*Chlorella pyrenoidosa*에 의한 납 흡·탈착시 고정화 방법의 영향

Effect of Immobilization Method in the Biosorption and Desorption of Lead by Algae, *Chlorella pyrenoidosa*

신택수 · 임병서* · 이상우 · 류권걸 · 정선기 · 김광렬†
Taek-Soo Shin · Byung-Seo Lim* · Sang-Woo Lee
Kwon-Gul Rhu · Seon-Ki Jeong · Kwang-Yul Kim†

충북대학교 환경공학과 · *한국환경자원공사 충북지사 산업지원팀
Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University
**Industry Support Team, Chungbuk Office, Korea Environment Resources Corporation*

(2009년 1월 28일 접수, 2009년 8월 7일 채택)

ABSTRACT : In this studies, the adsorption test using *Chlorella pyrenoidosa* was conducted to examine the effect of Pb adsorption according to various immobilized methods such as Ca-alginate, *K*-carrageenan, and Polyacrylamide. From the results, the duration to need to reach adsorption equilibrium was delayed according to the immobilization. And, the higher adsorption capacity of immobilized *Chlorella pyrenoidosa* was represented in the higher concentration of Pb, the smaller amount of immobilizing agent, and the higher pH of solution. The maximum adsorption capacity of Pb was shown in the adsorption test using *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with Ca-alginate even though it was sensitive pH. The adsorption results properly represented with Freundlich isotherm equations. And, pseudo second-order chemisorption kinetic rate equation was applicable to all the biosorption data over the entire time range. The FT-IR analysis showed that the mechanism involved in biosorption of Pb by *Chlorella pyrenoidosa* was mainly attributed to Pb binding of carbo-acid and amide group. Adsorbed Pb on immobilized *Chlorella prenoidosa* was easily desorbed in the higher concentration of desorbents(NTA, HCl, EDTA, H_2SO_4, Na_2CO_3). Among the several desorbents, NTA showed the maximum desoption capacities of Pb from *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with Ca-alginate and *K*-carrageenan and EDTA was the most effective in *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with polyacrylamide. The desoprtion efficiency in the optimum condition was 90.0, 83.0, and 80.0%, respectively.

Key words : *Biosorption, Desorption, Immobilization, Lead, Chlorella pyrenoidosa*

요약 : 본 연구는 조류 *Chlorella pyrenoidosa*에 의한 Pb 흡착시 고정화 방법이 흡착특성에 미치는 영향에 관한 것으로, 고정화는 Ca-alginate, *K*-carrageenan, and polyacrylamide를 이용하여 실시하였다. 연구결과, 고정화에 따라 흡착평형 도달시간의 지연이 나타났으며, Pb의 최대 흡착능(mg/g)은 중금속 농도와 pH가 높을수록, 고정체 투입량이 적을수록 높게 나타났다. 고정화 방법별 흡착능은 Ca-alginate로 고정화한 경우 가장 높은 흡착능을 나타낸 반면, 흡착량이 pH에 가장 민감하게 영향을 받았다. Pb 흡착현상은 Freundlich 등온흡착식에 의해 잘 해석되었고, 흡착속도는 2차 모형식을 따르는 것으로 나타났다. FT-IR분석으로 *Chlorella pyrenoidosa*에 의한 Pb의 생물흡착 메커니즘이 주로 carbo-acid와 amide 그룹에 Pb가 결합되어 일어남을 알 수 있었다. 흡착된 Pb의 탈착은 탈착제 농도가 높을수록 탈착효율도 높았다. 실험에 사용되어진 여러 탈착제(NTA, HCl, EDTA, H_2SO_4, Na_2CO_3)중 Ca-alginate과 *K*-carrageenan로 고정화한 경우 NTA가 가장 높게 나타났으며, polyacrylamide로 고정한 경우 EDTA를 사용한 경우 가장 효과적인 것으로 나타났다. 고정화 방법별 최대 탈착효율은 각각 90.0, 83.0, 80.0% 이었다.

주제어 : 생물흡착, 탈착, 고정화, 납, *Chlorella pyrenoidosa*

1. 서 론

유해 중금속은 환경중으로 배출될 경우 심각한 오염문제를 야기할 수 있으므로 토양 등 주변 환경과 폐수 등 폐기물 중에 함유되어 있는 중금속 제거 또는 회수를 위한 경제적이고 효율적인 기술개발이 요구된다. 현재까지 응집침전법, 용매추출법, 이온교환법, 전기분해법 등 다양한 물리화학적 처리법이 활용되고 있으며[1,2], 최근에는 물리화학적 처리방법의 대안으로 생물학적 처리법에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 생물학적 처리법은 생물흡착제(biosorbent)를 이용하여 중금속을 흡착, 제거하는 방법으로 주로 균류, 박테리아 및 조류 등이 관심의 대상이 되어 왔으며, 조류에 의한 방법이 가장 경제적이고 효율적인 것

† Corresponding author : E-mail : kykim@cbnu.ac.kr Tel : 043-261-2466 Fax : 043-267-2466

으로 알려져 있다.[3,4] 또한, 경우에 따라서는 이온교환수지보다 흡착능이 크고 흡착된 중금속 회수와 고정화된 미생물의 재생이 가능하여 처리비용면에서도 장점이 있어 향후 유망한 중금속 처리기술로 기대되고 있다. 그러나, 생물흡착제를 산업공정에 실용화하기 위해서는 조류 자체로는 취급이 매우 어렵기 때문에 취급이 용이하여 연속공정에 적용할 수 있도록 고정화 하는 기술과 흡착제를 재생하는 기술이 선결되어야 한다.

생물흡착제를 고정화하는 방법으로는 크게 물리적인 흡착에 의한 방법과 포획에 의한 방법, 공유결합에 의한 방법, 그리고 생촉매 자체를 bi- 또는 multi-functional 시료로 가교시키는 방법이 있는데, 미생물을 적당한 담체에 고정화할 경우 적절한 탈착제를 이용한 재생이 가능하며, 고정화 물질 자체가 중금속을 흡착할 수 있을 뿐만 아니라, 고정화 하지 않은 조류를 그대로 사용하는 경우에 비하여 pH에 대한 안정성을 높일 수 있는 등 여러 가지 잇점이 있는 것으로 알려져 있다.[5,6]

본 연구에서는 실제 산업공정에서 조류 *Chlorella pyrenoidosa*를 중금속 흡착제로 이용할 수 있는지 가능성을 알아보기 위하여 미생물을 겔 안에 포획(entrap-ment)시켜 고정화하는 방법중 여러 가지 고정화 방법에 대하여 Pb의 흡착량과 흡착속도, pH 변화에 따른 축적특성에 관하여 연구함으로써 최적 고정화 기술을 연구하였다. 조류 *Chlorella pyrenoidosa*를 고정한 고정체에 의한 Pb 흡착현상은 흡착속도식과 등온흡착식을 통해 해석하였고, 탈착실험을 통해 고정화된 조류의 재생과 재이용에 관하여 연구하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료

일반적으로 *Chlorella*는 담수에서 성장하는 단세포의 녹조류(green algae)로서 *vulgaris, pyrenoidosa*와 *ellipsoidea* 종이 널리 알려져 있다. 보통 연못이나 호수 등에서 생육하며, 직경 10 ㎛ 이하의 구형 또는 타원형 단세포 조류로 세포는 엽록소(chlorophyll a와 b)를 다량 함유하고 있으며, 세포 표면은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 세포막으로 이루어져 있다.[7, 8]

연구에서 흡착제로 사용한 *Chlorella prenoidosa*는 대만클로렐라공사(Taiwan Chlorella Mfg Co., Ltd)에서 생산, 동결건조한 진녹색 분말로 수분함량 6~8%, *Chlorella* 외 불순물은 없었으며, 중금속 흡착에 관계되는 화학적 세포변형 없이 그대로 사용하였다. 한편, 조류의 Pb 흡착능 비교를 위해 사용한 분말활성탄은 samchully 社의 야자계 신탄(1급)을 사용했다.

흡착실험을 위한 Pb 용액은 $Pb(NO_3)_2$ 1급 시약 (Junsei Chemical CO., Ltd.)을 사용하여 Pb이온의 농도가 5,000 mg/L인 용액을 만들고, 이를 모액으로 희석하여 사용하였다. 용액의 pH는 0.1 N과 1 N의 HCl과 NaOH로 조절하였다.

2.2. 고정화 방법

연구에서 사용한 고정화 방법은 확산제한(diffusion limitation)의 단점이 있지만 biomass가 유실되지 않는 포획에 의한 방법을 선택하였다. 최적 고정화 방법 탐색을 위하여 먼저 alginate에 의한 ionotropic gelation 방법과 free radical 중합을 이용하는 polyacrylamide의 합성에 의한 방법, carrageenan에 의한 thermal gelation 방법 등 세가지 방법에 의해 고정화하였다.

2.2.1. Ca-alginate에 의한 고정화 방법

상온에서 1.0 wt% Sodium alginate 용액에 조류(*Chlorella pyrenoidosa*)를 3.0 wt%가 되도록 가한후 이를 1.5 wt%의 Calcium chloride 용액속에 한방울씩 적하하여 bead 형태로 만들어 100분간 경화시킨 다음, 구상의 비드를 증류수로 10여회 세척하였다. 이와 같은 방법으로 제조된 조류 고정체는 지름 3.2~3.8 mm의 짙은 초록색 구형 입자형태로 입자 하나의 무게는 0.02~0.03 g의 범위를 나타내었다.

2.2.2. Polyacrylamide에 의한 고정화 방법

두 개의 비커에 각각 0.05M Tris-HCl 완충액 60 mL를 준비하여 그 중 하나에 조류 4.26g을 가하여 교반하며, 다른 비커에 acrylamide 15.0 g과 N.N'-methylenebis -carylamide 1.2 g을 용해시킨 후 앞에서 조류를 가한 Tris-HCl 완충액을 넣고 혼합하였다. 여기에 추가로 10% TEMED 0.5 mL와 10% ammonum persulfate 1.0 mL를 차례로 넣은 후 혼합하였다. 이를 적당한 chamber에 부어 1.0 hr동안 상온에서 굳혀 중합시킨 다음, 고정화된 미생물 고정체를 가로×세로×높이가 각각 2~3 mm 크기가 되도록 정육면체 형태로 절단하여 사용하였다. 이와 같은 방법으로 제조된 고정체에는 조류(*Chlorella prenoidosa*)가 3.0 wt% 만큼 포함되게 된다.

2.2.3. *K*-carrageenan에 의한 고정화 방법

비커에 증류수 100 mL를 75±2℃가 되도록 가열후 1.5 wt%가 되도록 *K*-carrageenan을 용해시킨 후 용액의 온도가 40~45℃ 정도가 되도록 상온에서 식혀 조류(*Chlorella prenoidosa*)를 3.0 wt%가 되도록 가하여 완전히 혼합한 다음 적절한 chamber에 부어 1.0 hr동안 상온에서 굳혔다. 고정화된 미생물 고정체는 Polyacrylamide 고정체와 동일하게 가로

×세로×높이가 각각 2~3 mm 크기가 되도록 정육면체 형태로 절단하여 사용하였다.

2.3. 납(Pb)의 흡·탈착 실험

흡착 실험은 가열판이 달린 교반기 위에 수조를 놓고 수조 안에 반응기를 장착하여 수행하였다. 반응기는 115 W×115 W×210 H mm 크기로 투명 아크릴로 제작하였으며, 중금속 용액의 양은 1.0 L로 하고, 반응기 내에는 pH meter를 설치하였다. 반응은 150 rpm 속도로 교반하면서 진행하며, 일정 시간 간격으로 시료를 채취, GF/C 여과기로 여과후 ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometers, USA)로 Pb 이온의 농도를 분석하였다. 흡착제 무게당 흡착된 Pb의 양은 (1)식으로 계산하였다.

$$q = \frac{V(C_i - C_e)}{M} \quad (1)$$

여기서 q는 흡착제 단위무게(g)당 흡착된 Pb의 양(mg), V는 중금속(Pb) 용액의 부피(L), M은 흡착제 양(g), C_i는 초기 Pb 이온의 농도(mg/L), C_e는 잔류하는 Pb의 농도(mg/L)를 나타낸다.

흡착된 Pb의 탈착실험은 흡착과 동일한 실험장치에 탈착제 500 mL를 넣고 300 ppm의 Pb 용액 5.0 L에 조류 고정체 300 g을 가하여 1.0 hr 동안 반응시켜 Pb를 흡착한 고정체 35 g을 넣고 100분까지 반응시키면서 탈착되어 나오는 Pb 이온의 양을 측정하여 앞서 계산한 흡착된 Pb 양과 비교함으로써 탈착효율을 계산하였다. 조류 고정체 재생을 위한 탈착제로 HCl, H_2SO_4, NTA (Nitrilotriacetic acid, $C_6H_9NO_6$), EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid, $C_{10}H_{16}N_2O_8$), Na_2CO_3를 사용하였으며, 탈착제 농도는 각각 0.01 M과 0.1 M, 0.3 M의 세가지로 실험 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 납(Pb) 농도에 따른 흡착특성

먼저 Ca-alginate와 Polyacrylamide, *K*-carrageenan을 이용하여 고정화한 *Chlorella prenoidosa*에 의한 Pb 흡착 특성 변화를 알아보기 위해 각 고정화방법에 대하여 Pb 농도별 시간에 따른 흡착 특성에 관한 실험을 수행하였고, 이를 고정하지 않은 조류에 의한 흡착특성과 비교하였다. 이때, 실험 실시마다 흡착제로 사용한 조류나 조류 고정체를 전혀 투입하지 않은 반응조를 대조구로 흡착 실험하였으나, 교반만으로는 중금속 농도변화가 관찰되지 않아 중금속 농도감소를 모두 생물흡착에 의한 결과로 해석하였다.

Fig. 1은 pH 5.0, 온도 20℃로 고정하고 각각 50 mg/L에서 500 mg/L까지의 Pb 농도를 가지는 용액 1.0 L에 대하여 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*를 1.0g 투입한 경우와 세가지 방법으로 고정한 *Chlorella prenoidosa* 고정체를 각각 35.0 g씩 투입하여 반응시간 경과에 따른 잔류 Pb 이온 농도를 나타낸 것으로, 결과에서 보는 바와 같이 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*의 경우에는 10분 내외(5~20분)에 흡

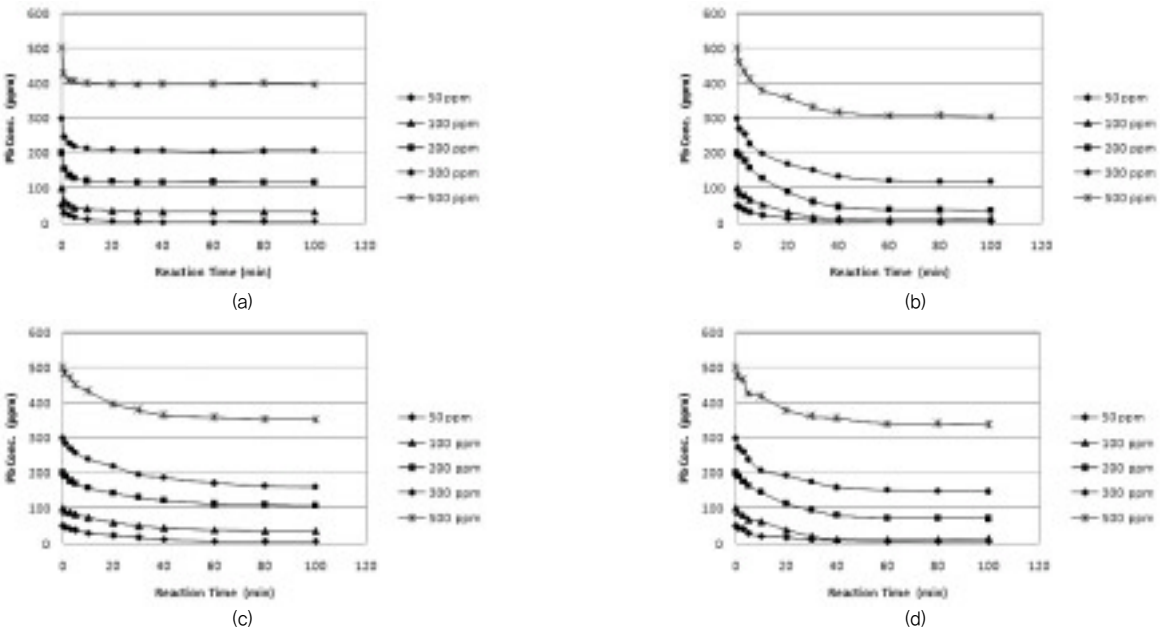


Fig. 1. Variation of Pb concentration by (a) non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa* and immobilized with (b) Ca-alginate, (c) polyacrylamide, and (d) K-carrageenan depending on reaction time and initial concentration.

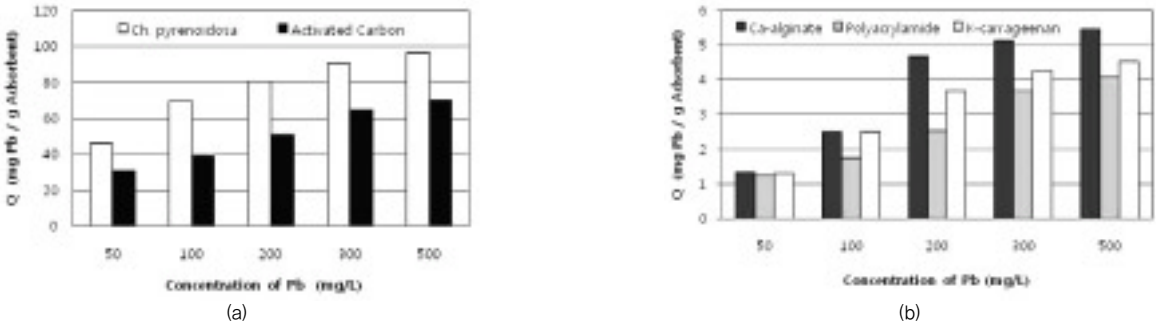


Fig. 2. Adsorption capacity by (a) non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa* and activated carbon, (b) Chlorella pyrenoidosa immobilized with Ca-alginate, polyacrylamide, and K-carrageenan in different concentration of Pb ions solution.

착평형에 도달하였으나, 조류를 고정한 세 경우에는 약 40~80분 사이에 흡착평형에 도달하는 것을 알 수 있으며, (b) Polyacrylamide로 고정한 경우에 (a) Ca-alginate로 고정화한 경우와 (c) *K*-carrageenan으로 고정화한 경우보다 흡착평형에 도달하는 시간이 20분 정도 지연됨을 볼 수 있다.

Fig. 2는 60분간 흡착반응을 진행할 때 Pb 농도와 고정화 방법에 따른 흡착 양(mg)을 비교한 그래프로, 전반적으로 Pb 농도가 증가함에 따라 고정체에 흡착되는 Pb 이온 양(mg)도 증가하였다. 즉, 초기 Pb 농도가 200 mg/L일 때 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*에 의한 Pb 흡착능(mg/g)은 80.4 mg/g 이었으나, Pb 농도 500 mg/L에서는 최대 96.5 mg/g의 흡착능을 나타내어, 동일조건에서 활성탄의 경우보다는 1.37~1.57배 정도 흡착능이 우수하였다. 한편, 조류를 고정한 고정체 단위 질량(g)당 Pb의 흡착량(mg)은 Ca-alginate로 고정화한 경우 4.68 mg, Polyacrylamide로 고정화한 경우 2.53 mg, *K*-carrageenan으로 고정화한 경우 3.68 mg 이었으나, Pb 농도가 500 mg/L일 경우에는 각각 5.46 mg과 4.06 mg, 4.52 mg으로 높아짐을 알 수 있다. 이는 초기 농도가 높아질수록 고정체가 가지는 최대 흡착능에 가까워짐에 따라 그 증가폭은 감소한 것으로 생각할 수 있다.

고정화에 따른 흡착능 변화는 조류 *Chlorella prenoidosa* 자체 흡착능에 비하여 고정화시 흡착능이 크게 낮아진 것처럼 보이나, 고정체에 포함되어 있는 조류 *Chlorella prenoidosa*의 양이 3.0%에 불과한 점을 감안하면 조류에 의한 흡착능은 오히려 더 늘어났음을 알 수 있다. 다만, 본 논문에서는 담체가 흡착능에 미치는 영향을 고려하여 고정체에 포함되어 있는 조류의 양을 기준으로 Pb의 흡착능으로 환산하는 대신 고정체 자체를 흡착제로 취급하여 흡착능을 계산하였다.

고정화 방법에 따른 흡착능은 Ca-alginate로 고정화한 경우와 *K*-carrageenan으로 고정화한 경우, 그리고

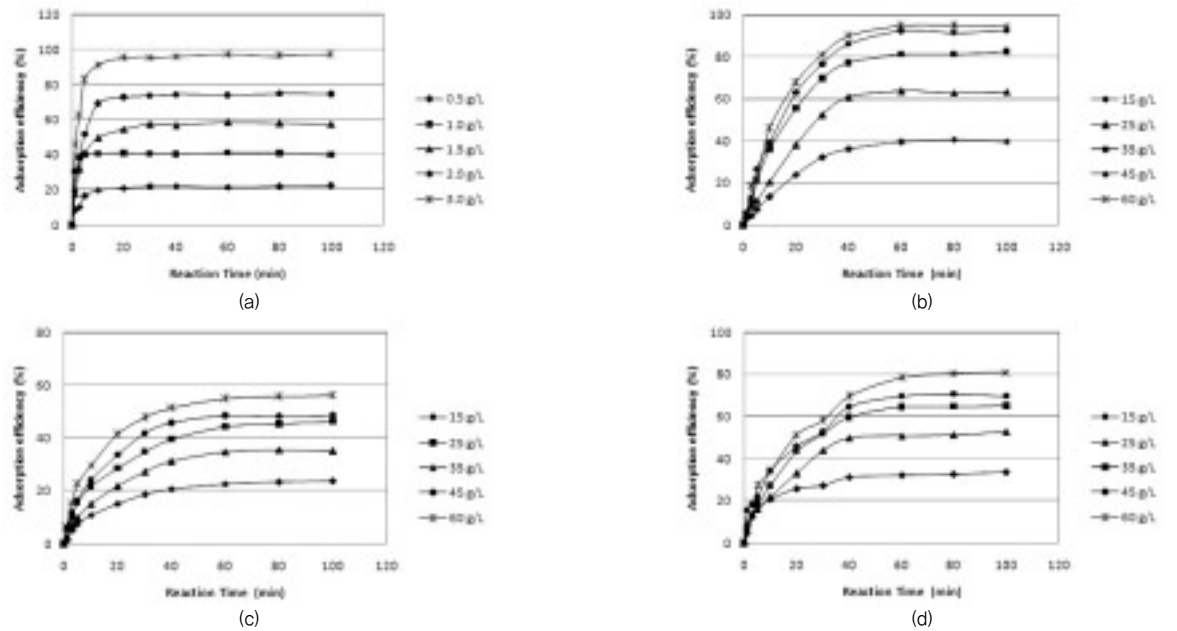
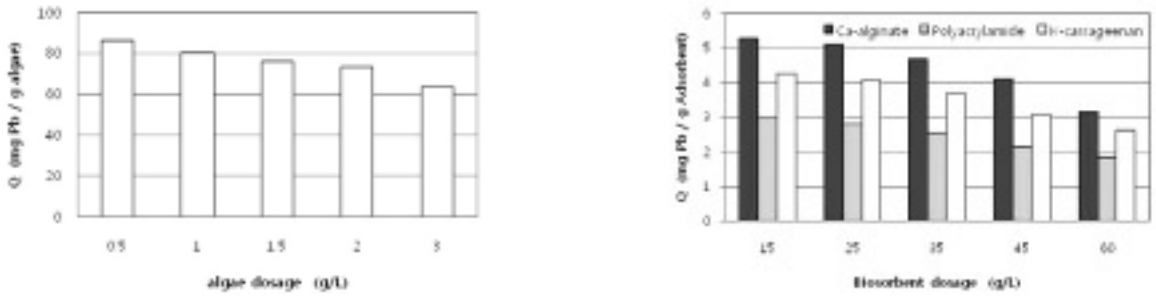


Fig. 3. Removal efficiency of Pb using (a) non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa* and *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with (b) Ca-alginate, (c) polyacrylamide, and (d) K-carrageenan depend on adsorbent dosage and reaction time (initial Pb concentration: 200 mg/L).



(a) (b)

Fig. 4. Adsorption capacity by (a) non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa* and (b) *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with Ca-alginate, polyacrylamide, and K-carrageenan depend on adsorbent dosage (initial Pb concentration: 200 mg/L).

Polyacrylamide로 고정화한 경우의 순으로 높게 나타났는데 이는 담체로 사용된 Ca-alginate에 의한 중금속 흡착능이 다른 고정체에 비하여 더 크기 때문으로 추정되었다. 이를 확인하기 위하여, 조류 *Chlorella prenoidosa*를 전혀 넣지 않은 세가지 고정체를 만들어 pH를 5.0으로 고정한 200 mg/L의 Pb 농도를 가진 중금속 용액 1.0L에 대하여 순수한 담체로만 제조한 흡착제 35.0 g을 넣고 60분간 흡착 반응시킨 결과, Ca-alginate의 경우 2.29 mg/g, Polyacrylamide 고정체의 경우 0.34 mg/g, *K*-carrageenan 고정체의 경우 1.31 mg/g의 Pb 흡착량을 나타냄으로써, 담체도 Pb에 대해 어느 정도 흡착능을 가짐을 확인하였다.

3.2. 생물흡착제 투입양의 영향

다음으로 *Chlorella prenoidosa* 고정체 투입량에 따른 Pb 용액의 처리효율에 대한 실험 결과를 **Fig. 3**과 **4**에 제시하였으며, 이때 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa* 자체의 흡착특성(a)과 비교하였다. **Fig. 3**은 Pb 농도 200 mg/L인 용액 1.0 L에 대하여 *Chlorella prenoidosa* 고정체 양을 15 에서 60 g까지 증가시키면서 투입하였을 때(b)와 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*를 0.5에서 3.0g 까지 투입하였을 때(a)에 대한 처리 효율을 나타낸 결과로, 투입량이 증가할수록 Pb 이온의 처리 효율도 증가하여 고정체를 60 g/L를 투입했을 때 (c) Polyacrylamide로 고정한 경우에는 56.1%, (d) *K*-carrageenan으로 고정화한 경우에는 최대 81.0%의 처리효율을 얻을 수 있었던 반면, (b) Ca-alginate로 고정화한 경우 최대 94.9%의 효율을 얻을 수 있었으며, *Chlorella prenoidosa*를 고정하지 않고 3.0 g/L 투입할 경우 95% 이상 처리가 가능함을 알 수 있다. 따라서, 산업화를 위해 *Chlorella prenoidosa*를 Ca-alginate로 고정할 경우 고농도 Pb 용액에도 적용 가능성이 충분할 것으로 사료된다.

Fig. 4는 초기 Pb 농도 200 mg/L인 용액에 *Chlorella prenoidosa*와 이를 고정한 고정체를 투입하여 60분간 흡착시켰을 때 각각의 흡착제에 의한 Pb의 흡착능(mg/g)을 나타낸 것으로, 흡착제 투입량이 증가함에 따라 흡착능(mg/g)은 감소함을 알 수 있다. 이는 동일 반응용액 내에서 흡착제 양이 증가할수록 용액내 잔류하는 중금속 농도가 상대적으로 낮아져 흡착평형이 용액쪽으로 이동하기 때문으로 생각되며, Tsezos 등[9]이 *Rhizopus arrhizus*를 고정한 고정체를 이용하여 중금속 처리율을 조사한 결과나, 조[10]가 *P. putida*를 고정하여 Cd 흡착실험을 한 결과 흡착제 양에 따른 흡착능의 경향성과 일치하였다.

3.3. 생물흡착 속도(Biosorption kinetic studies)

흡착 실험결과로부터 흡착속도를 모사하기 위해 1차 모형식과 2차 모형식을 사용하여 흡착실험 결과를 해석하였다. Lagergren의 1차 모형식(the pseudo-first-order equation)과 2차 모형식(the pseudo-second-order equation)은 각각 (2)와 (3)식으로 표현된다.[11]

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q) \tag{2}$$

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \tag{3}$$

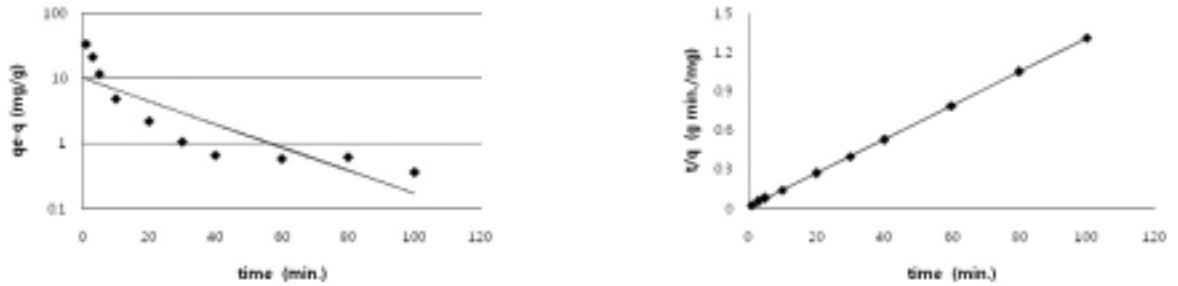
이를 t=0에서의 경계조건(q=0)을 고려하여 적분하면 각각 (4)과 (5)식으로 정리할 수 있다.

$$\log(q_e - q) = \log q_e - \left(\frac{k_1}{2.303}\right)t \tag{4}$$

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \tag{5}$$

Table 1. Kinetic parameters for biosorption of Pb by *Chlorella pyrenoidosa*

Method of Immobilization	Application of pseudo-first-order kinetic rate eq'n		Application of pseudo-second-order chemisorption kinetic rate equation		
	R Sq.	k_1(1/min)	R Sq.	k_2(g · min/mg)	q_e(mg/g adsorbent)
Non-immobilized algae	0.745	0.0392	0.999	0.0169	76.9
Ca-alginate	0.849	0.0207	0.995	0.0169	4.74
Polyacrylamide	0.919	0.0207	0.997	0.0251	3.05
K-carrageenan	0.895	0.0230	0.997	0.0270	3.82



(a) (b)

Fig. 5. Biosorption kinetic of Pb by non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa*; (a) plot of log (q_e-q) vs. time and (b) plot of t/q vs. time.

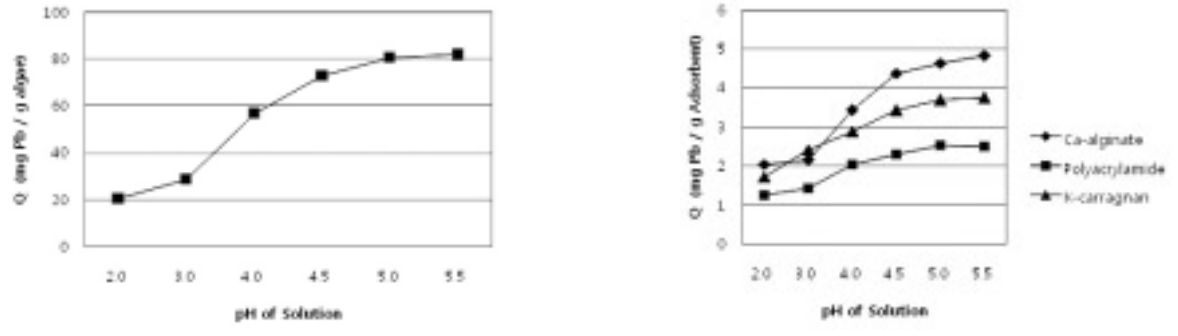
여기서 q_e와 q는 각각 평형상태와 시간 t에서 흡착제 단위 질량당 흡착된 중금속의 양이며, k1은 1차 흡착 모형의 속도 상수(l/min)이다. 만약 흡착공정을 1차모형식으로 묘사할 수 있다면, (4)식에서 log(q_e-q)와 t 사이는 좋은 직선 관계가 될 것이다. 또한, k_2는 2차모형 속도 상수(g mg^{-1} min)이며, 만일 2차 모형식으로 흡착 데이터를 표현할 수 있다면 (5)식에서 보는 바와 같이 t/q와 t 사이는 좋은 직선이 될 것이다.

Fig. 5는 각각 1차 모형식과 2차 모형식에 조류 *Chlorella pyrenoidosa*를 고정하지 않은 균체에 의한 Pb 흡착실험 데이터를 적용하여 나타낸 그래프이다. 결과에서 보는 바와 같이 1차 모형식에 적용한 결과(a)는 전 시간 영역에서 직선이 아니었으며(R^2=0.745), 2차 모형식에 적용한 결과(b)는 흡착 데이터가 좋은 직선성(R^2=0.999)을 보여줌으로써, 흡착공정이 한가지 이상 몇가지의 메카니즘이 관련되어 있음을 확인해 준다.[12] 조류 *Chlorella pyrenoidosa*를 세가지 방법으로 고정한 고정체에 의한 흡착 실험 결과도 2차 모형식으로 잘 해석할 수 있음을 알 수 있었고, 1차 및 2차 모형에 적용한 결과 상관계수와 직선회귀식으로부터 구한 q_e와 속도상수를 Table 1에 제시하였다.

3.4. pH의 영향

pH는 미생물을 이용한 중금속흡착 과정에서 가장 중요한 영향 인자로 중금속과 미생물 사이의 결합, 수산화물 결합 또는 용해성 리간드의 양전하 전위의 변화 등의 영향인자로 작용하는 것으로 알려져 있으며, 금속의 흡착정도는 미생물 표면에 존재하는 음이온성 그룹들이 양성자 첨가반응(protonation)에 의해 영향을 받기 때문으로 설명된다.[13, 14]

따라서, 본 연구에서도 *Chlorella prenoidosa* 균체와 이를 담체로 고정한 고정체에 의한 Pb 흡착에 있어서 용액의 pH가 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여 200 mg/L의 Pb 용액 1.0 L에 *Chlorella prenoidosa* 균체 1.0 g, 각각의 고정체 35 g을



(a) (b)

Fig. 6. Effects of pH on the adsorption capacity of Pb using (a) non-immobilized *Chlorella pyrenoidosa* and (b) Chlorella pyrenoidosa immobilized with Ca-alginate, polyacrylamide, and *K*-carrageenan.

Table 2. Isotherm parameters of Freundlich and Langmuir isotherm equations

Method of Immobilization	Freundlich			Langmuir		
	R Sq.	K	1/n	R Sq.	a	b
Non-immobilized algae	0.942	41.78	0.141	0.824	0.079	86.96
Ca-alginate	0.916	1.396	0.282	0.894	0.083	6.333
Polyacrylamide	0.932	0.508	0.344	0.881	0.018	4.565
K-carrageenan	0.950	0.918	0.305	0.955	0.020	5.682

투입하여 60분간 흡착반응을 시킨후 Pb의 흡착능(mg/g)을 측정하였으며, 결과를 **Fig. 6**에 제시하였다. 초기 pH를 2.0에서 5.5까지 변화시킨 결과 세가지 고정체의 경우 모두 pH가 증가할수록 Pb의 흡착능이 증가하여 pH 5.0 혹은 5.5에서 최대 흡착능을 나타내었다. 다만, pH 6 이상에서는 Pb의 용해도가 낮아져 침전(precipitation)이 일어날 수 있으므로 실험을 하지 않았다.[2, 15] 낮은 pH에서의 흡착능 감소는 pH가 낮아지면 조류 *Chlorella prenoidosa* 세포의 표면전하가 양으로 하전됨으로써 양이온인 Pb의 흡착을 저해하거나, 양성자와 금속이온이 ligand에 경쟁적으로 부착되므로 세포와 금속과의 상호작용이 감소하기 때문으로 생각된다. 지금까지 생물흡착에 관한 연구결과는 대부분 pH가 중성으로 높아질 때 흡착량이 증가한다고 보고[14, 15]하고 있으나, 경우에 따라서는 낮은 pH영역(pH 1~2)에서 최적 흡착능을 갖는다는 상반된 보고[16]도 있었다.

고정화 방법에 따른 pH 영향은 고정화 하지 않은 균체에 의한 흡착의 경우(a)가 고정한 경우(b)에 비하여 흡착능이 pH에 크게 영향을 받았으며, Ca-alginate에 의한 고정화의 경우가 pH에 가장 민감한 영향을 나타내었고 흡착능이 가장 적은 Polyacrylamide로 고정한 경우가 pH에 영향을 가장 적게 받음을 알 수 있다. 이는 균주를 고정화할 경우에 pH 변화에 덜 민감하기 때문에 안정성을 높일 수 있다는 기존의 주장[13]에 부합되는 결과라 볼 수 있다.

3.5. 흡착등온식 해석

Chlorella prenoidosa 균체와 세가지 방법으로 고정한 고정체에 의한 Pb의 등온흡착 실험결과를 평가하기 위하여 Freundlich 등온흡착식[17]과 Langmuir 등온흡착식[18]을 이용하였다. Freundlich 등온흡착식은 다음의 (6)식으로 표현할 수 있으며, 이를 log q와 log C_e에 대한 직선식으로 표현하면 (7)식과 같다.

$$q = K C_e^{\frac{1}{n}} \tag{6}$$

$$\log q = \log K + \frac{1}{n} \log C_e \tag{7}$$

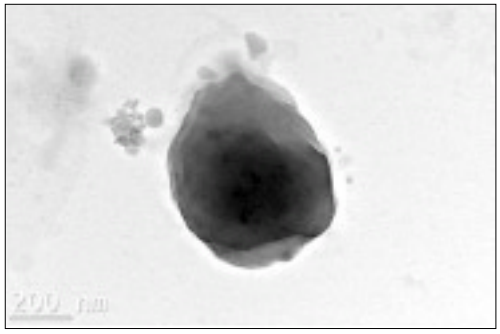
Langmuir 등온흡착식은 (8) 식으로 표현할 수 있으며, 이를 C_e/q와 C_e에 대한 직선식으로 표현하면 (9)식으로 표현할 수 있다.

$$q = \frac{abC_e}{1 + aC_e} \tag{8}$$

$$\frac{C_e}{q} + \frac{1}{ab} + \frac{1}{b} C_e \tag{9}$$

위 식에서 q는 흡착제 단위무게(g)당 흡착된 Pb의 양(mg), V는 중금속 Pb 용액의 부피(L), M은 흡착제 투입 양(g), C_i는 초기 Pb의 농도(mg/L), C_e는 잔류하는 Pb의 농도(mg/L)를 나타내며, K와 n, a, b는 각각 흡착 특성을 나타내는 상수이다.[19, 20]

균체와 세가지 고정체에 대한 Pb의 흡착 실험데이터에 대한 회귀직선의 기울기와 절편으로부터 구한 각 흡착등온식의 상수를 **Table 2**에 제시하였다. 결과에서 보는 바와 같이 세가



(a) before biosorption

(b) after Pb biosorption

Fig. 7. Transmission Electron Microphotographs of *Chlorella pyrenoidosa*.

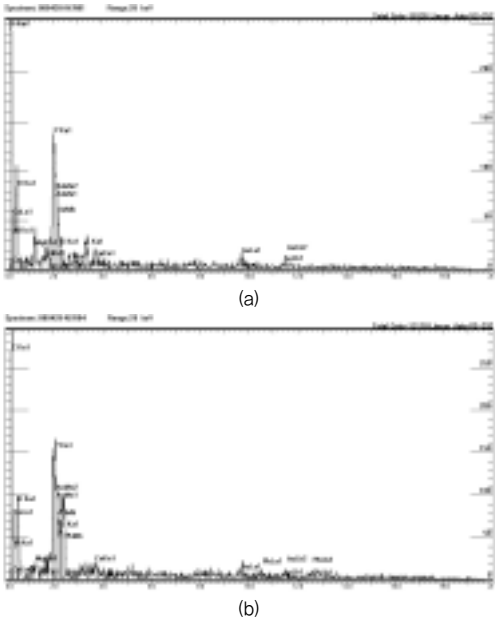
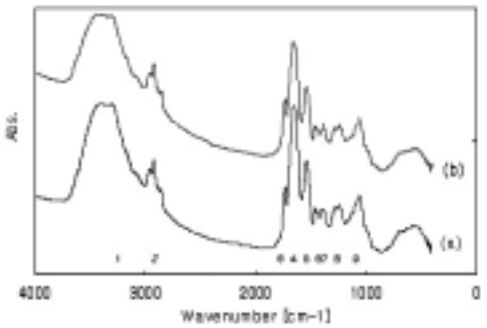


Fig. 8. Energy Dispersive X-ray Spectra of *Chlorella pyrenoidosa* (a) before and (b) after Biosorption of Pb.

지 고정체에 의한 Pb의 흡착은 Freundlich 흡착 등온식에 더 높은 상관성을 나타내었다. 일반적으로 흡착등온식으로부터 구한 n과 K값은 흡착제의 흡착력을 결정하는 상수로 1/n 값이 작을수록 그리고 K값 혹은 b의 값이 클수록 평형흡착량이 증가하며, 액상흡착 조작에서는 1/n 값이 0.1~0.5일 때 흡착되기 쉽고 2 이상의 값을 가질때에는 흡착이 어렵다고 알려져 있다.[9, 19] 따라서 균체와 세가지 고정체에 의한 Pb 흡착은 1/n 값으로 볼 때 유효한 흡착능을 가짐을 알 수 있으며, K와 b값의 크기로 볼 때 Ca-alginate로 고정화한 경우, *K*-carrageenan으로 고정화한 경우, 그리고 Polyacrylamide로 고정화한 경우의 순으로 평형 흡착량이 높을 것으로 나타났으며, 이는 앞의 실험결과와 정확하게 일치하였다.

3.6. 흡착 현상 확인과 작용기 분석

조류에 의한 Pb의 흡착을 확인하기 위하여 흡착전 · 후 *Chlorella pyrenoidosa*에 대해 투과 전자현미경(TEM, Transmission electron microscope, JEOL, JEM-2100)과 EDS(Energy dispersive X-ray spectroscope, JEOL, JSM-6400) 분석을 실시하여, 결과를 **Fig. 7**과 **8**에 각각 제시하였다. TEM 사진을 통해 흡착과정중 원형 혹은 타원형의 *Chlorella pyrenoidosa* 세포에 중금속(Pb)이 결합되어 있음을 확인할 수 있으며, EDS 분석결과 중금속 흡착전에는 조류를 구성하는 물질인 탄소(C)와 질소(N), 산소(O), 인(P)과 칼슘(Ca) 및 칼륨(K) 등이 구성 원소의 대부분이었으나, Pb 흡착후에는 Pb pick가 관찰됨으로써 Pb의 결합을 확인할 수 있



NO Assignment		
1 Hydroxyl Group	2 Alkane	3 Carbo-acid (C=O)
4 Amide I	5 Amide II	6 Alkane
7 Carbo-acid (COOH)	8 Carbo-acid (COO-)	9 Sulfoxide

Fig. 9. FT-IR spectra of *Chlorella pyrenoidosa* (a) before and (b) after Biosorption of Pb.

었다. EDS 분석에서 흡착전 · 후 검출된 Au는 분석을 위한 시료 coating 때문에 나타난 것으로 사료된다.

다음은 *Chlorella pyrenoidosa*에 의한 Pb의 흡착에 관여하는 표면 작용기(functional group)를 분석하기 위해 흡착전 · 후 *Chlorella pyrenoidosa*에 대한 FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) 분석을 실시하였으며, 그 결과를 **Fig. 9**에 제시하였다. 이를 통해 중금속 Pb 이온과 치환될 것으로 생각되는 functional group을 확인할 수 있었는데, *Chlorella pyrenoidosa* 표면에는 carbo-acid, amide와 sulfoxide, hydroxyl group, alkane 등의 작용기가 존재하는 것으로 나타났으며, 그 중 Pb 흡착에 관여하는 주요 표면 작용기는 carbo -acid와 amide인 것으로 판단되었다.

3.7. 탈착 특성

Pb 이온을 흡착한 *Chlorella prenoidosa* 고정체의 재생 가능성을 알아보기 위하여 여러 가지 탈착제에서 Pb의 탈착효율에 관해 실험한 결과를 **Fig. 10**과 **11**에 제시하였다.

먼저, Ca-alginate로 고정화한 *Chlorella prenoidosa* 고정체에 대하여 0.1 M 농도의 여러 가지 탈착제에서 시간에 따른 Pb 탈착효율을 실험하여 탈착속도를 측정하였는데, **Fig. 10**에서 보는 바와 같이 다섯 종류의 탈착제 모두에서 비교적 빠른 속도로 탈착되어 약 40~60분 후에는 거의 대부분의 탈착제에서 탈착 평형에 도달함을 알 수 있으며, 따라서 Pb 탈착에 소요되는 시간은 60분 정도면 충분할 것으로 생각되었다.

다음은 탈착제의 종류별 농도에 따른 탈착효율을 알아보기 위하여 5가지 탈착제에 대하여 0.01 M과 0.1 M, 0.3 M의 세 가지 농도로 탈착실험을 수행한 결과를 **Fig. 11**에 제시하였는데, 대부분의 탈착제에서 대체적으로 탈착제의 농도가 높아질수록 Pb 탈착율도 향상되는 것으로 나타났다. 먼저 (a) Ca-

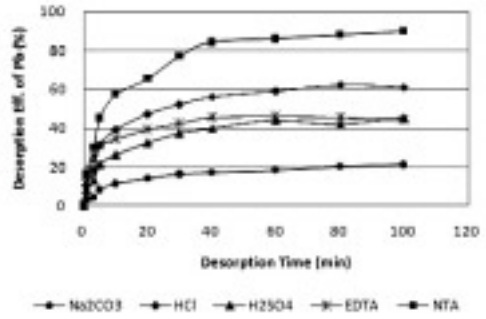


Fig. 10. Desorption efficiency of Pb from *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with Ca-alginate depend on reaction time.

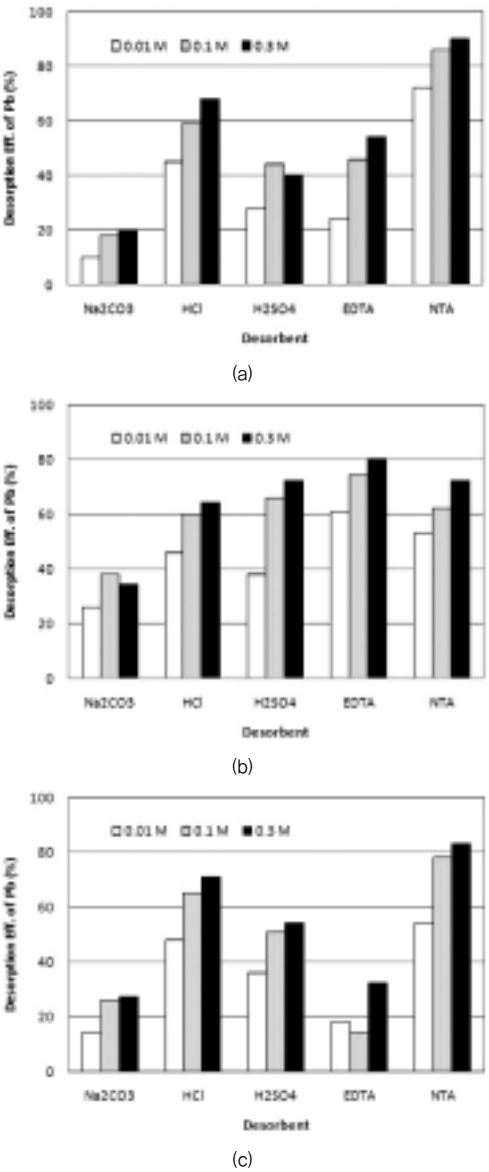


Fig. 11. Desorption efficiency of Pb from *Chlorella pyrenoidosa* immobilized with (a) Ca-alginate, (b) Polyacrylamide, and (c) K-carrageenan depending on various desorbent solutions.

alginate로 고정화한 *Chlorella prenoidosa* 고정체의 경우 탈착제 종류에 따른 탈착효율은 NTA > HCl > EDTA > H_2SO_4 > Na_2CO_3 순으로 나타나 전반적으로 알칼리에 비하여 산성 탈착제가 더 높은 탈착율을 나타냄을 알 수 있으며, 0.3 M의 NTA로 탈착하였을 때 약 90%의 탈착효율을 얻을 수 있었다. (b) Polyacrylamide로 고정한 경우에는 EDTA > H_2SO_4 > NTA > HCl > Na_2CO_3 순으로 나타나 EDTA와 H_2SO_4에 의한 탈착율이 상대적으로 높음을 알 수 있으나, 최대 탈착효율은 0.3 M의 EDTA로 탈착하였을 때 80% 전후에 불과하였다. 또한, (c)의 *K*-carrageenan에 의해 고정한 경우에는 NTA > HCl > H_2SO_4 > EDTA ≈ Na_2CO_3 순으로 Polyacrylamide로 고정한 경우와는 약간 다른 양상을 나타내었으며, NTA에 의한 탈착의 경우만 제외하면 Polyacrylamide로 고정화한 경우에 비해 탈착율이 전반적으로 낮게 나타났으나, 0.3 M의 NTA로 탈착을 수행할 때 83%의 탈착율을 얻을 수 있었다.

4. 결 론

담수 녹조류인 *Chlorella prenoidosa*를 Pb의 흡착 처리를 위한 산업공정에 적용하기 위하여 Ca-alginate와 Polyacrylamide, *K*-carrageenan을 이용하여 각각 고정한 후 이들 고정체에 대한 Pb의 흡착 특성과 여러 탈착제에 의한 탈착특성을 실험하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*의 경우 10분 내외에 흡착평형에 도달하였으나, 세가지 방법으로 고정한 *Chlorella prenoidosa* 고정체의 경우 흡착평형에 도달하는 시간은 40~80분으로 지연되었다.
2. 초기 Pb 농도 200 mg/L에서 고정하지 않은 *Chlorella prenoidosa*의 흡착능은 80.4 mg/g 이었으나, 조류의 함량이 3%가 되도록 Chlorella prenoidosa를 고정한 경우 고정화 방법에 따라 흡착능이 달라 Ca-alginate로 고정화한 경우 4.68 mg/g, Polyacrylamide로 고정화한 경우 2.53 mg/g, *K*-carrageenan으로 고정화한 경우 3.68 mg/g 으로 나타났다.
3. Pb 흡착능은 *Chlorella prenoidosa* 균체와 고정체의 경우 모두 초기 Pb의 농도를 50에서 500 mg/L까지, 흡착제 양을 균체의 경우는 0.5에서 3.0 g/L까지, 고정체의 경우는 15에서 60 g/L까지, 그리고 pH를 2.0에서 5.5까지 변화시킬 때, Pb의 농도가 높을수록, 투입되는 흡착제의 양

이 적을수록, pH가 높을수록 흡착능도 높게 나타났다.

4. 생물흡착 속도를 Lagergren의 1차와 2차 모형식에 적용한 결과, *Chlorella prenoidosa*에 의한 Pb 흡착은 균체와 고정체의 경우 모두 2차 모형식에 의해 잘 모사되었다 (R^2=0.995~0.999). 또한 Freundlich 등온흡착식과 Langmuir 등온흡착식으로 *Chlorella prenoidosa*에 의한 Pb의 등온흡착 결과를 해석한 결과, Freundlich 등온흡착식에 더 높은 상관성을 나타내었다(R^2=0.916~0.950).
5. *Chlorella prenoidosa*에 의한 Pb의 흡착은 흡착전과 후의 *Chlorella prenoidosa* 균체에 대한 TEM, EDS 분석을 통해 확인하였고, FT-IR 분석을 통해 흡착에 관여하는 주요 표면 작용기가 carbo-acid와 amide임을 확인하였다.
6. *Chlorella prenoidosa* 고정체에 흡착된 Pb의 탈착은 60분 이내에 평형에 도달하였으며, 탈착제 농도가 높을수록 탈착율도 높았다. 탈착제에 따른 탈착효율은 Ca-alginate와 *K*-carrageenan로 고정화한 경우 NTA가, polyacrylamide로 고정한 경우 EDTA가 가장 높은 탈착효율을 나타내어 전반적으로 NTA와 HCl, EDTA 등 산성 탈착제의 경우 높게 나타났고 탄산염인 Na_2CO_3의 경우 가장 낮게 나타났으며, 최적조건에서 고정화방법에 따라 80% 이상의 탈착효율을 얻을 수 있었다.

KSEE

사 사

이 논문은 2008년도 충북대학교 학술연구 지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. EPA, "Recovery of Metals from Sludges and Wastewaters", EPA/600/S2-91/041, 548-028/40080(1991).
2. 김성현, 송훈, 손석일, 임인권, 정욱진, "*Zoogloea ramigera* 115SLR을 이용한 납 생물흡착특성", 상하수도학회지, **20**(1), 63~70(2006).
3. Volesky. B., Biosorption of Heavy Metals, CRC Press, Inc.(1990).
4. Kandah, M., Abu Al-Rub F.A., and Al-Dabaybeh, N., "The aqueous adsorption of copper and cadmium ions on sheep manure", *Adsorption Science Technolo.*, **21**, 501~509(2003).
5. Kuhn, S. P., and Pfister, R. M., "Adsorption of mixed metals and cadmium by calcium-alginate immobilized *Zoogloea ramigera*", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 613~618(1989).
6. Angerer, A., Klipp, B., and Braun, V., "Iron transport systems of *Serratia marcescens*", *J. Bacterial.*, **174**(4), 1378~1387(1992).
7. William, H. Lee and Michael, Rosenbaum, Chlorella, McGraw-Hill(1987).
8. U.S. Wikipedia Home Page, http://www.wikipedia.org (2001).
9. Tsezos, M., S. H. Noh and M. H. I. Baird, "A batch reactor mass transfer kinetic model for immobilized biomass", *Biotech. Bioeng.*, **32**, 545~553(1988).
10. 조주식, "중금속 내성균의 균체내 중금속 축적 특성 및 중금속 흡착제로서의 이용", 경상대학교 대학원 박사학위논문(1995).
11. Ho, YS, and McKay, G., "Pseudo-second order model for sorption processes", *Process Biochem.*, **34**, 451~465(1999).
12. Pan, Xiangliang, Wang, Jianlong and Zhang, Daoyong, "Biosorption of Pb(Ⅱ) by *Pleurotus ostreatus* immobilized in calcium alginate gel", *Process Biochem.*, **40**, 2799~2803(2005).
13. Nakajima, A., Horikoshi, T., and Sakaguchi, T., "Recovery of uranium by immobilized microorganism", *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **16**, 88~91(1982).
14. Fristoe, B. R., and Nelson, P. O., "Equilibrium chemical modeling of heavy metals in activated sludge", *Water Res.*, **17**(7), 771~778(1983).
15. Gong, R., Ding, Y., Liu, H., Chen, Q., and Liu Z., "Lead biosorption and desorption by intact and pretreated *Spirulina maxima*", *Chemosphere*, **58**, 125~130(2005).
16. Gokhale, S. V., Jyoti, K. K., and Lele, S. S., "Kinetic and equilibrium modeling of chromium(Ⅳ) biosorption on fresh and spent *Spiurlina platensis/Chlorella vulgaris* biomass", *Bioresource Tech.*, **99**(9), 3600~3608(2008).
17. Freundlich, H., Colloid and Capillary Chemistry, Metheun, London (1926).
18. Langmuir, I. J., "The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum", *Journal of the American Chemical Society*, **40**, 1361~1403(1918).
19. 北川睦夫, 활성탄 수처리 기술과 관리, 신광문화사(1995)
20. Fuminiko Ogata, Naohito Kawasaki, Takeo Nakomura and Seiki Tanada, "Removal of arsenious ion by calcined aluminum oxyhydroxide (boehmite)", *J. Colloid Interface Sci.*, **300**, 88~93 (2006).