

## Polystyrene film위에 고정화시킨 cellulose nitrate microcapsule을 이용한 생물학적 탈질 화에 관한 연구

이 상호, 최재선, 송주영, 김종화  
창원대학교 공과대학 공업화학과

### Biological denitrification with cellulose nitrate microcapsule immobilized on polystyrene film

Sang Ho Lee, Jae Sun Choi, Ju Yeong Song, Jong Hwa Kim

#### 서론

하천으로 유입된 오, 폐수 내에는 BOD로 대표되는 탄소성 유기물질과 함께 질소와 인등 영양물질<sup>(4)</sup>이 포함되어 있다. 이중에서도 질소는 부영양화를 촉진하며 수생 생물에 대한 암모니아성 질소의 독성뿐만 아니라 많은 산소 소모를 가져올 수 있어 어패류 폐사의 원인이 되어 죽은 강물을 만들고, 상수원 오염에 의한 독성 물질의 유발이 신체 활동에 악영향을 초래하게 된다. 질산성 이온의 제거방법에는 여러 가지가 있지만 본 연구에서는 다량의 폐수를 처리해야 하거나 질산성이온의 농도가 높은 오, 폐수의 처리에 효과적인 생물학적 탈질 처리법을 적용하여 탈질반응기를 개발하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 실험하였다. 탈질화 균주를 cellulose nitrate microcapsule속에 포괄 고정화한 후 이 microcapsule들을 polystyrene film 위에 고정화하여<sup>(1)</sup> 합성 폐수로부터의 탈질 정도를 측정하므로써 균주의 고정화 전후의 탈질 역가를 비교하고자 하였다. 아울러 고정화과정중 유기 용매의 독성 작용으로 인한 균주의 사멸정도에 대한 자료를 동시에 얻고자 하였다.

#### 실험장치 및 방법

본 실험에 사용한 encapsulation방법은 Chang,<sup>(3)</sup>이 개발한 cellulose nitrate microencapsulation방법을 기초로 하였다. Polystyrene film위에 고정화를 위하여 불안정하지만 단백질을 같이 고정화하지 않는 방법을 사용하였다. 이 방법을 이용하여 먼저 균주를 microcapsule속에 포괄고정화 한후 이 microcapsule을 polystyrene film위에 고정화하여 탈질 반응기를 제작하였다. 탈질화 균주는 autotrophic denitrificans인 *paracoccus denitrificans*를 이용하였고, carbon source로는 bicarbonate를 사용하였다. 실험에 사용한 장치는 Figure. 1.과 같으며, 완전한 혐기성이 아닌 환원성 분위기를 위한 질소 공급 부분과 적정온도인 30℃를 유지시켜 주기 위한 항온조, 그리고 질산성 표준용액을 포함한 용액을 고루 분산시켜 CSTR의 효과를 얻기 위하여 교반기를 사용하였다.

Batch system은 stainless steel과 glass로 제작되었으며 약 0.01 g/l의 표준 질산성 질소 용액 800 ml에 질산성 질소의 단순 흡착정도를 알아보기 위하여 cellulose nitrate microcapsule 또는 탈질 균주가 고정화되지 않은 polystyrene film을 넣어서 탈질 정도를 측정하였다. 고정화 과정이 균주의 역가에 끼치는 영향을 알아보기 위하여, 강한 알칼리성 분위기를 만드는 Tris buffer 용액에 균주를 보관한 후 탈질 정도를 측정하고, 균주를 포괄 고정화한 microcapsule 그리고 이 microcapsule들을 polystyrene film에 고정화한 것들의 탈질 효과를 10 또는 20 시간까지 2~4시간마다 질산성 질소의 탈질 정도를 수질오염 폐기물 공정 시험법에 의거 분석하였다.<sup>(7)</sup>

## 결과 및 고찰

### 탈질 능력 실험

본 실험의 결과들은 autotrophic denitrificans인 *paracoccus denitrificans*를 사용하여 탈질 효과를 나타낸 것들이며, 모든 실험은 5단계로 나누어 실험하였다. 첫 번째 실험은 균주를 encapsulation하는 과정 중의 강알칼리성인 Tris solution(pH 10.3~10.5)에 대한 영향을 알아보았는데, Tris solution속에 균주를 약 8일 동안 방치하고 현미경으로 관찰한 결과 충분한 양의 균주가 살아있는 것을 확인 할 수 있었다. 본 실험에서는 encapsulation하는 과정의 소요시간이 약 3시간 정도이므로 균주를 Tris solution속에 3시간 동안 방치시키고, 질산성 표준액의 pH를 7로 조정하여 균주의 탈질 능력을 측정해 보았다. Figure. 2.에 나타난 것처럼 균주는 Tris solution속에 방치한 후에도 충분한 탈질 효과를 가지는 것으로 나타났다. 다음 실험으로 균주 없이 microcapsule 자체의 흡착에 의하여 탈질 효과를 가지는지를 알아보기 위하여 빈 capsule의 질산성 질소 흡착 실험을 하여 보았다. Figure. 3.에서 나타난 것 같이 microcapsule 자체는 질산성 질소를 거의 흡착하지 않는 것으로 나타났다. 이상의 실험을 바탕으로 하여 세 번째 실험인 균주를 cellulose nitrate microcapsule에 encapsulation시킨 후 균주의 탈질 능력을 실험하였다. Figure. 4.에 나타난 것 같이 균주를 encapsulation시켜서 탈질 능력을 측정해 보았으나 거의 탈질을 하지 않는 것으로 나타났다. 이것은 microcapsule wall 주변에 남아 있는 잔여 ether가 균주에 영향을 준 것으로 생각된다. MICRO HI-VISION으로 균주를 encapsulation한 microcapsule을 만든 즉시 관찰한 결과는 균주의 생존 여부를 확인할 수 있었으나 하루 방치하고 관찰하였을 때는 균주를 발견 할 수 없었다. 다음 실험으로 잔여 ether와 반응성이 좋아 쉽게 polystyrene film에 microcapsule들이 결합함을 이용하여 균주를 encapsulation시키고 polystyrene film에 고정화 시켜 탈질 능력을 측정하여 보았다. 그전에 먼저 polystyrene film만의 질산성 질소의 흡착 실험을 하여 보았다. Figure. 5.에 나타난 것 같이 polystyrene film은 질산성 질소를 흡착하지 않는 것으로 나타났다. 마지막으로 균주를 cellulose nitrate microcapsule을 encapsulation하여 polystyrene film에 고정화하고 균주의 탈질 능력을 측정한 결과는 Figure. 6.에 나타내었다. Figure. 6.에 나타난 것 같이 탈질화 능력은 조금 떨어지지만 뚜렷하게 탈질화 현상을 볼 수 있었다. MICRO HI-VISION으로 관찰해 볼 때에도 하루 경과후 균주가 살아 있음을 확인할 수 있었다.

### Cellulose nitrate microcapsule의 polystyrene film위에 고정화

Polystyrene plate에 증류수를 포함한 microcapsule의 현탁액을 붓고 관찰하면 microcapsule은 곧 plate바닥으로 가라앉아 정착하게 된다. 그리고 microcapsule과 polystyrene surface가 상호작용하기 시작하며, plate surface는 날개와 같은 형태로 일그러져 왜곡된다. 이러한 현상은 2~3초 사이에 일어나며 매우 빠르기 때문에 ether가 microcapsule안의 균주에 영향을 주기 전에 일어난다. 이때에 부분적으로 microcapsule이 안정화 될 때까지 강한 ether냄새를 가진다. Polystyrene plate 바닥에 정착된 후 전에 매끄러운 polystyrene surface는 거칠어진 것을 발견 할 수 있으며, microcapsule은 손톱으로 문질러도 제거되지 않는다. 이러한 현상은 microcapsule wall주변에 남아 있는 잔여 ether가 확산되어 polystyrene surface을 부분적으로 녹임으로써 polystyrene surface에 microcapsule을 끼워 넣어 물리적으로 결합되어 일어난다.

**결 론**

1. 균주(*paracoccus denitrificans*)는 강알칼리인 Tris(pH 10.3~10.7)에 장시간 동안 방치하여도 오랫동안 생존함을 알 수 있었고 다시 pH 7로 조정하여 탈질 능력을 실험한 결과 여전히 좋은 탈질 능력을 가지는 것으로 나타났다.
2. Capsule속에 균주를 microencapsulation했을 때는 탈질 능력이 거의 없는 것으로 나타났으며, 이것은 불안정한 microcapsule의 벽에 남아 있는 잔여 ether가 균주에 영향을 준 것으로 사료된다.
3. Polystyrene film에 고정화시킨 microcapsule은 균주를 넣어서 고정화 시켰을 때도 균주는 안전하고 binding force도 충분함을 보였다.
4. Polystyrene film에 고정화시킨 microcapsule속의 균주의 생존 여부를 MICRO HI-VISION과 microscope로 관찰한 결과 충분한 양의 균주가 capsule속에 생존함을 확인하였고, 균주의 탈질 능력을 측정하여 본 결과 탈질 능력은 조금 떨어지지만 탈질화하는 것으로 나타났다.
5. 같은 조건하에서 균주를 넣지 않은 microcapsule의 크기는 최적조건 일 때 평균 20~30  $\mu\text{m}$ 였으나 균주를 넣은 microcapsule의 크기는 30~50  $\mu\text{m}$ 으로 약 2배 정도 커짐을 알았다.

**참 고 문 헌**

1. J. Y. Song, "Immobilized Carbonic Anhydrase in a membrane lung for enhanced Carbon Dioxide removal" ph.D thesis, Wayne State University, MI. U. S. A. (1991).
2. Mohamed F. Dahab, "Treatment alternatives for nitrate contaminated groundwater supplies", Journal of environmental systems, 17(1), (1987).
3. Chang T. M. S. et al, "Semipermeable aqueous microcapsule." Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 44: 115-128 (1966).
4. 최의소, "질소와 수질환경", 첨단환경기술, 특집/질소·인(N·P)제거 기술(2), (1995).
5. 송홍규, 오계현, "최신환경 미생물학", 도서출판 동화기술, 2nd Ed, (1994).
6. 김창원,윤태일, "환경미생물학", 도서출판 동화기술, 3rd Ed, (1992).
7. 환경처, "수질오염, 폐기물 공정시험법", 도서출판 동화기술, (1993).

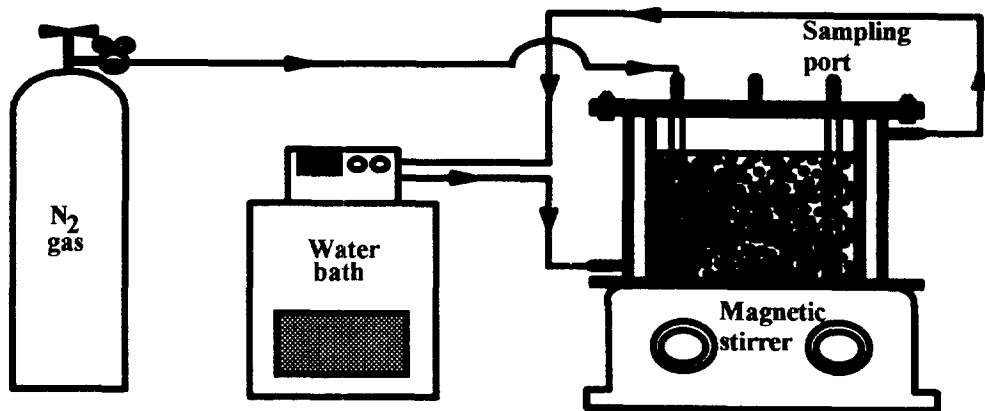


Figure 1. Schematic diagram of experimental apparatus

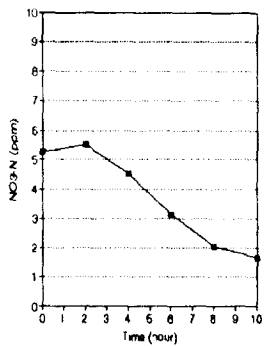


Figure 2. Denitrification ability of paracoccus denitrificans Which were treated with TRIS for 3 hours and adjusted to pH 7.

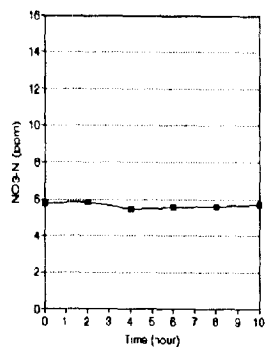


Figure 3. Adsorption rate of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N into the suspended cellulose nitrate microcapsules in the NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N solution.

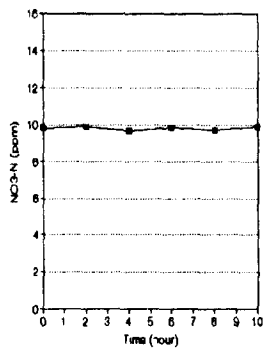


Figure 4. Denitrification ability of paracoccus denitrificans encapsulated in the cellulose nitrate microcapsules.

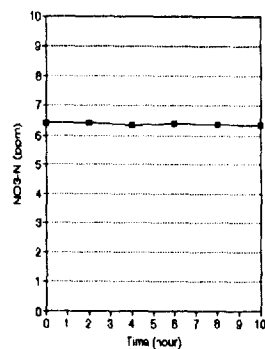


Figure 5. Adsorption rate of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N on the polystyrene film

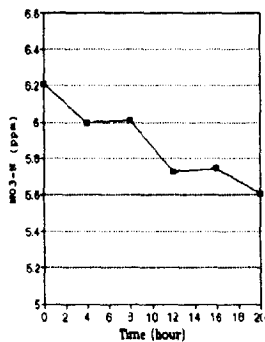


Figure 6. Denitrification ability of paracoccus denitrificans encapsulated in cellulose nitrate microcapsules and immobilized on the polystyrene film.