

# *Zoogloea ramigera* 115의 응집특성과 그것의 생물고분자를 이용한 중금속 제거

고영환\*, 현근탁\*, 김재하\*

## Flocculation Characteristics of *Zoogloea ramigera* 115 and Removal of Heavy Metal Cations With its Biopolymer

Ko Young-Hwan\*, Hyun Guen-Tag\*, Kim Jai-Ha\*

### Summary

Optimum pH and vitamin requirement for the growth of *Zoogloea ramigera* 115 which was originally isolated from an active sludge in wastewater treatment plant were determined. Effect of C/N ratio on floc formation by the strain 115 was also investigated. Biopolymer known to be directly involved in flocculation was isolated and tested for its sorption capacity of metal cations. The optimum pH for cell growth was between 6.25 and 7.00, and a biotin or a vit. B<sub>12</sub> was required as a growth factor. Although the increase in C/N ratio stimulated floc formation, C/N ratios over 27 showed similar degrees of flocculation. The concentration of biopolymer produced by *Z. ramigera* 115 at C/N ratio 90 was 34.43 g/l, which could be improved. The sorption capacity of the biopolymer was 1.3350 μmol/mg for Cu<sup>2+</sup> and 0.3120 μmol/mg for Cd<sup>2+</sup>, respectively. When a solution containing about 5 mg/l of each metal cation was treated with the biopolymer in a continuous type reactor, the cations were removed in the order of Cu<sup>2+</sup> > Mn<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup> > Cr<sup>2+</sup> with an individual efficiency of 77, 75, 43, and 20%. The batch type reactor also showed similar removal efficiency. The practical approach for the use of biopolymer produced by *Z. ramigera* 115 needs to be tried in the field of wastewater treatment and heavy metal cation recovery.

### 서 론

*Zoogloea ramigera*는 그람음성 간균으로 아포와 포낭이 없으며, 0.5-1.0 x 1.0-3.0 μm의 크기로

*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* 등과 더불어 활성오니의 우점종으로 보고된 균이다(Crabtree et al., 1965). *Z. ramigera* 115는 생육중에 군체가 모여서 floc(균괴)을 형성하는 특성을 가지고 있으며, floc은 손가락 모양 혹은 수지상 결정으로 성

\* 공과대학 식품공학과(Dept. of Food Science and Technology, Cheju National University, Chejudo, 690-756, Korea)

장한다. 또한 floc은 단단해서 부드럽거나 끈적끈적하지 않으며, 진탕배양에서는 별도모양으로 성장한다. 그 크기는 0.5-3.0mm로 그의 유발원인으로는 자체적으로 합성된 섬유상의 중합체가 지적되고 있다(Friedman et al., 1969). 이 중합체의 존재는 전자현미경하에서 증명되었고, 그의 생합성 경로나 구조에 대해서는 명확히 밝혀진 것이 없다(Easso et al., 1987). 다만, 이 중합체는 섬유소 분해효소에 의해서 다소 공격을 받으므로 그 구조상에  $\beta$ -1, 4 결합을 갖고 있는 것으로 믿어지며(Friedman et al., 1968), 중합체의 구성성분으로 glucose, galactose, pyruvate가 알려져, 다가의 전해질과 같은 기능을 보유하고 있다고 추정된다(Franzen and Norberg, 1984). 이 중합체는 세포외 고분자 다당류로 floc의 형성이나, 금속이온의 흡착에 깊게 관련되어 있다고 본다. 균주115가 생산하는 다당류의 생리적 기능은 영양원이 빈약한 수서환경에서 생존하기 위하여 필요한 영양분들을 주위환경으로부터 흡착하여 세포주위에 농축하는 것이라고 유추할 따름이다.

*Z. ramigera* 115는 원래 폐수처리장의 활성오니로부터 분리된 균주로(Crabbtree et al., 1965), 이 균주의 특성은 폐수처리와 관련하여 그 효용성이 두가지 면에서 크게 평가되고 있다. 그중 하나는 응집성(또는 floc 형성능)으로 생물학적 처리후 처리수 중의 생물체와 물질을 분리시키는 것을 도와줌으로써(Friedman and Dugan, 1968), 다른 특성은 흡착능으로 폐수 중의 각종 유기물이나 금속이온 등 오염물질을 제거해 줌으로써, 양질의 처리수를 얻을 수 있도록 해준다. 그 이외에도 금속이온의 회수에 이런 균주가 이용될 수 있는 가능성은 있다.

금속이온은 대개 독성을 나타내며, 잔류기일과 생물학적 반감기가 비교적 긴 것으로 나타나, 토양중에 축적되거나 먹이연쇄를 통하여 농축될 가능성

이 있어, 단순히 땅속에 묻는 방법은 지양되어야 하며, 이의 효과적인 처리문제가 대두되고 있다. 금속이온에 대한 흡착능은 토양자체보다도 미생물이 더 효과적이라는 점(Walker et al., 1989)도 간과되고 있는 실정이다. 또한 활성오니를 이용한 폐수처리장에서의 금속이온의 제거는 주로 흡착에 의한다고 보고된 바 있다(Kodukula et al., 1994). 몇몇 연구자(Norberg, 1983; Trujillo, 1991; Mullen et al., 1989)들은 미생물이 생산하는 생물고분자가 생분해성이 강하고 중금속 흡착능력이 뛰어나므로 이를 이용하여 폐수중 난분해성 물질이나 수은, 카드뮴등의 맹독성 중금속을 제거하려는 연구를 실시한 바 있다.

본 연구에서는 폐수의 생물학적 처리와 관련하여 *Zoogloea ramigera* 115 균주의 floc 형성에 의한 응집 특성에 대하여 기초실험을 실시하였고, floc 형성에 적합한 배양조건을 설정하여 생물고분자물질을 생산분리해서, 이를 중금속 제거에 응용하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 균주

*Zoogloea ramigera* 115(ATCC 25935)를 미국종균협회(American Type Culture Collection)로부터 구입하여 사용하였다. 단기간의 균주보존을 위하여 nutrient agar 배지를 이용하였고, 필요할 때마다 28°C에서 계대배양하였다.

### 2. 배양조건에 따른 균체량 측정

적절한 배양조건을 찾기 위해서 배양 pH, vitamin 첨가여부에 따른 회분배양실험을 실시하였다. 배양에 사용된 배지의 기본조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Minimal medium composition for *Z. ramigera*

Ingredient	Composition (%)	Ingredient	Composition (%)
Glucose	0.50	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.20
NH <sub>4</sub> Cl	0.05	FeSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	trace
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.20	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.10

1) vitamin 첨가여부에 따른 균체량 측정 :

Table 1과 같은 조성의 배지에 biotin, vit. B<sub>12</sub> (cobalamine), riboflavin을 첨가했을 때와 첨가하지 않았을 때의 균체량을 비교하기 위한 실험이다. 상기배지 100ml를 300ml 삼각플라스크에 넣고 pH를 6.5로 조절한 후 고압멸균기로 121°C에서 15분 동안 멸균하였다. 멸균배지를 실온까지 냉각한 후 각 vitamin을 최종농도 5×10<sup>-6</sup>g/ℓ가 되도록 첨가하였다. 이와 같이 준비된 배지에 배양기간이 짧은 균주를 1백금니씩 접종하고, 삼각플라스크를 진탕항온배양기에 넣어 25°C에서, 200rpm으로 48시간 동안 배양하였다. 배양액을 유리섬유(GF/C, Whatman)로 여과하여 얻어진 균체를 105°C의 항온건조기에서 건조하고, 데시케이터에서 냉각 후 그 무게를 측정하였다.

2) 배양pH에 따른 균체량 측정 :

Table 1과 같은 조성의 배지 100ml를 300ml 삼각플라스크에 넣고 pH를 5.5에서 8.0까지 단계적으로 조절한 후, 고압멸균기로 121°C에서 15분간 멸균하였다. membrane filter로 여과멸균된 biotin을 최종농도가 5×10<sup>-6</sup>g/ℓ로 되도록 냉각된 배지에 첨가하고, 균주를 1백금니씩 접종하였다. 접종된 삼각플라스크를 진탕항온배양기에 넣어 25°C에서, 200rpm으로 48시간 내지 72시간 동안 배양하였다. 배양액을 유리섬유(GF/C, Whatman)로 여과하여 균체를 얻고, 항온건조기로 105°C에서 건조하고 데시케이터에서 냉각 후 그 무게를 측정하였다.

3. C/N 조성비에 따른 floc 형성능 측정

배양pH에 따른 균체량 측정 실험에서의와 같은 조

성의 배지에서 암모늄염 등 여타 성분은 일정하게 유지하면서, glucose농도만을 0.05%에서 1.50%까지 단계적으로 변화시킴으로써 C/N 조성비가 1.5에서 45.0이 되도록 만든 각각의 배지를 floc 형성능 측정실험에 사용하였는데, 초기의 pH는 6.5로 조절하였다. 배양방법은 삼각플라스크를 이용한 회전배양으로 전술한 방법과 동일하였다. 단지 floc 형성능은 육안으로 판단하였다. 개개의 세포는 육안으로 관찰할 수 없을 정도로 작으나, floc은 크기로 볼 때 육안관찰하는데 어려움이 없었다.

4. 생물고분자 물질의 분리와 정량

배양조건에 따른 균체량과 floc 형성능에 대한 실험결과를 참고로하여 Table 2에 나타낸 것처럼 C/N 조성비 90으로 조성된 배지를 pH6.5로 조절하여, *Z. ramigera*에 의한 생물고분자 생산에 사용하였다. 25°C에서 72시간 동안 진탕배양한 배양액으로 부터 생물고분자를 추출분리하였다.

*Z. ramigera* 115에 의해서 생성된 생물고분자물질을 추출하기 위한 방법으로는 가압가열법, 초음파 파쇄법, 그리고 고속원심분리법이 있는데, 여기서는 이들 방법을 병행한 추출방법인 Norberg와 Enfors(1982)의 방법에 준하여 추출하였으며, 그 세부적인 내용은 다음과 같다.

고압멸균기로 121°C에서 10분 동안 증자한 배양액을 20초씩 3회에 걸쳐서 반복하여 초음파 파쇄하였다. 거기에 3배 부피의 증류수를 섞은 다음 12,000g에서 40분 동안 원심분리하여 균체등 침전물은 제거하고 상등액만 취하였다. 채취된 상등액을 재차 원심분리하여 잔존 침전물은 제거하고, 남은 상등액에 1%KCl을 함유한 propanol을 2배의 비율로 섞은 다음 4°C 냉장고에 1시간 이상 보관하였다. 여기서 침전된 다당류를 55°C 감압건조기에서 함량이

Table 2. Medium composition for biopolymer production by *Z. ramigera*

Ingredient	Concentration (g/ℓ)	Ingredient	Concentration (g/ℓ)
Glucose	50	FeSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	trace
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2	Yeast extract	0.01
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1	Biotin	5×10 <sup>-6</sup>
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.2	Vit. B <sub>12</sub>	5×10 <sup>-6</sup>
NaNO <sub>3</sub>	1.36		

될 때까지 건조시켜 무게를 측정함으로써 생물고분자량을 정량하였으며, 이렇게 분리된 생물고분자를 중금속제거 실험에 사용하였다.

### 5. 생물고분자에 의한 중금속 제거

*Z. ramigera*가 생산하는 생물고분자의 흡착능을 이용하여 중금속제거 실험을 다음과 같이 실시하였다.

#### 1) 중금속 이온의 농도 측정 :

시료중의 중금속 이온 농도를 atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer-2380)로 정량하였으며, 개개의 이온에 대한 분석조건은 Table 3에 나와 있는 바와 같다.

#### 2) 회분식 처리방법을 이용한 중금속 제거 :

생물고분자에 의한 중금속 흡착력을 측정하기 위해서 다음과 같이 실험하였다. 500ml 삼각플라스크에  $Cu^{2+}$ 와  $Cd^{2+}$ 이 각각 1.5645mM와 0.5097mM인 용액 300ml를 넣고 pH를 6.0으로 조절한 다음, 농도 34.43g/ℓ인 생물고분자 용액 10ml를 넣어 자석 교반기로 500rpm에서 연속적으로 교반시켰다. 중금속 이온과 생물고분자의 혼합액중 최종농도는  $Cu^{2+}$ 와  $Cd^{2+}$ 이 각각 1.5140mM과 0.4933mM, 생물고분자는 1.1106g/ℓ로 되었다. 교반이 이루어지는 동안 특정 시간대별로 시료를 10ml씩 채취하여 6000g에서 10분 동안 원심분리하고, 상등액만을 취하여 유리상태의 중금속 이온 농도를 위와 같이 분석하였다. 그로부터 생물고분자 단위량당 흡착된 중금속 이온의 양을 계산하였다. 한편으론  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  각각의 농도를 4.8387mg/ℓ로 일정하게 하고 위와 같은 실험을 실시하여 생물고분자에 의한 중금속 이온 제거율을 계산하였다.

#### 3) 연속식 처리방법을 이용한 중금속 제거 :

Fig. 1과 같은 연속식 처리장치를 이용하여 중금속 이온 제거실험을 실시하였다. 이 연속식 반응조는 생물고분자물질과 중금속과의 원활한 혼합을 위하여 원형 반응조 가운데 얇은 장애판을 갖고 있으며, 반응조 밑바닥에는 기포 발생기가 부착되어 있다. 펌프를 통하여 공급되는 생물고분자 용액의 농도는 34.43g/ℓ였고, 중금속 용액의 농도는  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ 이 각각 5mg/ℓ가 되도록 하였으며, pH는 6.0으로 조절하였다. 반응조에 유입되는 전체유량은 20ml/min로, 그중에서 중금속 용액이 19.5ml/min이었고, 생물고분자 용액은 0.5ml/min를 차지하였다. 따라서 반응조내의 중금속 이온농도는 각각 4.8750mg/ℓ이었다. 반응조로부터 유출되는 시료를 특정 시간대별로 10ml씩 채취하여, 6000g에서 10분 동안 원심분리한 다음, 상등액에

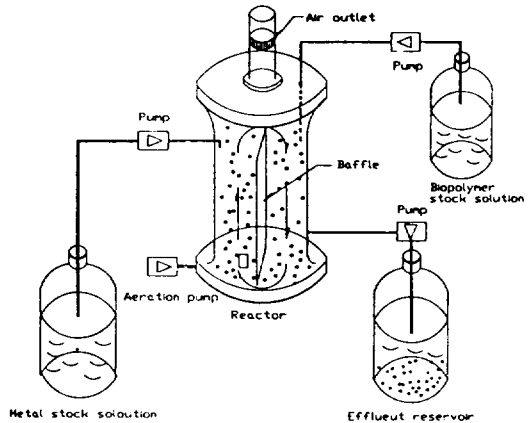


Fig. 1. Experimental setup of continuous type reactor for removal of heavy metal cations with biopolymer from *Z. ramigera*

Table 3. Conditions for analysis of heavy metal ions with atomic absorption spectrophotometer

Ions	Wave length (nm)	Lamp current (mA)	Slit width (mm)	Air flow rate (ℓ/min)	Acetylene flow rate (ℓ/min)
$Cd^{2+}$	228.3	4	0.7	40	15
$Cu^{2+}$	324.8	15	0.7	40	15
$Cr^{2+}$	852.1	10	0.4	40	15
$Mn^{2+}$	279.5	20	0.2	40	15

유리상태로 존재하는 각각의 중금속량을 전술한 바와 같이 정량하였고, 그로부터 생물고분자에 의한 중금속 이온 제거율을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 배양조건에 따른 균체량

*Z. ramigera*의 생육 촉진인자로서의 vitamin을 조사하기 위하여 glucose 최소배지에 세 종류의 vitamin을 첨가하여 배양한 후, 건조균체량을 정량한 결과를 Table. 4에서 나타내었다. vitamin을 첨가하지 않았을 때와 riboflavin만을 첨가했을 때에는 균체의 생육이 거의 없었으며, 이와 대조적으로 biotin이나 vit. B12를 독립적으로 첨가했을 때는 균체의 생육이 왕성하여, 건조균체량이 약 22내지 25mg/100ml에 상당하였다. 생육촉진효과가 있는 biotin과 vit. B12를 함께 배지에 첨가했을 경우에는, 각각의 vitamin을 독립적으로 첨가했을 경우에 비해서 현저한 차이가 없이 비슷한 균체량을 보였다. 폐수처리와 관련하여 이 균주가 영양분이 희박한 상태에서도 증식이 잘 된다는 점을 고려할 때, BOD를 최저의 수치까지 낮추는데 중요한 역할을 할 것으로 기대되며, 상기한 바와 같은 vitamin 요 구성은 활성오니 자체의 다양한 생물군집상(Amin, 1967)에 의하여 해결될 것으로 생각된다.

Table 4. Requirement of vitamins for growth of *Z. ramigera*

Culture medium	Dry cell weight (mg/100ml)
Minimal medium* only	1.20±0.52
Minimal medium+Riboflavin	1.50±0.75
Minimal medium+Biotin	25.10±1.25
Minimal medium+Vit. B <sub>12</sub>	22.40±1.50
Minimal medium+Vit. B <sub>12</sub> +Biotin	28.25±2.30

\* Minimal medium: the same medium as shown in Table 1.

배양액의 pH에 따른 균체량의 변화를 측정된 결

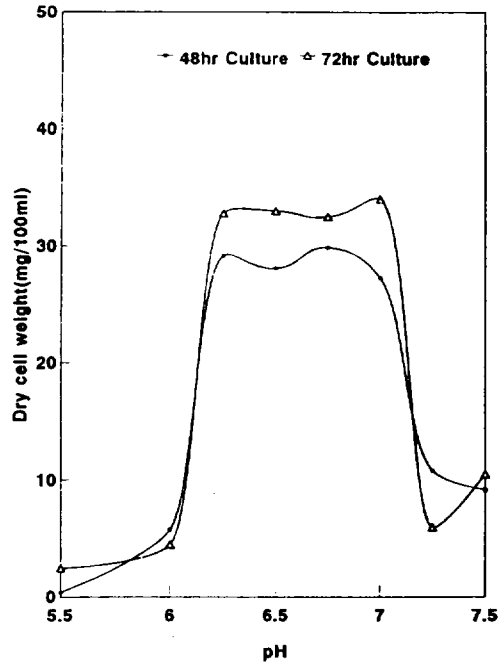


Fig. 2. Effect of pH on growth of *Z. ramigera*

과는 Fig. 2와 같다. 생육최적 pH는 6.25에서 7.00사이로 대부분의 세균이 갖고 있는 특성과 일치한다. 또한 pH 5.50 이하에서는 균체생육이 거의 이루어지지 않고 있음을 알 수 있다. 이러한 경향은 배양시간 48시간인 경우나, 72시간인 경우 서로 비슷하였다.

### 2. C/N 조성비에 따른 floc 형성능

*Z. ramigera*는 영양분이 희박한 농도에서 잘 자랄 뿐만 아니라, 특유의 floc 형성능(Friedman et al., 1969)으로 인하여 폐수처리시의 BOD를 낮추는 중요한 역할을 수행한다. C/N 조성비는 생물학적인 방법에 의해서 폐수를 정화할 때 고려되어야 하는 중요한 인자 중의 하나로, 그것이 floc 형성에 미치는 영향을 조사하였다. 육안검사에 의해서 floc화 정도를 판단한 결과는 Table. 5에 나타난 바와 같다.

C/N 조성비가 증가함에 따라 floc 형성이 개선되었으며, C/N 조성비가 27 이상에서는 floc 형성이 양호한 것으로 나타났다. 이는 배지의 성질에 따라 floc 형성이 영향을 받는다는 기존의 연구결과(Crabbtree et al., 1965)와 일치하고 있다.

Table 5. Effect of C/N ratio\* on floc formation by *Z. ramigera*

Glucose (%)	C/N ratio	Floc formation**	Glucose (%)	C/N ratio	Floc formation
0.05	1.5	+	0.08	2.4	+
0.10	3.0	++	0.30	9.0	++
0.50	15.0	++	0.70	21.0	++
0.90	27.0	+++	1.10	33.0	+++
1.30	39.0	+++	1.50	45.0	+++

\* NH<sub>4</sub>Cl concentration was fixed at 0.05%.

\*\* +++ , completely flocculated : ++ , moderately flocculated :  
+ , weakly flocculated

### 3. 생물고분자 물질 생산

*Z. ramigera*의 생물고분자 생성능은 floc 형성능과 상호 밀접한 관련이 있는 것으로, C/N 조성비의 영향을 받으며, C/N 조성비가 클 경우에는 작을 경우에 비해서 생물고분자 생성능이 좋은 것으로 알려져 있다(Ahn and Chung, 1992). 배양조건 및 floc 형성능에 관한 실험결과를 토대로 하여, 이 균주를 배양액의 pH 6.5, 온도 25°C, C/N 조성비 90으로 하였을 때, 34.43 g/ℓ의 생물고분자를 얻을 수 있었다. 이는 Ahn과 Chung(1992)이 glucose를 탄소원으로 하여, C/N 조성비 30, 60, 90일 때에 각각 8.8 g/ℓ, 11.4 g/ℓ, 12.6 g/ℓ의 생물 고분자 물질을 얻은 것에 비하여 고농도라고 볼 수 있다. 이는 vit. B<sub>12</sub>와 biotin을 배양액에 첨가한 결과라고 생각할 수가 있다. Norberg와 Enfors(1982)의 *Z.*

*ramigera*에 의한 exopolysaccharide 생산 실험결과, exopolysaccharide 생성은 특정 성장단계에서 가장 많이 생산되고, glucose, 질소원, 여타 생육인자들이 공급된다면 38g/ℓ 이상의 exopolysaccharide를 얻을 수 있다고 하였다. 한편, 산소의 원활한 공급이 미생물에 의한 다당류의 생산에 결정적인 인자(Margaritis and Zajic, 1978)라는 점을 고려해서, 점성이 강한 배양액에 산소를 공급할 수 있는 효과적인 방법을 적용한다면, 생물고분자의 생산량을 증가시킬 수 있다고 하겠다.

### 4. 생물고분자에 의한 중금속 제거

생물고분자에 의한 중금속 이온 Cu<sup>2+</sup>와 Cd<sup>2+</sup>의 흡착능을 측정하기 위해서 중금속이온을 생물고분자와 섞고, 일정시간 후에 시료를 채취하여 유리상

Table 6. Heavy metal cation binding to biopolymer from *Z. ramigera*

Mixing time (min)	Free cation concentration (mM)		Bound cation (μmol/mg biopolymer)*	
	Cu <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>
0	1.5140	0.4933	0.0000	0.0000
20	0.0328	0.1708	1.3336	0.2903
25	0.0310	0.1610	1.3353	0.2992
30	0.0311	0.1539	1.3352	0.3056
35	0.0303	0.1508	1.3359	0.3083
45	0.0311	0.1467	1.3352	0.3120
75	0.0306	0.1482	1.3356	0.3107
135	0.0303	0.1469	1.3359	0.3119
195	0.0308	0.1469	1.3354	0.3119

\* The concentration of biopolymer was 1.1106g/ℓ.

태의 이온농도를 정량하고, 그로부터 흡착된 이온의 양을 계산한 결과를 Table 6에 나타내었다.

생물고분자와 중금속 이온을 섞고 대략 20분 정도면 흡착능이 거의 포화상태에 이르는 것으로 나타났으며, 최대흡착능은  $\text{Cu}^{2+}$ 에 대해서  $1.3350 \mu\text{mol/mg}$  biopolymer, 그리고  $\text{Cd}^{2+}$ 에 대해서는  $0.3120 \mu\text{mol/mg}$  biopolymer이었다. 이는 *Saccharomyces cerevisiae* 유래의 생물고분자에 의한  $\text{Cu}^{2+}$ 와  $\text{Cd}^{2+}$ 의 흡착능이 각각  $1.12 \mu\text{mol/mg}$ ,  $0.46 \mu\text{mol/mg}$ 이었다는 보고(Brady et al., 1994)와 비슷한 경향을 나타내고 있으며, 해조류의 균체에 의한  $\text{Pb}^{2+}$ 의 흡착능  $1.301 \mu\text{mol/mg}$  (Holan and Volesky, 1994)과 견줄 만하다.

*Z. ramigera*가 생산하는 생물고분자는 cellulose 성분이 골격을 형성하나, 산성 기능단을 갖고 있는 것으로 알려져 있어서(Franzen and Norberg, 1984), 중금속 양이온과 이온결합을 형성함으로써 흡착되는 것으로 생각된다(Bender et al., 1994). Hunt(1986)는 일반적으로 생물고분자물질의 금속이온 결합은 이온교환과 킬레이트복합체 형성의 두 종류 기작으로 이루어진다고 하였다. 생물고분자의 구성과 구조가 다양해서 상기 두 종류 결합기작이 동시에 작용한다는 것을 배제할 수는 없다.

Fig. 3에는 중금속 이온과 생물고분자물 회분식 반응조인 삼각플라스크에서 섞고 일정 시간이 지난 후, 생물고분자에 의하여 중금속 이온이 흡착제거되는 효율을 나타내었고, Fig. 4는 Fig. 1과 같은 연속식 반응조를 이용하여 중금속 이온이 생물고분자에 의해서 흡착제거되는 효율을 보여주고 있다. 두 가지 양식의 반응조에서 공통으로  $\text{Mn}^{2+}$ 과  $\text{Cu}^{2+}$ 는 비슷한 효율로 가장 많이 제거되었고, 그 다음에  $\text{Cd}^{2+}$ 와  $\text{Cr}^{2+}$  순서로 제거효율이 좋았다. Mullen 등(1989)은 회분식 처리방법으로 중금속 양이온  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ 을 네 종류 박테리아(*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) 균체를 이용하여 흡착제거하는 실험을 하였는데, 그 결과  $\text{Ag}^+$ 의 제거가 가장 효과적이어서, 전체  $\text{Ag}^+$ 의 89%가 제거되었고, 그 다음으로  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , 순으로 각각 29, 27, 12%가 제거되었다고 하였다. Fig. 3의 회분식 실험결과에 의하면, 교반시간 65분을 기준으로 할 때,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$  순으로

각각 78, 76, 42, 19% 제거되었다. 이는 균체자체보다도 균체를 구성하는 세포의 고분자물질이 중금

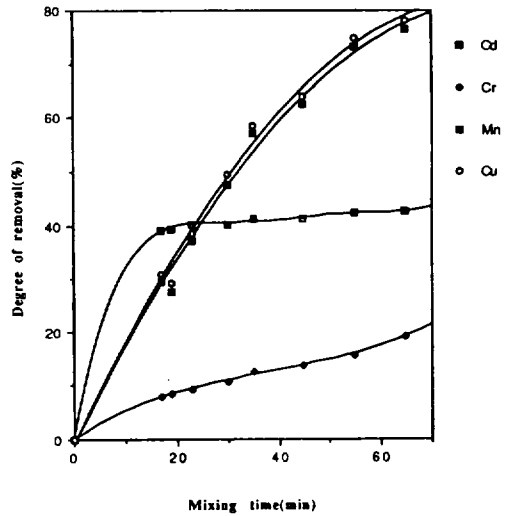


Fig. 3. Removal of heavy metal cation with biopolymer from *Z. ramigera*. Cations and biopolymer were mixed in flask with magnetic stirrer.

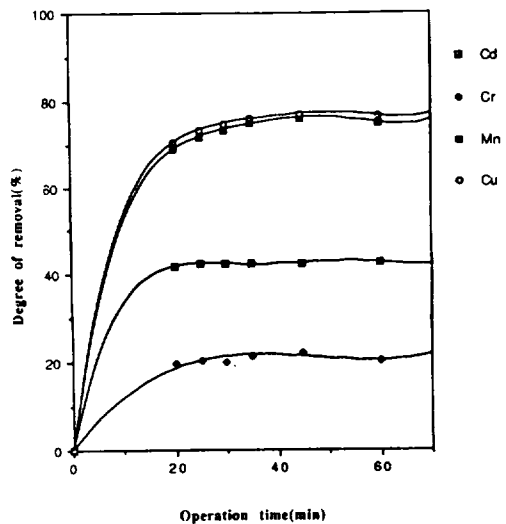


Fig. 4. Removal of heavy metal cation with biopolymer from *Z. ramigera*. Cations and biopolymer were mixed in the continuous type reactor as shown in Fig. 1.

속 이온 흡착에 직접적으로 관련되어 있음을 암시하고 있다. Fig. 4에 나타낸 연속식 반응조를 이용한 중금속 이온 제거효율도 작동시간 60분을 기준으로 할 때,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$  순으로 각각 77, 75, 43, 20%로, Fig. 3의 회분식 반응조를 이용한 제거효율과 근사한 수치를 보여주고 있다. 다만, 시간의 경과에 따른 제거효율의 변화에는 상호간에 차이가 있는데, 이는 연속식 반응조에 있어서의 체류시간은 일정한 반면에, 회분식 반응조에 있어서는 교반시간이 체류시간과 직결되어 있음을 고려할 필요가 있음을 보여준다.

Kiff와 Little(1986)은 *Aspergillus oryzae*의 균체를 사용한 칼럼으로  $Cd^{2+}$ 을 흡착시켜 99%까지 제거하였으며, 이 공정을 이용하여 미량 함유된 고독성의 금속물질을 제거하거나 회수하는데 응용이 가능하다고 하였다. 지금까지의 연구결과를 토대로하여, *Z. ramigera*가 생산하는 고분자의 중금속 이온 흡착능과 floc 형성능을 폐수처리나 중금속 이온의 회수에 이용할 수 있는 실질적인 방법이 모색되어야 할 것이다.

## 적 요

폐수처리장의 활성오니로부터 분리된 *Zoogloea*

*ramigera* 115 균주의 생육적정 pH와 vitamin 생육인자물 규명하고, C/N 조성비에 따른 균체응집특성에 대해서 조사하였다. 그로부터 균체응집과 직접적으로 관련된 생물고분자를 생산 분리하여 중금속 양이온 흡착능과 제거효율을 측정하였다. *Z. ramigera* 115의 최적생육 pH 범위는 6.25에서 7.00이었고, 생육촉진인자로 vit. B<sub>12</sub> 또는 biotin을 요구하였다. C/N 조성비가 클수록 균체응집능이 개선되는 경향이었으며, C/N 조성비 27이상에서는 응집능이 비교적 안정되었다. C/N 조성비 90에서의 생물고분자 생산량은 34.43 g/l였으며, 이는 개선될 여지가 있다고 생각된다. *Z. ramigera* 115의 배양액으로부터 분리된 고분자물질의 단위량당 중금속 양이온 흡착능은  $Cu^{2+}$ 와  $Cd^{2+}$ 에 대해서 각각 1.3350  $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 과 0.3120  $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 이었다. 개개의 중금속 양이온 농도가 약 5 mg/l인 용액을 연속식 반응조로 처리한 결과, *Z. ramigera* 115의 생물고분자에 의해서,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ 순으로 각각 77, 75, 43, 20%의 제거효율을 보였다. 회분식 반응조를 사용했을 때도, 이와 거의 유사한 제거효율을 얻었다. *Z. ramigera* 115가 생산하는 고분자의 중금속 이온 흡착능과 응집능을 폐수처리나 중금속 이온의 회수에 이용할 수 있는 실질적인 방법이 모색될 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- Ahn, Dae-Hee and Yun-Chul Chung, 1992. Biopolymer production of *Zoogloea ramigera* in batch, fed-batch and continuous culture process. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 20(2) : 196-202.
- Amin, P. M. and S. V. Ganpati, 1967. Occurrence of *Zoogloea* colonies and protozoans at different stages of sewage purification. Appl. Microbiol., 15 : 17-21.
- Bender, J., S. Rodriguez-eaton, U. M. Ekane-mesang, and P. Phillips, 1994. Characterization of metal-binding biofloculants produced by the cyanobacterial component of mixed microbial mats. Applied and Environmental Microbiology, 60(7) : 2311-2315.
- Brady, D., A. D. Stoll, L. Starke, and J. R. Duncan, 1994. Chemical and enzymatic extraction of heavy metal binding polymers from isolated cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology and Bioengineering, 44 : 297-302.
- Crabtree, K., E. McCoy, W. C. Boyle, and G. A. Rohlich, 1965. Isolation, identification, and metabolic role of the sudanophilic granules of *Zoogloea ramigera*. Appl. Microbiol., 13 : 218-226.



- Easso, Jr., D. D., A. J. Sinskey, and O. P. Peoples, 1987. Isolation of *Zoogloea ramigera* I-16 -M exopolysaccharide biosynthetic genes and evidence for instability within this region. J. of Bacteriol., 169(10) : 4518-4524.
- Franzen, L. E. and A. B. Norberg, 1984. Structural investigation of the acidic polysaccharide secreted by *Zoogloea ramigera* 115. Carbohydrate Research, 128 : 111-117.
- Friedman, B. A. and P. R. Dugan, 1968. Identification of *Zoogloea* species and relationship to Zoogloal matrix and floc formation. J. of Bacteriol., 93(5) : 1903-1909.
- Friedman, B. A., P. R. Dugan, R. M. Pfister, and C. C. Remsen, 1968. Fine structure and composition of the Zoogloal matrix surrounding *Zoogloea ramigera*. J. of Bacteriol., 96(6) : 2144-2153.
- Friedman, B. A., P. R. Dugan, R. M. Pfister, and C. C. Remsen, 1969. Structure of exocellular polymers and their relationship to bacterial flocculation. J. of Bacteriol., 98(3) : 1328-1334.
- Holan, Z. R. and B. Volesky, 1994. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae. Biotechnology and Bioengineering, 43 : 1001-1009.
- Hunt, S., 1986. Diversity of biopolymer structure and its potential for ion-binding applications, immobilization of ions by biosorption. Society of Chemical Industry, pp.15-46.
- Kiff, R. J. and D. R. Little, 1986. Biosorption of heavy metals by immobilized fungal biomass, immobilization of ions by biosorption. Society of Chemical Industry, pp.71-80.
- Kodukula, P. S., J. W. Patterson, R. Y. Surampalli, 1994. Sorption and precipitation of metals in activated sludge. Biotechnology and Bioengineering, 43 : 874-880.
- Margaritis, A., and J. E. Zajic, 1978. Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations. Biotechnology and Bioengineering, 20 : 939-1001.
- Mullen, M. D., D. C. Wolf, F. G. Ferris, T. J. Beveridge, C. A. Flemming, and G. W. Bailey, 1989. Bacterial sorption of heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 55(12) : 3143-3149.
- Norberg, A. B., 1983. Accumulation of heavy-metal ions by *zoogloea ramigera*. Biotechnology and Bioengineering, 26 : 239-246.
- Norberg, A. B. and Sven-Olof Enfors, 1982. Production of extracellular polysaccharide by *Zoogloea ramigera*. Applied and Environmental Microbiology, 44(5) : 1231-1237.
- Trujillo, E. M., 1991. Mathematically modeling the removal of heavy metals from a wastewater using immobilized biomass. Environ. Sci. Technol., 25(9) : 1559-1565.
- Walker, S. G., C. A. Flemming, F. G. Ferris, T. J. Beveridge, and G. W. Bailey, 1989. Physicochemical interaction of *Escherichia coli* cell envelopes and *Bacillus subtilis* cell walls with two clays and ability of the composite to immobilize heavy metals from solution. Applied and Environmental Microbiology, 55(11) : 2976-2984.