

## 황산화원균 *Desulfovibrio desulfuricans*의 혐기배양에 의한 가용성 우라늄의 침전

조규성\* · 주현규<sup>1</sup> · 흥고야쓰히로<sup>2</sup> · 다야마사히또<sup>2</sup> · 도네세쓰지<sup>2</sup>

안성산업대학 식품공학과, <sup>1</sup>건국대학교 농화학과,

<sup>2</sup>오사카대학 기초공학부 화학공학과

## Precipitation of Soluble Uranium in Anaerobic Culture of *Desulfovibrio desulfuricans*

Cho, Gyu-Seong\*, Hyun-Kyu Joo<sup>1</sup>, Yasuhiro Hongo<sup>2</sup>,  
Masahito Taya<sup>2</sup> and Setzji Tone<sup>2</sup>

Department of Food Technology, An-Seong National Polytechnic University, Kyunggi-Do 456-749, Korea

<sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Osaka University, Osaka 560, Japan

**Abstract** — The aims of the present study are to examine the precipitation of uranyl ion in the culture of *Desulfovibrio desulfuricans* for the sedimentary recovery of aqueous uranium. *D. desulfuricans* had the highest utilization rate of lactate and precipitated iron ion in the three sulfate reducing bacteria. So, subsequent experiments were conducted using lactate as an energy source. The normal growth was observed with increased pH and lactate utilization. During the culture, the amounts of  $\text{SO}_4^{2-}$  consumed and  $\text{S}^{2-}$  produced in aqueous phase were 8.5 and 7.5 mmol/m<sup>3</sup>-broth, respectively. More than 85% of soluble uranium precipitated within 1 hour after the inoculation, whereas no uranium precipitation was observed for 70 hours in the culture without inoculum. It was found that the small amount of precipitated uranium was obtained in the alkaline medium with the large amount of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Uranyl hydroxide becomes soluble in the presence of  $\text{CO}_3^{2-}$  with the formation of complex ions such as  $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]^{2-}$ . Precipitated uranium, both U(VI) and U(IV) were detected, and the former was the main form. In the culture of *D. desulfuricans* soluble uranium ( $\text{UO}_2^{2+}$ ) precipitated in the forms of U(VI) and U(IV). This uranium sedimentation was considered as attributed to the  $\text{UO}_2(\text{OH})_2$  and  $\text{UO}_2$  formation, and the  $\text{UO}_2^{2+}$  adsorption to the bacterial cell walls.

황산화원균은 황산을 이용하는 균으로, 토양이나 물속(예를들면, 하수, 하구, 항만내의 저층 등)에서 서식하며, 황화수소( $\text{H}_2\text{S}$ )를 발생하는 원인균의 하나이며, 분자상의 산소( $\text{O}_2$ )보다 결합산소( $\text{SO}_4^{2-}$ )를 이용하는 특이한 대사기능을 가진 혐기성 세균이다(1). 황산화원균의 전형적인 서식장소로는 황산을 함유하는 혐기적인 퇴적물 등이다. 황은 환경 중에서는 황산염( $\text{SO}_4^{2-}$ )으로서, 생물체 중에서는 함황 아미노산 중에

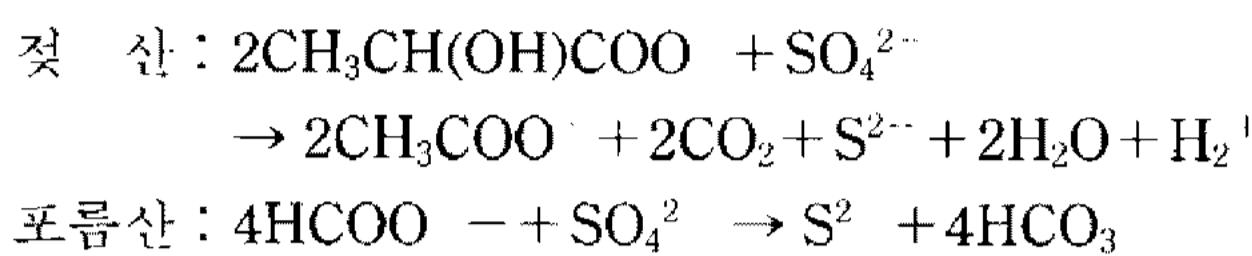
존재한다. 함황 수소의 생성은 함황 아미노산을 가진 단백질로부터 탈황(desulfurylation)와 황산염( $\text{SO}_4^{2-}$ )의 이화적환원(dissimilatory sulfate reduction)작용 생성 경로에 의한다(2).

황산화원균의 대표 균종인 *Desulfovibrio desulfuricans*는 포자를 형성하지 않으며, 염분요구성이 없고, 그람음성이고, 극편모를 가진 콤마형의 간균이다(3). 이들 세균은 초산(acetic acid)을 산화하지 못하며, 그 때문에 유기기질의 최종산물로 초산을 생성한다. 따라서 에너지원으로서 이용가능한 유기물의 범위는 비교적 좁아서 젖산(lactic acid), 포름산(formic acid),

Key words: Sulfate-reducing bacteria, soluble uranium, *Desulfovibrio desulfuricans*

\*Corresponding author

사과산(malic acid), 프로피온산(propionic acid) 등 뿐이다. 젖산과 포름산의 분해과정을 예를들면 다음과 같다(4).



이와같이 황산환원균은 황산( $\text{SO}_4^{2-}$ )을 환원하는 능력이 있으며, 황산의 황화물에로의 환원작용에는 전자공여가 필요하게 되고, 이화형환원에는 sulfate-adenyltransferase, pyrophosphorase, APS-reductase 등 3종의 효소의 복합 촉매작용에 의한다(2). 어떤종의 세균은 금속의 용출속도를 촉진하는 것으로 알려져 있다. 이러한 세균을 금속의 리칭(leaching)에 적용하는 방법을 Bacteria leaching법이라고 부르며, 그에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(5, 6). 미생물의 금속에 대한 작용(bacteria leaching)은 크게 2가지로 대별된다. 그 하나는 고체의 금속을 용해해서 수용성의 금속상태 즉, 금속의 가용화, 용출, 침출의 leaching이고, 또 다른 하나는 수용성의 금속을 불용성의 금속상태 또는 균체세포에 흡착하는 작용 즉, 금속의 불용화, 침전, 농축, 흡착회수 등의 역할을 한다. 전자는 광석 등에서 bacteria leaching으로서 이용되고 있고, 후자는 바닷물이나 금속을 함유하는 광산폐수, 공장폐수 등의 처리에 활용되고 있다(7-9). 대부분의 금속은 자연계에 광석 또는 바닷물에 용해해서 존재하고 있다. 현재 중요한 에너지 자원으로 활용되고 있는 우라늄도 지구상에 널리 많이 분포하고 있다. 즉, 지각 중에 평균 존재량은 4 ppm, 바닷물 중에는 0.0032 ppm이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(10, 11). 그러나 이 농도는 전체적으로 보면 매우 많은 량이지만, 집약적으로 존재하지 않기 때문에, 집중적으로 존재하는 다른 광물에 비한다면 경제성이 매우 적다.

따라서 분리학자들은 이 우라늄의 분리회수에 있어서 많은 관심을 가지고 있다. 특히 이들은 화학적 방법외에 미생물을 이용한 분리법 즉, Bioseparation에 관한 연구가 진행되고 있다(6, 12-18). 이러한 연구는 어떤 미생물군-황산환원균-들은 우라늄의 지구화학적 윤회에 깊이 관여하고 있다는 사실을 발견하였다. 예를들면, 일본의 낭교도계(Ningyo-Toge)의 우라늄광은 환원상태가 높은 퇴적형의 우라늄광이다. 이 광산에서는 일반적으로 탄질물이 많은 지층중 또는 지층 중에 황화철광이 많은 부분에 우라늄이 농집되어

있는 경향을 보이고 있다. 또 미국의 콜로라도 고원의 지하수형의 우라늄광에서도, 우라늄과 공존하는 황화철이 혼기성 황산환원균의 작용으로 발생한 황화수소에 유래하는 것으로 알려져 있다(15, 19, 20). 이처럼 우라늄의 고정에 있어서 우라늄 이온은 높은 환원적 환경에서는 우라늄이온  $\text{UO}_2^{2+}$ 으로 변화하여 침전하고, 광석중에 존재하는 우라늄 광물은, 철산화세균 또는 유황산화세균, 황산환원세균 등의 생육 결과 생성한 제2철이온, 황산 등에 의하여 우라늄이온  $\text{UO}_2^{2+}$ 으로 가용화되어 회수되어지는 것으로 알려져 있다(6, 15-18).

이에 기초하여 황산환원균 *D. desulfuricans*를 혼기배양하였을 경우, 가용성 우라늄 이온의 침전회수 가능성을 검토하고자 본 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 실험에 사용한 황산환원균 균주는 일본 오사카대학 기초공학부 화학공학과로부터 분양받은 *Desulfovibrio desulfuricans* IFO 13699, *Desulfococcus multivorans* DSM 2059, *Desulfosarcina variabilis* DSM 2060를 사용하였다.

### 배지조성

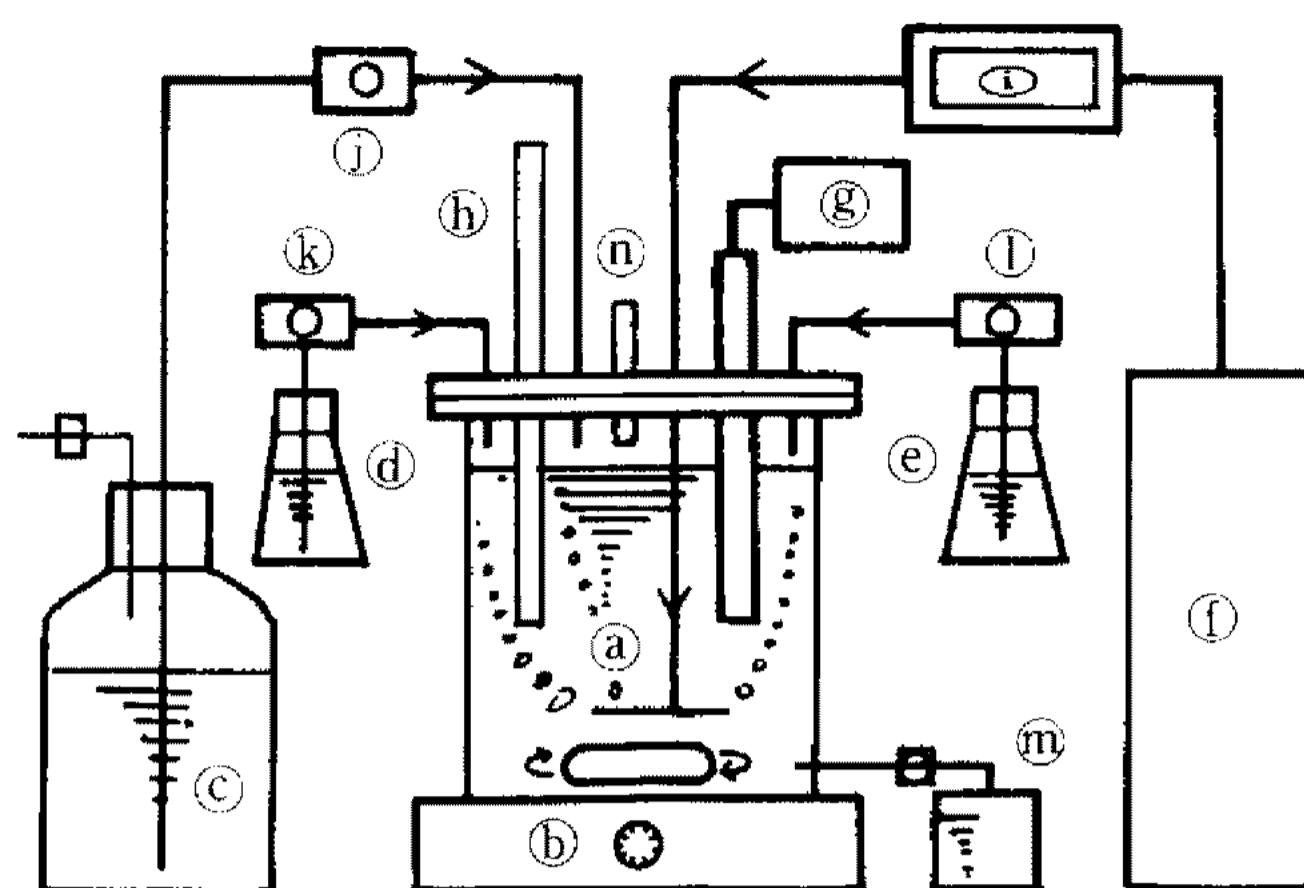
황산환원균의 배양용 배지는 Postgate 배지를 기본배지로 하였으며(22), 그 조성은 중류수 1l에  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  1.0 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0 g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 g, 2Na-Glycerophosphate 0.1 g, Yeast Extract 0.1 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1 g, Li-L-Lactate 2.0 g를 용해하여 조제하였다. 다만, 황산환원균의 전배지는 젖산대신에 탄소원으로 glucose 5 g/l를 사용하였고, 혼기도 판별을 위하여 Rezasurin III 0.1% 수용액 1 ml/l를 가하였다.

### 배양장치

황산환원균은 혼기성 세균이므로  $\text{N}_2$  가스로 치환이 가능한 Fig. 1과 같은 배양장치를 이용하였다.

### 측정방법

젖산(lactate)함량의 측정은 시료용액 0.10 ml를 정확히 시험관에 취하여, F-Kit analytical reagent (Boehringer Mannheim Co., Japan)를 가하여 분석하는 효소법(22)에 준하여 실시하였다. 포름산(formate) 함

Fig. 1. Cultivation apparatus of *D. desulfuricans*.

- |                        |                   |
|------------------------|-------------------|
| (a) minifermmentor     | (g) pH controller |
| (b) heater and stirer  | (h) thermometer   |
| (c) fresh medium       | (i) copper        |
| (d) acid solution      | (j) (k) (l) pump  |
| (e) alkali solution    | (m) sampler       |
| (f) N <sub>2</sub> gas | (n) gas out       |

량의 측정은 acetamide를 이용하는 Colorimetry에 의하여 정량하였다(23). 철(Fe) 이온의 정량은 thiocyanic acid 염-thioglycolic acid법(24)에 준하여 측정하였다. 균체농도는 haemato-meter를 이용하는 현미경 계수법으로 측정하였다.

### 우라늄 및 그 함량측정

질산우라닐 [UO<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O]를 물에 용해하여, U<sub>3</sub>O<sub>8</sub>로 1 mg/ml 농도로 조제하고, 차광시약병에 보존하면서, 액체배지에 U/U<sub>3</sub>O<sub>8</sub>로 환산한 우라늄의 농도로 참가하여 실험에 사용하였다(25). 배양용액과 침전물 중의 우라늄 분석은 Arusenazo III-Butanol 추출법(26)으로 분리해서, UV-Visible Spectrophotometer(Shimadzu, Model UV-160, Japan)를 사용 660 nm에서 비색분석하였다.

### SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 이온 및 S<sup>2-</sup> 이온의 측정

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 이온은 Barium chloride(BaCl<sub>2</sub>)를 이용한 비탁법(27)으로, S<sup>2-</sup> 이온은 Cadmium carbonate(CdCO<sub>3</sub>)를 이용한 Iodine 적정법(27)으로 각각 측정하였다.

### 우라늄U(VI)와 U(IV)의 분석

배양액의 침전물 중에 함유되어 있는 우라늄 U(VI)와 U(IV)의 분별 측정은, Dowex 이온교환수지(Dowex AG 1×8, 100~200 mesh, Cl form)를 충진한 glass column(1×10 cm)에서 혼기조건을 유지하면서 우라

Cultural broth with or without Uranium

Culture of *D. desulfuricans*  
35°C, N<sub>2</sub> gas, 15%-inoculated  
from 2-days old culture

Determined for  
pH, Sulfide(S<sup>2-</sup>)  
and Cells

Centrifugation at 12000  
rpm or filtration with  
0.2 μm membrane filter

Precipitate

Supernatant

Washed with water  
and dissolved in  
4 N-HCl

Analyzed for  
Lactate, Iron,  
Uranyl ion  
(UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>)

Separation with  
glass column, Dowex  
AG 1×8, 100~200 mesh,  
Cl form

Analyzed for  
Uranyl ion  
(UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>)

Determined for U(VI) and U(IV)

Fig. 2. Experimental flowsheet for precipitation of soluble uranium.

늄 U(VI)와 U(IV)를 분리하였다. 즉, 시료에 12 N-HCl을 가하여 4 N-HCl의 농도가 되도록 하여 용해하고, column에 2 ml를 넣어서, 4 N-HCl 20 ml로는 우라늄 U(IV)를, 0.1 N-HCl 20 ml로는 우라늄 U(VI)를 각각 분리 추출하고, 이 분리액을 직접 ICAP Spectrophotometer(Japan Jarrell-Ash Co., Model ICAP-575 II)를 사용하여 파장 385.958 nm에서 분석(17)하였다. 이상의 우라늄 이온 침전실험의 진행도는 Fig. 2와 같다.

### 결과 및 고찰

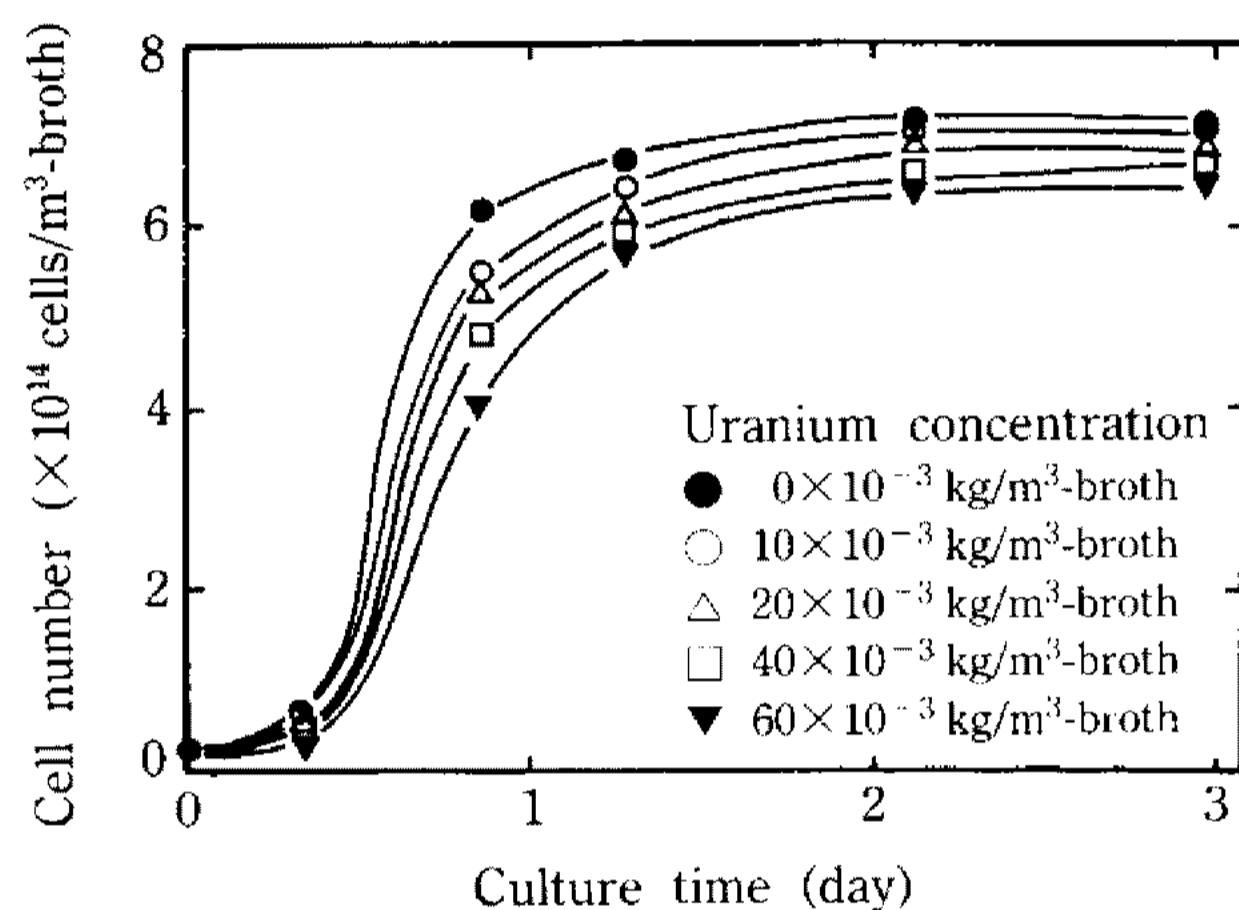
#### 균주의 선정

*D. desulfuricans*, *D. multivorans*, *D. variabilis* 3종의 황산환원균을 젖산(2.0 g/l의 Li-L-Lactate)과 포름산(1.49 g/l의 Na-Formate)을 탄소원으로 하는 배지에 배양하고, 배양 24시간 후, 각 균주의 유기산분해도를 측정한 결과와 금속의 침전 가능성을 검토하기 위하여 철(Fe<sup>2+</sup>)이온의 농도를 측정한 결과는 Table 1과 같

**Table 1. Comparison of substrate utilization rates among sulfate-reducing bacteria**

Bacterial strain	Average utilization rate (m mol/m <sup>3</sup> /h)		Fe <sup>2+</sup> precipitation (m mol/m <sup>3</sup> )	
	Lactate	Formate	Lactate	Formate
<i>D. desulfuricans</i>	398	275	3.0	2.5
<i>D. multivorans</i>	6.7	2.9	1.0	0.5
<i>D. variabilis</i>	2.9	5.0	1.3	1.4

The bacteria were cultivated in the medium without  $\text{UO}_2^{2+}$ .

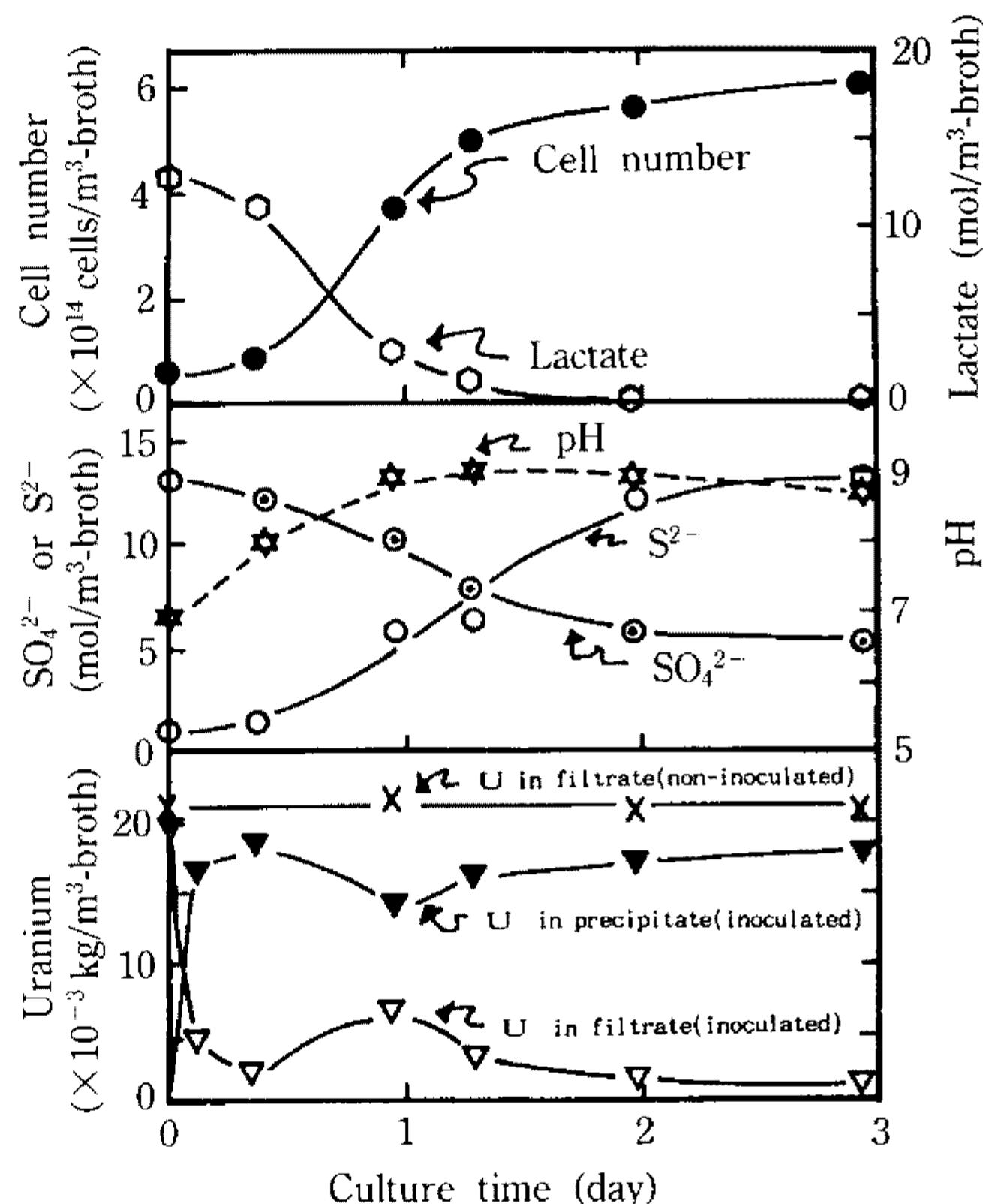


**Fig. 3. Growth curves of *D. desulfuricans* from various uranium concentration.**

다. 이들 결과에 의하면 황산화원균은 탄소원으로서 젖산과 포름산을 모두 잘 이용하고 있음을 알 수 있다. 또한 3종의 황산화원균 가운데 *D. desulfuricans*가 유기산인 젖산의 분해속도가 가장 빨랐으며, 포름산보다 젖산을 더 잘 분해하고 있다(6, 29). 또한 철이온의 침전능도 역시 *D. desulfuricans*가 다른 2종 보다 양호하였으며, 젖산함유 배지에서 포름산함유 배지에서 보다 양호한 결과를 보였다. 따라서 이하의 실험에서는 균주로는 *D. desulfuricans*를 선정하여, 이균주의 배양용 배지의 탄소원으로는 젖산(lactate)을 사용하였다.

#### 균체증식에 미치는 우라늄 농도

황산화원균의 배양용 배지에 우라늄이 각각 0, 5, 10, 20, 40, 60( $\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3\text{-broth}$ )씩 함유하도록 조제하고, 전배양한 황산화원균 *D. desulfuricans*를 15 v/v% 되도록 접종하고 35°C에서 배양하면서 균체의 증식속도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 이결과에 의하면 황산화원균은 우라늄의 농도가  $60(\times 10^{-3} \text{ kg}/\text{m}^3)$ 의 고농도 일때는 저농도의 경우에 비하여 약간의 생육저해를 보이고 있으나, 본 실험의 수행에는 크게



**Fig. 4. Course of *D. desulfuricans* culture with uranium addition**

(No precipitate was observed in the non-inoculated culture.)

영향을 주지 않는 것으로 사료된다(18). 따라서 우라늄의 농도는, UV-Visible Spectrometer의 분석능을 고려하여  $20(\times 10^{-3} \text{ kg}/\text{m}^3\text{-broth})$ 의 것으로 선정하여 진행하였다.

#### 황산화원균의 배양과 우라늄의 침전

황산화원균 *D. desulfuricans*를 우라늄이 함유된 젖산배지에 배양하였을 때, 균체의 증식, pH의 변화, 젖산의 분해,  $\text{SO}_4^{2-}$  이온의 환원 및  $\text{S}^{2-}$ 의 생성, 우라늄의 침전 등을 경시적으로 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 황산화원균 *D. desulfuricans*는 젖산을 잘 이용

**Table 2. Uranium concentration in fresh medium added by cells and S<sup>2-</sup> content cultured solutions**

Additions	Uranium concentration ( $\times 10^3 \text{ kg/m}^3$ )	
	supernatant	precipitate
Cells solution	12.0	5.4
S <sup>2-</sup> solution	2.4	15.0
None cells and S <sup>2-</sup>	16.3	1.1

Initial uranium concentration  $17.4 (\times 10^3 \text{ kg/m}^3)$ . The amount of uranium was determined at the time of 12 hr. after the inoculation.

하였으며, pH는 균체의 증식과 함께 증가하였다. 즉, 균체수는 배양 70시간에서  $6.1 \times 10^{14} \text{ cells/m}^3$ 로, 젖산은 배양 30시간 이내에  $390 \text{ mmol/m}^3 \cdot \text{h}$  분해하였으며, pH는 초기 6.3에서 배양 22시간에서 최고 9.0까지 증가하였다. 또 배양하는 동안 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>이온의 환원과, S<sup>2-</sup>이온의 생성이, 각각  $8.5 \text{ mmol/m}^3$ ,  $7.5 \text{ mmol/m}^3$ 씩 진행하였다. 이때의 S<sup>2-</sup>이온은 혐기상태를 조성하므로 우라늄의 침전에 관여할 가능성이 있는 것으로 생각된다(16). 균체배양에 따른 우라늄의 침전을 보면, 황산환원균 *D. desulfuricans*를 접종하지 아니한 배지에서는 동일조건하에서 70시간을 경과하여도, 우라늄이온이 배양액중에 그대로 잔존 침전되지 않았으나, 균체를 접종한 경우는 1시간 이내에 가용성 우라늄은 많은량이 침전하였다. 그러나 균체의 증식과 더불어 일시적으로 침전하였던 우라늄 이온이 다시 용해하였다가(배양 20시간 전후) 다시 침전이 되었다. 이러한 결과로부터 황산환원균 *D. desulfuricans*를 배양하였을 때, 우라늄 이온의 침전 mechanisms은 다음과 같은 가능성이 있다고 생각된다. (1) 불용성의 uranyl hydroxide[U<sub>2</sub>O(OH)<sub>2</sub>] 형태로의 침전, (2) 불용성 uraninite(UO<sub>2</sub>) 형태에로의 S<sup>2-</sup>이온 등에 의한 U(VI)에서 U(IV)에로의 환원, 그리고 (3) 균체세포벽에 UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> 형태로의 키일레이션 혹은 흡착 등이 진행하는 것으로 생각된다(6, 13-17).

여기서 농도가 낮은 가용성 우라늄은 황산환원균 *D. desulfuricans*를 배양하였을 때, 배양중의 초기 우라늄 농도가  $18.9 (\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3\text{-broth})$ 였고, 침전물 중의 우라늄 농도가  $15.8 (\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3\text{-broth})$ 이므로, 균체 등을 포함한 침전물  $1600 (\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3)$  중에는  $24 (\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3)$ 의 우라늄 즉, 1.58%에 상당하는 우라늄을 농축하게 한다. 따라서 침전물 1 g 중에는 15.8 mg( $15800 \times 10^{-3} \text{ kg/m}^3$ )의 우라늄을 함유하게 되므로, 이때의 농도가 낮은 가용성 우라늄 농축율은 약

**Table 3. Effects of CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> and pH on uranium precipitation in *D. desulfuricans* culture**

Condition	pH [-]	Uranium in precipitate ( $\times 10^{-3} \text{ kg/m}^3\text{-broth}$ )
No addition	4.5	12.4
2.8 mol/m <sup>3</sup> -broth	6.2	16.9
NaOH addition		
3.1 mol/m <sup>3</sup> -broth	7.2	14.8
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> addition		
13 mol/m <sup>3</sup> -broth	9.6	16.3
NaOH addition		
37 mol/m <sup>3</sup> -broth	9.7	2.5
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> addition		

The pH of medium was adjusted with NaOH or Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and the amount of uranium in precipitate was determined at the time of 1 hr. after the inoculation.

836배( $15800/18.9 = 835.98$ )에 상당한다.

### 우라늄 침전에 미치는 요인

**균체접종후 신속히 우라늄이 침전하는 이유 :** 우라늄이 함유된 젖산배지에 황산환원균을 접종하였을 때 1시간 이내에 우라늄 이온이 많은 양이 침전(Fig. 4)하는 이유를 조사하기 위하여, 전배양한 배양액을 S<sup>2-</sup>이온없이 cells만을 함유한 용액, cells없이 S<sup>2-</sup>이온을 함유한 용액, 그리고 cells도 S<sup>2-</sup>이온도 함유치 않은 3종의 용액으로 분리하여, 우라늄 함유 배지에 20%씩 침가하고서, 일정시간(약 12시간) 35°C에서 배양한 다음 우라늄 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 이때 cells과 S<sup>2-</sup>이온이 함유되지 않은 용액에서는 대부분의 우라늄 이온이 용액중에 그대로 잔존 하였으나, 반대로 S<sup>2-</sup>이온을 함유한 용액은 우라늄 이온이 86% 이상이 침전하였고, cells만을 첨가한 경우도 31% 이상이 침전하는 경향을 보였다. 이로써 황산환원균 *D. desulfuricans* 균체를 접종한 초기의 우라늄 이온이 신속히 침전하는 것은, 균체의 전배양시 생성된 S<sup>2-</sup>이온의 영향을 크게 받은 것으로 생각된다(16).

**침전한 우라늄의 재용해하는 이유 :** 황산환원균을 배양하는 동안 배양 20시간 전후에서 침전하였던 우라늄의 재용해(Fig. 4)가 되어지는 이유를 조사한 결과는 Table 3과 같다. 우라늄 이온은 pH가 산성과 중성인 경우에는 침전이 잘 이루어졌다. 한편 알카리성의 경우에는 NaOH에 의하여 pH가 조절된 경우는 침전이 잘 이루어졌으나, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하여 pH를

**Table 4. Analysis of uranium in *D. desulfuricans* culture**

Culture time (h)	Uranium ( $\times 10^{-3}$ kg/m <sup>3</sup> -broth)		
	in precipitate		
	in filtrate	U (VI)	U (IV)
0	18.9(100)	ND(-)	ND(-)
20	3.5(19.9)	12.4(70.5)	1.7(9.6)
30	2.3(12.7)	13.4(74.0)	2.4(13.3)
70	1.3(7.2)	13.8(76.7)	2.9(16.1)

\*ND: Not detectable. The values in parentheses show the percentage of uranium in each fraction to the total amount of uranium.

조절한 경우는 약간 밖에 침전이 되지 않는 경향을 보였다. 이러한 결과는  $\text{CO}_3^{2-}$  이온이 존재하면 uranyl hydroxide( $\text{U}_2\text{O}(\text{OH})_2$ )는 탄산우라닐 착체[ $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] $^{2-}$ 를 형성하여 침전이 형성되지 아니한다는 견해와 일치하는 것이다(30). 따라서 본 실험에서 침전하였던 우라늄 이온이 다시 용해가 된 것은, 황산환원균이 증식하면서 젖산을 분해하여 탄산이온  $\text{CO}_3^{2-}$ 를 생성하고,  $\text{Na}^+$ 이온의 증가로 pH가 상승하였기 때문인 것으로 생각된다.

#### 침전한 우라늄의 U(VI)와 U(IV)의 조성비

황산환원균 *D. desulfuricans*에 의하여 침전된 우라늄의 메카니즘을 규명하고자, 침전물의 우라늄 이온의 U(VI)와 U(IV)의 조성비를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 이 결과에 의하면, 황산환원균에 의하여 침전된 우라늄 이온은 U(VI) 또는 U(IV)로 구성되어 있으며, 이들 우라늄 이온은 대부분이(70% 이상) U(VI) 형태로서 침전된 것을 알 수 있다. 따라서 황산환원균에 의하여 침전된 우라늄 이온은, U(VI)인  $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ 의 형태로 침전 또는  $\text{UO}_2^{2+}$  형태로 균체 세포벽에 흡착 침전하였거나, U(IV)인  $\text{UO}_2$ 로 일부는 환원되어 침전한 것으로 생각된다(15).

#### 요 약

황산환원균 *D. desulfuricans*의 배양에 의하여 가용성 우라늄의 침전회수 실험을 진행한 결과를 요약하면 다음과 같다. 먼저 본실험을 위한 균주선정에서 3종의 황산환원균 *D. desulfuricans*, *D. multivorans*, *D. variabilis*를 배양, 일정시간 후 탄소원인 젖산(lactate)과

포름산(formate)의 분해속도 및 철이온의 침전량을 조사한 결과 *D. desulfuricans*가 가장 좋았다. 이때 이균주는 포름산보다 젖산쪽의 이용이 양호하였다. *D. desulfuricans*는 우라늄이 함유된 배양기( $60 \times 10^{-3}$  kg/m<sup>3</sup>-broth 이하)에서도 증식에 저해작용이 거의 없었으나, 우라늄이 함유되지 않은 배지에서 증식이 보다 양호하였다. 황산환원균 *D. desulfuricans*는 젖산을 잘 이용(배양 30시간 이내에서의 분해속도 390 mmol/m<sup>3</sup>·h)하였으며, pH는 균체 증식과 더불어 pH 9.0까지 증가하였다. 균체수는 배양 70시간에서  $6.1 \times 10^{14}$  cells/m<sup>3</sup>까지 증식하였다. 균체증식과 더불어서  $\text{SO}_4^{2-}$  이온은 환원(8.5 mmol/m<sup>3</sup>)되어  $\text{S}^{2-}$ 이온의 생성(7.5 mmol/m<sup>3</sup>)이 진행되었다. 배양액 중의 가용성 우라늄 이온은, 황산환원균 *D. desulfuricans*의 무접종구에서는 70시간 이상이 경과하여도 용액중에 그대로 용해되어 있었다. 그러나 균체를 접종배양하였을 경우는 1시간 이내에 용액중의 우라늄은 많은 량이 침전하였다가, 균체의 증식과 더불어 다량의  $\text{CO}_3^{2-}$ 이온의 생성으로 침전하였던 우라늄의 일부가 용해하였다가,  $\text{H}_2\text{S}$ 와  $\text{CO}_3^{2-}$ 이온의 축출로 인하여 우라늄 이온은 다시 침전이 되었다. 침전한 우라늄 이온은 70% 이상 대부분이 우라늄 U(VI)로 구성되어 있었다. 따라서 황산환원균 *D. desulfuricans*의 배양에 의하여 가용성 우라늄은, 1) 불용성 Uranyl hydroxide[ $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ ] 형태로의 침전, 2) 불용성 Uraninite( $\text{UO}_2$ ) 형태로  $\text{S}^{2-}$ 이온 등에 의한 U(VI)에서 U(IV)에로 환원되어 침전, 3) 가용상태의 우라늄 이온이 균체세포벽에  $\text{UO}_2^{2+}$ [U(VI)] 형태로 키일레이션 혹은 흡착이 진행되어 침전이 가능하다.

#### 감사의 말

본 연구는 일본 오사카대학 기초공학부 화학공학과의 협조로 수행된 것임을 밝히면서 관계자들에게 감사드립니다.

#### 참고문헌

- 高橋 甫翁 4인 공역. 1978. 硫酸還元菌 *Desulfovibrio*屬. 微生物學(下), 培風館, 東京. Pp. 338-341.
- 竹内準一. 1989. 硫酸塙還元細菌の生理生態. 用水と廢水. 31: 294-305.
- 田崎雅晴, 鎌形洋一, 中村和憲. 1992. 硫酸還元菌による酢酸、プロピオン酸の代謝と嫌氣處理における役割. 日本醣酵工學會誌. 70: 29-39.

4. Postgate, J.R. 1965. Recent advances in the study of the sulfate-reducing bacteria. *Bacteriol. Rev.* **29**: 425-441.
5. Taya, M., H. Shiraishi, T. Katsunishi and S. Tone. 1991. Enhanced cell density culture of *Thiobacillus ferrooxidans* in membrane-type bioreactor with electrolytic reduction unit for ferric ion. *J. of Chem. Engin. of Japan.* **24**: 291-296.
6. Cho, G.S., Y. Hongo, M. Taya and S. Tone. 1992. Precipitation of soluble uranium in anaerobic culture of sulfate-reducing bacterium. *Chemistry Express*. Kinki Chemical Society, Japan. **7**: 629-632.
7. 東穂節治, 田谷正仁, 曹圭成. 1991. メンブレンバイオリアクタ-を用いたバクテリア・リ-チグ. ケミカル・エンジニアリング. **36**: 55-60.
8. 山口宗男. 1984. 微生物による金屬の溶出と回収. 酸酵と工業. **42**: 946-959.
9. 齊藤多加子. 1990. 微生物による金屬の濃縮とその分析化學への應用. 公害. **25**: 65-77.
10. 植木 厚. 1989. 化學大辭典. 東京化學同人. 東京. Pp. 227-228.
11. 加藤俊作, 藤井綾子, 宮井良孝, 坂根幸治, 尾方 昇. 1983. 海水中の微量有用成分の分析. 日本海水學會誌. **36**: 310-323.
12. Tsezos, M. and B. Volesky. 1981. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnol. and Bioengin.* **23**: 583-604.
13. Zajic, J.E. and Y.S. Chiu. 1972. Recovery of heavy metals by microbes. *Develop. Ind. Microbiol.* **13**: 91-100.
14. Horikoshi, T., A. Nakajima and T. Sakaguchi. 1979. Uptake of uranium by *Chlorella regularis*. *Agr. Biol. Chem.* **43**: 617-623.
15. 八木澤三男, 村上幸枝, 加藤勝弘, 山口宗男. 1979. 硫酸還元菌によるウランの沈澱回収. 微生物工業技術研究所研究報告. 第53號. Pp. 21-30.
16. Tomizuka, N., M. Yagisawa, J. Someya and Y. Takahara. 1976. Continuous leaching of uranium by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Agr. Biol. Chem.* **40**: 1019-1025.
17. Lovley, D.R., E.J.P. Phillips, Y.A. Gorby and E.R. Landa. 1991. Microbial reduction of uranium. *Nature*. **350**: 413-416.
18. Mohagheghi, A., D.M. Updegraff and M.B. Goldhaber. 1985. The role of sulfate-reducing bacteria in the deposition of sedimentary uranium ores. *Geomicrobiol. J.* **4**: 153-173.
19. Tomizuka, N. and Y. Takahara. 1976. Bacterial leaching of uranium from Ningyo-Toge ores. Report of the Fermentation Research Institute. **48**: 23-37.
20. Degens, E.T., F. Khoo and W. Michaelis. 1977. Uranium anomaly in Black Sea sediments. *Nature*. **269**: 566-569.
21. Postgate, J.R. 1963. Versatile medium for the enumeration of sulfate-reducing bacteria. *Appl. Microbiol.* **11**: 265-267.
22. Noll, F. 1984. In methods of enzymatic analysis (Bergmeyer, H.U., ed) 3rd ed., Vol. VI, Pp. 582-588, Verlag chemie, weinheim, Deerfield Beach/Florida Basel.
23. Lang, E. and H. Lang. 1972. Spezifische Farbreaktion Zum direkten Nachweis der Ameisensäure. *Z. Anal. Chem.* **260**: 8-10.
24. Japanese Standard Association. 1966. Testing Method for Industrial Water. JIS-K0101. Pp. 96-97. Tokyo.
25. 日本工業規格協会. 1962. 鑛石中のウランの分析法. JIS-M8402. Pp. 1-3.
26. Kuroha, T., M. Sakakibara, S. Sibuya and M. Ogura. 1966. Spectrophotometric determination of microamounts of uranium in aluminium. *Japan Analyst.* **15**: 569-572.
27. 日本工業規格協会. 1966. 工業用水試験法(硫酸イオン). JIS-K0101. Pp. 59-66.
28. 日本工業規格協会. 1974. 工場排水試験方法(いおうイオン). JIS-K0102. Pp. 97-98.
29. Macpherson, R. and J.D.A. Miller. 1963. Nutritional studies on *Desulfovibrio desulfuricans* using chemically defined media. *J. Gen. Microbiol.* **31**: 365-373.
30. 菅野昌義. 1979. 海水からのウラン採取. 日本原子力學會誌. **19**: 586-591.

(Received January 20, 1993)