

Pseudomonas cepacia H42와 *Saccharomyces cerevisiae* SEY2102의 중금속 흡착비교

박지원¹⁾ · 정유정¹⁾ · 류은주²⁾ · 김병우³⁾ · 권현주³⁾ · 이은우³⁾ · 이현태³⁾ · 김영희³⁾*

부산대학교 제약학과, ¹⁾이화여자대학교 대학원, ²⁾한서대학교 미용학과, ³⁾동의대학교 생명응용학과
(2010년 7월 20일 접수; 2010년 8월 3일 수정; 2010년 8월 13일 채택)

Comparison of Heavy Metal Adsorption between *Pseudomonas cepacia* H42 and *Saccharomyces cerevisiae* SEY2102

Ji-Won Park, Yu-Jeong Jeong¹⁾, Eun-Ju Ryu²⁾, Byung-Woo Kim³⁾, Hyun-Ju Kwon³⁾,
Eun-Woo Lee³⁾, Hyun-Tae Lee³⁾, Young-Hee Kim³⁾*

Department of Pharmaceutical, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

¹⁾Graduate School of Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

²⁾Department of Cosmetology, Hanseo University, Seo San City, Chung-Nam 356-706, Korea

³⁾Department of Life Science and Biotechnology, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

(Manuscript received 20 July, 2010; revised 3 August, 2010; accepted 13 August, 2010)

Abstract

To examine the potency of biosorbent, the adsorption capacity of *Pseudomonas cepacia* H42 isolated from fresh water plant root was compared with *Saccharomyces cerevisiae* SEY2102 on bases of biomass, concentration of heavy metal, presence of light metals, immobilized cell, and ion exchange resin. *P. cepacia* H42 biomass of 0.05-0.5 g/L increased adsorption and above 1.0 g/L of yeast biomass was the most effective in adsorption. By applying the same amount of biomass, lead showed the highest adsorption on two strains and the adsorption strength was lead>copper>cadmium on both strains. The high heavy metal concentration induced the high adsorption capacity. *P. cepacia* H42 adsorption was in the order of copper>lead>cadmium and lead>copper>cadmium by yeast in 10 mg/L. Both strain showed same adsorption strength in the order of lead>copper>cadmium in 100 mg/L and 1000 mg/L. The adsorption capacity of both yeast and *P. cepacia* H42 was decreased in the presence of light metals and the order of cadmium>copper>lead. Mg^{2+} induced the least adsorption while Na^+ induced highest adsorption. The adsorption capacity of immobilized yeast and *P. cepacia* H42 was detected between 200-400 mL in flow volume and decreased in the presence of light metals. Ion exchange containing light metals caused 30-50% adsorption reduction on both strains.

Key Words : Adsorption, Lead, Copper, Cadmium

1. 서론

중금속은 여러 산업공정에서 생성되고, 배출되어 환경내로 들어가고 먹이사슬을 통하여 그 독성이 생물체 및 인간에게도 축적된다는 것이 문제가 되고 있으며 생태계에도 위협적이다. 산업의 가속화에 따른

*Corresponding author : Young-Hee Kim, Department of Life Science & Biotechnology, Dongeui University, Busan 614-714, Korea
Phone: +82-51-890-1535
E-mail: yhkim@deu.ac.kr

생태계의 물질 순환에는 독성 물질의 혼재를 피할 수 없으며 자연계에 존재하는 중금속은 단독으로 존재하는 경우보다 혼합된 형태로 존재하므로 독성이 커질 수밖에 없다. 최근에 이르러 여러 독성 물질의 비독화에 물리적, 화학적, 생물학적 방법이 사용되고 있으며 (Ahn 등, 1997; Chen 등, 2008; Volesky 등, 1995; Congeevaram 등, 2007; Dostalek 등, 2004; Hamdy 등, 2000; Suh 등, 1999; Wang 등, 2006; Wang 등, 2009), 다양한 생물체를 이용하고자 하는 노력이 시도되고 그중에서는 손쉽게 구할 수 있는 미생물, 생물을 이용한 생물 흡착의 이용이 효율성이나 비용면에서 주목받고 있는 실정이다 (Tobin 등, 1984; Hassen 등, 1998; Lee 등, 1997; Yan 등, 2003; Kim 등, 2000; Lesmana 등, 2009; Machado 등, 2008; Nies, 1999).

지금까지 생물체(biomass)를 이용한 중금속 제거 효율을 높일 수 있는 대상으로 세균(Hassen 등, 1998), 균류(Congeevaram 등, 2007, Tobin 등, 1984; Yan 등, 2003), 해조류(Volesky 등, 1995; Hamdy 등, 2000; Lee 등, 1997), 농업폐기물(Lesmana 등, 2009) 등이 연구대상이 되고 있다. 이들은 특성이 매우 다양하며 중금속 제거나 귀금속 회수에 효율적일 수 있고, 생물 흡착제의 요건을 충족시킬 수 있는 우수한 흡착력, 경제적 비용 절감, 산업, 농업 공정에서 나오는 폐기물 이용가능성, 금속 흡착 후 탈착을 통한 재사용 가능성 등이 우수 생물 흡착제로서 각광 받게 되었다(Yan 등, 2003; Lesmana 등, 2009).

생물 흡착제로서의 미생물의 특성은 넓은 분포도, 환경 친화적, 실험실 조건에서의 배양이 쉽다는 점이며 크기가 적어 사용 후 폐기 문제가 심각하지 않다는 이점 등으로 주목 받는 대상이 되었으며 다양한 미생물을 이용한 금속 흡착제에 대한 시도가 이루어지고 있는 상황이나 그 대상이 제한적인 점도 있어 폭 넓은 탐색과 시도를 요구하고 있는 실정이다. Lesmana(2009) 등이 최근 보고에서 미래의 생물 흡착제의 개발에는 생세포를 이용하여 오염물질을 제거하기 위한 hybrid 기술과, 세포 고정화기술, 이온교환수지와 같은 상업적 생물 흡착제 개발임을 밝혔으며 생물 흡착제가 가장 확실한 대안임을 제시하였다. 그러나 다양한 생물 흡착제가 각 금속에 대한 흡착 정도나 흡착후의 재생 및 재사용에 따른 문제점에 대한 확실성이 부족하여 관심이 집

중되고 있으나 아직 많은 과제를 안고 있는 부분으로 지속적 연구가 필요하다.

본 실험에서는 일부 세균만이 생물 흡착제로서의 결과가 알려져 있어 자연계에서 분리된 미생물을 대상으로 자정능력을 시험하기 위한 과정에서 분리된 세균인 *Pseudomonas cepacia* H42와(Kim, 1999; Kim 등, 2005; Kim 등, 2003; Kim, 2002; Park 등, 2001) 진균인 효모를 이용하여 대표적 중금속인 납, 카드뮴, 구리를 대상으로 미생물 균체를 이용한 생물 흡착제 개발 가능성에 대한 차이점을 비교하여 보고자 하였다. 선행 연구에 이어 중금속 이온별 흡착 특성과 최적 조건 등을 밝혔으므로 본 내용에서는 효모와 세균을 대상으로 중금속 제거정도를 적용 균체량, 중금속 농도별 흡착 정도, 중금속 존재시의 흡착력 차이, 고정화 세포를 이용한 흡착 정도를 비교하고, 물리적 처리방법의 하나인 이온교환수지와와의 비교를 통하여 보다 효율적인 생물 흡착제 개발을 위한 조건을 제시하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용균주 및 배양

본 과정에서는 중금속 흡착실험을 위한 균주로는 산업 공정중에 가장 흔히 쓰이는 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* SEY2102 표준균주를 서울코람바이오텍에서 분양받아 사용하고 세균 균주는 담수 수계에서 분리된 세균을 대상으로 자정력을 검토하기 위한 과정에서 분리된 균으로 앞선 보고 등에서(Kim, 1999; Kim 등, 2005; Kim 등, 2003; Kim, 2002; Park 등, 2001) 생육특성, 중금속 흡착조건 등이 검토된 세균인 *Pseudomonas cepacia* H42를 사용하였다. 본 실험에 사용한 효모를 배양하기 위한 기본배지로는 YPD배지(yeast extract 1%, peptone 2%, dextrose 2%, pH 5.5)를 사용하여 30℃에서 72시간 진탕 배양 후 균체만을 회수하여(2,000x g, 20분) 사용하였으며 흡착조건은 기존의 보고 자료의 조건 및 예비 실험을 통하여 설정하였다(Dolstalek 등, 2004; Suh 등, 1999; Wang 등, 2006; Wang 등, 2009; Volesky 등, 1995). 세균균주를 배양하기 위한 기본 배지로는 nutrient broth를 사용하였으며 대량 균체 생산을 위해 1%의 soytone과

yeast extract를 첨가하고 28°C에서 24 시간 진탕 배양 후 균체를 원심분리 후(3,000x g, 30분) 회수하여 사용하였다.

2.2. 균체동결건조

효모 및 세균 균체를 수분이 없는 상태의 흡착제로 사용하기 위해 균체를 회수한 후 멸균수로 현탁, 세척 단계를 거치고 다시 원심분리 하는 과정을 3회 반복한 후 20 mL의 멸균수에 현탁하여 deep freezer에 3시간 정도 급속 동결을 시키고 난 뒤, 기능기들의 변성을 막기 위하여 동결 건조기(EYELA, Tokyo Rikakikai, Japan)에서 진공이 된 상태에서 72시간 동결건조 과정을 거쳐 세포내 함유된 수분을 완전히 제거한 후 막 자사발에 갈아 분말화 시킨 다음 사용하였다.

2.3. 중금속 농도 및 정량법

본 과정에서 사용된 중금속의 종류는 높은 수용성을 가진 $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 및 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ 였으며 모두 2차 탈 이온수에 녹여 일정농도로 맞추어 사용하였다. 중금속 이온 농도 정량을 위하여 원자흡광광도계(Atomic adsorption spectrometry, Shimadzu AA6500 Series, Japan)를 사용하였다. 우선 각각의 납, 카드뮴 및 구리의 표준용액을 적당한 희석배수로 희석하여 표준 검량선을 작성하였고 예비측정을 거쳐 검량선의 측정 가능 농도범위를 정하였고 시료도 검량선의 측정 범위에 들어가도록 희석하여 정량하였다.

2.4. 중금속 흡착 실험

중금속 이온별 흡착강도 결정은 균체를 이용하여 앞선 보고에서 밝혀진 최적 조건인 pH 4, 온도 40°C 등을(Ahn 등, 1997; Wang 등, 2009; Tobin 등, 1984; Lee 등, 1997; Lesmana 등, 2009) 적용하였고 효모는 예비 실험을 거쳐 수지와 의 평형을 위하여 pH 4, 반응 온도 37°C, 반응시간은 10분을 적용하였다. 1000 mg/L 초기 금속 농도 용액 100 mL과 균체 0.05-1.0 g을 500 mL Erlenmeyer flask에 넣고 진탕 배양기에서 30°C, 150 rpm으로 교반시키면서 일정시간동안 1 mL의 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 적절히 희석한 후 원자흡광광도계를 사용하여 각각의 잔존 중금속 이온

의 농도를 측정하였다. 균체량별 중금속 제거량 측정에서는 각각의 균체량을 0.05 g, 0.25 g, 0.5 g, 1.0 g으로 측정하여 1000 mg/L의 혼합된 중금속 용액과 반응시켜 그 흡착량을 정량 비교하였다. 중금속 반응용액의 농도는 각각 10 mg/L, 100 mg/L, 1000 mg/L을 만들어 각각의 균체량을 사용하여 흡착시켰을 때의 중금속 제거량을 측정 확인하였다. 중금속 존재 하에서의 흡착 실험은 1000 mg/L 중금속 반응 용액에 각 중금속 이온이 중금속 이온과 동일한 농도인 1000 mg/L의 NaCl, CaCl₂, KCl, MgSO₄·4H₂O의 중금속을 넣고 100 mL의 용액에 0.5 g-1.0 g의 균체 량의 비율로 넣은 후 반응 시켰을 때의 흡착량을 정량 비교하였다. 전 과정은 반복 과정을 거쳐 행하고 흡착 관련 정량 및 관련식 등은 선행 결과들을 참조하였다(Kim 등, 2003; Kim, 2002; Park 등, 2001).

2.5. 고정화 세포 및 이온교환수지를 이용한 중금속 흡착

흡착력을 높이기 위한 세포의 고정화(immobilized)는 Bready법(1994)에 따라 행하였다. 균체 10 g을 젖은 상태로 8°C의 0.15 M의 NaCl 용액 20 mL에 잘 현탁한 뒤 8°C의 acrylamide 용액(acrylamide monomer 7.5 g, Junsei Chemical, Japan; N, N'-methylenebisacrylamide, 0.4 g, Sigma, USA) 24 mL을 첨가하여 유리막대로 잘 저어 혼합하여 사용하였다. 그리고 2.5% TEMED (N,N,N',N', tetramethylenethylenediamine) 1 mL을 첨가하고 마지막으로 1% ammonium persulfate 5 mL을 첨가한 뒤 50°C 이하에서 exothermic polymerization 반응을 1시간 정도 유도하였다. 고정화 세포를 bead 화하기 위해 우선 중합반응이 끝난 상태의 균체를 멸균수 100 mL에 넣은 후 마쇄기를 이용하여 갈아주고 정지시켜 여과지로 한번 거른 후 고정화 균체를 모아 사용하였다. 고정화 세포를 이용한 중금속 흡착 제거량은 각각의 고정화 균체를 open column (18 x 130 mm)에 충전한 후 유속량을 4.32 m³/m²/day 로 하여 초기농도 1000 mg/L의 용액을 흘려 100 mL씩 분획물을 받아 잔존 중금속량을 측정하여 제거되는 중금속 량을 측정하였다. 대조군으로 사용한 음이온 교환수지에 의한 중금속 흡착제거량은 강 염기 styrene type인 Amberlite IRA-410 (chloride form, Sigma, USA)를 사용하였으며 음이온 교환수지를 동일한

column에 동일한 높이로 충전한 후 같은 초기농도 및 일정유속으로 흘러 100 mL씩 분획물을 회수하여 잔존 중금속량을 측정하여 제거되는 중금속량을 측정하였다. 이를 위하여 1000 mg/L의 중금속 반응 용액에 1000 mg/L의 NaCl, CaCl₂, KCl, MgSO₄ · 4H₂O 를 넣고 위와 동일한 조건으로 분획물을 회수하여 제거된 중금속량을 측정하였다.

3. 결과

3.1. 균체량

미생물의 중금속 흡착기전에는 균체의 역할이 중요한데 균체량의 정도에 따른 중금속 흡착력의 차이는 건조 균체량을 적용시켜 보아야 한다(Ahn 등, 1997; Chen 등, 2008; Volesky 등, 1995; Hamdy, 2000; Hassen 등, 1998). 본 과정에서는 Table 1에서 보는바와 같이 *P. cepacia* H42는 균체량이 증가시 흡착력이 증가하였으나 0.5 g이상에서는 큰 차이를 나타내지 못하였고 중금속별로는 납>구리>카드뮴 순으로 흡착력에 차이를 나타내었다. 납은 다른 중금속에 비하여 2-3배의 높은 흡착력을 나타내어 납의 제거력이 높음을 보여주었다. 한편 효모도 균체량이 많을수록 흡착력이 높아졌으나 1.0 g에서 가장 높은 흡착력을 나타내었으며 그 정도는 *P. cepacia* H42와 같은 양상을 나타내었다. 세 중금속 중에는 두 균주에서 납의

흡착력이 가장 높은 특성을 나타냈다. 균체량이 흡착제로서의 영향은 흡착제의 양이 많은 경우 흡착 표면적은 증가하나 단위 부피 내에서는 일정량 이상 증가시 흡착제간의 거리가 가까워져 흡착 활성점이 공유되거나 흡착 활성점 간의 상호 방해 작용이 발생하기 때문에 흡착력에 영향이 있음을 설명하였다(Dostalek 등, 2004). 따라서 적정량의 균체 적용이 흡착력을 높이는 데 중요한 인자가 될 수 있다.

3.2. 반응용액농도

한편 반응용액 농도별 흡착력 비교에서는 Table 2에서 보는바와 같이 초기 중금속 반응 용액의 농도가 10 mg/L에서는 *P. cepacia* H42는 구리>납>카드뮴 순으로, 효모는 납>구리>카드뮴의 순으로 나타났다. 100 mg/L나 1000 mg/L 경우엔 두 균주 모두 납>구리>카드뮴의 순으로 나타났다. 부유 상태에서 중금속 흡착력이 농도에 따라 차이가 남을 볼 수 있었으며 농도가 높을수록 높은 흡착력을 나타내어 다량의 중금속 제거에 효과가 있을 것으로 보였다. 농도별 비교에서도 두 균주 모두 납의 흡착력이 높음을 나타내었고 구리와 카드뮴은 두 균주 모두에서 카드뮴 보다는 구리가 더 높은 제거력을 나타내었는데 구리의 축적엔 세포의 신진대사 등이 크게 의존 한다는 보고(Wang 등, 2006)로 보아 적용 균체의 세포내 부착 부위나 구조 변경 등이 영향을 미친것으로 추정 되었다.

Table 1. Comparison of uptake capacity of increasing biomass for heavy metals

	<i>P. cepacia</i> H42				<i>S. cerevisiae</i> SEY2102			
	0.05	0.25	0.5	1.0	0.05	0.25	0.5	1.0
^{a)} Biomass								
Lead	^{b)} 40±0.05	52±0.05	70±0.32	72±0.27	58±0.06	60±0.76	78±0.01	90±0.45
Cadmium	17±0.65	22±0.27	30±0.12	30±0.05	20±0.24	30±0.05	38±0.56	43±0.16
Copper	17±0.03	30±0.32	35±0.25	50±0.21	32±0.26	50±0.56	58±0.02	78±0.03

Initial concentration is 1000 mg/L. Values are means±S.D. n=4. a): Biomass: g, b): Biosorption capacity, mg/g-biomass.

Table 2. Comparison of uptake capacity of increasing heavy metal solution concentration for heavy metals

Concentration	<i>P. cepacia</i> H42			<i>S. cerevisiae</i> SEY2102		
	10 mg/L	100 mg/L	1000 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	1000 mg/L
Lead	^{a)} 8±0.05	70±0.15	275±0.11	5±0.20	72±0.06	290±0.33
Cadmium	6±0.00	28±0.00	88±0.01	2±0.01	32±0.26	83±0.43
Copper	9±0.05	50±0.76	148±0.00	3±0.32	59±0.23	150±0.40

a): Biosorption capacity, mg/g-biomass. Values are means±S.D. n=4

3.3. 경금속 혼재

경금속 존재하의 제거량 비교에서는 Table 3에서 보는바와 같이 경금속 존재하에서 *P. cepacia* H42는 Na^+ , K^+ 혼재시 남은 별로 영향을 받지 않았고 Ca^{2+} 이나 Mg^{2+} 혼재시에는 흡착력이 감소되는 양상을 나타내었으며 구리나 카드뮴은 크게 영향을 받지 않음을 볼 수 있었다. 효모의 경우엔 효모가 *P. cepacia* H42보다는 전체적으로 흡착율이 높음을 볼 수 있었으나 4가지 경금속 혼재시 Mg^{2+} 가 가장 흡착력을 저해하는 것으로 나타났다. 이것은 경금속이 균체의 세포표면에 대한 친화성이 중금속에 비해 상대적으로 낮다는 것을 단적으로 보여주는 결과로 판단되었다(Congeevaram 등, 2007; Dolstalek 등, 2004). Dolstalek(2004)의 보고에서는 효모의 흡착력이 K^+ , Mg^{2+} 등의 제한이 카드뮴의 축적을 높인다는 결과나 K^+ 제한 배지내에서 구리의 흡착이 높아진다는 등의 결과로 보아 경금속이 흡착력에 영향을 미침을 알 수 있다.

3.4. 고정화 세포

미생물세포를 고정화하면 열이나, 강산, 강알칼리, 유기용매와 같은 독성물질 등으로부터 미생물을 보호할 수 있고 고정화 미생물을 조작하거나 회수하기도 용이해 재사용이 가능하고 때로는 유전자 안정성을 향상시킬 수도 있다. 미생물 고정화 방법은 여러 가지가 있으나 고분자 물질의 bead 내에 미생물을 고정화하는(Bready 등, 1994) 방법이 가장 보편적으로 사용되며 본 과정에서도 균체를 고정하여 중금속 흡착을 시험한 결과는 Fig. 1, 2에 나타내었다. 고정화 세포 자체와 경금속 존재시의 중금속 흡착율을 비교시 두 균체 모두에서 흡착율이 떨어지는 것으로 나타났는데 이는 고정화 세포가 경금속 혼재시 흡착율을 저하시

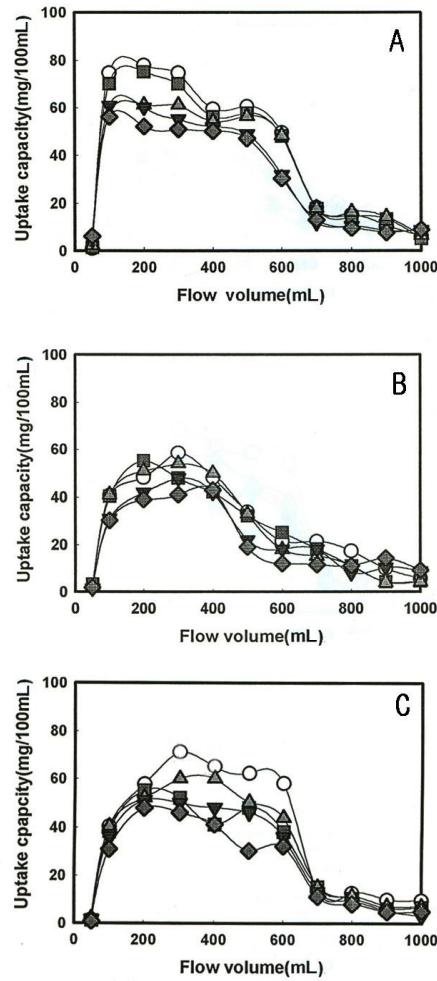


Fig. 1. Biosorption of heavy metals in light metals by columns packed with immobilized *P. cepacia* H42. Initial concentration is 1000 mg/L. A : Lead, B : Cadmium, C : Copper. ○ : none, ■ : Na^+ , ▲ : K^+ , ▼ : Ca^{2+} , ■ : Mg^{2+}

Table 3. Comparison of uptake capacity of heavy metals in mixed light metals

Light metals	<i>P. cepacia</i> H42			<i>S. cerevisiae</i> SEY2102		
	Lead	Cadmium	Copper	Lead	Cadmium	Copper
None	^{a)} 75±0.33	28±0.32	28±0.34	90±0.20	41±0.64	78±0.33
Na^+	70±0.60	22±0.14	21±0.11	80±0.50	31±0.28	60±0.21
K^+	69±0.15	21±0.00	20±0.52	78±0.50	28±1.20	58±0.14
Ca^{2+}	52±0.20	28±0.20	27±0.60	61±0.40	32±0.70	42±1.30
Mg^{2+}	42±0.90	26±0.60	26±0.40	58±0.70	30±1.20	40±1.40

Initial concentration is 1000 mg/L. Values are means±S.D. n=4. a): Biosorption capacity, mg/g-biomass.

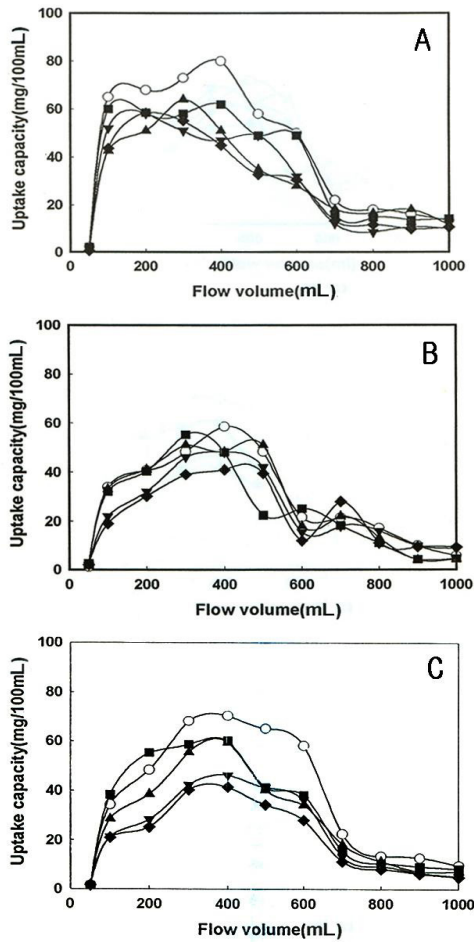


Fig. 2. Biosorption of heavy metals in light metals by columns packed with immobilized *S. cerevisiae* SEY2102. Initial concentration is 1000 mg/L. A : Lead, B : Cadmium, C : Copper. ○ : none, ■ : Na⁺, ▲ : K⁺, ▼ : Ca²⁺, ■ : Mg²⁺

키는 것으로 보이며 *P. cepacia* H42가 효모보다 흡착율이 더 떨어지는 것으로 나타났고 세 중금속 중 구리의 흡착율이 가장 떨어지는 결과를 나타내었다. 중금속 별로는 *P. cepacia* H42의 경우 구리>카드뮴>납의 순으로 흡착력이 낮아졌으며 효모의 경우에도 구리가 가장 높은 영향을 받았으며 Wang(2006, 2008)등의 보고에서도 고정화 세포가 50-70% 이상의 흡착력 감소를 가져오는 것으로 보고되었다. 본 과정의 결과는 고정화 세포가 중금속 흡착에 영향을 미치는 것으로

보아 중금속 혼재의 경우 흡착시에 부유상태의 세포를 적용할 것인지 고정화 상태의 세포를 선택할 것인지를 검토할 필요가 있을 것으로 판단되었다.

3.5. 이온교환수지에 의한 흡착

고정화 세포에 대한 중금속 혼재시의 흡착율을 비교하기 위하여 대조군으로 사용한 이온교환수지에 대한 비교는 Fig. 3에 나타내었다. 수지를 이용한 경우 세 중금속 모두 흡착률이 30-50% 현저히 감소함을 볼

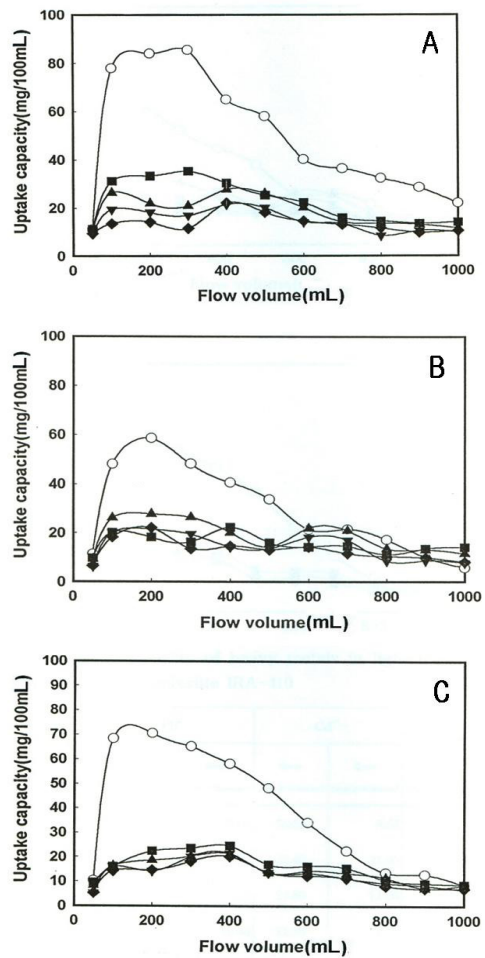


Fig. 3. Adsorption of heavy metals in light metals by columns packed with ion exchange resin Amberlite IRA410. Initial concentration is 1000 mg/L. A : Lead, B : Cadmium, C : Copper. ○ : none, ■ : Na⁺, ▲ : K⁺, ▼ : Ca²⁺, ■ : Mg²⁺

수 있었으며 경금속 중에서는 Mg^{2+} 의 영향이 가장 흡착을 저하를 유도하였다. Volesky(1995)는 Mg^{2+} , H^+ , Ca^{2+} 이온 등이 균체로부터 흡착에 의해 방출됨을 증명하였으며 수질개선이나 폐수처리 시 흔히 사용되는 약한 산성교환수지에 의한 중금속 제거는 균체를 이용한 원리와 같으며 수지는 화학적으로 단순한 이온교환수지를 이용하며 흡착원리는 electrostatic attraction에 의한 것이라고 하였다. 고정화 균체를 이용하여 이온교환수지를 통과시킨 중금속 제거력에 대한 비교에서는 경금속이 존재시 흡착력이 떨어지는 것이 관찰되었으며 이는 이온교환수지의 작용기 form이 균체표면의 다수의 작용기 보다는 단일하게 이루어진 것 때문으로 판단되었다.

4. 고 찰

중금속 흡착제로서 생물체의 이용 가능성은 그 장점과 특성에 대한 연구가 진행중이며 그 성과가 인정되기도 하였다(Congeevaram 등, 2007; Dolstalek 등, 2004; Wang 등, 2006; Wang 등, 2009; Lesmana 등, 2009). 세균이나 균류의 경우 생육과정에 금속이온이 영양원으로 필요하며 생물체의 수동적인 흡착과 착화합물 형성 등의 과정을 통해 금속이온의 제거가 가능하다(Ann 등, 1997; Dolstalek 등, 2004; Congeevaram 등, 2007; Suh 등, 1999; Tobin 등, 1984; Hassen 등, 1998). 이와 같은 생물체 표면이나 내부로 중금속을 흡착시켜 제거하는 생물흡착제의 장점으로는 고농도, 저 농도의 중금속을 처리하는데 매우 효과적이고 경금속들이 함께 존재하여도 중금속만을 선택적으로 제거하는 것이 가능하다는 장점이 주목되고 있다(Yan 등 2003).

지금까지 세균을 대상으로 중금속 흡착에 대한 결과로는 *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* 등으로 매우 제한적이며 실험 대상 중금속의 종류도 다양하지 못하며 흡착 정도도 큰 차이를 나타내고 있다. *Pseudomonas* sp. 중에서는 *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. cepacia* 등의 중금속 흡착 사례가 보고되었으나 *P. cepacia*에 대한 자료는 구리뿐이며 따라서 본 과정에서 밝혀진 납과 카드뮴에 대한 *P. cepacia* H42의 흡착자료가 의

의가 있을 것으로 보였다. 구리에 대한 흡착력 비교는 *P. aeruginosa*, *P. stutzeri*가 각각 23 mg/L로 나타났으나 본 과정 분리주인 *P. cepacia* H42는 50 mg/L로서 두배 이상 흡착력이 높았으며, *P. putida*와의 비교에서는 납은 1.3배, 카드뮴의 경우엔 4배 정도 흡착력이 높음을 알 수 있었다. Wang(2009)의 보고에 따르면 같은 속, 종이라 할지라도 같은 중금속에 대한 흡착 정도가 크게 10-15배 정도 차이가 나는 사례도 있어 같은 속, 종 및 아종에 따른 결과도 비교해 보아야 하며 다양성을 검토하여야 할 부분이며 다양한 세균을 대상으로 한 탐색이 요구 된다.

효모의 경우 *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. pichia*, *Candida*(Volesky 등, 1995; Dolstalek 등 2004; Wang 등, 2006; Wang 등, 2009) 등이 중금속 흡착에 사용되었으며 효모는 여러 산업 공정에 사용됨에 따라 어떤 과정에서 유래된 효모이냐에 따라 중금속 흡착력에 다양한 양상을 나타내며 흡착 정도도 많은 차이를 나타낸다. 최근의 보고 자료(Wang 등 2009)에 의하면, *S. cerevisiae*의 경우, 부유 세포와 고정화 세포를 비교한 결과 부유 세포가 고정화 세포보다 납은 2배, 구리는 1.3배, 카드뮴은 2-5배 정도 높았으며, 주정 공장에서 유래된 *S. cerevisiae*의 경우엔 중금속별로 10배 이상의 차이가 나는 경우도 있었으며 본 과정에 사용된 효모 균주는 각각의 중금속에 대하여 납은 90 mg/L, 구리는 78 mg/L, 카드뮴은 43 mg/L로 비교적 흡착력이 높은 것으로 나타나 이용 가능성을 볼 수 있었다.

Hamdy(2000)의 보고서에서 해양 해조류의 세포벽 구조 다당류에 금속이온 흡착이 용이함이 알려졌으며 특히 납의 흡착력이 높은 결과를 보고하여 앞으로 해조류와 각각의 흡착능력이 다양한 미생물과의 혼합 사용시의 흡착결과도 비교하여 보면 매우 흥미로운 결과를 이끌어낼 수 있을 것으로 보이며 다른 균주와의 비교나 유전적 특성을 파악하여 균주를 개량하면 높은 흡착력을 기대 할 수도 있을 것이다. 세 중금속 중에서는 *P. cepacia* H42나 효모 모두 납의 제거력이 높음이 관찰되었는데 인간과 함께 고대로부터 사용되어 온 납 제거 가능성을 보여 주었다. 납의 제거에 성질이 다른 두 균체의 특성이 같은 중금속을 흡착하는 것으로 나타나 환경내에서 두 균주의 생육 조건이

충족 된다면 납의 제거에 두 균주의 혼용이 제거율을 더욱 높일 수 있을 것으로 판단되었다.

중금속제거에 수지를 적용하기에는 수지의 가격이 높아 비 효율적이며 값싸고 쉽게 구할 수 있는 미생물이나 생물체의 이용이 생 흡착제로서 더욱 효과적이다. 중금속 흡착제로 사용 가능한 생물 흡착제로는 중금속 흡착력의 우수성과, 상업성 등을 고려하여야 하는데 이상의 과정에서 사용된 *P. cepacia* H42의 경우 자연계에서 분리되었고 배양이 쉽고 생육조건이 까다롭지 않아 생 흡착제로서의 가능성을 볼 수 있고, 효모 또한 주정, 제빵 등의 과정에서 구하기 쉬운 재료로서 흡착제의 재료로서 충분한 활용가치가 있는 것으로 생 흡착제로서 개발 가능성이 크다(Wang 등, 2006; Wang 등, 2009; Lesmana 등, 2009).

환경 내에는 pH, 이온의 종류, 농도, 영양 등의 여러 인자가 미생물의 변화를 결정 짓는 요인이 되며 금속의 변화와 미생물의 저항성도 다양해 질 수 있으므로 이들에 영향을 덜 받는 균주의 개발(Hassen 등, 1998; Lesmana 등, 2009; Nies, 1999; Kim 등, 2005)도 새로운 생 흡착제 개발에 의미를 더 할 수 있을 것이며, 중금속에 대한 다양한 미생물의 특성을 찾는 것은 앞으로의 과제이며, 실험실 수준을 벗어난 대규모 실험이 요구되고, 대안으로 제시되고 있는 생 흡착제를 고정화하는 문제, 흡착제로 사용한 후 재생이나 재활용에 대한 개선, 흡착과정의 최적화 조건, 생산에 따른 저비용 문제도 풀어야할 과제이다.

5. 결론

미생물을 이용한 생 흡착제 개발 가능성을 검토하기 위한 과정의 일환으로 담수식물의 뿌리에서 분리된 세균인 *Pseudomonas cepacia* H42와 진균인 효모 *Saccharomyces cerevisiae* SEY2102 표준균주를 대상으로 중금속인 납, 구리, 카드뮴에 대한 흡착력을 사용 균체량, 중금속 농도, 경금속 존재, 고정화 세포이용 및 이온교환수지 적용에 따라 비교한 결과는 다음과 같다.

1) 균체량의 경우 *P. cepacia* H42는 균체량이 0.05-0.5 g/L 에서는 흡착력이 증가하였으며 효모의 경우 1.0 g/L에서 흡착력이 가장 높았다. 동량의 균체를 적

용시 세 중금속 중 납의 흡착력이 가장 높았으며 *P. cepacia* H42나 효모 모두 중금속 흡착 강도의 순은 납>구리>카드뮴의 순으로 나타났다.

2) 중금속농도에 따른 흡착력 비교에서는 농도가 높아질수록 흡착력도 높아졌으며 10 mg/L에서 *P. cepacia* H42는 구리>납>카드뮴의 순으로 효모는 납>구리>카드뮴의 순으로 차이가 났으며 100 mg/L과 1000 mg/L에서는 두 균주 모두 납>구리>카드뮴의 순으로 나타났다.

3) 경금속 존재시 전체적인 흡착력은 감소하였으며 그 정도는 카드뮴>구리>납의 순으로 나타났고 경금속중 Na^+ 가 존재시 가장 중금속 흡착력이 영향을 덜 받는 것으로 나타났고 Mg^{2+} 의 흡착방해가 가장 크게 나타났다.

4) 고정화 균체에 대한 흡착은 경금속 존재시 *P. cepacia* H42나 효모 모두 중금속 흡착력이 떨어지는 것으로 나타났다.

5) 이온교환수지에 의한 중금속 흡착은 경금속 존재시 전체적 흡착율이 30-50% 감소하였다.

6) 이상의 결과로 본 과정에서 사용된 두 균주 모두 중금속 흡착제로서의 가능성과 흡착력의 차이를 볼 수 있었고 균주별 균체 적용량, 중금속 농도와 중금속 별 흡착력 차이, 경금속 존재시의 흡착력 차이를 비교해 볼 수 있었으며 본 과정의 결과는 상업용 생 흡착제 개발의 최대 변수인 세포의 고정화방법의 개선과 수지의 적용에도 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2009 학년도 동의대학교 교내연구비(과제번호 2009 AA103)에 의해 연구되었으며 이에 감사합니다.

참고 문헌

- Ahn, K. H., Shin, Y. K., Suh, K. H., 1997, Removal, Recovery, and Process development of heavy metal by immobilized biomass methods, J. Korean Environmental Sci. Soci., 6(1), 61-67.
- Bready, D., Duncan, J. R., 1994, Bioaccumulation of

- metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 41, 149-154.
- Chen, X. C., Chen, J. Y., Wu, W. X., Chen, Y. X., 2008, Immobilization of heavy metals by *Pseudomonas putida* CZ1/goethite composites from solution, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 61, 170-175.
- Congeevaram, S., Dhanarani, S., Park, J., Dexilin, M., Thamaraiselvi, K., 2007, Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates, J. of Hazardous Materials, 146, 270-277.
- Dostalek, P., Patzak, M., Matejka, P., 2004, Influence of specific growth limitation on biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*, International Biodeterioration & Biodegradation, 54, 203-207.
- Hamdy, A. A., 2000, Removal of Pb^{2+} by biomass of marine algae, Current Microbiology, 41, 239-245.
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., 1998, Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*, Bioresource Technol., 65, 73-82.
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., 1998, Resistance of environmental bacteria to heavy metals, Bioresource Technol., 64, 7-15.
- Kim, D. S., Suh, J. H., Song, S. K., 2000, A variation of microorganism by the biosorption of Pb^{2+} , J. Korean Environmental Sci. Soci., 9(4), 331-337.
- Kim, Y. H., 1999, Isolation of bacteria from freshwater plant roots, Korean J. of Life Science, 9, 525-530.
- Kim, Y. H., 2002, Effects of lead, copper and cadmium on *Pseudomonas cepacia* KH410 isolated from freshwater plant root, The Korean Journal of Microbiology, 38(1), 26-30.
- Kim, Y. H., Jeong, Y. K., Kim, K. H., Kim, B. W., Chung, K. T., Kim, B. S., Park, J. W., Lee, D. J., Shin, H. C., Lee, S. G., 2003, Characteristics of heavy metal biosorption by *Enterobacter intermedius* KH410, Korean J. of Life Science, 13(4), 421-427.
- Kim, Y. H., Lee, S. J., Jeong, Y. K., Chung, K. T., 2005, Characteristics of heavy metal resistant plasmid in *Enterobacter cloacae* K41, Korean J. of Life Science, 15(4), 566-571.
- Lee, M. G., Suh, J. H., Kam, S. G., Lee, D. H., Oh, Y. H., 1997, Characteristics of lead biosorption by biosorbents of marine brown algae, J. Korean Environmental Sci. Soci., 6(5), 531-539.
- Lesmana, S. O., Febriana, N., Soetaredjo, F. E., Sunarso, J., Ismadji, S., 2009, Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater, Biochemical Engineering Journal, 44, 19-41.
- Machado, M. D., Santos, M. S. F., Gouveia, C. H. M., Soares, V. M., Soares, E. V., 2008, Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: The flocculation as a separation process, Bioresource Technology, 99, 2107-2115.
- Nies, S. H., 1999, Microbial heavy-metal resistance, Appl. Microbiol. Biotechnol., 730-750.
- Park, J. W., Kim, Y. H., 2001, Characteristics of heavy metal biosorption by *Pseudomonas cepacia* KH410, The Korean Journal of Microbiology, 37(3), 197-203.
- Suh, J. H., Yun, J. W., Kim, D. S., 1999, Effect of pH on Pb^{2+} accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans*, Bioprocess Engineering, 471-477.
- Tobin, J. M., Cooper, D. G., Neufeld, R. J., 1984, Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass, Appl. and Environ. Microbiology, 47(4), 821-824.
- Volesky, B., Holan, Z. R., 1995, Biosorption of heavy metals. Biotechnology Prog., 11, 235-250.
- Volesky, B., May-Phillips, H. A., 1995, Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 42, 797-806.
- Wang, J., Chen, C., 2006, Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. Biotechnology Advances, 24, 427-451.
- Wang, J., Chen, C., 2009, Biosorbents for heavy metals removal and their future, Biotechnology Advances, 27, 195-226.
- Yan, G., Viraraghavan, T., 2003, Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*, Water Research, 37, 4486-4496.