6 and 35°C, respectively. The maximum uptake of lead was achieved with 50-100 beads and 50 ml lead solution in a 250-ml Erlenmeyer flask, while, at over 100 beads, uptake of the lead decreased. The order of biosorption capacity for heavy metals was $Pb > Cu > Cd$. Pb uptake capacity of the immobilized *A. niger* beads treated with 0.1 M $CaCl_2$, 0.1 M NaOH, and 0.1 M KOH decreased compared to the untreated beads. On testing the desorption of Pb from the immobilized *A. niger* beads, re-uptake of Pb was found possible after desorption of the binding metal with 0.1 M HCl.

Key words: alginate bead, lead biosorption, *Aspergillus niger*