

*Pseudomonas aeruginosa*를 이용한 생물학적 폐수처리에서
카드뮴 이온(Cd^{2+})의 저해 특성

The inhibition characteristics of Cd^{2+} ion in the biological
wastewater treatment using *Pseudomonas aeruginosa*

최석순*, 양순남, 김경태, 강동일, 김장규**, 김남기
용인공업전문대학 제지공업과*, 현대중공업**, 성균관대학교 화학공학과

1. 서론

공업의 고도 성장과 이로 인하여 유출되는 산업폐기물의 함유된 각종 중금속류가 무한한 잔류 독성을 가지므로 이를 제거하려는 관심이 높아지고 있다. 오염원 중 특히 카드뮴, 수은, 니켈, 크롬, 납등에 의한 환경오염은 자연의 생태계를 변화시켜 우리의 생활권까지 위협을 주고 있어 더욱 문제가 되고 있다. 그 중 카드뮴 이온은건전지, 염색원료, 자동차 다이아등의 제조 및 금속공업, 석유화학공업, 초자가공, 사진재료생산 등으로 인하여 비교적 낮은 농도이기는 하나 광범위한 오염원으로 하 천과 호수를 오염시키고, 미오염지역이라도 음식, 공기등에서 피할수 없으며 1일 카드뮴의 분진이 40~50 μ g의 섭취에 의하여 그 중 6% 정도가 체내에 흡수되며, 1일 카드뮴의 분진이 2~10 μ g인 경우 그 중 증기로 25~50%가 체내로 흡수된다. 카드뮴에 의한 만성중독으로 이따이 이따이 병을 일으키며 콩팥의 장애로 신장에서의 인, 칼슘의 재흡수가 방해되며 칼슘의 유출이 일어나 골다공증(골연화증) 증상이 나타난다고 알려졌다.^{1,2)} 지금까지 금속과 미생물의 상호작용에 관한 미생물의 생리 및 대사적인 연구가 주로 수행되어 왔으며³⁾ 최근들어 폐수중의 각종 중금속을 제거하는 실용적인 연구가 이루어지기 시작하였다. 그러나 국내에서는 주로 활성오니 공법과 응집 침전법이 주로 사용되고 있으나 제거 효율이 낮을 뿐만 아니라 중금속에 의한 활성슬러지의 성장 저해현상 및 제거기작 등에 관한 연구가 아직까지 초보적인 단계에 있다. 따라서 중금속 분해능이 우수한 균주를 선발하여 이를 실제 폐수처리 공정에 적용할 수 있는 기본적인 실험 자료 및 관련 이론의 정립이 필요하게 되었다. 본 연구에서는 토양이나 하수 중에서 서식하고 자연계의 탄소원을 이용하여 호기적 대사를 취하는 미생물로서 난분해성 유기물의 완전 분해와 재 이용에 다채로운 물질 분해능을 가지고 있는 *Pseudomonas aeruginosa* 미생물을^{4,5)} 이용하여 온도, 초기 카드뮴 이온의 농도, 초기 pH 를 변화시키면서 카드뮴 이온의 거동 특성을 파악하였

으며 또한 균체에 의한 축적량을 파악하므로써 이를 폐수처리 공정에 응용하고자 한다.

2. 이론

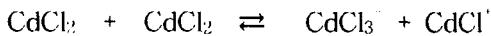
1) 카드뮴이온(Cd^{2+})의 균체 축적 및 그 mechanism은 크게 두가지 과정을 거친다.

(A) 균체의 표면축적

1. Mechanism.

Cadmium adsorption \Rightarrow Reactive sites binding \Rightarrow Nucleus growth

카드뮴이온(Cd^{2+})은 외각전자가 18개로 되어 큰 핵 전하를 가지며 $CdCl_2$ 는 스스로 착염 음이온(complex anion)을 형성한다. 이것을 화학 반응식으로 표현하면 다음과 같다.



이러한 과정을 자동착염(auto complex)의 생성이라 하며 여기서 카드뮴이온이 균체의 외부표면에 흡착되어 활성점과 결합하고 핵성장의 과정을 거쳐 균체가 커진다.

(B) 균체의 내부축적

1. Mechanism.

Intracellular deposit and accumulation \rightarrow Cd^{2+} protein binding (metallothionin) \rightarrow Detoxification.

균체내 카드뮴이온(Cd^{2+})이 침전, 축적되는 과정으로 카드뮴이온에 특이하게 결합하는 단백질이 존재하는데 이를 metallothionein이라 한다. 이 단백질은 6000-7000g의 저분자량이고 성분상으로 cystein 함량이 높으며 다른 금속(Hg, Zn, Cu)등과도 친화력이 있는 특징이 있다. metallothionein의 기능은 금속운반체(Cd^{2+})의 독소에 대해서 해독작용을 나타내며 보호기능을 내포한다. 본 실험에서는 균체의 표면축적과 균체의 내부축적의 두 mechanism을 통해서 카드뮴이온이 제거된다고 할 수 있다.

2) 온도와 농도변화에 의한 카드뮴이온(Cd^{2+})의 제거율

농도를 기준으로 카드뮴이온의 제거율을 나타내면 다음과 같다.

$$\text{Removal rate(\%)} = \frac{C_i - C_e}{C_i} \times 100$$

Where C_i : Cadmium (Cd^{2+}) concentration in the influent at t=0 hour.

C_e : Cadmium (Cd^{2+}) concentration in the effluent at t=t hour.

3. 실험

1) 사용균주 및 배양조건

실험에 사용된 미생물은 *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 27853)으로서 한국중균협회(KFCC)로 부터 구입하여 사용하였다. 이 균체의 특성은 cell diameter가 0.5-0.7 μ m이고 cell 길이가 1.5-3.0 μ m이며 최적성장 온도가 37 $^{\circ}$ C, 최적 pH는 7.0-7.5로 알려져 있다.⁵⁾ 또한 형태학적으로 직선 막대형이며 한 개 또는 여러 개의 극성 편모를 가지고 있을 뿐만 아니라 Gram reaction에서 negative를 나타내며 호흡으로 대사(metabolism)와 화학 유기영양체(chemorgantrophic)를 갖는다.^{3,5)}

균체 배양조건은 초기 pH가 7.0-7.5, 배양 온도가 35 $^{\circ}$ C이며 일정한 온도를 유지하기 위하여 incubator에서 배양하였다. 배양액은 고압솥(auto clave)을 이용하여 1kgf/cm² gauge, 121 $^{\circ}$ C에서 20-30분간 살균하였으며 살균에 앞서 1N-NaOH와 1N-HCl 수용액을 사용하여 초기 pH를 조절하였다.²⁾ 배양액 조성은 Table 1에 나타내었으며 균체 배양은 백금이로 단일 균주를 취하여 접종 배양액(seed culture medium) 10ml에 직접 접종한 후 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하며 90ml의 접종 배양액(seed culture medium)에 다시 접종하여 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하였다. 배양한 균체 수용액 100ml를 접종 배양액(seed culture medium) 900ml에 재접종 하였다. 이러한 반응은 균일한 배양을 위하여 자동온도조절장치를 이용하였으며 200 rpm의 속도로서 교반해 주었다. 그리고 사용된 중금속의 특성은 Table 1.에 나타내었다.

Table 1. Physical properties of CdCl₂ · 2 1/2 H₂O ⁶⁾

Component	Properties
CdCl ₂ · 2 1/2 H ₂ O	(1) Molecular weight : 228.32g
	(2) Specific gravity : 3.33g
	(3) Solubility in water : (0 $^{\circ}$ C) 90g/100ml : (100 $^{\circ}$ C)147g/100ml
	(4) Permission concentration to human : 0.05mg/m ³
	(5) LD ₅₀ : 88 mg/kg

2) 실험장치 및 방법

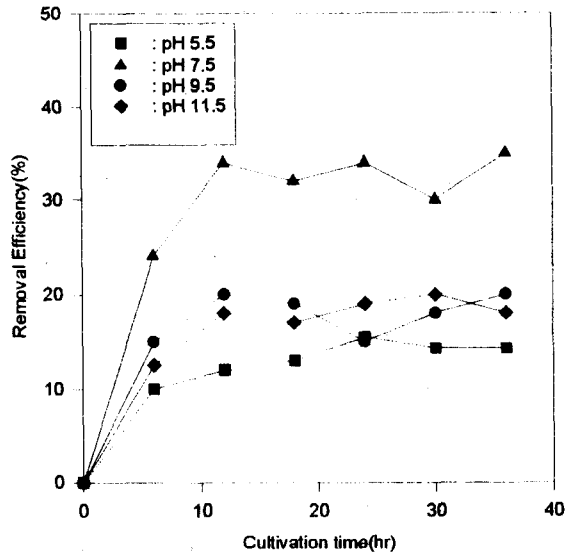
실험은 진탕교반조(water bath shaker)에서 100ml 삼각 플라스크를 6개 장착하여 회분식 형태로 실시하였으며 밀폐된 플라스크 상부에 air filter를 부착하여 오염방지와 함께 산소전달이 잘 이루어지도록 하였다. 그리고 incubator에서 진탕 배양시킨 균체를 접종 배양액 10%(v/v)로 균일하게 접종하였

으며, 1000ml 삼각 플라스크에 배양액과 함께 카드뮴 농도가 10, 50, 100 ppm이 되도록 혼합하였다. 이 혼합 수용액을 진탕반응조에서 배양시키면서 6 시간마다 균체 성장과정을 관찰하면서 또한 같은 시간 간격으로 카드뮴 시료를 채취하여 3500 rpm의 원심분리기에서 10분간 원심 분리한 후 상정액을 분석에 사용하였다.

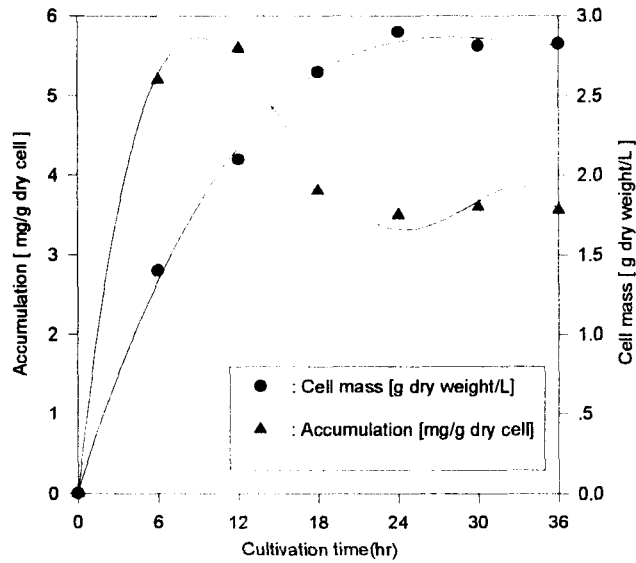
본 균체가 성장할 수 있는 30, 35, 40 °C의 온도 범위 및 5.5, 7.5, 9.5의 초기 pH 변화에 따른 균체의 성장 변화를 조사하였으며 이에 따른 각 농도별 (10, 50, 100 ppm)로부터 카드뮴이 균체에 축적되는 최적 축적량을 구하였다.

3) 분석 및 측정방법

채취한 시료를 원심분리기로 8000 rpm에서 4시간 원심분리 후 이를 증류수로 3회 세척하고 incubator에서 서서히 20시간 건조하여 건조중량 (dry weight)를 측정하였다. 또한 시료를 10% 희석하여 spectrophotometer에서 660nm의 파장으로 흡광도를 측정하였으며 이를 흡광도 표준검량선으로 부터 균체 농도를 결정하였다. 그리고 카드뮴 농도는 원자흡광도법에 의하여 atomic absorption spectrophotometer(HITACHI, U-3210)을 사용하였으며 파장 228nm에서 결정하였다.



Removal efficiency of Cd²⁺ (20 ppm) vs. time at 35°C



Accumulation of Cd²⁺ (50 ppm) vs. time

4. 결론

본 연구는 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)를 이용하여 생물학적 폐수처리에서 최적의 운전 조건을 결정하기 위하여 폐수 용액중의 카드뮴 이온(Cd²⁺)의 거동 특성을 파악하였다.

- 1)균주의 성장 과정에서 카드뮴에 의한 저해효과는 10 ≪ 50 ≪ 100 ppm의 순서를 나타내었다.
- 2)카드뮴 이온의 최적 축적량은 초기 pH 7.5, 온도 35^oC인 때 10 ppm에서 0.8 mg/g dry cell, 50 ppm에서 5.0 mg/g dry cell, 100 ppm에서 20.0 mg/g dry cell를 나타내었다.
- 3)최적의 성장조건에서 균체는 배양 18시간을 기준으로 농도별(10, 50, 100 ppm)로 각각 약 28, 50, 80 %의 최소 저해율을 나타내었다.

5. 참고문헌

1. Manuel, J.T.Carrondo, John N.leaster Roger Perry, J. Water. Pollution. Control. Fed, vol 53, p. 45, 1981.
2. 최석순, 김남기 “ Cd(Ⅱ)이 함유된 폐수처리에서 *Pseudomonas aeruginosa*의 거동특성 ”, 성균관대학교 논문집 , vol. 47, No. 2, pp. 123~133, 1996.
3. Stanier, R.Y., "The microbial world " 4th ed, Prentice-Hall, p. 276, 1976.
4. Nakagami, K.T., Futai, F., and Maeda, K., "J. Ferment. Technol" ., vol. 46, p. 506, 1968.
5. Krieg, and Noear, "Bergeys Manual of Systematic Bacteriology", vol 1, pp. 140-169, 1983.
6. "위험물 편람" ,대웅출판사, p. 327, 1993.