

충전층 반응기내에서 고정된 *Pseudomonas aeruginosa*에 의한 Cd^{2+} 의 제거

최광수* · 김철경**

*(주)SKC, **목원대학교 화학 및 응용화학부

Removal of Cadmium Ion(Cd^{2+}) by *Pseudomonas aeruginosa* Immobilized in Ca-Alginate Gel Beads in Packed-Bed Column Reactor

Kwang Soo Choi*, Chul Kyung Kim**

*Department of QA, SKC Ltd.

**Division of Chemistry and Applied Chemistry, Mokwon University

요 약

본 연구에서는 수직 원통형 충전층반응기(packed-bed column reactor)내에 균체가 고정화된 Ca-alginate bead를 넣어 카드뮴이온을 제거하는데 있어 반응기내로 유입되는 유속, 초기농도 등에서 카드뮴 이온(Cd^{2+}) 제거하는데 최적 조건을 찾고자 하였다. 사용된 균주(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)는 한국과학기술원 유전공학센터 유전자은행(KCTC)으로부터 구입하였고, Bead로 사용된 Ca-alginate bead는 Sodium Alginate에 균체와 $CaCl_2$ 를 섞어 제조한 것을 사용하였다. 실험 결과 동일 조건일 때 유속이 30 mL/hr > 45 mL/hr > 60 mL/hr의 순서로 제거율이 좋았고 유입속도의 변화에도 불구하고 각 유속에서 50 ppm > 100 ppm > 200 ppm > 300 ppm의 순으로 좋은 제거율을 보였다.

ABSTRACT : The effects of initial cadmium ion concentrations (50, 100, 200, 300ppm), and feeding velocities (30, 45, 60mL/hr) on the removal ratio of cadmium ion by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 immobilized in Ca-alginate gel beads in a packed-bed column reactor were investigated at operating temperature 37°C. The removal ratio of cadmium ion with variable initial concentration was decreased in the following order : 50ppm > 100ppm > 200ppm > 300ppm. The optimum removal conditions of cadmium ion by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were initial concentration 50ppm, feeding velocity 30mL/hr.

1. 서 론

폐수로부터 금속을 제거하기 위한 공정 중 중금속 폐수를 처리하는 가장 보편적인 방법은 화학적 침전법이다. 그러나 독성물질이 함유된 산업폐수는 화학약품에 의한 응집 침전처리 시 많은 양의 독성 폐 슬러지(Sludge)가 생성되므로 이들의 재처리 시 많은 비용이 들고, 부적절한 매립이나 투기시 토양이나 지하수의 오염원이 될 수 있으므로 환경보전상의 문제가 발생하게 된다.

동물생체에 대한 카드뮴의 주요 유해작용으로는 골연화증, 빈혈 등이 있으며, 인체 내에 흡수되면 신뇨관에 축적되어 장애를 일으킨다.

폐수처리에 관여하는 미생물로서는 하등식물인 세균(Bacteria), 효모(Yeast), 사상균(Mold), 조류(Algae)와 동물계의 최하등 세포생물인 원생동물(Protozoa), 후생동물(Metazoa)로 분류되며 일반적으로 폐수처리에 있어서 주역을 담당하는 것은 세균이고 그 다음은 조류나 원생동물이다[1-3]. 폐수의 생물학적 처리에 있어서 균주의 형태는 유리균체(Free Cell)가 주종을 이루고 있었으나 최근에는 생물학적 공정의 이점이 있는 고정화균체(Immobilized Cell)를 사용하고 있다[4,5]. 고정화균체의 장점으로는 균체의 효율적 고정으로 균체의 제거나 순환이 필요 없으며, 단위 부피당 높은 균체량을 쓸 수 있으므로 유리균체에 의한 회분식 또는 연속식 반응보다 생산량이 증가하고, 저해요소(Inhibitory Compounds)와 영양분 고갈(Nutrient Depletion)에 의한 영향을 줄일 수 있다[6,7]. 또한 생성율(Product Yield)과 균체의 밀도증가로 인하여 반응속도가 가속될 수 있고 유속의 조절로 계(System)를 최적화시킬 수 있으며, 상대적으로 반응기의 부피가 감소되므로 반응기의 설계와 운용에 용이하다[8-10]. 본 실험에서 사용한 균주는 현재 생물학적 폐수처리의 연구에서 많이 사용되고 있는 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853이며, 균체의 고정화를 위하여 고정화 공정이 간단하며, 균체에 독성을 끼치지 않으며, 값이 싸고, 기질용액의 높은 주입 속도에 대해서도 내압축성, 내마모성이 큰 장점을 갖고 있는 Ca-Alginate Gel를 담체로 사용하였다.[11].

본 실험은 수직 원통형 충전층반응기 (Packed-

Bed Column Reactor)에서 연속적으로 실시되며, 37°C에서 카드뮴이온(Cd^{2+})농도의 변화(50, 100, 200, 300 ppm), 유속의 변화(30, 45, 60 mL)에 따른 카드뮴이온의 제거율을 측정하였고 최대제거율을 고찰하여 최적처리조건에 관한 자료를 얻음으로써 카드뮴이온을 함유한 폐수처리 및 다른 중금속이 함유된 폐수처리 연구의 기초자료가 되는 것을 목적으로 한다.

2. 실험

2.1 균주와 배양조건

본 실험에서 사용한 미생물(Microorganism)은 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853으로서 생명공학연구원 유전공학센터 유전자은행(KCTC)으로부터 구입하여 Table 1과 같은 성분의 Agar Slant에서 scratch 하여 4°C에 보관하였다. Agar Slant는 Autoclave에서 15분간 121°C이상으로 멸균하였으며, 멸균전 1 N - NaOH 또는 1 N - HCl 수용액을 사용하여 초기 pH를 7.0으로 조절하였다[12]. 배양액도 Autoclave에서 15분간 121°C이상으로 멸균하였으며, 멸균전 1 N - NaOH 또는 1 N - HCl 수용액을 사용하여 초기 pH를 조절하였다. 배양액의 성분은 Table 2에 나타내었다.

Table 1. Composition of stock culture medium.

| Component | Weight |
|--|--------|
| Casein pepton | 17.0 g |
| Soy pepton | 3.0 g |
| Dipotassium phosphate | 2.5 g |
| Sodium chloride | 5.0 g |
| Dextrose | 2.5 g |
| Agar-agar | 20.0 g |
| Distilled water added to make one liter solution | |

Table 2. Composition of seed culture medium.

| Component | Weight |
|--|--------|
| Casein pepton | 17.0 g |
| soy pepton | 3.0 g |
| Dipotassium phosphate | 2.5 g |
| Sodium chloride | 5.0 g |
| Dextrose | 2.5 g |
| Distilled water added to make one liter solution | |

2.2 균체의 고정

균체의 포집은 원심분리기로 8,000rpm에서 15분간 원심분리하였다. Sodium Alginate 2.5% (w/v) 수용액 400mL에 건조중량 5g의 균체를 균일하게 섞은 후 0.1M CaCl₂ 수용액에 미량 Pump로 한방울씩 떨어뜨려 Bead를 제조하였으며, 생성된 Bead는 0.1M CaCl₂ 수용액에서 2시간 동안 숙성시킨 뒤 증류수로 세척하여 사용하였다[13].

2.3 실험장치 및 실험방법

반응기의 재질은 투명 아크릴이며, 이중관으로 설계되어 있다. 외관의 안지름은 10.0 cm이고, 내관의 안지름은 3.4 cm이며, 외관과 내관의 두께는 각각 0.6 cm, 0.3 cm이다. 반응기 전체의 높이는 40.0 cm이고, 밑에서부터 10.0 cm, 30.0 cm지점은 분리와 결합이 가능하도록 설계하였으며, 반응기 내부 부피는

363.0 mL이다. 균주가 고정된 Bead는 반응기 하단으로부터 30 cm지점까지 충전시켰으며, 충전 층의 맨윗 부분에서 생성물이 유출된다. Bead를 충전시킨 후 공극률(Porosity)은 0.25였으며, Working Volume은 272.0 mL이었다. 반응기는 70% 에틸알코올(Ethyl Alcohol)로 소독하여 Clean Bench 내에서 건조시켜 사용하였다. 실험은 반응기 내부의 온도를 37°C로 일정하게 유지시키기 위해 항온조로부터 Pump를 이용하여 반응기의 물자켓(Water Jacket)을 통하여 하향식으로 물을 순환시켰다. 배양액의 공급은 Peristaltic Pump를 이용하였으며, 반응기 하단으로부터 상단으로 유출되는 상향식으로 설치하였다. 반응은 수직원통형 반응기의 하단으로부터 카드뮴 이온(Cd²⁺)이 함유된 배양액을 공급하면서 시작되고, 반응기 상단에서 유출되기 시작하는 흐름으로부터 매 3시간마다 시료를 일정량 채취하여 분석하였다.

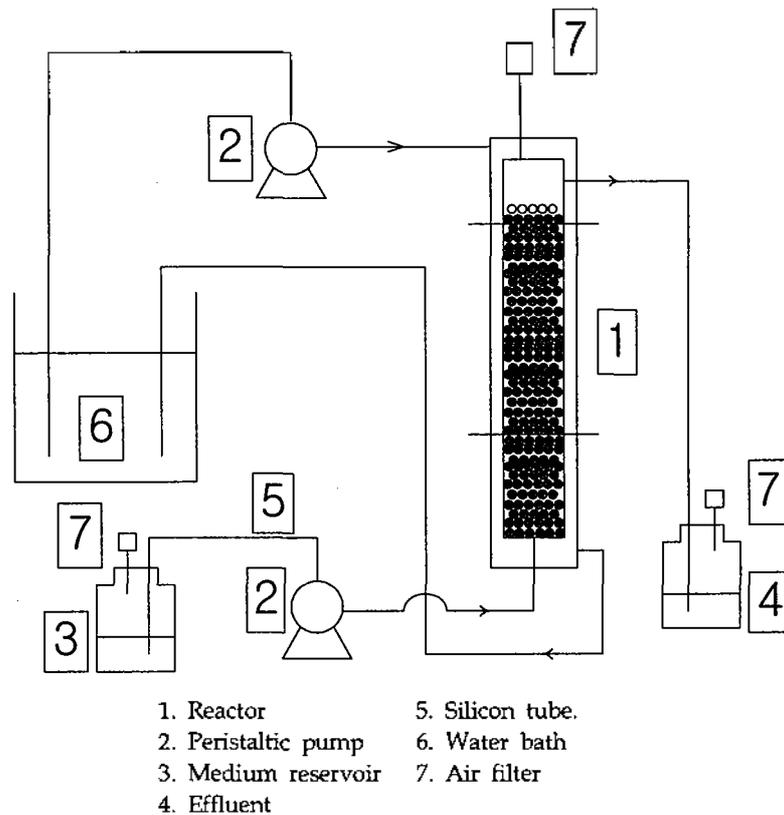


Fig 1. Schematic diagram of reactor system.

2.4 분석 및 측정방법

균체의 농도측정은 채취한 시료를 원심분리기로 8,000rpm에서 15분간 원심분리한 후에 이를 증류수로 2-3회 세척하고 Freeze Dryer에서 서서히 24시간 건조하여 건조중량을 측정하였다.

660 nm의 파장에서 표준시료의 흡광도(Absorbancy)를 측정하여 카드뮴이온농도 대 흡광도의 검량곡선을 작성하고 이를 사용하여 환산하였다.

Table 3. operating conditions of atomic absorption spectrophotometer.

| | |
|--------------|---------------------|
| Lamp energy | 4 mA |
| Slit setting | 0.7 |
| Wave length | 228.8 nm |
| Light source | Hollow cathod lamp |
| Flame type | Air-acetylene flame |

3. 결과 및 고찰

Ca-alginate gel bead에 고정된 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853을 사용한 충전층반응기(Packed-Bed Column Reactor)에서의 유속변화, 초기 카드뮴이온농도변화에 따른 연속적 실험의 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

유속이 30 mL/hr인 경우 초기 3 hr 경과시에는 50, 100, 200, 300 ppm에서 모두 80%이상의 제거효율을 보이지만, 12 hr이 경과한 후에 50 ppm일 때 79.6%, 100 ppm일 때 74.8%, 200 ppm 일 때 73.1%, 300 ppm일 때 66.8%의 제거율을 보였다. 시간이 지남에 따라 제거 효율은 전체적으로 감소하는 경향이 나타났지만 50 ppm>100 ppm>200 ppm>300 ppm의 순으로 제거율이 좋게 나타나는 경향은 계속 유지되었다. 60 hr의 시간이 경과한 후에도 50 ppm일 때 36.2%, 100 ppm일 때 22.4%, 200 ppm일 때 17.9%, 300 ppm일 때 10.6%의 제거율을 보여서 저 농도에서 제거율이 높은 것을 알 수 있었다. 초기 3시간 경과시 제거율이 80%이상의 제거율을 보이는 것은 초기 담체가 가지고 있는 Site가 최대한 작용하여 접촉

을 이루는 대부분의 카드뮴 이온이 흡착되기 때문이며, 시간이 지남에 따라서 카드뮴이 이미 흡착된 Site가 점점 많아져 흡착공간의 부족으로 효율이 줄어드는 경향을 보이고 있다. 이러한 경향은 유속이 45 mL/hr인 경우와 60 mL/hr인 경우에도 비슷한 형태를 보였다. 유속이 45 mL/hr인 경우, 3 hr가 경과 시 50 ppm일 때 90.0%, 100 ppm일 때 89.6%, 200 ppm일 때 85.1%, 300 ppm일 때 83.2%의 제거율을 보였으며, 60 hr가 지난 후에는 담체의 흡착능력이 한계에 이르러 50 ppm일 때 20.4%, 100 ppm일 때 20.8%, 200 ppm일 때 17.9%, 300 ppm일 때 16.8%의 제거율을 보였다.

유속이 60 mL/hr인 경우 3 hr가 경과 시 50 ppm일 때 86.2%, 100 ppm일 때 85.3%, 200 ppm일 때 64.6%, 300 ppm일 때 65.6%의 제거율을 보여 카드뮴이온의 빠른 유입으로 인한 담체의 급격한 성능저하가 현저하게 나타났으며, 200ppm, 300ppm의 경우 12hr가 지난 후에는 48.3%, 31.3%등의 제거율을 보여 담체의 제거능력이 급격히 감소했음을 알 수 있었다.

농도변화에 의한 카드뮴이온의 제거율은 유속 30 mL/hr, 45 mL/hr, 60 mL/hr에서 모두 50 ppm > 100 ppm > 200 ppm > 300 ppm의 순으로 좋게 나타났으며, 유속변화에 따른 카드뮴 이온의 제거율은 초기농도 300 ppm에서 30 mL/hr > 45 mL/hr > 60 mL/hr의 순으로 좋게 나타났다.

Fig 5.를 통해서 유속에 의한 제거율을 감안한다면, 저유속에서 담체와 카드뮴이온의 접촉시간의 확대에 의하여 흡착의 비율이 높게 나타난다는 것을 확인하였다. 초기 농도가 고농도일 경우 초기에 카드뮴이온이 담체에 다량으로 흡착하는 경향이 있어서 이후 급격히 담체의 성능이 감소하는 것을 확인하였다. 담체의 지속적인 사용과 성능을 유지하기 위해서는 실험중 담체의 교환 내지는 성능향상을 위한 대안을 마련해 나가는 것이 담체를 이용한 생물막으로 카드뮴흡착 제거의 기술을 향상 시키는 중요한 대안으로 여겨진다. 생물막에 흡착된 카드뮴을 제거하거나 생물들이 강력한 메카니즘으로 카드뮴을 지속적으로 흡착하는데 문제가 없게 된다면, 현재의 제거율보다 더 나은 결과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

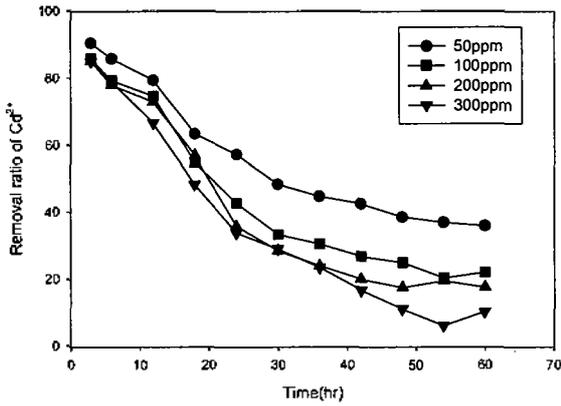


Fig. 2. The removal ratio of cadmium ion(Cd^{2+}) at 30mL/hr and 37°C.

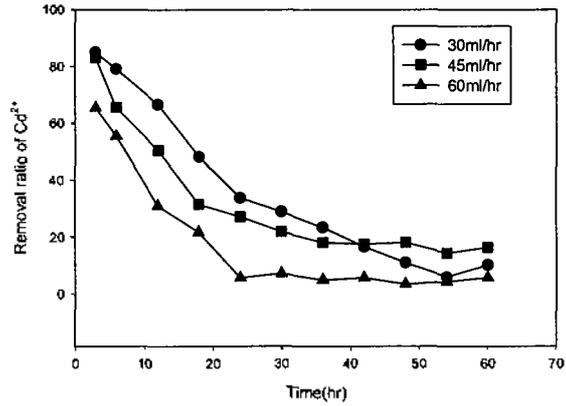


Fig. 5. The removal ratio of cadmium ion(Cd^{2+}) at 300ppm and 37°C.

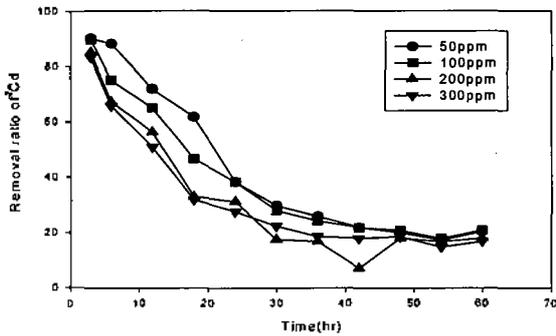


Fig. 3. The removal ratio of cadmium ion(Cd^{2+}) at 45mL/hr and 37°C.

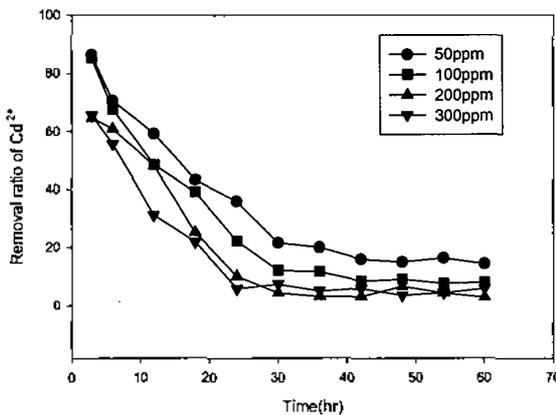


Fig. 4. The removal ratio of cadmium ion(Cd^{2+}) at 60mL/hr and 37°C.

4. 결 론

Ca-Alginate Gel Bead에 고정된 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853을 사용한 충전층반응기(Packed-Bed Column Reactor)에서의 유속변화, 초기 카드뮴 이온농도변화에 따른 연속적 실험의 결과 유속이 30 mL/hr인 경우 초기 3 hr 경과시에는 50, 100, 200, 300 ppm에서 모두 80 % 이상의 제거 효율을 보이지만, 12 hr이 경과한 후에 50 ppm일 때 79.6%로 가장 우수했으며, 시간이 지남에 따라 제거 효율은 전체적으로 감소하는 경향이 나타났지만 초기 카드뮴 이온 농도가 저농도인 경우가 제거율이 좋았다.

초기 담체가 가지고 있는 Site가 최대한 작용하여 접촉을 이루는 대부분의 카드뮴 이온이 흡착되기 때문이며, 시간이 지남에 따라서 카드뮴이 이미 흡착된 Site가 점점 많아져 Ca-Alginate Gel Bead 내의 흡착공간의 부족으로 효율이 줄어드는 경향을 보이고 있다.

유속이 60 mL/hr인 경우는 카드뮴이온의 빠른 유입으로 인한 담체의 급격한 성능 저하가 현저하게 나타났다.

농도변화에 의한 카드뮴이온의 제거율은 유속과 관계없이 저농도인 경우가 제거율이 우수했다.

유속변화에 따른 카드뮴 이온의 제거율은 초기 농도 300 ppm에서 30 mL/ hr > 45 mL / hr > 60 mL/ hr의 순으로 좋게 나타났다. 유속에 의한 제거율을 감안한다면, 저유속에서 담체와 카드뮴이온의 접촉시간의 확대에 의하여 흡착의 비율이 높게 나타나는 것으로 확인되었다.

담체의 지속적인 사용과 성능을 유지하기 위해서는 실험중 담체의 교환 내지는 성능향상을 위한 대안을 마련해 나가는 것이 담체를 이용한 생물막으로 카드뮴흡착 제거의 기술을 향상시키는 중요한 대안으로 판단되었다.

참 고 문 헌

1. Chakrabarty, A.M.: Plasmid Assisted Molecular Breeding, Vol.21, 4.(1982)
2. Stanlake, G.F. and Finn, R.K: Isolation and Characterization of Pentachlorophenol Degrading Bacterium, 4.(1982)
3. Kelda, G.K. and Maier, W.J.: Kinetics of Microbial Growth of Pentachlorophenol, 49.(1985)
4. Williams,D and Lay, J. De: Bacteriological Review, Vol.41, 1.(1977)
5. Halling, P.J and Dunnill, P. Enzyme Microb. Tech., Vol.2, 2.(1980)
6. Munnecke, D.M: Biotech. and Bioeng., Vol.23, 1813.(1981)
7. Linko,Y.Y and Rohjola,L. FERS Letters., Vol.62, 77.(1976)
8. McGhee, J.E and Rovert,W.D: Appl. and Environ. Microbiol., Vol.44, 19.(1982)
9. White, C.A. and Kennedy, W.F.: Enzyme Micro. Technol., Vol.2, 82.(1980)
10. Bollmeier,J.P.: Biotech. and Bioeng., Vol.21, 2303.(1979)
11. Peter,S.J. . Blunt, K.W: Physical studies on cell immobilization using Calcium Alginate Gels, Vol.21, 2155.(1979)
12. 최석순: *Pseudomonas aeruginosa*를 이용한 카드뮴 이온 (Cd^{2+})의 제거 석사학위논문, 성균관대학교.(1990)
13. Cheetham, P.H.J., Blut, K.V. and Bucke, C.: Biotech. Bioeng., 21, 2155.(1979)