

CCA처리목재의 고정화 *Aspergillus niger*에 의한 중금속 제거*¹

손동원*^{2†} · 천선해*² · 이명재*² · 이동흡*²

The Removal of Heavy Metals from CCA Treated Wood by *Aspergillus Niger-alginate Bead**¹

Dong-won Son*^{2†} · Seon-Hae Cheon*² · Myong-jae Lee*² · Dong-heub Lee*²

요 약

목재를 장기간 안전하게 사용하는 방법 중 하나는 방부처리 목재를 사용하는 것이다. 방부처리목재는 목재의 내구성을 증가시키고 목재의 안전성을 증가시킨다. 그러나 사용기간이 끝난 방부목재는 목재 내에 유효성분이 잔존하고 있으므로 안전하게 폐기처리하는 것이 중요하다. 폐방부목재를 안전하게 폐기하는 방법의 하나로서 생물적인 방법이 있다. 생물적인 처리는 화학적인 처리 방법에 대하여 환경적으로 안전한 방법이 될 수 있다. 본 연구에서 사용한 균주인 *Aspergillus niger*는 표면오염균으로서 목재의 표면에 포자에 의한 검은색의 오염을 일으키는 균이다. 본 연구에서는 *A. niger*의 방부목재에서의 생장을 관찰하고, 고정화한 *A. niger*에 의하여 CCA유효성분들의 제거 능력을 검토하였다. *A. niger*는 방부목재에서 생장이 가능하였으며, CCA처리목재 칩에서의 효율적인 중금속 제거가 이루어졌다.

ABSTRACT

One way of using wood safely and soundly for a long time is use of preservative-treated wood. Although, preservative-treated wood present to us durability and safety during using periods, it is also important to safe disposal after its service periods because of toxic components. Biological methods could be applicable to its disposal methods and better safe than chemical methods in the aspect of environmental problems. This study applied biological methods to remove the heavy metals from

*¹ 접수 2005년 10월 4일, 채택 2005년 10월 26일

*² 국립산림과학원(Korea Forestry Research Institute)

† 주저자(corresponding author) : 손동원(e-mail: dongwon@foa.go.kr)

end-used CCA treated wood. The *Aspergillus niger* was used for this study which make black stain on the wood surface by its spore. This study investigated the growing of *A. niger* on the CCA treated wood chips and the removal efficiency of heavy metals from CCA treated wood chips using immobilizing *A. niger*. *A. niger* could growing on the CCA treated wood chips and *A. niger* remove the effective elements of CCA treated wood effectively.

Keywords: CCA treated wood, *Aspergillus niger*, effective elements, safety disposal

1. 서 론

야외사용 목재의 사용량이 증가하고 있다. 벤치나 파고라와 같은 조경시설재 뿐만 아니라 수십억의 공사비가 투입되는 대형 테크나 보도블록같은 구조물들이 설치되고 있다. 또한 국민들의 목재에 대한 인식의 전환으로 방부처리 목재에 대한 사용량도 점차 증가하고 있다.

CCA방부목재는 가격에 비하여 성능이 우수하고 약제 용탈안정성이 뛰어나기 때문에 국내에서 가장 많이 사용되어지고 있다. 방부처리 목재의 사용기간 종료 시점은 방부처리목재의 열화로 인한 것이기 보다는 사용목적의 변경 혹은 새로운 구조물의 설치 등의 이유로 폐기하는 일이 많다. 이 경우, 목재는 균이나 벌레의 피해를 받지 않아 건전한 상태이므로 폐기 보다는 재활용하는 것이 자원절약측면에서 바람직하다고 판단된다.

최근 외국의 연구사례에는 폐 방부목재에서 중금속을 제거한 후 2차 가공하여 재활용하는 연구도 보고되고 있다. 그러나 국내의 환경 법규상 폐 방부처리 목재를 재활용 할 수는 없으며, 재활용이 가능하다해도 판상재료의 원료 재이용 가공과정에서 작업자와 환경에 대한 중금속의 오염이 우려된다. 국내의 폐기물 관련 법규에서는 목재에 도장이나 방부처리를 할 경우, 재활용 하지 못하고 전량 소각 처리하여야 한다고 규정하고 있다. 일반소각로에서 방부목재를 소각하면, 유해 중금속의 방출이 우려되므로 이들을 제거한 후 폐기처리 하는 것이 환경부담을 절감하는 것이 될 것이다. 화학적인 방법으로 중금속을 회수 할 수도 있지만, 미생물에 의한 중금속의 회수는 보다 친환경적이며 안전한 방법이 될 수 있다.

미생물을 이용하여 중금속을 제거하는 방법에는 중

금속이 미생물의 세포벽과 결합하거나 세포의 exopolymer에 결합하는 흡착법과 metallothionein, sideropore 등이 관여하는 대사에 의하여 중금속을 제거하는 방법이 있다.

방부목재에서 중금속을 제거하는 연구에는 여러 가지 시도가 있었다. Clausen 등(2000)은 CCA처리 목재를 산 추출, 증기처리, 박테리아처리를 하여 CCA 처리목재에서 크롬, 구리, 비소의 제거를 시도하였다. CCA톱밥을 *Bacillus licheniformis*에 폭로하여 구리 91%, 크롬 15%, 비소 45%를 제거하였다(Clausen *et al.*, 1998). 또한 Clausen은 중금속을 제거할 수 있는 박테리아를 분리하였는데, 이중 *Acinetobacter calcoaceticus*는 98%의 크롬을 제거하였고, *Bacillus licheniformis*는 구리 93%, 비소를 44% 제거하였다고 보고하였다. Kartal 등(2001)은 *Bacillus licheniformis*로 처리한 CCA처리재 칩으로 파티클보드를 제조하였다고 보고하였다. Velizarova 등(2002)은 전기투석방법을 이용하여 20년이 경과된 CCA처리목재에서 중금속제거를 시도하고 14일간 처리하여 구리 84%, 크롬 87%, 비소 95%를 제거하였다. 손 등(2002; 2004)은 갈색부후균 *T. palustris*를 이용하여 CCA, CCFZ처리재에서 중금속 제거를 하였으며, 7일간 배양하여 크롬 72%, 구리 61%, 비소 59%를 제거하였다고 보고하였다.

미생물을 이용한 방부목재에서 중금속을 제거할 때 중요하게 고려하여야 할 점은 흡착제로서 미생물을 저렴한 가격으로 다량 얻을 수 있어야 하고 중금속을 분리 할 때 중금속의 흡수와 탈착이 비교적 빠른 시간 내에 이루어지고 중금속의 선택적 분리가 용이하게 이루어져야 한다. 또한 생흡착제의 분리 회수가 쉬워야 하고 재사용이 가능해야 한다. 생흡착제의 분리 회수를 용이하게 하기 위하여 균체는 고정화 되어야 한다.

본 연구에서는 목재의 표면오염균으로 알려진 검은 털곰팡이 *Aspergillus niger*를 CCA방부처리 목재에서 중금속을 제거하는 균주로 활용하여, CCA방부처리 목재에서의 성장여부와 크롬, 구리, 비소의 흡착, CCA처리 목재에서의 중금속의 제거 등을 검토하였다. 또한, 알긴산을 이용하여 고정화된 균주에서의 중금속의 제거능을 검토하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 공시재료

2.1.1. 방부 목재 시료

시험에 사용되어진 방부목재는 CCA처리재로서 국내 방부처리 공장에서 충분한 양생기간을 거친 방부목재를 사용하였다. 시료는 분쇄기로 변재와 심재에 관계없이 약 1 cm 크기의 칩으로 파쇄한 것을 사용하였다.

2.1.2. 공시균

중금속 제거 시험에 *Aspergillus niger* (FRI 20132)를 사용하였다.

2.2. 방 법

2.2.1. 균처리

한천평판 배양기(리티당 glucose 25 g, MgSO₄ · 7H₂O 2 g, KH₂PO₄ 3 g, Malt extract 10 g, Peptone 5 g, Agar 20 g을 용해시킨 것)에서 공시균 *A. niger*를 배양시켜 균사가 페트리디쉬 끝 부분에 당을 때쫂 직경 1 cm의 코르크볼러로 찍어낸 균종 5개를 액체 배지에 접종하였다. 접종 5일 후 배양기내 균립의 형성이 확인되면 목재 시료 2 g을 넣고 7일간 진탕배양을 하고 각 방부제의 유효성분 제거율을 조사하였다.

2.2.2. *A. niger*의 CCA방부처리재에서의 성장 시험

CCA방부처리재 표면에서의 공시균의 생육을 확인하기 위하여 미리 배양시킨 공시균의 포자만을 증류수와 함께 취하여 목재의 칩에 살포하여 균 생장을 현미경으로 관찰하였다.

2.2.3. 알긴산 비드 시험

진탕배양한 균체를 5000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 배양중에 생성된 균립은 입자가 커서 고정화 노즐에 걸리기 때문에 침전물을 5000 rpm에서 30분간 분쇄하였다. 이어서 분쇄한 균체를 미리 준비 해 둔 알긴산나트륨 2%액에 부어서 잘 혼합한 후, 염화칼슘 2%용액에 그 혼합액을 주사기를 통해서 떨어 뜨려 교반하면서 2시간 동안 침지하여 고정화시켰다.

제조된 *A. niger* 알긴산 비드를 26±3°C의 배양조건에서 3일간 생장을 유도한 후 크롬(K₂Cr₂O₇), 구리(CuO), 비소(As₂O₅) 500 ppm용액을 알긴산비드에 고정화한 *A. niger* 100개를 배양액에 넣고, 배양한 후 각 성분의 변화를 1일 3일 5일 간격으로 측정하였다.

2.2.4. 목재 내 유효성분의 제거량 측정

실험 전과 실험 후의 시료 내 유효성분 양은 무기물 형광시험기(XRF spectrometer, spectro TITAN)로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. CCA방부목재에서 *A. niger*의 성장

CCA방부목에서 *A. niger*의 성장을 확인하기 위하여 방부목재의 표면에 포자를 살포한 후 균사의 생육을 현미경으로 관찰하였다. Fig. 1에서 *A. niger*는 방부목재의 파쇄 칩에서 생장이 관찰되었으며, 실제현미경으로 목재표면에 균사를 내리고 성장하고 있음을 확인하였다. 일반적으로 균의 화학물질 저항성 실험

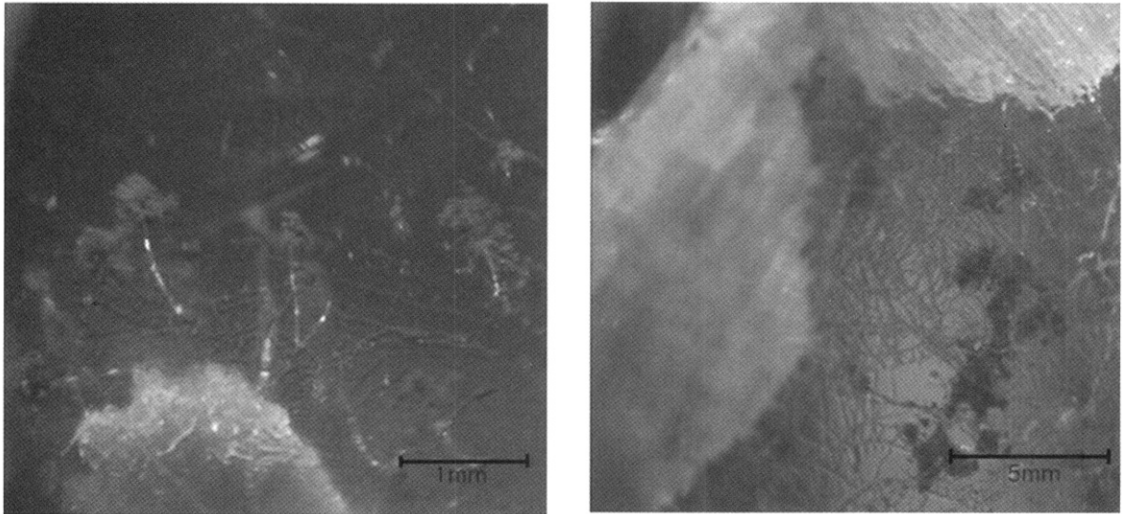


Fig. 1. *Aspergillus niger*, growing on the CCA treated wood.

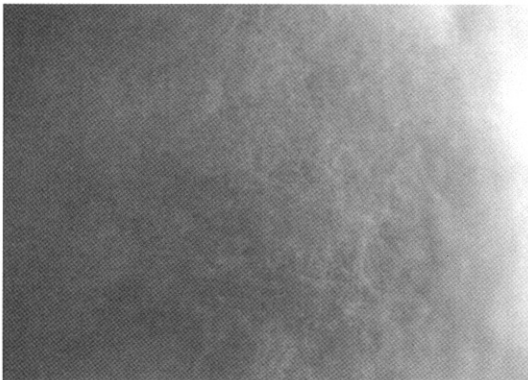


Fig. 2. *A. niger* mycelium, growing in the bead.

에서는 대상화학물질을 희석하여 섞은 고체 배양기를 만들고, 배양기 위에 균을 올려 성장 길이로서 균 저항성을 평가한다(박미진, 2005; 이종신, 2004) 그러나 본 연구에서는 약제에 대한 효력의 평가보다는 균주의 생분해 가능성을 검토하는 것이 목적이므로 목재의 표면에 포자현탁액의 상태로 뿌리는 방법을 택함으로써 목재 표면에 존재하는 수분과 전분으로 성장하는 *A. niger*가 충분히 CCA처리재 표면에서 성장할 수 있으리라는 가정에서 시험을 실시하였다. 또한 CCA처리재 칩에서의 생장이 가능하다면 CCA처리재

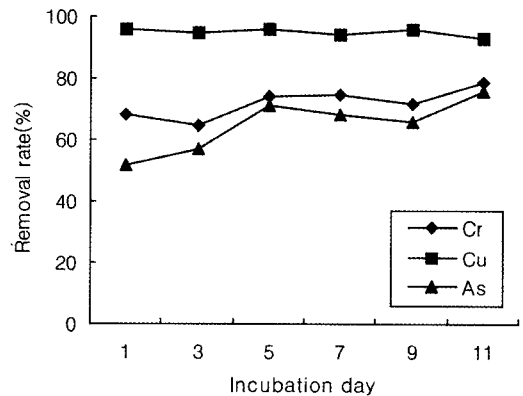


Fig. 3. Removal rates of effectiveness elements of CCA treated wood by *A. niger*'s mycelium.

내의 유효성분들의 제거도 용이하리라 가정하였다. 현미경관찰에서 보는 것과 같이 균사가 목재전체를 실타래처럼 감고 성장하는 모습이 관찰되어(Fig. 2) 충분히 CCA처리재의 생분해성 균주로서 이용가능성이 있는 것으로 판단하였다. 액체배지상에서 *A. niger*의 균사체에 의한 CCA처리재에서의 중금속제거실험 결과, 배양 초기에 높은 제거효과를 보여 주었으며, 배양일수를 늘이면 제거율은 다소 상승하였다(Fig. 3).

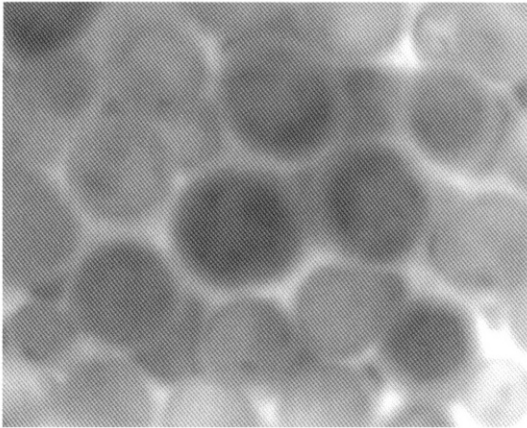


Fig. 4. Coloration on alginate bead by heavy metals's absorption

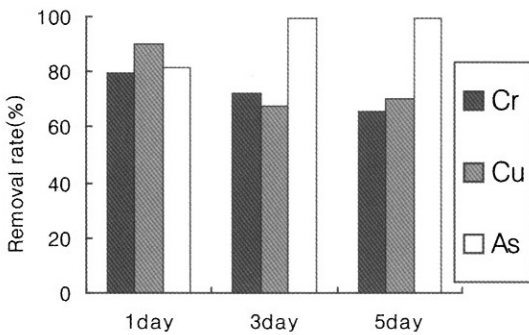


Fig. 5. Removal rate of chromium, copper and arsenic from each element contain solution by *A. niger*-alginate bead.

3.2. 알긴산 비드에 의한 유효성분의 제거

생분해 효과를 높이면서 오염에 대한 위험요인을 줄이기 위하여 기 발표된 논문(손 등, 2005)에서 효과가 검증된 알긴산나트륨을 이용한 비드로 *A. niger*를 고정화하는 방법을 적용하였다. 알긴산은 미생물의 고정화에 널리 사용되는 Biopolymer (생물고분자)이다. *A. niger*를 calcium alginate로 고정화한 beads로 CCA의 유효성분인 크롬, 구리 그리고 비소의 흡착 특성을 조사하였다. 중금속이 포함된 배지에서 성장한 비드는 중금속에 흡착으로 인한 착색이 Fig. 4와

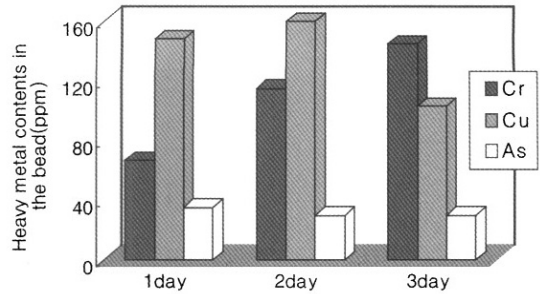


Fig. 6. The contents of chromium, copper and arsenic in the *A. niger*-bead.

같이 관찰되었다.

CCA처리제의 유효 성분의 양을 초기 투입 농도와 비교하여 제거량을 구한 결과, 배양 1일 후에 제거율은 크롬 79%, 구리 89%, 비소 81%의 제거율을 보였으며, 배양일수를 늘렸을 때 비소는 90%를 상회하는 제거율을 나타내었다(Fig. 5). 비드내에서의 균사의 생육은 그림에서 보는 것과 같이 왕성하게 일어났으며, 배양 1일 후에 비드 내에서의 생장이 있은 후 2일 차부터는 성장하여 밖으로 균사가 뻗어 나왔으며 3일 이후부터는 비드의 크기가 균사의 성장으로 인하여 커지는 것이 확인되었다. 7일 이후에 비드는 균사의 성장으로 인하여 깨어지며, 배양액으로 잘리어진 비드의 균사가 성장하여 작은 형태로 균사가 성장하는 것이 관찰되었다. 따라서 알긴산 비드로 고정화한 균주를 이용한 중금속의 제거 공정은 최소한 3일 이상을 넘어서는 안 되며 비드의 재활용 공정 또한 3일 이내에 이루어지는 것이 균을 효율적으로 이용하게 될 것으로 판단되었다.

3.3. 알긴산 비드의 중금속 흡착 및 중금속 회수

중금속의 제거율을 측정된 후 비드를 분리하여 동결건조 한 비드 내 중금속의 양을 분석하였다. 분석한 결과 Fig. 6과 같이 비드에 흡착된 중금속은 1일차 시험이 끝난 비드에서 크롬 67 ppm, 구리 148 ppm, 그리고 비소는 35 ppm이 흡착된 것으로 나타났다. *A. niger*의 배양액 중 중금속 제거 기작을 검토하는 과정

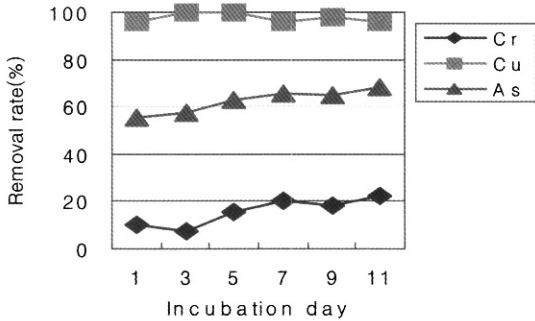


Fig. 7. The removal rate of heavy metals from CCA treated wood on incubation day.

으로 흡착에 의한 중금속 제거능은 직접 *A. niger*가 고정화된 비드내의 중금속의 양을 검토하여 본 결과, 크롬, 구리 비소의 순으로 양적인 차이는 있었으나 비드 내에 중금속이 흡착된 것이 확인되었다. 따라서 중금속에 노출된 고정화된 비드가 시간의 경과에 따라 착색이 일어나는 것은 중금속의 흡착에 의한 것이었으며 *A. niger*를 알긴산 비드에 고정화 하면, 중금속을 흡착할 수 있는 흡착제로 충분한 사용이 가능하리라 판단되었다. 알긴산비드 자체의 흡착 가능성을 배제할 수 없어 *A. niger*를 포함되지 않은 알긴산으로 제거 시험을 하였다. 비드 내에 *A. niger*가 존재하지 않을 때 단순 표면 흡착은 이루어 졌으나 그 양은 미미하여 알긴산비드에 의한 제거가 아닌 *A. niger*에 의한 제거라는 것을 알 수 있었다.

3.4. CCA방부목재에서의 중금속 제거

방부목재 칩 2 g을 균배양 비드와 함께 넣은 후 생장기간에 따른 방부목재내의 중금속의 변화를 조사하였다. 중금속의 제거율은 구리의 경우가 가장 효과가 높은 것으로 나타났으며, 배양 1일 차에 95% 이상의 제거율을 보였다. 비소는 55%의 제거율을 보였다. 크롬의 경우에는 1일차에 10%의 제거율을 보였으며 배양 11일 차에는 23%의 제거율을 보였다(Fig. 7). 본연구의 결과는 Clausen (1998)이 *Bacillus licheniformis*를 이용해 얻은 결과와 유사하며, 크롬의 제거율에 있어서는 손 등(2002)의 담자균류인 *Tromyces palustris*

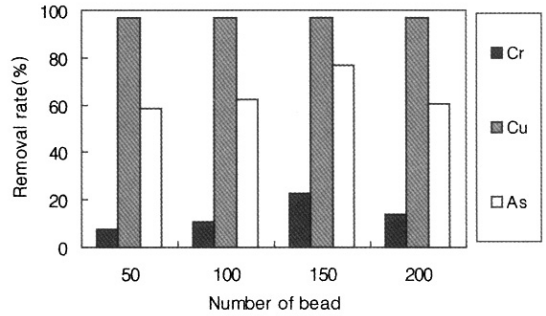


Fig. 8. Removal rate of heavy metals from CCA treated wood on different number of bead.

보다는 효과가 낮게 나타났다. 대체적으로 배양일수에 따른 제거효율은 크게 상승하지는 않았지만, 대량 배양을 통한 바이오리액터 운용에서는 1일 이후에 바로 방부목재 칩의 투입이 가능할 것으로 판단되었다. 그러나 고정화한 *A. niger*에 의한 CCA처리재에서 중금속의 추출 시 가장 문제가 되는 크롬의 제거율은 1일차에 10%에 불과하여 제거율을 높이기 위한 전처리 기술의 도입이 필요하다고 판단되었다. 손 등(2004)은 미생물에 의한 중금속 제거의 전처리로서 수산에 의한 방법을 사용하여 높은 전처리 효과를 구명한 바 있다. 크롬의 낮은 제거율은 저 농도 수산처리 방법을 택하여 제거율을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 배양액 100 ml에 비드의 개수를 달리하여 생육 환경에 따른 방부목재의 중금속제거를 검토한 결과, 구리의 경우 비드 투입 개수에 영향을 받지 않았으며, 크롬은 비드 투입 개수가 150일 때 가장 높은 제거율(22%)을 보였으며, 비소의 경우도 150개일 때 가장 높은 제거율을 보였다(Fig. 8).

4. 결 론

폐 CCA처리 목재의 안전 처리방법으로서 생물학적인 방법을 적용하였다. CCA처리목재 칩에서의 *A. niger* 균사체의 생장과 균사체에 의한 CCA방부목재 유효성분의 제거 및 고정화에 의한 중금속 제거 능을 검토하였다. *A. niger*는 CCA방부목재 칩에서 생장이

확인되었으며 *A. niger*를 알긴산으로 고정화하여 방부목재에 적용 시 높은 중금속 제거율을 보였다. *A. niger*는 빠른 균주의 성장과 배양 초기에 높은 제거율을 보였다. 생분해성 균으로서 이러한 특징은 대량배양에서 생물체에 목재를 투입하기 위한 준비시간을 절약시켜 주며, 투입되는 목재의 빠른 회수와 재투입의 횟수가 증가하여 동일 배양기에서 CCA처리목재의 처리량이 증가하므로 생분해성 균으로서 적합하다고 판단되었다.

본 연구에 사용되어 효율이 높았던 알긴산에 의한 고정화 방법은 균사체로서 생물반응기운용 시 발생하는 부분인 균사체와 CCA목재침과의 분리가 어려운 점과 배양기상에서 발생하는 오염발생 문제 등을 해결할 수 있는 방법으로서 CCA처리목재의 생분해성 방법으로서 적절한 방법이 될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- Clausen, C. A. 2000. CCA removal from treated wood using a dual remediation process. *Waste Management & Research*. 18: 485~488.
- Clausen C. A. 2000. Isolating metal-tolerant bacteria capable of removing copper, chromium, and arsenic from treated wood. *Waste management & Research*. 18: 264~2682.
- Clausen, C. A. and R. L. Smith. 1998. CCA removal from treated wood by chemical, mechanical and microbial processing. *Processings of the 4th International Wood Preservation Symposium*. IRG/WP 98-50101.
- Emiliuaya, V., A. B. Ribeiro, and L. M. Ottosen, 2002. A comparative study on Cu, Cr and As removal from CCA-treated wood waste by dialytic and electro-dialytic processes. *Journal of Hazardous Materials*. 2970: 1~14
- Kartal, S. V. and S. T. Lebow. 2001. Effect of compression wood on leaching and fixation of CCA-C treated red pine. *Wood and Fiber Science*. 33(2): 182~192.
- Kartal, S. N. and C. A. Clausen. 2001. Leachability and decay resistance of particleboard made from acid extracted and bioremediated CCA-treated wood. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 47: 183~191.
- 박미진, 이수민, 광기섭, 정의배, 장제원, 최인규. 2005. 피부사상균 *Microsporum canis* 및 *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 편백 정유의 항진균활성 물질 탐색. *목재공학*. 33(3): 72~78.
- 손동원, 이동흡, 강창호. 2002. 생물학적인 방법을 이용한 방부처리목재의 중금속제거(I) - CCA 및 CCFZ처리목재에서의 구리의 제거. *목재공학* 30(2): 151~156.
- 손동원, 이동흡, 강창호. 2004. 생물학적인 방법을 이용한 방부처리목재의 중금속제거(II) - CCA 및 CCFZ처리목재에서의 중금속 제거. *목재공학* 32(2): 1~8.
- 손동원, 이동흡, 천선혜, 이명재. 2005. CCA방부목재로부터 *Aspergillus niger*를 고정화한 Alginate Bead에 의한 중금속 제거. 2005 목재공학회 학술발표 논문집. 625~629
- 이종신. 산업부산물을 이용하여 제조한 플루오르화합물계 목재 방미제의 특성 (II)- 분리균주에 대한 목재 방미 효력 및 야외 효력 평가. *목재공학* 32(2): 82~89.