

## 메탄자화균에 의한 코발트의 생물흡착

이무열 · 양지원\*

동경공업대학 국제개발공학전공  
\*한국과학기술원 화학공학과

(2000년 7월 13일 접수, 2000년 10월 13일 채택)

## Biosorption of Cobalt by Methanotrophic Biomass

Moo-Yeal Lee · Ji-Won Yang\*

*Department of International Development Engineering, Tokyo Institute of Technology*  
*\*Department of Chemical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology*

### ABSTRACT

The optimum pH range for biosorption of cobalt by methanotrophic bacteria was broadened to 6.0~12.0 which was compared to pH 10.5~11.5 of biosorbent-free control case. Removal efficiency of cobalt by methanotrophic biomass was pH dependent, but less sensitive than that of control. With 1.0 g biosorbent/L at initial solution pH 6.0, methanotrophic biomass took up cobalt from aqueous solutions to the extent of 170 mg/g biomass. As a result of scanning electron microscope(SEM) micrographs, cobalt removal by methanotrophic biomass seemed to be through adsorption on the surface of methanotrophic biomass and by exopolymer around the biomass. Optimum amount of methanotrophic biomass for maximum cobalt uptake was 1.0 g/L for initial 400 mg Co/L at initial pH 6.0. Removal efficiency of cobalt was slightly affected by ionic strength up to 2.0 M of NaCl and NaNO<sub>3</sub>, respectively.

---

Key Words : Methanotrophic Biomass, Biosorption, Cobalt, Surface Adsorption

## 요 약 문

메탄자화균에 의한 코발트 제거의 최적 pH 영역은 6.0~12.0이었으나 메탄자화균을 넣지 않은 blank는 10.5~11.5이었다. 코발트의 제거능은 pH에 크게 의존하였으나 blank보다는 민감하지 않았다. 초기 pH 6.0에서 1.0 g/L의 메탄자화균을 투입했을 때 170 mg Co/g biomass가 제거되었다. SEM 분석 결과에 의하면 코발트는 메탄자화균의 표면이나 세포의 분비 고분자에 흡착되어 제거된 것으로 사료된다. 초기 pH 6.0, 400 mg Co/L에서 메탄자화균의 최적의 투입량은 1.0 g/L이었다. 2.0 M NaCl과 NaNO<sub>3</sub>의 높은 이온강도 하에서도 코발트 제거능은 그다지 영향을 받지 않았다.

주제어 : 메탄자화균, 생물흡착, 코발트, 표면흡착

## 1. 서 론

인간의 활동에 의하여 발생하는 환경 오염 물질 중에서 일부는 무독화되거나 다시 재생되어 순환되지만 방사성 핵종들은 오랜 기간 동안 자연계에 잔류하게 되고 먹이사슬을 통해 인간에게 해를 끼칠 뿐만 아니라 돌연변이를 유발하여 생태계에도 각종 피해를 일으킬 수 있다. 방사성 폐기물은 방사성 핵종의 농도 및 폐기물 표면에서의 방사선 양에 따라 저준위(LLW), 중준위(MLW) 및 고준위(HLW) 폐기물로 분류된다.<sup>1~3)</sup> 이 중 원자력 발전소, 핵주기 시설, 방사성 동위원소 취급기관에서 발생하는 방사성 폐기물은 대부분 중, 저준위 폐기물이며 재처리 공정의 폐액으로 회수되는 핵분열 생성물 및 actinide계 원소 등은 고준위 폐기물에 속한다. 우리나라의 원자력 발전소는 대부분이 가압수형 원자력 발전소(PWR)이며 방사성 폐기물은 원자력 발전소, 원자력 연구기관, 기타 동위원소를 사용하는 병원 등에서 많이 배출된다. 원자력 발전소에서 발생하는 방사성 폐액은 대개 중성영역이며 용해성 물질, 현탁오염물, 기름, 계면활성제 등 여러 가지 성분으로 구성되어 있다.<sup>1~3)</sup> 그러므로 방사성 폐액 처리시 공정의 효율을 극대화하기 위해서 전처리로서 막과 활성탄을 이용한 여과 장치가 필요하다. 용해성 물질은 주로 이온교환수지를 이용하는데 Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 등과 같은 여러 가지 이온들도 함께 포함되어 있는 경우가 많다. 국내에서 배출되는 방사성 폐기물 중 액체 폐기물은 대부분 저준위 폐기

물이며 농도는 10 μCi/g 정도이다. 그 중에서 코발트, 세슘, 요오드의 방사능 농도는 전 방사능 농도의 90~99%에 달한다.<sup>4)</sup> 방사성 핵종 중 세슘과 요오드는 용액 내에서 이온상태로만 존재하므로 이온교환법에 의해 대부분 제거할 수 있다. 하지만 코발트의 경우는 주로 Co<sup>58</sup>과 Co<sup>60</sup>의 동위원소로 구성되어 있는데 물 속의 다른 리간드와 쉽게 결합하는 경향이 있어서 이온교환법 만으로는 99% 이상 제거하기 어렵다. 원자로 냉각수에 함유된 전체 코발트 방사능 준위의 10~30% 만이 0.45 μm 필터로 여과가 가능한 상태로 존재하고 나머지는 용해된 상태로 존재하기 때문에 전처리로 여과법을 사용한 후 이온교환수지 층을 거치는 경우가 많다.<sup>3)</sup> 방사성 액체 폐기물의 발생원으로는 원자로 냉각계 계통, 가압기 릴리프 탱크, accumulator, refueling canal drains, 장치 배수 및 누설, 방사 화학 실험실 배수, 세탁 및 샤워 배수, 계염구역 배수, 탈염기 재생, 바닥 배수, 시료 채취 계통 등이 있다.<sup>1~3)</sup> 액체 폐기물은 주로 증발법, 이온교환법, 여과법, 역삼투압법 등의 전처리 과정과 시멘트고화, 아스팔트고화, 폴리머고화, 유리화 등의 고화처리 과정을 거쳐 처리, 보관된다.<sup>1~3)</sup> 지금까지는 증발 농축법이 많이 이용되어 왔으나 에너지의 과다한 사용 및 감응의 한계 등으로 최근에는 이온교환수지를 이용하는 공정으로 바뀌고 있는 추세이다. 그러나 이온교환 공정도 효율을 극대화하기 위해서 전처리로서 막과 활성탄을 이용한 여과처리 장치가 필수적이다. 따라서 아직까지 이온교환 공정도 가격뿐만 아니라 효율면에서 고려해야 할 점이

많이 있다. 특히, 원자력 발전소의 액체 폐기물 처리 계통은 발전소마다 차이가 많기 때문에 폐기물의 특성에 따라 서로 다른 처리공정을 채택해야 할 필요가 있다.

따라서 이온교환법을 대체하여 방사성 핵종을 농축시키기 위한 새로운 방법으로서 생물흡착법(biosorption)이 많이 연구되어 오고 있다.<sup>5,6)</sup> 넓은 의미의 생물흡착법은 바이오매스(biomass)를 이용하여 중금속이나 방사성 핵종을 흡착, 제거하는 방법으로 1949년 Ruchhoft가 황성슬러지를 이용하여 플루토늄을 제거한 것이 시초이다.<sup>7)</sup> 생물흡착법은 방대한 표면적을 가지는 미생물의 표면에 폐수 중의 금속 이온들을 다량 흡착시켜서 농축시키는 방법으로 박테리아(bacteria), 조류(algae), 곰팡이(fungi), 효모(yeast), 그 외의 키틴/키토산과 같은 바이오매스를 생물흡착제로서 사용하고 있다. 본 연구의 목적은 방사성 핵종에 대해 뛰어난 흡착능을 가진 생물흡착제를 개발하고, 이의 특성에 대한 기초 연구를 수행하여 기존의 이온교환 공정보다도 성능이 뛰어나고 보다 안전하게 방사성 핵종을 농축하는데 있다. 방사성 핵종으로는 코발트가, 생물흡착제로는 메탄자화균(methanotrophic biomass)이 각각 선정되었으며 용액 pH의 영향, 최대 흡착능, 메탄자화균 투입량의 영향, 이온강도의 영향 등에 관한 실험이 진행되었다.

## 2. 재료 및 실험방법

### 2.1. 시약 및 재료

생물흡착 실험에 사용된 코발트(cobalt) 용액은 cobalt chloride hexahydrate( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Aldrich chemical)를 3차 증류수에 녹인 후 약간의 염산을 가하여 pH를 4.0으로 맞추어 stock solution으로 사용하였다. 이 용액의 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectroscopy, AAS)로 검증하였으며 필요시마다 일정량을 희석하여 사용하였다. 그 외에 pH 및 이온강도의 조절을 위해서 Sigma Chemical의 sodium hydroxide(NaOH), hydrochloric acid(HCl), sodium chloride(NaCl), sodium nitrate

( $\text{NaNO}_3$ )를 각각 사용하였다.

### 2.2. 메탄자화균의 분리 및 배양

대전 인근의 토양, 고인 물, 혐기성 발효조 유출수 부근의 토양에서 메탄자화균의 분리를 시도하여 새로운 균주를 분리하였다.<sup>8,9)</sup> 분리된 메탄자화균은 2 L 발효조(MultiGen사, 미국) 2대에서 Higgins nitrate mineral salt(NMS, Table 1) 배지를 이용하여 대량으로 배양하였다. 배양온도는 25~30℃, 교반 속도는 350~400 rpm, pH는 6.8~7.2을 유지하였으며, 기체의 공급 속도는  $\text{CH}_4$ , air,  $\text{CO}_2$ 가 각각 5~6, 45~50, 4~5 mL/min으로 혼합하여 공급하였다. 메탄자화균은 단일 균주로는 성장이 극히 느리기 때문에 여러 가지 메탄자화균을 복합적으로 배양하여 흡착실험에 사용하였으며, 균주는 배양 후 5~6일 정도 지나면 대수 성장기에 이르렀다. 생물흡착제는 1주일 동안 배양한 혼합 메탄자화균 배양액을 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 균주를 침전시켜 얻었다. 배지 성분들을 없애기 위하여 상등액은 버리고 침전된 균주들을 증류수에 다시 분산시킨 다음 원심분리하여 재침전시켰다. 상등액은 다시 버리고 침전된 균주들을 모았으며, 균주 표면의 기능기들의 변성을 막기 위해서 동결 건조시켰

Table 1. Composition of NMS medium (g/L)

Salt solution (10×)	$\text{NaNO}_3$	8.5
	$\text{K}_2\text{SO}_4$	1.7
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.37
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.07
Phosphate buffer solution (10×)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	5.3
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	8.6
Trace metal solution (1000×)	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.574
	$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.446
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.124
	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.096
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.096
	KI	0.166
Iron solution (1000×)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	11.2

Add 1 and 5 mL of 1 mM  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in 1 L trace metal and 100 mL iron solution, respectively. Dilute and mix all the solutions before use.

다. 대부분의 박테리아는 크기가 매우 작기 때문에 분쇄할 필요가 없으나 혼합 메탄자화균의 경우에는 점액성 고분자 물질들이 외부로 분비되어서 미세한 입자로 응집되기 때문에 막자사발로 분쇄하여 사용하였다.

### 2.3. 흡착실험 방법

용액의 pH에 따른 코발트의 침전능 및 메탄자화균에 의한 흡착능을 알아 보기 위하여 3차 증류수로 stock solution을 희석하여 50 mg/L의 용액을 만들었다. 이때 이온강도는 맞추지 않았으며, pH를 4.0으로 맞추고 질소 가스를 불어넣어 용존되어 있는 이산화탄소를 날려 보냈다. 먼저 50 mg/L의 코발트 용액을 100 mL씩 플라스크 10개에 넣은 후 메탄자화균을 1 g/L씩 넣고 HCl과 NaOH로 pH를 2~12로 맞추었다. 이 플라스크를 30°C 항온 교반조에서 200 rpm으로 교반하면서 24시간 방치하였다. 그 후 플라스크 속의 용액을 40 mL 취하여 원심분리기에서 15,000 rpm, 30분 가량 원심분리하여 상등액을 취한 후 최종 pH를 측정하고 AAS로 분석하였다. Blank 실험으로 메탄자화균을 넣지 않고 위와 동일한 실험을 진행하였다. pH는 2 N HCl과 NaOH로 각각 2~12까지 맞추었으며, 30°C 항온 교반조에서 200 rpm으로 교반하면서 24시간 동안 방치하였다. 그 후 침전물을 원심분리기에서 분리한 다음, 상등액을 취해서 AAS로 잔존 코발트의 양을 분석하였다.

평형상태에서 단위 메탄자화균 당 코발트의 최대 제거능을 확인하기 위해서 50, 100, 200, 300, 400 mg/L의 stock solution을 제조한 다음 pH를 각각 4.0과 6.0으로 조정하였다. 코발트는 pH 8.0 이하에서는 침전되지 않기 때문에 흡착실험에서는 8.0보다 낮은 pH 4.0과 6.0을 기준으로 stock solution을 제조하였다. 플라스크에 pH를 조정한 각각의 stock solution을 100 mL씩 넣은 후 메탄자화균을 각각 1 g/L씩 넣었다. 이것을 항온 교반조에서 반응시킨 다음, 마찬가지로 원심분리기에서 메탄자화균을 침전시켰다. 그 후 상등액의 pH를 측정한 다음 AAS로 분석하였으며, 침전된 메탄자화균은 거름종이로 거른 다음, 동결 건조시켜서 전자현미경

(scanning electron microscope, SEM)으로 분석하였다. 여기서 단위 메탄자화균 당 코발트의 제거능은 평형상태에서 메탄자화균에 흡착되어 제거된 코발트의 양과 액상 중에 남아있는 코발트의 양의 비로서 계산하였다.

메탄자화균의 투입량에 따른 코발트의 제거능을 알아보기 위해서 400 mg/L의 stock solution을 제조한 다음 pH를 각각 4.0과 6.0으로 조정하였다. 그 후 플라스크에 stock solution을 100 mL씩 넣은 후 메탄자화균을 각각 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 g/L씩 넣었다. 이것을 항온 교반조에서 반응시킨 다음, 마찬가지로 원심분리하고 상등액의 pH와 코발트 농도를 측정하였다.

이온강도에 따른 코발트의 흡착능을 측정하기 위해서 초기 pH 5.0, 50 mg/L의 stock solution을 제조한 다음, 100 mL씩을 플라스크에 각각 넣고 NaCl과 NaNO<sub>3</sub>를 넣어서 농도를 0.2~2 M으로 맞추었다. 다음으로 메탄자화균을 1 g/L씩 넣고 항온 교반조에서 반응시킨 다음, 마찬가지로 원심분리 후 상등액의 pH와 코발트 농도를 측정하였다.

### 2.4. 분석방법

침전 및 흡착 반응을 시키고 난 후 상등액 속에 잔존하는 코발트의 최종 농도를 분석하기 위해서 PERKIN-ELMER 3100 AAS를 사용하였다. 사용된 가스는 air와 acetylene이었으며, wave length 240.7 nm, slit 0.2 nm에서 분석을 진행하였다. 표준 용액은 linear range 농도와 3배, 6배 진한 농도를 각각 사용하였다.

코발트를 흡착하기 전, 후의 메탄자화균의 모양 변화와 표면에서의 코발트의 침전을 확인하기 위해서 energy dispersive spectroscopy(EDS, EDAX international Co. PV 9900)를 장착하고 있는 주사전자현미경(Philips 535M scanning electron microscope, SEM)을 사용하였다. 먼저, 액체 상태 또는 한천 배지상의 콜로니를 eppendorf 튜브에 넣고 배지를 넣은 다음 원심분리 후, 동일한 조작을 3~4회 정도 반복하여 완전히 불순물을 제거하여 현탁시켰다. 코발트를 흡착한 균주의 경우에는 침전된 균주를 원심분리하여 모아 두었다. 단백질을 고정하

기 위해서 4°C의 3% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde의 혼합액에 미생물 시료를 4시간 동안 담궈 둔 다음, 0.1 M phosphate 완충 용액으로 3회 overnight하면서 세척하였다. 다음으로 지질을 고정하기 위해서 상온의 1% OsO<sub>4</sub>에 1시간 동안 담궈 둔 다음, 0.1 M phosphate 완충 용액으로 10분씩 3회 세척하였다. 시료 속의 물을 제거하기 위해서 각각 10분씩 50%, 70%, 80%, 95%의 에탄올 용액에 담궈 둔 다음, 10분씩 3회에 걸쳐 100% 에탄올 용액에 담궈 두었다. 에탄올을 휘발시키기 위해서 100% 에탄올과 isoamylacetate의 비율을 각각 2:1, 1:1, 1:2로 높여 가면서 10분씩 시료를 담궈 둔 다음, 10분씩 3회에 걸쳐 100% isoamylacetate 용액에 담궈 두었다. 그 후, 80 bar 정도의 고압에서 액체 CO<sub>2</sub>를 공급한 후 31.1°C 정도로 온도를 올리면서 CO<sub>2</sub>를 기화시켜서 시료를 건조하였다. 시료 표면의 charge를 없애기 위해서 gold로 sputtering한 다음, 시료를 주사전자현미경으로 관찰하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. pH에 따른 메탄자화균의 코발트 흡착 제거능

코발트는 카보네이트(carbonate)나 산소가 없는 경우에 pH 6.5 이상에서 침전이 일어나기 시작하며, pH가 10 이상이 되면 대부분 청색이나 연분홍색의 침전물 형태를 이룬다. 그러므로 코발트는 용액의 pH에 따라서 OH<sup>-</sup> 이온이 흡착되므로 Co<sup>2+</sup>, CoOH<sup>+</sup>, Co(OH)<sub>2</sub>, Co(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup>, Co(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup> 등의 여러 가지 형태를 띌 수 있다(Fig. 1). 물속에서의 금속 이온의 거동을 보는 MINTEQA2/PRODEFA2 프로그램의 계산에 의하면 코발트는 pH 8.0 부근에서 급격히 Co(OH)<sub>2</sub> 형태의 침전물을 형성하며 더욱 높은 pH에서는 Co(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup>나 Co(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 형태로 재용해되는 것으로 나타났다. 또한 세습과 달리 코발트는 용액 내에서 이온상태로만 존재하지 않고 여러 가지 리간드와 결합하여 음이온 상태로도 존재할 수 있다. 그러므로 일반적으로 방사성 폐액중의 여

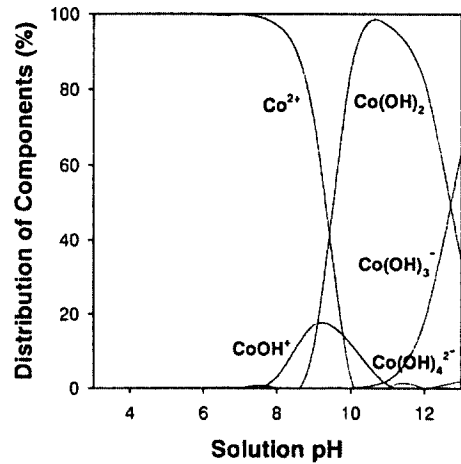


Fig. 1. Chemical equilibrium speciations of cobalt computed by MINTEQA2/PRODEFA2.

러 핵종들 중에서 코발트가 가장 제거하기 어렵다고 알려져 있다. 따라서 기존의 이온교환수지를 대체할 수 있는 새로운 처리제로서 Kuyucak 및 Volesky는 갈조류의 일종인 *Ascophyllum nodosum*를, Brady와 Duncan은 효모의 일종인 *Saccharomyces cerevisiae*를 생물흡착제로 이용하여 코발트를 제거하는 연구를 수행하였다.<sup>10-12)</sup> 본 연구에서는 박테리아의 일종인 메탄자화균을 자연계로부터 분리하여 생물흡착제로 이용하여 코발트를 제거하고자 하였다. 메탄자화균은 다른 복합 탄소원은 이용하지 못하며 오직 메탄만을 산화시켜 탄소원이나 에너지원으로 사용하는 미생물을 말하는데, 특이하게 메탄을 이용하여 성장하면서 동시에 발암물질로 분류된 trichloroethylene(TCE)과 같은 오염물질을 제거하는 cometabolism을 할 수 있다.<sup>8,9)</sup> 그것은 메탄자화균의 탄소원인 메탄을 메탄올로 산화시키는 methane monooxygenase(MMO)라는 효소가 낮은 기질특이성을 갖기 때문에 메탄과 동시에 cometabolism으로 TCE를 분해할 수 있기 때문이다.<sup>8,9)</sup> 그리고 NMS 배지라고 불리는 미량의 금속염 용액 속에서 자라므로 금속에 대한 내성이 강하며, 성장에 필요한 MMO와 같은 효소들이 모두 금속 이온을 포함하고 있으므로 세포벽을 통해서 내부로 금속을 흡착하여 잘 받아들일 수 있는 기능이 많이 분포할 것으로 사료되었다. 분리된 메탄자화균은 세포의 고분자 물질을 다량으로 분비하며 soluble MMO가 TCE를 분

해할 때 저해제로 알려진 구리에 대한 흡착능이 뛰 어났기 때문에 생물흡착제로 선별되었다.<sup>9)</sup>

먼저 pH에 따른 흡착능의 영향을 살펴보기 위해서 초기 코발트 농도 50 mg/L에서 1 g/L의 메탄자화 균을 투입한 경우와 투입하지 않은 blank 실험을 동 시에 병행하였다(Fig. 2). 여기서 좋은 생물흡착제 는 pH의 영향을 덜 받고 넓은 pH 영역에서 방사성 핵종을 흡착할 수 있어야 한다. Blank 실험의 경우, 코발트 침전물의 용해도는 pH에 매우 민감하였으며 좁은 범위의 최적 pH 범위를 벗어날 경우에는 침전 되었던 코발트가 다시 용출되어 나왔다. 코발트 제 거를 위한 최적 pH 영역은 10.5~11.5로 매우 좁은 편이었고 평균 98%의 코발트를 침전으로 제거할 수 있었다. 코발트는 pH 8.0 부근에서 침전이 일어나 기 시작하여 pH 10 이상에서 대부분 연분홍색의 침 전물 형태를 이루었다. 한편, 생물흡착제로 메탄자 화균을 넣었을 경우에는 최적 pH가 6.0~12.0으로 blank 실험에서 침전으로 제거할 때 보다 더욱 넓어 지고 평균 98%의 코발트를 흡착시켜 제거할 수 있 었다(Fig. 2). 그러므로 침전이 일어나지 않는 낮은 pH 영역에서는 코발트가 메탄자화균의 표면에 흡착 되어 제거된 것으로 볼 수 있고, 높은 pH에서는 코 발트가 침전된 것으로 사료되었다. Blank에서와 같 은 코발트 침전법은 높은 pH 영역에서만 적용 가능 하므로 방사성 폐액의 처리에는 불합리한 점이 많 다. 특히 첨가되는 화학물질의 양이 많고 최적 pH의 영역이 매우 좁으며, 밀폐된 조건에서 반응을 시키 기 어렵다. 더욱이 코발트 함유 슬러지를 제거하기 위해서 필터를 사용해야 하는 문제점도 가지고 있 다. 그런 점에서 생물흡착제에 의한 코발트 제거는 여러번 사용이 가능하고 최적 코발트 제거 pH가 넓 다는 측면에서 유용하다. 특히 메탄자화균의 경우 에는 코발트 제거를 위한 최적 pH의 영역이 6.0~ 12.0이므로 중성 영역에서 방출되는 방사성 폐액을 처리하는데 적절할 것으로 보인다.

### 3.2. 평형상태에서 단위 메탄자화균 당 코발 트의 최대 제거능

생물흡착제는 이온교환수지와 마찬가지로 단위 생 물흡착제 당 높은 금속 이온 흡착능을 필요로 한다.

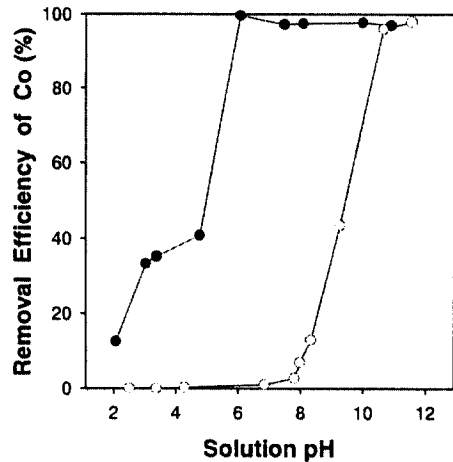


Fig. 2. Removal efficiency of cobalt for initial 50 mg/L with 1 g dry biosorbent/L at various pH valuse: (●) methanotrophic biomass and (○) without biosorbent.

그러므로 아무리 넓은 pH 영역에서 코발트를 흡착 할 수 있어도 단위 흡착제 당 매우 적은 양의 코발트 밖에 흡착할 수 없다면 흡착제로서의 조건에는 맞지 않다. 실험은 액상에서 코발트가 침전되는 것을 막 기 위해서 최종 pH 7.0 이하에서 수행하였으며, 메 탄자화균 1 g/L를 넣고 24시간이 지난 후에 코발트 의 제거량과 물 속에 남아 있는 양을 비교해서 표시 하였다(Fig. 3). 초기 용액 pH가 4.0과 6.0에서 400 mg/L의 코발트를 1 g/L의 메탄자화균으로 평 형 흡착하였을 때 최종 pH는 3.8과 5.6에 도달하였 으며 각각 157과 170 mg Co/g dry biomass의 흡 착능을 보였다. 또한 메탄자화균 표면의 기능기에 H<sup>+</sup> 이온과 Co<sup>2+</sup> 이온이 서로 경쟁적으로 흡착되기 때문에 초기 pH가 낮을수록 흡착능이 떨어짐을 알 수 있었다. 즉, pH가 낮아질수록 H<sup>+</sup> 이온의 수가 급격히 증가하므로 세포벽의 기능기에서 Co<sup>2+</sup> 이온 을 밀어내고 대신 흡착되므로 흡착능이 떨어지는 것 으로 보였다. 한편, 메탄자화균은 이전에 연구된 *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.보다도 10배 이상의 흡착능을 보였다.<sup>13)</sup> 문헌에 의하면 Kuyucak 및 Volesky는 갈조류의 일종인 *Ascophyllum nodosum*을 이용하여 160 mg/g을 제거하였으며, Brady와 Duncan은 효모의 일종인 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하여 4.7 mg/g을 제거하였다.<sup>10~12)</sup>

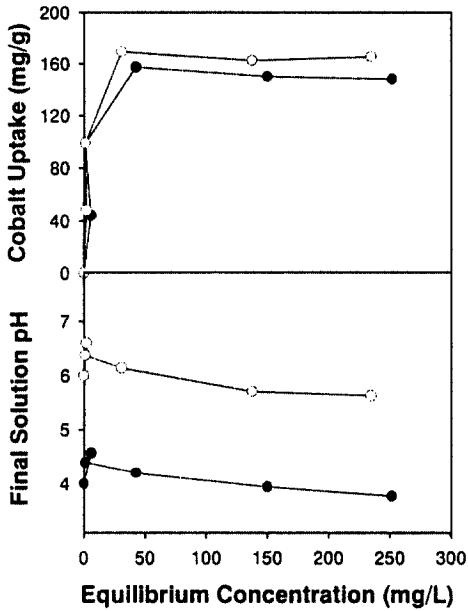


Fig. 3. Maximum uptake of cobalt with 1 g dry methanotrophic biomass at initial pH 4.0 (●) and 6.0 (○).

최근에는 *Aspergillus niger*, *Myxococcus xanthus*, *Neurospora crassa*, *Oscillatoria angustissima*, *Pseudomonas halodenitrificans*, *Rhizopus arrhizus*, *Spirulina platensis*, *Ulva lactuca* 등을 이용

한 연구도 발표된 바 있다(Table 2). 한편, 코발트에 대해서 높은 제거능을 가진 것으로 알려진 이온교환수지 Duolite C20는 88 mg Co/g, IRA-400는 30 mg Co/g, 그리고 무기물질 및 유기물질에 대해서도 높은 흡착능을 보이는 Calgon 활성탄은 75 mg Co/g의 흡착능을 보인 것과 비교해 보아도 메탄자화균의 코발트 흡착능이 매우 높은 것임을 알 수 있었다.<sup>10,11)</sup>

메탄자화균에 의한 코발트 제거가 세포 내 성분의 유출에 의한 표면 침전에 의한 것인지 세포벽 성분에 의한 표면 흡착에 의한 것인지 규명하기 위하여 코발트를 투입하기 전 후의 메탄자화균을 모아서 전처리한 후 전자현미경으로 관찰하였다(Fig. 4). 또한 흡착제의 표면에서 EDS 스펙트럼을 관찰하여 어떠한 원소들이 침전 혹은 흡착되어 있는지 분석하였다. 그림에서 보는 바와 같이 메탄자화균은 코발트를 흡착하기 전과 후에 변화가 전혀 없고 침전물도 발견할 수 없었다. 그러므로 코발트는 침전보다는 흡착에 의해서 제거됨을 알 수 있었다. 특히 원통형의 메탄자화균의 사이에 많은 고분자 물질들이 있는 것으로 보아 메탄자화균은 세포외로 고분자를 방출하고 이것의 기능기들이 코발트 흡착에 상당한 영향을 끼치는 것으로 사료된다. EDS 분석에 의하면 메

Table 2. Recent studies for the removal of cobalt

	Method	References
Adsorption	commercial activated carbons	18
	commercial inorganic, organic sorbents & activated carbons	4
Biosorption	<i>Myxococcus xanthus</i> & brewery yeast	19
	<i>Neurospora crassa</i>	20
	<i>Oscillatoria angustissima</i>	21
	<i>Pseudomonas halodenitrificans</i>	22
	<i>Rhizopus arrhizus</i> & <i>Aspergillus niger</i>	23
	<i>Spirulina platensis</i>	24
	<i>Ulva lactuca</i>	25
Chemical	reduction with NaBH <sub>4</sub>	26
Extraction	2,6-bis-left bracket & 5-n-nonylpyrazol-3-yl right bracket pyridine	27
	naphthenic acids	28
	neat polyurethane & n-tributyl phosphate polyurethane foam	29
Ion exchange	H <sup>+</sup> form cation exchanger	30
Membrane	microfiltration hollow-fiber membrane	31
Others	conventional municipal wastewater treatment plant	32

해서 나타나는 것으로 알려져 있다.<sup>5-7)</sup> 그외에도, 박테리아는 생존을 위해서 polypeptide와 carbohydrate 등의 구성된 세포의 층(surface layers)을 가지는 경우가 많은데, 역시 금속 이온의 흡착에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.<sup>5-7)</sup>

### 3.3. 메탄자화균의 투입량 및 이온강도에 따른 코발트의 흡착능

pH에 따른 코발트의 제거능과 평형상태에서 단위 메탄자화균 당 코발트의 최대 제거능에 이어 메탄자화균의 투입량에 따른 코발트 제거능을 살펴보았다. 실험은 초기 400 mg/L, pH 4.0과 6.0의 코발트 용액에 메탄자화균을 각각 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 g/L씩 투입하여 평형상태에서 단위 메탄자화균 당 코발트의 제거능을 표시하였다(Fig. 5). 결과에 의하면 초기 pH가 4.0과 6.0에서 최적 메탄자화균 투입량은 1 g/L이었으며, 그때의 최대 흡착량은 각각 169와 178 mg Co/g dry biomass을 보였다. 일반적으로 생물흡착제의 투입량이 증가하면 제거되는 총 코발트의 양은 많아진다. 그러나 이것을 단위 흡착제의 질량으로 나누어서 계산해보면 반드시 생물

Fig. 4. SEM of methanotrophic biomass: (A) raw methanotrophs ( $\times 10,000$ ) and (B) methanotrophs exposed to initial 400 mg Co/L at pH 6.0 ( $\times 10,000$ ).

탄자화균 표면과 방출된 고분자에서 많은 양의 코발트 peak가 관찰되었다(data not shown). 문헌에 의하면 물 속에서 금속 이온은 양 전하를 띠므로 전자가 많은 리간드(ligand)나 세포벽의 기능기 쪽으로 가서 결합하는 경향이 있다.<sup>14,15)</sup> Gram(+) 박테리아 세포벽의 주요 구성 성분은 disaccharide N-acetyl glucosamine  $\beta$ -1,4-N-acetyl muramic acid의 직쇄로 구성된 peptidoglycan이다. 이 중 N-acetyl glucosamine은 금속에 대한 흡착능이 뛰어난 것으로 알려진 키틴(chitin)의 주요 성분이다. 생물흡착에 중요한 세포벽의 음이온 특성은 teichoic acid, teichuronic acid, N-acetyl glucosamine 등에 의해서 나타난다고 알려져 있다.<sup>5-7)</sup> 반면에 gram(-) 박테리아의 세포벽은 세 겹의 sandwich 구조를 가지며, 흡착에 영향을 미치는 바깥쪽 세포벽은 주로 phospholipid, lipopolysaccharide, 단백질 등으로 구성되어 있다. 그리고 흡착에 영향을 미치는 음이온 특성은 주로 lipopolysaccharide에 의

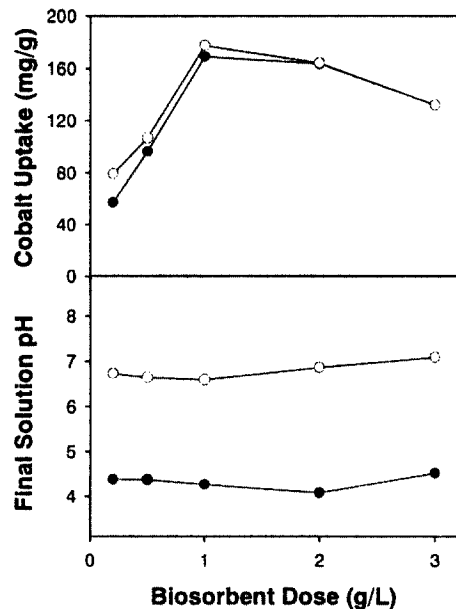


Fig. 5. Effects of methanotrophic biomass dose for 400 mg/L of cobalt at initial solution pH 4.0 (●) and 6.0 (○).



흡착제의 양이 증가한다고 해서 흡착량이 증가하는 것이 아님을 알 수 있다. 특히 *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.와 같이 흡착능이 낮은 생물 흡착제의 경우에는 투입량이 증가함에 따라 코발트의 흡착량이 증가하는 현상을 보였다.<sup>13)</sup> 그러나 메탄자화균은 초기에는 흡착량이 증가하다가 1 g/L를 기준으로 서서히 감소하였다. 이것은 초기 코발트의 농도와 관련성이 많은 것으로 사료되었다. 즉, 메탄자화균은 흡착능이 높기 때문에 초기 코발트 농도 400 mg/L, pH 6.0에서 1 g/L을 투입하면 약 178 mg Co/g의 코발트를 제거할 수 있었다. 동일한 조건에서 메탄자화균을 3 g/L 투입하면 제거능이 133 mg Co/g으로 떨어진다. 그러나 이것을 환산해보면 총 399 mg의 코발트가 제거되어 잔류 농도는 1 mg/L으로서 흡착 반응이 한계에 이르렀음을 알 수 있었다.

이온교환수지법과는 달리 대부분의 생물흡착법은 첨가된 다른 이온의 영향을 덜 받는다고 알려져 있다.<sup>5-7)</sup> 왜냐하면 이온교환수지는 이온들의 상호 교환에 의해서 금속 이온들이 제거되므로 물 속에 경쟁하는 다른 이온이 존재하면 제거능에 많은 영향을 미친다. 실제로 원자력 발전소에서 나오는 방사성 폐액 중에는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  등이 20~30 mg/L의 농도로 존재하기 때문에 일반적인 이온교환수지로 코발트를 제거할 때 제거능에 영향을 받을 수 있다. 열역학적인 관점에서 볼 때 이런 경쟁 이온의 존재는 이온교환수지의 이온교환 위치(site)에서의 코발트와 이온간의 경쟁뿐만 아니라 물 속의 활동도 계수(activity coefficient)를 바꿀 수 있다. 이 활동도(activity)는 어떤 이온이 물 속에 어떠한 농도로 존재할 때 실제로 나타나는 농도를 의미한다. 그러므로 용액 중의 이온강도를 바꾸면 활동도 계수가 바뀌게 되므로 용액 중의 성분의 조성도 바뀌게 된다. 따라서 흡착실험에서는 다른 이온들의 영향을 줄여주기 위해서 많은 양의 또 다른 이온을 투입하여 이온강도를 고정시켜 미량으로 들어가는 이온의 영향을 줄여 주는 경우가 많다.<sup>16,17)</sup> 실험은 높은 이온강도, 즉 많은 경쟁 이온 속에서 메탄자화균에 의한 코발트 흡착능의 영향을 알아보기 위한 것으로 초기 코발트 50 mg/L에서 1 g/L의 메탄자화균을 투입하여 최종 pH를 7.0으로 하였을 때

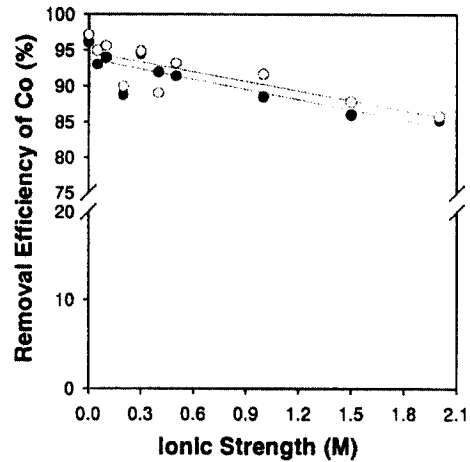


Fig. 6. Effects of ionic strength for 50 mg Co/L, final solution pH 7.0 and 1 g dry methanotrophs/L: (●) NaCl and (○) NaNO<sub>3</sub>.

NaCl과 NaNO<sub>3</sub> 이온의 강도에 대한 영향을 살펴본 결과에 의하면 메탄자화균은 NaCl과 NaNO<sub>3</sub> 이온에 대해서 비슷한 정도의 흡착능을 가지고 있으며 이온강도에 따라서 흡착능이 서서히 감소하였지만 해수 정도의 높은 이온강도 하에서도 높은 코발트 제거능을 유지하고 있었다. 이때 NaCl과 NaNO<sub>3</sub> 이온의 기울기와 절편은 각각 93.80과 94.70%, 그리고 -4.76과 -4.50이었다. 그러므로 방사성 폐액에서와 같이 여러 가지 이온들이 존재할 때에도 효과적으로 코발트를 제거할 수 있을 것으로 기대되었다.

#### 4. 결 론

방사성 핵종 중의 하나인 코발트를 제거하기 위하여 메탄자화균을 이용하여 평형상태에서 pH에 따른 제거능, 단위 메탄자화균 당 최대 제거능, 메탄자화균의 투입량에 따른 제거능, 이온강도의 영향 등에 대해서 실험을 실시하였다. 메탄자화균에 의한 코발트 제거의 최적 pH 영역은 6.0~12.0이었으나 blank로 사용한 침전에 의한 제거는 10.5~11.5이었다. 그리고 초기 pH 6.0에서 1 g/L의 메탄자화균을 투입했을 때 170 mg Co/L가 제거되었다. SEM 분석 결과에 의하면 코발트 흡착의 전과 후의 메탄

자화균에 별다른 변화가 없는 것으로 보아 침전 보다는 세포의 분비 고분자에 의한 흡착에 의한 제거로 사료된다. 메탄자화균의 투입량이 증가할수록 코발트의 제거량도 증가하였으며, 초기 400 mg Co/L에서 최적의 투입량은 1 g/L이고 단위 메탄자화균당 제거량은 178 mg Co/g이었다. 메탄자화균은 NaCl과 NaNO<sub>3</sub>의 높은 이온강도 하에서도 높은 코발트 제거능을 보였기 때문에 이온강도에 따른 영향이 적은 것을 알 수 있었다.

## 사 사

본 논문은 한국과학기술원 생물공정연구센터 "생물학적 중금속 제거 및 회수" 사업, 한국과학기술원 신형원자로연구센터 "신형원자로의 해주기 및 방사선 관리 연구"의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다. 또한 실험에 많은 도움을 주신 전진숙 연구원께 진심으로 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- IAEA, Treatment of low- and intermediate-level liquid radioactive wastes, Technical report services, No. 236(1984).
- EPRI, Pretreatment and selective materials for improved processing of PWR radioactive waste, EPRI-5786(1988).
- Kim, J. H., Technology development for the treatment of radioactive waste, KAERI-NEMAC/RR-62/92(1992).
- Park, S. M., Park, J. K., Kim, J. B., and Song, M. J., "Experimental study on liquid radioactive waste treatment process using inorganic ion exchanger," *J. Environ. Sci. Health, Part A*, **34**(4), 767~793(1999).
- Volesky, B., "Biosorbents for metal recovery," *Trends Biotechnol.*, **5**(4), 96~101(1987).
- Ashley, N. V. and Roach, D. J. W., "Review of biotechnology applications to nuclear waste treatment," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**(4), 381~394(1990).
- Volesky, B., *Biosorption of Heavy Metals*, CRC Press(1990).
- 이무열, 신현재, 염상필, 양지원, "Trichloroethylene의 분해를 위한 메탄자화균총의 분리 및 배양," *한국생물공학회지*, **13**(5), 483~490(1998).
- 이무열, 신현재, 염상필, 양지원, "혼합 메탄자화균에 의한 trichloroethylene의 분해," *대한환경공학회지*, **20**(9), 1207~1217(1998).
- Kuyucak, N. and Volesky, B., "Accumulation of cobalt by marine alga," *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 809~814(1989).
- Kuyucak, N. and Volesky, B., "The mechanism of cobalt biosorption," *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 823~831(1989).
- Brady, D. and Duncan, J. R., "Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*," *Minerals, Metals & Materials Soc.*, **2**, 711~724(1993).
- 이무열, 양지원, "Absidia coerulea와 Thraustochytrium sp.에 의한 납과 코발트의 생물흡착," *대한환경공학회지*, **22**(12), 2149~2161(2000).
- Onsoyen, E. and Skaugrud, O., "Metal recovery using chitosan," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**, 395~404(1990).
- Tsezos, M., "The role of chitin in uranium adsorption by *Rhizopus arrhizus*," *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2025~2040(1983).
- Reed, B. E. and Nonavinakere, S. K., "Metal adsorption by activated carbon: Effect of complexing ligands, competing adsorbates, ionic strength and background electrolyte," *Sep. Sci. Technol.*, **27**, 1985~2000(1992).
- Ma, Q. Y., Logan, T. J., and Traina, S. J., "Effects of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> on Pb<sup>2+</sup> immobilization by hydroxyapatite," *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 408~418(1994).

18. Paaianen, A., Lehto, J., Santapakka, T., and Morneau, J. P., "Sorption of cobalt on activated carbons from aqueous solutions," *Sep. Sci. Technol.*, **32**, 813~826(1997).
19. Ben, O. N., Larbi, M. M., Arias, J. M., and Gonzalez-Munoz, M. T., "Comparative heavy metal biosorption study of brewery yeast and *Myxococcus xanthus* biomass," *Chemosphere*, **35**(10), 2277~2283(1997).
20. Karna, R. R., Sajani, L. S., and Mohan, P. M., "Bioaccumulation and biosorption of  $Co^{2+}$  by *Neurospora crassa*," *Biotechnol. Lett.*, **18**(10), 1205~1208(1996).
21. Ahuja, P., Gupta, R., and Saxena, R. K., "Sorption and desorption of cobalt by *Oscillatoria angustissima*," *Curr. Microbiol.*, **39**(1), 49~52(1999).
22. Ginisty, P., Besnainou, B., Sahut, C., and Guezennec, J., "Biosorption of cobalt by *Pseudomonas halodenitrificans*: Influence of cell wall treatment alkali and alkaline-earth metals and ion-exchange mechanisms," *Biotechnol. Lett.*, **20**(11), 1035~1039(1998).
23. White, C. and Gadd, G. M., "Biosorption of radionuclides by fungal biomass," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**(4), 331~343(1990).
24. Singh, Y. and Kumar, H. D., "Adaptation of a strain of *Spirulina platensis* to grow in cobalt and iodine-enriched media," *J. Appl. Bacteriol.*, **76**(2), 149~154(1994).
25. Webster, E. A., Murphy, A. J., Chudek, J. A., and Gadd, G. M., "Metabolism-independent binding of toxic metals by *Ulva lactuca*: Cadmium binds to oxygen-containing groups, as determined by NMR," *BioMetals*, **10**(2), 105~117(1997).
26. Gomez-Lahoz, C., Garcia-Herruzo, F., Rodriguez-Maroto, J. M., and Rodriguez, J. J., "Cobalt(II) removal from water by chemical reduction with sodium borohydride," *Water Res.*, **27**(6), 985~992(1993).
27. Zhou, T. and Pesic, B., "Pyridine-based chelating solvent extraction system for selective extraction of nickel and cobalt," *Hydrometallurgy*, **46**(1-2), 37~53(1997).
28. Amanatidou, E., Stefanut, M. N., and Grozav, A., "Method of cobalt ion concentration from dilute aqueous solutions," *Sep. Sci. Technol.*, **31**(5), 655~664(1996).
29. Rao, S. V. S., Lal, K. B., Narasimhan, S. V., and Ahmed, J., "Separation of cobalt from synthetic intermediate and decontamination radioactive wastes using polyurethane foam," *Sep. Sci. Technol.*, **32**(18), 3007~3026(1997).
30. Degueldre, C., Bilewicz, A., and Alder, H. P., "Behavior and removal of radionuclides generated in the cooling water of a proton accelerator," *Nucl. Sci. Eng.*, **120**(1), 65~71(1995).
31. Konishi, S., Saito, K., Furusaki, S., and Sugo, T., "Sorption kinetics of cobalt in chelating porous membrane," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **31**, 2722~2727(1992).
32. Stetar, E. A., Boston, H. L., Larsen, I. L., and Mobley, M. H., "Removal of radioactive cobalt, cesium, and iodine in a conventional municipal wastewater treatment plant," *Water Environ. Res.*, **65**, 630~639(1993).