

634.95

L293 표

GOVP 19916656

최 종  
연구보고서

# 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화기술 및 시스템개발

## Development of Environmental Purification Technology and System using Waste-wood Materials and Forest Microorganisms

수피 및 목질계 담체에 의한 중금속 흡착

Heavy Metals Adsorption by Barks and Wood Based Materials

산림부식질을 이용한 난분해성물질 및 중금속 제거 기술 개발

Development of Uptake Technology of Recalcitrants and/or Heavy Metals Using Humic Substance

버섯균을 이용한 중금속 제거

Heavy Metals Uptake by Mushrooms

담자균 및 Laccase효소를 이용한 페놀성 오염물질 제어 및 탈색처리

Removal of Chlorinated Phenols and Bleaching Treatment by Basidiomycetes and Fungal Laccase

폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화 시스템개발

Development of Environmental Purification System Using Waste-woods and Forest Microorganisms

수질정화 실연 및 보급

Performance of Waste Water Purification Treatment and Propagation

임업연구원

(강원대학교, 충북대학교, 고려대학교)

농림부



# 최 종 보 고 서

1998년도 농림수산특정연구사업에 의하여 완료한 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화기술 및 시스템개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

- 첨부 : 1. 최종보고서 8부  
2. 최종보고서 디스켓 1매

1999. 2. .

주관연구기관 : 임업연구원

총괄연구책임자 : 박 종 영



주관연구기관장 : 임업연구원장

농 립 부 장 관 귀 하

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화기술 및 시스템개발”  
과제의 최종보고서로 제출합니다.

1999. 2.

주관연구기관명 : 임업연구원  
총괄연구책임자 : 박 종 영  
연 구 원 : 이 동 흡  
연 구 원 : 최 인 규  
연 구 원 : 양 재 의  
연 구 원 : 안 세 희  
연 구 원 : 강 창 호  
연 구 원 : 박 재 순  
연 구 원 : 손 동 원  
연 구 원 : 민 용 원  
협동연구기관명 : 충북대학교  
협동연구책임자 : 조 남 석  
협동연구기관명 : 고려대학교  
협동연구책임자 : 백 기 현  
협동연구기관명 : 강원대학교  
협동연구책임자 : 이 해 의  
연 구 원 : 정 연 호



# 요 약 문

## I. 제 목

폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화기술 및 시스템개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

- (1)산림미생물인 버섯균과 폐목질자원인 수피, 나뭇잎, 폐버섯배지 및 부식질을 이용하여 각종 중금속 및 난분해성 물질(주로 유기염소화합물)을 제거하는 기술개발
- (2)기존의 화학적 중금속 오폐수 처리는 중금속류의 침전 및 화학반응 생성물에 의한 2차적인 수질오염이 문제가 됨.
- (3)화학적처리에서 화학적 반응 한계점이하는 처리 불가능하므로 이온교환이나 생물적 처리를 병행해야 하나, 고가의 비용을 치러야 함.

## III. 연구개발 내용 및 범위

- (1)중금속 및 난분해성 폐수 정화 버섯균 개발(특허출원 98-29156~8호, 98-39517~8호, 5건)
  - 시루땀버섯: 독성의 6가크롬을 3가크롬으로 환원하여 무독화 ※크롬폐수 60%이상 제거
  - 부후개떡버섯: 버섯 대사물인 수산과 중금속의 착염형성 ※구리, 카드뮴폐수 90%이상 제거
  - 구름버섯 및 판막버섯: 발암성 유기염소화합물을 균대사에 의해 분해 ※필프페액 95% 분해
- (2)폐수정화기술 개발
  - 폐수정화 방법: 전자회로기관 공장폐수 1톤당 버섯균 배양톱밥 9kg투입하여 Airlift반응기로 100시간 처리하면 구리의 방류기준(0.5mg/L)이하로 정화됨
  - 적용 폐수: 도금공단폐수, 염료안료공장폐수, 폐광의 광미침출수 등.
- (3)수피를 이용한 중금속 흡착 및 제거제 개발(특허출원)
  - 흡착제: 소나무수피를 탄화시켜 활성화 ※카드뮴, 구리폐수 150mg/L이하에서는 100%제거
- (4)느타리버섯 폐배지이용 카드뮴제거(특허출원)
  - 폐배지 40g으로 카드뮴50ppm 10ℓ 안정처리, 5회 반복까지 97%의 카드뮴 제거
- (5)은행나무 낙엽을 이용한 크롬제거(특허출원 98-54824호): 낙엽 45g으로 크롬페액 13ℓ 처리

#### IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

- 산림생물자원을 이용한 환경정화 처리기술에 의하면 2차적인 수질오염이 없으며, 화학적 반응 한계점 이하의 농도까지 처리가 가능함. 또한 기존의 화학적처리보다 비용이 저렴함.
- 電子回路基板제조 工場廢水, 鍍金工場 廢水, 염색공장의染料·顔料廢水, 펄프폐액, 鑛山 廢水中의 중금속제거에 버섯균 이용 기술을 규모를 확대한 파일럿스케일의 검정이 필요하며, 이후 企業技術로 移轉하려고 함. 또 버섯균을 알긴산 비드화시킨 기술은 파일럿스케일화된 반응기의 중금속 除去材로 활용할 수 있으므로 이를 바이오테크 상품화로 활용하기 위해 特許出願 및 바이오테크 實演化를 도모코자 함.
- 그 외에 活性化 樹皮를 고순도의 중금속제거 필터로 활용하기 위하여 特許出願 및 商品化 實演을 도모하고, 낙엽, 수피, 느타리버섯 廢培地를 이용한 重金屬 除去 技術을 特許出願하고, 企業技術로 이전하고자 함.
- 또 현재 개발된 airlift反應基는 베치식이므로 이를 連續的으로 배출되는 폐수에 적용하기 위하여 Bubble column 이용 연속식 airlift 반응기에서 實演하고, 擔體 再活用 技術을 기업기술로 이전하고자 함.
- 환경처리기술로 환경부 고시가 되어야 산업체에서 활용가능하나, 고시에 필요요건이 파일럿스케일에서의 활용성과를 요구하기 때문에 현 연구성과를 파일럿스케일화하기 위한 예산지원을 요망.
- 연구성과의 결과를 산업화시키기 위한 후속연구의 지원제도가 없기 때문에 산업화에 어려움이 있음. 가능하다면 우수 연구성과가 산업화될 수 있도록 지원제도를 신설해주시기 바람.

● 과 제 명 : 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화  
기술 및 시스템개발

(농림부 첨단임업기술개발사업)

● 연구기간 : 1995. 12. - 1998. 12 (3년간)

● 주관기관 : 임업연구원

● 협동기관 : 강원대학교, 충북대학교, 고려대학교

## 1. 연구배경

산림미생물인 버섯균과 폐목질자원인 수피, 나뭇잎, 폐버섯배지 및 부식질을 이용하여 각종 중금속 및 난분해성 물질(주로 유기염소화합물)을 제거하는 기술개발

## 2. 연구결과

가. 중금속 및 난분해성 물질제거 균주 개발

○ 크롬제거 균주 : 시루뻨버섯

· 제거능 : 6가크롬 2000mg/L의 60%

· 제거기작 : 6가크롬을 3가크롬으로 환원

※ 특허출원 : 제98-29157호

○ 비소제거 균주 : 시루뻨버섯

· 제거능: 비소 500mg/L의 100%

· 제거기작 : 무기태비소를 유기태로 변환하여 휘산

○ 카드뮴제거 균주 : 부후개떡버섯

· 제거능: 카드뮴 200mg/L의 70%이상

· 제거기작 : 균사내 카드뮴 축적

※ 특허출원 : 제98-39518호

○ 구리제거 균주 : 부후개떡버섯

- 제거능: 구리 2000mg/L의 98%이상
- 제거기작 : 균대사물 수산과 구리착염체 형성

※특허출원 : 제98-29156호

○PCP(펜타클로르페놀)분해균주 개발: 판막버섯

- 제거능 : PCP의 500ppm이하 농도
- 제어기작 : 물리적 흡착→초기상태에서 6~10%  
균생육 이용→100%(배양 21일 이후)

※특허출원 : 제98-39517호

○펄프표백화과정의 유기염소화합물 TCG(Trichloroguaiacol)

분해균주 : 구름버섯

- 분해능: TCG 100mg/L의 90%이상
- 제거기작 : 균체외 Laccase효소의 역할

※특허출원 : 제98-29158호

○유기폐수중 난분해성 물질제거 균주 : CB-20, *Rhizoctonia praticolor*

- 물질제거율 : PCP 87%, TCP 70%
- 펄프폐액의 탈색율 : 70%

#### 나. 중금속 흡착재료 개발

○은행나무 낙엽 : 6가크롬 흡착

- 최대 흡착능 : 6가크롬 30mg/낙엽g
- 알긴산나트륨1%+은행나무낙엽 : 10mg/L 크롬 94%제거  
(Airlift반응기 450분 접촉)

※특허출원중

○낙엽송 낙엽 : 카드뮴 45g/낙엽g 흡착

○느타리버섯 폐배지 : 카드뮴 흡착

- 최대 흡착능 : 카드뮴 45mg/폐배지g
- 폐배지 40g으로 50mg/L 카드뮴 폐수 10 l 안정적 처리

- 소나무 수피 : 구리, 아연, 납 흡착
  - 최대 흡착능 : 구리 50mg/g, 아연 41mg/g, 납 45mg/g
  - 경금속(Ca, Mg)+소나무 수피 : 흡착능 증가  
(Cu, Cd-20%, Zn-10%, PB-95%이상)
  - 소나무 수피 인산화 : 구리 및 아연 80% 흡착증가
- 활성화 수피 : 카드뮴 및 구리 흡착
  - 최대 흡착능 : 카드뮴 150mg/L의 100%제거  
구리 150mg/L의 100%제거
  - 활성화 수피+황 : 구리 흡착능 100%이상 증가
  - ※ 고순도 정수필터로 활용 가능
- 느타리버섯 폐면배지 : 카드뮴 흡착
  - 최대 흡착능 : 카드뮴 17.5mg/배지g
  - 폐면배지 9g으로 카드뮴 40mg/L 200ml를 4회까지 안정적 처리

#### 다. 중금속 제거 실연

##### (1) 폐광산 중금속 제거 실연

- 실연지 : 삼보광산(화성군 봉담면 소재) 광미 침출수
- 적용 반응기 : Maze tank system에 제거재 충전 탈착식 카트리지를 이용
- 제거물질 : 폐배지+수피+낙엽+활성탄
- 제거능 : 폐수중 40ppm 아연을 24시간간 청정지역 방류 기준이하 제거
- ※ 아연의 청정지역 방류기준: 5mg/L

##### [특징]

- ① 무동력 작동
- ② Maze tank 확대로 중금속 제거효율을 증가시킬 수 있으므로 水田(논)과 같은 곳을 tank로 이용시 효율의 극대화

를 기 할 수 있음.

③ 낙엽, 수피, 폐배지 등과 같은 임산폐자원을 유효이용  
[문제점]

① 중금속 흡착이온 페스렛지의 대량 생산

※소각하면 중금속이온의 탈착이 가능하나 환경오염 영향  
평가가 필요함

② 방류 폐수중 BOD증가

※활성탄 이용 등으로 제거 가능성에 대한 타진이 필요



①폐광 광미침출수



②처리장치 내부

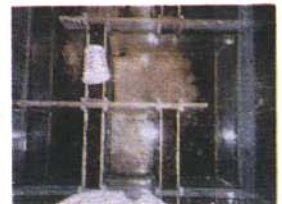
(수피, 낙엽, 버섯폐배지로 충전)



⑤처리후 폐액    처리전 폐액



③유입시 폐수



④배출시의 폐수

(2) 산업폐수의 중금속 제거 실연

○도금공장 폐수 적용

· 적용 반응기 : Airlift reactor 150시간 접촉

- 제거물질 : 시루뻘버섯 bead
- 제거 중금속 : 크롬444→50mg/L, 카드뮴5.2→0mg/L, 납17.2→0mg/L
- ※ 기존 화학처리 비용 14,000원/톤, 버섯bead처리 비용 10,400원/톤
- 전자회로기관 공장폐수 적용
- 적용 반응기 : Airlift reactor 100시간 접촉
- 제거물질 : 부후개떡버섯 bead, 부후개떡버섯 고정화 톱밥
- 제거 중금속 : 구리 78→0.5mg/L, 망간 7.7→0mg/L,  
알루미늄 2.1→0mg/L
- ※ 기존 화학처리비용 4,000원/톤, 고정화 톱밥 균주비용 1,000원/톤
- ※ 국내 유독물 총유통량 15백만톤/년, 폐수방류량 2.5백만m<sup>3</sup>/일, 폐수발생량 8.9백만m<sup>3</sup>/일(자료: '97환경연감)

[특징]

- ① 화학반응한계점이하의 중금속도 제거 가능
- ② 처리 후 화학물질로 인한 2차적인 수질오염이 없음
- ③ 화학처리와 같이 희석용수의 공급이 불요(수도사용절감)

[문제점]

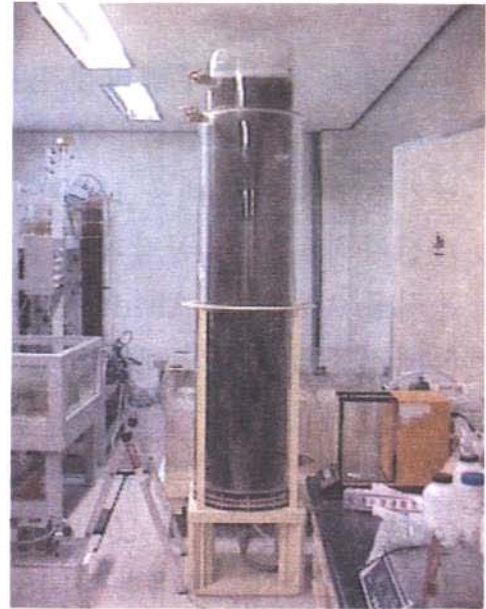
- ① 접촉반응시간이 100시간이상 소요되므로 반응시설이 차지하는 부지면적이 화학처리시 보다 2배이상 넓어야 함.
- ② 중금속 이온흡착 슬러지가 많음.

[해결해야 할 문제점]

- ① 기 개발된 연속운전식 반응시스템(Bubble column)의 Pilot scale화 연구
- ② 중금속 이온흡착 슬러지의 안전처리 및 재이용에 관한 연구
- ③ 기업기술화를 위한 적용시험 등



⑧ 부후개떡버섯균에 100시간 처리



⑦ 버섯균에 의한 폐수정화 공정

### 3. 금후계획

- 중금속 제거 기술의 산업현장 폐수 적용실연 및 기술이전
- 도출된 중금속 제어능 함유 각종 재료의 적정 조합화에 의한 고기능성 복합 수질정화 시스템 개발

### 4. 기대효과

- 기존의 화학적 처리법 보다 처리비용 저렴
- 자연분해 및 추가적 환경문제 없음
- 연구결과에 대한 금후 활용방안
  - ① 전자회로기판공장폐수, 도금공장폐수, 염료·안료생산공장 폐수, 펄프폐액, 광산폐수중의 중금속제거에 버섯균 이용 기술 → 기업기술 이전
  - ② 버섯균 알긴산 비드화의 바이오테크 상품화 활용 → 특허



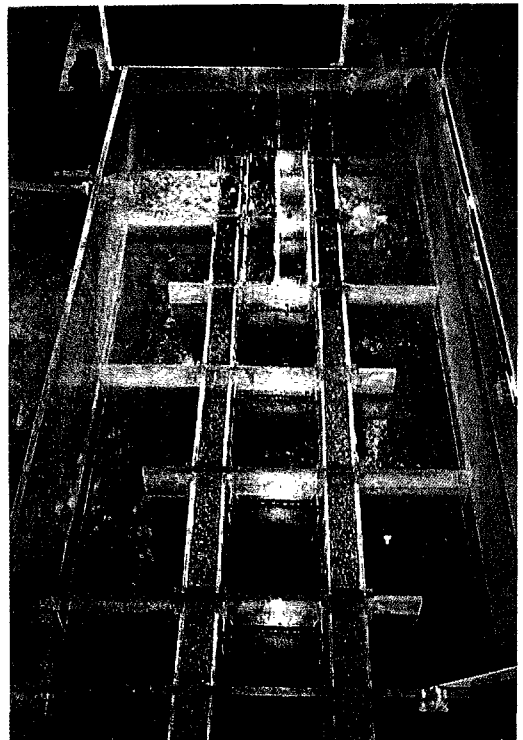
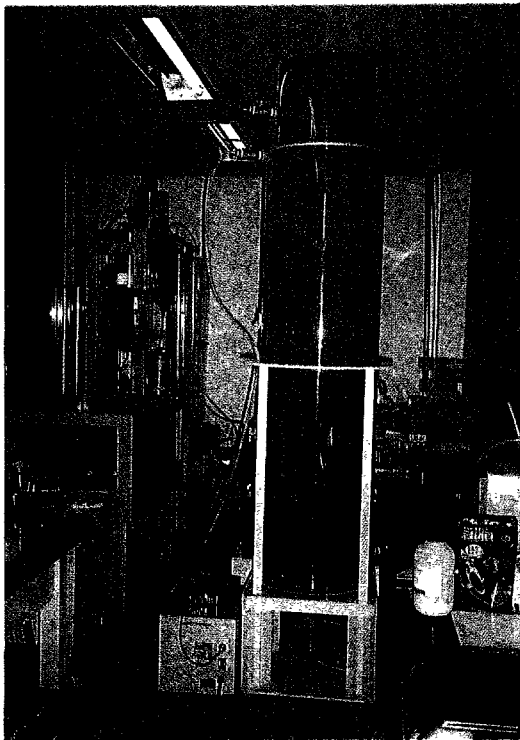
출원 및 상품화 실연

- ③ 활성화수피의 고순도 중금속제거 필터로 활용 → 특허출원 및 상품화 실연
- ④ 낙엽, 수피, 느타리버섯 폐배지 이용 중금속 제거 기술의 활용 → 특허출원 및 기업기술이전
- ⑤ Bubble column 이용 연속식 airlift실연 및 담체 재활용기술 → 기업기술이전

최종 연구보고서

# 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화기술 및 시스템개발

Development of Environmental Purification Technology and  
System using Waste-wood Materials and Forest  
Microorganisms



주관기관: 임업연구원

협동기관: 강원대학교, 충북대학교, 고려대학교

## 농 립 부

## S U M M A R Y

This research was purposed for finding out the environmental purification capability of forest resources, and reducing the water pollution caused by heavy metals and recalcitrants by forest resources. Several groups including Universities of Kangwon, Korea, and Chungbuk were co-operated with researchers of Forest Research Institute since 1995. This High Technology Development Project was funded by Ministry of Agriculture and Forestry. The followings were the detailed data and results obtained from each group.

Some wood rot fungi were screened and developed for removal of heavy metals such as chromium, arsenate, copper and cadmium, and degrading pentachlorophenol (PCP) and trichloroguaiacol (TCG). And these fungi and treatment technology were now proceeding for patent.

*Inonotus cuticularis* had an ability for reducing toxic hexavalent chromium to non-toxic trivalent chromium, and approximately 60% of chromium in the concentration of 2,000mg/L could be removed by this fungi. In addition, this fungi could also transform inorganic arsenate to organic arsenate with 100% transformation rate in the concentration of 500 mg/L.

*Tyromyces palustris* was specified for adsorbing cadmium in its mycelia, and could uptake 70% of cadmium in the concentration of 200mg/L, and this treatment technology by using this fungi was now proceeding for patent (Patent Proceeding No. 98-39518). This fungi could also secrete oxalic acid during metabolism, the secreted oxalic acid was reacted with copper, forming copper oxalate. The removal rate of copper in the culture system was approximately 98% in the concentration of 2,000mg/L, and this treatment technics for removing copper in waste water was now proceeding for patent (Patent Proceeding No. 98-29156).

*Phanerochaete chrysosporium* had an ability for degradaing PCP in the concentration of less than 500mg/L. At initial stage, 6 to 10% of PCP was physically adsorbed in mycelia, and finally degraded completely during metabolism with 100% removal rate within 21 days incubation (Patent Proceeding No. 98-39517). In addition, TCG was produced during bleaching process in pulping of wood, and considered as toxic and mutagenic

compounds. TCG could be degraded by *Trametes versicolor* with 90% removal rate in the concentration of 100mg/L (Patent Proceeding No. 98-29158). Another fungi which could degrade PCP and trichlorophenol (TCP) were CB-20, and *Rhizoctonia praticolor* with 87% of PCP removal rate, 70% of TCP removal rate, and 70% of decolorizing rate, respectively.

Adsorption of hexavalent chromium was carried completely out by using madienhair tree leaves (Patent Proceeding No. 98-54824), and the maximum chromium adsorption capacity was 30mg chromium per gram leaves. Additionally the mixture of sodium alginate 1% with madienhair tree leaves 10mg/L could remove 94% of chromium in the airlift reactor during 450min. contact time.

Waste solid medium of *Pleurotus ostreatus* also had a specific adsorption capability of cadmium with maximum capacity of 45mg per gram waste solid medium, and waste cotton medium also similar capability of cadmium adsorption.

Barks of pine species were able to adsorb copper, zinc, and lead with maximum capacities of 50mg/g, 41mg/g, and 45mg/g, respectively. With the addition of light metals such as calcium and magnesium, the adsorption of heavy metals was gradually increased by 20% in copper and cadmium, by 10% in zinc, and by 95% in lead. And, the stabilizing technics with phosphate treatment of pine barks made an improvement with 80% increase of adsorption in copper and zinc. In addition when pine barks were activated at 900°C, the adsorption of cadmium and copper was significantly increased with maximum removal rate 100% in the concentration of 150mg/L. The addition of sulfur to these activated pine barks caused an increase of adsorption by 100%. This treatment technics which showed a high adsorption capacity of heavy metals had a potential for applying in high water purification system in the future.

In order to use these developed technics directly *in situ*, the Maze tank system which was considered as the most suitable one for *in situ*, was made and applied for removing zinc effluents from the mineral dreg sedimentary waste water at Hwasung, Kyunggido. The filled-up materials in Maze tank system were waste medium, barks, and activated carbons, that were preliminary approved in lab scale system. This system showed that the zinc was completely removed during 24 hours with the satisfaction of Pure Area

Effluent Limit Standard for Zinc (5mg/L). This system which did not need electricity, and was appropriately able to be controlled in total capacity had several advantages or merits for using *in situ*. However, there was a disadvantage such as BOD increase in treated effluents due to the use of forest bio-materials containing a lot of organics. This could be solved by lengthening the flow period and contacting time of system and effluents.

For the purpose of heavy metals treatment from industrial waste effluents, the plating effluents from Incheon Namdong area were used for applying the developed technics in the airlift reactor with immobilized beads of *Inonotus cuticularis*. And the waste effluent containing 444mg/L of chromium, 5.2mg/L of cadmium and 17.2mg/L of lead could be purified to 50mg/L, 0, and 0 after 150 hours treatment, respectively. Currently, the cost for treating heavy metals in waste water was 14,000won per ton, but if this developed system was adapted, the treatment cost would be 10,400won per ton.

In another treatment experiment of industrial waste effluents, the copper containing effluents were treated in the airlift reactor by immobilized beads and sawdust of *Tyromyces palustris*. After 100 hours contact time, the copper concentration was reduced from 78mg/L to 0.5mg/L, the manganese from 7.7mg/L to 0, and the aluminium from 2.1mg/L to 0. The current cost by chemical treatment for removing heavy metals was 4,000won per ton, but this cost could be reduced to 1,000won per ton by using immobilized beads. These technics using bio-materials had an ability for treating heavy metals, of which the concentration range was under chemical reaction limit, and there was no more pollution in the environment after treatment. However, this developed technics needed longer contacting time, larger treatment area, and more excess production of sludge.

Therefore, the future research should be followed for developing the continuous lab scale system to pilot scale one, and safe re-treatment or re-utilization of heavy metals adsorbed sludge. Additionally, the field application experiment has to be performed in the nearest future with co-operation between researchers and corporation.

# CONTENTS

Presentation	
Summary(Korean)	
Summary(English)	
Contents(English)	
Contents(Korean)	
Part I. Introduction .....	1
Part II. Heavy Metals Adsorption by Barks and Wood Based Materials .....	5
Chapter 1. Introduction .....	5
Chapter 2. Heavy Metals Adsorption by Barks and Waste Wood Materials .....	6
Chapter 3. Development of Heavy Metal Adsorbent Using Activated Barks .....	19
Part III. Development of Uptake Technology of Recalcitrants and/or Heavy Metals Using Humic Substance .....	40
Chapter 1. Introduction .....	40
Chapter 2. Adsorption Mechanism of Recalcitrants by Humic Substance .....	41
Chapter 3. Adsorption Mechanism of Recalcitrants and/or Heavy Metals by Humic Substance, and Non-toxifying Technology of Adsorbed Recalcitrants .....	50
Chapter 4. Selective Fungi for Bioremediation of Adsorbed Recalcitrants .....	62
Chapter 5. Recalcitrants Uptake by Humic Substance .....	75
Chapter 6. Adsorption Property of Heavy Metals by Humic Substance .....	77
Chapter 7. Bioremediation Technology of Adsorbed Recalcitrants .....	82
Chapter 8. Conclusion .....	87
Part IV. Heavy Metals Uptake by Mushrooms .....	90
Chapter 1. Selective Fungi for Application of Wood Decaying Mechanism .....	90
Chapter 2. Accelerating Uptake of Chromium and Arsenate .....	102
Chapter 3. Uptake of Cadmium and Copper .....	113
Part V. Removal of Chlorinated Phenols and Bleaching Treatment by Basidiomycetes and Fungal Laccase .....	123
Chapter 1. Biobleaching of Pulping Waste Water by Basidiomycetes, Lignin	

Degrading Enzyme .....	123
Chapter 2. Removal of Chlorinated Phenol Effluents by White Rot Fungi .....	129
Part VI. Development of Environmental Purification System Using Waste-woods and Forest Microorganisms .....	138
Chapter 1. Development of Automatic Control System and/or Heavy Metal Adsorbent .....	138
Chapter 2. Uptake of Hexavalent Chromium in Waste Water Using Immobilized White Rot Fungi .....	149
Chapter 3. Uptake of Cadminm Ion in Waste Water Using Waste Solid Medium of <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	157
Chapter 4. Uptake of Cadminm Ion in Waste Water Using Waste Solid Medium of <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	166
Part VII. Performance of Waste Water Purification Treatment and Propagation .....	180
Chapter 1. Heavy Metals Uptake by Waste Wood Materials .....	180
Chapter 2. Uptake Performance of Heavy Metals Containing Industrial Waste Water .....	187
Chapter 3. Uptake Performance of Heavy Metals by Mushrooms .....	196
Part VIII. Conclusion .....	202

## Appendix

1. Published Papers .....	205
2. Patent Proceedings .....	299

# 목 차

## SUMMARY

제 1 장 서 론 .....	1
제 2 장 수피 및 폐목질 담체에 의한 중금속 흡착 .....	5
제 1 절 서 설 .....	5
제 2 절 수피 및 폐목질 담체에 의한 중금속 흡착 .....	6
제 1 항 재료 및 방법 .....	6
1. 공시재료 .....	6
가. 수피 .....	6
나. 목분 .....	6
다. 잎 .....	6
2. 실험방법 .....	7
가. 수피 전처리 .....	7
1) HCHO/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 전처리 .....	7
2) 수피 및 톱밥 인산화 .....	7
나. 수피, 톱밥 및 잎의 조성분 분리 .....	7
다. 흡착능 조사이온 .....	7
라. 중금속 흡착방법 .....	7
마. 중금속 정량 방법 .....	8
제 2 항 결과 및 고찰 .....	8
1. 수피 및 폐목질 담체에 의한 중금속 흡착 .....	8
가. 수피 및 톱밥에 의한 중금속 흡착 .....	8
나. 잎에 의한 중금속 흡착 .....	10
다. 수피와 잎의 조성분에 의한 중금속 흡착 .....	11
라. 혼합 무처리 수피의 중금속 흡착 .....	12
2. 수피의 리액터 적용을 위한 제조조건 .....	12
가. 처리조건에의 영향 .....	12



나. 중금속 흡착에 미치는 경금속 영향 .....	13
다. 혼합 중금속간의 흡착경쟁 .....	13
라. 수피 재생 회수의 영향 .....	13
3. 현장 적용 및 실현시험 .....	13
가. 칼럼상에서 수피에 의한 중금속 흡착 .....	13
나. Oritol-s와 수피에 의한 중금속 흡착 .....	15
다. 삼보탄광 폐수 현장실험 .....	16
제 3 항 결 론 .....	17
제 3 절 활성화 수피를 이용한 중금속 흡착제 개발 .....	19
제 1 항 재료 및 방법 .....	19
1. 공시 재료 .....	19
2. 수피의 전처리 .....	19
제 2 항 실험 방법 .....	19
1. 수피의 활성화 조건 구명 .....	19
가. 활성화 온도에 따른 흡착력 비교 .....	19
나. 활성화 수피의 입자 크기(Particle Size)가 중금속 흡착에 미치는 영향 .....	20
다. 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 선택성 .....	20
2. 활성화 수피와 유사 시판 제품의 흡착력과 표면적 비교 .....	20
3. 활성화 수피의 물리 화학적 특성 구명 .....	21
가. 활성화 수피의 중금속 흡착 등온식 .....	21
나. 활성화 수피의 중금속 흡착량과 pH의 관계 .....	21
다. 활성화 수피의 중금속 흡착 반응에 대한 Kinetic Model 적용 .....	21
라. 활성화 수피의 흡착 반응 전후의 표면 변화와 분광학적 특성 변화 .....	22
4. 활성화 수피의 중금속 흡착 능력 증대 및 Kit화 (Encapsulation) .....	22
가. 수피의 다단계 활성화 .....	22
나. 황을 이용한 활성화 수피의 작용기 증대 .....	22
5. 활성화 수피의 실용화 방안에 관한 연구 .....	22
가. 활성화 수피의 Kit화 (Encapsulation) .....	22
나. Packed Bed Column Leaching System의 적용 .....	22
다. Air Lift Reactor의 적용 .....	23
라. 실용화를 위한 Reactor의 제작 .....	23
제 3 항 결과 및 고찰 .....	24
1. 활성화(Activation) 온도에 따른 흡착력 비교 .....	24
2. Particle size가 중금속 제거에 미치는 영향 .....	25
3. 활성화 수피의 중금속 흡착 선택성 .....	25

4. 활성화 수피와 시판 유사 제품의 비교 .....	26
가. 흡착력의 비교 .....	26
나. 표면적의 비교 .....	27
5. 중금속 농도에 따른 흡착 제거 효율의 변화 .....	28
가. 카드뮴 .....	28
나. 구리 .....	28
6. 흡착 등은 곡선 (Adsorption Isotherm) .....	29
7. 활성화 수피의 중금속 흡착량과 평형 용액의 pH 관계 .....	30
8. 활성화 수피의 중금속 흡착 반응에 대한 Kinetic Model 적용 .....	31
가. Kinetic model 식 .....	31
나. Rate curves .....	31
다. Rate curve에 대한 방정식 .....	32
9. 활성화 수피의 표면 변화와 분광학적 특성 .....	33
10. 활성화 수피의 중금속 제거 효율 증대 .....	33
가. 수피의 다단계 활성화와 Kit 제작 .....	34
나. 활성화 수피의 기능성 부여 .....	34
11. Air-lift Reactor의 적용 .....	35
12. Packed Bed Column Leaching 실험 .....	36
13. 실용화를 위한 Reactor의 제작 .....	36
제 4 항 결 론 .....	38

제 3 장 산림부식질을 이용한 난분해성물질 및 중금속 제거 기술 개발 .....

제 1 절 서 설 .....

제 2 절 산림부식질의 난분해성물질 흡착반응기구 해명 .....

제 1 항 유효산림부식질의 탐색 .....

1. 유효산림부식질 추출·정제 및 분석 .....

    가. 산림부식질 추출 및 정제 .....

    나. 휴믹산의 기기분석 .....

제 2 항 난분해성물질의 흡착반응기구 시험 .....

1. 폐액의 탈색제거효과 시험 .....

2. 폐액의 BOD, COD 감소 효과 시험 .....

3. 휴믹산의 균사 생장 시험 .....

제 3 절	산림부식질의 난분해성 물질 및 중금속 흡착 반응기구 해명 및 흡착 처리된 난분해성 물질의 무독화 기술 .....	50
제 1 항	산림부식질의 난분해성 물질 및 흡착반응기구 해명 .....	50
1.	산림부식질의 추출 및 정제 .....	50
2.	FT-IR스펙트럼 .....	50
3.	CPMAS Cabon-13 NMR 분석 .....	55
4.	휴믹산-중금속 착화합물 형성 메카니즘조사 .....	62
제 4 절	흡착처리된 난분해성 물질의 무독화 균주선발 .....	62
제 1 항	PCP 농도별, 균주별 균주저항성조사 .....	62
1.	PCP 농도별 균주의 저항성 .....	65
2.	균주별 PCP 농도에 대한 저항성 .....	67
가.	선발균주의 PCP에 대한 분해력 .....	68
나.	선발균주의 PCP에 대한 분해력 .....	69
다.	PCP 미생물분해 mechanism .....	70
라.	선발균주에 의한 TCG에 대한 분해력 .....	73
제 5 절	산림부식질의 난분해성물질 제거 시험 .....	75
제 1 항	재료 및 방법 .....	75
1.	Air lift reactor 상에서의 탈색 시험 .....	75
2.	균 배양에 의한 펄프 폐액 탈색 시험 .....	75
제 2 항	연구결과 .....	76
1.	펄프 폐액의 탈색제거효과 시험 .....	76
가.	Air lift reactor 상에서의 탈색 시험 .....	76
나.	균 배양에 의한 펄프 폐액 탈색 시험 .....	76
제 6 절	산림부식질의 중금속 흡착 특성 .....	77
제 1 항	재료 및 방법 .....	77
1.	산림부식질의 stirred reactor에서의 중금속 흡착 특성 .....	77
가.	산림부식질에 의한 중금속 흡착에 관한 흡착 등온선 .....	77
나.	산림부식질의 기후대별 임상별 중금속 흡착 특성 .....	77
다.	요인별에 따른 중금속 흡착 특성 .....	77
2.	Packed-bed column 에서의 산림부식질에 의한 중금속 제거 효과 .....	78
제 2 항	연구결과 .....	78
1.	산림부식질의 stirred reactor에서의 중금속 흡착 특성 .....	78
가.	산림부식질에 의한 중금속 흡착에 관한 흡착 등온선 .....	78

나. 산림부식질의 기후대별 임상별 중금속 흡착 특성 .....	79
다. 반응 시간 및 온도에 따른 중금속 흡착 특성 .....	79
라. 입자 크기에 따른 중금속 흡착 특성 .....	80
마. 중금속 농도에 따른 중금속 흡착 특성 .....	80
2. Packed-bed column에서 산림부식질에 의한 중금속 제거 효과 .....	81
제 7 절   난분해성 물질의 무독화 기술 개발 .....	82
제 1 항   재료 및 방법 .....	82
1. 목질분해균에 의한 pentachlorophenol 분해 .....	82
가. 시약 .....	82
나. 공시균주 및 배양 .....	82
다. PCP에 대한 분해 메카니즘 조사 .....	82
라. Chromatography .....	82
2. 목질분해균에 의한 trichloroguaiacol 분해 .....	82
가. 시약 .....	82
나. 균주 및 배양 .....	83
다. TCG 분해산물 분석 .....	83
라. 효소활성 및 역가 측정 .....	83
3. 목질분해균에 의한 monochlorophenol의 분해 .....	83
제 2 항   연구결과 .....	83
1. 목질분해균에 의한 pentachlorophenol 분해 .....	83
가. PCP 미생물분해 mechanism .....	83
2. 목질분해균에 의한 trichloroguaiacol 분해 .....	84
가. TCG 분해메카니즘 .....	84
3. 목질분해균에 의한 monochlorophenol의 분해 .....	86
가. 저항성 시험 .....	86
나. pH와 균사량 변이 .....	86
다. 효소의 induction effect .....	87
제 8 절   결론 .....	87
1. 산림부식질의 난분해성물질 제거 시험 .....	87
2. 산림부식질의 중금속 흡착 특성 .....	88
3. 난분해성 물질의 무독화 기술 개발 .....	88
제 4 장   버섯균을 이용한 중금속 제거 .....	90

제 1 절	목재부후발현기구를 이용한 중금속 제거균주 개발	90
제 1 항	크롬 및 비소의 활성균주의 선발	90
제 2 항	카드뮴 및 구리 활성균주의 선발	90
제 3 항	선발균주의 생리·생태적 특성	91
제 4 항	선발균주의 중금속 제거능 탐색	93
1.	크롬화합물(2,000ppm)을 첨가한 진탕배양기에서의 크롬제어	94
2.	비소화합물(500ppm)을 첨가한 진탕배양기에서의 비소제어	95
제 5 항	기질이용 및 해독에 의한 분해여부 판정	96
1.	6가크롬의 3가크롬 환원	96
2.	비소화합물의 변환	99
제 2 절	크롬 및 비소의 해독촉진기능 부여	102
제 1 항	툽밥배지상의 중금속 제어 기능탐색	102
제 2 항	툽밥배양기의 배양시간과 크롬잔존량	103
제 3 항	툽밥배양기의 배양시간과 비소의 잔존량	103
제 4 항	폐목질함유 액체배양기중의 중금속분해 기능부여	104
제 5 항	툽밥배양기에서 첨가물이 비소제어에 미치는 영향	106
제 6 항	중금속 분해효소의 폐목질고정화 기능부여	106
제 7 항	고정화 균체에 의한 크롬의 제어	107
제 8 항	배양툽밥의 여과회수와 크롬 및 비소의 잔존량	109
제 9 항	중금속 포집제와 FRI 20621을 이용한 크롬의 제어	110
제10 항	크롬제어를 위한 바이오리액터의 운용	111
제 3 절	카드뮴과 구리의 제어	113
제 1 항	균사의 외형적변화	113
제 2 항	중금속의 제어능 탐색	114
제 3 항	효소의 관여	115
제 4 항	단백질 분석	116
제 5 항	구리 제어	117
1.	주요 산림미생물(갈색부후균)의 수산생성량 비교	117
2.	수산생성균의 Cu 2000ppm에서의 균사생장량 비교	118
3.	Cu가 첨가된 교체배지에서 수산의 첨가와 균사 생장과의 관계	118
4.	중금속과 균의 결합관계	119
5.	Cu가 첨가된 배지에서 <i>T.palustris</i> 가 성장하면서 형성하는 물질 관찰	120
6.	Cu가 첨가된 배지에서 <i>T. palustris</i> 가 성장하면서 형성하는 물질 분석	121

제 5 장 담자균 및 Laccase 효소를 이용한 폐놀성 오염물질 제어 및 탈색처리 ..... 123

제 1 절 담자균, 리그닌분해효소 및 Laccase를 이용한 펄프폐액의 탈색 ..... 123

제 1 항 재료 및 방법 ..... 123

1. 공시균의 준비 ..... 123

2. 공시효소의 준비 ..... 123

3. 리그닌 분해효소의 활성화 ..... 123

4. E1 공시폐액의 준비 ..... 124

5. 공시폐액의 탈색처리 및 측정 ..... 124

제 2 항 연구결과 ..... 125

1. 효소의 활성화 ..... 125

2. 탈색특성 ..... 126

가. 담자균에 의한 탈색 ..... 126

나. 탈색에 미치는 탄소원의 영향 ..... 126

다. 탈색에 미치는 균체 및 배양여액의 영향 ..... 127

라. 탈색에 미치는 질소원의 영향 ..... 127

제 3 항 결론 ..... 128

제 2 절 백색부후균을 이용한 유기 폐수중 난분해성 물질의 분해에 관한 연구 ..... 129

제 1 항 재료 및 방법 ..... 129

1. 공시균주 ..... 129

2. 균주의 배양 ..... 129

3. 효소의 활성화 ..... 129

4. 난분해성 염소화 화합물의 분해 ..... 129

5. 난분해성 폐놀성 화합물의 분해에 미치는 효소들의 협동 ..... 129

제 2 항 연구결과 ..... 130

1. pH를 기초한 공시균의 선발 및 효소활성의 유도특성 ..... 130

2. 염소화 난분해물질의 분해특성 ..... 131

3. CB-123에 의한 난분해성 PCP 의 분해특성 ..... 132

4. 리그닌 및 난분해성 폐놀성 화합물 분해에 미치는 효소들의 협동 ..... 134

제 3 항 결론 ..... 136

제 6 장 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화 시스템개발 ..... 138

제 1 절 자동화 공정제어 시스템 개발 및 중금속 흡착제 개발 ..... 138

제 1 항 FRI 20621에 의한 폐수중 크롬제거를 위한 lab scale air lift reactor system 의 개발 .....	138
1. large scale culture의 개발을 위한 최적 배양조건의 확립 .....	138
2. Dead cell에 의한 크롬의 흡착조사 .....	139
3. Flask에서의 FRI 20621에 의한 크롬의 제거 .....	139
4. Lab scale fermentor에서의 FRI 20621에 의한 크롬의 제거 .....	141
5. Air-lift reactor와의 통합공정에서의 FRI 20621을 이용한 크롬의 제거 .....	143
제 2 항 수피에 의한 폐수중 카드뮴 제거를 위한 최적 reactor system의 선발 .....	147
1. 수피에 의한 카드뮴 흡착에 관한 흡착등온선 .....	147
2. Stirred reactor에서 수피에 의한 카드뮴 제거 .....	148
3. Air-lift reactor에서 수피에 의한 카드뮴 제거 .....	149
제 2 절 고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬제거 .....	149
제 1 항 시설 .....	149
제 2 항 톱밥 및 polyurethane을 이용한 고정화 방법 .....	151
1. Stirred reactor에서의 톱밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬제거	151
2. Air-lift reactor에서의 톱밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제거 .....	152
3. Packed-bed 에서의 톱 밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제 거 .....	152
4. Celite 을 이용한 고정화 방법 .....	153
5. Porous glass bead를 이용한 고정화 방법 .....	153
6. Alginate bead를 이용한 고정화 방법 .....	156
7. 배지 최적화를 통한 처리효율의 향상 .....	156
제 3 절 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거 .....	157
제 1 항 시설 .....	157
제 2 항 느타리버섯 폐배지를 이용한 카드뮴 이온의 흡착 제거 .....	158
1. 느타리버섯 폐배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착등온선 .....	158
2. Stirred reactor 에서의 흡착 Kinetics .....	159
3. Air-lift reactor에서의 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 이온의 제거 .....	160
4. Packed-bed에서의 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 이온의 제거 .....	161
제 3 항 느타리버섯 폐면배지를 이용한 카드뮴 이온의 흡착 제거 .....	162
1. 느타리 버섯 폐면배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착등온선 .....	162
2. Stirred reactor 에서의 흡착 Kinetics .....	162
3. Air-lift reactor에서의 버섯 폐면배지에 의한 카드뮴 이온의 제거 .....	162

4. Packed-bed에서의 버섯 폐면배지에 의한 카드뮴 이온의 제거 .....	163
APPENDIX .....	164
제 4 절 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온 제거 .....	166
제 1 항 서설 .....	166
제 2 항 재료 및 방법 .....	167
제 3 항 연구결과 .....	169
1. Bubble column .....	169
2. 폐배지에 의한 구리, 망간, 아연 이온의 흡착 등온선 .....	173
가. Continuous flow system .....	174
나. Airlift tank system .....	175
다. Maze system .....	175
제 7 장 수질정화 실연 및 보급 .....	180
제 1 절 폐목질자원을 이용한 중금속 제거 .....	180
제 1 항 수피를 이용한 카드뮴 이온의 제거 .....	180
1. 서설 .....	180
2. Airlift reactor에서의 흡착 kinetics .....	180
3. Packed bed reactor에서의 흡착 kinetics .....	180
제 2 항 은행나무 낙엽을 이용한 폐수중의 크롬의 제거 .....	181
1. 서설 .....	181
2. 은행나무 낙엽을 이용한 크롬의 흡착 제거 .....	181
가. 은행나무 낙엽의 크롬에 대한 흡착등온선 .....	181
나. 은행나무낙엽의 카드뮴에 대한 흡착등온선 .....	182
다. Stirred reactor를 이용한 크롬 제거 .....	182
라. Packed bed reactor에서의 크롬 흡착 kinetics .....	183
마. Airlift reactor에서의 크롬 흡착 kinetics .....	183
바. pH에 따른 크롬 흡착 효과 .....	184
사. 고정화 방법에 의한 크롬 흡착 kinetics .....	184
제 3 항 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거 .....	184
1. 서설 .....	185
2. Packed bed reactor에서의 카드뮴 흡착 kinetics .....	185
3. pH에 따른 카드뮴 흡착 효과 .....	185



4. 중금속에 따른 흡착 효과 .....	186
제 2 절 폐목질자원을 이용한 중금속 제거실연 .....	187
제 1 항 Maze tank system을 이용한 폐광산의 중금속 제거 .....	187
1. 서설 .....	187
2. 실험실내에서 실패수 적용 .....	187
3. 현장에서 실패수 적용 .....	189
가. 적용 방법 I .....	189
나. 적용 방법 II .....	192
다. 적용 방법 III .....	193
라. 적용 방법 IV .....	194
마. 적용 방법 V .....	194
바. 적용 방법 VI .....	195
제 3 절 버섯균을 이용한 중금속 제거 .....	196
제 1 항 시루뻐버섯( <i>Inonotus cuticularis</i> ) alginate bead를 이용한 크롬제거 .....	196
1. 실험실내 airlift reactor에서의 alginate bead 고정화 시루뻐버섯을 이용한 6가 크롬의 제거 .....	196
2. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead 고정화 시루뻐버섯 이용 실패수 적용 .....	196
제 2 항 부후개떡버섯( <i>Tyromyces palustris</i> ) alginate bead를 이용한 구리 제거 .....	197
1. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead 고정화 부후개떡버섯을 이용한 카드뮴 제거 .....	198
2. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead고정화 부후개떡버섯을 이용한 실패수 적용 I. ....	198
3. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead고정화 부후개떡버섯 이용 실패수 적용 II.(화성군 삼보광산 광미 침출수) .....	199
4. 부후개떡버섯 톱밥 고정화 균주를 이용한 구리 및 카드뮴에 대한 흡착등온선 .....	199
제 8 장 결 론 .....	202
부 록	
1. 발표논문 .....	205
2. 특허출원 .....	299

# 제 1 장 서 론

환경오염의 심각성은 인류공통의 관심사이고, 산림자원은 친환경적 청정생산체이다. 자연의 자정능력중 산림자원이 차지하고 있는 비율은 매우 크다. 이러한 자정능력에는 오염물질에 대해서 특별하게 정화작용을 하는 물질이 존재하기 때문으로 추정하고 있다. 환경자정능력을 과학적이고 효율적인 방법으로 개발하여 수질오염으로부터 보다 안전한 인간생활이 영위되도록 하여야 한다.

따라서 산림자원의 일부인 낙엽, 부식질, 수피 및 톱밥 등의 폐목질자원과 버섯균 등의 산림미생물이 갖고 있는 중금속류 및 난분해성 물질 등의 정화능력을 찾아내어 그 반응능력을 과학적으로 입증하고 계량화함은 금후 지구환경보존을 위해 매우 중요하다고 판단된다.

이러한 과정에서 경제적 효용가치가 없어 사장되는 수피에서 중금속류의 제어능력을 찾아내고, 목재부후균과 산림부식질을 이용하여 폐수중의 중금속과 난분해성 유기물질을 제어하는 기술은 청정생산기술 개발일 뿐 아니라 폐산림자원의 효용을 극대화시킬 수 있는 유일의 수단이다.

따라서 폐산림환경자원에서 환경정화능력을 찾아내고 이를 정화능력이 보다 우수하도록 극대화시키기 위한 기술로 연결할 필요성이 있다. 또 이들 물질중 그 자정정화능력이 우수한 것들을 조합화하여 종합적인 반응시스템으로 발전시킬 필요성도 있다.

이러한 기술은 세계적으로 극초보적인 단계이므로 발빠르고 유효하게 잘만 이용하게되면 쓸모없어 버리는 폐산림자원을 환경정화용 바이오테크 자원인 고부가가치의 상품으로 둔갑시킬 수 있다. 나아가 환경정화능력을 조합화하여 반응시스템화 하여 기업기술로 연계되게 할 때 지구환경의 최대 문제점인 중금속류 및 난분해성 물질로 인한 수질오염을 최소화시킬 수 있다.

그러므로 이를 고부가가치의 수질정화 바이오테크 기술자원으로 개발 정착시키고 그 기술을 수질정화 시스템화시켜 얻어지는 효용가치를 임업의 효과로 재평가시키고자 한다.

주관연구기관의 3과제와 협동연구기관의 3과제를 포함하여 모두 6개의 과제를 실시하였으며, 각 과제에서 연구개발되어진 소재에 대하여, 또 개발되어진 기술에 대하여 주관연구기관에서 현장실연을 통해 보급하는 것을 계획하였다.

지금까지의 연구에서 시루뽀버섯 균주를 이용하여 독성의 6가크롬을 무독성의 3가크롬으로, 독성의 무기태비소를 무독성의 유기태비소로 변환시킴을 밝혔다. 이 균에 의한 중금속의 변환효율도 크롬의 경우 2000ppm까지, 비소의 경우는 500ppm의 농도를 변환시킬 수 있어서 미생물을 이용한 중금속류의 제어에 크게 기여할 수 있었다. 따라서 이들 균주를 대량 배양할 수 있는 벤취스타일의 바이오리액터 시스템을 개발하여 크롬을 제거시키기 위한 실

용화 준비가 필요하다.

또한 카드뮴과 구리를 제어할 수 있는 갈색부후균 *Tyromyces palustris*를 개발하고, 이 균의 중금속 제어기능을 극대화시키기 위한 담체개발 등의 연구가 필요하다. 이미 개발한 담체와의 접촉이 중금속의 제어효율에 탁월함도 밝혀졌다. 이 균 또한 중금속오염 폐수의 수질정화에 크게 기여할 수 있을 것으로 확신된다. 따라서 기 개발된 담체를 바이오리액터 시스템에 적용하기 위한 연구를 필요로 하고 있다.

수피를 탄화시켜 얻은 시제품의 중금속 흡착능력은 현재 사용되고 있는 흡착제(활성탄 등)나 연구 보고된 생흡착제(biosorbent)보다 높지는 않으나, 흡착제와 중금속 용액의 비가 1g : 200ml의 조건에서 기존의 흡착제가 대부분 낮은 농도에서 평형을 이루는 것에 비해, 본 시제품은 150mg/l 이하의 농도에서는 평형 농도가 0으로 100% 완벽하게 제거하는 것으로 나타났다. 이는 대부분의 공장 폐수나 광산 폐수가 1000mg/l 라는 것을 감안할 때, 기존의 흡착제는 여러 번의 흡착 반응을 시켜야 완전제거가 되지만 본 시제품은 한번의 흡착 반응으로 중금속을 제거할 수 있다는 점이 장점이라고 할 수 있다. 따라서 이를 고부가치의 중금속 제어용 필터로 개발하기 위한 연구가 필요하다.

전 세계적으로 유용하게 여러분야에서 이용되어 왔던 유기염소화합물들은 환경규제의 강화로 인하여 근래에는 점차 각국에서 사용이 금지되고 있다. 또한 과거에 사용되었던 유기염소화합물의 안전한 처리가 현재는 중요한 환경현안으로 대두되고 있다. 그 중에서도 페놀성 유기염소화합물은 독성이 강하고 발암성이며 미생물에 의한 분해가 어려운 난분해성 물질로 보고되었고, 과거부터 지금까지 우리의 환경에 축적되어 지는 것으로 알려졌다. 독성의 정도는 방향환에 치환되는 염소의 치환도가 증가할수록 증가하는 것으로 알려져 5개의 염소가 aromatic ring에 치환된 Pentachlorophenol(이후 PCP라 명함)은 독성이 아주 강한 것으로 보고되었다. PCP는 1936년에 처음 상업적으로 소개가 된 이후 농업을 비롯한 산업 전반에서 제초제, 살균제, 살충제, 방부제 등으로 몇 십년간 다양하게 이용되었다. 그러나 몇몇 국가에서는 저가와 고효율의 장점 때문에 맹독성의 우려도 불식하면서 최근에도 계속 이용되어지고 있는 상황이다. 이러한 PCP는 난분해되는 특성으로 인하여 과거 및 현재에 이용되어진 것은 환경에 그대로 축적되어지고 있는 실정이다.

현재까지 PCP의 분해 메카니즘은 박테리아를 이용하여 광범위하게 연구되어 왔으나 효율성에서 문제가 제기되어, 근래에는 lignin peroxidase, manganese peroxidase 등의 extracellular 분해 시스템을 가지고 있는 리그닌 분해균인 백색부후균에 의한 난분해성 물질의 분해에 대한 관심과 기대가 증폭되어 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 주로 이용되어지고 있는 균주는 리그닌 부후력이 뛰어난 것으로 알려진 *Phanerochaete chrysosporium* 정도이다. *Phanerochaete chrysosporium*은 PCP이외에 여러종류의 trichlorophenol, dichloro dibenzo-dioxin 등의 유기염소화합물에 대한 분해능이 뛰어난 것으로 보고 되었다. 분해 메카니즘으로는 peroxidase가 촉매하는 산화탈염소화 반응, quinone 환원반응, 메틸화 등이 알려져 있다. 그러나 nonligninolytic 조건에서도 반응이

진행되므로 기타 다른 반응의 관여도 제안되어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 난분해성인 PCP에 대한 분해력을 검증하여 펄프 제지 산업을 비롯한 여러 산업에서 다량으로 이용 또는 방출되고 있는 유기염소화합물에 의한 환경오염을 저감시키고자 한다. 아직 국내에서는 일부 화학적인 침전법 또는 수지를 이용한 흡착법 등이 이용되고 있는 실정이나 이는 처리 후의 폐기물 및 재생에 상당한 비용 및 노력이 필요하므로 환경친화적인 미생물에 의한 유기염소화합물의 처리는 더욱 개발과 응용이 시급한 과제이다.

산림미생물, 폐목질 자원 및 수피를 이용한 폐수 중의 중금속 처리를 효과적으로 수행할 수 있는 자동화된 pilot-plant scale의 폐수 처리 공정개발은 본 연구 과제의 최종 목표이다. 폐수는 대량으로 또한 연속적으로 발생하기 때문에 이를 처리하기 위한 연속식 대량 처리 시스템의 개발만이 본 연구의 최종 목적을 달성 시킬 것이고 여태까지의 모든 실험실에서 기초 연구도 이러한 실용화 시스템의 개발을 위한 것이었다고 할 수 있다. 실제 상용화 Plant는 환경정화 시스템이 필요한 업체에서 발주하여 그 업체의 폐수의 성상에 맞게 설계, 제작하여 설치하는 실제 계약에 의해서 수행되는 건설 project이다. 이러한 상용화 plant는 실험실에서의 기초실험 자료만 가지고 바로 설계할 수 없고 scale이 달라지면서 나타나는 여러가지 문제점 때문에 흔히 pilot plant scale를 운용하게 된다. 이러한 pilot-plant를 운전하면서 여러 운전자료를 분석하고 최적화하여 설계자료를 도출하며 lab scale과의 운전 자료를 비교 검토하면서 적절한 scale-up의 원리를 선정하고 문제점 분석을 통하여 계속적인 공정개선을 수행하기 때문에 상용화 plant설계를 위해서 반드시 통과해야 하는 단계이다. 실제로 실험실 수준에서 연구가 종료된다면 실제 현장에서는 어떠한 문제점이 발생할지 모르기 때문에 현실과 괴리된 연구결과로 만족할 수 밖에 없고, 실험실 조건에서는 성공하였다 하더라도 사장되는 경우가 특히 환경분야에서는 빈번하다. 따라서 본 과제가 성공적인 실용적 과제로 평가받기 위해서는 pilot plant scale이 공정개발을 통해서 실패수를 적용하면서 문제점들을 해결해 나가는 현장형의 연구로 추진하고자 한다.

이러한 bench scale의 환경정화 시스템의 운전결과를 분석하여 최적의 reactor system을 선정하고 설계 변수를 도출하여 최적화하며 이를 바탕으로 실패수에 적용할 수 있는 pilot plant scale의 환경정화 시스템을 설계, 제작, 설치하는 개발을 필요로 하고있다. 한편 흡착된 산림미생물, 폐목질자원 및 수피자원의 흡착제의 재생 사용 방법을 연구하여 재생액 (regeneration solution) 및 재생공정을 개발함으로써 결국 흡착제로서의 수명이 다하여 폐기될 흡착제의 처리방법을 연구하여 실용화되기 위해 반드시 해결해야 할 과제이기도 하다. 이러한 pilot plant가 완성되면 실제 폐수를 적용하여 운전함으로써 운전자료를 축적하고, bench scale의 운전자료와 pilot plant에서의 운전 자료를 분석하여 scale-up에 따르는 scale up principle을 선정하고 문제점 분석을 통하여 공정개선을 계속해 나가는 한편, 경제성 검토도 수행하여 공정을 객관적으로 평가하려 한다.

본 보고서에서는 기 발표하였던 1년차와 2년차의 연구결과는 간략하게 요약편집하였고,

연구개발 내용은 연구결과에 포함시켜서 금년도(3년차, 최종년)의 연구결과중 주요연구 결과에 대해서만 뒷장의 연구결과에서 소개하도록 하겠다. 아울러 본 연구의 결과가 연구 및 산업분야에서 널리 활용되어지기를 기대하는 의미에서 학회발표나 논문 등을 통해 보고되어진 자료를 별도로 첨가하였으며, 연구수행과정에서 도출된 특허출원 내용을 첨부하였다.

## 제 2 장 수피 및 목질계 담체에 의한 중금속 흡착

### 제 1 절 서 설

70년대 말부터 농업부산물 및 목질계 자원으로 중금속을 흡착·제거할 수 있다는 가능성이 보고된 후에 여러 실험실에서 실험들이 진행되어 왔다. 또한 이러한 목질계 자원은 저렴하며 재이용이 가능하고 흡착된 중금속을 회수할 수 있다는 장점이 있으므로 더욱 각광을 받고 있다. 탄닌 성분을 함유한 땅콩 껍질질이  $Hg^{++}$ 을 흡착한다는 것에 착안하여 수피로 중금속을 선택적으로 제거시키는데 성공하였다. 또한 최근에는 해수에서 우라늄을 수피에 흡착하여 재사용하는 연구를 진행하고 있다.

중금속을 흡착하는 농업부산물로는 옥수수속대, 땅콩껍질, 양파껍질 등과 목질계 자원으로서는 칩·활엽수의 수피와 목분이 널리 이용되고 있으며 그 외에도 왕겨, 밤송이, 굴껍질도 유용한 자원으로 고려된다.

미국의 Battelle연구소에서는 환경공해 지수(Environmental stress index)라는 것을 작성하였는데, 중금속은 현재지수에서 잔류농약 다음으로 높은 위험도를 나타냈고, 미래지수에서는 가장 높은 위험도를 나타냈다. 이런 위험도를 가진 중금속을 제거하기 위해 현재 사용되는 흡착제 보다 경제적이고 효율적인 흡착제에 관한 연구가 최근 많이 보고되고 있다. 그 예로 조류를 이용한 생흡착제, 미생물의 대사를 이용한 중금속 제거 방법, 수피나 peat 등을 이용한 중금속의 제거 등을 들 수 있다. 이중 임업부산물인 수피는 목재체적의 약 10~20%를 차지하기 때문에 이를 재활용할 수 있다면 그 경제적 가치는 매우 크다고 할 수 있다. 그러나 생수피 자체는 다른 중금속 흡착제와 비교할 때 그 효율이 수피 단위 g당 중금속 약 10~20mg 정도를 흡착하는 것으로 낮은 편에 속한다. 따라서 수피의 중금속에 대한 흡착 효율을 높이기 위해서는 물리적 화학적 처리를 통한 개량이 요구되고 있다.

본 연구에서는 목질부를 활성화(activation)시키는 과정 중 중금속 등의 ion을 흡착할 수 있는 작용기가 생성되는 활성화탄 제조의 원리를 임산 부산물의 일종인 수피에 적용시켜 보았다.

흡착제는 흡착하는 형태에 따라 그 mechanism이 다양하지만, 주로 물리적인 힘과 화학적인 힘에 의해 흡착 반응이 이루어진다. 물리적인 힘에는 van der Waals의 힘과, ion 교환과 같은 electrostatic outer-sphere complex 등이 속하며, 화학적인 힘에는 ligand exchange mechanism, 공유결합, 수소결합 등과 같은 inner-sphere complex가 있다. 흡착제(adsorbent) 표면에 존재하는 functional group과 피흡착물(adsorbate)이 결합하여 안정한 상태를 이루는 것을 surface complexation이라고 한다. 흡착제와 피흡착물 사이에 물분자가 존재할 경우를 outer-sphere complexation라 하고, 물분자가 존재하지 않고 ion이나 분자가 직접 결합할 경우를 inner-sphere complexation라 한다.

새로운 중금속 흡착제의 개발에 있어서 흡착제의 제거 효율과 흡착 금속에 대한 선택성,

흡착 mechanism, 흡착제의 물리적 화학적 특성 등이 기본적으로 연구되어야 한다. 이 중 흡착 mechanism은 adsorption isotherm type과 관계식, kinetic model의 적용을 통해 kinetic order와 rate curve, rate constant 등의 kinetic parameter와 흡착제의 다른 여러 가지 물리적 화학적 특성을 알아내어 추정할 수 있다.

본 연구는 제조된 활성화 수피의 중금속 흡착 제거제로의 활용 가능성을 탐색하고, 이에 관한 이론 정립 및 증명시험을 통해 실용화 할 수 있는 운영 방법과 조건을 제시하는데 그 목적이 있다.

이에 본 연구에서는 활성화 수피의 최적 제조 조건을 구명하기 위하여 수피의 활성화 온도에 따른 중금속 흡착 효율 변화를 조사하고, 제조된 활성화 수피의 중금속 흡착 제거제로의 가능성을 탐색하기 위하여 활성화 수피와 유사한 시판 제품과의 중금속 흡착 효율을 비교하였다. 제조된 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 능력과 물리 화학적 특성을 구명하기 위하여 활성화 수피와 중금속의 반응에 대한 kinetic model 적용을 통한 반응 mechanism 구명, 활성화 수피의 표면 특성 조사, 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 선택성 등에 관한 시험을 실시하였다. 활성화 수피의 현장 적용성을 시험하기 위해 batch와 air lift, column 등의 reactor 시험을 실시하였고, 최적의 중금속 제거효과를 얻기 위해 여러 가지 방법을 혼합하여 시험하였다.

## 제 2 절 수피 및 폐목질 담체에 의한 중금속 흡착

### 제 1 항 재료 및 방법

#### 1. 공시재료

##### 가. 수피

소나무(*Pinus densiflora*), 상수리나무(*Quercus acutissima*), 잣나무(*Pinus koraiensis*), 낙엽송(*Larix leptolepis*), 및 굴참나무(*Quercus valiabilis*)의 수피로서 각 임목을 벌채하여 수피를 채취하였다. 채취된 수피를 약 50℃에서 48hr.동안 건조시킨 후 마쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄된 수피를 40~60 mesh 채로 걸러서 비닐봉투(Ø 0.5mm)에 넣어 밀봉 보관하였다. 사용시 마다 수분 함량을 측정 계산하였다.

##### 나. 목분

소나무(*Pinus densiflora*), 상수리나무(*Quercus acutissima*)로부터 목분(40~60 mesh)을 조제하여 기건상태에서 보관하면서 사용직전 수분 함량을 측정하였다.

##### 다. 잎

낙엽송(*Larix leptolepis*)의 낙엽과 생엽 그리고 은행나무(*Ginkgo biloba*)의 생엽을 기건상태로 건조한 후 분쇄하여 밀봉 보관하였다.

## 2. 실험방법

### 가. 수피 전처리

#### 1) HCHO/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 전처리

수피(2part)를 39% HCHO(5part)와 0.2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(20part)로 50℃에서 2hr. 반응시킨 후 수피를 증류수로 pH 5~6이 될 때까지 세척하고 50℃에서 24hr. 동안 건조시켜 사용하였다. 수피 이외에도 몇가지 수피 조성분을 분리하여 공시담체로 사용하였다.

#### 2) 수피 및 톱밥 인산화

수피와 톱밥의 인산화는 DHF, 인산 및 요소를 플라스크에 넣어 가용화시킨 후 시료를 넣고 150℃에서 일정시간 처리하였다. 반응물질을 glass filter에 여과시킨 후 온수 및 아세톤으로 충분히 세정하고 50℃에서 감압하면서 16hr. 동안 건조시켰다. 인의 정량은 시료를 농질산과 과염소산을 가하여 혼식법으로 분해시키고, 그 다음 중화시킨 후 흡광도법으로 인을 정량하였다.

### 나. 수피, 톱밥 및 잎의 조성분 분리

Klason lignin : 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 가수분해시킨 후 3%로 희석하여 환류냉각기를 부착하여 4시간 동안 가열하였다. 잔사를 충분히 수세한 후 잔사리그닌을 회수하였다.

Alkali lignin : 수피를 크라프트펄핑하여 얻은 폐액의 pH를 조절하여 리그닌을 침전시켜 회수하였다.

Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>추출물 : 5% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 용액으로 80℃에서 1.5시간 동안 추출하여 추출물을 여과한 후 건조시켜 회수하였다.

Lignosulfonate : 시판용인 일급시약(Aldrich Co.)을 사용하였다.

온수추출물 : 시료를 온수에 4 hr. 추출한 후 추출물을 Rotary evaporator에 농축·건조시켜 추출물을 회수하였다.

### 다. 흡착능 조사이온

흡착능 조사 이온은 Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> 및 Pb<sup>2+</sup>의 흡착을 실험하였으며, 이들 이온을 Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>로 조제하였다. 이들 시약으로 10~100ppm용액을 제조하고 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 일부는 1000ppm으로 조제되어 시판되고 있는 표준물질도 사용되었다.

### 라. 중금속 흡착방법

평형시험(Equilibrium test = one hour batch test): 전 처리된 수피 0.5-1.5g을 300ml 삼각플라스크에 넣고 10~100ppm 중금속 이온 100ml를 가한 후, 30℃에서 1시간 동안 항온 진탕기에서 진탕 후 여과지(No.2)에 걸러 여과액을 받아 중금속을 정량하였다.



중금속 흡착에 미치는 경금속의 영향을 조사하기 위하여  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 와  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  용액 각각 10ppm과 25ppm을 가하고 평형시험 방법과 동일하게 처리하였다.

중금속 산의 흡착 경쟁은 각각의 중금속 용액 일정량을 100ml 메스후라스크에 넣고 증류수로 혼합한 후 이상의 방법과 동일하게 처리하였다.

칼럼 시험(column test): 유속의 영향과 칼럼 크기에 따른 영향을 조사하기 위하여 칼럼 시험을 행하였다. 전처리 수피 15~57g을 칼럼(직경: 2.5cm, 3.5cm)에 넣고 3~15ℓ의 중금속 용액을 5ml, 10ml, 25ml/min로 통과시키면서 칼럼을 빠져나오는 여과액을 받아 중금속을 정량하였다.

마. 중금속 정량 방법

여과액을 여과지(No. 2)에 걸러 원자흡광 광도계(SUNIL Co.)를 사용하여 정량 분석하였다.

제 2 항 결과 및 고찰

1. 수피 및 폐목질 담체에 의한 중금속 흡착

가. 수피 및 톱밥에 의한 중금속 흡착

본 연

구에서는 소나무, 상수리나무, 잣나무, 낙엽송 및 굴참나무의 수피와  $\text{HCHO}/\text{H}_2\text{SO}_4$  전처리 수피의 중금속 흡착능을 조사하였다. 또한 소나무와 상수리나무 수피 그리고 톱밥을 인산화 처리한 시료와 미처리 시료의 흡착능도 비교하였다.

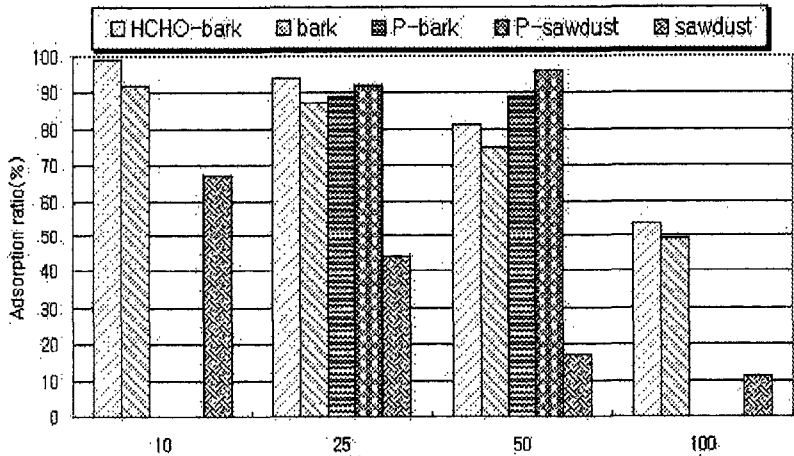


그림 2-1. Heavy metal adsorption by waste-wood material of *Pinus densiflora* (Cu<sup>++</sup>)

다. 각 처리조건에 따른 중금속 흡착능을 비교하면 그림 2-1~1-6.과 같다. 본 보고에서는 소나무와 상수리나무 시료만 국한하여 보고하고자 한다.

4종류의 중금속 농도를 10ppm에 100ppm까지 증가시키면 수종, 수피처리종류 및 톱밥, 즉



들은 소나무와 상수리나무간에 중금속 흡착율에 차이가 거의 없다.

중금속 종류별로 보면  $Cu^{2+}$ 의 경우 중금속 농도를 10ppm에서 100ppm으로 증가시킴에 따라 무처리 톱밥은 67-11%, 무처리

수피는 92-54%, HCHO처리 수피 91-54%, 인산화 처리 수피와 톱밥은 83-93%의 흡착율을 나타낸다.  $Zn^{2+}$ 는 무처리 톱밥에서 67-11%, 무처리 수피 92-54%, HCHO처리 수피 91-49%, 그리고 인산화 수피와 톱밥은 95-82%의 중금속이 흡착된

다.  $Cd^{2+}$ 는 무처리 톱밥에서 50-94%, 무처리 수피에서 55-43%, 인산화 처리 수피와 톱밥에서 91-96%가 흡착된다.  $Pb^{2+}$ 는 어떤 경우에도 흡착율이 높다. 무처리 톱밥에서 89-50%, 무처리 수피와 HCHO처리수피는 96-99%, 또한 인산화 수피와 톱밥에서는 90-95%의 흡착율을 나타낸다.

#### 나. 잎에 의한 중금속 흡착

수목의 잎도 중금속을 흡착하며 특히 낙엽송의 잎이  $Cd^{2+}$ 의 흡착율이 높다는 보고에 따라 본 실험에서도 일차적으로 확인 실험을 시도하였다. 중금속 흡착은 평형시험을 행하였고 평형시험조건은 전술함 방법과 동일하게 행하였다. 낙엽송(*Larix leptolepis*)생엽

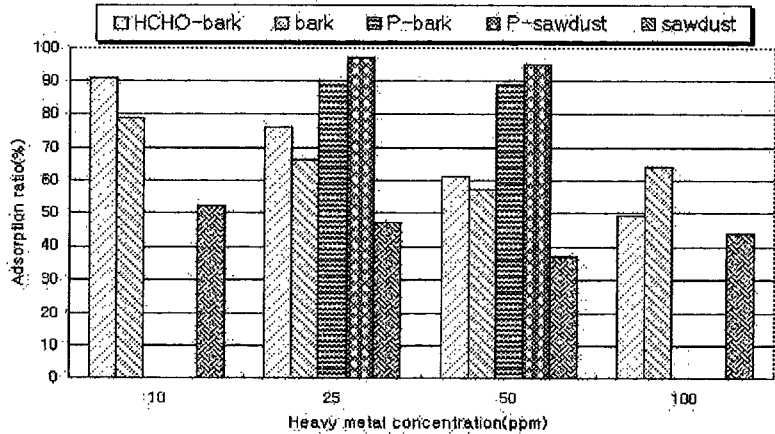


그림 2-5. Heavy metal adsorption by waste-wood material of *Quercus acutissima* ( $Zn^{2+}$ )

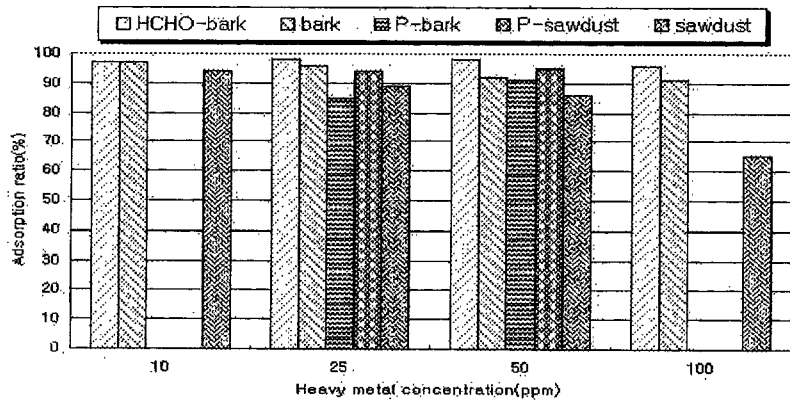
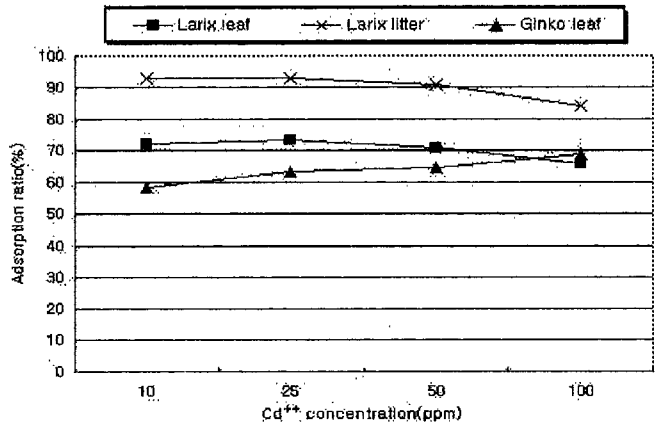


그림 2-6. Heavy metal adsorption by waste-wood material of *Quercus acutissima* ( $Pb^{2+}$ )

과 낙엽 그리고 은행나무 (*Ginkgo biloba*) 낙엽에 의한  $Cd^{2+}$  흡착율은 그림 2-7과 같다.

낙엽송 생엽의  $Cd^{2+}$  흡착율은  $Cd^{2+}$  농도 10-100ppm 범위에서 큰 변화 없이 66-73%, 낙엽은 그보다 높은 84-93%를 나타내고 있다. 은행나무 생엽은 42-63%의 흡착율을 보이고 있다. 특히 잎은 수피나 목분에 비하여 고농도나 저농도 중급 그림 2-7. Cadimium ions adsorption by leaves, 속 용액에서 흡착율이 크게 감소하지 않는 것이 특징적이다.



#### 다. 수피와 잎의 조성에 의한 중금속 흡착

잣나무, 낙엽송, 및 굴참나무 수피로부터 제조된 alkali lignin이 Klason lignin 보다  $Cu^{+2}$ 와  $Zn^{+2}$ 의 흡착율이 높으며  $Pb^{+2}$ 는 반대 현상을 나타내었다. 그러나 이들의 흡착율 차이는 5% 미만이다.

수종간의 차이를 비교하면 Klason lignin은 3수종 공히  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ , 및  $Pb^{+2}$ 의 각각의 흡착율이 비슷하였다. 그러나 alkali lignin는 낙엽송 수피에서는  $Cu^{+2}$ 와  $Zn^{+2}$  흡착율이 다른 수종의 수피로부터 alkali lignin보다 6~15% 낮았다. 한편  $Pb^{+2}$ 의 흡착은 수종에 관계없이 일정한 수준이었다. 일반적으로 공업용 리그닌은 리그닌의 종류와 수피의 수종에 큰 차이 없이 약 40~50%의 중금속을 흡착 제거시킨다.

$Na_2SO_3$  추출물에 의한 중금속 흡착율은  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ , 및  $Pb^{+2}$  모두 낙엽송 수피에서 높으며 그 다음 잣나무 수피와 굴참나무 수피 순으로 감소하였다. 중금속 흡착율의 차이는 중금속 이온 종류에 관계없이 5% 미만이다. 낙엽송 추출물에서 중금속 흡착능이 높은 것은 수피에 다른 수종보다 퀘르세틴, taxifolin, 및 lignan성분이 많은 것에 기인한다고 사료된다

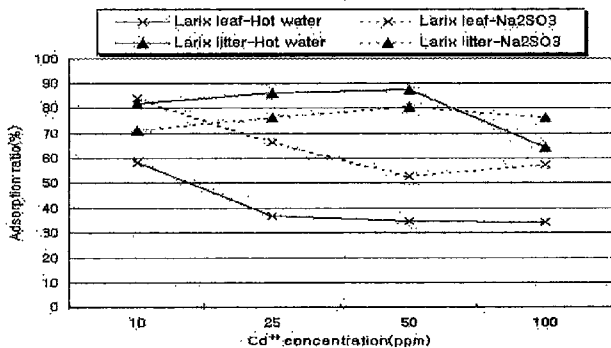


그림 2-8. 은 낙엽송과 은행나무 잎의 온수 및  $Na_2SO_3$  추출물의 중

그림 2-8. Cadimium ions adsorption by extractives.

금속 흡착을 나타내고 있다. 낙엽송 추출물(0.5mg)에 대한  $Cd^{+2}$  흡착량은 온수추출물이  $Na_2SO_3$  추출물보다 높고 낙엽 추출물이 생엽추출물보다 높다 특히 낙엽추출물은 중금속농도 (10-100ppm)에 따라 흡착을 감소가 거의 없으나 생엽추출물은 중금속 농도 증가로 흡착율이 급격히 감소한다.

#### 라. 혼합 무처리 수피의 중금속 흡착

5개 공시수종의 수피를 1:1의 비로 조합하여 중금속 흡착능을 측정하였다.

10ppm  $Cu^{+2}$ 의 경우 소나무, 잣나무 및 낙엽송의 수피를 각 각 혼합하여 사용하여도 중금속 흡착율이 감소되지 않았다. 그러나 참나무류 수피와 침엽수 수피를 혼합할 경우에는 수피 각각의 단독 흡착시 보다 흡착율이 7~8% 감소되었다. 50ppm의  $Cu^{+2}$ 에서도 수피 혼합으로 흡착율은 단독 수피 사용할 경우보다 6~15% 낮았다.  $Zn^{+2}$ 의 경우 10ppm 용액에서는 잣나무 수피를 사용할 경우만 흡착율이 2~6% 증가하고 다른 수피조합에서는 5~8% 감소하였다. 그러나 50ppm  $Zn^{+2}$ 에서는 각 각의 수피 조합으로 2~10% 증가하는 반대 경향을 나타내었다.  $Pb^{+2}$ 에서는 10ppm과 50ppm 공히 수피 조합으로 2~3% 정도 흡착율이 낮아졌다.

일반적으로 본 실험에 이용된 담체들을 혼합하여 사용할 경우 중금속 흡착율이 각 각의 수피 단독처리시 보다 낮아지는 경향이다. 이러한 경향은  $Cu^{+2}$ 와  $Pb^{+2}$ 에서 뚜렷하다. 물론  $Zn^{+2}$ 의 경우 일부 반대의 경향도 나타났으나 이것은 실험상의 문제일 수도 있다고 사료된다.

## 2. 수피의 리액터 적용을 위한 제조조건

### 가. 처리조건의 영향

1) 반응온도의 영향 : 중금속 용액의 온도를 10℃에서 55℃까지 높이면서 무처리 수피에 의한 중금속 흡착능을 비교한 바  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ , 및  $Pb^{+2}$ 용액의 온도가 높아짐에 따라 흡착율이 극히 미미하게 증가하는 경향을 나타내었다.

2) pH에 의한 영향 : 중금속 용액의 pH가 산성영역에서 중성으로 넘어감에 따라 중금속 흡착율이 증가되었다. pH 6~7에서 최대 흡착이 이루어지며 그 이상의 알칼리 영역에서는 급격히 흡착율이 하락하였다.

3) 입자크기의 영향 : 수피 입자가 클수록 중금속 흡착율은 낮아졌다. 이러한 현상은 적은 입자일수록 표면적이 크므로 중금속과 결합한 부위가 많아지기 때문이다. 특히 소나무 수피보다 비중이 높은 상수리나무 수피의 경우 흡착율의 변화가 더 큰데 이것은 비중이 큰 수피일수록 단위 무게당 표면적이 적기 때문이다.

4) 수피량의 영향 : 담체량이 증가하면  $Zn^{+2}$  흡착율도 증가한다. 소나무 수피량이 0.5g씩 증가함에 따라  $Zn^{+2}$  흡착능도 약 8-9%씩 일정하게 증가하였다. 상수리나무 수피는 담체 0.5-1.0g에서 약 58% 정도의  $Zn^{+2}$ 를 흡착하였으며, 담체 1.5g에서 급격히 증가하여 75.5%를 나타내고 있다. 담체량이 증가함에 따라 흡착율도 비례적으로 증가하지는 않는다.

중금속 흡착율은 용액의 moral 농도에 비례하지 않으며, 중금속 용액의 ppm 단위에 따라 좌우된다.

#### 나. 중금속 흡착에 미치는 경금속 영향

중금속 용액에 경금속  $Ca^{+2}$ 와  $Hg^{+2}$ 를 10-25ppm 첨가하여 수피에 흡착시켰다. 실험결과 중금속 용액에 경금속을 첨가시키면 수피에 의한 중금속 흡착이 증가된다. 그러나 10-25 ppm 정도에서는  $Ca^{+2}$ 와  $Mg^{+2}$  두 경금속 종류에 영향을 받지 않는다. 소나무 수피에서는 경금속 첨가로써  $Cu^{+2}$  제거율이 약 13.8-16.6% 증가되었으며, 상수리나무 수피에서는 29.4-31.6%나 더 증가되었다. 한편  $Pb^{+2}$ 는 경금속 첨가로 중금속 제거율이 13%나 증가되어 100 ppm 중금속 용액의 경우 거의 대부분의  $Pb^{+2}$ 가 수피에 흡착된다. 상수리나무 수피의 경우는 경금속 첨가에 관계없이  $Pb^{+2}$ 를 약 97%까지 제거시킨다. 그러나  $Cr^{+6}$ 는 흡착이 저조하며 경금속을 첨가할 경우 단지 약간의 변화만 있다.

#### 다. 혼합 중금속간의 흡착경쟁

$Cu^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Cr^{+2}$  및  $Zn^{+2}$ 을 2, 3, 4 조합으로 혼합하고 농도도 자체농도 및 농도비를 변화시키면서 수피에 흡착시켰다. 흡착경쟁에서  $Pb^{+2}$ 는 다른 금속보다 우선적으로 흡착되며,  $Pb^{+2}$ 와  $Cu^{+2}$ 의 흡착이 이루어진 후에  $Zn^{+2}$ 의 흡착이 시작된다. 또한  $Cu^{+2}$ 와  $Pb^{+2}$ 의 흡착 경쟁에는 아무런 관계가 없다. 한편 중금속 간의 흡착경쟁은 우선적으로 중금속 특유 성질에 의한 흡착 메카니즘 차이에 기인하겠으나 간혹 담체의 종류에 따라서도 차이가 난다. 즉 여러 담체들 중에서 어떤 이온을 특수하게 잘 흡수시키는 경우 이 중금속이 흡착 경쟁에도 유리하다.

#### 라. 수피 재생 회수의 영향

중금속을 흡착한 소나무와 상수리나무 수피를 0.1 N HCl로 중금속을 다시 탈착시킨 후 수피를 3회 재사용하였다.  $Pb^{+2}$ 는 소나무와 상수리나무 수피 모두 3회 재사용하여도 중금속 흡착율이 96.2%와 97.2%로 1회 사용시와 차이가 없다. 한편  $Zn^{+2}$  흡착시에도 3회까지 수피를 재사용하여도 중금속 흡착율은 3-5% 하락할 뿐이다. 중금속이 흡착된 담체도 중금속 농도가 낮으면 3회 이상의 재사용도 가능하다고 사료된다.

### 3. 현장 적용 및 실현시험

#### 가. 칼럼상에서 수피에 의한 중금속 흡착

1) 유속의 영향 : 유속에 따른 중금속 흡착시험은 수피 15g(전건시료)을 직경 2.5cm 되는 칼럼에 넣고 증류수로 평형화시킨 다음 중금속 농도 100ppm인 용액 3ℓ를 5ml/min와 10ml/min으로 흘려주어 중금속을 흡착시켰다. 여과액을 500ml 단위로 채취하여 중금속을 분석하였다. 최종 혼합된 여과액으로 비교하면 5ml/min 유속에서 10ml/min 보다 더 많은  $Zn^{+2}$

가 흡착되었다. 소나무 수피에서는 4.2% 그리고 상수리나무 수피는 17.6%가 더 높게 흡착되었다. 이와같이 유속이 느릴수록 중금속 흡착율이 높다.

2) 칼럼직경의 영향 : 소나무 수피의 경우 칼럼 직경이 2.5-3.5cm 범위에서는 직경에 따른 중금속 흡착능의 차이가 없다. 수피에 의한  $Zn^{+2}$  흡착능이 24.4%로 동일하다. 그러나 상수리나무 수피에서는 칼럼 직경이 큰 경우 중금속 흡착율이 높았다. 소나무 수피의 경우 칼럼 직경이 2.5cm에서는 중금속 흡착이 초기에서 말기까지 거의 변화되지 않은 상태로 흡착되지만 직경 3.5cm의 칼럼에서는 초기에 많이 흡착되고 점차 흡착율이 낮아지는 경향이다. 그러나 상수리나무 수피에서는 칼럼 직경이 작은 2.5cm에서 흡착율이 높다.

3) 삼보탄광폐수 모의 실험 : 삼보탄광의 광산폐수는 예비시험결과  $Zn^{+2}$ 와  $Mn^{+2}$ 로 구성되어 있으므로 본 실험에서도  $Zn^{+2}$  30ppm,  $Mn^{+2}$  30ppm 및  $Zn^{+2}$  30/  $Mn^{+2}$  30ppm의 3종류 중금속 용액을 조제하여 칼럼(직경 3.5cm, 높이 60cm)상에서 25ml/min속도로 흘리면서 소나무 수피에 흡착시켰다.

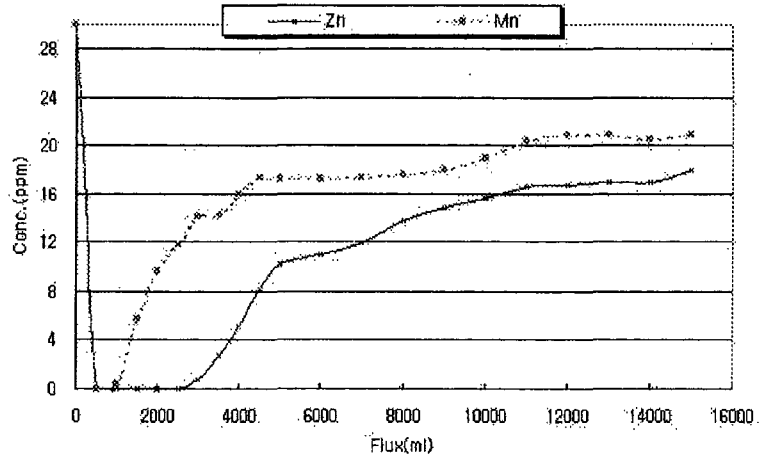


그림 2-9. The metal ion concentration of single cation solution according to flux after filtration by *pinus* bark.

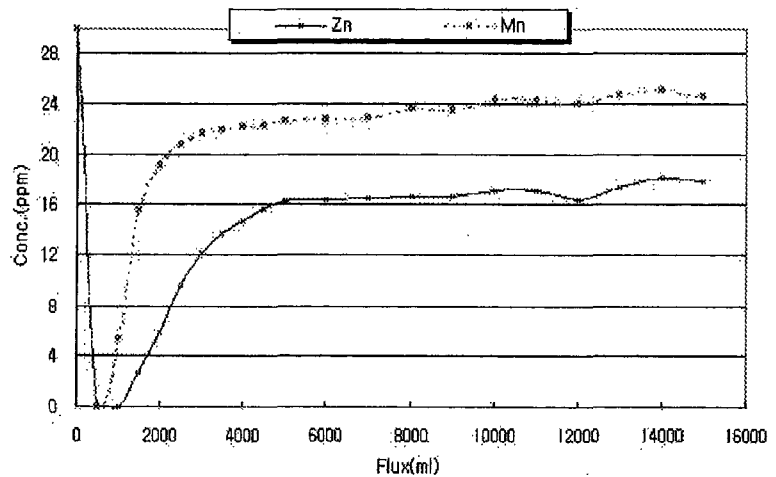
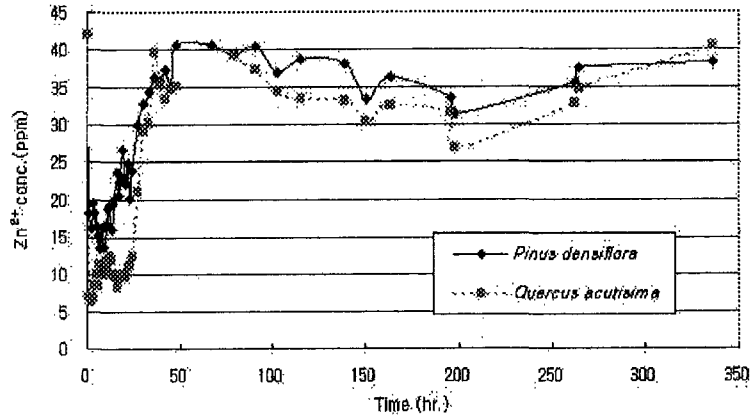


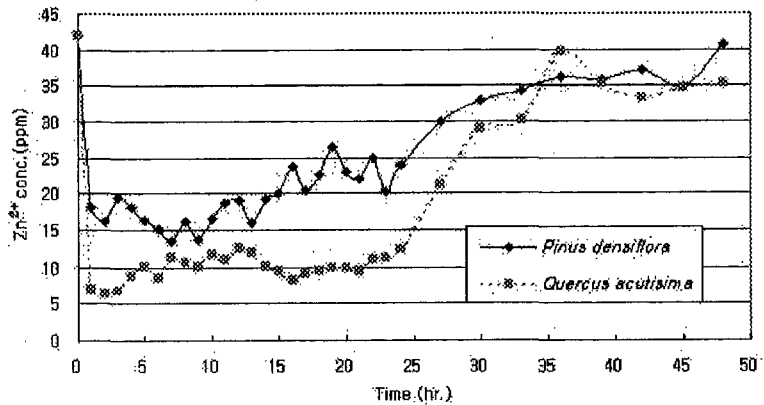
그림 2-10. The metal ion concentration of double cation solution according to flux after filtration by *pinus* bark.

그림 2-9.에서 보는 바와 같이  $Zn^{2+}$ 용액을 단독으로 소나무 수피에 흡착시킬 경우 2.8 l (112 min.)까지는 중금속이 100%흡착되며 그 후 흡착율이 급격이 낮아져서 6.7 l (252 min.)에서는 65% 정도 흡착된다. 4.0 l 이상에서는 흡착율이 완만한 직선상으로 계속 감소하며, 결국 15 l에서는 흡착율이 45%까지 감소한다.



$Mn^{2+}$ 는 1.0 l (20 min.)까지 흡착율이 100%이나 그 후 급격히 감소하여 4 l 이상에는 완만하게 감소하여 15 l에서 약 30%의 흡착율을 나타낸다. 소나무 수피는  $Zn^{2+}$ 을  $Mn^{2+}$ 보다 짧은 시간내에 더 많이 흡착한다.

그림 2-11. The  $Zn^{2+}$  concentration according to time after filtration by pinus and Quercus bark in half month.



$Zn^{2+}$ 와  $Mn^{2+}$ 를 각각 30ppm씩 혼합한 Fig. 14에서는  $Zn^{2+}$ 가 1.0 l (40min.)까지는 100% 흡착된다. 5 l

그림 2-12. The  $Zn^{2+}$  concentration according to time after filtration by pinus and Quercus bark in 48hour

(200 min.)에서는 50% 흡착율을 나타내며 그 후 15 l까지 변화가 없다. 한편  $Mn^{2+}$ 는 0.5 l (20 min.)에서는 100% 흡착되나 그 후 2 l까지 흡착이 급격히 감소하여 37%의 흡착율을 나타내고 있다. 그 후 15 l까지 극히 완만하게 감소되어 최종 16%의 흡착율을 나타낸다.

#### 나. Oritol-s와 수피에 의한 중금속 흡착

중금속 첨가제로 산업분야에서 널리 사용되고 있는 시판 oritol-s의 몇 가지 특성을 조사한 결과이다. 50~100ppm의  $Cd^{2+}$ 용액 100ml에 oritol-s 1.5ml 이상을 첨가할 경우 99%이상의  $Cd^{2+}$ 가 침전되었다. 또한 200~1,000ppm 용액에서는 200ml의 oritol-s 첨가로



99% 이상의  $Cd^{2+}$ 가 침전되었다. 그러나 10ppm의 경우 1.0~1.5ml를 첨가하여도 침전율은 83% 이상으로 증가되지 않았다. 즉, oritol-s는 저농도에서는 효과가 낮으므로 고농도의 중금속 용액을 1차적으로 oritol-s로 침전시킨 후 저농도 중금속을 함유한 여액을 2차적으로 수피에 흡착시켜 나머지 중금속을 제거할 필요가 있다.

50ppm의  $Cd^{2+}$ 용액 100ml를 oritol-s로 1차적으로 침전시킨 후 그 여액 중금속을 수피에 흡착시킨 바, 1ml oritol-s로 침전시킬 경우  $Cd^{2+}$ 의 침전율은 86.0% 였으며 2차적으로 수피에 연속 침적시키면 97.6%

로 흡착율이 97.6%까지 증가되었다. Oritol-s 2ml 이상을 넣고 침전시킨 후 수피로 처리하면 흡착율은 100%까지 증가되어 중금속이 완전히 제거된다.

#### 다. 삼보탄광 폐수 현장실험

삼보탄광 폐수현장실험을 1998. 8. 31부터 1998 9. 14일까지 화성현장에서 실시하였다. 소나무 수피와 상수리나무 수피(각 6kg)을 2단 칼럼( 직경 45cm, 높이 50cm)에 채우고 광산폐수를 1ℓ/min 유속으로 통과시킨 후 일정시간마다 여과액을 회수하여 잔존  $Zn^{+2}$ 와  $Mn^{2+}$ 량을 정량하였다. 그 결과는 그림 2-11, 2-12, 2-13, 2-14와 같다.

그림 2-11은 소나무 수피와 상수리나무 수피에 광산폐수 중 함유된  $Zn^{+2}$ (원수 42.1ppm)

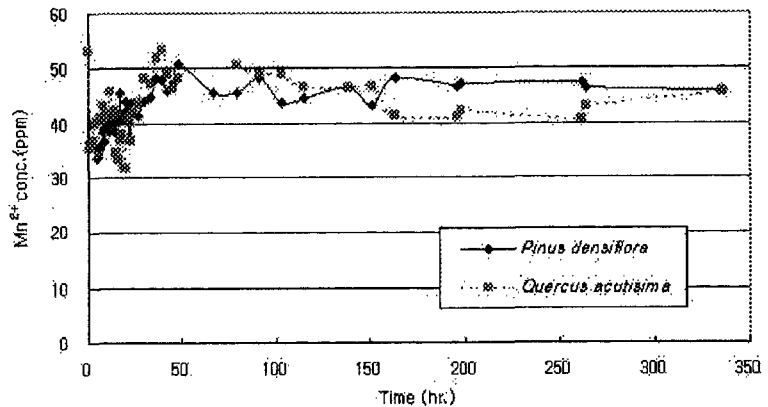


그림 2-13. The  $Mn^{2+}$  concentration according to time after filtration by pinus and Quercus bark in half month.

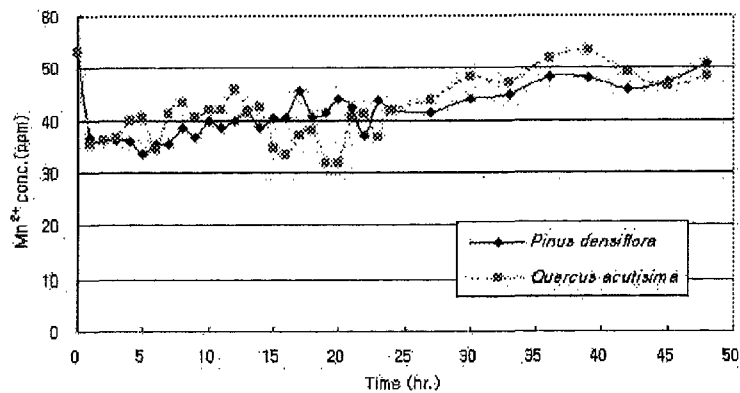


그림 2-14. The  $Mn^{2+}$  concentration according to time after filtration by pinus and Quercus bark in 48 month.

을 15일간 흡착실험한 결과이며, Fig. 12는 초기 48hr.의 결과를 확대한 것이다.

그림 2-11과 2-12에서 보는 바와 같이  $Zn^{+2}$ 는 소나무 수피에 10hr.까지는 62%가 흡착되며 24hr.에서는 50% 그리고 만 1일이 지난후는 급격히 감소하며 12%정도로 흡착율이 감소한다. 그 후 15일간 아주 완만하게 흡착율이 계속 감소한다. 한편 상수리나무 수피에는 24hr.까지 71.5%의 흡착율을 나타내며 그 후 급격히 감소하여 소나무 수피가 거의 비슷한 경향을 나타내고 있다. 초기에 상수리나무의 흡착율이 소나무수피 보다 높은 것을 전자의 경우 입자가 작기 때문이다. 또한 우천시에 일시적으로 흡착량이 낮아지는데 이는 폐수 중에 유기물 함량이 높아지는데 기인한다.

그림 2-13과 2-14에서와 같이 수피에 의한  $Mn^{+2}$ (원수:53.1ppm)의 흡착율은 저조하다. 수피종류에 관계없이 10hr.까지 21-27%정도의 흡착율을 나타내며 그 이후에는 20% 미만으로 큰 변동없이 15-20%의 흡착율을 유지하고 있다.  $Mn^{+2}$ 흡착결과로 미루어 보아  $Mn^{+2}$ 는  $Zn^{+2}$ 의 존재로 흡착장애를 받는다고 사료된다.

### 제 3 항 결 론

1. 단체처리별 중금속 흡착은 수중에 관계없이 인산화톱밥 > 인산화수피 > 무처리수피 =  $HCHO/H_2SO_4$ 처리 수피 > 무처리톱밥 순이다. 인산화처리로서 중금속 흡착율이 현저히 증가되며 톱밥의 경우는 저조하다.
2. 미처리 수피(1g)의 중금속 흡착능은 중금속의 종류에 관계없이 소나무>낙엽송=상수리나무>잣나무>굴참나무 수피순으로 낮아진다.  $Pb^{+2}$ 는 미처리 수피의 종류와 중금속 농도(10-100ppm, 100ml)에 관계없이 90%이상의 흡착능을 나타낸다.  $Cu^{+2}$ 는 중금속 농도가 높아질수록 흡착능이 계속감소하나  $Zn^{+2}$ 는 50ppm이상에서는 일정한 수준의 흡착능을 견지한다. 한편 중금속 농도에 따라 중금속의 흡착능은 낮아지나 흡착량은 최대 흡착량까지 계속 증가한다.
3. 미처리 혼합수피(1g)의 경우  $Cu^{+2}$ 와  $Zn^{+2}$ (100-200ppm) 흡착능은 일반적으로 단독 수피들의 흡착능의 평균치 또는 그보다 5-8%낮다.  $Pb^{+2}$ 도 흡착능은 수피혼합에 의해 2-3% 낮아진다.
4. 잎(1g)에 의한  $Cd^{2+}$ 흡착율은 수종과 계절(생엽, 낙엽)에 따라 차이가 있다. 또한 10~100ppm(100ml) 범위에서는 흡착율의 변화가 없다. 낙엽송 낙엽(90%) > 낙엽송 생엽(70%) > 은행낙엽(60%) 순이다.
5. 공업용 리그닌(100mg)들은 리그닌의 종류와 수피의 종류에 관계없이 약 40-50%의 중금속(25ppm, 100ml)흡착능을 나타낸다.  $Na_2SO_3$ 추출물(0.5mg)에 의한 중금속 흡착능은  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$  및  $Pb^{+2}$  모두 낙엽송 수피에서 높으며 그 다음 잣나무, 굴참나무 수피 추출물순으로 감소한다. 낙엽송 추출물(0.5mg)에 의한  $Cd^{2+}$ 흡착량은 순수추출물(0.5mg)이  $Na_2SO_3$ 추출물보다 높고, 낙엽 추출물이 생엽 추출물보다 높다.
6. 중금속 용액( $M^{+2}$ )의 온도를  $-5^{\circ}C$ 에서  $55^{\circ}C$ 까지 증가시켜도 흡착능은 미미하게 증가한다(흡착율10%이내). 중금속( $M^{+2}$ )용액의 pH가 약산성에서 중성영역인 경우 수피에

중금속이 가장 높게 흡착되며 pH가 약산성에서 중성영역인 경우 수피에 중금속이 가장 높게 흡착되며 pH 8이상에서는 급격하게 감소한다. 수피의 입자가 작을수록 중금속 흡착능이 높다. 수피량이 증가하면 중금속 흡착량은 증가하나 흡착율은 하락한다. 수피량에 따른 최대 흡착량은 중금속종류에 따라 다르다.

7. 중금속 용액에 경금속( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ , 15~20ppm)을 일정량첨가하면 흡착율이 증가한다. 또한 혼합중금속간에는  $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Zn}$ 순으로 흡착경쟁이 일어난다. 중금속 흡착경쟁은 중금속 특유의 성질에 의한 흡착메카니즘에 좌우된다. 한편 중금속이 흡착된 수피는 산에 의해 재생할 수 있으며 3회정도 재사용이 가능하다.
8. oritol-s로 중금속을 침전시킬 경우 10ppm이하의 중금속 용액에서는 고농도의 중금속 용액에 사용할 경우보다 침전효과가 낮다. 그러므로 고농도의 중금속 용액을 oritol-s로 1차 처리하고 그 여액을 수피로 2차 처리하면 중금속을 완전히 제거할 수 있다.
9. 칼럼에서 모의 실험결과, 수피(57g)에 의한  $\text{Zn}^{2+}$ 흡(30ppm, 15ℓ)흡착량이  $\text{Mn}^{2+}$ (30ppm, 15ℓ)보다 높으며  $\text{Mn}^{2+}$ 과  $\text{Zn}^{2+}$ 은 흡착경쟁을 일으킨다.
10. 현장실험결과(원수 :  $\text{Zn}^{2+}$ , 42.1ppm +  $\text{Mn}^{2+}$ , 53.1ppm),  $\text{Zn}^{2+}$ 은 소나무 수피에 초기부터 10hr.까지 62%(여과액: 16ppm) 흡착되며 그리고 상수리수피에는 5hr.까지 80.9%(8.0ppm), 24hr에는 71.5%(12ppm)가 흡착된다. 그 이후에는 흡착율이 급격히 감소한다.  $\text{Mn}^{2+}$ 은 소나무와 상수리나무수피 공히 24hr.까지 32.2~20.9%(여과액: 36~42ppm)를 전후 하여 흡착된다. 그 이후에는 흡착율이 완만히 감소한다.

### 제 3 절 활성화 수피를 이용한 중금속 흡착제 개발

#### 제 1 항 재료 및 방법

##### 1. 공시 재료

공시 재료로는 강원도 원주시의 Wood Chip 생산 공장에서 폐기물로 처리되는 적송(赤松)을 사용하였으며, 그늘에서 풍건하여 공시 재료로 사용하였다. 공시 중금속은 Cd과 Cu로 선정하였고, CdCl<sub>2</sub>와 CuCl<sub>2</sub>를 사용하여 적당한 농도로 조제 사용하였다.

##### 2. 수피의 전처리

###### - Activation Carbon Granule Formulation

풍건시킨 수피를 2~

4mm의 크기로 분쇄하여 <그림 2-15>에서와 같이 활성화 장치에 넣은 후 산소와의 접촉을 막기 위해 포화 증기 장치로 회화로 내부를 증기로 포화시키면서 600, 700, 800, 900℃의 온도로 30분간 가열하였다. 가열이 끝난 후 포화 증기 장치로 5분간 열을 식힌 다음 활성화 장치에서 제조된 시료를 꺼내어 실험에 사용하였다.

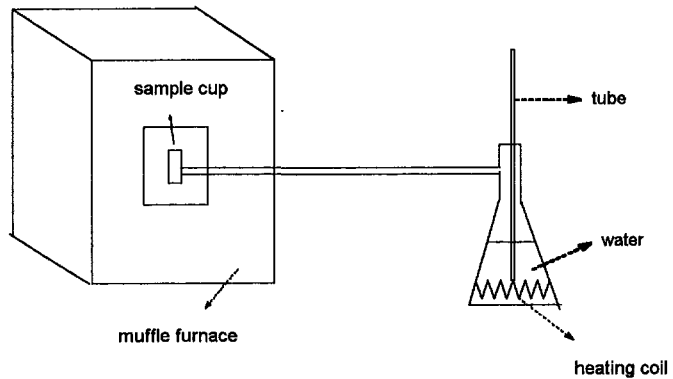


그림 2-15. 수피의 활성화 장치 모식도

#### 제 2 항 실험 방법

##### 1. 수피의 활성화 조건 구명

###### 가. 활성화 온도에 따른 흡착력 비교

활성화 온도가 수피의 중금속 흡착력에 미치는 영향을 알아보기 위해 600, 700, 800, 900℃에서 활성화시킨 수피를 제조하여 생수피와의 중금속 흡착력을 비교하였다. 사용된 중금속 용액은 Cd, Cu 각각 97mgCd/L, 84.5mgCu/L의 농도였으며, 각 온도에서 제조된 활성화 수피 100mg과 중금속 용액 20ml를 25℃, 140rpm의 조건에서 3시간동안 반응시켰다. 반응 후 용액을 0.2μm membrane filter(Ø=47mm)로 여과하였고, 여액 중의 중금속 농도는 원자 흡광 광도계(AAS; Atomic Absorbance Spectrophotometer, PYE UNICAM SP9, SIMADZU

AA6701)를 사용하여 측정하였다. 중금속 용액의 초기 농도와 여액 중의 농도치를 활성화 수피에 흡착된 중금속의 양으로 간주하였으며, 다음의 식을 이용하여 구하였다.

$$q = \frac{V \times (C_i - C_e)}{M} \text{-----(1)}$$

- q : weight of adsorbed metal per unit weight of adsorbent (mg/g)
- V : volume of metal solution (L)
- C<sub>i</sub> : initial concentration of solution (mg/L)
- C<sub>e</sub> : equilibrium concentration of solution (mg/L)
- M : weight of adsorbent (g)

나. 활성화 수피의 입자 크기(Particle Size)가 중금속 흡착에 미치는 영향

활성화 수피의 입자 크기가 중금속 흡착에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수피를 2~4mm, 4~10mm, 10~20mm의 크기로 분쇄한 후 활성화시켜 사용하였다. 각 크기의 활성화 수피 100mg과 100mg/L 수준의 중금속 용액 20ml와 25℃, 140rpm의 조건에서 3시간동안 반응시킨 후 여액 중의 중금속 농도를 측정하였다.

다. 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 선택성

활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 선택성을 알아보기 위하여 Cu, Cd, Zn, Mn, Fe, Pb, Ni, Ca, Mg를 각각 0.1, 0.2, 0.5mM로 혼합 조제하였고, 활성화 수피 100mg과 금속 혼합 용액 20ml를 25℃, 140rpm의 조건에서 3시간동안 반응시킨 후 여액 중의 중금속 농도를 측정하였다.

2. 활성화 수피와 유사 시판 제품의 흡착력과 표면적 비교

활성화 수피의 흡착력을 상대적으로 비교하기 위하여 시판되고 있는 유사 제품인 활성탄 (Junsei Chemical Co. Ltd.)과 참숯 100mg과 100, 300, 500, 1000mg/L 수준의 중금속 용액 20ml를 25℃, 140rpm의 조건에서 3시간동안 반응시킨 후 여액 중의 중금속 농도를 측정하였다.

활성화 수피와 활성탄, 참숯의 흡착력 차이가 표면적(Surface Area)의 차이에서 기인하는 것인지를 알아보기 위해 EGME(Ethylene Glycol Mono-Ethyl Ether) 법으로 각각의 표면적을 측정하여 비교하였다.

\* EGME 법에 의한 표면적 측정 방법

- ① 각 재료의 표면을 Ca(1.0N CaCl<sub>2</sub>)로 포화 치환시킨 후 증류수로 세척한다.
- ② 105℃ 이상에서 수분을 제거한 뒤 일정량의 시료(a)를 Aluminum box에 넣는다.
- ③ Ethylene Glycol (EG)로 시료의 표면을 과포화 흡착시킨 뒤 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>가 들어있는 Desiccator에 넣는다.

- ④ 과량의 EG을 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>로 제거한 뒤 무게를 측정(b)하여 무게 차가 10mg 이하가 될 때까지 EG을 제거한다.
- ⑤ 측정된 무게를 다음 식을 이용하여 표면적을 계산하였다.

$$A = \frac{a}{b \times 0.00031 *}$$

A : surface area (m<sup>2</sup>/g)  
 a : weight of glycol retained by sample (g)  
 b : weight of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-dried sample (g)  
 \* : Dyal-Hendricks value (g EG/m<sup>2</sup>)

### 3. 활성화 수피의 물리 화학적 특성 구명

#### 가. 활성화 수피의 중금속 흡착 등온식

활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 등온식을 유도하기 위하여 중금속 용액의 농도에 따른 흡착량의 변화와 반응 온도에 따른 흡착량의 변화를 알아보았다. Cd과 Cu 용액을 각각 100, 150, 300, 500, 700, 1000mg/L 수준으로 조제하여 15, 25, 35℃, 140rpm의 조건에서 활성화 수피와 1 : 200 (0.1g/20ml)의 비로 반응시켰다. 각각의 평형 농도와 식(1)에서 얻은 q값의 함수 관계를 도시하여 흡착 등온 곡선(adsorption isotherm curve)과 식을 유도하였다. 사용된 흡착 등온식은 Langmuir 식으로 다음과 같다.

$$q = \frac{kCb}{(1 + kC)} \quad \text{----- (2)}$$

q : weight of adsorbed metal per unit weight of adsorbent (mg/g)  
 C : equilibrium concentration of solution (mg/L)  
 k : a constant related to the binding strength  
 b : maximum amount of adsorbate that can be adsorbed (mg/g)

#### 나. 활성화 수피의 중금속 흡착량과 pH의 관계

위의 실험에서 반응시킨 용액의 pH를 측정하여 활성화 수피의 흡착량(q)과의 상관 관계를 알아보았다.

#### 다. 활성화 수피의 중금속 흡착 반응에 대한 Kinetic Model 적용

시간이 경과함에 따른 농도의 변화를 다음 식과 같은 first order kinetic model 식에 적용시켜 rate curve, rate constant를 구하였다.

$$\ln [A]_t = \ln [A]_0 - kt \quad \text{----- (3)}$$

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10}}{k_T} \text{-----} (4)$$

- [A]<sub>0</sub> : molar % of initial metal concentration
- [A]<sub>t</sub> : molar % of remaining metal after time, t
- t : reaction time
- k : rate constant of metal adsorption
- Q<sub>10</sub> : temperature quotient for rate constant
- k<sub>T</sub> : rate constant at T
- k<sub>T+10</sub> : rate constant at T+10

라. 활성화 수피의 흡착 반응 전후의 표면 변화와 분광학적 특성 변화

활성화 수피의 반응 전과 반응 후의 표면 변화를 광학적으로 살펴보기 위하여 Scanning Electron Microscope (SEM)를 사용하여 표면을 촬영하였으며, 활성화 수피의 관능기를 살펴보기 위하여 Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectrophotometer를 사용하였다.

4. 활성화 수피의 중금속 흡착 능력 증대 및 Kit화 (Encapsulation)

가. 수피의 다단계 활성화

수피의 중금속 흡착 능력 증대를 위한 방안으로 활성화 과정을 저온에서의 pre-activation 단계와 고온에서의 활성화 단계로 나누어 활성화시켜, 900℃에서 30분간 활성화시킨 수피와 중금속 흡착 능력을 비교하였다.

나. 황을 이용한 활성화 수피의 작용기 증대

일반적으로 황은 중금속과 강한 chelating 결합을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 사실에 근거하여 황(element powder)을 활성화 수피와 결합시켜 중금속과 반응시켜 보았다. 황과 활성화 수피의 결합은 두 가지 방법으로 실시하였는데, 첫 번째 방법은 수피를 활성화 시키기 전에 수피와 황을 적당량의 증류수에 넣어 혼합한 후 활성화시켰고, 두 번째 방법으로는 활성화시킨 수피에 황을 고온에서 녹여 coating시켜 결합시켰다.

5. 활성화 수피의 실용화 방안에 관한 연구

가. 활성화 수피의 Kit화 (Encapsulation)

활성화 수피를 Reactor에 적용하기에 앞서, 활성화 수피를 보다 간편하게 다룰 수 있게 위하여 적당량(50mg)의 활성화 수피를 (Nylon + Polyurethane) 재질에 넣어 구형의 kit를 제작하였고, 이를 활성화 수피 입자와 중금속 흡착력을 비교하였다.

나. Packed Bed Column Leaching System의 적용

활성화 수피의 실용화 방안의 하나로 직경 10mm, 길이 120mm의 Column에 앞에서 제조한 활성화 수피 capsule 10개 (500mg)를 넣고 중금속 용액을 흘려 보내어 반응시켰으며,

fraction collector를 이용해 매분마다 흘러나온 용액을 채취하여 중금속 농도를 측정하였

다. Column에 들어가는 중금속 용액 속도(flow rate)의 영향을 알아보기 위해 속도를 1, 5, 10ml/L로 조정하여 각각 실험하였다.

다. Air Lift Reactor의 적용

활성화 수피 5g과 300mg/L 수준의 Cd, Cu 중금속 용액 1L를 air-lift reactor에 넣고 각각 15, 25℃에서 5시간 동안 반응시켰고, 반응 용액에서 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 300분마다 용액을 채취하여 0.2 μm membrane filter (Ø=47mm)로 여과하였다. 반응 전의 중금속 용액과 채취한 용액 중의 중금속 농도를 AAS로 측정하여 시간에 따른 농도의 변화를 알아보았다.

같은 양의 비율로 활성화 수피 kit를 이용하여 25℃에서 반응시킨 후 반응이 시작된 후 매 10분마다 시료를 채취하여 중금속 농도의 변화를 측정하였다.

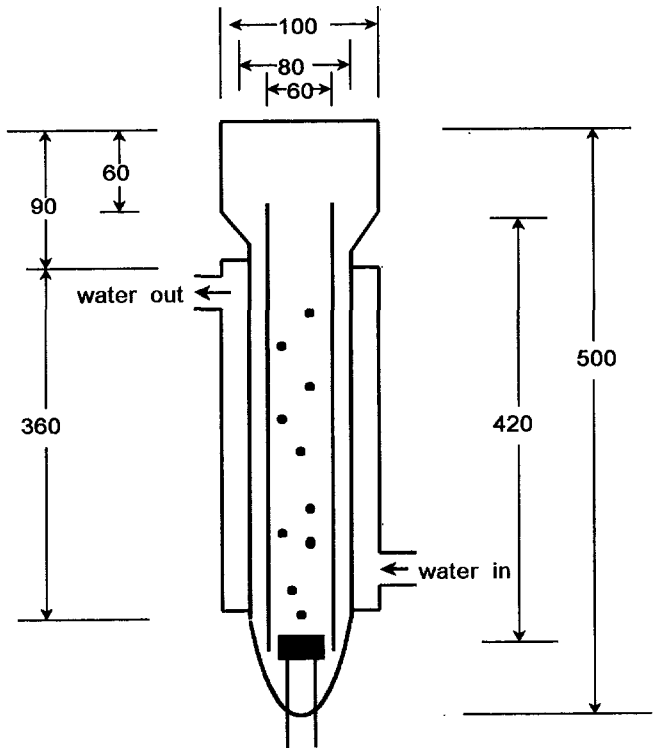


그림 2-16. Air lift reactor의 모식도(unit : mm)

라. 실용화를 위한 Reactor의 제작

앞의 실험에서 얻은 결과를 토대로 하여 변형된 Column System과 Stirred Batch System을 혼합하여 <그림 2-17,1-18>와 같은 연속된 System 장치를 제

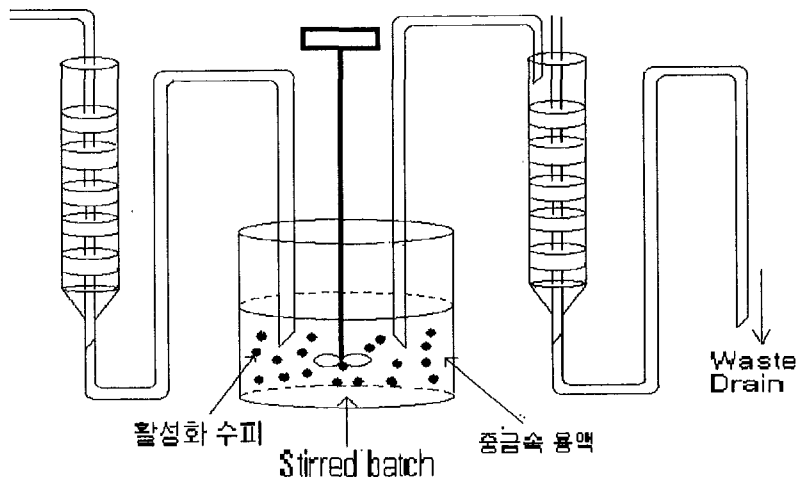


그림 2-17. 실용화를 위한 Reactor의 모식도 1



작하여 상온에서 10ml/min.의 유속으로 중금속 용액과 반응시켰다.

<그림 2-17>의 장치는 Column의 상부로부터 중금속 용액이 낙하하여 활성화 수피가 500mg 씩 들어있는 5개의 원형 kit를 통과해 1차 반응을 한 후 일정 수위(500ml)에 이르면 Stirred Batch System으로 이동하여 2차 반응을 하게 되며 최종적으로 또 다른 Column System에서 3차 반응을 한 후 배수되는 형태이다.

<그림 2-18>의 장치는 <그림 2-17>과 비슷한 형태로 중금속 용액이 Column의 하부에서 유입되어 상부로 배출된다는 차이가 있다. 두 장치 모두 다음 단계로 이동될 때와 배수될 때마다 중금속 농도를 측정하였고, 그 이동 용액의 부피 500ml였다.

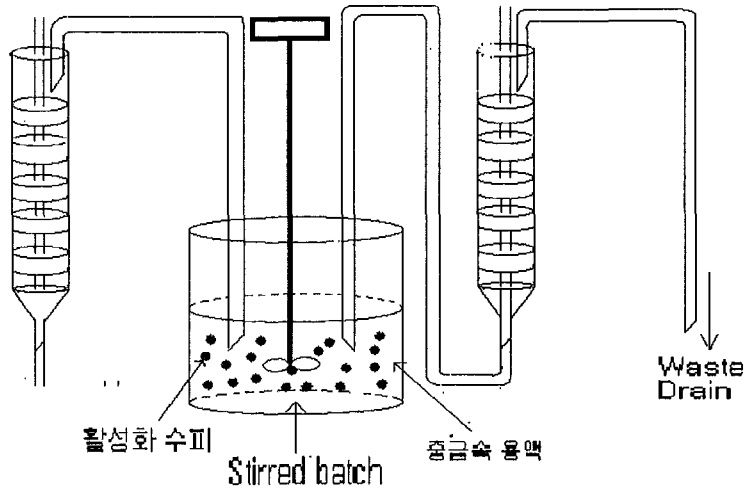


그림 2-18. 실용화를 위한 Reactor의 모식도 2

### 제 3 항 결과 및 고찰

#### 1. 활성화(Activation) 온도에 따른 흡착력 비교

<표 2-1>은 Cd과 Cu 용액 100mg/L에 대한 생수피와 다양한 온도에서 전처리한 활성화 수피의 중금속 흡착 제거 효율(%)을 보여 주고 있다. 생수피와 600~900℃의 처리 온도에 따른 활성화 수피의 중금속 흡착 제거 효율은 큰 차이를 보이고 있는데, Cd과 Cu 모두 처리 온도가 증가함에 따라 흡착 능력도 증가하였다.

Cd의 경우 600℃와 700℃에서 전처리한 활성화 수피는 제거율이 15% 미만으로 제거율이 22.60%인 생수피보다도 흡착 능력이 더 작은 것으로 나타났다. 900℃에서 전처리한 활성화 수피는 제거율이 100%로 생수피나 다른 조건의 활성화 수피보다 월등히 높은 것으로 나타났다.

표 2-1. 생수피와 다양한 온도에서 활성화시킨 수피의 Cd와 Cu 제거율

Temp. treatment (°C)	Removal efficiency (%)	
	Cd	Cu
Crude bark	22.60 (0.44mg) <sup>1</sup>	19.03 (0.32mg)
600	0.95 (0.02mg)	11.17 (0.19mg)
700	14.72 (0.29mg)	11.78 (0.20mg)
800	33.37 (0.65mg)	37.38 (0.63mg)
900	100.00 (1.94mg)	100.00 (1.69mg)

중금속 용액의 초기 농도 : 97 mgCd/L, 84.5 mgCu/L

†: 활성화 수피에 의해 흡착된 중금속의 무게

Cu의 경우도 Cd의 경우와 마찬가지로 600°C와 700°C에서 전처리한 활성화 수피는 생수피보다 흡착능력이 더 작았으며, 900°C에서 전처리한 활성화 수피는 100% 제거하는 것으로 나타났다.

이러한 차이를 보이는 것은 활성화 온도와 관계가 있다고 추측된다. Randall 등(1974)에 의해 밝혀진 바와 같이 생수피는 주로 탄닌화합물에 함유된 유기 리간드에 의해 중금속을 흡착하는데, 이 부분이 열에 의해 변화되어 생수피의 중금속 흡착 site가 감소되고, 활성화에 의해 생성되는 새로운 흡착 site는 활성화 온도에 따라 그 생성율이 변화된다고 판단된다. 따라서 600~700°C의 온도에서 활성화시킨 수피는 불완전하게 활성화되었기 때문에 중금속의 흡착 제거율이 낮았던 것으로 판단할 수 있었다. <표 1-1>의 결과를 통해 수피의 활성화 판정 경계온도가 900°C 부근인 것으로 나타났으며, 1000°C 이상의 온도에서는 수피가 열에 의해 재가 되는 것으로 확인되었다.

이 결과를 기초로 다른 모든 실험에서는 900°C에서 전처리한 활성화 수피를 사용하여 실험을 실시하였다.

## 2. Particle size가 중금속 제거에 미치는 영향

수피의 크기를 각각 2~4mm, 5~10mm, 10~20mm로 자른 후 활성화시킨 수피를 이용하여 중금속에 대한 제거율을 비교하여 보았다(그림 2-19). 그 결과 5~10mm의 활성화 수피가 가장 높은 제거율을 보였고, 10~20mm의 활성화 수피가 가장 낮은 제거율을 보였다. 2~4mm의 크기로 활성화시킨 후 미세한 입자를 제거시킨 후 중금속과 반응 시켰을 경우 제거율이 약 50% 감소되는 것으로 나타났다. 이는 부피에 비해 표면적이 큰 미립자들의 손실로 중금속을 제거할 수 있는 작용기의 양적 감소에 기인하는 것으로 추측된다. 활성화 수피 입자의 크기에 따른 영향은 Cu보다 Cd이 더 크게 받는 것으로 나타났다.

## 3. 활성화 수피의 중금속 흡착 선택성

활성화 수피의 금속에 대한 선택성을 알아보기 위해 Cu, Cd, Zn, Mn, Fe, Pb, Ni,

Ca, Mg를 각각 0.1, 0.2, 0.5mM로 혼합 조제하여 활성화 수피와 반응시켰다. 활성화 수피의 중금속에 대한 선택성은  $Cu \gg Zn > Ni > Cd > Pb > Fe > Mn$ 의 순으로 나타났으며, 특히 Ca와 Mg의 영양염류 금속은 거의 제거되지 않는 것으로 나타났다. Cu와 Zn의 경우는 50%이상 제거되는 것으로 나타났으나 나머지는 50%미만의 낮은 제거율을 나타내었다. 특히 Mg과 Ca은 거의 흡착되지 않는 것으로 나타났다.

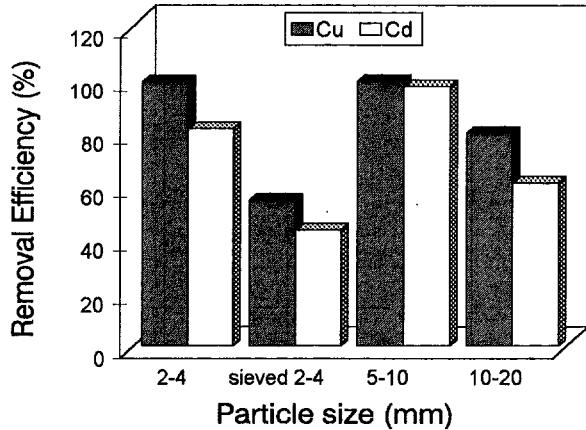


그림 2-19. 활성화 수피의 입자 크기에 따른 제거율의 비교

#### 4. 활성화 수피와 시판 유사 제품의 비교

##### 가. 흡착력의 비교

시중에서 판매되는 활성탄과 참숯의 Cd, Cu에 대한 흡착력을 활성화 수피와 비교한 결과는 <표 2-2>와 같다. 활성화 수피의 경우는 Cd과 Cu 모두에 대해 농도에 따라 약간의 차이는 있지만 활성탄이나 참숯보다 3~10배정도 더 큰 흡착 능력을 갖고 있는 것으로 나타났으며, 그 다음으로는 활성탄과 참숯의 순인 것으로 나타났다. <표 1-2>에서 초기 농도가 증가함에 따라 활성화 수피나 활성탄, 참숯 모두에서 중금속의 흡착 제거율(%)이 감소하는 것으로 나타났는데, 이 제거율은 상대적인 값으로 절대치인 실제 제거량은 증가하고 있다. 제거율이 감소하는 이유로는 반응 용액 중에 있는 중금속의 양이 활성화 수피의 중금속 흡착 제거 능력보다 더 많기 때문이라고 할 수 있다.

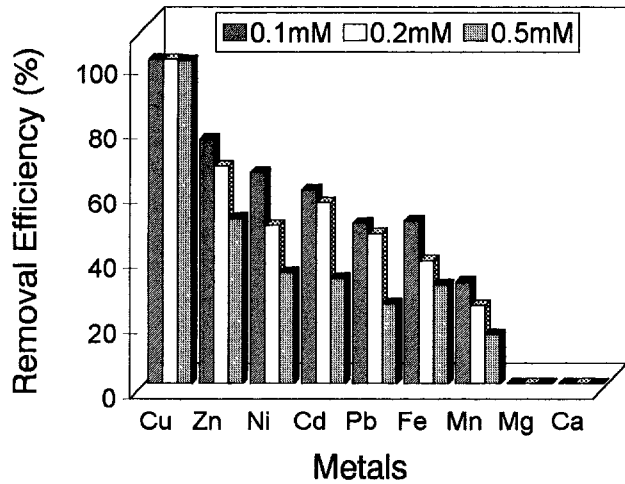


그림 2-20. 다양한 금속이온에 대한 활성화 수피의 선택성

표 2-2. 다양한 농도에서의 활성화 수피, 활성탄, 참숯의 Cd와 Cu에 대한 제거효율 비교

Init. conc. of soln. (mg/L)	Removal efficiency (%)					
	Cd			Cu		
	AB	AC	CC	AB	AC	CC
100	100.00(2.10) †	33.39(0.70)	9.73(0.21)	100.00(2.22)	36.74(0.82)	25.97(0.58)
300	84.99(5.92)	18.18(1.27)	15.83(1.10)	86.60(4.15)	19.33(1.25)	15.92(1.03)
500	49.71(5.35)	8.73(0.94)	6.45(1.16)	67.17(6.96)	25.57(2.84)	19.00(2.11)
1000	23.26(4.83)	6.38(1.32)	4.88(1.01)	39.72(8.96)	24.00(5.41)	19.20(4.33)

AB : 활성화 수피, AC : 활성탄, CC : 참숯

† : 여러 가지 흡착제에 의해 제거된 중금속의 무게 (mg)

#### 나. 표면적의 비교

활성화 수피와 그 성질이 비슷한 활성탄이나 참숯의 중금속 흡착 효율을 비교하여 보았고, 흡착 제거율과 표면적과의 관계를 알아보았다. 표면적의 측정은 EGME(Ethylene Glycol Mono-Ethyl Ether) 방법을 이용하였다. 각각의 표면적은 활성화 수피가 800~900m<sup>2</sup>/g, 활성탄이 900~1050m<sup>2</sup>/g, 참숯이 300~400m<sup>2</sup>/g 정도로 활성탄이 가장 큰 것으로 나타났으나, 제거효율은 활성화 수피가 가장 큰 것으로 나타났다. 그러나 본 실험 방법에서 흡착제의 입자에 흡착된 Ethylene Glycol이 mono layer로 흡착한다는 전제조건이라는 것을 감안할 때 활성화 수피와 활성탄의 표면적은 오차범위 내의 값으로 인정될 수 있는 값이다. 흡착제의 흡착능력에 가장 큰 영향을 미치는 요소는 표면적이라고 말할 수 있으나, 그 외에도 흡착제(adsorbent)의 흡착물질(adsorbate)에 대한 상대적인 결합 세기(relative binding strength)도 흡착능력에 영향을 미칠수 있다는 사실을 근거로 할 때 활성화 수피가 활성탄보다 더 강한 세기의 힘으로 중금속과 결합되어 있는 것으로 추측할 수 있다.

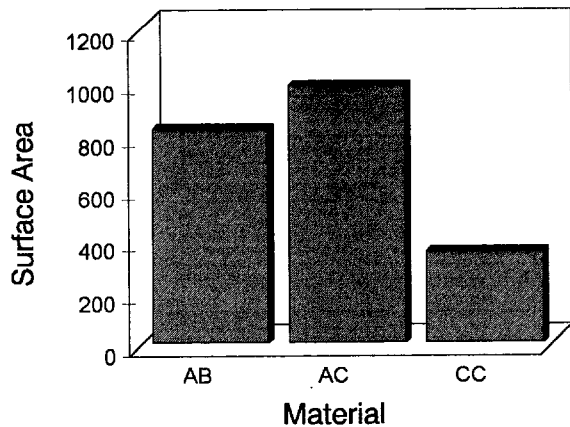


그림 2-21. 활성화 수피(AB), 활성탄(AC), 참숯(CC)의 표면적 비교

## 5. 중금속 농도에 따른 흡착 제거 효율의 변화

### 가. 카드뮴

반응 온도에 따른 Cd의 흡착 제거율은 25°C에서 가장 높았고, 그 다음은 15°C, 35°C인 것으로 나타났다. 농도에 따른 Cd의 흡착 제거율은 150mg/L까지는 반응 온도에 관계 없이 거의 100% 제거하는 것으로 나타났고, 농도가 증가함에 따라 흡착 제거율은 감소하는 것으로 나타났다. 이는 용액 중의 Cd이 활성화 수피의 흡착 능력을 초과할 정도로 존재하기 때문으로 판단된다.

표 2-3. 다양한 농도와 반응 온도에서의 활성화 수피의 Cd에 대한 제거효율

Conc. of soln. (mg/L)	Removal efficiency (%)		
	15°C	25°C	35°C
100	100.00 (2.26mg) <sup>T</sup>	100.00 (2.15mg)	100.00 (2.10mg)
150	100.00 (3.25mg)	100.00 (3.19mg)	99.77 (3.45mg)
300	53.88 (4.11mg)	68.24 (4.16mg)	84.99 (5.94mg)
500	39.78 (4.56mg)	60.23 (5.45mg)	49.71 (5.35mg)
700	31.77 (4.80mg)	51.86 (6.47mg)	38.73 (6.23mg)
1000	26.17 (5.67mg)	41.27 (7.63mg)	23.26 (4.83mg)

T: 활성화 수피에 의해 제거된 Cd의 무게(mg)

### 나. 구리

Cu 역시 Cd과 비슷한 형태로 25°C와 35°C의 반응 온도에서는 비슷한 흡착력을 보여 주었고 15°C에서 가장 낮은 흡착력을 보여 주었으며, 반응온도에 관계없이 150mg/L이하의 농도에서는 100% 흡착되었다. 전체적으로 Cd 보다 Cu가 더 많이 흡착되는 것으로 나타났다(표 2-4).

Cd과 Cu의 농도가 150mg/L이하일 때 3시간 반응시킨 후의 평형 농도는 0mg/L로 나타났다. 이것은 중금속의 친화성이 활성화 수피와 용액 중에서 활성화 수피에 대해 매우 크다는 것을 의미한다. 이렇게 흡착물질(adsorbate)은 흡착제(adsorbent)와 용매 사이에서 평형을 이뤄 일정한 비로 분배된다. 이 때의 비를 분배 계수(K; partitioning coefficient)라 하고 분배 계수가 클수록 좋은 흡착제라고 할 수 있다. 또한 분배계수는 중금속에 대한 선택성이 나 결합 세기(binding strength)와 직접적인 관계가 있다.

위 실험의 결과를 통해 활성화 수피는 150mg/L이하의 Cd와 Cu 용액에 대하여 3시간동안의 반응만으로도 모두 흡착된다는 것을 의미하며, 이는 이론적으로 1g의 활성화 수피로 10mg/L

이하의 폐수 약 3L 정도를 흡착할 수 있는 용량에 해당된다.

표 2-4. 다양한 농도와 반응 온도에서의 활성화 수피의 Cu에 대한 제거효율

Conc. of soln. (mg/L)	Removal efficiency (%)		
	15°C	25°C	35°C
100	100.00 (2.22mg) <sup>T</sup>	100.00 (2.11mg)	100.00 (2.22mg)
150	100.00 (3.02mg)	100.00 (2.89mg)	100.00 (3.02mg)
300	79.98 (5.11mg)	95.50 (5.78mg)	86.60 (5.61mg)
500	56.21 (6.23mg)	71.86 (7.41mg)	67.17 (8.18mg)
700	44.36 (6.97mg)	50.97 (7.04mg)	52.10 (8.18mg)
1000	32.54 (7.34mg)	42.82 (8.50mg)	39.72 (8.96mg)

T: 활성화 수피에 의해 제거된 Cu의 무게(mg)

### 6. 흡착 등은 곡선 (Adsorption Isotherm)

Cd과 Cu의 흡착 등은 곡선의 형태는 <그림 2-22>과 같이 Langmuir type을 따르는 것으로 나타났다. 이는 활성화 수피의 흡착 site의 한계성 때문에 일정 농도까지는 중금속 농도가 증가함에 따라 흡착되는 양도 함께 증가되지만, 최대 흡착량에 가까워질수록 흡착량의 증가율도 작아져 최대 흡착량에 해당하는 농도 이후에서는 중금속 농도가 증가하여도 흡착량은 더 이상 증가되지 않는 것으로 판단된다. <표 2-5>는 <그림 2-22>의 곡선을 Langmuir 방정식에 적용시켜 1차식으로 변형한 회귀 방정식을 보여 주고 있다. 아래 식에서  $q_{max}$ 는 이론적 최대흡착량을 나타낸 것으로 Cd은 25°C에서 52.6mg/g이었고, Cu는 35°C에서 79.9mg/g인 것으로 나타났다. 이론적인  $q_{max}$ 값은 Cd보다 Cu가 더 높았으며, 이는 단일 중금속의 용존 용액 조건에서는 Cd보다 Cu를 더 많이 흡착 제거한다는 것을 의미한다.

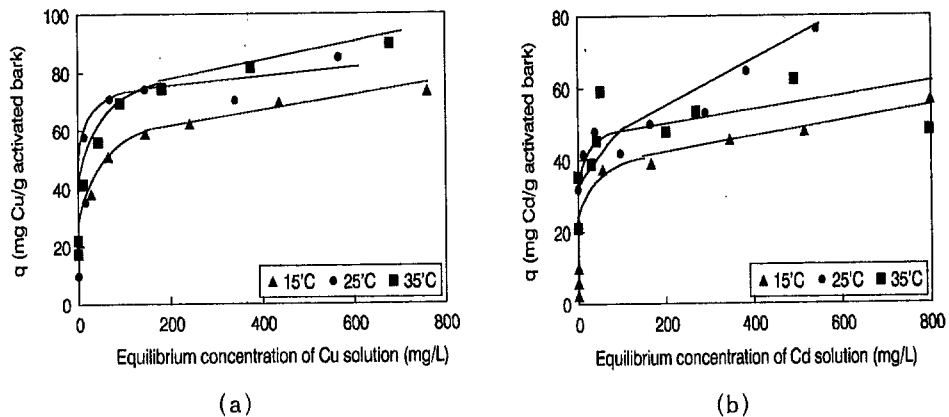


그림 2-22. 다양한 반응 온도에서의 활성화 수피의 Cd(a)와 Cu(b) 흡착 등은 곡선

Cd는 흡착되는 양은 Cu보다 적지만 활성화 수피와의 결합세기(k)는 Cu보다 강한 것으로

나타났다. 이는 탈착과 관계하여 Cd보다 Cu가 pH의 영향을 더 많이 받는다는 것을 의미한다. 즉, 활성화 수피와 결합한 Cd은 Cu보다 더 강하게 흡착되어 있어서 더 강한 산이나 더 낮은 pH의 용액에 의해서 탈착된다는 것이다.

표1-5. 다양한 반응 온도에서의 중금속 흡착 반응에 대한 Langmuir 흡착 등온식

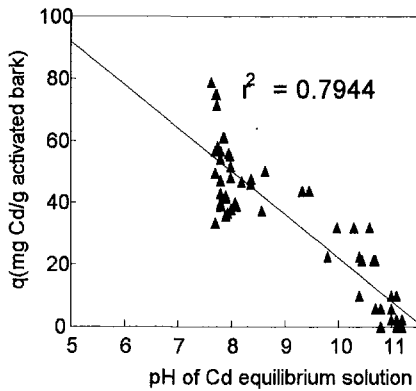
Metal	Temp.(°C)	Regression equation	Q <sub>max</sub>	k	r
Cd	15	$Y = 0.37 X + 2.01 \times 10^{-2}$	49.7	134	0.7665**
	25	$Y = 0.01 X + 1.90 \times 10^{-2}$	52.6	5260	0.2852 <sup>N.S</sup>
	35	$Y = 0.06 X + 1.96 \times 10^{-2}$	51.1	852	0.2114 <sup>N.S</sup>
Cu	15	$Y = 0.20 X + 1.46 \times 10^{-2}$	68.4	342	0.6075*
	25	$Y = 0.05 X + 1.32 \times 10^{-2}$	75.9	1518	0.7585**
	35	$Y = 0.16 X + 1.25 \times 10^{-2}$	79.9	499	0.8351**

Y : 1/q, X : 1/C

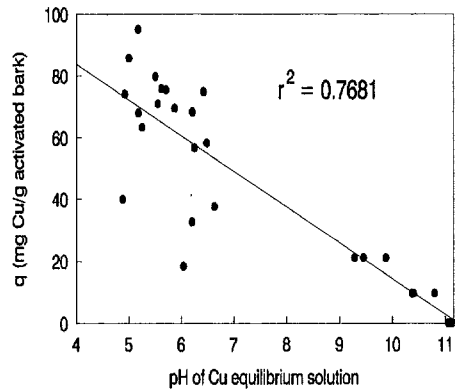
\* : significant at P<0.05, \*\* : significant at P<0.01, N.S : not significant

### 7. 활성화 수피의 중금속 흡착량과 평형 용액의 pH 관계

Cd의 경우 활성화 수피와 증류수를 반응시킨 후의 평형 pH는 11.06~11.20 사이였으나, Cd의 흡착량이 증가함에 따라 pH는 감소하여 최고 7.63까지 감소했다(그림 2-17; (a)). 이러한 pH의 변화를 통해 활성화 수피의 표면에 중금속이 흡착됨에 따라 수소가 중금속과 치환되었다는 것을 추측할 수 있었다.



(a)



(b)

그림 2-23. 활성화 수피에 의한 Cd(a)와 Cu(b)의 흡착량(q)과 평형 용액 pH와의 관계

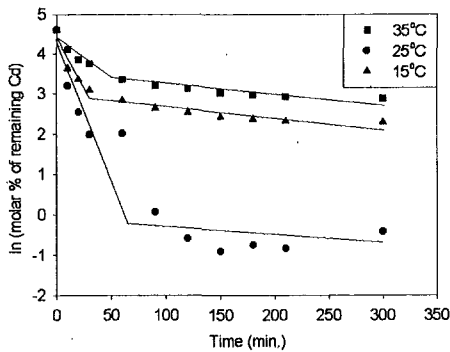
Cu의 경우 역시 Cd의 경우와 마찬가지로 흡착량(q)이 증가함에 따라 pH가 감소하는 경향

을 보였으며, Cd보다 Cu의 평형 pH가 약 2정도 더 낮은 것으로 나타났다(그림 2-17, (b)). 이는 Cd보다 Cu를 더 많이 흡착했기 때문으로 추측된다.

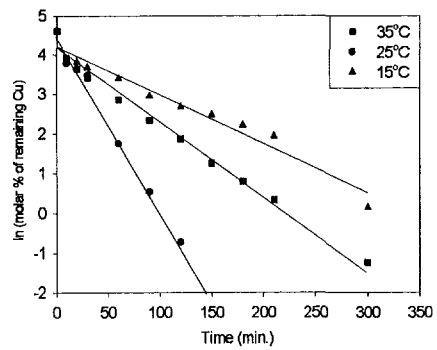
### 8. 활성화 수피의 중금속 흡착 반응에 대한 Kinetic Model 적용

#### 가. Kinetic model 식

Cd과 Cu 모두 반응을 시작한 후 60분 내에 전체 흡착량의 약 90%(전체 용존 중금속 양의 70%) 이상을 흡착하는 것으로 나타났으며, 60분 이후에는 의사 평형에 도달하여 농도의 변화가 매우 작은 것으로 나타났다.



(a)



(b)

그림 2-24. 활성화 수피에 의한 Cd(a)와 Cu(b)의 흡착 반응에 대한 kinetic curve

#### 나. Rate curves

본 실험에서는 first order kinetic model 식(3)을 적용시켰으며, <그림 2-24>은 rate curve를 보여 주고 있다. 이 그림에서 직선의 기울기는 속도 상수(k; rate constant)를 나타내고 있다.

Cd의 rate curve 형태는 초기 60분까지 상대적으로 큰 반응 속도 상수를 갖는 단계와 그 이후에는 작은 반응 속도 상수를 갖는 2단계의 multiple 1st order의 형태로 나타났으며, 그 반응 속도 상수의 변화는 30~60분 사이로 구분이 명확하였다(그림 2-24, (a)). 이렇게 multiple 1st order의 형태를 나타내는 이유는 초기 반응에서 중금속 흡착 부위와 비경쟁적으로 반응을 하지만, 어느 정도 표면의 흡착 부위가 감소함에 따라 그 반응이 경쟁적으로 변화하기 때문이라고 할 수 있다.

그러나 Cu의 rate curve는 일정한 속도 상수를 갖는 single 1st order의 형태로 Cd과는 달랐다(그림 2-24; (b)). 이런 single 1st order의 형태는 금속에 의해 표면의 흡착 부위가 포화되더라도 내부의 흡착 부위와 반응을 함에 있어 비경쟁적이기 때문에 흡착 부위가 완전히 포화될 때까지 일정한 속도 상수를 갖고 계속적으로 반응을 하게 된다.



다. Rate curve에 대한 방정식

Cd과 Cu의 rate curve를 앞의 식(3)를 이용하여 1차 함수로 나타냈을 때의 관계식은 <표 2-6>과 같았고, 이 식에서 기울기는 속도 상수를 나타내고 있다. 속도 상수는 Cd의 경우 각각의 반응 온도에서 두 개의 속도 상수를 나타내고 있는데 두 가지 모두  $25^{\circ}\text{C} \gg 15^{\circ}\text{C} > 35^{\circ}\text{C}$ 의 순이었고, Cu의 경우  $25^{\circ}\text{C} > 15^{\circ}\text{C} > 35^{\circ}\text{C}$ 의 순이었다. 중금속의 흡착 속도는 Cu보다 Cd이 더 큰 것으로 나타났다(표 1-6).

표 2-6. 다양한 반응 온도에서의 Cd와 Cu에 대한 kinetic model 식

Metal	Temp.( $^{\circ}\text{C}$ )	step	Regression equation	$r^2$
Cd	15	I	$Y = -0.04830 X + 4.3976$	0.8904*
		II	$Y = -0.002151X + 2.8350$	0.8116**
	25	I	$Y = -0.08552 X + 4.3622$	0.9485**
		II	$Y = -0.007400X + 0.9649$	0.3370 <sup>N.S</sup>
	35	I	$Y = -0.01901 X + 4.3967$	0.8951*
		II	$Y = -0.001538X + 3.2963$	0.8892*
Cu	15		$Y = -0.01246 X + 4.2153$	0.9629***
	25		$Y = -0.04387 X + 4.5068$	0.9918***
	35		$Y = -0.01825 X + 4.1012$	0.9882***

Y :  $\ln(\text{molar \% of remaining metal})$

X : time (min.)

\* : significant at  $P < 0.05$ , \*\* : significant at  $P < 0.01$ ,

\*\*\* : significant at  $P < 0.001$

N.S : not significant

Cd의 경우 반응 60분 이후의 속도 상수는 60분 이전의 속도에 비해 매우 작은 것으로 나타났지만, <그림 2-24>에서와 같이 반응 60분 이내에 전체 흡착량의 약 90% 이상을 흡착하는 것으로 나타나 전체의 흡착 속도에는 크게 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다.

$Q_{10-I}(k_{25}/k_{15})$  값은 Cd의 경우 1.77, Cu의 경우 3.52로 반응 온도가  $15^{\circ}\text{C}$ 에서  $25^{\circ}\text{C}$ 로 증가함에 따라 Cd와 Cu 모두의 속도 상수도 증가하는 것으로 나타났지만, 반대로  $Q_{10-II}(k_{35}/k_{25})$  값은 Cd의 경우 0.22, Cu의 경우 0.42로 반응 온도가  $25^{\circ}\text{C}$ 에서  $35^{\circ}\text{C}$ 로 증가하여도 Cd과 Cu 모두의 속도 상수는 감소하였다. 반응 온도가 변화함에 따라 반응 속도 상수의 변화폭은 Cu가 Cd보다 큰 것으로 나타났으며, 따라서 Cu가 Cd보다 반응 온도에 더 많은 영향을 받는다고 판단된다. 모든 반응에서  $Q_{10}$  값이 비교적 매우 낮은 값을 갖기 때문에 활성화 수피에 의한 중금속 흡착은 확산이나 표면 흡착 등과 같은 화학 반응에 불과하고, 이에 관한 활성화 에너지는 낮은 것으로 판단된다. 그리고, Cd과 Cu 모두에서  $Q_{10-II}$  값이 1보다 작은 값을 나타냈는데, 이 결과로  $25^{\circ}\text{C}$ 이상의 온도에서는 활성화 수피의 중금속 흡착 반응이 저해를

받는 것으로 판단할 수 있었다.

### 9. 활성화 수피의 표면 변화와 분광학적 특성

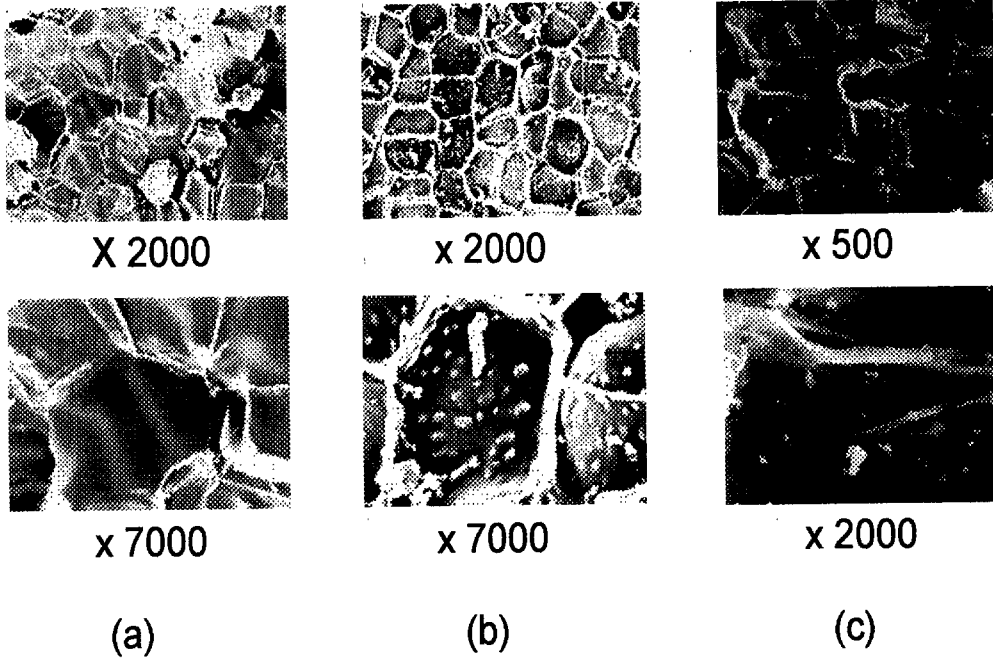


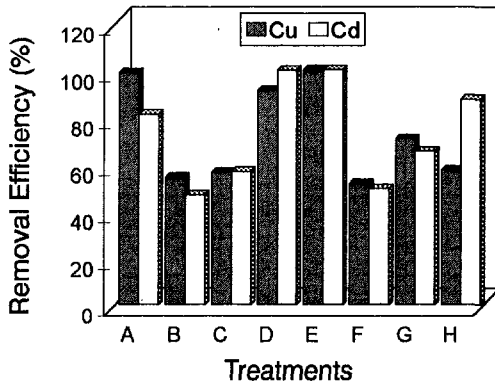
사진 2-1. SEM을 이용하여 촬영한 활성화 수피의 흡착 반응 전(a)과 Cd (b), Cu (c) 흡착 후의 표면 변화 사진

<그림 2-161>에서 a는 활성화 수피를, b는 1000mg/L Cd를 흡착시킨 활성화 수피를, c는 1000mg/L Cu를 흡착시킨 활성화 수피를 SEM을 이용하여 각각 500, 2000, 7000 배로 확대 촬영한 그림이다. a와 b, c를 비교하여 보면, b와 c는 결정 표면이 깨끗한 a와 달리 중금속 염으로 추정되는 부분이 결정 모양의 경계선과 내부에 나타났다.

중금속과의 반응 전 활성화 수피와 반응 후의 활성화 수피의 관능기 변화를 알아보기 위해 FTIR을 이용하여 조사하였다. 반응 전 활성화 수피는 -OH기(free, dimeric, polymeric, acid 형태;  $3640\sim3400\text{ cm}^{-1}$ ), C-O기(carboxylate ion의 stretching vibrations;  $1315\sim1280\text{ cm}^{-1}$ )와 C-O-C기(saturated ether, aromatic ether 등;  $1200\sim1040\text{ cm}^{-1}$ ), C-H기(aromatics, out of plane;  $690\sim900\text{ cm}^{-1}$ ) 등으로 구성되어 있는 것으로 나타났다. 반응 후의 peak 모양은 분석이 불가능할 정도로 낮은 base line에서 일직선을 나타내고 있는데, 이는 중금속 용액과의 반응 후에 활성화 수피의 표면이 붕괴되거나 표면의 수화로 인한 것으로 추측된다.

### 10. 활성화 수피의 중금속 제거 효율 증대

가. 수피의 다단계 활성화와 Kit 제작



- A: 900°C 30min.
- B: 900°C 30min. 미립자 제거
- C: 400°C 30min. 후 900°C 10min.
- D: 400°C 30min. 후 900°C 20min.
- E: 400°C 30min. 후 900°C 30min.
- F: 500°C 30min. 후 900°C 10min.
- G: 500°C 30min. 후 900°C 20min.
- H: 500°C 30min. 후 900°C 30min.

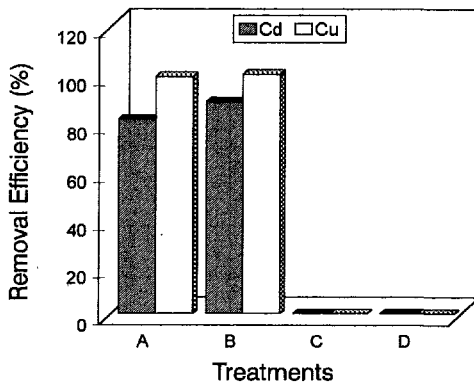
그림1-25. 여러 조건의 전처리(pre-activation)를 한 후 활성화시킨 수피의 중금속 제거율

수피의 중금속 제거 효율을 증대시키기 위한 방안으로 저온(400~500°C)에서 30분간 전처리(pre-activation)한 후 고온(900°C)에서 다시 활성화시키는 방법을 시도하였다. 그리고, 활성화 수피를 현장에서 적용시키기 위한 방안으로 nylon+polyurethane 합성 재질을 이용하여 구형 모양의 kit로 제작하였다.

그 결과 400°C에서 30분간, 900°C에서 30분간 활성화시킨 수피의 중금속 제거율이 가장 높은 것으로 나타났으며, kit화한 수피는 granular 상태의 수피보다 제거효율이 다소 떨어지는 것으로 나타났다.

나. 활성화 수피의 기능성 부여

활성화 수피의 중금속에 대한 제거 효율 증대를 위한 두번째 방법으로 중금속에 대해 선택성이 큰 것으로 알려진 황(element powder)을 활성화 수피와 결합시켜 보았다. 황과 수피의 결합은 증류수에 수피와 황을 넣고 유리막대로 저은 후 활성화시키는 방법과, 수피를 활성화시킨 후 고온에서 녹인 황을 혼합시키는 방법 등 두 가지 방법을 실시하였다.



- A : 수피 900°C
- B : (수피+황) 900°C
- C : 수피 900°C 후 황 Coating
- D : 황 Powder

그림 2-26. 황과 결합시킨 활성화 수피의 중금속 제거율

활성화 수피만으로 반응시킨 것을 대조구로 하여 비교하였을 때, 활성화 수피와 황을 혼합한 후 활성화시킨 것이 가장 큰 제거율을 나타냈으나, 황 powder와 황으로 활성화 수피를 coating시킨 것이 중금속에 대한 제거력이 없는 것으로 보아 황에 의한 효과라고는 판단할 수 없었다. 황에 의한 효과를 증대시키기 위해서는 황을 포함하고 있는 유기성 물질이나 황을 포함하고 있는 무기성 이온이 더 효과적인 것으로 예상된다.

11. Air-lift Reactor의 적용

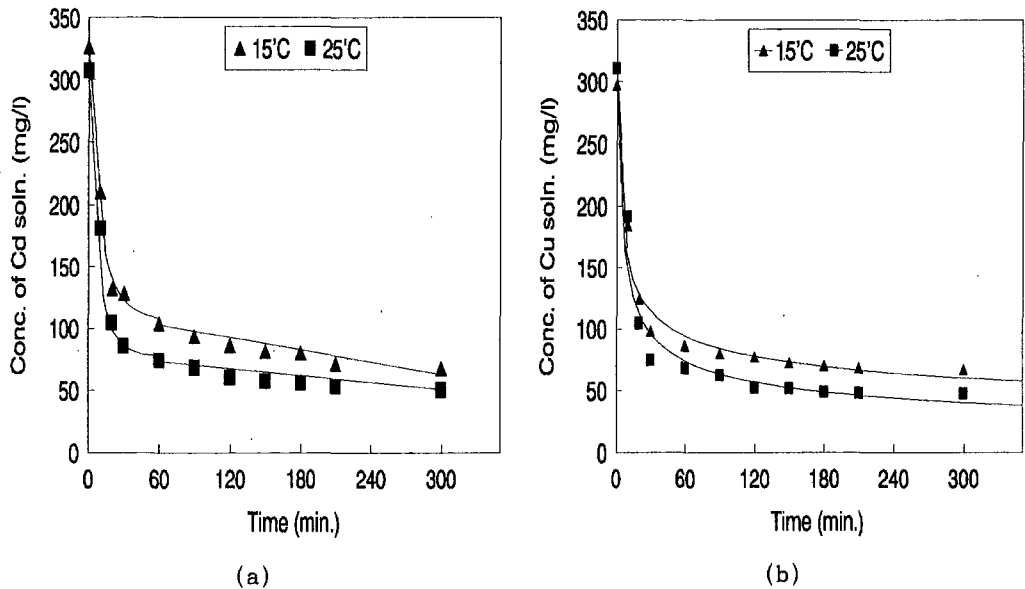
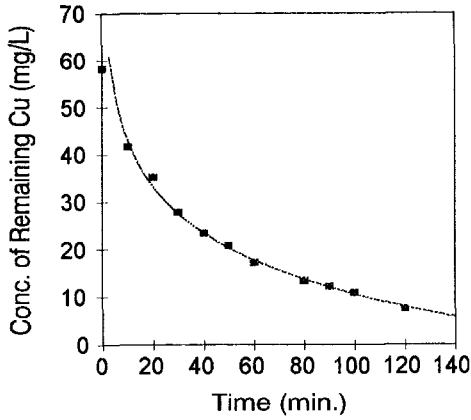


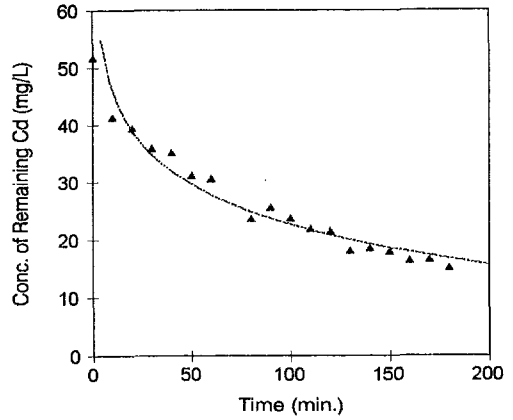
그림 2-27. 15°C와 25°C에서 Air lift reactor를 이용한 활성화 수피와 중금속의 반응 농도 변화

활성화 수피 입자의 경우 Air lift reactor에서의 흡착 반응과 batch 법 모두 비슷한 경향 (그림 2-25)으로 Cd과 Cu 모두의 경우에서 초기 반응 시간 60분 이내에 전체 흡착량의 90% (전체 용존 중금속 양의 70%) 이상이 제거되는 것으로 나타났으나, batch 법보다 다소 흡착량이 낮은 것으로 나타났다. 그 이유로는 활성화 수피의 무게가 작고, 표면이 소수성을 띠게 되어 reactor의 상부에 집적됨에 따라 batch 법과 비교하여 상대적으로 중금속 용액과 활성화 수피와의 접촉 시간이나 접촉 면적이 감소하였기 때문으로 추측된다.

활성화 수피 kit의 경우는 입자에 비해 그 반응 속도가 느린 것으로 나타났다. 이는 kit를 둘러싸고 있는 천에 의해 반응이 방해받기 때문으로 추측된다. 그러나 중금속의 농도가 계속적으로 줄어드는 것으로 보아 반응 시간만이 영향을 받을 뿐 흡착능력에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.



(a)



(b)

그림 2-28. 15°C와 25°C에서 Air lift reactor를 이용한 활성화 수피 kit와 중금속의 반응 농도 변화

### 12. Packed Bed Column Leaching 실험

직경 10mm, 길이 120mm의 column에 0.05g/bag의 활성화 수피 kit 10개를 넣고 각각 10, 5, 1ml/min.의 유속으로 중금속 용액을 흘리면서 매분마다 fraction collector로 용액을 채취하여 분석하였다. 그 결과 유속이 낮아짐에 따라 중금속의 제거량은 증가하는 것으로 나타났으며, 이는 중금속의 제거가 용액과 활성화 수피의 접촉시간과 밀접한 관계가 있음을 나타내고 있다.

### 13. 실용화를 위한 Reactor의 제작

<그림 2-17>의 장치는 중금속 용액이 1차 column을 통과한 후 stirred batch에서 2차 반응을 한 후 최종적으로 3차 column에서 반응하여 배수되는 형태로 그 결과는 <그림 2-30>과 같다. <그림 2-30, a>는 활성화 수피 kit를 이용하여

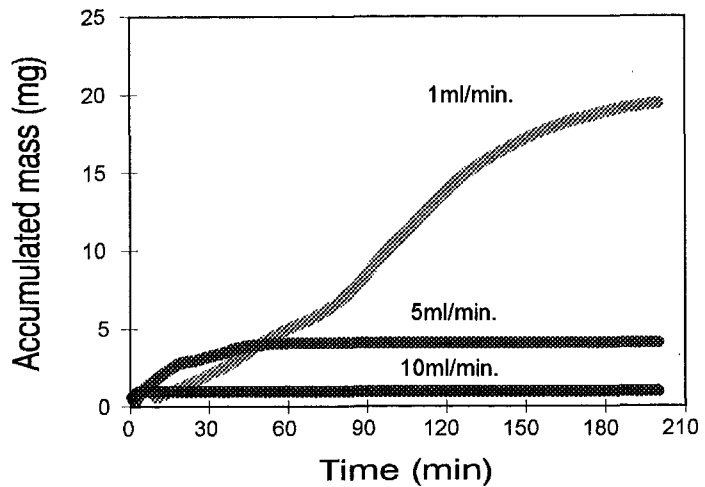


그림 2-29. 활성화 수피 Column leaching 실험에서의 유속에 따른 중금속 흡착량의 변화

반응시킨 것으로 그 효율이 매우 낮은 것으로 나타났으나, 이에 비해 활성화 수피 입자를 이용하였을 때에는 그 효율이 더 큰 것으로 나타났다(그림 2-30, b). 그러나 방류 허용 기준 이하의 농도로 낮출 수 있는 최대 용액의 양이 2L가량으로 batch 실험과 비교하였을 때 그 능력의 다소 떨어지는 경향을 보이고 있다. 이에 활성화 수피의 능력 향상을 위해 <그림 2-18>와 같이 중금속 용액을 밑에서 위쪽으로 흐르게 하는 방법을 택하여 실험을 실시하였다. 그 결과는 <그림 2-31>과 같으며, <그림 2-17>의 장치보다 흡착량이 20% 가량 증가되었으나 2L미만의 용액에서 사용 가능하다는 단점은 여전한 것으로 나타났다.

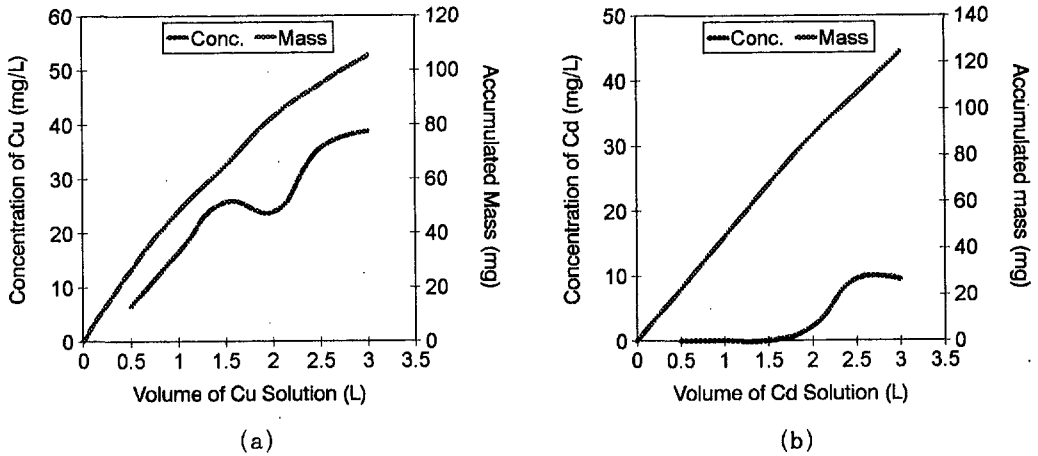


그림1-30. 실용화 Reactor에서의 활성화 수피 kit(a), 입자(b)와 중금속 용액간의 반응

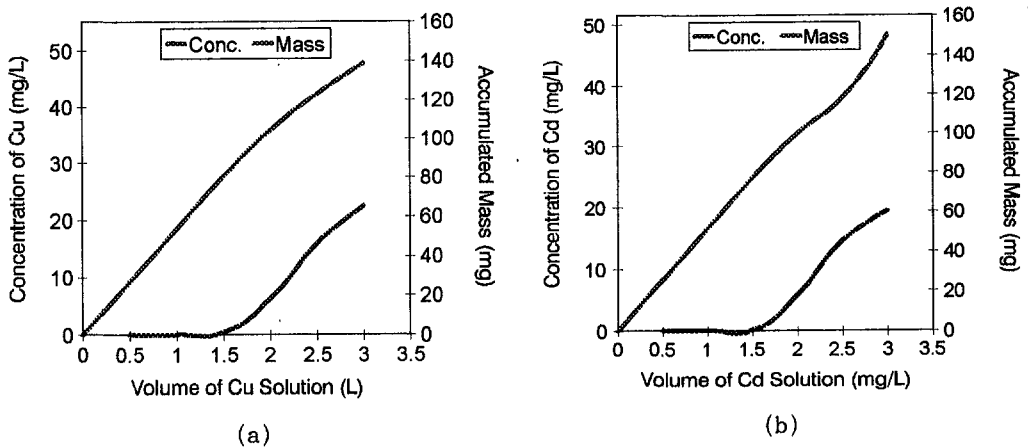


그림 2-31. 실용화 Reactor에서의 활성화 수피 입자와 Cu(a), Cd(b) 용액간의 반응

#### 제 4 항 결 론

본 연구에서는 제작된 활성화 수피의 중금속 흡착 제거제로의 가능성을 알아보기 위하여 흡착능력과 제조 조건의 최적 조건 구명, 흡착의 물리 화학적 특성 구명, 중금속에 대한 흡착 선택성 구명, 유사한 종류의 시판 제품과의 흡착능력 비교 등의 연구를 실시하였고, Batch 실험과 Air Lift Reactor, Packed Bed Column Leaching 등의 실험을 실시하여 활성화 수피의 실용화 System에 대하여 연구하였다.

수피의 최적 활성화 온도를 구명하기 위해 생수피와 600, 700, 800, 900℃에서 활성화시킨 수피의 Cd와 Cu에 대한 흡착력을 시험한 결과 900℃ >> 800℃ > 생수피 > 700℃ > 600℃의 순으로 나타났고, 900℃에서 활성화시킨 수피는 150mg/L 수준의 Cd와 Cu는 거의 100% 제거되는 것으로 나타났다(batch 법). 활성화 수피의 입자 크기에 따른 중금속 흡착력의 비교 시험에서 2~10mm 사이의 활성화 수피는 흡착력이 크게 차이나지 않는 것으로 나타났고, 10~200mm 사이의 활성화 수피는 중금속 흡착력이 30%가량 감소하는 것으로 나타났다. 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 선택성을 구명하기 위해서 Cu, Zn, Ni, Cd, Pb, Fe, Mn, Ca, Mg를 각각 0.1, 0.2, 0.5 mM 수준으로 혼합 조제한 결과 Cu >> Zn > Ni > Cd > Pb > Fe > Mn >> Ca ≈ Mg의 순으로 나타났으며, 특히 Ca, Mg와 같은 영양 염류 금속은 거의 제거하지 않는 것으로 나타났다. 활성화 수피의 중금속 흡착 제거력을 상대적으로 평가하기 위해 시판되고 있는 유사 제품인 활성탄(Junsei Chemical Co. Ltd.)과 참숯을 같은 조건에서 중금속과 반응시켰다. 그 결과 활성화 수피 >> 활성탄 > 참숯의 순으로 나타났으며, 활성화 수피의 흡착력은 활성탄보다 3배 이상인 것으로 나타났다. 그러나 표면적은 활성화 수피가 800~900m<sup>2</sup>/g, 활성탄이 900~1050m<sup>2</sup>/g, 참숯이 300~400m<sup>2</sup>/g인 것으로 나타났다.

활성화 수피의 흡착 등은 곡선 형태는 Langmuir 형태로 최대흡착량은 Cd의 경우 52.6mg/g, Cu의 경우 79.9mg/g인 것으로 나타났으며, 반응 온도는 25℃가 최적인 것으로 나타났다. Cd와 Cu 모두 흡착량이 증가함에 따라 용액의 평형 pH는 감소하는 것으로 나타났고, Cd보다 흡착량이 더 많은 Cu의 평형 pH가 더 낮은 것으로 나타났다. 시간에 따른 중금속의 농도 변화를 측정하여 Kinetic Model에 적용시킨 결과 Cd는 Multiple First Order 형태를 나타냈고, Cu의 경우는 Single First Order의 형태로 나타났다. 이러한 Rate Curve에서 활성화 수피가 흡착 반응을 하는데 있어 Cu가 Cd보다 더 유리하다는 사실을 확인할 수 있었다. 이러한 물리 화학적 특성을 고려할 때 활성화 수피의 중금속 흡착 mechanism은 surface complexation에 의한 것이라고 판단할 수 있었다.

앞에서 확인된 활성화 수피의 중금속에 대한 흡착 제거제로의 가능성을 실용화하기 위한 방안으로 활성화 수피의 Kit화와 Reactor의 적용 시험을 실시하였다. Batch 법을 기준으로 하였을 때, Air Lift Reactor가 가장 좋은 효율을 나타냈으나, 작동을 하기 위한 에너지원이 필요하다는 단점과 연속된 System이 아니라는 단점이 있다. Column Leaching 시험의 경우는 중금속 용액과 활성화 수피의 접촉 시간에 따라 그 제거량이 좌우되었다. 즉 유속이 늦어질수록 흡착량이 증가되었지만, 그 양이 Batch 법과 비교하였을 때 매우 작은 것으로

나타났다. 이러한 단점을 보완하기 위해 변형된 Column과 Stirred Batch에서 연속적으로 반응하는 System(그림 2-28과 2-30)을 만들어 시험하였다. 그 결과 제거력은 향상되었지만, 방류 허용 기준 미만의 농도로 방류할 수 있는 중금속 용액의 양이 2L 미만으로 나타나 활성화 수피로 충전된 Pack을 자주 교환해야 되거나 활성화 수피의 양을 더 늘려야 한다는 단점이 발생하였다.

지금까지의 결과를 통해 활성화 수피의 중금속 흡착 제거제로의 가능성이 충분하다고 판단할 수 있었으며, 활성화 수피의 실용화 System으로 Stirred Batch 형태가 가장 좋은 효율을 나타내었다. 그러나 용액과의 반응성을 증가시킬 수 있는 재질을 사용한 Kit제작과 반응 시간을 최대로 증가시킬 수 있는 연속된 반응 System의 개발이 요구되고 있다.



## 제 3 장 산림부식질을 이용한 난분해성물질 및 중금속 제거 기술 개발

### 제 1 절 서 설

갈색 또는 암갈색의 부식질(Humus or Humic Substances)은 오랜 세월 동안 분해·축합·중합의 과정을 거치면서 우리 주변에 존재하는 자연 환경 어디에서도 만날 수 있는 유기물질의 총집합체이다. 그러나 본 연구에서는 토양미생물과 나무의 부식에 의하여 형성되는 토양 내 유기물층인 “산림부식질”을 중심으로 난분해성물질의 흡착과 분해에 유효한 산림부식질을 탐색하였다.

부식질은 토양의 물리, 화학, 생물적 효과에 의하여 식물생장에 필수적인 영양분, 수분, 필수원소들을 저장하여 공급해 주는 역할을 하고 있을 뿐만 아니라, 토양의 침식으로부터 발생하는 중금속이나 경금속을 chelating하여 금속-유기물 복합체를 형성하여 자정 처리하는 능력을 지니고 있다. 이러한 역할은 부식질이 화학적 구조상 카르복실기 또는 수산기 등의 관능기를 많이 포함하고 있어 양이온 교환능력 (CEC: cation exchange capacity)이 뛰어나고, 미세한 공극이 존재하므로 물리화학적 흡착을 가능케 한다. 또한 자유 라디칼이 많이 존재하므로 중합-탈중합 반응, 산화-환원반응을 야기시켜서 흡착된 제초제 등을 산소나 빛의 촉매 하에 무독화 시킬 수 있다. 그러므로 부식질은 중금속 흡착제, 산화-환원제로서의 능력을 가지고 있으므로, 농업, 산업 그리고 환경분야에서 여러 가지의 용도로 개발되어지고 있는 실정이다.

1960년대 이후 세제, 농약, 절연유, 방부제 등의 급격한 사용 증가로 인하여 대량으로 이용되었던 유기염소화합물은 독성이 알려지면서 안전한 재처리가 현재는 중요한 환경현안으로 대두되고 있다. 그 중에서도 폐놀성 유기염소화합물은 독성이 강하고 발암성이며 미생물에 의한 분해가 어려운 난분해성 물질로 보고되었다. 유기염소화합물의 독성 정도는 방향환에 치환되는 염소의 치환도가 증가할수록 증가하는 것으로 알려져 5개의 염소가 aromatic ring에 치환된 pentachlorophenol (이후 PCP라 명함)은 독성이 아주 강한 것으로 보고되었다. 또한 펄프공장의 표백공정에서 이용된 염소는 분해된 저분자 리그닌과 반응하여 유독한 염소화합물 형태로 다량 발생되고 있는 실정이다. 크라프트펄프의 다단표백과정 중의 세척에 의하여 발생하는 폐수는 대부분 재사용 되지만 염소화단계 후의 알칼리 추출단계에서 발생하는 폐수(E1 effluent)는 진한 암갈색을 띠면서 거품형성 및 다량의 유기염소화합물을 함유하기 때문에 수질오염을 야기시키고 있다. E1에 포함하고 있는 다양한 화합물은 활성슬러지법, lagoon법, biofilm법 등에 의하여 처리를 시도하고 있으나 저분자화로 인하여 처리가 미흡할 때는 방류되어 수중생태계의 어패류에 흡수되어 인간에게 해를 주게 된다.

지금까지 여러 산업에서 다량으로 이용된 후 방출되고 있는 유기염소화합물의 처리에는 일부 화학·물리적 방법, 소각 등의 방법이 이용되었으나, 이는 오히려 근본적인 분해나 제거의 방법이 아니고 자연 생태계에서 난분해되는 특성으로 인하여 과거 및 현재에 이용되어

진 것은 환경에 그대로 축적되어지고 있는 실정이다. 처리후의 폐기물 및 재생에 상당한 비용 및 노력이 필요하며, 실제 이러한 유기물질에 의하여 피해를 입은 지역은 종래의 화학·물리적 방법으로는 넓은 범위의 오염원을 제거할 수도 없고, 막대한 경비가 들어 근래는 환경수복의 방법으로 미생물을 이용한 bioremediation (生物環境修復) 기술이 미국 및 유럽에서 이용되고 있다. 이러한 기술의 근거는 산림이나 토양에 유출된 유해화학물질이 한계농도를 넘지 않으면 토양중의 부식질과 반응하여 그 속에서 흡착 또는 분해되어 점차적으로 독성이 저하되어 자연적 정화를 이루게되는 메카니즘과 같다. 이러한 정화원리를 더욱 효율적으로 응용하기 위해서는 산림토양중의 부식질에 의한 중금속이나 유해물질 제거에 관한 기작을 명확하게 밝혀서 그 원리를 이용하는 것이 수질정화 측면에서 크게 주목되어진다.

현재까지 PCP 등의 유기염소화합물 분해미생물로서는 세균으로 *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*속 등을 이용하여 광범위하게 연구되어 왔으나 실제 적용에 있어서는 효율성에 문제가 제기되고 있다. 근래에는 lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase의 균체외효소 시스템을 가지고 있는 리그닌분해균인 백색부후균에 의한 난분해성 물질 분해에 대한 관심과 기대가 증폭되어 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 지금까지 주로 연구되어온 균주는 리그닌 부후력이 뛰어난 것으로 알려진 *P. chrysosporium*과 *P. sordida* 정도이다. *P. chrysosporium*은 PCP이외에 여러 종류의 trichlorophenol, chlorobiphenyl, dichlorodibenzo-dioxin 등의 유기염소화합물에 대한 분해능이 뛰어난 것으로 보고되었다.

## 제 2 절 산림부식질의 난분해성물질 흡착반응기구 해명

### 제 1 항 유효 산림부식질의 탐색

수질환경의 오염에 직접적으로 영향을 주는 물질은 주로 유기합성화합물로서 대부분은 염소나 브롬 등의 할로겐(halogen)을 포함하는 유기할로겐화합물이 다량 쓰이고 있으며, 이러한 유기할로겐화합물들은 대부분 난분해성화합물로서 사용후 오랜기간 동안 자연계에 분해되지 않은 상태로 남아 존재하므로 인간이나 동물과 접촉할 수 있는 가능성이 많아져 오염물질중 가장 큰 문제를 야기시킨다. 일반적으로 유기염소화합물은 오염된 폐수내에 다량 존재하고 있으며, 독성이나 발암성은 수중 생물체내에 축적되어 인간의 먹이사슬과 연관되어진다. 일반적으로 할로겐화합물은 할로겐화가 많이 될 수록 미생물에 의한 공격에 저항성이 강하며, 이러한 화합물은 미국이나 유럽 등의 선진국에서는 강력하게 사용을 규제하고 있다.

부식질(Humus)은 토양, 강, 바다, 늪지 등 우리주변에 존재하는 자연환경의 어디에서도 만날 수 있는 갈색 또는 암갈색 계통의 유기물질의 총집합체이다. 부식질의 특성은 어디에

존재하느냐에 따라 그들의 화학적 특성이 틀려지므로 명확하게 정의된 바가 없으나, 주로 인근의 산림식생대, 모암, 기후대, 토양미생물의 종류에 따라 특징적인 모습을 가진다. 그러나 본 연구에서는 토양미생물과 나무의 부식에 의하여 형성되는 토양내 유기물층인 “산림부식질”을 중심으로 난분해성물질의 흡착과 분해에 유효한 산림부식질을 탐색하였다.

유효한 산림부식질의 탐색 및 선별은 산림부식질의 수집 장소에 따라 구별되는 화학적 구조에 의하여 판단이 가능하다. 산림부식질의 화학적 구조는 주변 환경요인, 특히 온도, 강수량 등의 기후대 및 주변 임상의 형성에 따른 환경요인에 많이 좌우되므로 본 실험에서는 기후대별로 난대, 온대남부, 온대중부, 온대북부 등 4개 지역에서 임상별로 표 3-1과 같이 산림부식질을 각 5kg씩 수집하였다. 기후대에 관계없이 침엽수림은 주로 해송, 리기다소나무, 소나무 등으로 이뤄졌으며, 활엽수림은 난대에서는 단풍류, 그외 지역은 참나무 계통이 주를 이룬다. 혼효림은 이들이 적당하게 혼합된 형태이다. 토양별로는 난대 지역에서만 적황색 토양을 나타내었으며, 타 지역은 우리나라의 대표적 산림토양인 갈색산림토양을 보였다.

표 3-1. Sample sites, temperature zone, forest type, and soil.

Temp. Zone	Sites	Forest	Soil
Subtropical	Kyung-Nam Nam-Hae	Conifer: <i>Pinus thunbergii</i> Decid.: <i>Quercus serrata</i> , <i>Acer spp.</i> Mixed: <i>P. densiflora</i> , <i>Betula costata</i> , <i>Acer spp.</i> , <i>Q. Accutissima</i>	red and yellow forest soil
Southern Temperate	Chun-Buk Im-Sil	Conifer: <i>P. rigida</i> Decid: <i>Castanea crenata</i> Sieb, <i>Populus x alba glandulosa</i> , <i>Q. aliena</i> Mixed: <i>Robinia pseudoaccacia</i> , <i>Populus x alba glandulosa</i> , <i>Q. aliena</i> , <i>P. rigida</i>	Brown forest soil
Mid. Temperate	Chung-Buk Dan-Yang	Conifer: <i>P. densiflora</i> Decid.: <i>Robinia pseudoaccacia</i> , <i>Q. Accutissima</i> , <i>Q. variabilis</i> Bl. Mixed: <i>Q. Accutissima</i> , <i>Robinia pseudoaccacia</i> <i>Q. aliena</i> , <i>P. densiflora</i>	Brown forest soil
Northern Temperate	Kang-Won Hoeng-Sung	Conifer: <i>P. densiflora</i> Decid.: <i>Q. mongolica</i> Fisch. Mixed: <i>P. densiflora</i> , <i>Larix leptolepis</i> , <i>Q. aliena</i> , <i>Q. mongolica</i> Fisch, <i>Q. dentata</i> Thumb.	Brown forest soil

난분해성물질 흡착 및 분해시험을 위하여 이용되는 유효한 산림부식질은 많은 관능기, 주

로 -OH 및 -COOH 등을 다량 함유한 부식질을 선별한다. 이를 위하여 NMR과 IR에 의한 부식질의 관능기 분석이 요구되고, column에 부식질을 채우고 유기염소화합물을 다량 함유한 표백 폐액을 통과 시킨후에 탈색 및 BOD, COD의 감소되는 양을 측정하여 판별된다.

### 1. 유효산림부식질 추출·정제 및 분석

산림부식질은 토양유기물을 산과 알칼리의 용해도의 차이에 의하여 추출할 수 있으며, 다시 용해도나 화학적 특성에 의하여 휴믹산(Humic Acid: HA), 풀빅산(Fulvic Acid: FA) 및 휴민(Humin)으로 구분되어진다. 휴믹산이나 풀빅산은 원소의 조성에 있어서도 다소 차이가 나고, 관능기의 분포도 다르다. 휴믹산은 탄소와 질소의 함량이 많고, 풀빅산은 산소의 함량이 현저히 많은 것으로 보고되고 있다.

산림부식질의 추출·정제에는 NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCl, HF 등의 시약이 이용되고 있으며, 정제를 위해서는 XAD-2, XAD-8, 여러 종류의 cation exchange or anion exchanger 등의 칼럼이 이용되어진다. 요구되어지는 시료의 정제는 사용하는 약품에 따라 조절이 가능하고, 원재료인 토양의 종류나 채취장소에 따라서도 상이하므로 난분해성물질의 흡착에 중요한 역할을 하는 CECA나 관능기를 많이 포함하는지의 여부는 추출·정제후의 분석에 의하여 판별된다.

수집된 산림부식질을 기기분석을 통하여 각각의 관능기 및 펄프 폐액의 흡착능 및 탈색제 거효과, BOD 및 COD의 감소율을 측정하고, 산림부식질내에서도 어느 물질이 유효한 관능기를 많이 가지고 있는가를 확인하기 위하여 추출 및 정제의 과정을 거쳤다.

#### 가. 산림부식질 추출 및 정제

산림부식질의 추출 및 정제는 IHSS (International Humic Substances Society)에 의하여 추천된 방법을 이용하여 기건된 시료를 24시간 동안 0.1N NaOH로 추출하여, 알칼리에 용해된 부분을 원심분리에 의하여 얻어서 이를 6N HCl로 pH 2까지 산성화시켰다. 24시간 동안 정치시킨후 침전물과 상등액을 원심분리하여 침전물은 휴믹산, 상등액은 풀빅산으로 구분하여 얻었다. 얻어진 휴믹산 1ℓ 정도를 freeze drying하여 1kg의 기건된 산림부식질에 해당하는 수율을 측정하였는 바 아래의 표 3-2와 같다. 풀빅산은 정제를 위하여 XAD-8 수지칼럼과 Amberlite IR-120 수지칼럼을 이용하여 얻었으나 소량이어서 분석만을 위한 시료를 얻는데 그쳤다.

표 3-2. pH of humic substances, and yield of humic acid

Temp. zone	Forest	pH	Yield of humic acid (1kg humic substances)
Subtropical	Coniferous	4.15	41.2
	Deciduous	4.79	42.7
	Mixed	4.79	51.4
Southern Temperate	Coniferous	4.32	21.5
	Deciduous	4.96	26.2
	Mixed	5.10	49.4
Mid. Temperate	Coniferous	5.09	53.5
	Deciduous	7.10	20.3
	Mixed	5.47	36.8
Northern Temperate	Coniferous	4.73	58.0
	Deciduous	4.97	64.1
	Mixed	4.81	55.4

대부분 휴믹산의 수율은 추출 및 정제의 과정에서 많은 양이 손실되고 기건된 부식질에 대하여 2-7% 정도의 소량이 존재한다. 이는 손실된 양 뿐만이 아니라 많은 양의 유기물이 알칼리와 산에 용해되지 않는 부분인 휴민(humin)으로 존재하기 때문인 것으로 추정된다.

온대북부 지역의 산림부식질에서 일반적으로 많은 양의 휴믹산이 추출되었고, 또한 임상별로는 침엽수에서 제일 많이 추출되고 있다. pH를 측정한 결과 온대중부 활엽수로 부터의 산림부식질을 제외한(7.10) 모든 지역 및 임상에서의 부식질은 pH 3.94 - 5.61을 나타내어 상당히 산성화된 부식질의 모습을 보였다. 특히, 온대중부 활엽수림에서 pH가 7.10으로 높은 것은 석회암지대 토양의 분진이 흡착된 시료를 측정된 것으로 추정된다.

#### 나. 휴믹산의 기기분석

일반적인 산림부식질의 구조적 특징은 페놀성 방향족 탄소와 탄수화물성 탄소, 탄화수소 계통의 탄소 그리고 정도의 차이는 있지만 카르복실계통의 탄소가 주종을 이룬다고 보고되었다. 여기에서 특징적인 것은 방향족탄소함율(aromaticity)이 40% 정도여서 나무의 주성분인 리그닌의 분해산물이 큰비중을 차지하는 것으로 여겨진다.

본 시험에 사용된 휴믹산은 추출 및 정제 과정을 거쳐 100mesh 정도로 분쇄하여 사용하였다. FT-IR에 의한 분석에서는 기후대별, 또는 임상별로 모두 유사한 스펙트럼을 보여주었다. 대표적으로 난대 침엽수림, 활엽수림, 혼효림으로 부터의 휴믹산의 스펙트럼은 그림 3-1과 같다. 주요한 peak로서,  $3408.3\text{cm}^{-1}$  근처의 broad한 peak는 simple-H가 결합된 -OH를 나타내는데 이는  $1268.3\text{cm}^{-1}$ 에서의 medium peak와 함께 이를 증명하며,  $2929.4\text{cm}^{-1}$ 와  $1387.1\text{cm}^{-1}$ 은 aliphatic H, 즉 -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>를,  $1711.3\text{cm}^{-1}$ 부근의 예리하면서 강한 peak는 접속된 carboxyl group을  $1646.2\text{cm}^{-1}$ 와  $1453.1\text{cm}^{-1}$ 은 aromatic C=C 또는 conjugated alkene을 나타내었다. FT-IR에 의한 결과를 종합해보면 대부분의 산림부식질은 aromatic ring을 가지면서 -OH와 -COOH group을 함유하고 aliphatic H을 다량 함유한 물질인 것으로 추정되고 있다. 온대중부 활엽수림의 부식질은  $2135.8\text{cm}^{-1}$  peak로 미루어 -C≡C-H의 존재도 추정할 수

있으며, 온대북부 혼효림에서는  $2367.8\text{cm}^{-1}$  peak로써 -NH의 가능성을 보이는데 많은 부식질의 화학구조 연구에서도 질소를 함유한 관능기가 존재한다고 보고되고 있다. 현재의 데이터만으로는 -OH, -COOH 등의 관능기가 어떤 부식질에 많이 함유되어 있는지를 구명하기 어려우며 원소분석 및  $^{13}\text{C-NMR}$  등의 시험으로 정량분석을 한후에 유효산림부식질의 선별이 가능하다.

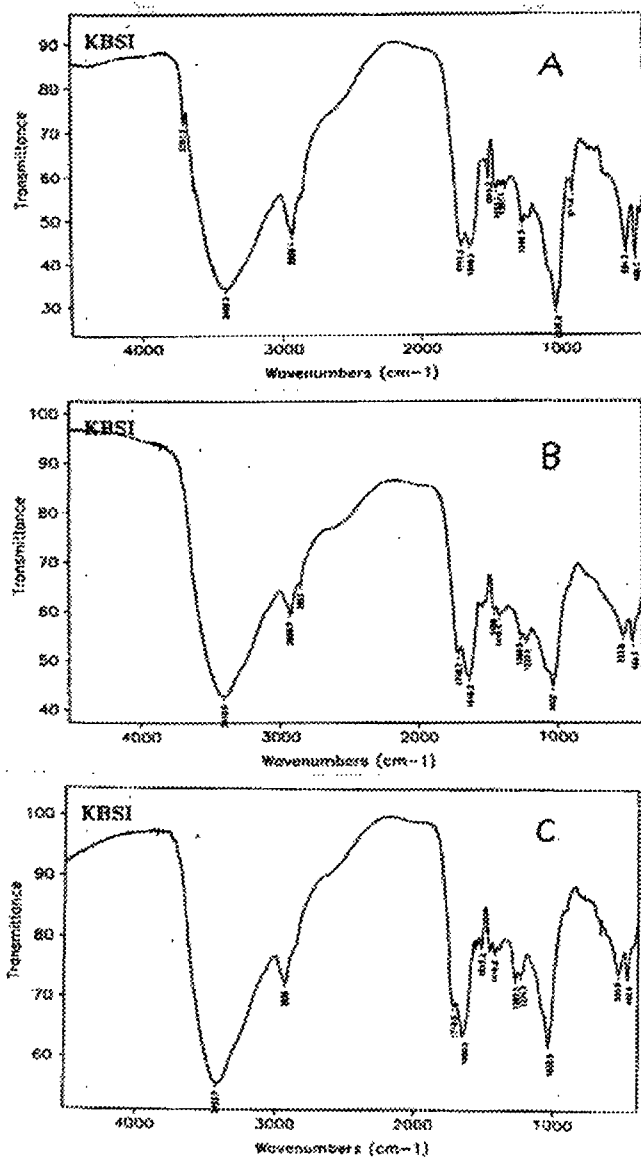


그림 3-1. FT-IR spectra of humic acids extracted from subtropical coniferous(A), deciduous(B) and mixed(C) forests

제 2 항 난분해성물질의 흡착반응기구 시험

부식질(Humus or Humic Substances)은 유기물질이 오랜세월 동안 분해·축합·중합의 과정을 거치면서 잔류하는 유기물의 집합체이다. 이러한 부식질은 토양입자에 흡착되었다가 토양수에 의해 용출되어 나오는 중금속, 산화중금속, 수산화중금속이나 경금속을 Chelating하여 중금속-유기물 복합체를 형성하여 자정처리하는 능력을 가지고 있다. 이러한 역할은 부식질의 화학적 구조상 카르복실(Carboxyl: COOH) 또는 하이드록실(Hydroxyl: OH) 등의 관능기를 많이 포함하고 있어 양이온교환능력(Cation Exchange Capacity)이 뛰어나고, 미세한 공극이 많이 존재하므로 물리·화학적 흡착을 가능케한다. 또한 semiquinone type의 자유 radical이 많이 존재하므로 중합-탈중합반응, 산화-환원반응이 이루어지기 때문에 흡착된 제초제 등을 산소나 빛의 촉매하에 무독화 시킬 수 있다.

크라프트펄프의 다단표백과정 중의 세척에 의하여 발생하는 폐수는 대부분 재사용 되지만 염소화단계 후의 알칼리 추출단계에서 발생하는 폐수(EI effluent)는 진한 암갈색을 띠면서 거품형성 및 다량의 유기염소화합물을 함유하기 때문에 수질오염을 야기시키고 있다. EI에 포함하고 있는 다양한 성분들로서는 회분, 유기성분, tall oil, 환원당, 아세트산, 질소화합물 등이 보고되고 있으며, 본 실험에서는 이러한 폐액을 이용하여 탈색제거효과, BOD와 COD의 감소를 위한 일련의 실험을 아래와 같이 행하였다.

1. 폐액의 탈색제거효과 시험

기건된 산림부식질 10g을 column에 채우고 증류수 200ml를 흘려보내면서 색소를 제거한 후에 폐액 50ml를 천천히 흘려보낸다. 통과된 여액을 0.45µm membrane filter로 여과한 후 UV/Vis spectrometer 465nm에서 absorbance를 측정하여 CU를 구한 후에 color removal을 구했다.

$$CU(\text{color unit}) = 500 \times A_{465} / 0.132$$

$$\text{Color Removal}(\%) = 100 - (\text{sample CU} / \text{폐액원액 CU} \times 100)$$

Table 3-3. pH and color removal efficiency of bleaching waste water treated with various humic substances

Temp. zone	Forest	pH	CU	color removal(%)
Subtropical	Coniferous	3.76	932.39	70
	Deciduous	5.31	1022.35	68
	Mixed	5.80	812.88	74
Southern Temperate	Coniferous	4.78	747.54	76
	Deciduous	6.78	1496.78	52
	Mixed	6.39	1809.85	43
Mid. Temperate	Coniferous	4.51	2044.70	35
	Deciduous	7.50	1703.98	46
	Mixed	5.55	2676.71	15
Northern Temperate	Coniferous	4.65	940.15	70
	Deciduous	5.87	1133.71	64
	Mixed	6.13	1688.26	46

E1 폐액원액의 CU값은 3148.86이었고, pH는 8.48이었다. 이를 기초로 한 탈색제거율(color removal efficiency)을 구했을 때, 난대의 침, 활, 혼효림의 산림부식질에서 68-74% 정도의 양호한 탈색제거 효과를 나타내고 있다. 난대 침엽수 산림부식질은 pH 8.48의 폐액원액을 column통과 후에는 pH 3.76까지 떨어뜨리고, 임상별로는 침엽수가 70% 이상의 우수한 탈색효과를 보였다.

또한 폐액 원액의 pH가 8.22에서 난대의 부식질이 충전된 column을 통과한 후의 폐액은 5.11로 떨어졌고, 온대중부 활엽수를 제외한 대부분의 산림부식질이 처리후의 폐액을 4.33 - 6.59로 낮춰 상당한 pH 완충효과를 갖고 있는 것으로 나타났다.

## 2. 폐액의 BOD, COD 감소 효과 시험

BOD용 희석수(인산염완충용액, 황산마그네슘용액, 염화칼슘용액) 1ℓ에 폐액의 시료 10ml를(1% 희석) 넣어 잘 혼합한 다음, 3개의 BOD병에 공기가 들어가지 않게 넣어 마개를 닫은후 15분간 방치한 후에 용존산소량을 측정하고 두 개의 BOD병은 20℃의 배양기에서 5일간 방치한 후에 용존산소량을 측정하여 아래의 식에 의하여 BOD를 측정했다.

$$BOD(mg/l) = (D_1 - D_2) \times p$$

$$D_1 = 15분 방치후의 용존산소량(mg/l)$$

$$D_2 = 5일후의 용존산소량(mg/l)$$

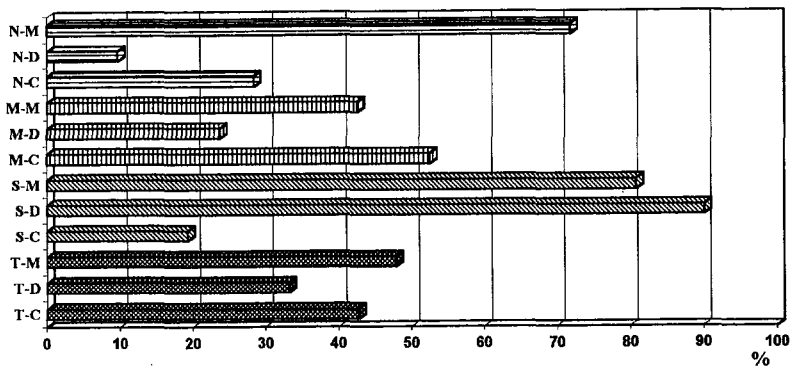


그림 3-2. The effect of BOD removal of E1 effluent treated with various humic substances (T=subtropical, S=southern temperate, M=mid temperate, and N=northern temperate zones; C=coniferous, D=deciduous, and M=mixed forests)

폐액원액의 BOD는 113mg/l 이었고 온대남부 활엽수와 혼효림의 부식질이 80% 이상의 높은 BOD 감소율을 보이거나 그외는 50% 이하의 낮은 감소율 만을 보여주고 있다. 산림부식질에 의하여 처리된 폐액의 BOD는 대략 20-40mg/l 의 범위를 나타낸다.

산림부식질에 의한 COD 감소효과를 알아보기 위하여 시료를 1%로 희석하여 시료 25ml를 20% NaOH 1ml를 넣어 알칼리성으로 한후 0.025N 과망간산칼륨 10ml를 넣어 냉각관을 붙여



60분간 가열한다. 10% 요오드화칼륨 용액 1ml를 넣어 침전물이 가라앉을 때까지 방냉한 다음 10% 황산용액 5ml와 전분용액 2ml를 넣고 0.025N 티오황산나트륨용액으로 무색이 될 때까지 적정한 다음 아래의 식에 의하여 COD를 구한다.

$$\text{COD}(\text{mg}/\ell) = (a - b) \times f \times 1000/V \times 0.2$$

a = blank 실험에 소비된 0.025N 티오황산나트륨(ml)  
 b = 본실험에 소비된 0.025N 티오황산나트륨(ml)  
 f = 0.025N 티오황산나트륨의 역가(factor)  
 V = 시료의 양(ml)

일반적으로 E1의 BOD는 338mg/ℓ, COD는 1049mg/ℓ이며 pH는 8.8 정도를 나타낸다고 보고되고 있으나, 본 실험에 이용된 폐액은 BOD 113mg/ℓ, COD 2564mg/ℓ를 나타내었다. 아래의 그림 3-3에서 보는 바와 같이 산림부식질에 의한 COD감소 효과는 최고로는 온대 북부 침엽수에서 88.6%의 효과를 나타내나 온대중부 혼효림은 38.1%의 저조한 감소효과를 보였다. 난대의 부식질이 다른 지역보다 우수한 제거효과를 보였으며 임상별로는 침·활엽수가 혼효림보다 양호한 COD감소 효과를 보였다. 그러나 산림부식질의 column을 통하여 여과된 폐액의 COD는 여전히 300-1000mg/ℓ 이상을 보여 다른 처리가 요구되며 실험상에서도 폐액의 양에 대한 산림부식질 양의 비에 대한 실험이 요구된다.

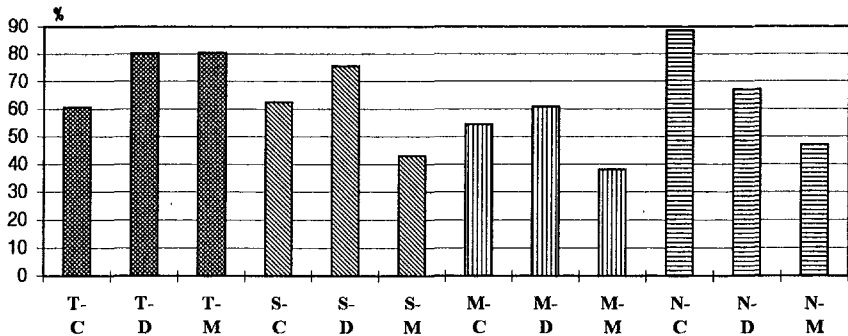


그림 3-3. The effect of COD removal of E1 effluent treated with various humic substances

### 3. 휴믹산의 균사 생장 시험

유기염소화합물 등의 폐수는 현재 이용되고 있는 이온교환수지나 화학적 침전법에 의해서는 처리가 용이하지 않다. 산림이나 토양에 유출된 유해화학물질은 그 농도가 한계농도를 넘지 않으면 토양중의 부식질과 반응하여 그 속에서 흡착 또는 분해된다. 부식질내에 흡착된 화학물질은 점차적으로 독성이 저하되어지므로 자연적 정화를 이루게된다. 이와 같은 반응은 산림부식질내에 존재하는 미생물이나 금속류의 축대화 반응에 의하여 진행되는

것으로 추정되지만 이들에 의한 명확한 정화메카니즘은 밝혀지지 않고 있다. 이러한 정화원리를 더욱 효율적으로 응용하기 위해서는 산림토양중의 부식질에 의한 중금속이나 유해물질 제거에 관한 기작을 명확하게 밝혀서 그 원리를 이용하는 것이 수질정화 측면에서 크게 주목되어진다.

본 연구에서는 몇가지 균주를 아래와 같이 선정하여 육안적인 균사의 생육상태를 조사하여 휴믹산에 대한 균주들의 분해 여부를 추정하였다.

표 3-4. Selected fungi for the degradation of humic acids

Name	FRI No.	Label
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯)	20251	COV
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	20432	GAL2
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지버섯)	20435	GAL5
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (판막버섯)	20813	PHC
<i>Pleurotus ostreatus</i> (느타리버섯)	20862	PLO

Agar 배지 1 l 당 휴믹산의 양을 0.01g, 0.05g, 0.1g, 0.2g, 0.5g씩 넣고 1N NaOH를 넣으면서 pH를 5.5로 조정하여 배지를 제조한 후 선발된 균주를 접종하여 5일, 10일 후 두번 균사의 성장량을 측정했다.

표 3-5. Fungal growth after 5- and 10-days incubation with the addition of humic acids

g/ l	Fungal growth (cm)									
	COV		GAL2		GAL5		PHC		PLO	
	5day	10day	5day	10day	5day	10day	5day	10day	5day	10day
control	5.0	8.3	2.7	3.9	3.7	5.3	8.3	8.3	4.8	7.9
0.01	7.9	8.3	3.3	5.0	4.5	7.9	8.3	8.3	5.1	6.0
0.05	5.8	7.1	4.1	6.2	4.7	7.2	8.3	8.3	6.4	6.7
0.1	7.1	7.8	4.0	6.9	4.3	6.5	8.3	8.3	6.0	6.3
0.2	6.9	7.8	5.8	7.7	5.5	7.0	8.3	8.3	6.8	7.1
0.5	6.2	7.2	4.7	8.2	5.1	7.9	8.3	8.3	5.0	5.8

*Coriolus versicolor*는 5일, 10일후의 측정에서 휴믹산의 첨가 농도에 영향을 받지않고 균사의 생장이 지속 됨을 보여준다. 10일 후에는 0.05g/ l 이상의 농도에서는 거의 control 과 비슷하거나 약간 저해되는 생장을 보여준다. *Ganoderma lucidum* 2와 5는 control에 비하여 균사의 생장이 월등하게 좋아지며, *Phanerochaete chrysosporium*은 5일전부터 균사가 살레의 전면을 도포하여 왕성한 생장을 보여준다. 그러나 *Pleurotus ostreatus*는 5일전까지는 균사의 생장이 control을 능가하나 10일 후에는 생장이 느림을 보인다. 그러나 휴믹산이

뚜렷하게 *Pleurotus ostreatus*의 성장을 저해하는 면은 보이지 않는다.

### 제 3 절 산림부식질의 난분해성 물질 및 중금속 흡착 반응기구 해명 및 흡착 처리된 난분해성 물질의 무독화 기술

#### 제 1 항 산림부식질의 난분해성 물질 및 흡착반응기구 해명

##### 1. 산림부식질의 추출 및 정제

산림부식질의 추출 및 정제는 전년도와 마찬가지로 IHSS (International Humic Substances Society)에 의한 추천된 <Fig. 1-19>와 같은 방법을 이용하였다. 기건된 시료는 추출물을 제거하기 위해 속실렛 추출기에서 헥산으로서 15시간 동안 추출하였다. 기건된 헥산 추출시료를 24시간 동안 0.1N NaOH를 사용하여 질소하에서 24시간동안 추출하였다. 알칼리에 용해된 부분을 원심분리기를 사용하여 2500rpm으로 30분동안 원심분리 후에 이를 6N HCl로 pH 2까지 산성화시켰다. 24시간동안 정치시킨 후 침전물과 상등액을 원심분리하여 침전물은 휴믹산, 상등액은 풀빅산으로 구분하여 얻었다.

##### 2. FT-IR스펙트럼

휴믹산은 Fourier변환 적외선 흡수 분광도법 (Fourier-transform Infrared spectroscopy)를 이용하여 분석하였다. FT-IR의 기종은 Perkin Elmer 1725X를 사용하여 파장범위가  $4000 \sim 400\text{cm}^{-1}$ 에 휴믹산을 기기분석하였다. 분석용 시료는 105℃에 전건시켜 휴믹산 20mg에 KBr 100mg을 혼합하여 압착기를 이용하여 펠렛(pellet)을 만들어 사용하였다.

부식질은 부식화과정에서 형성된 고분자 물질로서 단일 단위체의 중합으로 이루어진 것이 아니기 때문에 부식산 화학적 성질은 모재료, 생성환경, 부식화 시간 등 요인에 따라 그 성질이 상이하다.

따라서 휴믹산의 수율이 가장 좋은 난대지방과 온대 북부지방의 산림 부식질에서 휴믹산을 추출하여 산림 부식질의 화학적 특성을 규명하기 위해 전년도에 이어 계속해서 FT-IR을 이용해서 분석한 결과는 <표 3-6>과 <그림 3-5>, <그림 3-6>, <그림 3-7>, <그림 3-8>, <그림 3-9>, <그림 3-10>와 같다.

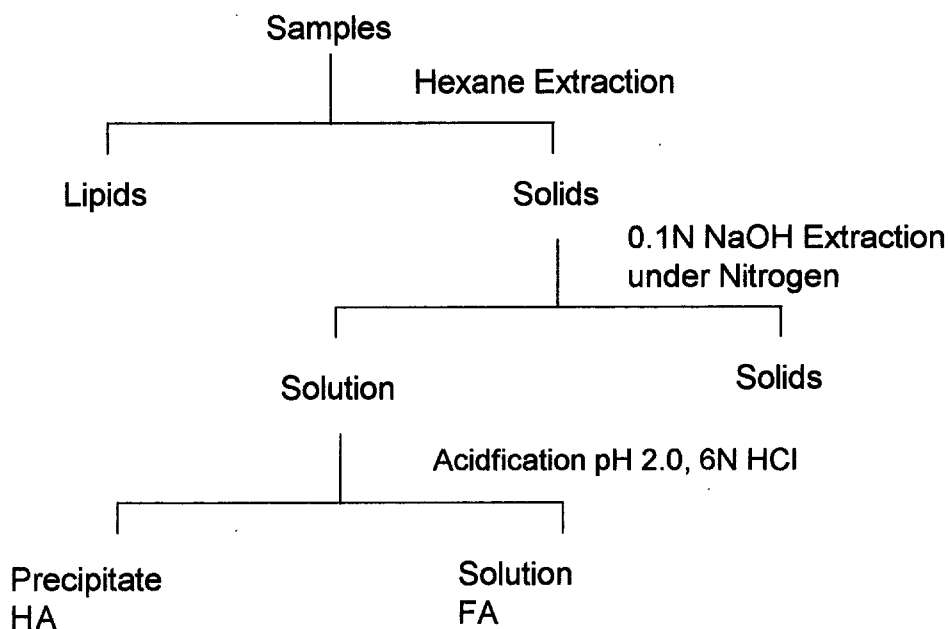


그림 3-4 Scheme of the fractionation of humic and fulvic acids

<표. 3-6> FTIR bands of humic acids collected from forest soil.

Humic acid	Assignment
3431	OH stretch of phenolic OH (contribution from aliphatic OH and possibly NH)
2930	Asymmetric stretch of -CH <sub>2</sub>
1720(1701.3)	-C=O stretch of -COOH
1640	Aromatic C=C stretch and asymmetric -Coo <sup>-</sup> stretch
1525(1510)	Aromatic C=C stretch
1450	-CH deformation of -CH <sub>3</sub> and -CH bending of -CH <sub>2</sub>
1270	-C-OH stretch of phenolic OH
1070(1035)	C-C stretch of aliphatic group

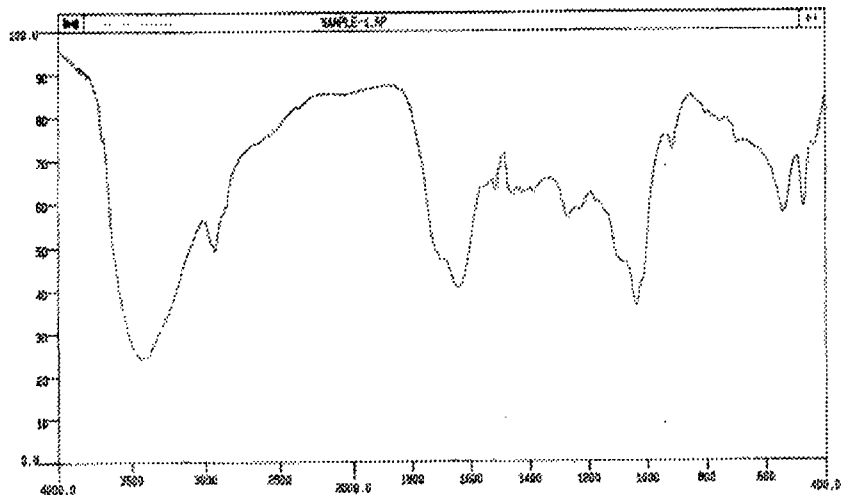
휴믹산의 주요한 Peak로는 3400-3300cm<sup>-1</sup> (수소가 결합된 OH기), 2940- 2900cm<sup>-1</sup>(지방족 C-H 즉 CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 1728-1710cm<sup>-1</sup>(케톤이나 카르복실산의 C=O), 1640cm<sup>-1</sup>(방향족 C=C, H가 결합된 C=O), 1510cm<sup>-1</sup> (방향족 C=C의 stretch), 1460cm<sup>-1</sup>(CH<sub>2</sub>와 CH<sub>3</sub>의 C-H deformation), 1270cm<sup>-1</sup> (페놀성 수산기의C-OH stretch), 1030cm<sup>-1</sup>부근(다당류에 기인한 peak)에 나타나고 있다. 난대 침엽수림, 활엽수림, 혼효림과 온대 북부지방의 침엽수림, 활엽수림, 혼효림 등 대체적으로 비슷한 spectra를 보여주고 있으며 특히 3400cm<sup>-1</sup>부근, 2930cm<sup>-1</sup>부근, 1720cm<sup>-1</sup>부근, 1640cm<sup>-1</sup>부근, 1030cm<sup>-1</sup>부근에서 공통적으로 흡수띠가 강하게 나타나고 있다.

휴믹산에서 FT-IR 흡수띠가  $2900\text{cm}^{-1}$ ,  $1640\text{cm}^{-1}$ ,  $1540\text{cm}^{-1}$ ,  $1030\text{cm}^{-1}$ 에 강하게 나타나는 것은 긴사슬의 지방족 탄소가 부식이 진행됨에 따라 지방족 탄소량이 감소되고 있다는 휴믹산의 일반적인 특징을 잘 보여 주고 있다.

이 밖에 휴믹산에서 자주 보이는  $3090\text{cm}^{-1}$  (방향족 C-H의 신축),  $1450\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ),  $1425\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{COO}^-$ ),  $1385\text{cm}^{-1}$  ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{CH}_3$ ),  $1240$ 에서  $1200\text{cm}^{-1}$  (방향족 C-O의 신축) 영역에서의 흡수띠는 나타나지 않았다.

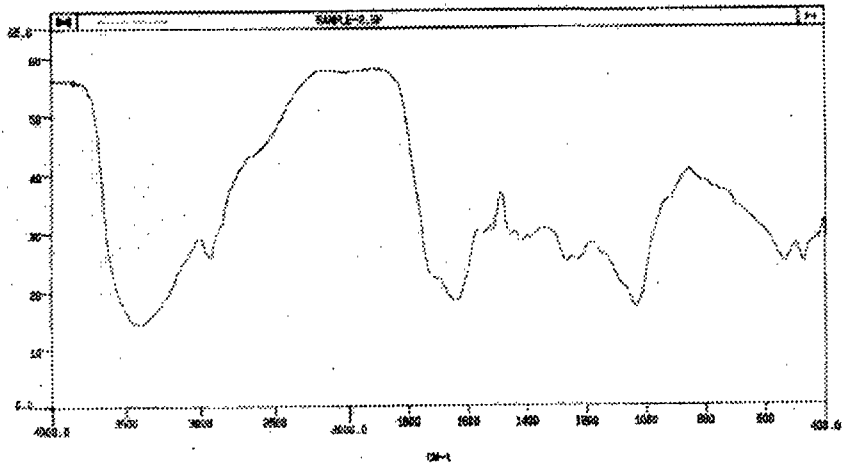
$3400\text{cm}^{-1}$  부근 강한 흡수 band는 휴믹산의 산도와 관련있는 페놀성 수산기로 생각되어 진다.  $1620\sim 1640\text{cm}^{-1}$  지역의 흡수띠는 퀴논의 C=O나 수소가 결합된 콘쥬게이션한 케톤의 카르보닐기를 나타내며 카르보닐기와 퀴논의 흡수대가 중복되는 까닭에 두 작용기는 구별이 곤란하였다. 또한,  $1515\text{cm}^{-1}$  흡수 band는 벤젠이나 피리딘의 C=C 신축 진동에 기인한 것이나 카르복실기의 C=O stretching으로 추정된다.  $1030\text{cm}^{-1}$ 은 다당류의 C=O stretching 나타내고 있다.

지금까지의 결과를 분석하여 보면 FT-IR의 spectra는 전년도 분석치와 비슷한 경향을 보여주고 있다. 즉 산림부식질은 aromatic 고리를 가지면서 OH와 COOH기를 함유하고 지방족 탄소를 다량으로 함유한 물질인 것으로 추정되고 있다. 온대 북부 혼효림에서 전년도 실험에서 보였던 NH의 가능성을 보인  $2367.8\text{cm}^{-1}$  peak가 금년 실험에서는 나타나지 않았다. 일반적으로 휴믹산은  $\text{NH}_3$ 와 결합되어 질소를 함유한 관능기가 존재한다고 보고되고 있다.

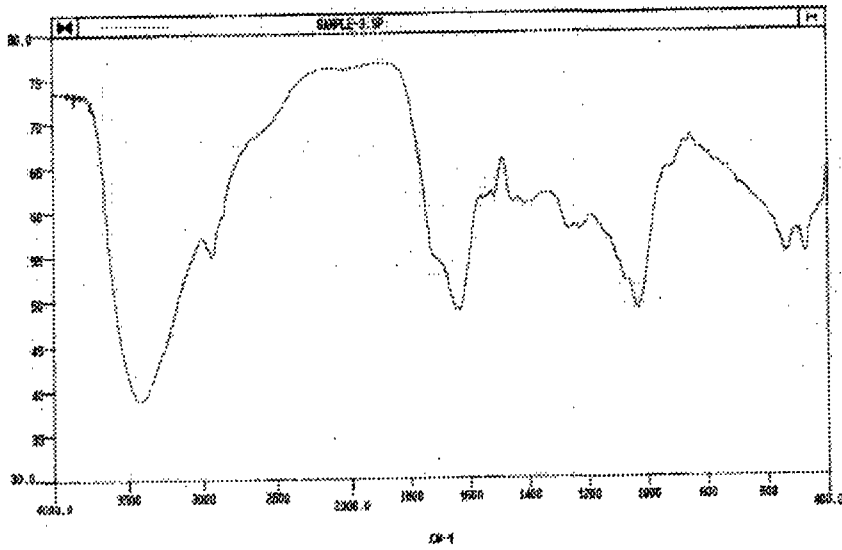


34-1

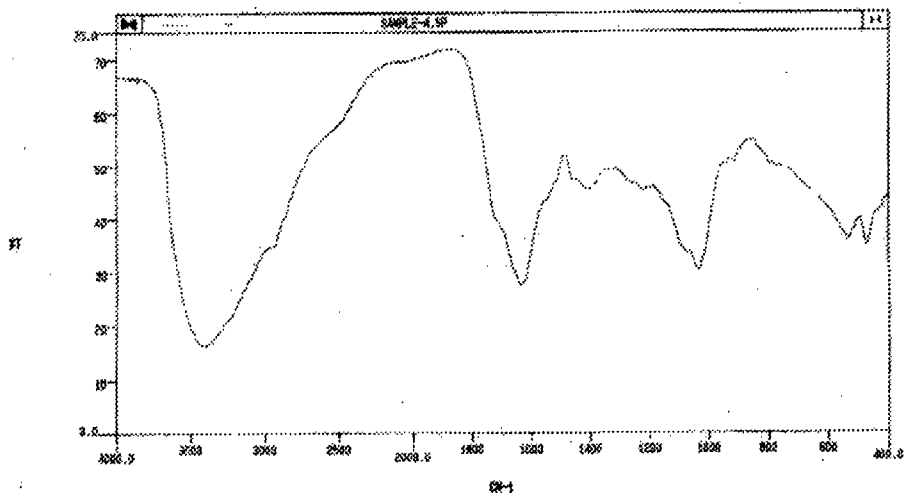
<그림 3-5> FT-IR Spectra of humic acids collected from subtropical coniferous forest



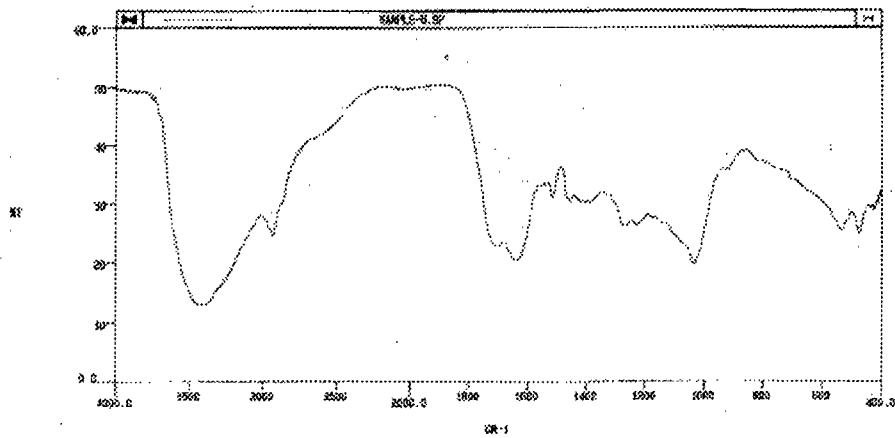
<그림 3-6> FT-IR Spectra of humic acids collected from subtropical deciduous forest



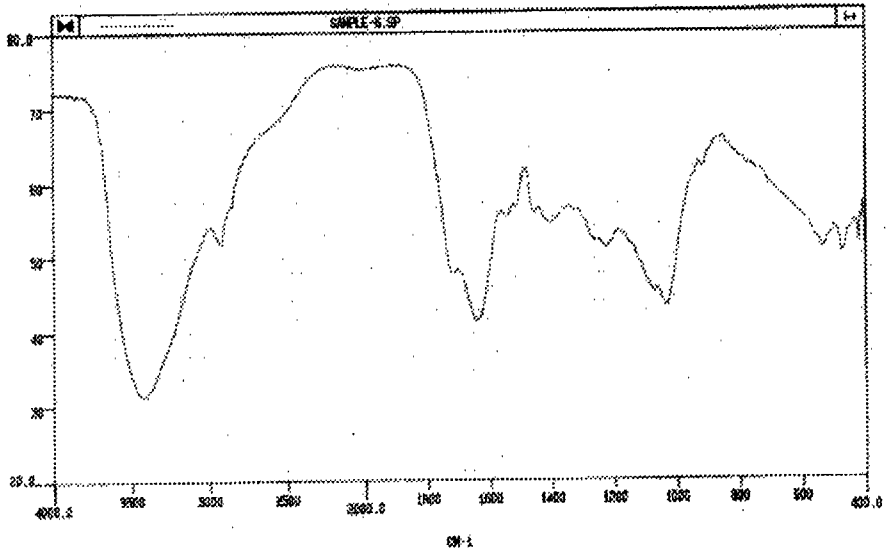
<그림 3-7> FT-IR Spectra of humic acids collected from subtropical mixed forest



<Fig.3-8> FT-IR Spectra of humic acids Northern Temperate coniferous forest



<Fig.3-9> FT-IR Spectra of humic acids Northern Temperate deciduous forest



<Fig.3-10> FT-IR Spectra of humic acids Northern Temperate mixed forest

### 3. CPMAS Carbon-13 NMR 분석

유효 산림부식질의 구조분석을 위해 Varian Unity plus Solid state CP-MAS C13 NMR spectrometer를 사용하였다. 적용조건은

magnetic field : 300MHz, BC resonance frequency : 75.4MHz

proton 90° plus : 5 μs, contact time : 1msec,

recycle delay : 1sec, spinnin speed : 5.2kHz,

number of scans 5000 ~ 50000이다.

일반적 휴믹산의 CPMAS-C<sup>13</sup> NMR 스펙트럼에 유기탄소의 종류에 따른 화학이동은 <Table 3-4>에서 나타낸 바와 같이 다음과 같다

0 - 50 ppm (알킬탄소), 50 - 60 ppm (메톡실기),

60 - 110ppm (탄수화물 탄소나 OH기를 가진 지방족구조),

110 - 160ppm (방향족 탄소), 142 - 160ppm (페놀성 탄소),

160 - 190ppm (카르복실기 탄소), 190 - 215ppm (카르보닐탄소)로 나타낸다.

유기질을 구성하는 유기탄소의 화학적 특성과 탄소를 포함하는 작용기의 자세한 정보를 얻기 위하여 Solid CPMAS Carbon-13 NMR을 사용하여 분석하였던바 그 결과는 <Fig.3-11>, <Fig.3-12>, <Fig.3-13>, <Fig.3-14>, <Fig.3-15>, <Fig.3-16>, <Fig.3-17>, <Fig.3-18>과



같이 나왔다. 수집한 산림부식질에서 추출·정제된 모든 지역의 휴믹산의 CPMAS  $C^{12}$ -NMR 스펙트럼을 분석하여 보면 30ppm에서 나타나는 강한 peak를 보여주고 있다. 이 peak는 긴사슬의 메틸탄소나 시클로파라핀의 탄소이며 이는 휴믹산에 포화지방족탄소의 존재를 보여주고 있으며 휴믹산에는 방향족탄소 뿐만아니라 알킬탄소가 상당부분에 차지하고 있음을 보여주고 있다. 그리고 알킬탄소는 큐틴, 슈베린, 지방, 왁스 등에서 유래된 것으로 생각된다. 일반적으로 부식이 진행되는 동안 탄수화물은 미생물에 의해 쉽게 분해 이용되기 때문에 그 비율이 방향족 탄소나 카르복실탄소에 비해 작게 나타나고 있다. 100ppm에서 나타난 peak는 다당류의 배당체 결합을 하고있는 아노머 탄소를 보여주고 있다. 58ppm의 peak는 메톡실 탄소를 나타내고 있는데 이는 리그닌이나 리그닌 유도물질로부터 유래된것이라 생각된다. 50~110ppm에서 강한 resonance는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 고리탄소에 기인한 산소로 치환된 알킬탄소라고 생각된다. 그리고 71ppm이나 72ppm에서 보여주고 있는 peak는 탄수화물이나 지방족 알코올에 기인한 것이다. 108ppm에서 나타나는 peak는 시린길 리그닌  $C_2$ 와  $C_6$ 탄소, 타닌의 탄소, 탄수화물의 아노머 탄소에 기인한 것이다. 110 ~ 142ppm 사이에서 넓은 방향족 탄소의 공명을 보여주고 있다. 특히 110에서 120ppm에서는 산소로 치환된 방향족 탄소를 나타내며 방향족 고리가 양성화 되어 있음을 보여준다. 120에서 145ppm영역에서 알킬로 치환된 방향족 탄소를 나타낸다. 특히 0-alkyl영역의 57 ~ 58ppm에서 강한 peak로 보아 휴믹산의 방향족 탄소는 리그닌 및 리그닌 유도물질로 부터 기인한 것으로 보이며 특히 메톡실 signal이 강하게 나타난 것으로보아 상당량의 리그닌이 존재함을 알 수 있다. 172ppm에서의 강한 peak는 카르복실기의 탄소, 에스테르 탄소, 아마이드 탄소의 존재를 나타내고 있으며 217ppm에 나타나는 peak는 알데히드나 케톤과 같은 카르보닐 탄소를 나타낸다. 148ppm에서 나타나는 peak는 페놀성 탄소를 나타내며 휴믹산에는 페놀성 수산기가 상당량 존재함을 알 수 있다. 페놀성 수산기는 리그닌보다는 탄닌에서 유도된 피크로 생각된다. 케톤기 영역인 190 ~ 210ppm에서 약한 peak를 보여주고 있다. 95~160ppm 사이의 방향족영역은 리그닌이 존재함을 보여주고 있다.

<Table 3-7> Chemical shifts of carbon-13 NMR spectra for various carbon types(Wilson et al., 1981; Steelink and Petsom, 1987; Zech et al., 1987; Frund and Ludeman, 1989; Chen and Robert, 1989; Benner et al., 1990; Newman and Tate, 1991)

Chemical Shift region(ppm)	Assignment
0-110	aliphatic carbon
0-50	saturated alky(-CH <sub>2</sub> -)
50-60	oxygen and nitrogen substituted alkyl in amine and methoxy(-NH, -OCH <sub>3</sub> )
60-65	alcohol(-OH)
60-95	oxygenated alkyl(carbohydrates)
95-160	acetal&aromatic carbon
160-170	phenolic carbon
170-185	carboxylic carbon
185-220	carbonyl carbon

주요한 유기탄소의 양을 알기 위해 CPMAS-C<sup>13</sup>NMR에서 각 영역별로 적분을 하였으며 그 결과 <Table 3-8>와 같았다. 이때 전체탄소에 대한 방향족 탄소를 알기위해 aromaticity를 구하였으며 aromaticity는 지방족 탄소량과 방향족 탄소량의 합에 대한 방향족 탄소량의 비를 %로 표시하여 구하였다. 또한 지방족 탄소비를 알기위한 Alipacity를 구하였으며 Alipacity는 100%에서 aromaticity를 제한 양을 구하여 Alipacity로 사용하였다.

<Table 3-8>에 나타난 바와 같이 휴믹산의 탄소분포는 0 ~ 50ppm 사이인 지방족 탄소량이 현저하게 높게 나타나 있다. 50 ~ 110ppm 영역에서 나타나는 O-alkyl 탄소량은 높게 나타나지 않았다.

이 영역의 탄소는 대부분 탄수화물을 나타내며 일반적으로 유기물이 부식하는 동안 가장 많은 변화를 보여주게 된다. 또한 부식이 진행되면 될수록 탄수화물은 감소되며 다른 종류의 탄소량은 증가 추세를 보이게된다.

휴믹산에서 방향족 탄소량은 16%, 17%를 나타내고 있으며 이는 Hatcher가 보고한 일반적인 휴믹산의 방향족 탄소량보다 적게 나타나고 있다. 그리고 난대성 혼효립과 난대성 침엽수립 사이에는 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다.

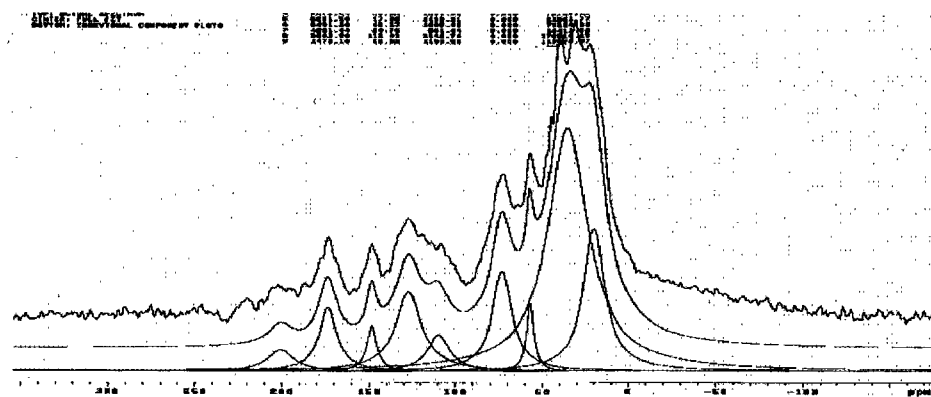
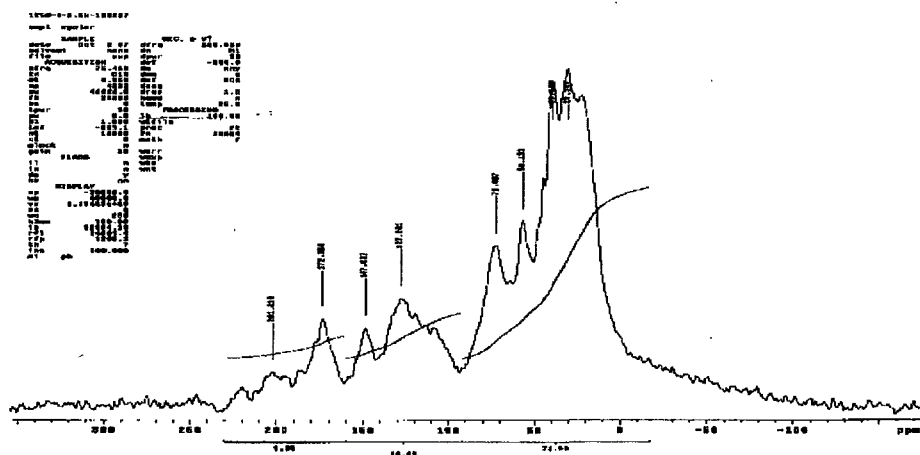
142ppm ~ 160ppm영역의 카르복실산탄소량은 O-alkyl영역에서와 마찬가지로 난대성 혼효립에서 약간 높게 나타나고 있다. 반대로 지방족 탄소량은 난대성 침엽수립에서 훨씬 높게 나타나고 있다. 이는 침엽수립이 잘 부식되지 않았기 때문인 것으로 사료된다.

일반적으로 부식과정중에는 aromaticity, 페놀성 수산기, 카르복실기가 증가하게 되며 이는 탄수화물의 부식 속도가 빠르기 때문에 나타나는 현상이다.

전체적으로 산림부식질로부터 채취, 정제된 휴믹산은 일반적인 휴믹산보다 부식이 덜된 것으로 사료된다.

<Table 3-8>Aromaticity, aliphaticity, and various carbon species in humic acids from forest soil as determined by CPMAS<sup>13</sup>NMR spectroscopy

	Aromaticity	Aliphaticity	Sat. alkye	O-Alkyl	Aromatic	Phenolic	Carboxyl	carbonyl
	%	%	0 - 50	50 - 110	110 - 160	142 - 160	160 - 190	190 - 210
SC	21.30	78.70	63.85	12.08	16.17	2.17	5.43	2.48
SM	23.61	76.39	59.64	14.20	17.43	2.10	6.25	2.47



<Fig.3-11> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acid collected from subtropical coniferous forest

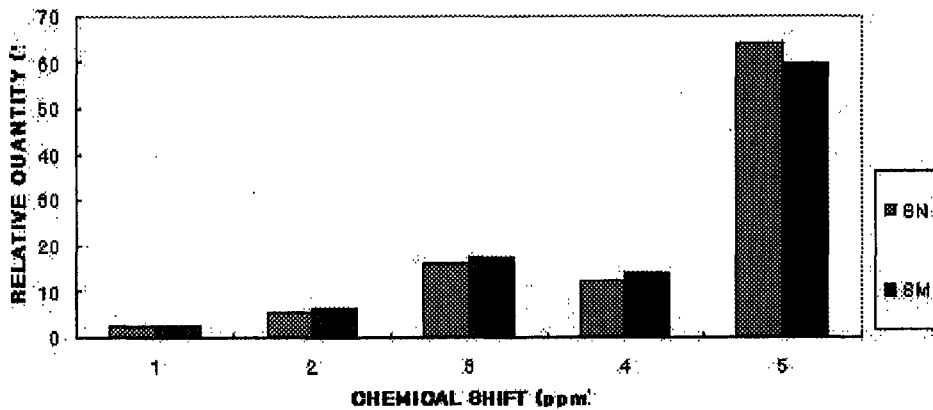
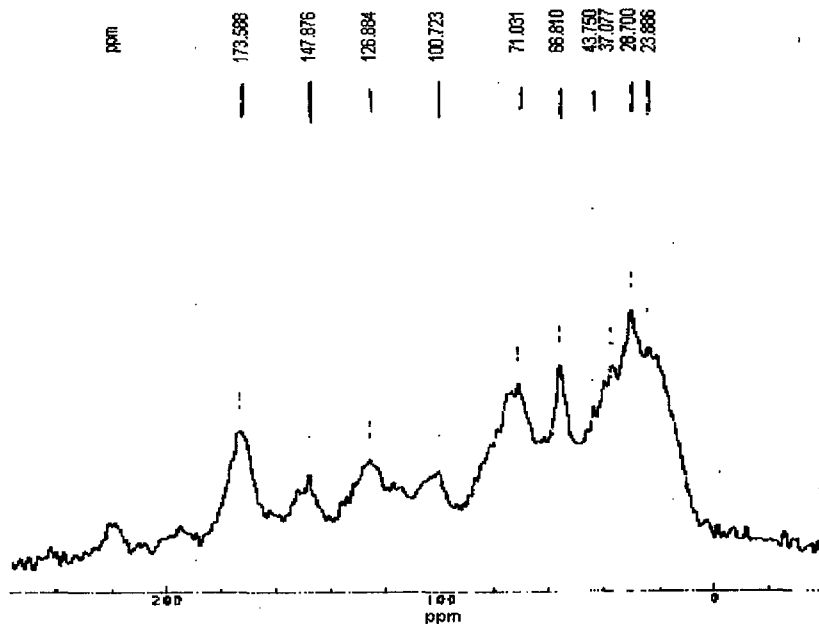
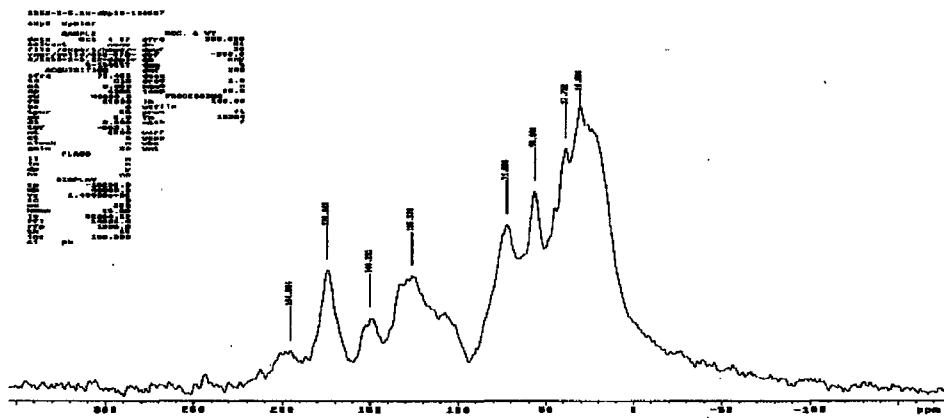


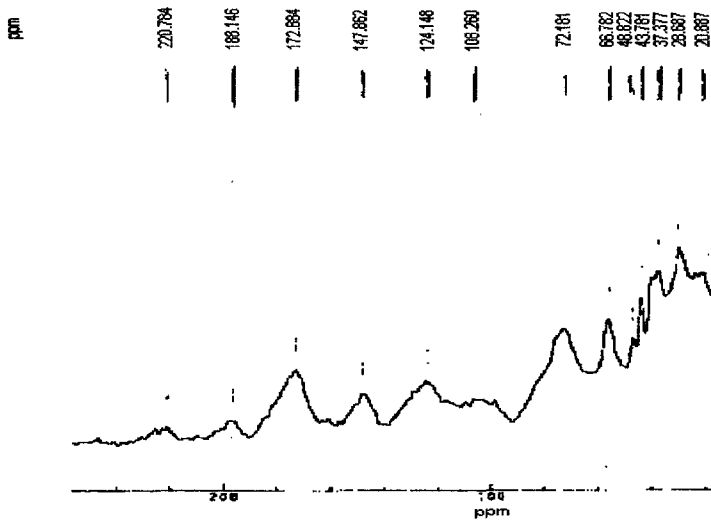
Fig.3-12. Distribution of C in humic acids extracted from subtropical  
 SN Subtropical oniferous forest  
 SM Subtropical Mixed forest



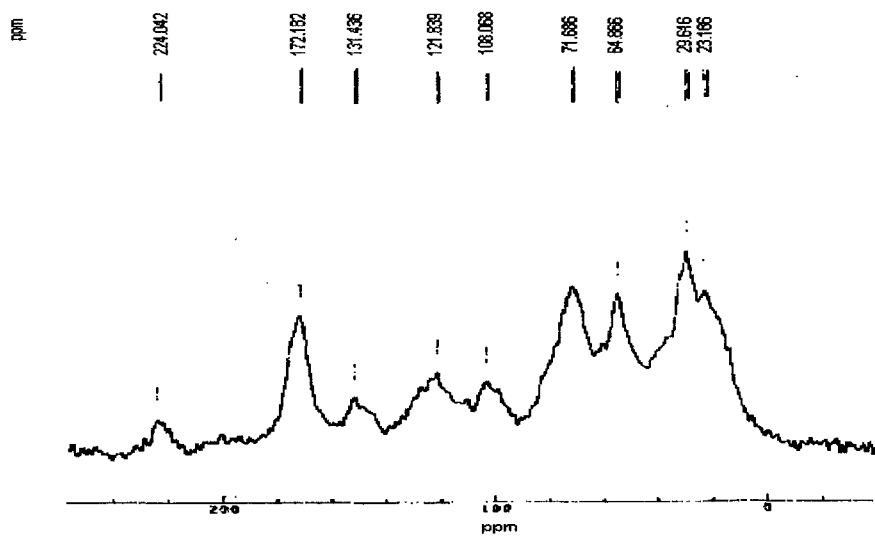
<Fig.3-13> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acids collected from subtropical  
 deciduous forest



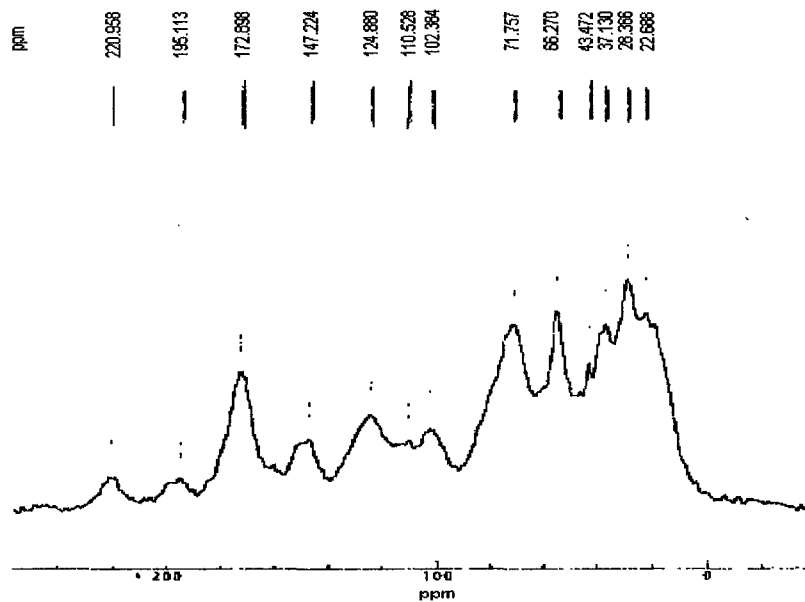
<Fig.3-14> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acid collected from subtropical mixed forest



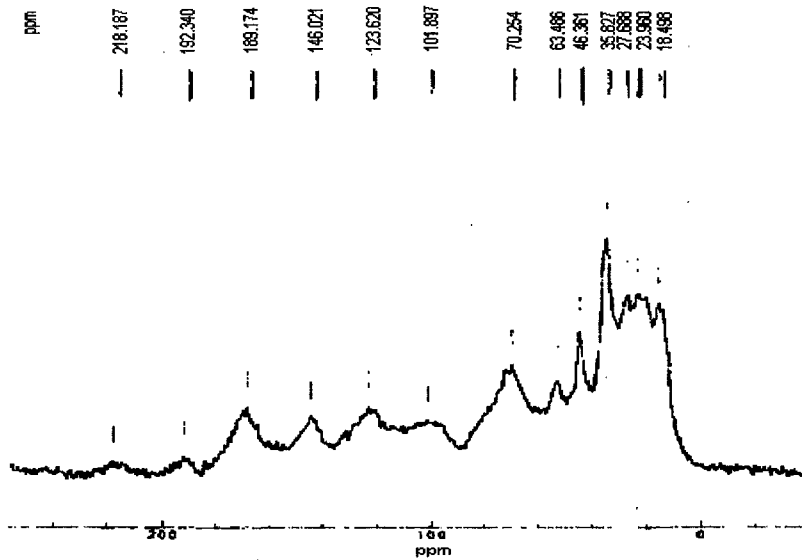
<Fig.3-15> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acids collected from mid temperate coniferous forest



<Fig.3-16> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acids collected from mid temperated deciduous forest



<Fig.3-17> CPMAS Carbon NMR spectra of humic acids collected from mid temperate mixed forest



<Fig.3-18> CPMAS Carbon-13 NMR spectra of humic acids collected from northern temperate coniferous forest

#### 4. 휴믹산-중금속 착화합물 형성 메카니즘조사

중금속은 인체에 치명적인 고질병의 원인 물질일 뿐만아니라 미량으로도 생물체에 악영향을 주기 때문에 그 효과적인 처리 방법이 절실히 요구되고 있다. 산림부식질은 카르복실기, 페놀성 수산기, 알코올성 수산기 등의 많은 작용기를 함유하여 반응성이 크기 때문에 양이온인 중금속과 안정된 착화합물을 형성할 수 있다. 따라서 산림부식질과 중금속간의 어떤 형태 착현 형성 복합체를 형성하는가를 알아보기위해 휴믹산 4g에 0.1M의 CdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>용액을 100ml씩 첨가하여 24시간동안 왕복진탕기에 반응시킨 후 하루동안 정치한 후 Cl이 검출되지 않을 때까지 증류수로 세척하였다. 감압 동결건조후 0.1N NaOH 용액 200ml에 용해한후 UV-Visible Spevtrphotometor로 흡광도를 측정하였던 바 그 결과는 <Fig.3-19>와 같다. 장파장 영역에서 단파장 영역으로 갈수록 흡광도가 증가하였으며 휴믹산보다는 Cd와 Cu복합체의 흡광도가 낮게 나타났다. 이는 금속이온 특히 상호 방호하여 복합체를 생성함으로써 분자량증가와 분산도 감소에 따라 휴믹산에 비하여 흡광도감소 현상이 나타난 것으로 생각된다.

## 제 4 절 흡착처리된 난분해성 물질의 무독화 균주선발

제 1 항 PCP 농도별, 균주별 균주저항성조사

Pentachlorophenol (purity, 99%)은 Wako chemical Co.에서 구입하여 사용하였으며 기타 약품 및 용매는 특급 및 HPLC용을 이용하였다. 사용된 균주의 종류 및 이용된 라벨은 아래의 <Table 3-9>와 같다.

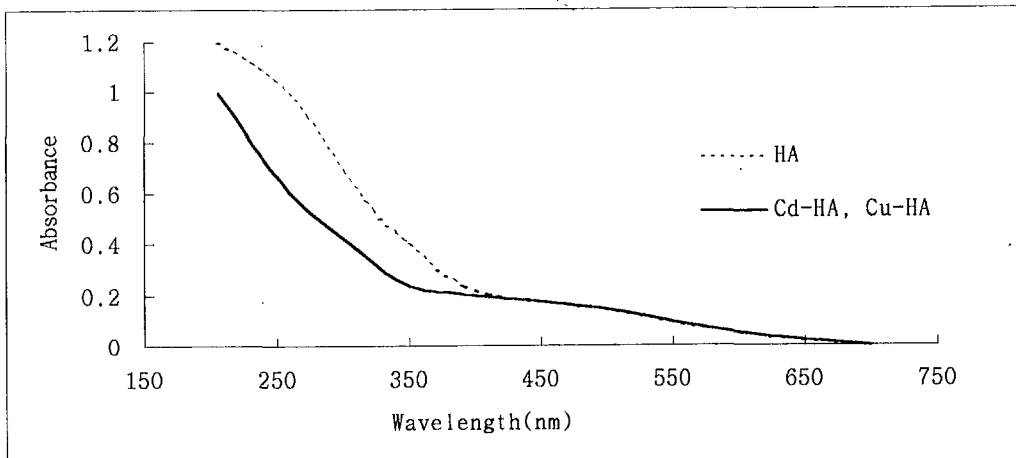
<Table 3-9> Used fungi.

Fungi name	Label
<i>Ganoderma lucidum</i> (FRI 20435)	G5
<i>Ganoderma lucidum</i> (FRI 20432)	G2
<i>Coriolus versicolor</i>	C0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	PL
<i>Phanerochaete crysosporium</i>	PH
<i>Daldelia concentrica</i> (FRI 20321)	DA
FRI 20621	IN

먼저 7종의 균주는 PDA(potato dextrose agar)배지에서 7일간 배양된 후 다시 complex medium(YMPG)로 옮겨져 7일간 배양을 한 후 25°C에서 사용전까지 보관한다. YMPG 배지의 조성은 1ℓ의 증류수당 아래와 같다.

glucose 10g, malt extract 10g, Bacto-Peptone(Difco) 2g, east extract 2g, asparagine 1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1g, thiamine 1mg, Bacto-Agar (Difco) 20g.

YMPG 배지로 부터 얻은 4mm 정도의 plug을 2% malt agar 배지상에 다시 접종하여 일주일 정도가 지난후 군사가 완전히 petridish를 덮을 정도로 성장한 후에 사용한다. PCP에 대한 7종의 균주의 저항성 및 sensitivity를 시험하기 위하여 사용된 PCP는 4, 8, 20, 40mM의 stock solution을 DMF (N,N-dimethyl formamide)에 용해시켜 사용했으며, 이때 사용한 DMF



<Fig.3-19> UV-visible spectra of humic acid and metal complexes.



의 균주에 대한 저해효과(inhibitory effect) 실험도 행하였으며 각각의 농도에 사용되는 DMF의 양은 일정하게 1ml를 사용하였다. 실제로 배지에 적용되었을때의 PCP농도는 2% malt agar 그램당 50, 100, 250, 500  $\mu\text{g}$ 에 해당하여 각각 50, 100, 250, 500ppm으로 사용된다. DMF에 용해된 각각의 농도의 PCP 1ml를 filter sterilized 시킨 후 autoclave한 2% malt agar 배지에 직접 첨가하여 상온에서 냉각시킨 후 2% malt agar배지에서 자란 4mm의 plug을 접종한다. 14일간 30 $^{\circ}\text{C}$ 의 incubator에서 배양을 하면서 매일 매일 성장하는 mycelium의 성장길이를 측정하여 각 균주의 PCP에 대한 저항성 및 sensitivity를 측정하였다.

전 세계적으로 유용하게 여러분야에서 이용되어 왔던 유기염소화합물들은 환경규제의 강화로 인하여 근래에는 점차 각국에서 사용이 금지되고 있다. 또한 과거에 사용되었던 유기염소화합물의 안전한 처리가 현재는 중요한 환경현안으로 대두되고 있다. 그 중에서도 폐물성 유기염소화합물은 독성이 강하고 발암성이며 미생물에 의한 분해가 어려운 난분해성 물질로 보고되었고, 과거부터 지금까지 우리의 환경에 축적되어 지는 것으로 알려졌다. 독성의 정도는 방향환에 치환되는 염소의 치환도가 증가할수록 증가하는 것으로 알려져 5개의 염소가 aromatic ring에 치환된 Pentachlorophenol(이후 PCP라 명함)은 독성이 아주 강한 것으로 보고되었다. PCP는 1936년에 처음 상업적으로 소개가 된 이후 농업을 비롯한 산업 전반에서 제초제, 살균제, 살충제, 방부제 등으로 몇십년간 다양하게 이용되었다. 그러나 몇몇 국가에서는 저가와 고효율의 장점 때문에 맹독성의 우려도 불식하면서 최근에도 계속 이용되어지고 있는 상황이다. 이러한 PCP는 난분해되는 특성으로 인하여 과거 및 현재에 이용되어진 것은 환경에 그대로 축적되어지고 있는 실정이다.

현재까지 PCP의 분해 메카니즘은 박테리아를 이용하여 광범위하게 연구되어 왔으나 효율성에서 문제가 제기되어, 근래에는 lignin peroxidase, manganese peroxidase 등의 extracellular 분해 시스템을 가지고 있는 리그닌 분해균인 백색부후균에 의한 난분해성 물질의 분해에 대한 관심과 기대가 증폭되어 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 주로 이용되어지고 있는 균주는 리그닌 부후력이 뛰어난 것으로 알려진 *Phanerochaete chrysosporium* 정도이다. *Phanerochaete chrysosporium*은 PCP이외에 여러종류의 trichlorophenol, dichloro dibenzo-dioxin 등의 유기염소화합물에 대한 분해능이 뛰어난 것으로 보고 되었다. 분해메카니즘으로는 peroxidase가 촉매하는 산화탈염소화 반응, quinone 환원반응, 메틸화 등이 알려져 있다. 그러나 nonligninolytic 조건에서도 반응이 진행되므로 기타 다른 반응의 관여도 제안되어지고 있다.

본 연구에서는 기존의 리그닌 부후력이 뛰어난 것으로 보고된 7종의 균주를 이용하여 난분해성인 PCP에 대한 분해력을 검증하여 펄프 제지 산업을 비롯한 여러 산업에서 다량으로 이용 또는 방출되고 있는 유기염소화합물에 의한 환경오염을 저감시키고자 한다. 아직 국내에서는 일부 화학적인 침전법 또는 수지를 이용한 흡착법 등이 이용되고 있는 실정이나 이는 처리 후의 폐기물 및 재생에 상당한 비용 및 노력이 필요하므로 환경친화적인 미생물에 의한 유기염소화합물의 처리는 더욱 개발과 응용이 시급한 과제이다.

### 1. PCP 농도별 균주의 저항성

PCP에 대한 균주의 저항성 및 sensitivity를 측정하기 위하여 각 균주별, 또는 PCP의 농도별로 2% malt agar 상에서 14일간 배양한 결과는 아래의 그림과 같다. 먼저 PCP를 용해시키는 DMF에 대하여 균주생장저해효과(growth inhibitory effect)를 조사한 결과 DMF는 7종의 균주 중에 1일 정도의 느린 성장저해를 보이는 균주도 있었으나 전체적으로 실험에 영향을 미칠 정도의 저해효과는 없다고 판단되어 PCP와 함께 첨가해서 실험을 실시하였다. 또한 사용하는 2% malt agar상에서의 최적 성장온도를 찾기위하여 25, 28, 30, 34℃ 등에서 관찰한 결과 30℃에서 생장이 양호한 것으로 판단되어 차후의 실험시의 배양온도는 30℃에서 실시하였다.

Hyphal extension rate로 14일간 배양하면서 측정된 PCP 농도별 균주의 저항성 및 sensitivity는 균주에 따라 상당한 차이를 보였다. 아래의 <Fig.3-20>, <Fig.3-21>, <Fig.3-22>, <Fig.3-23>은 각각 50, 100, 250, 500 ppm의 PCP를 함유하고 있는 2% malt agar상에서의 7종의 균주의 생장을 보여주고 있다.

50 ppm의 농도에서 7종의 균주중 PH가 제일 빠른 mycelium 성장을 보였으며, IN은 14일이 지나도 완전하게 plate의 전면을 덮는 정점에 도달하지 못하였다. 최고의 성장을 보이는 PH는 배양 2일째에 최대 4.3cm의 성장을로 빠른 성장을 보이며 3일의 짧은 배양

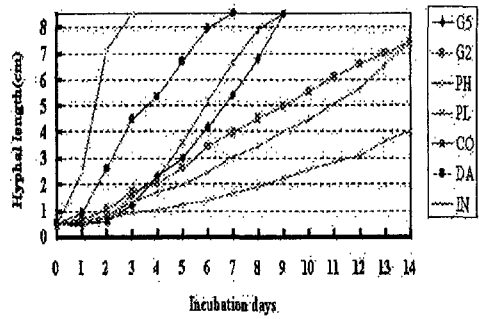


Fig.3-20. Comparison of hyphal extension growth of various fungi on 2% malt agar medium containing 50ppm of PCP ( $\mu\text{g}$  of PCP per g of malt agar)during 14days incubation

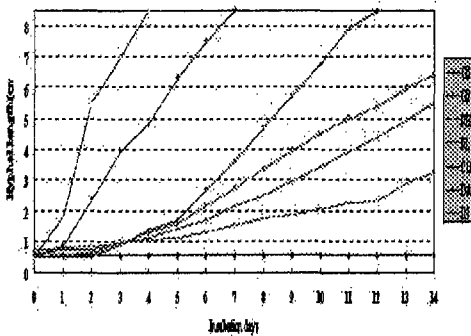


Fig.3-21 Comparison of hyphal extension growth of various fungi on 2% malt agar medium containing 100ppm of PCP ( $\mu\text{g}$  of PCP per g of malt agar)during 14days incubation

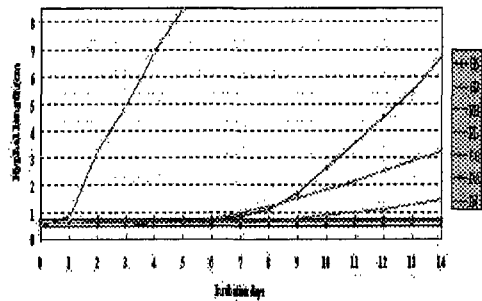


Fig.3-22. Comparison of hyphal extension growth of various fungi on 2% malt agar medium containing 250ppm of PCP ( $\mu\text{g}$  of PCP per g of malt agar)during 14days incubation

기간에 최대성장점에 도달하여 50ppm의 PCP를 첨가하지 않은 control과 비교하여 거의 유사한 성장을 보여서 첨가된 50ppm 농도의 PCP는 균사의 성장에 전혀 저해를 받지 않음을 보였다. DA, CO, G5는 최대성장점에 도달하기까지 7일에서 9일 정도를 소비하여 약간의 저해를 받고 있으며, G2, IN, PL 등은 상당히 생장이 저해됨을 보였다. 일반적으로 50ppm 정도의 PCP농도에서는 모든 리그닌 분해균이 잘 적응하여 성장함을 보인다.

100ppm의 농도에서도 50ppm처럼 PH는 단기간에 최대생장을 이루었으며, G5는 전혀 자라지

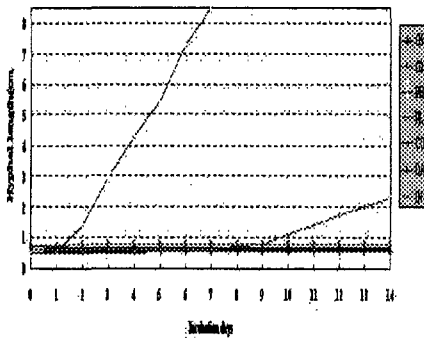


Fig. 3-23. Comparison of hyphal extension growth of various fungi on 2% malt agar medium containing 500ppm of PCP ( $\mu\text{g}$  of PCP per g of malt agar) during 14 days incubation

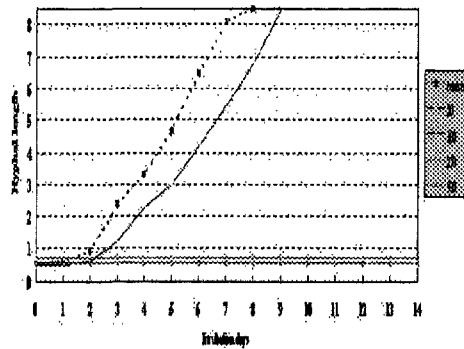


Fig. 3-24. Hyphal extension growth of GS on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14 days incubation (unit: ppm)

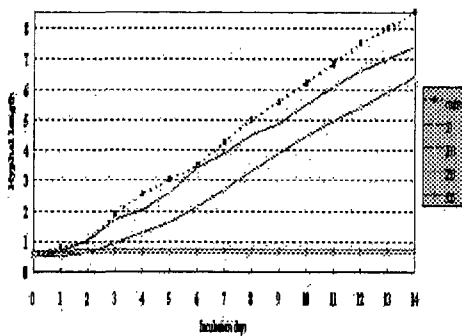


Fig. 3-25. Hyphal extension growth of G2 on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14 days incubation (unit: ppm)

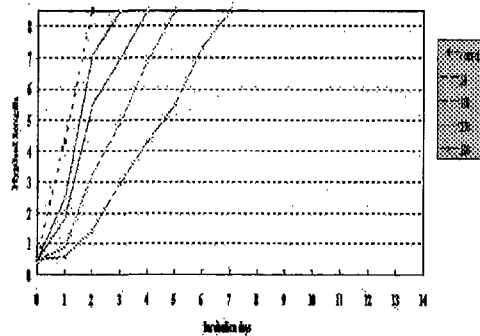


Fig. 3-26. Hyphal extension growth of PH on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14 days incubation (unit: ppm)

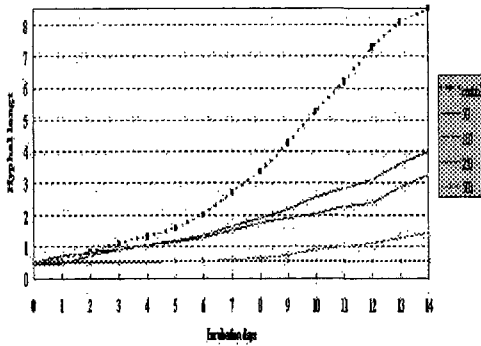


Fig.3-27. Hyphal extension growth of PL on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14days incubation(unit: ppm)

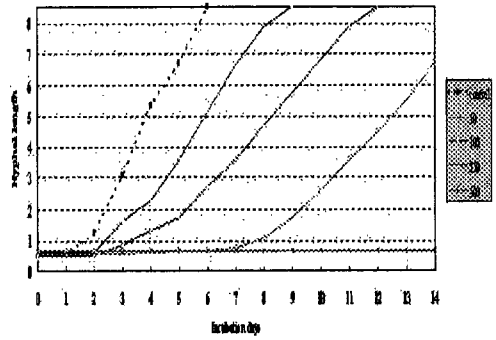


Fig.3-28. Hyphal extension growth of CO on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14days incubation(unit: ppm)

않음을 보인다. 특이한 점은 DA가 100ppm에서도 50ppm과 마찬가지로 7일만에 최대성장점에 도달함을 보여 빨리 PCP의 새로운 환경에 적응하는 것처럼 보였으나 250ppm과 500ppm에서는 전혀 자라지 않아서 250ppm 이상의 고농도에서는 생장이 저해되는 것으로 밝혀졌다. 250ppm에서는 생장을 계속하는 균주가 4종류 밖에 되지 않았으며, G2, G5와 DA는 전혀 생장을 보이지 않았다. 그러므로 250ppm은 PH, CO, IN을 제외한 다른 균주에 대해서는 maximum point of PCP toxicity로 여겨졌으며, 500ppm에서는 PH와 IN을 제외한 타 균주는 전혀 생장의 기미를 보이지 않았다. 여전히 PH는 고농도에서도 가장 빠르게 성장최대점에 5-7일만에 도달하여 PCP에 대한 저항력이 뛰어난 것으로 밝혀졌다.

## 2. 균주별 PCP 농도에 대한 저항성

균주별 각각의 PCP농도에 대한 균주의 저항성 및 sensitivity는 농도에 따라 상당한 성장 저해효과를 보였다. 아래의 <Fig.3-24>, <Fig.3-25>, <Fig.3-26>, <Fig.3-27>, <Fig.3-28>, <Fig.3-29>, <Fig.3-40>에서 보는 결과에서 처럼 PH를 제외한 전 균주는 PCP의 첨가에 의하여 성장저해효과를 받고 있으며 균주의 특성에 따라 적응하는 정도에 차이를 보인다.

Ganoderma 종류인 G2와 G5는 50에서 100ppm까지는 완만한 생장을 보이나 250ppm 이상에서는 전혀 생장을 보이지 않았으며, PL은 control의 성장자체가 느렸으며 서서히 PCP의 환경에 적응하는 모습을 보이나 500ppm이 한계점으로 보였다. DA는 50, 100ppm에서는 전혀 성장 저해효과를 나타내지 않는 것처럼 여겨졌으나 250ppm 부터는 전혀 생장을 하지 못했다. 제일 관심을 끄는 균주는 PH와 IN으로서 이미 PCP 분해력이 뛰어난 것으로 알려진 대로 PH는

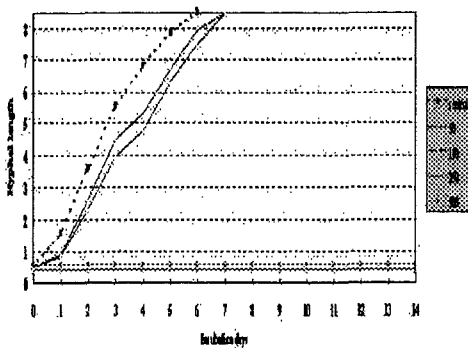


Fig.3-29. Hyphal extension growth of DA on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14days incubation(unit: ppm)

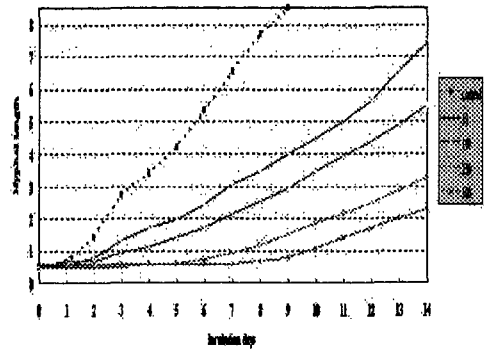


Fig.3-30. Hyphal extension growth of IN on 2% malt agar medium containing various concentration of PCP during 14days incubation(unit: ppm)

모든 농도에서 성장저해효과를 거의 받지 않고 잘 자랐으며 IN은 각각의 농도에서 초기 2일까지는 성장을 보이지 않다가 서서히 PCP첨가에 대한 적응력이 살아나면서 생장이 시작되어 완만한 성장을 보인다. 특히 IN의 500ppm 농도에서의 성장을 관찰하면 1차 metabolism과 2차 metabolism을 거치는 모습이 성장 모양에서도 나무의 나이테를 연상시키는 모습으로 치밀하게 자라서 점차 적응하는 행태를 띤다. 제일 PCP의 첨가에 영향을 받지 않고 성장하는 모습을 보이는 PH가 첨가된 PCP를 실제로 성장속도만큼 빠르게 분해하는 지에 대한 실험이 요구되어 차항의 실험을 하였다.

#### 가. PCP metabolism

액체배지에서의 PCP 농도별 균주의 분해능을 균주를 접종하지 않고 배지에 PCP만 첨가한 control과 비교하면서 배양일수 별로 조사한 결과 아래의 그림과 같다. <Fig.3-31>에서는 저농도(40 μM)에서, <Fig.3-32>은 고농도(100 μM)에서의 PH의 분해능을 각각 보여주고 있다. 두 개의 그림에서 보는 바와 같이 PH는 PCP의 첨가후 1일째부터

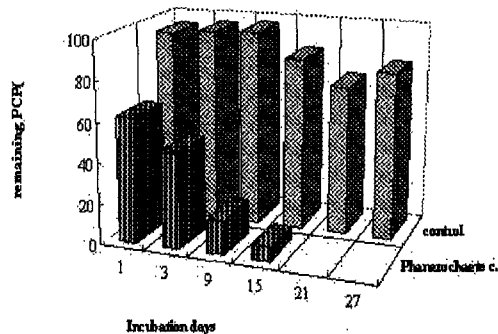


Fig.3-31. PCP removal rate depending on incubation days by using phanerochaete e. (used PCP concentration in culture was 40 μM)

metabolism이 발생되어 30-40%가 초기에 분해되고 있음을 보인다. 그러나 초기의 분해는 분석과정의 추출 중의 mycelium에 의한 흡착이 상당히 관여할 것으로 여겨져 독자적인 실험을 해본 결과 6-10% 정도는 mycelium에 의한 물리적 흡착으로 여겨졌다. 그러나 나머지의 30%는 초기분해로 여겨져 균주가 초기에 상당히 빨리 metabolism이 일어남을 알 수 있었다. 저농도에서는 15일이 지나면서부터 21일 사이에 첨가된 PCP가 완전하게 분해됨을 보인다. 추출된 액을 evaporator를 통하여 농축시킨 후 다시 HPLC를 이용하여 분석해도 PCP의 존재는 없었다. 이와 반대로 control은 배양일수별로 약간의 차이는 있었으나 87-97%가 잔존하고 있음을 나타냈다.

고농도(100 μM)에서는 저농도와 유사한 경향을 나타내나 27일이 경과하여도 완전하게 분해는 이뤄지지 않았으나 9일 이후에는 저농도와 마찬가지로 첨가된 PCP의 90% 이상이 분해되었음을 보인다.

**나. 선발균주의 PCP에 대한 분해력**

리그닌 분해균의 PCP에 대한 분해능을 검증하기 위하여 shallow stationary phase 액체배지 10mL를 100mL의 erlenmeyer 후라스크에 넣은 후 균주를 접종하여 30°C에서 배양을 했다. shallow stationary phase 액체배지의 조성은 아래와 같다. 1L의 증류수당 glucose 10g, thiamine HCl 1mg, ammonium tartrate 221mg, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 1g, mineral solution 10mL이었다. 배지의 pH는 2,3-dimethylsuccinic acid buffer(1.46g/L)에 의하여 4.5로 조정되었으며, 27일간 배양되는 동안 배양후라스크는 99% 순도의 산소로 3일마다 reflush시켰다. 배양 7일째에 8, 20mM의 stock solution으로부터 50 μL씩의 PCP를 후라스크에 첨가하여 각각 40, 100 μM로 최종농도를

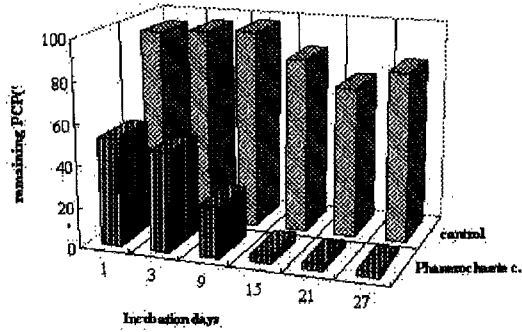


Fig.3-32. PCP removal rate depending on incubation days by using phanerochaete e.(used PCP concentration in culture was 100uM)

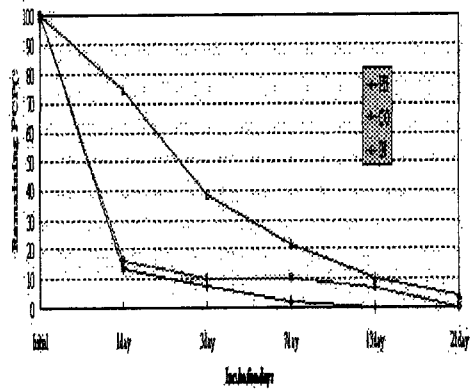


Fig.3-33. PCP biodegradation by PH, CO, and IN depending on incubation days (PCP concentration in the culture was 100uM)

조정하였다. 1, 3, 9, 15, 21, 27일이 지난 후에 각각의 농도별의 후라스크에 n-Hexane 20mL를 넣은후 5분간 100회 정도를 흔든다음, Buchner funnel을 이용하여 추출한후 유기물 층은 pipette을 이용하여 회수하였다. water층은 다시 ethylacetate 10mL + n-Hexane 10mL의 혼합용매를 첨가한 후 재추출을 한 후 위에서와 같이 유기물층을 얻어 전회의 것과 섞은 다음 Beckman GS-15R에서 5000rpm으로 5분간 원심분리한 후 상층액을 0.22  $\mu$ m microfilter를 이용하여 여과를 했다. 여과액은 직접 Shim-pack CLC-ODS(0.15m x 6.0  $\phi$ )를 장착한 Shimadzu SPD-10A HPLC에서 분석했다. eluant는 0.05% phosphoric acid-acetonitrile(25:75)을 이용하였으며 210nm 와 218nm dual lamp에서 PCP를 검출하였다.

Nitrogen limited 배지에서 자란 3종류의 균주에 대하여 배양일수 및 시간별 PCP 및 TCG에 대한 분해력은 각각 아래의 <Fig.3-33> 및 <Fig.3-35>과 같다.

사용한 각각의 균주가 최고의 활성역가를 나타내는 배양후 5일내지 6일이 지나면(후라스크의 액체배지 전면을 균사가 덮고 있는 상태) PCP를 첨가시킨 다음 배양일수별로 PCP 분해력을 측정하였다. 우선 중간보고서에 나타난 것처럼 PH는 PCP 첨가조건하에서 최고의 균사생장을 보이면서 최고의 분해력을 보인다. 벌써 배양1일째에 잔존하는 PCP의 비율은 14%정도로 감소되었으며, 7일째에는 1%정도의 아주 미미한 양만이 검출되었다. CO도 분해력이 상당히 우수하여 7일째에는 투입량의 10%정도로 감소하였다. 이는 초기분해력이 전체의 분해력에 상당한 영향력을 미치며 그 후는 서서히 분해가 이뤄짐을 나타낸다. 그러나 IN은 초기의 분해속도가 느려서 3일째까지 40%의 높은 잔존량을 보였으나 21일째에는 분해율이 10%이내에 접근하였다. 이 결과는 중간보고와 일치하는 결과로써 균주의 PCP에 대한 분해는 PCP의 첨가가 이뤄졌을 때 균사의 빠른 적응성 및 성장성 여부가 중요한 요건임을 의미한다. 별도의 실험 결과로, IN과 CO는 보다 높은 농도( $\geq 100 \mu$ M)의 PCP를 포함하는 액체배지에서는 균사생장의 저해를 많이 받아 분해의 시작이 전혀 이뤄지지 않았으며, 또한 균사의 생장이 이뤄지지 않은 상태에서 PCP를 첨가했을 때에도 전혀 분해가 이뤄지지 않았다. 이는 초기의 균사 성장여부가 PCP의 분해를 가능하게 함을 나타낸다.

한편, 각각의 균주의 균사생장이 최고조에 달한 5일 내지 6일 후에 glass wool을 이용하여 균사를 완전히 제거한 다음 여과액 자체만 가지고 PCP에 대한 분해력을 검정한 결과 배양후 1일이나 21일이 경과하여도 분해력은 10% 미만을 보인다. 이는 여과액이 함유한 균체외효소(LiP, MnP, Laccase)에 의한 PCP의 분해는 미미함을 보이며, 대신 균체내에서의 분해 가능성을 의미한다. 이를 위하여는 각각의 Ligninase정제액과 균체내액에 의한 PCP의 분해능을 검정하는 것이 필요하다고 생각한다.

#### 다. PCP 미생물분해 mechanism

본 연구에서는 중간보고된 PCP가 함유된 배지에서의 성장력이 우수한 3균주에 대하여 액

체배지상에서의 PCP분해력과 분해반응기작을 규명하였고, 또한 동일 3균주에 의한 다른 유기염소화합물인 4,5,6-Trichloroguaiacol(TCG)에 대하여 분해력을 검정하였다. 특히 펄프공장에서는 표백화과정에서 발생하는 TCG류의 유기염소화합물을 다량 배출하고 있으므로 이의 미생물분해처리에 대한 가능성을 타진하기 위하여 예비실험의 단계로 실시하였다.

Pentachlorophenol (PCP, purity, 99%)은 Wako Chemical Co.에서 4,5,6-Trichloroguaiacol(TCG)은 Cambridge Isotope Laboratories에서 구입하여 사용하였다. 중간보고서에서 사용된 균주중 유기염소화합물에서의 균사생장력이 우수한 *Phanerochaete chrysosporium*(PH), *Coriolus versicolor*(CO), INC 206213(IN) 3종류를 선발하여 이용하였다.

먼저 3종의 균주는 효소의 생산을 증가시키기 위하여 PDA배지에서 배양된 후 다시 YMPG 배지로 옮겨져 재배양시킨 것을 shallow stationary phase 액체배지 10mL를 함유한 100mL의 배양후라스크에 접종하여 30℃에서 배양을 했다. 7일간 배양되는 동안 배양후라스크는 99% 순도의 산소로 매일 reflush시켰다. 균사의 생장이 최고조에 달한 배양 7일째에 20mM의 PCP와 TCG stock solution으로부터 50 $\mu$ 씩을 후라스크에 첨가하여 각각 배지내의 유기염소화합물의 농도를 100 $\mu$ M로 조정하였다. PCP는 1, 3, 7, 13, 21일, TCG는 1, 3, 7, 24시간이 경과한 후에 각각의 배양후라스크에 n-Hexane 20mL를 넣은후 5분간 100회 정도를 흔든다음, Buchner funnel을 이용하여 추출한후 유기용매층은 pipette을 이용하여 회수하였다. water 층은 다시 ethylacetate 10mL + n-Hexane 10mL의 혼합용매를 첨가한 후 재추출을 한 후 위에서와 같이 유기용매층을 얻어 전회의 것과 섞은 다음 Beckman GS-15R원심분리기에서 5000rpm으로 5분간 원심분리한 후 상층액을 0.22 $\mu$ m microfilter를 이용하여 여과를 했다. 여과액은 직접 Shim-pack CLC-ODS(0.15m x 6.0 $\phi$ )를 장착한 Shimadzu SPD-10A HPLC에서 분석했다. HPLC eluant는 0.05% phosphoric acid-acetonitrile(25:75)을 이용하였으며 210nm와 218nm dual lamp에서 PCP와 TCG를 검출하였다.

균에 의한 PCP 분해시의 분해산물을 조사하기 위하여 추출된액을 배양일별로 농축을 시켜 -20℃에서 보관하였다. 추출액은 최종적으로 질소가스로 bubbling을 시키면서 100 $\mu$ 로 농축된 후 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide로 유도체화 시킨후 60℃에서 1시간 반응시킨 다음 JEOL JMS-DX303 HF GC-MS (Shimadzu HiCap-CBP1-M25-025 column, 길이 25m, 두께 0.25 $\mu$ m, 내경 0.25mm)를 이용하여 분석하였다.

목재분해미생물을 이용한 PCP의 분해는 위의 연구결과를 종합해보면 가능한 것으로 결론을 내릴 수 있으며, 특히 bacteria를 이용한 PCP의 분해는 저농도에서만 가능하다고 보고되었지만 목재분해균에 의해서는 고농도에서도 PCP의 분해처리가 가능하여 실제 적용에 있어서 유리한 면을 가진다. 이는 목재부후균에 의하여 분비되는 LiP, MnP, 그리고 Laccase의 균체외효소의 역할에 의한 것으로 보고됐다. 그러나 이러한 균체외효소 이외의 다른 반응에 의해서도 분해가 이뤄질 수 있다.

PCP를 첨가한 배지를 배양일수별로 추출, 농축하여 GC-MS를 이용하여 분석한 결과, 아래 <Table 1-7>과 같은 PCP로부터의 분해화합물을 얻을 수 있었다. 배양일수별로 분해화합물



의 발생종류에는 큰 차이가 없으므로 분해반응이 동시에 빠르게 진행되는 것으로 생각되나 일정 화합물의 양적인 변화로 mechanism을 추론해 볼 수 있다. 보다 정확한 mechanism의 pathway는 각각의 분해화합물에 대한 균의 분해과정을 살펴보는 실험이 요구된다.

먼저 PCP를 첨가한지 1일째에 제일 많이 발생하는 PCP 분해산물은 Pentachloroanisole이었다. 이는 PCP가 간단하게 methylation 된 형태의 화합물으로써 이러한 methylation에 의한 화합물은 이용된 3균주에서 제일 많이 발생되었고, Pentachloroanisole은 PCP보다 독성이 상당히 저해되므로 이 자체만으로도 PCP의 detoxification의 효과는 얻을 수 있다. 두 번째로 많이 배양액에서 발견되는 화합물은 PCP의 dechlorination과 hydroxylation에 의한 Tetrachlorophenol과 Tetrachlorohydroquinone이었다. 두 화합물로부터 추론해볼 수 있는 PCP의 분해 mechanism은 radical에 의한 전자의 이동에 의하여 3번 또는 4번의 염소의 dechlorination이 먼저 발생되고 그 곳에 hydroxyl group의 첨가반응이 이뤄짐을 알 수 있다. 또한, Tetrachlorophenol도 PCP와 마찬가지로 쉽게 methylation에 의하여 Tetrachloroanisole로 변환되었으나, 예상되었던 Trichlorophenol이나 dichlorophenol의 화합물은 발견되지 않았다. 이는 Tetrachlorophenol로부터 dichlorophenol까지의 반응은 매우 빠른 속도로 dechlorination이 진행되어 intermediates로서는 발견되지 않는가 생각된다.

한편, 목재분해균에 의한 PCP의 분해에 있어서 분해화합물 이외에 다량의 지방산을 발생시키는데 이의 종류는 C8에서 C18까지로 다양하며 주로 Tetradecanoic acid, Hexadecanoic acid, 그리고 Octadeceno-1-enoic 등의 화합물이 발견됐다. 이는 균의 대사시 분비되는 것으로 사료되며 PCP의 분해시에 어떤 역할을 하는지에 대해서는 아직 명확하게 알려지지 않았으며, 지방산과 PCP의 직접적인 반응도 고려될 수 있다.

<Table 3-20> TMS-Silylated Metabolites during PCP biodegradation by wood rotting fungi, IN, CO, and PH(bp = base peak; mp = molecular peak)

Metabolites	Formula	Major MS peaks
Pentachloroanisole	C7H30C15	75, 130, 165, 167, 214, 237(bp), 263, 265, 267, 278(mp), 280, 282
Tetrachlorohydroquinone	C6H202C14	83, 119, 175, 212, 239, 260, 299(bp), 375, 377, 379, 390(mp), 392, 394
2,3,5,6-Tetrachlorophenol	C6HOC14	83, 93, 125(bp), 165, 195, 239, 254, 287, 289(bp), 291, 302(mp), 304, 306
2,4,5,6-Tetrachlorophenol	C6HOC14	73, 93, 129(bp), 185, 252, 287, 289, 291, 302(mp), 304, 306
Tetrachloroanisole	C6H40C14	75, 131, 168, 201, 203, 229, 231, 244(mp), 246(bp), 248
1-Chloro-2-methyl-3,4,5-methoxyphenol	C10H1304C1	71(bp), 97, 111, 125, 215, 269, 289, 304(mp), 306
2-methyl benzoic acid	C8H8O2	85, 91, 119(bp), 149, 193, 208(mp)

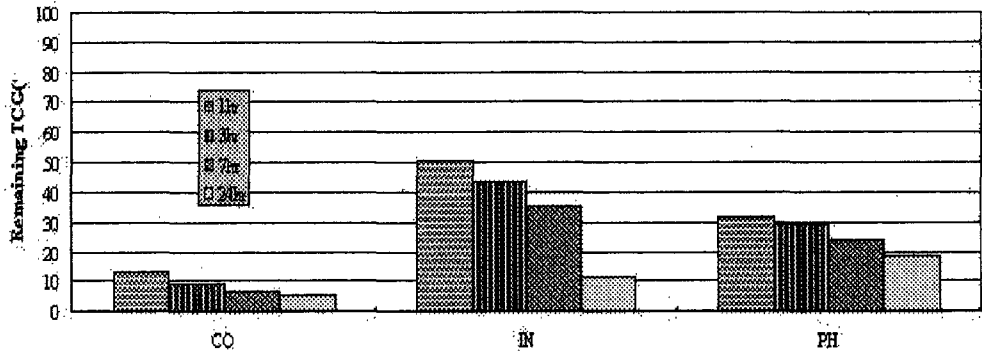


Fig.3-34. TCG biodegradation by PH, CO, and IN depending on incubation hours

라. 선발균주에 의한 TCG에 대한 분해력

균사가 완전하게 성장한 후의 3균주의 TCG에 대한 분해양상은 PCP와 달리 단시간에 이뤄졌다. 그림 2에서 CO의 경우 처럼 배양후 24시간이내에 첨가된 TCG중 5%만의 잔존량을 남기고 분해가 진행됐다. CO는 1시간 이내에 첨가된 TCG의 90% 이상을 분해시켰으며, 그 후의 분해 속도는 초기와 비교하여 상대적으로 느리게 나타났으나, 실제 절대적인 양에 있어서는 0.5ppm 이내의 미미한 양만이 남았다. IN은 초기 50%의 분해율에서 24시간 후에는 90%로, PH는 초기 70%에서 80%정도로 TCG를 분해시켰다. PCP의 분해력 실험시와 마찬가지로 21일까지 배양을 시켰으나 3종류 모두 7일 후에는 후라스크에서 TCG의 검출을 할 수 없었으며, HPLC상에서는 여러 개의 peak가 나타나 다른 분해산물로 변형된 것으로 사료된다. 또한, 7일 이후의 HPLC에서의 peak의 수나 양이 작고 적게 나타나 분해대사의 최종산물인 CO<sub>2</sub>나 H<sub>2</sub>O로의 완전대사가 이뤄진 것으로 짐작할 수 있다.

TCG의 분해에 있어서 특이한 단시간내의 분해력을 좀 더 자세히 알아보기 위하여 균사를 제거한 여과액 상태에 직접 TCG를 첨가하여 배양한 결과는 <Fig.1-50>과 같다. CO의 경우는 <Fig.3-34>와 같이 균사의 존재 유무에 관계없이 거의 같

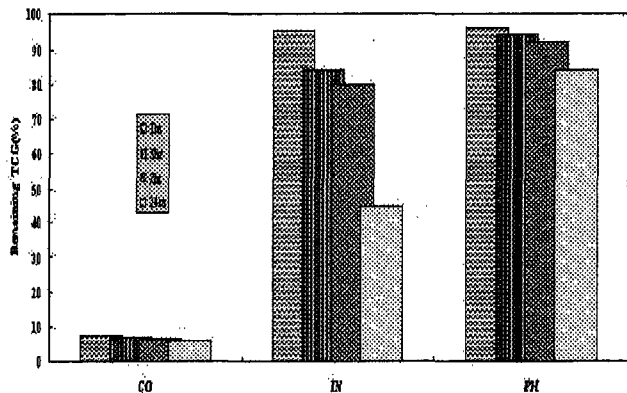


Fig.3-35. TCG biodegradation by the filtrates for CO, IN, and PH depending on incubation hours

은 분해양상을 보였으나, IN과 PH는 여과액 상태에서 분해력이 상당히 떨어짐을 보였다. 특히 PH의 경우는 군사가 존재하는 상태에서는 배양24시간 이내에 80% 이상의 분해율을 보였으나 여과액 자체만으로는 20% 정도밖에 분해력을 보이지 않았다. 이러한 3균주의 TCG에 대한 분해양상은 PCP의 경우와 다르게 군사생장과 함께 발생하는 균체의효소에 의한 것으로 여겨진다.

이를 조사하기 위하여 각 균주의 ligninase 활성역가를 측정하고, TCG를 첨가한 후 배양시간별로 변화하는 induction 효과에 의한 활성역가의 변이를 측정한 결과는 <Fig. 3-36>, <Fig. 3-37>, <Fig. 3-38>과 같다. <Fig. 3-36>의 3균주중 제일 TCG의 분해력이 우수한 CO의 활성역가를 보면 CO는 초기에 상당한 Laccase 활성역가를 가지며 최고의 TCG분해력을 보이는 1시간

째에는 아주 미미한 양으로 감소했다가 이후 점차 증가 추세를 보여 24시간 후에는 원래의 활성역가를 가졌다. 그러나 특이한 점은 다른 Lignin Peroxidase(LiP)나 Manganese Peroxidase(MnP)는 전혀 활성이 나타나지 않았다. 또한 <Fig. 3-37>, <Fig. 3-38>에서 IN의 경우는 원래 약간의 Laccase의 활성역가를 보였으나 TCG를 첨가하면서는 전혀 나타나지 않았으며, 여과액을 사용한 TCG분해에 있어서 아주 낮은 분해율을 보인 PH는 Laccase에 대한 활성역가는 전혀 없으며, 대신 LiP나 MnP가 TCG를 첨가한 1시간후부터 나타났다가 점차 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과로부터 TCG의 분해는 Laccase의 유무 및 양과 긴밀한 상

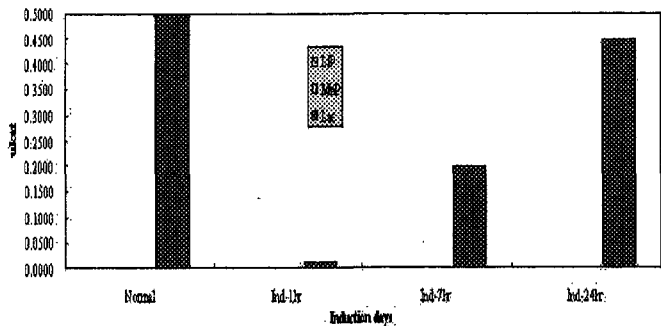


Fig. 3-36. Variation of induced ligninase activity by the addition of TCG(50uL of 20mM)to the culture medium of CO

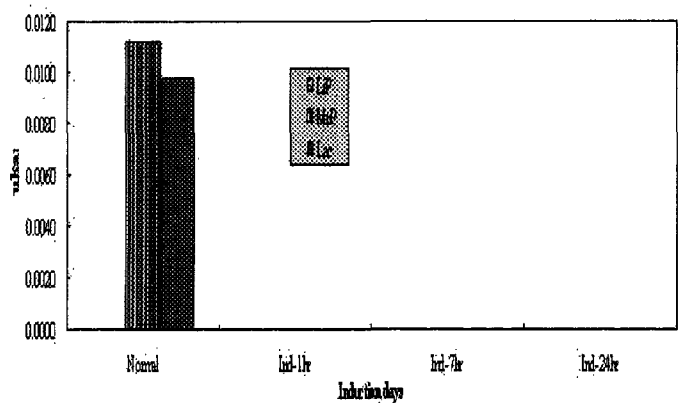


Fig. 3-37. Variation of induced ligninase activity by the addition of TCG(50uL of 20mM)to the culture medium of IN

관관계를 갖고 있는 것으로 나타났으며, 다른 LiP나 MnP와는 상관이 없는 것으로 추측되었다.

또한, 초기의 빠른 분해능은 Laccase의 효소적 특성상 TCG의 polymerization에 의한 것이 아닌가 사료되며 HPLC상에서 broad한

peak (retention time = 25min./30min. run)의

존재는 이를 증명한다. 그러나 위의 PCP 분해상에서 나타났듯이 Trichlorophenol이나 Dichlorophenol은 반응성이 뛰어나 약간의 균체의효소의 존재에서도 빠르게 분해반응이 진행될 수 있으므로 TCG에서는 이를 간과해서는 안될 것이다. 이는 GC-MS를 이용하여 분해산물을 배양시간별로 추적하여 규명할 예정이다.

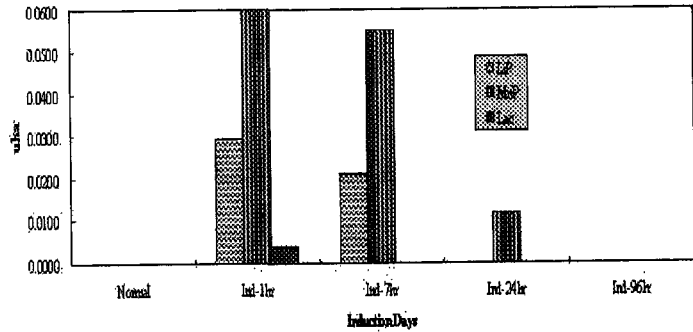


Fig. 3-38. Variation of induced ligninase activity by the addition of TCG(50uL of 20mM)to the culture medium of PH

## 제 5 절 산림부식질의 난분해성물질 제거 시험

### 제 1 항 재료 및 방법

#### 1. Air lift reactor 상에서의 탈색 시험

*T. versicolor* 균을 살레에서 4일간 배양한 후 균사를 건어서 3% alginate가 포함된 액체 배양용 배지(중류수 1L당, Glucose 10g, Malt extract 10g, peptone 2g, yeast 2g, asparagine 0.1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1g)에 넣고 homogenizer로 분쇄한다. 분쇄한 액을 다시 액체 배양용 배지에 혼합한 다음 고정화 장치에 부어 2% 염화칼슘 액에 침지시키면서 bead를 제조하였다.

제조한 bead를 직경 15mm, 길이 600mm 유리 칼럼에 충전하고 펄프 폐액 2.5L를 통과시키면서 24시간 간격으로 시료를 채취하여 pH, 탈색율을 측정하였다.

#### 2. 균 배양에 의한 펄프 폐액 탈색 시험

*T. versicolor* 균을 6일 동안 액체 배양시킨 다음 일정량의 균사를 취하여 전건시켰다. 폐액 77.7mL에 탈색처리액 (중류수 1L당, Glucose 10g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.47g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O 0.48g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 50mg, MnSO<sub>4</sub> 8.5mg, FeCl<sub>3</sub> 3.2mg, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 2.0mg CuSO<sub>4</sub> 2.5mg Thiamin 0.05mg) 6.3mL와 중류수를 첨가하여 100mL가 되도록 하고 1N HCl 완충용액을 사용

해서 pH 5.3으로 조절하였다. 120℃에서 20분간 멸균한 폐액과 탈색처리액이 혼합된 50mL에 천건균사량 0.5g을 넣어 29℃에서 정치 배양하면서 24시간 간격으로 시료를 얻었다. 시료는 0.45μm 마이크로필터로 여과하여 탈색율 및 pH를 측정했다.

## 제 2 항 연구결과

### 1. 펄프 폐액의 탈색제거효과 시험

#### 가. Air lift reactor 상에서의 탈색 시험

처리일수가 증가함에 따라 pH는 서서히 증가하여 초기의 6.55에서 7일째에는 8.43으로 증가하였다. 그러나 탈색율은 50% 미만으로 저조하여 air lift에 의한 탈색제거 효과는 미미하였다.

Table 3-11. pH and color removal rate of E1 effluent treated with *T. versicolor* in air lift reactor depending on treatment days

원액	pH	탈색율(%)	
	9.32	CU= 3035	
1 day	6.55	1959	35.45
2 days	6.99	1673	44.88
4 days	8.17	1619	46.66
5 days	8.30	1619	46.66
6 days	8.35	1653	45.54
7 days	8.43	1728	43.06

#### 나. 균 배양에 의한 펄프 폐액 탈색 시험

균을 액체배양하면서 탈색을 시도했을 때에는 처리일수가 증가함에 따라 air lift 방법과 달리 pH의 감소를 야기시켰다. 그러나 탈색율은 4일째에 75%를 보여 타 방법과 비교하여 훨씬 우수한 결과를 얻었다.

Table 3-12. pH and color removal rate of E1 effluent treated with *T. versicolor* depending on incubation days

원액	pH	CU	탈색율(%)
	9.32	2095	
1 day	5.72	788	62.39
2 days	5.02	686	67.26
3 days	4.65	551	73.70
4 days	4.74	512	75.56

## 제 6 절 산림부식질의 중금속 흡착 특성

### 제 1 항 재료 및 방법

#### 1. 산림부식질의 stirred reactor에서의 중금속 흡착 특성

##### 가. 산림부식질에 의한 중금속 흡착에 관한 흡착 등온선

산림부식질 0.5g을 사용하여 여러 초기 농도의 중금속 용액 200ml에 접촉시킨 후 (온도 25°C, pH : Cr 7.3, Cu 3.5, Cd 2.5, Zn 3.5) 마지막 농도를 ICP로 정량하고 산림부식질에 의해 흡착된 양을 계산한 후 흡착용량 g 값을 결정한다. 중금속 용액의 부피를 V, 사용한 흡착제의 양을 M, 초기농도를 Ci, 마지막 농도를 Cf 라 하면  $g(\text{mg/g})=V \times (C_i - C_f) / (1000 \times M)$ 에 의해 계산한 후 g와 Cf를 plot한다.

##### 나. 산림부식질의 기후대별 임상별 중금속 흡착 특성

기후대별 임상별로 채취한 산림부식질은 50°C에서 72시간 건조시킨 후 Willey mill에서 분쇄하였다. 분쇄된 산림부식질은 40~60mesh체로 걸러서 polyethylene병에 넣고 밀봉 보관하였다.

Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>2+</sup>의 중금속 이온은 Kanto Chemical Co.에서 제조된 1000ppm의 원자 흡광 분석용 시약을 사용하였다. 중금속 정량은 Varian 사의 ICP·AES (Inductively coupled plasma·Atomic emission spectrophotometer)-Liberty series II를 사용하였으며 사용조건은 아래 표와 같이 적용하였다.

Table 3-13. Condition of ICP

• Wave length[nm] : Cr-267.716, Zn-213.856, Cu-327.396, Cd-228.802
• Integration time : 1.00 s
• Power [kw] : 1.00
• Viewing Height : 10
• PMT voltage [V] : 650
• Plasma flow [L/min] : 15.0
• Auxiliary flow [L/min] : 1.50

\*파장을 제외한 나머지 조건들은 4가지 중금속이 똑같이 적용되었다.

##### 다. 요인별에 따른 중금속 흡착 특성

Stirred reactor에서 산림부식질에 의한 중금속 제거율을 조사하기 위해서 산림부식질 1g을 100ml의 초기농도 10ppm의 Cr, Zn, Cu, Cr 용액에 넣고 온도 30°C, 반응시간 60분, 진탕속도 120rpm으로 반응시켰다. 반응시간, 입자크기, 중금속 농도에 따른 중금속 제거효율은 온도 30°C, 진탕속도 120rpm의 조건으로 반응시키면서 조사하였다.

## 2. Packed-bed column 에서의 산림부식질에 의한 중금속 제거 효과

Packed-bed column에 산림부식질 3g을 packing한 column에 초기농도 10ppm의 중금속 Cu, Zn, Cr, Cd을 각각 유량 2ml/min로 흘리면서 column 유출수를 메스실린더로 모아 각각의 중금속 농도를 ICP로 측정하였다.

### 제 2 항 연구결과

#### 1. 산림부식질의 stirred reactor에서의 중금속 흡착 특성

##### 가. 산림부식질에 의한 중금속 흡착에 관한 흡착 등온선

사용된 중금속에 따라 최대 흡착용량에서 차이를 보이거나 Langmuir type의 흡착등온선을 보여주고 있다. 난대활엽수림의 산림부식질에서 Cr의 최대 흡착용량은 26mg/g, Zn은 20mg/g, Cu는 41mg/g, Cd은 8mg/g을 보여주고 있다. 산림부식질의 경우 Cd의 경우는 아주 낮은 흡착능력을 가지고 있음을 보여주고 있다. Cr의 경우 저농도에서는 낮은 흡착 특성을 가지고 있으나 농도가 올라감에 따라 점차 흡착 능력이 커지는 것을 보여주었다. 산림부식질의 경우 수피보다는 중금속의 최대 흡착용량이 높게 나타나고 있으나 활성탄이나 탄화 수피보다는 낮게 나타났다.

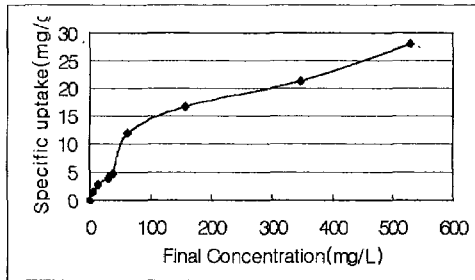


Fig.3-39. Adsorption isotherm of chromium ion by humic substances

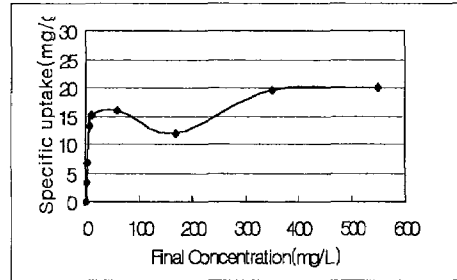


Fig.3-40. Adsorption isotherm of zinc ion by humic substances

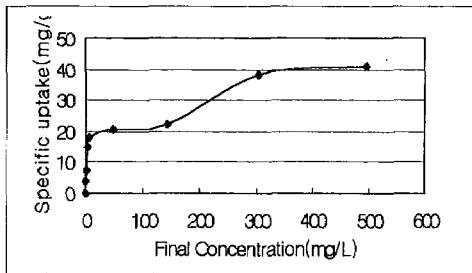


Fig.3-41. Adsorption isotherm of copper ion by humic substances

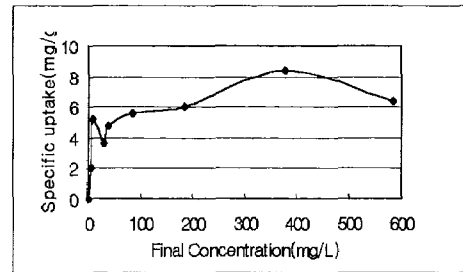


Fig.3-42. Adsorption isotherm of cadmium ion by humic substances

#### 나. 산림부식질의 기후대별 임상별 중금속 흡착 특성

임상별, 기후대별 산림부식질에 의한 중금속 제거율은 Cu가 가장 높았으며, 다음으로 Zn, Cd, Cr 순으로 제거율이 높게 나타났다. Cu의 경우 기후대별, 임상별에 관계없이 90%이상의 높은 흡착율을 보여 주었다. 기후대별 산림부식질간의 중금속 제거율을 살펴보면 난대 지역의 산림부식질이 온대북부, 중부, 남부지역의 산림부식질보다 중금속 제거율이 2~15% 정도 높게 나타나고 있다. 또한 임상별 산림부식질간의 차이는 침엽수림이나 혼효림보다 활엽수림이 높게 나타났다. 산림부식질에 의한 Cr의 제거율은 30~50%정도의 낮은 제거 효율을 보여주었다. 임상별 기후대별 제거효율은 온대남부지역의 산림부식질에서 높게 나타나고 있으며 침엽수대에서 약간 높은 것으로 나타났다.

Zn의 경우는 80%이상의 제거효율을 보여주고 있으며 활엽수림이 침엽수나 혼효림 지역에서 채취한 산림부식질보다 효과가 훨씬 우수하였다. Cd의 경우는 40~90% 정도로 산림부식질간 제거율의 차이가 심하게 나타났다. 난대 활엽수림대에서 채취한 산림부식질의 경우 90%이상의 높은 제거 효율을 보이며 대체로 활엽수림이 좋은 효과를 나타냈다.

종합적으로 볼 때 난대림에서 채취한 산림부식질이 중금속 제거에 효과가 크게 나타나고 있다. 이는 난대림에서 채취한 산림부식질의 경우 부후 정도가 심하여 중금속 흡착에 유리한 작용기를 많이 가지고 있기 때문인 것으로 사료된다.

Table 3-14. Removal efficiency of heavy metals by various humic substance in a stirred reactor

Climate Zone	Forest type	Removal efficiency (%)			
		Cr	Zn	Cu	Cd
Subtropical	Deceduous	37	95	96	91
	Coniferous	36	92	97	67
	Mixed	34	90	94	76
North Temp	Deceduous	28	85	95	65
	Coniferous	45	81	93	41
	Mixed	35	81	92	57
Mid Temp.	Deceduous	29	92	94	89
	Coniferous	36	79	91	46
	Mixed	50	46	92	81
South Temp.	Deceduous	40	90	96	80
	Coniferous	52	77	90	44
	Mixed	40	87	92	76

#### 다. 반응 시간 및 온도에 따른 중금속 흡착 특성

Zn과 Cu는 5분이내 90%이상의 높은 흡착을 보여주고 있으며, Cd의 경우는 10분이내에서 최대의 흡착율을 나타내서 빠른 흡착특성을 보여주었다. 그러나 Cr은 초기에는 중금속 제거율이 매우 낮게 나타나고 있으나 시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 60%이상의 흡착



을을 보여주고 있는데, 다른 금속에 비해 reactor 상에서 장시간의 체류시간이 필요함을 의미한다.

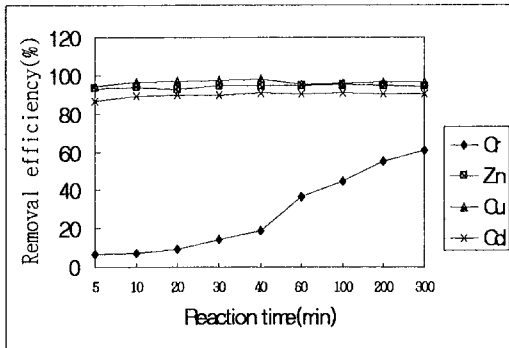


Fig. 3-43. Removal efficiency of heavy metal ions on reaction time by humic substance

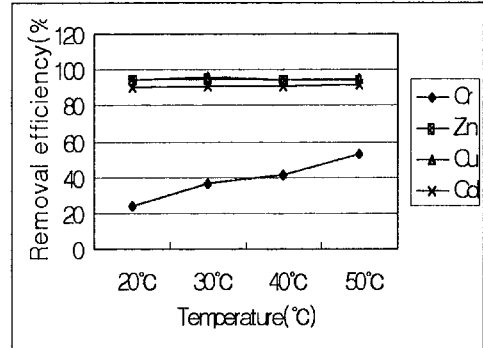


Fig. 3-44. Removal efficiency of heavy metal ions on temperature by humic substance

Zn, Cu, Cd은 반응온도에 별 영향을 받지 않고, Cr의 경우만 반응온도가 증가할수록 중금속 제거율이 증가하는 경향을 보여주고 있다. 특히 Cu와 Zn의 경우 모든 반응온도에서 입상에 관계없이 90%이상의 높은 중금속 제거율을 보이며, Cd의 경우 난대 침엽수림에서는 반응온도가 증가함에 따라 흡착율이 약간 증가하는 경향을 보였다.

#### 라. 입자 크기에 따른 중금속 흡착 특성

산림부식질의 입자크기에 따른 중금속 제거율은 별 영향을 받지 않음을 보여주고 있다. 또한 중금속과 산림부식질 종류별 입자크기에 의한 차이도 나타나지 않았다. 40mesh이하의 입자간에는 거의 차이가 나타나지 않았으나 20~40mesh의 입자크기에서는 중금속 제거율이 약간 떨어지는 것으로 보아 입자크기가 더 크게 되면 영향을 받을 것으로 생각된다.

#### 마. 중금속 농도에 따른 중금속 흡착 특성

처리 중금속의 농도 변화에 따른 중금속 흡착 제거율을 살펴보면 Cu의 경우는 산림부식질의 종류에 관계없이 50ppm까지 90%이상의 높은 흡착율을 보여주고 있다. Zn의 경우 20ppm 이하의 농도에서는 산림부식질의 종류에 관계없이 90%이상의 높은 흡착율을 보여주고 있으나, 40ppm이상의 농도에서는 흡착율이 떨어짐을 보여주고 있다. 특히 난대 침엽수림에서 채취한 산림부식질에서는 Zn농도가 높아짐에 따라 급격하게 흡착율이 떨어짐을 보여주고 있다. 따라서 Zn의 경우는 고농도의 중금속제거에는 적당하지 않음을 알 수 있으며, 20ppm 전후의 농도에서 사용함이 적절하다고 판단된다.

Cd의 경우는 10ppm 정도에서 높은 흡착율을 보여주고 있으나 20ppm이상에서는 농도가 증

가함에 따라 중금속 흡착율도 급격히 떨어짐을 보여주고 있다. 산림부식질의 종류에 따른 중금속 흡착율의 차이는 혼효립과 활엽수 쪽이 훨씬 우수함을 나타내었다. Cr의 경우는 모든 산림부식질에서 낮은 흡착율을 보여주고 있으며, 중금속 농도에 따른 흡착율의 변화는 점차 줄어드는 경향을 보여주고 있으나 농도에 따른 변이는 그다지 크지 않았다.

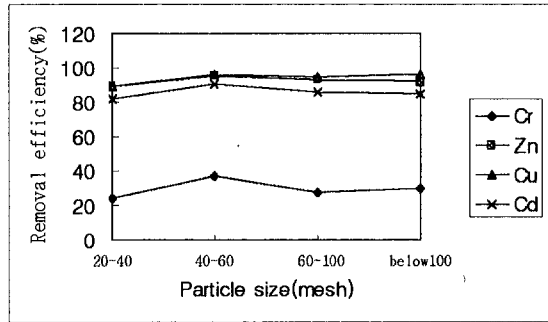


Fig.3-45. Removal efficiency of heavy metal ions on particle size by humic substance

## 2. Packed-bed column에서 산림부식질에 의한 중금속 제거 효과

Packed bed에서는 stirred reactor에서 보다 중금속의 흡착 제거율이 훨씬 높게 나타나고 있다. Zn, Cu, Cd의 중금속은 거의 100% 제거 효율을 보여주고 있으며 Cr의 경우도 stirred reactor에 비해 제거율이 30~40% 정도 높게 나타나고 있다..

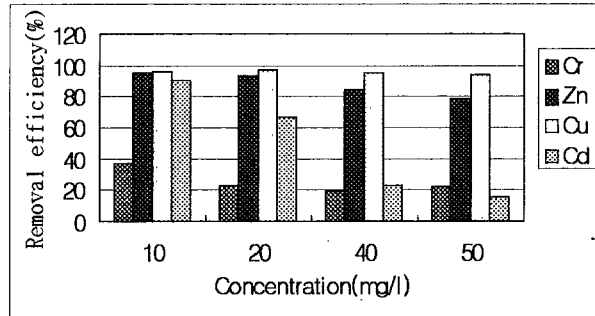


Fig.3-46. Removal efficiency of heavy metal ions on concentration by humic substances

반응 초기인 20ml 경우 Zn, Cu의 경우는 모든 부식질에서 100%의 제거 효율을 보여주고 있다. Cd의 경우는 온대 남부 침엽수림을 제외한 모든 산림부식질에서 98%의 제거효율을 보여주고 있어서 효율적인 Cr 제거를 위해서는 산림부식질의 선정이 상당히 중요하다는 것을 알 수 있다.

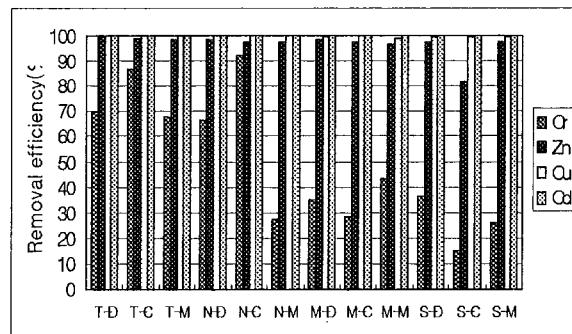


Fig.3-47. Removal efficiency of heavy metal ions by various humic substances in a packed bed column [ Effluent volume : 20ml ]

Packed bed column에서 유출량에 따른 중금속 흡착특성은 모든 산림부식질에서 column의 유출량이 증가함에 따라 Zn, Cu, Cd의 경우는 거의 변화가 일어나지 않고 500ml 유출량에서도 농도가 갑자기 올라가는 breakthrough 현상이 나타나지 않고 있다. 그러나 Cr의 경우는 유출량이 증가함에 따라 중금속 제거율은 점차 감소하는

경향을 보여주고 있다. 특히 온대북부 활엽수와 침엽수대에서는 시간이 경과함에 따라 중금속 제거효율이 급격히 떨어지고 있음을 보여주고 있다.

## 제 7 절 난분해성 물질의 무독화 기술 개발

### 제 1 항 재료 및 방법

#### 1. 목질분해균에 의한 pentachlorophenol 분해

##### 가. 시약

PCP ( $C_5HOCl_5$ ; purity, 99%)는 Wako Chemical Co.에서 구입하여 사용하였으며 Bacto-peptone 등의 균주배양용 시약은 Difco 등에서 구입하여 사용하였다.

##### 나. 공시균주 및 배양

사용된 균주의 종류는 임업연구원 미생물화학실 보존 균주를 이용하였으며 *P. chrysosporium* (PH), *T. versicolor* (CO), *I. cuticularis* (IN) 3종류를 선발하여 이용하였다.

##### 다. PCP에 대한 분해 메카니즘 조사

균사의 생장이 최고조에 달한 배양 5~6일째에 20mM의 PCP stock solution으로부터 50 $\mu$ l씩을 후라스크에 첨가하여 각각 배지내의 유기염소화합물 농도를 100  $\mu$ M로 조정하였다. 1, 3, 7, 13, 21일이 경과한 후에 각각의 배양후라스크에 n-Hexane 20ml를 넣은 후 5분간 100회 정도를 흔든 다음, separator funnel을 이용하여 추출한 후 유기용매층은 피펫을 이용하여 회수하였다. water층은 다시 ethylacetate 10ml와 n-Hexane 10ml의 혼합용매를 첨가한 후 재추출을 한 후 위에서와 같이 유기용매층을 얻어 전회의 것과 섞은 다음 0.22  $\mu$ m microfilter로 여과했다.

##### 라. Chromatography

여과액은 Rotary evaporator를 이용하여 10ml로 농축된 여과액은 최종적으로 질소가스로 서서히 bubbling을 시키면서 100 $\mu$ l로 농축시켰다. 농축액은 N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide로 유도체화 시킨후 60 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 다음 JEOL JMS-DX303 HF GC-MS (Shimadzu HiCap-CBPI-M25-025 column, 길이 25m, 두께 0.25 $\mu$ m, 내경 0.25mm)를 이용하여 분석하였다.

#### 2. 목질분해균에 의한 trichloroguaiacol 분해

##### 가. 시약

4,5,6-Trichloroguaiacol (TCG; purity, 99%)은 Cambridge Isotope Laboratories에서 구입하여 사용하였다.

### 나. 균주 및 배양

임업연구원 미생물화학실 보존 균주인 *P. chrysosporium* (PH), *T. versicolor* (CO), *I. cuticularis* (IN) 3종의 균주를 이용하였다. 효소의 생산을 증가시키기 위하여 PDA배지에서 배양한 후 다시 YMPG 배지로 옮겨져 재배양시킨 것을 shallow stationary phase 액체배지 10ml를 (pH 5.4) 함유한 100ml의 배양후라스크에 접종하여 30℃에서 배양을 했다.

### 다. TCG 분해산물 분석

방법은 위의 PCP의 경우와 같다.

### 라. 효소활성 및 역가 측정

YMPG 배지에서 자란 4mm 크기의 plug을 질소제한 배지인 shallow stationary culture에 4내지 5개를 넣고 액체배양을 했다. 5, 6일 후 균사의 표면 아래에서 소량의 균체외액을 채취하여 활성역가의 측정에 이용했다. induction 효과를 측정하기 위하여는 균사가 성장한 5, 6일후에 TCG를 첨가한 후 분해력 측정시 이용한 배양일수 및 시간별로 시료를 채취하여 활성역가를 UV/Vis spectrophotometer로 측정하였다. 활성역가의 계산은 veratryl aldehyde는  $\epsilon_{310} = 9300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , ABTS는  $\epsilon_{414} = 36000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 적용하였다.

## 3. 목질분해균에 의한 monochlorophenol의 분해

임업연구원 미생물화학실 보존 균주인 *D. concentrica*, *C. versicolor*, *P. ostreatus*의 효소 생산을 증가시키기 위하여 질소제한 배지에서 배양을 했다. Monochlorophenol 저항성 시험을 위하여 2% malt extract agar 배지(20g/1 l) 상에서 50, 100, 200ppm이 되게 각각의 monochlorophenol을 첨가하여 14일간 30℃에서 배양을 하면서 매일 매일 성장하는 균사의 성장길이를 측정하여 각 균주의 해당 monochlorophenol에 대한 저항성을 측정하였다. 효소 역가 측정 방법은 TCG의 경우와 같다.

## 제 2 항 연구결과

### 1. 목질분해균에 의한 pentachlorophenol 분해

#### 가. PCP 미생물분해 mechanism

PCP를 첨가한 배지를 배양일수별로 추출, 농축하여 GC/MS를 이용하여 분석한 결과, 아래 표와 같은 대사화합물을 얻었다. 배양일수별로 대사화합물의 발생종류에는 큰 차이가 없으므로 분해반응이 동시에 빠르게 진행되는 것으로 생각되나 일정 화합물의 양적인 변화로 mechanism을 추론해 볼 수 있다.

먼저 PCP를 첨가한지 1일째에 제일 많이 발생하는 PCP 대사산물은 pentachloroanisole(PCA)이었다. PCA는 PCP보다 독성이 상당히 약하므로 이러한 메틸화에 의한 반응으로 PCP의 무독화 효과를 얻을 수 있다.

PCP 대사산물 중 두 번째로 많이 검출되는 화합물은 PCP의 탈염소화와 산화, 환원, 수산화에 의한 tetrachlorophenol과 tetrachlorohydroquinone이었다. 위의 두 화합물로부터 추론해 볼 수 있는 PCP의 분해 mechanism은 radical에 의한 산화로 전자의 이동에 의한 para 위치에 있는 3번 또는 4번 탄소의 염소에 탈염소화가 먼저 발생되면서 quinone을 형성한 후 환원에 의한 tetrachlorohydroquinone에 수산기의 첨가반응이 이뤄지는 것으로 생각된다. tetrachlorophenol도 PCP와 마찬가지로 쉽게 메틸화에 의하여 tetrachloroanisole로 변환되었으나, 예상되었던 trichlorophenol이나 dichlorophenol의 화합물은 발견되지 않았다. 이는 tetrachlorophenol로부터 dichlorophenol까지의 반응은 매우 빠른 속도로 탈염소화가 진행되어 intermediates로서는 발견되지 않는가 생각된다. 그러나, 방향족 유기염소화합물의 중간분해산물인 benzoic acid, salicylic acid 등의 화합물도 GC/MS TIC상의 초기 retention time에서 발견됐다.

Table 3-15. TMS-silylated metabolites during pentachlorophenol biodegradation by wood rot fungi, *P. chrysosporium*, *T. versicolor*, and *I. cuticularis* (bp = base peak; mp = molecular peak).

Metabolites	Formula	Major mass peaks
Pentachloroanisole	C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> OCl <sub>5</sub>	75, 130, 165, 167, 214, 237(bp), 263, 265, 267, 278(mp), 280, 282
Tetrachlorohydroquinone	C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	83, 119, 175, 212, 239, 260, 299(bp), 375, 377, 379, 390(mp), 392, 394
2,3,5,6-Tetrachlorophenol	C <sub>6</sub> HOC <sub>4</sub>	83, 93, 125(bp), 165, 195, 239, 254, 287, 289(bp), 291, 302(mp), 304, 306
2,4,5,6-Tetrachlorophenol	C <sub>6</sub> HOC <sub>4</sub>	73, 93, 129(bp), 185, 252, 287, 289, 291, 302(mp), 304, 306
Tetrachloroanisole	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OCl <sub>4</sub>	75, 131, 168, 201, 203, 229, 231, 244(mp), 246(bp), 248
1-Chloro-2-methyl-3,4,5-methoxyphenol	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>4</sub> Cl	71(bp), 97, 111, 125, 215, 269, 289, 304(mp), 306
2-methyl benzoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	85, 91, 119(bp), 149, 193, 208(mp)

## 2. 목질분해균에 의한 trichloroguaiacol 분해

### 가. TCG 분해메카니즘

초기에 (1시간 이내에) 빠른 분해 양상을 보여주는 것처럼 보였던 *T. versicolor*에 의한 TCG 분해는 GC/MS의 분석 결과 분해가 아닌 중합이 일어나는 것으로 판명되었다. GC/MS의 TIC 상에서 retention time 35.6분에서 발견되는 큰 peak는 주로 2개의

trichloroguaiacol이 ester화되어 중합되어진 것으로 여겨지는 분자량 546의 4,5,6-trichloro-3-(2,3-dichloro-4,5-dimethoxy benzoic) guaiacol이 많은 양으로 초기에 형성되었다. 이 형태의 dimer로부터 메틸화와 탈염소화가 일어나면서 dichloro 화합물이 된 후에 빠르게 카르복실기에 의하여 TCG의 3번 탄소에서 ester화 반응이 일어남을 알 수 있다.

카르복실기는 TCG 분해시 특이하게 많이 생성되는 지방산으로부터 유리된 것으로 여겨지며, 실제 GC/MS 분석에서도 hexadecanoic, tetradecanoic, octadecanoic 등의 C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub> 지방산이 배양과 함께 다량 생산됨이 확인되었다. 분해가 진행됨에 따라 monomer의 새로운 변형된 형태의 화합물이 생성되면서 dimer의 양은 줄어들음을 보였으며, 중합된 dimer가 단리되는 것으로 여겨졌다. 제일 빨리 그리고 많이 형성되는 화합물은 TCG의 메틸화에 의한 3,4,5-trichloro veratrole이었으며, dimethoxy를 가지는 benzoic acid, 또한 trichlorocatechol, dichloro guaiacol과 4-hydroxy-5,6-dichloroguaiacol도 분석되었다. 그러므로 목질분해균에 의한 TCG 분해시의 주요 반응은 중합, 메틸화, 탈염소화, 산화, 환원 등의 반응이 연속적으로 또는 개별적으로 일어남을 알 수 있다.

Table 3-16. TMS-silylated metabolites during the biodegradation of TCG by white rot fungi, *P. chrysosporium*, *T. versicolor*, and *I. cuticularis* (bp = base peak; mp = molecular peak).

Metabolites	Formula	Major mass peaks
3,4,5-trichloroveratrole	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>	84, 133, 147, 162, 199, 225, 227, 229, 240(bp, mp), 242, 244
3,4,5-trichlorocatechol	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>	93, 115, 147, 207, 238, 253, 268, 270, 307, 356(mp), 358(bp), 360
5,6-dichloroguaiacol	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	73, 105, 149, 151, 219, 234(bp), 236, 264(mp), 266
4-hydroxy-5,6-dichloro-guaiacol	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub>	93, 95, 117, 186, 207, 229, 271, 272, 274, 302, 304, 322(bp), 324, 352(mp), 354
1,2-dichloro-4-(1,2-dichloro veratrole) veratrole	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> Cl <sub>4</sub>	73(bp), 95, 133, 193, 207, 252, 272, 307, 309, 355, 410(mp), 412, 414
4,5,6-trichloro-3-(2,3-dichloro-4,5-dimethoxybenzoic) guaiacol	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> Cl <sub>5</sub>	73(bp), 133, 207, 249, 281, 309, 355, 388, 390, 410, 458, 460, 462, 475, 530, 532, 534, 546(mp), 548, 550
3,4-dihydroxy-5,6-dichloro guaiacol	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub>	75(bp), 117, 132, 207, 281, 309, 354, 395, 425, 427, 440(mp), 442
dimer(unknown)	Cl <sub>5</sub>	73, 133, 177, 191, 207, 249, 281, 309, 355, 388, 390, 392, 410, 458, 460, 462, 474(mp), 476(bp), 478
dimer(unknown)	Cl <sub>5</sub>	81, 133, 137, 191, 207(bp), 281, 341, 385, 429, 469, 504, 578, 600(mp), 602, 604
dimer(unknown)	Cl <sub>4</sub>	73, 133, 193, 207(bp), 267, 281, 354, 355, 429, 453, 497, 534, 561, 596(mp), 598, 600

### 3. 목질분해균에 의한 monochlorophenol의 분해

펄프화 과정중 표백공정에서 발생하는 폐액 주성분인 2-chlorophenol, 3-chlorophenol, 4-chlorophenol에 대한 *D. concentrica*, *T. versicolor*, *P. ostreatus* 3균주를 이용한 저항성 시험 및 4,5,6-trichloroguaiacol에 대한 분해기작을 *T. versicolor* 액체배지상에서 intermediate나 metabolites를 GC/MS로 분석하여 추론하였다.

#### 가. 저항성 시험

Phenol의 방향환에 1개의 염소가 C2, C3, C4에 각각 치환하는 2-, 3-, 4-chlorophenol에 대한 3균주의 저항성 시험을 한 결과, *T. versicolor*는 chlorophenol의 종류별 또는 농도별로 균사의 성장 제한을 받지 않았다. 50, 100, 200 ppm에서 최대 군사성장 속도는 약 2cm/일씩 일정하게 성장을 하며, 7일 또는 8일 이내에 살레 전면에 균사가 자라서 monochlorophenol의 농도나 종류에 관계없이 생장이 이루어졌다.

*D. concentrica*는 2-chlorophenol에서 7일 만에 농도에 관계없이 균사의 생장이 최대에 이르렀으나, 3-chlorophenol과 4-chlorophenol에서는 100ppm 이상으로 농도가 증가하면 11일 또는 13일까지 군사 생장이 느려져 제한을 받고 있는 것으로 나타났다. 1개의 염소가 치환된 같은 monochlorophenol이라도 염소의 치환 위치에 따라 균의 저항성이 달라지며, 농도별로도 차이를 나타냈다.

*P. ostreatus*는 2-, 3-chlorophenol에서는 위의 두 균주와 달리 control 자체의 생장이 14일 정도로 상당히 느렸으며 오히려 유기염소화합물을 첨가했을 때 1~2일 정도로 생장이 촉진되는 결과를 나타내서 100ppm을 첨가했을 때 제일 양호한 군사 성장을 보였다. 결론적

으로 저항성 시험에 이용된 3균주 중 *T. versicolor*는 염소가 1개만 치환된 2-, 3-, 4-chlorophenol의 분해에 있어서 군사 성장에 제한을 받지 않고 우수한 성장력을 갖고 있는 것으로 나타났다.

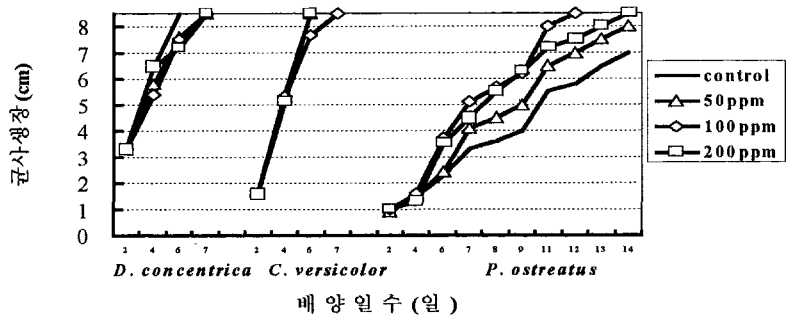


Fig.3-48. Comparison of hyphal growth of *D. concentrica*, *T. versicolor*, and *P. ostreatus* in 2% malt extract agar medium with various concentration of 2-chlorophenol depending on incubation days

#### 나. pH와 군사량 변이

4-chlorophenol을 첨가한 액체배지 배양일수별 pH나 군사량은 *P. ostreatus* > *T. versicolor* > *D. concentrica* 순이며, 균주내에서 배양일수별로 pH의 변이는 유동적이며 군사량은 조금씩 증가하는 경향을 보이거나 뚜렷한 증가는 보이지 않고 있다. 3균주 모두 2-,

3-, 4-chlorophenol에서 약 pH 3.1~3.5, 균사량도 0.03~0.07g/g로 일정하여 배양일수별로는 차이가 없었으며, *P. ostreatus*만 4-chlorophenol에서 균사량이 0.06g으로 높게 나타났다. 즉, 2-, 3-, 4-chlorophenol의 목질분해균을 이용한 분해에 있어서 pH나 균사량의 변이는 적은 것으로 나타났다.

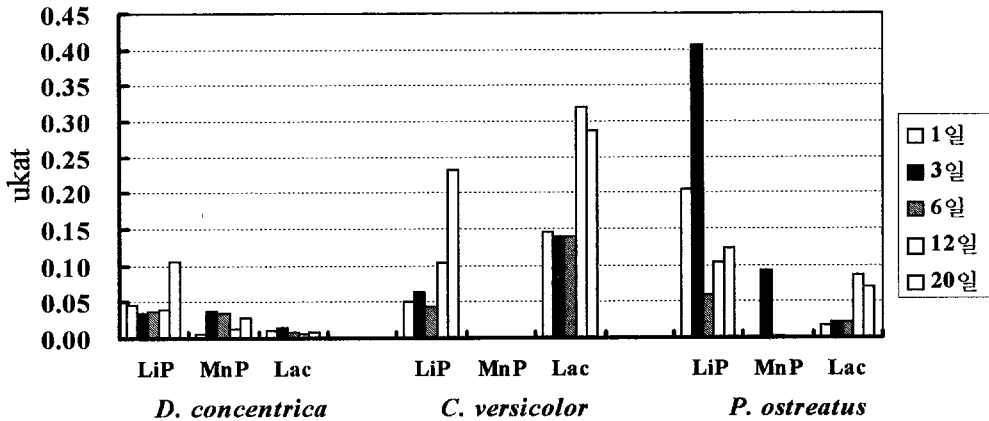


Fig.3-49. Induction effect of three ligninases from *D. concentrica*, *T. versicolor*, and *P. ostreatus*, when 4-chlorophenol was added to nitrogen limited liquid culture

다. 효소의 induction effect

4-chlorophenol을 첨가하여 배양일수별로 변화하는 3균주의 ligninase의 induction 효과는 Fig. 5와 같다. *C. versicolor*와 *P. ostreatus*의 경우는 높은 laccase의 induction 효과를 나타내면서 monochlorophenol의 분해에 영향을 주는 것으로 생각된다. 그러나 *D. concentrica*는 다른 균주와 비교하여 laccase의 induction 효과는 없지만 LiP의 induction 효과가 뚜렷함을 보였다. 저항성 시험과 관련지어서 monochlorophenol의 분해에는 LiP나 laccase의 역가가 관련됨을 나타냈다.

## 제 8 절 결론

### 1. 산림부식질의 난분해성물질 제거 시험

가. Air lift reactor 상에서 펄프 폐액의 탈색처리는 처리일수가 증가함에 따라 pH는 증가하며 탈색율은 50% 미만으로 저조하다.

나. 균의 액체 배양에 의한 펄프 폐액의 탈색율은 처리 4일째에 75% 이상을 나타내어 air lift법이나 packed bed 방법보다 우수하였다.



## 2. 산림부식질의 중금속 흡착 특성

가. 난대활엽수림의 산림부식질에서 Cr의 최대 흡착용량은 26mg/g, Zn은 20mg/g, Cu는 41mg/g, Cd은 8mg/g을 보였다.

나. 임상별, 기후대별 산림부식질에 의한 중금속 제거율은 Cu가 가장 높았으며, 다음으로 Zn, Cd, Cr 순으로 제거율이 높게 나타났다. Cu의 경우 기후대별, 임상별에 관계없이 90%이상의 높은 흡착율을 보여 주었다.

다. 기후대별 산림부식질간의 중금속 제거율은 난대지역의 산림부식질이 온대북부, 중부, 남부지역의 산림부식질보다 중금속 제거율이 2~15%정도 높게 나타났다. 또한 임상별 산림부식질간의 차이는 침엽수림이나 혼효림보다 활엽수림이 높게 나타났다.

라. Zn, Cu, Cd은 반응온도에 별 영향을 받지 않고, Cr의 경우만 반응온도가 증가할수록 중금속 제거율이 증가하는 경향을 보여주고 있다.

마. 중금속 제거율은 산림부식질 입자크기에 따라 별 영향을 받지 않았으며 40mesh이하의 입가간에는 거의 차이가 나타나지 않았다.

바. Packed bed에서 Zn, Cu, Cd의 중금속은 거의 100% 제거 효율을 보여주고 있으며 Cr의 경우도 stirred reactor에 비해 제거율이 30~40%정도 높게 나타나고 있다.

사. 난대 지방에서 채취한 산림부식질이 다른 지방에서 채취한 산림부식질보다 Cr 제거에 훨씬 우수한 능력을 보여주고 있으며, 임상별로 살펴볼 때는 침엽수림이 활엽수나 혼효림에 비해 좀 더 우수한 Cr 제거 효율을 보여주고 있다.

## 3. 난분해성 물질의 무독화 기술 개발

가. 다량으로 발생하는 PCP 대사산물은 PCP보다 독성이 약한 pentachloroanisole이었고, tetrachlorophenol과 tetrachlorohydroquinone도 발견되어, PCP의 분해 mechanism은 메틸화, radical 반응에 의한 산화, 탈염소화, 환원, 수산화로 추론해 볼 수 있다.

나. 초기의 높은 TCG 분해력은 laccase에 의한 TCG의 radical 형성에 의하여 초기증합에 의한 dimer의 다량 형성으로 확인되었다.

다. laccase에 의한 증합반응으로 TCG의 monomer의 양이 줄어든 후에 서서히 monomer로의 단리가 이뤄지고 탈염소화, 메틸화, 산화, 수산화에 의한 TCG 자체의 분해가 시작되어 trichloroveratrole, trichlorocatechol, dichloroguaiacol 등의 분해대사산물이 생성되는 것으로 추론할 수 있다.

라. 균체외액의 효소적 특성이 TCG 분해에 영향을 미치고 laccase는 TCG를 첨가하면서 유도에 의하여 재생산되는 것으로 밝혀졌다. 즉, laccase의 유무 및 활성도가 TCG의 분해와 밀접한 관계가 있음을 보여주었다.

마. *T. versicolor*는 염소가 1개만 치환된 2-, 3-, 4-chlorophenol의 분해에 있어서 균사 생장에 제한을 받지 않고 우수한 생장력을 갖고 있는 것으로 나타났다.

바. 2-, 3-, 4-chlorophenol의 목질분해균을 이용한 분해에 있어서 pH나 균사량의 변이는 적었고, LiP나 laccase의 역가가 관련됨을 나타냈다.

## 제 4 장 버섯균을 이용한 중금속 제거

### 제 1 절 목재부후발현기구를 이용한 중금속 제거균주 개발

제 1 항. 크롬 및 비소의 활성균주의 선발.

선발된 내성균주를 중크롬산칼리움 500ppm과 2000ppm 함유 한천평판배지에서의 균사생장경을 측정 한 결과와 오산화비소 500ppm 함유 한천평판배양기에서의 균사생장경을 표 4-1에 나타냈다.

크롬 500ppm 첨가 배양기에서의 크롬내성은 *D. concentrica* = *G. trabeum* > FRI 20621 = 부후개떡버섯 > *C. globosum* > *C. piceae* > 꽃구름버섯 > *C. puteana* = 잣버섯의 순이었다. 이들 균주중 크롬에 보다 내성이 큰 균주를 선발하기 위하여 중크롬산칼리움 2000ppm 혼합 한천평판배지에 접종한 결과, 활성이 가능한 균주는 *D. concentrica*과 FRI 20621만 이었다.

한편 비소함유 한천평판배지에서 내성이 강한 순위는 *D. concentrica* = FRI 20621 > 영지버섯 = 잎새버섯 = *C. globosum* = 부후개떡버섯 > *G. applanatum* > 말굽버섯 = 구름버섯 = *G. trabeum* 순 이었다.

표 4-1. Fungal growth in chrominum and arsenate contained agar medium

Fungi	Fungal growth rate		
	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (ppm) concentration		As <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm) concentration
	500	2,000	500
<i>G. lucidum</i>	-	NT	++
<i>G. frondosa</i>	-	NT	++
<i>F. fomentarius</i>	-	NT	+
<i>F. annosa</i>	-	NT	-
FRI 20621	+++	+	++++
<i>X. polymorpha</i>	-	NT	-
<i>C. globosum</i>	++	+	++
<i>C. piceae</i>	++	-	-
<i>P. fastigiata</i>	-	NT	-
<i>C. puteana</i>	+	-	-
<i>L. lepideus</i>	+	-	-
<i>S. hirsutum</i>	++	-	-
<i>T. palustris</i>	+++	-	++
<i>P. ostreatus</i>	-	NT	-
<i>S. lacrymans</i>	-	NT	-
<i>P. chrysosporium</i>	-	NT	-
<i>C. versicolor</i>	-	NT	+
<i>G. trabeum</i>	+++	-	+
<i>G. applanatum</i>	-	NT	++
<i>D. concentrica</i>	+++	++	++++

※ NT: not tested

제 2 항. 카드뮴 및 구리 활성균주의 선발

1항과 동일한 방법으로 카드뮴과 구리에 대해 내성을 갖고 있는 균주를 선발한 결과를 표 4-2에 나타냈다. 카드뮴 250ppm에서 내성을 나타낸 균주는 *Daldinia concentrica* (콩버섯), *Ganoderma applanatum* (블로초), *Phanerosos chrysosporium* (판막버섯), *Schizophyllum commune* (치마버섯), *Tricoderma viride*, *Tyromyces palustris* (부후개떡버섯) 등이 있으나, 카드뮴 1,000ppm 혼합배지에서는 부후개떡버섯과 판막버섯이 내성이 높았으며, 카드뮴이 함유되지 않은 배지에서의 생육과 차이가 없는 것으로 나타났다. 한편 구리에 대해 내성이 큰 균주는 콩버섯과 부후개떡버섯이 높았다. 따라서 카드뮴과 구리에 대한 수질오염제어균으로 부후개떡버섯을 선택하여 시험에 사용하였다.

표 4-2. Fungal growth in cadmium and copper contained agar medium

Fungi	Fungal growth rate			
	Cadmium content. (ppm)		Copper content. (ppm)	
	250	1,000	250	1,000
<i>Coniophora puteana</i>	+	-	+	-
<i>Daldinia concentrica</i> (콩버섯)	+++	+	+++	+++
<i>Ganoderma applanatum</i> (블로초)	+++	++	-	-
<i>Irpex lacteus</i> (기계충버섯)	+	-	+	-
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	+	-	+	-
<i>Lentinus edodes</i> (표고버섯)	+	-	+	-
<i>Lentinus lepideus</i> (жат버섯)	-	-	+	-
<i>Phanerosos chrysosporium</i> (판막버섯)	+++	+++	-	-
<i>Pleurotus cornucopiae</i> (노랑느타리버섯)	+	-	+	-
<i>Poria cocos</i> (복령)	-	-	+	-
<i>Schizophyllum commune</i> (치마버섯)	+++	++	++	+
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯)	-	-	+	-
<i>Stereum spectabile</i> (꽃구름버섯)	++	-	++	-
<i>Tricoderma viride</i>	+++	+	++	-
<i>Tyromyces palustris</i> (부후개떡버섯)	+++	+++	+++	+++
FRI 21061	++	-	++	-
FRI 21064	+	-	+	-
<i>Hericium ramosum</i> (노루궁뎅이)	+	-	++	-

-: no activity, +: slight activity, ++: medium activity, +++: strong activity

### 제 3 항 선발균주의 생리·생태적 특성

선발균주 *D. concentrica*과 FRI 20621의 진탕배양에서의 균발육과정과 정상기의 균체량 및 pH를 표 4-3에 나타냈다.

균체의 증식은 일반적으로 4단계로 구분할 수 있으며, 우선 균을 새로운 배지에 접종했을 때 활발한 세포분열이 시작하기 까지의 기간을 유도기, 이어서 균체의 증가가 지수관계로 불어 날때의 기간을 대수기, 증식이 정지되어졌을 때를 정상기, 배양기내의 영양부족으로 자기세포를 자기가 소화하거나 세포의 노화로 더 이상 증식이 되어 지지 않은 때를 사멸기로 구분하고 있다. 이러한 균발육기의 양상은 균의 종류, 배양온도, 배양기의 조성 및 그 이외 배양조건에 따라 상당한 차이가 있다. 따라서 동일 배양기상에서 균체의 발육상은 균체의 공업적 이용에 있어 매우 중요하다.

*D. concentrica*은 정상기에 도달하기 까지의 기간이 매우 짧고, 도달이후 장기간인 30여 일 정도 정상기를 유지하고 있어서, 균체의 이용에는 호조건을 갖추고 있었다. 또한 정상기의 균체량이 5.89mg/ℓ로 높은 생산량을 나타냈다.

FRI 20621은 *D. concentrica*보다 정상기의 유지기간이 짧은 것으로 추정하여서 *D. concentrica*보다 균체의 영양요구도가 컸으며, 정상기의 균사생육도 *D. concentrica*에 비하면 완만했다. *D. concentrica*과 FRI 20621은 글루코스가 다량 함유된 배양기에서 유도기를 갖지 않았으므로 초기생장에 탄소원의 요구가 큰 것으로 추정된다. pH가 약산성을 나타내므로 균체가 분비하는 유기산을 균사생육에 이용할 가능성이 있다. 균류는 환경에 대한 반응이 빠르고, 균류자신의 대사작용에 의해 주위의 pH에 변화를 주고, 대부분의 경우 산성에 가깝게 된다. 그 이유는 유기산의 생성 또는 암모니아의 산화, 양이온과 음이온의 이용 및 배출의 불균형에서 비롯되고, 본 결과에서도 이러한 점이 크게 작용하고 있음을 추정할 수 있다.

표 4-3. Fungal growth weight and pH of FRI 20621 and *D. concentrica*.

Fungi	Fungal growth phase (days)				Fungal dry weight in stationary phase (mg/100ml)	pH
	lag time phase	logarithmic phase	stationary phase	extinct phase		
FRI 20621	0	3	8	25	133	4.4
<i>D. concentrica</i>	0	2	5	35	589	4.6

※ pH of the filtrate reached in stationary phase.

한편 카드뮴과 구리에 대해 내성을 갖고 있는 부후개떡버섯의 온도 및 pH생장 특성을 조사하기 위해 2일 간격으로 성장량을 조사한 것을 그림 4-1과 그림 4-2에 나타내었다. 최적 pH는 5, 적정 생육온도 범위는 20-35℃이며 30℃를 정점으로 하여 생육이 급격히 저하되며 최적 배양온도는 30℃로 나타났다.

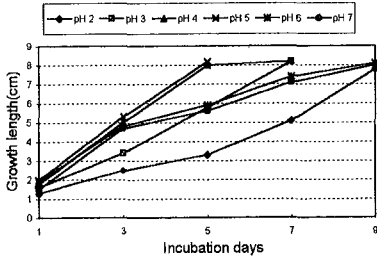


그림 4-1. Fungal growth of *T. palustris* on various pH.

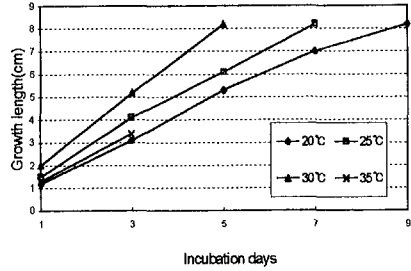


그림 4-2. Fungal growth temperature on agar medium.

균사의 성장량을 2일간격으로 측정하여 그림 4-3과 그림 4-4에 나타내었다. Cd의 경우 무 처리는 5일, 250ppm 첨가배지는 6일, 500ppm 첨가배지는 7일, 1000ppm 첨가배지는 8일, 2000ppm은 9일로 Cd를 첨가배양시 성장 유도기가 길어졌음을 알 수 있었으며 Cu의 경우에도 성장 유도기가 필요함을 알 수 있었다. 액체 배지로 진탕배양시 균사의 성장량을 경과일 4일 배양후에 생장이 급격히 상승하므로 4일 배양후에 중금속 stock solution을 첨가하여 100ppm의 농도로 조절하여 성장량을 측정한 결과를 그림 4-5에 나타내었다.

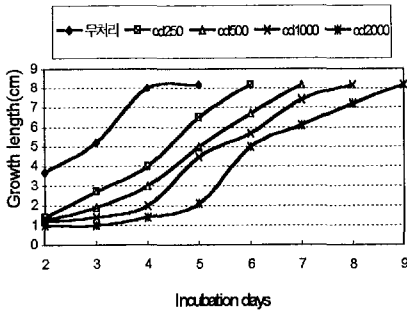


그림 4-3. Fungal growth of *T. palustris* on cadmium containing agar plate.

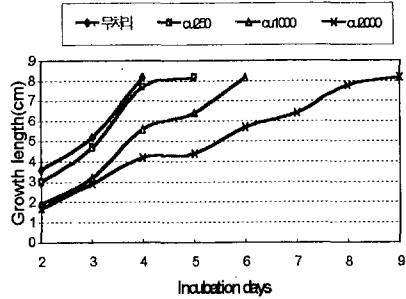


그림 4-4. Fungal growth of *T. palustris* on copper containing agar plate.

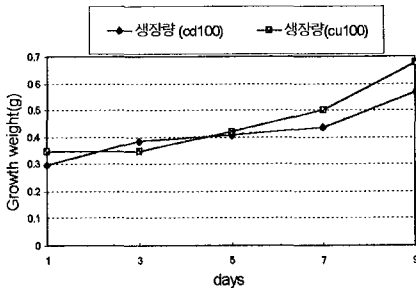


그림 4-5. Dry weight of *T. palustris* on addition of 100ppm heavy metals.

제 4 항 선발균주의 중금속 제거능 탐색

1. 크롬화합물(2,000ppm)을 첨가한 진탕배양기에서의 크롬제어

콩벼섯과 FRI 20621의 대수기에 도달한 진탕배양기에 크롬화합물을 2000ppm첨가한 후 배양경과일수에 따른 크롬의 제어율과 균체량 및 pH를 Fig. 1-6과 Fig. 1-7에 나타냈다.

크롬화합물 2000ppm까지의 첨가는 콩벼섯의 균사의 생육저해에 영향을 거의 미치지 못하였으며, 약액투입 4일까지는 약액을 투입하지 않은 배양기보다 22%정도의 생육저해가 있었고, 크롬화합물의 감소율은 44%정도로 최저치를 나타냈으나, 이후 서서히 생육을 회복하여 9일이후는 정상적인 균사생장을 나타냈다. 그러나 균사의 성장세는 회복되었으나, pH가 알칼리측에 가깝게 접근한 것은 콩벼섯의 크롬화합물이용에는 산성물질의 요구가 크기 때문인 것으로 추정된다.

크롬화합물의 감소율이 초기투입한 직후 57%나 감소하였고, 이후 감소율이 크게 증가하지 않은 점으로 추정하여, 콩벼섯이나 FRI 20621이 크롬화합물을 균생육에 필요원소로 이용하기 보다 균체중에 흡수되어 진 상태로 여과시 균체내에 남아 있는 것으로 추정가능하다. White 등(1995)은 미생물에 의한 유독 중금속류의 제어기작은 바이오매스의 물리화학적인 미생물흡착의 일환으로 보았으며, 살아있는 균세포는 물론 죽은 균세포가 독성의 금속류를 흡착한다고 하였다. 균체량과 크롬의 제어율을 비교할 때 균체량이 많으면 제어율도 높게 나타났으므로 이러한 미생물흡착은 균체의 세력이 왕성할 때는 크롬화합물을 보다 많이 함유하고 있고, 세력이 약할 때, 즉 저해율이 높을 때는 크롬화합물을 외부로 많이 배출하는

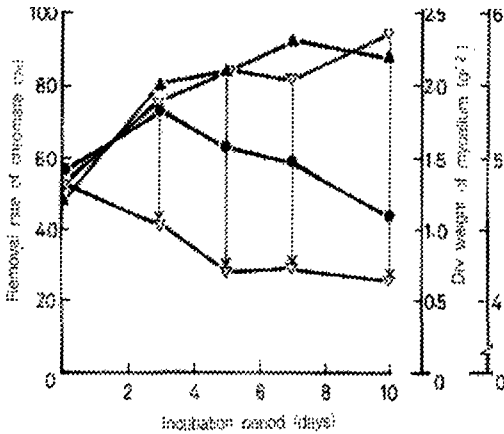


그림 4-6. Removal rate of chromate(●), dry weight of mycelium(▽) which does not contain chromate(up), or contains chromate(down), and pH of the culture filtrates(▲) when the chromate was incorporated into shake culture of *D. concentrica*.

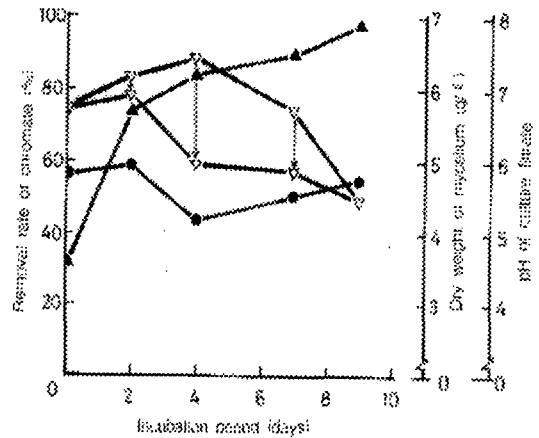


그림 4-7. Removal rate of chromate(●), dry weight of mycelium(▽) which does not contain chromate(up), or contains chromate(down), and pH of the culture filtrates(▲) when the chromate was incorporated into shake culture of FRI 20621.

FRI 20621의 경우는 균생육저해가 42%나 일어난 약액투입 3일후에 크롬화합물의 감소가 73%로 증가되어 진 것으로 추정하여, 크롬화합물을 균생리대사에 조금은 이용하는 것으로 판단되어 지나, 이후 균생육세가 점차 약해짐에 따라서 균체중에 흡수되어졌던 크롬화합물이 다시 배출되어진 것으로 추측할 수 있다.

크롬화합물의 경우에는 6가나 2가크롬일 때는 독성을 갖고, 동물세포에 침투가 용이하고, 동물세포중에 흡착되어진 크롬화합물이 쉽게 용해되어 지지 않고 세포분열시 돌연변이를 유발할 가능성이 매우 높은 것으로 알려져 있다. 최근 Bopp와 Ehrlich(1988)는 *Pseudomonas fluorescens*가 6가크롬을 동물세포에 안전한 3가크롬으로 환원시키는 역할을 하고 있음을 시사한 바 있으므로, 본 결과에서도 크롬화합물의 환원반응에 이들 균들이 작용하는 지에 대해서는 아직 미지의 상태이며, 금후 중요한 연구대상이다.

## 2. 비소화합물(500ppm)을 첨가한 진탕배양기에서의 비소제어

콩버섯 및 FRI 20621이 대수기에 도달한 진탕배양기에 비소화합물을 500ppm첨가한 후 배양경과일수에 따른 비소의 제어율과 균체량 및 pH를 그림 4-8 및 그림 4-9에 나타냈다.

콩버섯은 비소화합물에 대해서도 크롬화합물의 경우와 같이 비소투입 4일까지 균사의 생육이 저해되었으나, 점차 배양일이 경과함에 따라 중성에 가까워지면서 생육이 회복추세를 나타냈다. 그러나 비소화합물의 감소는 비소투입후 배양경과일수에 비례하지 않고, 배양 2일후 92%의 감소율을 기록했으며, 배양 4일경과시부터는 균생육저해와 무관하게 거의 동등한 수준의 비소함유율을 나타냈다. 콩버섯은 비소화합물을 완전히 소거시키지 못하였으며, 어느정도 이상을 분해한 이후 더 이상 이용하지 못하였다.

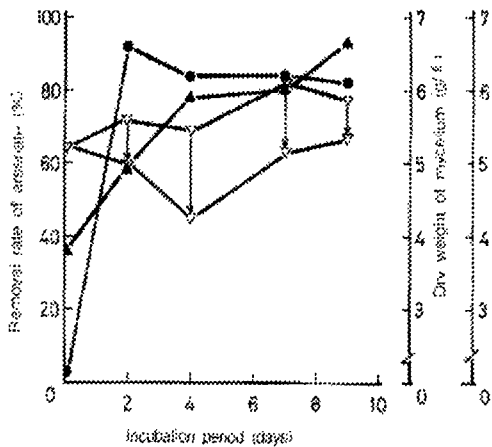


그림 4-8. Removal rate of arsenate(●), dry weight of mycelium(▽) which does not contain arsenate(up), or contains arsenate(down) and pH of the culture filtrates(▲) when the arsenate was incorporated into shake culture of *D. concentrica*

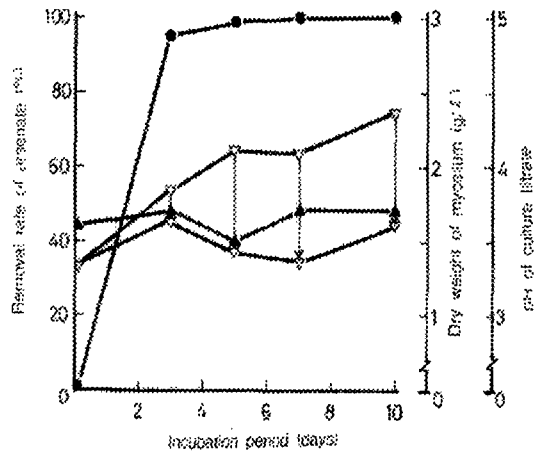


그림 4-9. Removal rate of arsenate(●), dry weight of mycelium(▽) which does not contain arsenate(up), or contains arsenate(down), and pH of the culture filtrates(▲) when the arsenate was incorporated into shake culture of FRI 20621.



FRI 20621은 비소화합물에 의해 균사의 생육이 배양 7일경과 때 까지 점차 저해되었으나, 배양여액중의 pH가 거의 변화되지 않은 점으로 추정하여 균생리대사에는 크게 영향을 미치지 못했음을 추측할 수 있다. 더우기 FRI 20621은 비소화합물의 소거에 적극관여하고 있었으며, 배양 5일경과시점에서 투입한 비소화합물의 99%를 감소시켰다. 균체의 정상적인 생육과 비소화합물의 점진적인 감소로 추정하여 동 균은 비소화합물을 균생리대사에 적극적으로 활용하고, 해독하는 것으로 추정할 수 있다.

## 제 5 항 기질이용 및 해독에 의한 분해여부 판정

### 1. 6가크롬의 3가크롬 환원

중크롬산카리움 함유 배양기중에 생육중인 균사를 주사형프로브현미경(Nano Scope III-a, Tapping Mode AFM, 미국 디지털인스트루멘터사)으로 관찰한 결과를 사진 4-1의 위에 나타내고, 아울러 크롬을 함유하지 않은 무처리배지에서의 균사상을 아래에 나타냈다. 크롬함유배양기중의 균사는 균사의 표면에 금속상의 부정형 응집체가 판독되었으며, 이는 수용성인 6가크롬이 불용용해성의 3가크롬으로 환원되고 균사체의 표면에 부착된 것으로 추정하였다. 균사의 세포벽은 중요한 보호 장벽같은 특성을 가지며 잠재적인 유독성의 금속종을 포함하는 세포로 용액을 흡수하는 것을 제어한다. 세포벽은 주로 다당류로 구성되어 있으며 단백질과 lipids와 멜라닌을 포함하는 다른 성분으로 구성되어 있으며, 모든 섬유모양의 균은 골격성분으로 (1-3)- $\beta$ -D-glucan이 있는 키틴을 포함한다. 많은 세포의 균사의 산물은 금속을 침전시킬 수 있다. 특히 Citric acid는 효과적인 금속·이온 킬레이트로 될 수 있으며 oxalic acid는 금속이온과 작용하여 세포벽 근처와 배지 외부의 불용성 oxalate결정을 형성한다(Gadd, 1995)고 하였다. 따라서 동 등집체가 불용성으로

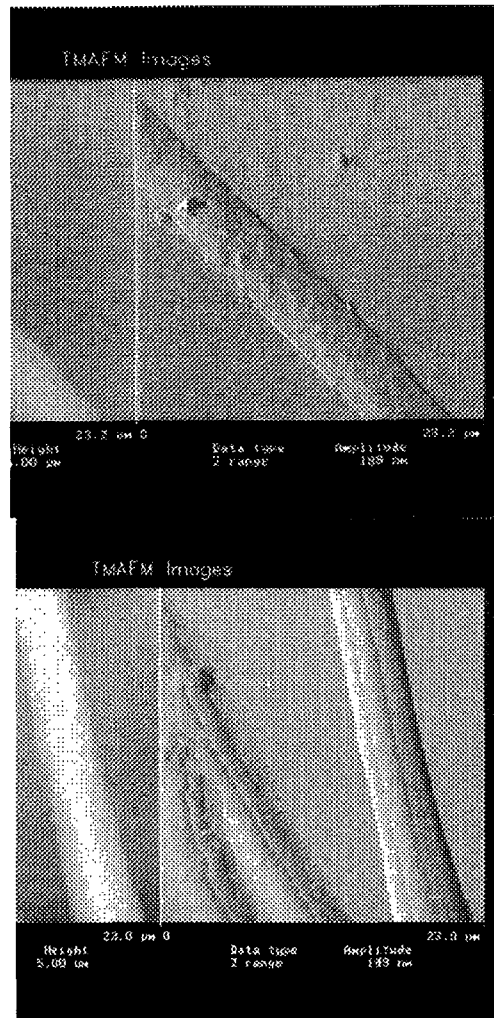


사진 4-1. Cell wall of FRI 20621 on chromium containing agar medium(top), and controls(bottom).

oxalate결정된 3가크롬의 여부를 구명하기 위해 Photo 2와 같이 주사형전자현미경으로 촬영하고, 이를 주사X선 분석시스템 내장형 전자현미경에서 3가크롬의 결정을 조사하여 Photo 3에 나타내고, 크롬화합물의 분포를 그림 4-10과 같이 확인했다. 균사중에는 크롬화합물이 다량함유되어 있으나, 부정형 응집체상과 동일 부위에서는 크롬이 검량되지 않았기 때문에 Photo 1의 응집체는 3가크롬의 결정체일 확율이 희박했다. 특히 균사의 선단부가 항아리모양으로 굽게 나타남은 크롬에 의해 균생육이 저해되기 때문인 것으로 사료된다.

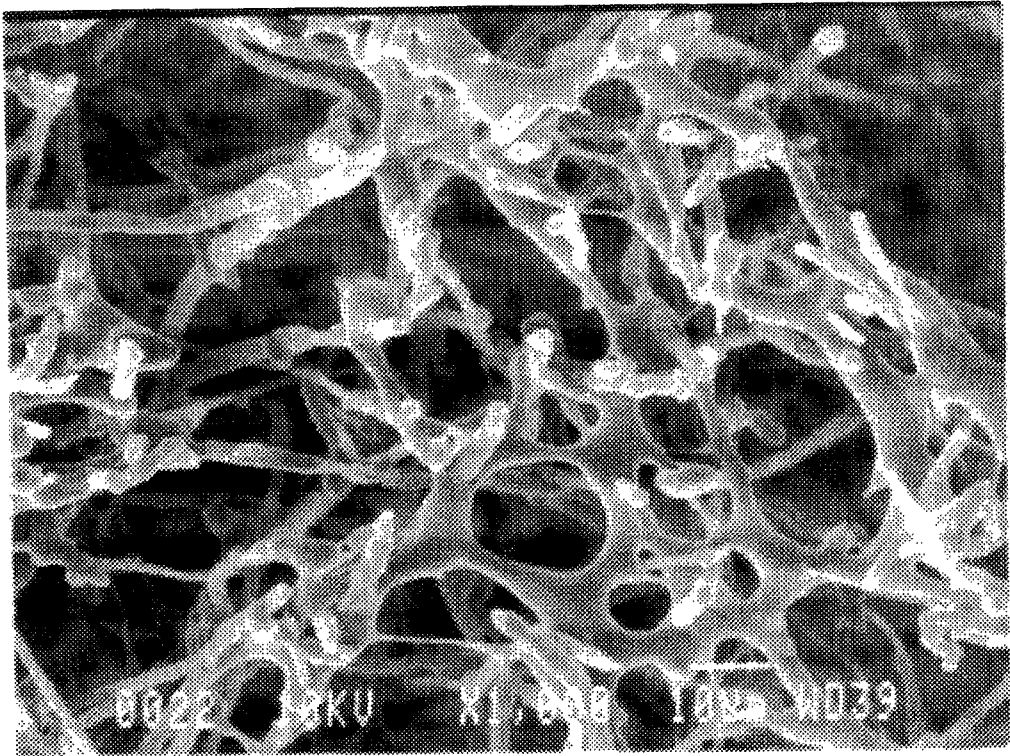


사진 4-2. Cell wall of FRI 20621 which contains chromium

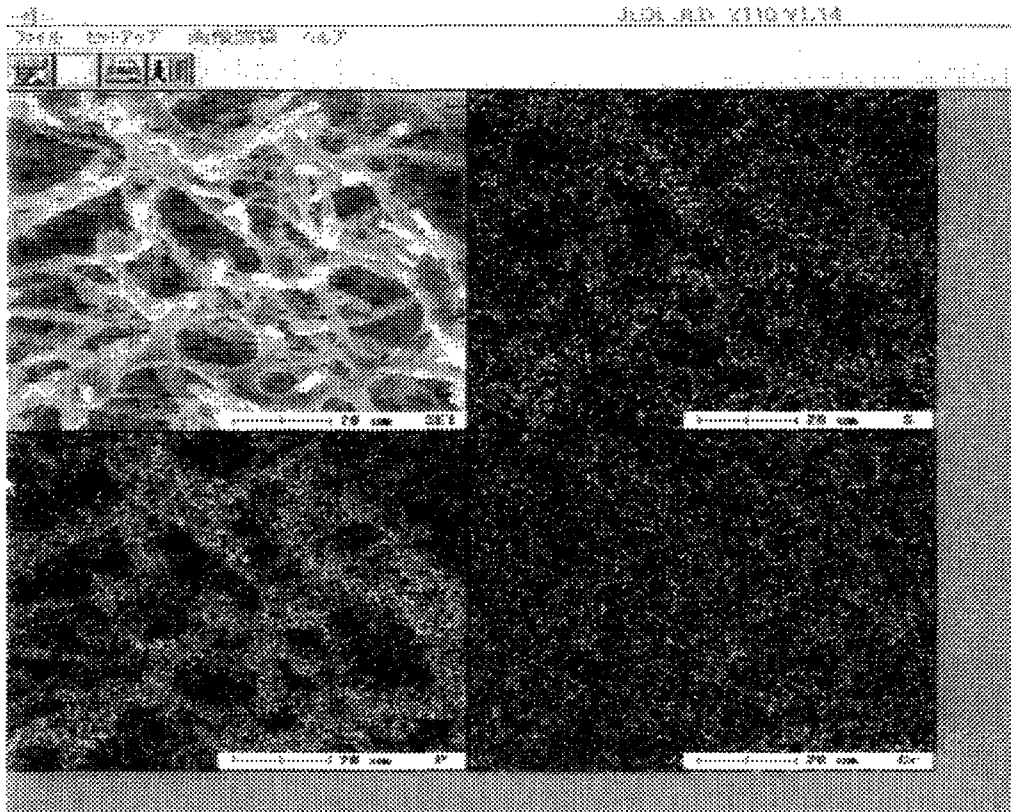


사진 4-3. Elements in cell wall of FRI 20621 analyzing by EDAX-SEM

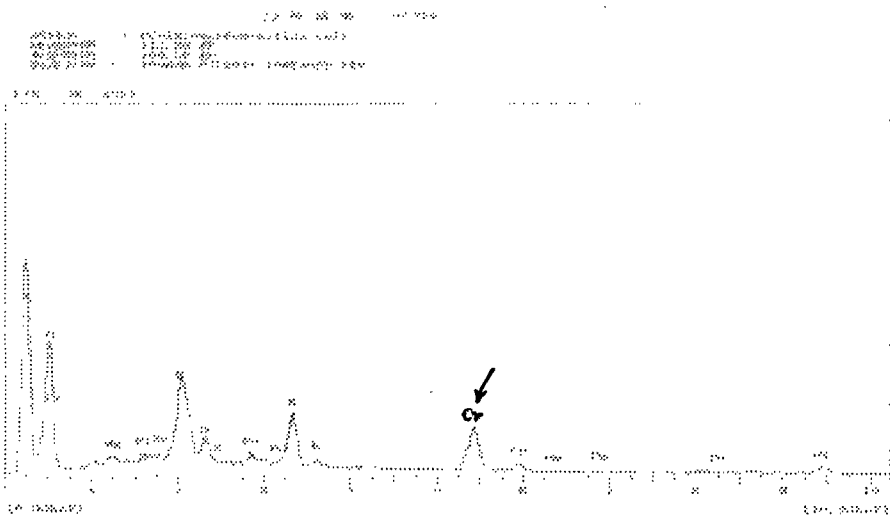


그림 4-10. EDAX-SEM chart of Photo 3.

## 2. 비소화합물의 변환

비소화합물은 미생물의 작용에 의해 메틸화되면서 공기중으로 휘산되어지며 디메틸알신(dimethylarsine)과 트리메틸알신(trimethylarsine)으로 변환되어짐은 McBride(1971)와 Craig(1986)에 의해 보고되어진 바 있으며, 변환과정은 그림 4-11과 그림 4-12와 같다. 지금까지의 연구에서 이러한 기작을 갖는 미생물은 대부분이 박테리아류인 *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. 등이 알려졌으며, 불완전균류인 *Alternaria alternaria*는 무기형의 셀레늄을 유기형의 셀레늄으로 변환시킴이 밝혀진 바 있다. 그러나 담자균류에 의한 무기태비소의 유기태화는 아직 밝혀진 바 없으므로 담자균류인 FRI 20621에 의한 무기태비소의 유기태비소 변환은 매우 흥미로운 과제이다. 따라서 본 과제에서는 유기태비소로의 휘산여부를 검토한 결과를 그림 4-9에 나타냈으며 여과액중의 비소화합물의 감소가 현저하므로 비소의 메틸화에 의한 휘산여부를 검토했다.

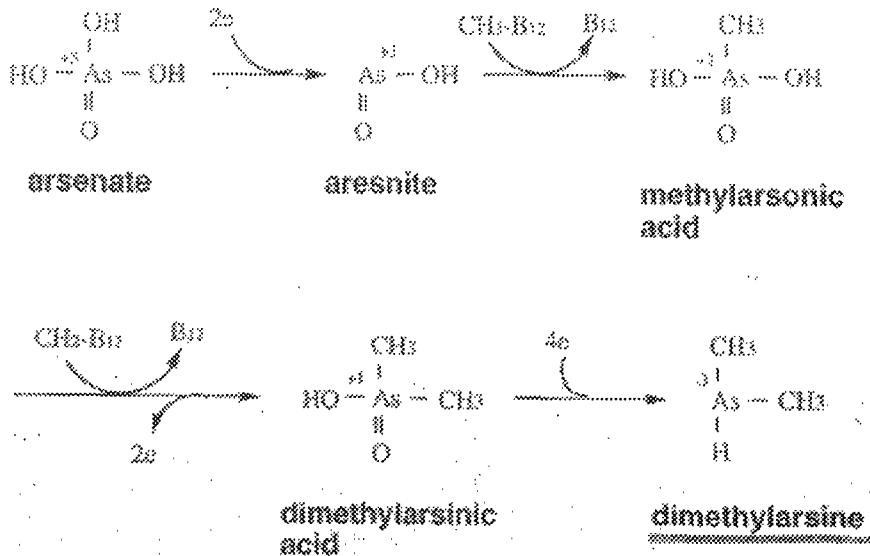


그림 4-11. Anaerobic biomethylation pathway for dimethylarsine production by *Methanobacterium* sp. (McBride and Wolfe, 1971)

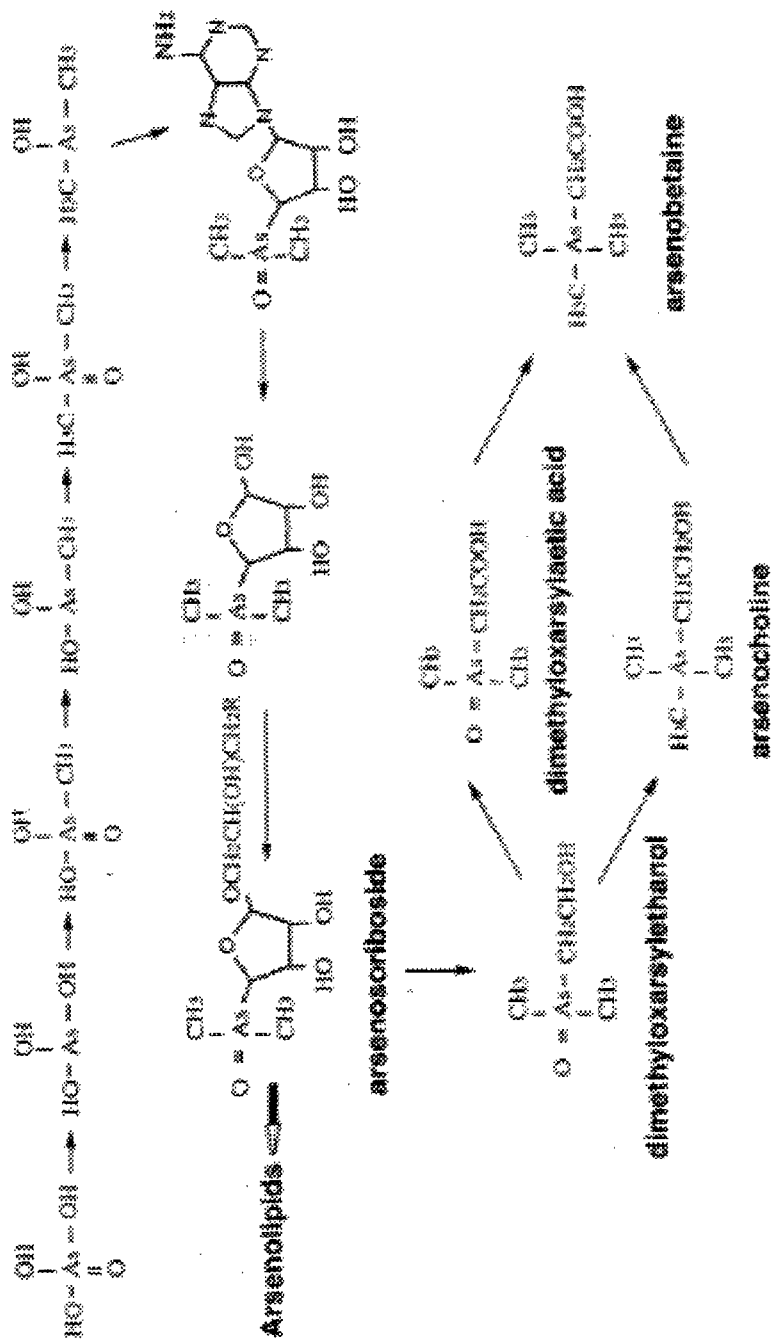


그림 4-12. Fungal methylation pathway for the formation of trimethylarsine (Craig 1986)

사진 4-4는 진탕배양한 FRI 20621균주를 호모게나이저하고 이를 500ml용 진탕삼각후라스크에 200ml 넣어 1주일간 마그네틱 스톨링바를 돌리며 진탕하여 균활력을 증강시키고, 여기에 배양기내의 비소의 농도가 200ppm이 되게 오산화비소를 넣고, 트랩으로 연결하고 선단부가 9N의 염산을 통과하도록하여 유기화된 비소가 포집이 되게 한 것이다. 이후 미국 National Bureau of Standard (NBS)의 생물표준시료 SRM-1571법에 의해 무기태5가비소, 무기태3가비소 및 유기태비소로 구분하여 ICP로 정량한 결과를 표 4-4에 나타냈다. 무기태비소가 유기태로의 변환은 균생육 배양기중에서도 소량 검량되었으나, 휘산된 비소를 트랩한 후라스크중에도 25ppm의 유기태비소가 검출되어 FRI 20621의 작용에 의한 비소화합물의 휘산 가능성이 입증되었다.

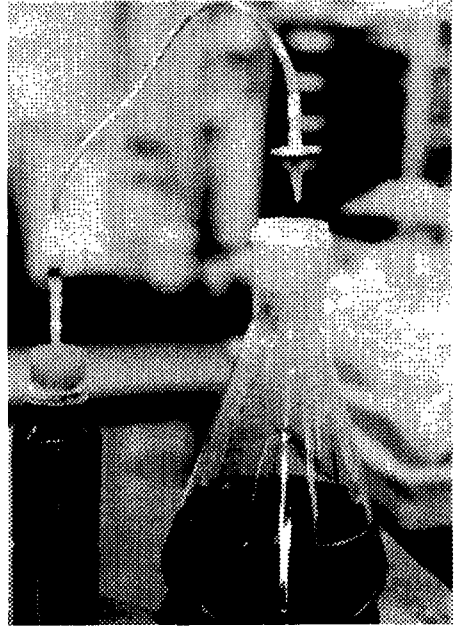


사진 4-4. Cathing method of organic arsenate.

표 4-4. Arsenate changes in the culture medium of FRI 20621.

	Initial arsenate contents in the medium (ppm)	Contents of arsenate compounds (ppm)		
		Arsenate	Arsenite	Organic arsenate compounds
Fungal-free control	50	44.1	1.3	0.5
Culture medium	200	148.6	2.7	6.9
Trapping the arsenic gas	-	2.8	NT	25.0

그러나 비소화합물의 메틸화에 의한 dimethylarsin 또는 trimethylarsin으로의 변환과정을 검정하기 위해 10ml의 FRI 20621균주를 산소로 충만된 밀폐된 50ml용의 배양기내에 배양한 후 배양기내의 밀폐공기를 인젝터로 포집하고 이를 개스크로마토그래피(GC)로 측정하였으며, 또 GC/MS로 trimethylarsine의 molecular ion pick 120m/z를 그림 4-13과 같이 검정하였으나 검량되지 않았다. 이는 포집량과 관계가 있을 것으로 사료되어 추후 포집방법을 개량한 재검토를 필요로 한다.

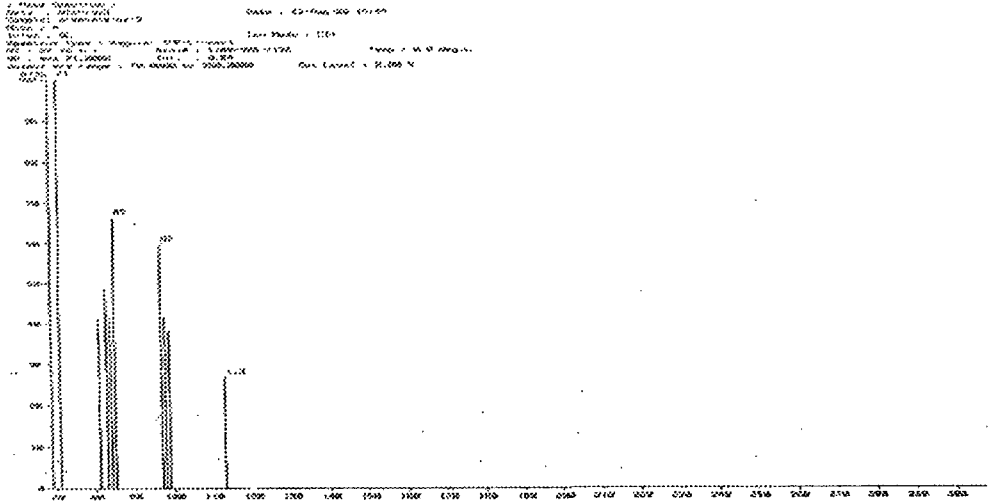


그림 4-13. GC/MS spectra of evaporated gas of arsenate containing FRI 20621 medium.

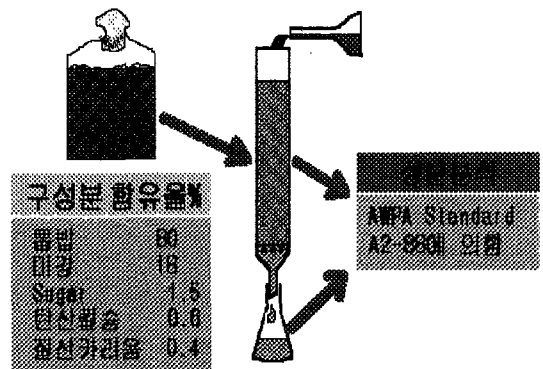
## 제 2 절 크롬 및 비소의 해독촉진기능 부여

### 제 1 항 톱밥배지상의 증금속 제어 기능탐색

FRI 20621 균주를 글루코스원을 함유한 상수리나무 톱밥배양기<sup>1)</sup>에 3개월간 배양하고, 배양기의 전면에 공기균이 만연되었을 때, 톱밥을 회수하여 직경 50mm, 길이 35 cm의 유리컬럼(하부를 유리섬유로 막아 톱밥의 누출을 방지)에 채우고, 크롬 및 비소화합물을 1분에 5~6방울 간격으로 떨어지게 콕크를 조정하였다. 컬럼을 통과한 여과액중의 크롬과 비소의 함량을 측정하여 증금속 분해담체로의 응집기능을 탐색했다.

한편, FRI 20621균주를 접종한 날로부터 0, 30, 60, 90, 120, 150일이 경과한 톱밥배지를 직경 50mm의 유리컬럼에 충전하고, 오염 대상 화합물을 2ℓ/회로 부어 여과액과 톱밥을 분리하고, 이들 중에 잔존하는 크롬 및 비소의 량을 측정하였다. 각 성분의 제어율(C)은 다음식에 의거 산출하였다.

<sup>1)</sup> 톱밥배양기: 톱밥제조기에서 만든 상수리 나무 톱밥을 80%, 미강 18%, 백설탕 1.5%, 탄산칼슘 0.6%, 질산카리움 0.4%를 기본조성으로 하였으며, 이를 잘 교반하여 내열성 폴



리에칠렌 필름봉투에 1kg씩 채우고, 종이캡으로 마개를 한 후, 120℃에서 수증기압 1.2kg/cm<sup>2</sup>로 고온 고압멸균하였다. 톱밥배양기를 상온에서 24시간이상 식히고 미리 진탕배양해 두었던 FRI 20621균주를 중앙부에 무균적으로 접종한 것을 공시배양기로 하였다. 한편 첨가물에 의한 크롬 및 비소의 해독측진에는 상기 조성의 공시배양기에 수산 및 티아민을 0.25%, 0.50%, 0.75% 및 1.00%(w/w)을 첨가하였다.

$$C(\%) = \{M - (F + S) / M - 1\} \times 100$$

여기에서 C: 각 성분의 제어율(%)

F: 여과액중의 성분의 농도

S: 배양톱밥중의 성분의 농도

M: 투여시의 성분농도

## 제 2 항 톱밥배양기의 배양시간과 크롬잔존량

톱밥배양기의 배양시간에 따라 톱밥중에 내포되어진 균사의 량은 달라진다. 즉 초기배양상태에서는 균체량이 적고, 시간이 경과할수록 균체량이 많아지며, 어느 시기가 지나 균체량에 비해 영양분이 부족할 때는 균체량이 줄어들게되는 사멸기에 달할 것이다. 균의 효소적인 작용이나 해독작용은 균체의 생산량과 밀접한 관계에 있

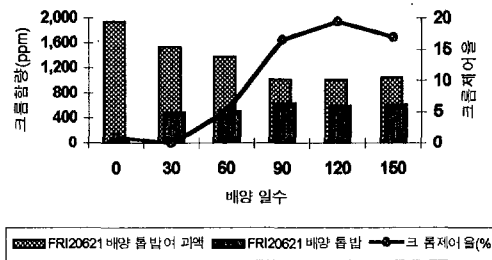


그림 4-14. 톱밥배양기의 배양시간과 크롬의 제어

기 때문에 칼럼중에 충전하는 톱밥배지의 배양시간과 그 여과액중의 크롬의 량과 톱밥배지중의 크롬의 잔존량을 측정하고, 크롬의 제어율을 그림 4-14에 나타냈다. 톱밥배지에서 배양 90일이후의 여과액중의 크롬의 함유량과 톱밥배지중에 함유된 크롬의 량은 거의 일정화 되었으며, 크롬의 제어율도 16%이상을 나타 내었으므로 크롬의 제어에는 FRI 20621균주를 90일 배양한 것이 유리할 것으로 판단되었다.

## 제 3 항 톱밥배양기의 배양시간과 비소의 잔존량

동일한 방법으로 비소에 대한 제어율을 그림 4-15에 나타냈다. 비소의 경우는 크롬과는 달리 배양 30일이후 급작스런 제어효과가 나타났으며, 배양일수 60일이후의 배양여과액과 톱밥에서 비소의 량이 거의 고정되어졌다. 한편 비소의 제어율도 크롬에서 보다 높은 40%이상을 나타냈다. 지금까지의 FRI 20621균주의 진탕배양에서 비소의 제어율이 95%이상의 높은



제어율에 비해 톱밥배지에서는 전반적으로 낮은 제어율을 나타내었으나, 금후 시스템과 관련하여 유리한 쪽으로 그 활용 방향이 유도될 수 있을 것으로 사료되어진다.

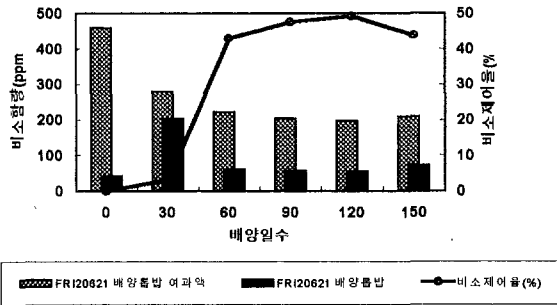
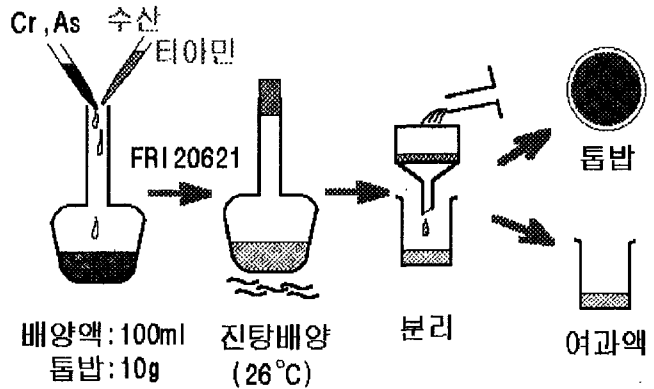


그림 4-15. 톱밥배양기의 배양시간과 비소의 제어

제 4 항 . 폐목질함 유 액체배양기중의 중금속분해 기능부여

공시배양액 100ml를 상수리 나무 톱밥 10g과 함께 500ml용 진탕후라스크에 넣고, 가압멸균한 후 실온에서 24시간이상 방치한 것을 공시배양기로 했다. 여기에 미리 진탕배양해 두었던 FR I 20621균주를 접종하고, 5일간 배양한 후, 크롬 및 비소용액을 첨가하여 배양기내의 크롬의 농도가 2000ppm, 비소의 농도가 500ppm이 되게 조정하였다. 배양기로부터 일정시간 경과된 플라스크에서 여과액과 톱밥을 분리하고, 이들중에 함유되어 있는 크롬 및 비소의 함량을 정량하고 그 제어율을 산출하였다.



한편 6가크롬의 3가크롬으로 환원여부를 판정하기 위해 원자흡광분석법을 사용하였으며, 6가크롬은 디페닐카르바지드를 첨가하면 540nm의 UV파장에서 자주색의 발색단을 갖고 있으나, 3가크롬은 디페닐카르바지드에 발색단을 갖고 있지 않기 때문에 초기 측정치에서 각각의 함유량을 정량하여 3가크롬으로 변환율을 조사하였다.

균체의 생육은 소량의 필수 비타민이나 대사산물의 존재에 따라 그 생육에 크게 영향하며, 또한 부후기작이 크게 달라진다. 따라서 담자균류의 생육 필수비타민인 티아민과 비효소적 부후요인으로 지적되고 있는 수산을 첨가하여 크롬의 제어를 조사한 결과를 그림 4-16에 나타냈다.

티아민을 첨가한 것보다 수산을 첨가한 것이 크롬의 제어에는 효과적이었으며, 그 제어율도 월등히 높은 것으로 나타났다. 담자균류는 목재의 부후에 앞서 수산을 균체외에 분비하고 있으며, 백색부후균은 수산을 균체내에서 이용하는 반면 갈색부후균은 수산을 균체내에 축적시키는 것으로 알려져 있으며, 수산이 부족할 때는 계속해서 수산을 생산하려는

생리적인 대사가 균체내에서 일어나고 있다. 여기에서 비효소적 부후대사에 이용하는 수산을 미리 공급하여 줌으로 수산대사의 반응에 소요되는 에너지를 크롬의 제어에 이용하기 때문에 크롬제어가 일어나는 것으로 사료된다. 적은 량의 수산첨가에서도 크롬의 제어효과가 있었으나 첨가 배양액의 1.0%수준까지는 수산의 첨가량이 많으면 크롬의 제어율이 높게 나타났다.

첨가물이 1.0%함유한 배양기에서의 여과액을 회수하여 여과액중의 6가크롬의 3가크롬으로 환원율을 조사하고 이를 그림 4-17에 나타냈다. 여과액을 원자흡광분석에 의해 크롬의 총량을 구하고 여기에서 디페닐카르바지드에 540nm에서 발색단을 갖는 6가크롬의 량을 제한 3가크롬의 값은 90% 이상이 환원되어진 반면, 티아민을 첨가하였을 때의 3가크롬 환원율은 61%를 나타내었다. 지금까지 6가크롬은 폐암이나 코에 점막을 파괴하는 원인으로 유해물질로 지정된 6가크롬의 용도는 산화제(삭카린, 염료, 의약품 등의 합성에

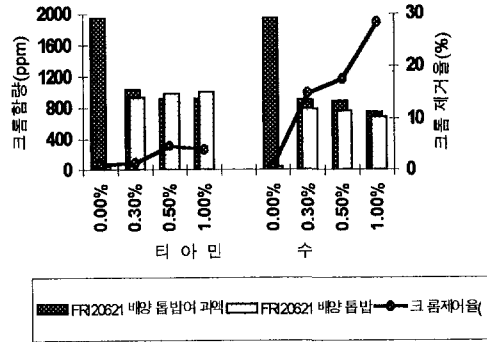


그림 4-16. 첨가물에 의한 크롬의 제어

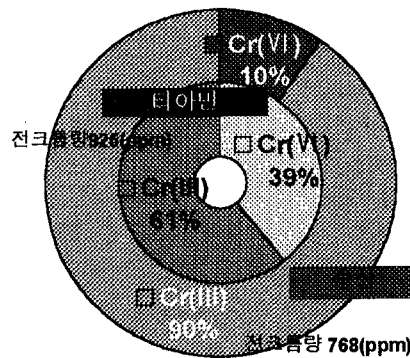


그림 4-17. 첨가물 1.0%를 함유한 톱밥배지 여과액중의 크롬의 환원율

이용), 금속표면처리(크롬택기, 크로메토처리, 알마이트, 전해런마, 방청제, 청관제, 플라스틱에칭 등), 냉각수에 첨가하는 방청제, 안료 (적~황색, 녹색의 안료, 도료, 인쇄잉크, 플라스틱 착색, 방청도료 등)등에 주로 사용되며, 그외에도 크롬은 염색매염제로 양모의 염색, 피혁 무두질 및 사진제판에 중크롬산코로이드 감광액 등에 많이 사용되고 있다. 그러나 3가크롬은 계란의 흰자위나 아교 등과 강하게 결합하여 단백질이 물에 녹지 않게하는 용도로 주로 사용되나, 인체에는 직접적인 그 해가 없는 것으로 알려져 있다. 또한 6가크롬은 유해물질로 지정되어 있는 반면, 3가크롬은 생활환경항목중 배수기준에 규정만 되어있다.

제 5 항 룩밥배양기에서 첨가물이 비소제어에 미치는 영향

동일한 방법으로 비소의 제어율을 조사하여 그림 4-18에 나타냈다. 비소의 제어율은 크롬의 경우와 동일하게 수산을 첨가하였을 때 제어율이 높게 나타났으며, 그 제어율은 크롬에서 보다 월등히 높게

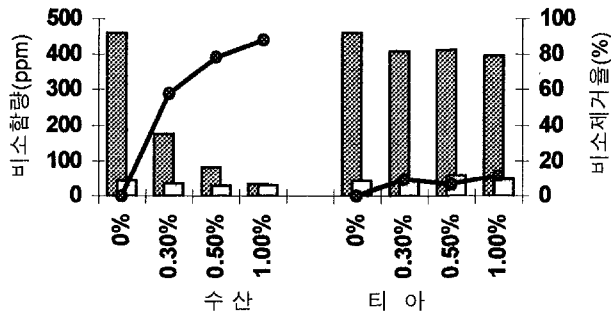


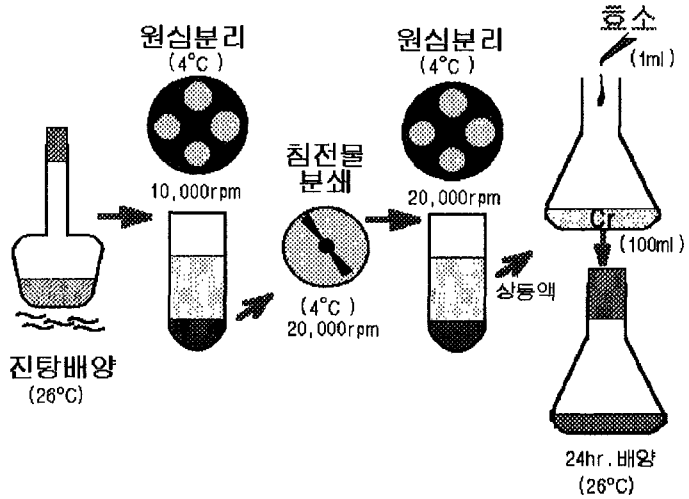
그림 4-18. 첨가물에 의한 비소의 제어

나타났다. FRI 20621의 비소대사는 아직 명확히 밝혀지지 않았지만 여과액중의 비소의 제어율은 매우 높게 나타나고 있다. 해양에서 생식종인 조개류나 멧게 등에 함유된 비소의 함량은 많은 경우 수백ppm을 육박하는 것으로 알려져 있으나, 지금까지 이러한 해산물을 먹고 비소에 중독된 사례는 없다. 이들 해산물이 함유하는 비소는 유기태의 비소인 것으로 알려져 있으며, 비소가 유기태로 변환되면 비소의 독성이 없는 것으로 보고되어 있다. 여기에서 비소화합물이 무기태의 상태에서 유기태의 상태로 변환과정의 추정 불가능하나, 일단 균체나 여과액중의 비소의 함량은 크게 감소되어 졌다. 한편 앞에서 언급했듯이 균체세포막의 불투과성을 증가시켜 증균속의 세포내 도입을 감소시킬 수도 있으며, 비소 이온을 휘발성이 강한 물질로 변환시켜 배양기의 공기중에 휘산시킬 가능성도 있다.

제 6 항 증균속 분해효소의 폐목질고정화 기능부여

FRI 20621 진탕배양액을 4℃에서 10,000rpm으로 30분간 원심분리하고 상등액과 침전물을

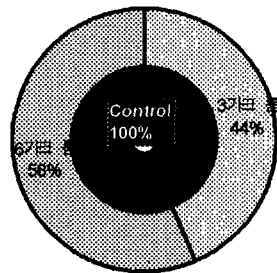
분리하였다. 침전물을 수거하여 4°C의 얼음물에서 20,000rpm의 호모지나이저로 30분간 균체를 분쇄하고, 이를 20,000rpm에서 30분간 원심분리한 그 상등액을 공시효소로 하였다. 삼각후라스크에 미리 준비해 둔 2000ppm의 크롬용액 및 500ppm의 비소용액 100ml중에 1ml의 공시효소액을 첨가하고 24시간 경과후의 크롬 및 비소의 감량을 측정하였다.



FRI 20621균체의 진탕배양액에서 전효소를 추출하고 전효소가 6가크롬의 3가크롬으로 환원되어지는 비율을 산출하여 그림 4-19에 나타냈다.

중크롬산칼륨 2000ppm의 증류수를 원자흡광분석기로 정량하였을 때 1905ppm의 크롬이 검출되었으며, 추출효소액중에는 0ppm의 크롬이 검출되었다. 여기에서 추출 효소액을 크롬용액의 1%수준에서 혼합하였을 때 3가크롬의 환원율은 약 44%를 나타냈다. 따라서 효소의 첨가에 의해서도 크롬의 환원이 가능함은 밝혀졌으나, 이 효소가 직접 크롬의 환원만을 전달시키는 효소가 아니고 전효소인점을 감안한다면 크롬제어 효소의 분자생물학적인 구멍이 급후 수반되어야 한다.

앞의 연구에서 비효소적 작용요인으로 수산의 첨가에 의한 제어능의 향상은 크롬 및 비소화합물을 비효소적인 작용에 의한 것이 입증되었다. 그러나 본 결과에서는 효소에 의한 제어효과도 크게 작용함이 밝혀져서 크롬의 환원은 비효소적인 제어기작과 효소적인 제어기작이 복합된 작용으로 나타남을 추정할 수 있었다.



중류수 + K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	효소액 K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
1,905	0

제 7 항 고  
정화 균체에 의한  
크롬의 제어

FRI 20621을 진  
탕배양하고  
5000rpm에서 30분  
간 원심분리하여  
상등액을 제거했

그림 4-19. FRI 20621전효소의 첨가에 의한 크롬의 환원

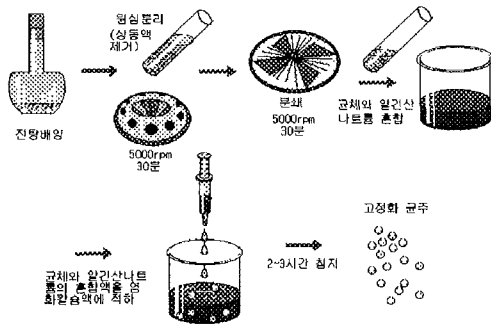


사진 4-3. FRI 20621고정화 균체

### FRI 20621 고정화균체의 제작과정

다. 배양중에 생성된 균립은 입자가 커서 고정화 과정에서 노즐에 걸리기 때문에 침전물을 5000rpm에서 30분간 분쇄하여 균체가 노즐을 통과하는데 막히지 않도록 미세하게 파쇄했다. 이어서 분쇄한 균체를 미리 준비해 둔 알긴산나트륨 2%액에 부어서 잘 혼합한 후, 그 혼합액을 주사기를 통해서 염화칼슘 2%액에 교반하면서 2~3시간 동안 침지하면서 고정화시켰다. 고정화된 FRI 20621균주는 사진 3-3과 같으며 이를 직경 15mm, 길이 600mm의 유리컬럼에 충전하고, 증크롬산카리움의 1,000 ppm, 500ppm, 200ppm, 100 ppm 및 50 ppm의 각각의 용액을 컬럼에 통과시키고 그 결과를 표 3-5에 나타냈다.

100ppm이하의 증크롬산카리움 용액은 40%이상의 크롬 제어율을 나타낸 반면 500ppm이상의 용액은 그 제어율이 15%정도를 나타냈다. 지금까지의 결과에서 FRI 20621균주가 크롬을 제어할 수 있는 최대농도가 2,000ppm까지였으므로 고 농도액을 제어함으로 그 제어능을 극대화시키기 위한 연구를 수행하여 왔다. 그러나 고농도로 갈수록 그 제어능이 저하되고, 균체 활력도 크게 저하되기 때문에 경제성을 고려하여 100ppm이하의 농도로 균체활력과 그 제어능을 유지시키면서, 계속해서 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

표 4-5. FRI 20621 고정화균체의 크롬제어

	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 농도 (ppm)				
	50	100	200	500	1000
당초K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 농도 (ppm)	50	100	200	500	1000
잔존K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 농도 (ppm)	26	58	126	425	840
크롬제어율(%)	48	42	37	15	16

※ 컬럼제원: 직경 15mm × 길이 600mm

표 4-6. FRI 20621 고정화 균체의 내구력과 오염

사용회수(회)	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 의 제어율 (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
제어율 (%)	42	40	40	38	39	35	30
오염도	-	-	-	+	+	+	++

※ 1. 유량: 20 l/회

2. 오염도: -, 건전, +; 셀 표층의 오염이 있으나, 육안관찰로는 불가능한 상태, ++; 셀 표층의 오염을 육안으로도 관찰이 가능한 상태.

표 3-6은 100ppm의 크롬액 20 l를 통과시키면서 크롬의 제어율과 FRI 20621 고정화균의 오염여부를 조사한 결과이다. 3회 크롬액을 통과시킬 때까지는 그 제어율이 40%이상을 유지하였으며, FRI 20621 고정화균체도 오염이 없었다. 그러나 4회에서 부터 고정화균체에 오염이 시작되었으며, 7회 통과이후 부터 고정화 균체의 오염이 육안으로 표면에 노출될 정도였으며, 크롬의 제어능도 급격히 감소하였다.

#### 제 8 항 배양톱밥의 여과회수와 크롬 및 비소의 잔존량

폐목질자원에 부후균을 접종하여 고부가가치를 창출하기 위한 시도에서 톱밥배지의 중금속류 여과에 사용회수는 금후 바이오리액터 시스템운용에 있어 매우 중요한 자료일 뿐 아니라 이들 중금속의 제어능 평가에도 매우 유용한 자료이다. 따라서 칼럼중에 충전한 톱밥배지의 사용회수와 크롬 및 비소의 잔존량을 그림 4-20에 나타냈다.

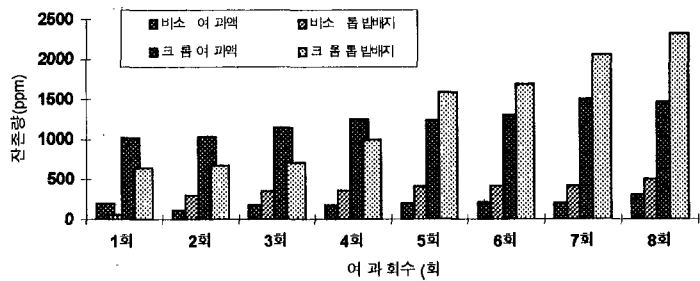


그림 4-20. 톱밥배지충전 칼럼의 여과회수와 여과액과 톱밥중에 크롬 및 비소의 함량

비소의 여과액중의 비소농도는 7회 사용시까지 감소효과가 있는 것으로 판단되나 7회이후 그 제어능이 감소되었다. 한편 톱밥배지중에 축적되는 비소의 함량은 1회이후 계속 증가되었다.

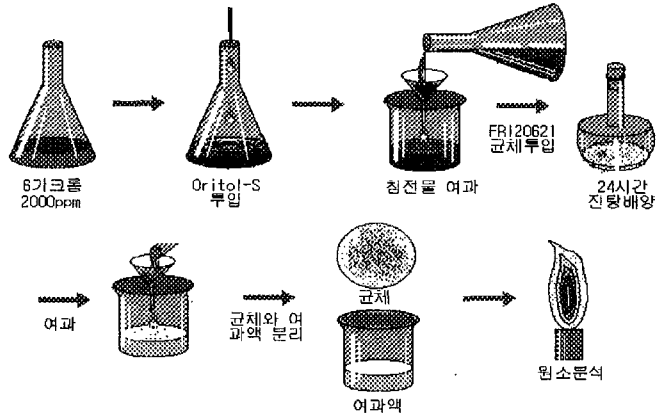
크롬의 경우는 제어능이 2회이후 점차 떨어지는 추세였고, 톱밥배지중에서도 유사한 현상이 있었다. 그러나 4회이후 톱밥배지중에는 크롬이 점차 축적되기 시작하였으며, 7회 이후

에는 당초 투입시의 농도보다 높은 함량의 크롬이 검출되었다.

제 9 항 중금속 포집제와 FRI 20621을 이용한 크롬의 제어

중금속류의 폐수정화 처리에는 일반적으로 황화물계의 중금속 포집제를 이용하여 중금속류를 침전시킨 후 방류하는 곳이 대부분이다. 이러한 황화물계의 중금속 포집제는 가격도 저렴할 뿐만 아니라 소량의 첨가에도 고농도의 중금속액이 침전되어진다. 그러나 저농도의 중금속액에는 고농도에서와 같은 양의 포집제를 넣어도 침전 용집한계에 도달하기 때문에 일정량 이하의 농도에서는 반응이 일어나지 않는다는 결함도 있다. 결국 최종 중금속 폐수방류시 환경오염기준에 적합한 수준까지 농도를 낮추기 위해서는 이온교환의 방법을 적용해야 함은 현 상태에서는 필수적인 처리공정이다. 그러나 저농도의 폐액을 환경오염기준까지 내리는 데는 미생물처리에 의해 손쉽게 해결할 수 있다.

고농도의 중금속 폐액을 균으로 제어하는 데는 균 배양을 비롯한 시설장치를 필요로 하기 때문에 친환경적인 생물체제로 환경부담이 적다는 것 이외에는 경제적이지 못한 함은 주지의 사실이다. 또 전술과 같이 고농도의 중금속에 균체를 접촉시키면 균체활력이



중금속포집제를 혼합한 제어과정

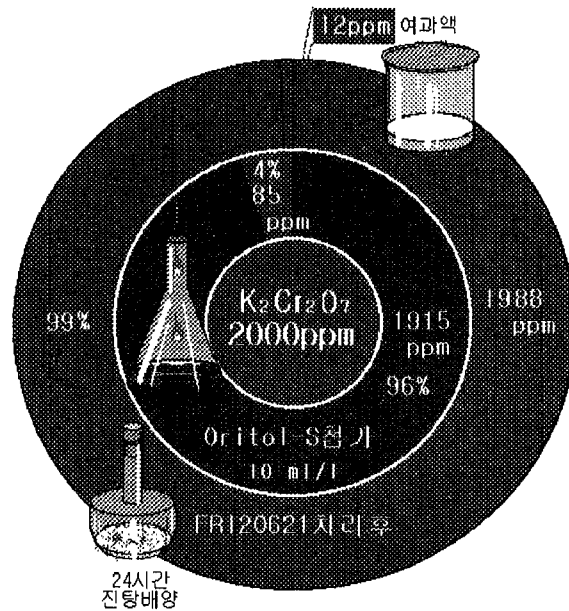


그림 4-21. 중금속포집제와 크롬의 제어

감소되기 때문에 1차 접촉후 제어능이 크게 감소된다는 결함을 갖고 있다. 따라서 고농도의 크롬 2000ppm의 폐액을 일단 황화물계의 중금속 포집제(상품명: Oritol-S)를 사용하여 일단계 처리에서 침전응집을 유도하고, 저농도로 변환되어진 액을 균체와 접촉시키는 시험을 시도했다.

이때 2000ppm의 중크롬산칼륨의 96%인 1915ppm이 중금속 포집제인 Oritol-S 10ml/ℓ의 첨가에 의해 응집침전되면서 제어되어 졌다. 여기에서 잔존하는 크롬 85ppm에다 FRI 20621 균체를 투입하고 24시간 배양을 한 결과, 여과액중의 크롬의 양은 12ppm으로 감소되었다. 이 정도로는 특정 폐기물의 폐수배출시설의 배출허용기준인 2.0mg/ℓ 까지 저하시키지는 못하였다. 그러나 이 정도의 농도를 이온교환방법으로 처리하게 되면 처리비용 절감에 크게 도움이 되리라 생각한다. 따라서 고농도의 크롬액을 제어함에 있어서는 중금속포집제의 혼합이 훨씬 경제적일 것으로 판단된다. 중금속포집제에 의한 6가크롬의 제어를 그림 4-21에 나타냈다.

#### 제 10 항 크롬제어를 위한 바이오리액터의 운용

FRI 20621을 이용한 크롬의 제거 시스템이 산업화되기 위해서는 먼저 처리미생물을 빨리 대량으로 배양, 생산하는 방법을 강구해야 한다. Fermentor system을 이용할 경우 다음과 같은 여러 가지 장점이 있다. 첫째로 fermentor system에서는 최적조건에서 세포가 성장하거나 크롬이 처리될 수 있도록 온도, pH, 용존산소 등의 자동제어가 용이하고 현재의 세포 성장 상황이나 크롬처리 상황을 on-line monitor할 수 있어 최적 조건을 정밀하게 유지함으로써 처리효율을 제고시킬 수 있을 뿐만 아니라 자동화를 통한 인건비의 절약도 기대할 수 있다. 또한 자동조절에 의해 배출처리수의 크롬농도를 배출기준 이하로 정확히 control할 수 있어 처리능의 안정화를 기대할 수 있다. 둘째로 fermentor에서는 높은 rpm에서의 교반이 가능하여 산소전달속도를 증대시킴으로써 shaker에서는 기대하기 어려운 빠른 세포성장과 높은세포 밀도를 얻을 수 있는 장점이 있다. 특히 FRI 20621같이 균사를 형성하는 경우에는 세포의 밀도가 높을수록 점도가 높아져 산소전달이 문제가 되기 때문에 반드시 fermentor를 이용하여야 기대하는 빠른 세포성장 및 높은 밀도의 세포를 얻을수 있게 된다. 셋째는 scale-up이 용이하다는 장점이 있다.

사진 4-4는 batch two phase operation에 사용된 fermentor system의 사진을 나타내고 있다. 이 system

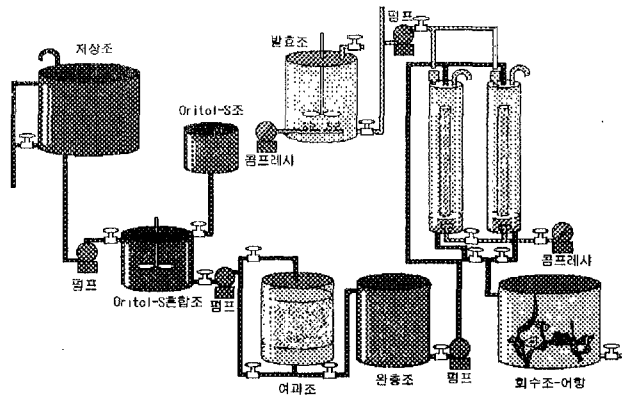


그림 4-22. 크롬을 제어하기 위한 바이오리액터



에서는 온도, pH, 용존산소(Dissolved Oxygen) 등이 정확하게 control되고 monitor되고 있다.

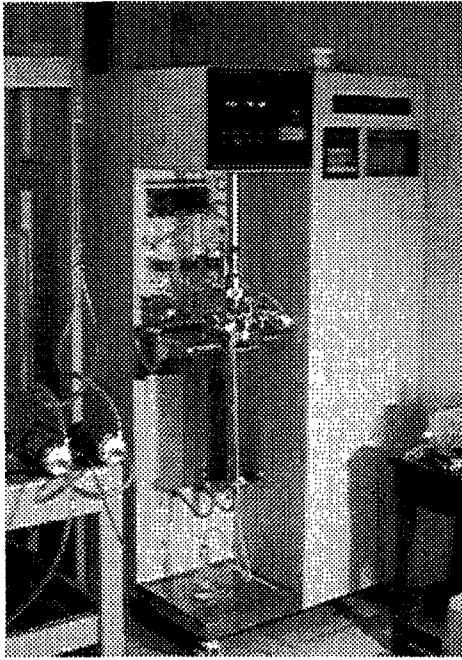


사진 4-4. batch two phase operation에 사용된 fermentor system

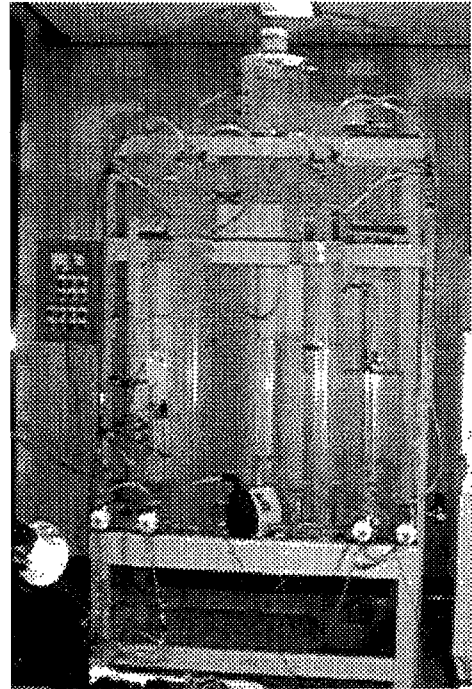


사진 4-5. air-lift system

보통의 fermentor는 기계적 교반을 이용하기 때문에 산소전달이 원활하여 세포배양에 적합하다. 하지만 two phase operation인 경우 세포성장보다는 접촉이 중요하기 때문에 교반이 큰 문제가 되지않으므로 에너지가 많이 들고 세포에 손상을 입힐 수 있는 교반식 반응기 보다는 새로운 형태의 접촉조가 요구된다. 이러한 두 번째 단계에서 크롬의 제거에 필요한 접촉조로는 air-lift reactor가 있는데 이것은 기계적 교반대신 반응기안에 채워진 액체가 공기가 주입되는 부분과 주입되지 않은 부분과의 밀도 차이에 의해서 순환되는 원리를 이용한다. 이 반응기의 장점은 기포탑 반응기(bubble tower)보다는 유동이 균일하고 낮은 전단력을 유지하면서 혼합과 산소전달이 적절하게 유지되는 것이다. 그러나 단점으로는 반응기내의 dead zone이 발생하고 특히 세포의 농도가 높을 때 혼합이 효과적으로 이루어지지 않는다는 점이다. 그림 4-22는 본실험에서 크롬처리를 위해 사용된 air-lift reactor를 모식적으로 나타내고 있고 사진 4-5는 실제 크롬을 제거하

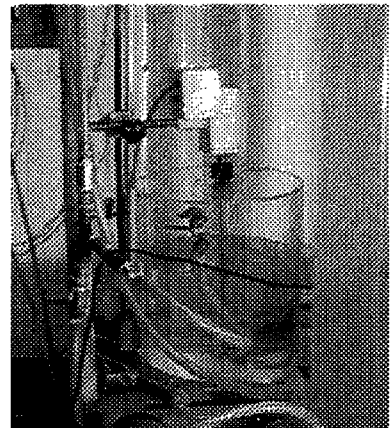
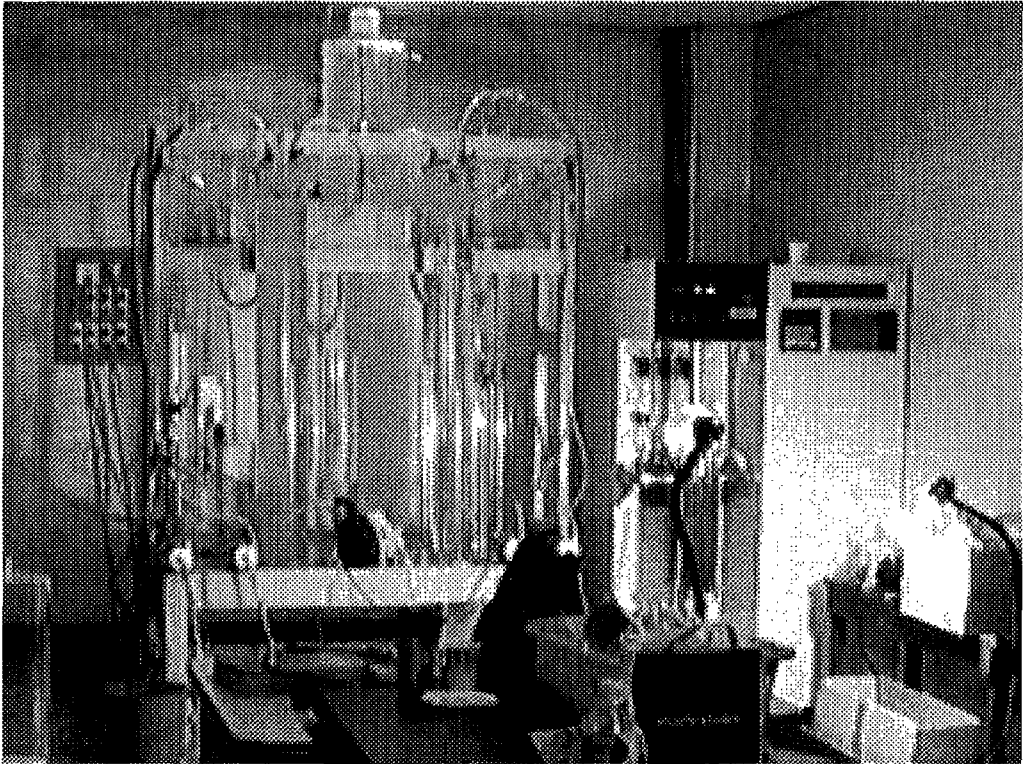


사진 4-6. 중금속포집제의 혼합조

고 있는 air-lift reactor를 보여주고 있다.

전술의 시험결과에서 고농도의 폐액은 중금속포집제에 처리하는 것이 효과적인 것으로 판단되었기 때문에 첫단계에서 중금속포집제와 응집침전을 유도했다. 이는 사진 4-6과 같이 반응조내에 교반기를 설치하고, 중금속포집제가 투입되어 크롬액과 골고루 반응시키기 위해서 이다.

이어서 fermentor에 의해 세포를 빨리 배양하여 생산한 후 세번째 단계로 air-lift reactor에서 크롬과 접촉하여 크롬을 제거하는 전략은 연속식으로 operation할 수 있다. 사진 4-7은 이러한 공정도에 입각하여 bench scale로 개발된 fermentor system과 air-lift reactor이 통합된 공정이다.



<사진 4-7> bench scale로 개발된 fermentor system과 air-lift reactor이 통합된 공정

### 제 3 절 카드뮴과 구리의 제어

#### 제 1 항 군사의 외형적변화

중금속이 첨가되지 않은 Control과 Cu첨가배양기에서의 군사의 육안관찰은 모두 군사의 모양이 고르게 분산된 원형으로 나타났으며, 균생육저해 현상에 의한 군사체의 변형은 관찰

되지 않았다. 그러나 Cd를 배지에 첨가한 경우에는 균사의 생장이 억제되어지므로 부분부분이 층이 두껍게 겹쳐진 응집된 성장 형태를 보였다.

현미경관찰에서 Cd나 Cu첨가배양기의 균사의 모양은 스트레스에 의해 정상적인 길이생장을 못하고 mycelium ball을 형성하였으며 또한 균사의 직경이 무척리에 비해 굵게되었다. (사진 4-8)

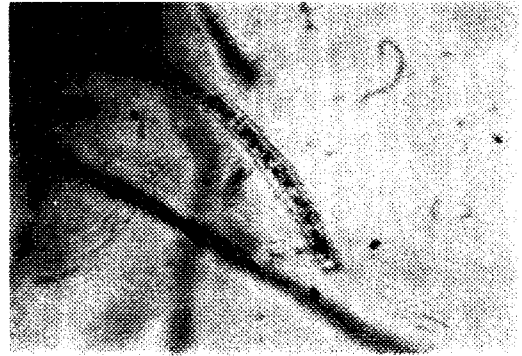


사진 4-8. Fungal sheet of Cd (top) and copper (bottom) containing agar medium.

### 제 2 항 중금속의 제어능 탐색

*T. palustris*를 4일 배양후 중금속 용액을 첨가하여 1, 3, 5, 7, 9, 11일 배양후 배양여과액을 받아 분석한 결과를 Fig 3-23에 나타냈다. 중금속은 초기흡착이 매우 빨리 진행되어 1일 경과후 Cd의 경우는 89%, Cu의 경우는 75%가 제거되었다.

같은 방법으로 배양액을 3시간 간격으로

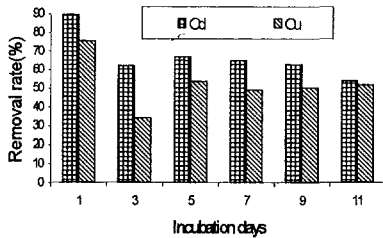


그림 4-23. Heavy metals adsorption in the media

4-25에 나타냈다. Cd의 경우는 9시간과 30시간 경과후 가장 좋은 제어율을 보였고 Cu의 경우에는 6시간, 30시간경과후에 흡착율이 좋은 것으로 나타났다. 초기에 흡착율이 높은 것은 균사표면에 점액질인 젤리상의 액체에서 금속과 접촉후에 매우 빠르게 진행되는 표면흡착이고, 이후의 흡착은 균체효소 등의 작용인 대사물의 활성이 관계된 화학적 반응에 의한 흡착으로 그 진행이 매우 느리며 천천히 진행되는 화학흡착이다. 표면흡착은 대부분의 균사체에서 나타나지만 화학적 흡착은 특이적인 균대사와 관련되기 때문에 화학적 흡착이 큰 균체가

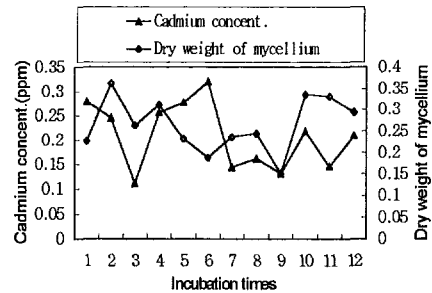


그림 4-24. The changes of cadmium

concentration in the filterates 여과하여 측정하고 그 결과를 그림 4-24, 그림

우수한 균주가 된다.

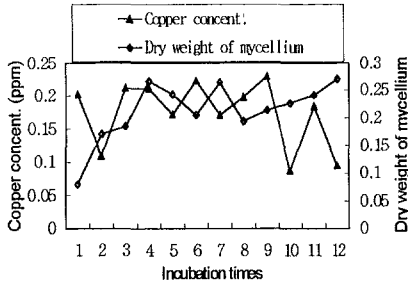


그림 4-25. The changes of copper concentration in the fiterates

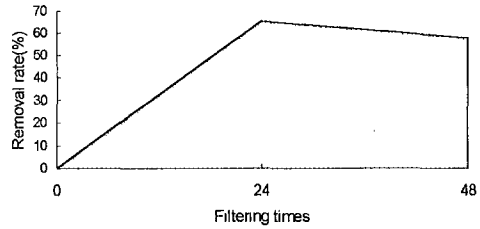


그림 4-26. Cadium uptake in saw-dust immobilization of *T. palustris*

톱밥배양기 조성은 상수리나무 톱밥 80% 밀기울 18%와 탄산칼슘 0.6g, 질산카리움 0.4g , sugar 1.5%를 기본조성으로 하였다. 균을 접종한 후 15일간 배양하여 톱밥에 균사를 만연시킨 후 간지 배양기에 넣어 톱밥을 채운 후 중금속 용액(100ppm)을 첨가하여 24시간, 48시간 후에 배양액을 받아 위의 방법으로 정량분석하였다.

폐목질자원인 톱밥에 균을 고정하고 이를 칼럼으로 하여 Cd를 흡착시킨 결과를 그림 4-26에 나타냈다. 이 때 배양기에서의 Cd의 제거는 24시간경과후 제어율이 73%, 48시간 경과후 67%로 톱밥을 균담체로 이용했을 때도 상당히 높은 제어율을 나타냈으며, 균흡착에서와 같이 초기흡착이 높은 것으로 나타났다.

### 제 3 항 효소의 관여

효소가 활성중인 alive cell과 효소의 활성이 없는 dead cell에서의 중금속 흡착율을 그림 4-27, 28에 나타냈다. 이 때 alive cell에서의 흡착은 화학적흡착이며 dead cell에서의 흡착은 표면흡착을 의미한다. Cd의 경우는 alive cell의 24시간 배양 후에 73%, 48시간 배양 후에는 75%를 나타냈고, dead cell에서는 24시간 후와 48시간 후에도 모두 73%를 보여 alive cell과 dead cell이 뚜렷한 차이가 없었으므로 카드뮴에 대한 *T. palustris*의 활성은 표면흡착에서 비롯될 가능성이 컸다. 한편 Cu의 경우에는 alive cell이나 dead cell 모두 24시간 배양 후 60%의 제어율을 48시간 배양 후에 55%정도의 제어율을 나타내어 화학적 흡착에 의한 가능성이 희박했다.

균사내에 축적되어 있는 중금속의 양을 측정하기 위해 12, 24, 36, 48시간별로 배양한 균사를 모아서 균사내에 축적된 Cd과 Cu의 량을 측정한 결과를 그림 4-29 및 그림 4-30에 나타냈다. 여기에서도 Cd의 경우는 시간의 경과와 거의 관계없이 50%정도의 Cd함유량을 나타내어 앞에서의 화학적 흡착 가능성의 희박성을 충분히 입증하고 있다. 한편 Cu는 시간이 경과하면 경과할수록 점차 Cu의 함유율이 높게 나타나 화학적흡착의 가능성을 높여주었다.

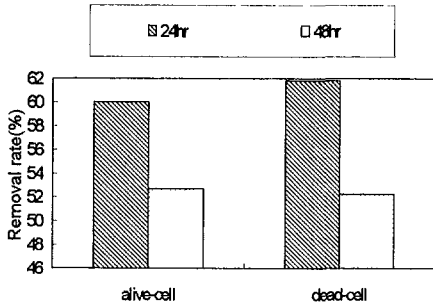


그림 4-27. The cadmium uptake by alive and dead cell

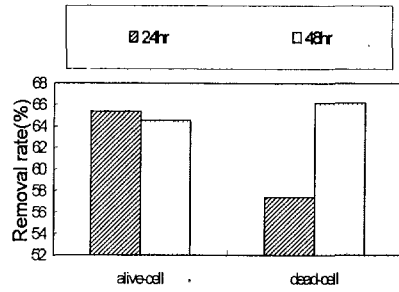


그림 4-28. The copper uptake by alive and dead cell

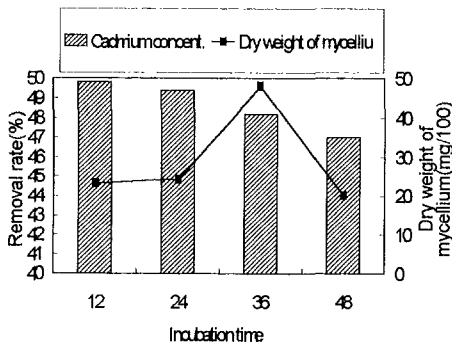


그림 4-29. Cadmium removal rate and dry weight of mycellium

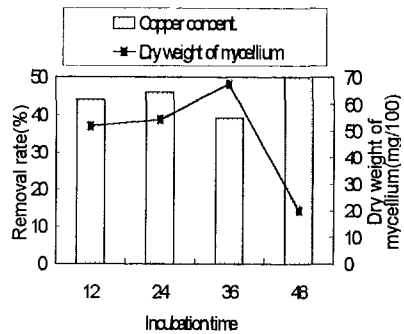


그림 4-30. Copper removal rate and dry weight of mycellium

#### 제 4 항 단백질 분석

중금속을 첨가하지 않은 배지와 첨가한 배지에 균을 배양한 후 균사를 여과하여 균사를 모은 후 증류수로 세척한 후 filter paper에서 짜낸다. 그리고 0.1M Tris- HCl buffer(pH 6.8 4℃)를 첨가하고 초음파 분쇄기로 균사를 분쇄하였다. 4℃에서 10,000rpm으로 30분가량 원심분리하여 상등액을 추출한 후 -20℃에서 100% 아세톤으로 침전시켜 5000rpm으로 20분간 원심분리하여 단백질을 얻었다. 추출된 단백질은 사용하기 전까지 -20℃에 보관하였다.

전기영동전에 시료를 단백질 buffer와 섞는데, 단백질 buffer는 20ml 1.25M Tris -HCl (pH 6.8), 8g sodium dodecylsulfate (SDS), 20ml 2-mercaptoethanol, 48ml glycerol, 40mg bromophenol blue를 탈이온증류수 100ml에 첨가하여 사용하였고, 전기영동전에 시료와 섞고 전기영동 직전에 95℃에서 5분간 끓인다. 실험실 온도에서 overnight하였다. 단백질 정량은 Bradford법(1976)에 의하여 Bio-Rad Protein Assay Kit를 사용하여 Bovine Serum을 표준으

로 하여 Spector- photometer에서 595nm에서 측정하였다. 전기영동의 전극 buffer는 172.8 g Glycine, 36.0g Trizma Base, 6g SDS (물 6 l 에 pH 8.35)로 준비하고, Separating gel은 12.5% T일때 다음과 같은 조성으로 준비 하였다. (Water 6.4ml, Buffer 2.0ml, Acrylamide 6.3ml, 10% SDS 0.2ml, 10% Ammonium Persulfate 0.2ml, TEMED 7.0 $\mu$ l) Stacking gel은 다음과 같이 준비하였으며(Water 10.35 ml, Buffer D 1.875ml, Acrylamide 3.0ml, 10% SDS 0.15ml, 10% Ammonium Persulfate 0.45ml, TEMED 7.5 $\mu$ l), Gel의 두께는 0.75mm로 하였다.

단백질의 분자량은 Protein Molecular Weight Low-range Maker를 사용하여 14.4 kDa에서 97.4 kDa까지 측정하였다. 단백질시료량은 40 $\mu$ l와 단백질buffer 20 $\mu$ l를 혼합하여 stacking gel에서는 120volt로 separating gel에서는 80volt로 낮추어 전기영동하였다.

Staining은 1.0g Coomassie Blue R-250, 450ml methanol, 450ml H<sub>2</sub>O, 100ml glacial acetic acid에서 3시간 하였고 destaining은 100ml methanol, 100ml glacial acetic acid, 800ml H<sub>2</sub>O로 12시간 정도 처리하였다.

Cd와 Cu를 첨가 배양할 경우 각각의 중금속에 의해 특이하게 유도되는 단백질의 존재여부를 알기 위해 SDS-PAGE로 총단백질을 분석하여 Photo 6에 나타냈다. Cd 첨가 배양한 세포들의 protein profile을 Control과 Cu첨가 배양과 비교하여 볼때 42 kDa, 38kDa의 2개의 새롭게 유도되는 단백질이 관찰되었으며 배양일이 경과될수록 단백질 밴드가 증가함을 통하여 cadmium stress에 관여하는 단백질을 발견하였다.

### 제 5 항 구리 제어

FRI 20621에 수산과 티아민을 첨가하였을 때 중금속의 제어율에 있어 좋은 결과를 보였다. 이는 특별히 균사의 성장을 촉진하는 영양제인 티아민의 역할 뿐만 아니라 수산의 중금속 킬레이터의 역할이라 사료된다. 산림 미생물 중에는 그성장 동안 수산을 배양액속에 분비하는 균주가 있다. 이러한 균을 이용하면 효과적으로 중금속을 제어할 수 있으리라는 가정으로 직접 수산을 분비하는 균주를 이용하고, 그 제어 효과가 수산의 킬레이트 효과로서 가장 잘 나타나는 중금속인 구리를 통하여 그 제어 기작과 함께 검증하여 보기로 하였다.

#### 1. 주요 산림미생물(갈색부후균)의 수산생성량 비교

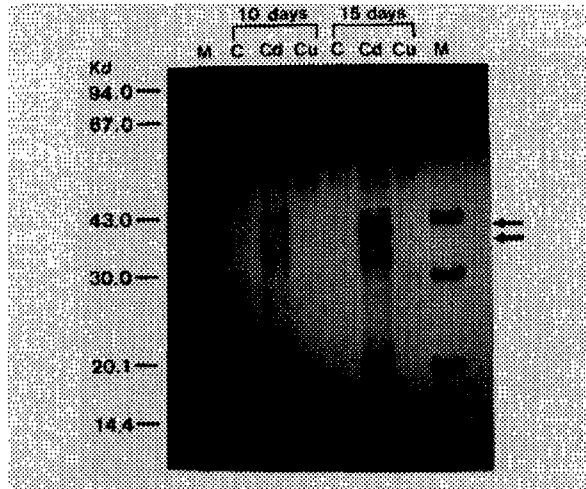


사진 4-9. The cell wall protein bands of *T. palustris* mycelium containing Cd and Cu

균사 성장과 함께 수산을 배양액에 분비하는 갈색부후균의 몇종을 가지고 수산생성량을 비교하였다.

공시균으로는 갈색부후균 *Tyromyces palustris* (FRI 21055: 부후개떡버섯), *Laetiporus sulphureus* (FRI 20631: 덕다리버섯), *Gloeophyllum trabeum* (FRI 20652), *Daedalea dickinsii* (FRI 20323: 등갈색송편버섯), *Fomitopsis pinicola* (FRI 20414: 소나무잔나비버섯), *Serpula lacrymans*(FRI 20965: 버즘버섯), *Lentinus lepideus* (FRI 20641: 잣버섯)을 사용하였다.

배양기 조성은 glucose 25g, malt extract 10g, peptone 5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2g을 증류수에 녹여 전량이 1,000ml이 되게 조정하였으며, 고품배양기는 위의 배양액 1,000ml에 한천 20g을 첨가하여 사용하였다.

배양액중의 pH, 균체량, oxalate 측정은 평판배지에서 미리 배양한 공시균을 코르크볼러 (6mm)로 찍어 낸 것을 공시배양액 100ml를 넣은 500ml용 진탕플라스크에 5조각씩 넣어 26℃ 120rpm으로 왕복 진탕배양하였다. 진탕배양액에서 생성된 수산의 양의 측정은 배지여과액을 NH<sub>4</sub>OH로 알칼리성으로 만들고, 여과액중의 수산은 CaCl<sub>2</sub>용액의 첨가로 침전시켰다. 이를 원심분리하고 모아진 침전물을 묽은 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 용해시키고 수산량을 1/10N-KMnO<sub>4</sub>로 적정하여 결정하였다. 공시균의 수산 생성량을 5일 간격으로 측정 비교 하였다. pH 미터로 배양액의 pH를 측정하고, 균체량은 배양기중의 균체를 여과 분리하고 건조중량으로 결정하였다.

그림 4-31에 갈색부후균의 수산생성량을 비교하여 나타내었다. 배양20일 이후 수산생성량은 *T. palustris* > *L. sulphureus* > *D. dickinsii* > *L. lepideus* > *G. trabeum* > *F. pinicola* > *S. lacrymans* 순이었다.

## 2. 수산생성균의 Cu 2000ppm에서의 균사성장량 비교

성장하면서 수산을 생성하는 균주의 균사성장량을 Cu 2000ppm을 주입한 평판배양기상에서 측정하였다. 결과는 그림 4-32와 같으며 균사성장량은 *T. palustris* > *L. sulphureus* > *D. dickinsii* > *S. lacrymans*의 순이었다.

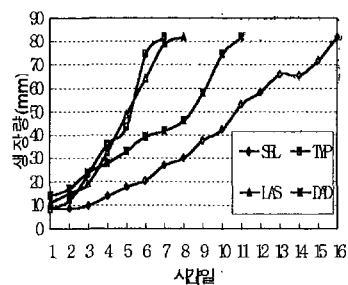
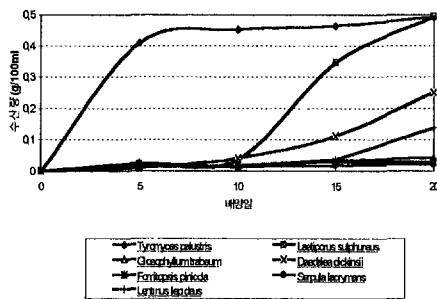


그림 4-31. 갈색부후균의 수산생성량 비교      그림 4-32. Cu 2000ppm에서의 균사 성장량  
3. Cu가 첨가된 고체배지에서 수산의 첨가와 균사 성장과의 관계

수산과 *T. palustris*의 성장관계를 검토하기 위하여 무처리 배지에 수산을 0.5%, 1%를 각각 첨가하고, Cu 2000ppm을 첨가한배지에 수산을 0.5%, 1%를 각각 첨가하여 구리가 첨가된 배지에서의 균사생장량을 검토하여 보았다. 그림 4-33은 고체 배지에 수산을 첨가하였을 때의 균사의 성장량이다. 배지의 성분은 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3g, Glucose 25g, Malt extract 5g, Pepton 10g, 을 1ℓ의 증류수에 넣어 제조하였으며, agar는 20g을 첨가하였고, 배지의 pH는 5.6으로 조정하여 사용하였다.

*T. palustris*가 성장하면서 균대사물질인 수산을 배양액 속에 생성하고, Cu가 첨가된 배지에서 성장하므로 인위적으로 수산을 첨가하여 그 성장관계를 관찰하였다. 고체 배지에서는 특별히 수산을 첨가하였을 때 그 성장량의 차이는 볼수 없었으며, Cu 2000ppm배지와 Cu 2000ppm배지에 수산을 첨가하였을때도 그 차이는 미미 하였다. 따라서 고체배지에서의 균사생장에 있어서는 이미 *T. palustris* 스스로 Cu첨가배지에서의 생장이 충분하며, 더 많은 수산의 량은 균대사 관계나, 혹은 중금속제거에는 필요로 하지 않는 것으로 사료된다.

#### 4. 액체배지에서 수산의 첨가와 균사 성장과의 관계

액체배지의 배지 조성은 고체 배지에서 agar를 첨가하지 않은 것이며, 300ml 삼각플라스크에 80ml의 배양액을 넣고 평판배지에서 성장시킨 균사를 다섯조각씩 넣어 배양하였으며 배양액의 pH는 5.6으로 조정하였고, 균체량은 배양액을 여과하고 남은 균사를 건조시킨 무게로 하였다. Cu 2000ppm에 균사조각을 바로 넣었을 경우에는 균사의 생장은 없었다. 수산을 첨가하였을 경우에는 무처리와 비슷한 경향을 나타내었다. (그림 4-34)

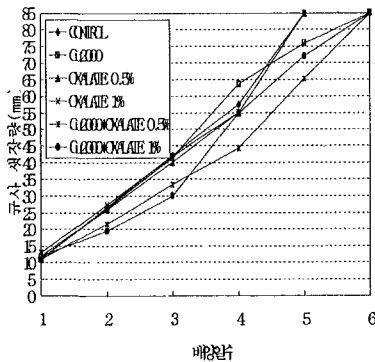


그림 4-33. 고체 배지에서 수산의 첨가와 균사 성장과의 관계

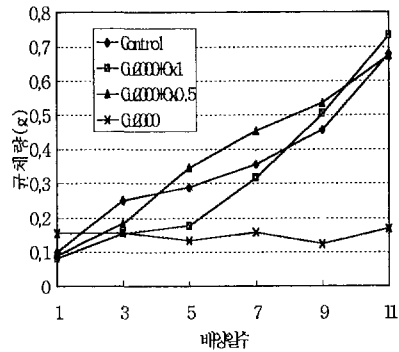


그림 4-34. 액체배지에서 수산의 첨가와 균사생장과의 관계

#### 5. 중금속과 균의 결합관계



구리가 첨가된 배지에서 성장하는 *T. palustris*와 중금속과의 결합관계를 추적하기 위하여 IR분석을 행하여 보았다.

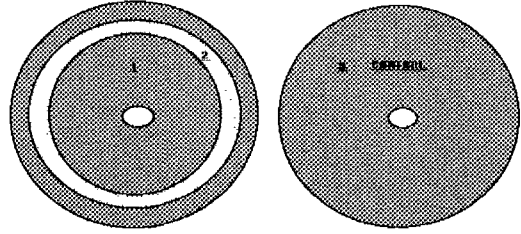


그림 4-35. Sampling

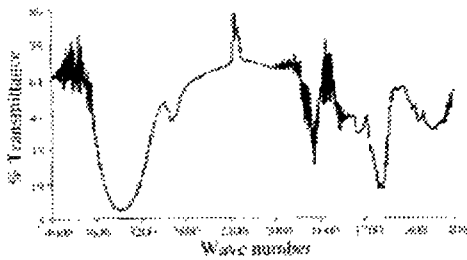


그림 4-36. The IR spectrum of part 1 of Fig. 1-14

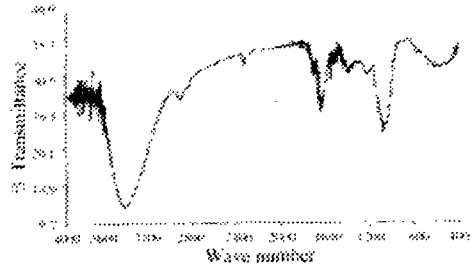


그림 4-37. The IR spectrum of part 2 of Fig. 1-14

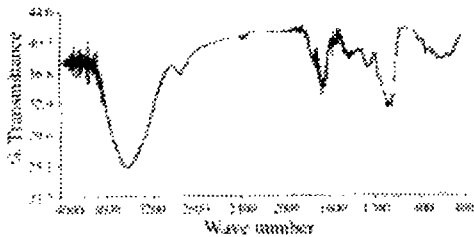


그림 4-38. The IR spectrum of part 3 of Fig. 1-14

그림 4-35와 같이 시료를 얻어 건조 시켜 IR분석을 하였다. 분석 결과는 그림 4-36, 3-37, 3-38과 같으며 IR chart에서 보듯이 균과 중금속의 어떤 화학적 결합은 확인할 수 없었으며, 중금속이 첨가된 배지에서 균이 성장하는 것은 군대사 물질에 의한 중금속의 배지의 침전이나, 군사내의 물리적인 흡착으로 사료되어 진다.

#### 6. Cu가 첨가된 배지에서 *T. palustris*가 성장하면서 형성하는 물질 관찰

*T. palustris*가 Cu2000ppm이 첨가된 평판배지상에서 성장하면서 사진 4-10과 같이 원형의 띠를 형성하였는데, 이부분을 떼어내어 현미경하에서 관찰하였다. 현미경하에서 관찰한 결과 사진 4-11과 같이 군사에 달라 붙지 않고 군사생장에 따라 배지에 형성되어진 결정을 관찰할 수 있었다.

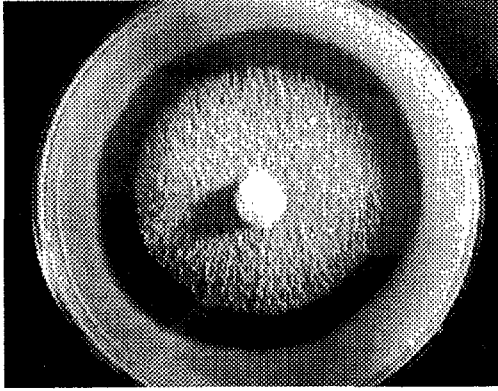


사진 4-10. Cu배지에서 형성되어지는 등근피

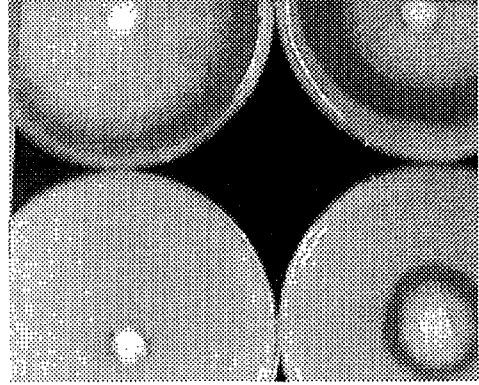
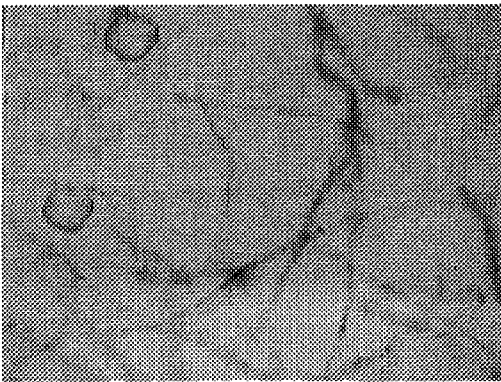


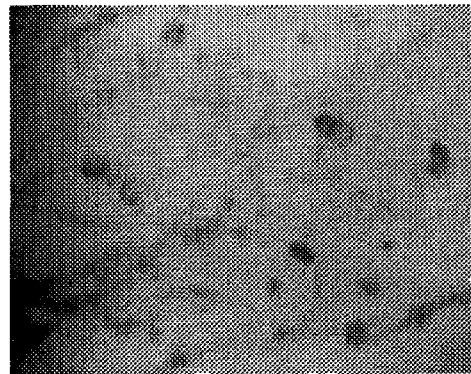
사진 4-11. *T. palustris*가 성장하는 Cu배지에 형성된 물질

7. Cu가 첨가된 배지에서 *T. palustris*가 성장하면서 형성하는 물질 분석

Cu 첨가 배지에서 형성되는 물질을 분석하기 위하여 등근피 부분을 건어내어 Kjeldahl flask에 질산과 함께 넣고 유기물을 충분히 태운 후 침전물을 증류수로 여러번 씻고 원심 분리하여 얻어진 침전물을 50°C에서 건조하여 IR 분석을 행하였다. 그림 4-39에 이 물질의 FT-IR 그림을 나타내었다. 그림 4-40은 oxalic acid 1%와 CuSO<sub>4</sub> 1%와의 혼합액에서 형성된 물질의 FT-IR의 Chart이다. 이 두 chart를 비교하여 본결과 Cu 첨가 배지에서 *T. palustris*가 성장하면서 형성하는 물질은 수산동임을 확인하였으며, *T. palustris*는 Cu 첨가 배지에서 성장하면서 생리대사물질인 수산을 배지에 배출하여 Cu와 결합하여 수산동을 형성함으로써 무독화 시켜 성장할 수 있다고 사료된다.

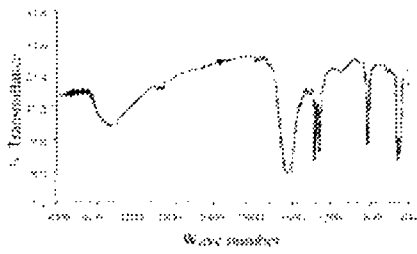


400 x



200 x

<그림 4-39> The collectives formed by *T. palustris* on the copper containing culture



<그림 4-40> *T. palustris*가 Cu 첨가  
배지에서 성장하면서 생성한 물질의 IR  
chart

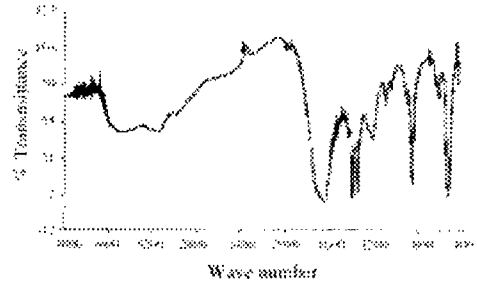


그림 4-41 Oxalic acid와  $\text{CuSO}_4$  혼합물에서  
생성된 침전물의 IR-chart

## 제 5 장 담자균 및 Laccase 효소를 이용한 페놀성 오염물질 제어 및 탈색처리

### 제 1 절 담자균, 리그닌분해효소 및 Laccase를 이용한 펄프폐액의 탈색

#### 제 1 항 재료 및 방법

##### 1. 공시균의 준비

사용한 미생물은 백색부후균인 *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* 및 CB-20(충북대학교 임산공학과에서 선발된 균주) 3종을 사용하였다.

##### 2. 공시효소의 준비

전년도 분리, 정제하여 준비한 CB-20균주의 Laccase 효소 및 이를 APTES-CPG에 고정화시킨 효소를 이용하였다.

##### 3. 리그닌 분해효소의 활성

부후균을 PDA배지에서 배양하였으며, guaiacol을 사용한 방향족 화합물의 분해성능을 조사하여 상기한 9종을 선발, 공시하였다. 이 균주의 리그닌 분해효소 활성을 측정하기 위하여 glucose 10g, L-asparagine 2.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.47g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.48g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 50mg, Mn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 8.5mg, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 3.2mg, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 2mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 3.91mg, thiamine 0.5mg 등을 1 l의 증류수에 용해시켜 만든 배양액(pH 5.5)을 300 ml의 삼각후라스크에 50ml씩 분주하고 접종하였다. 플라스크에는 균사체들의 균질화를 위하여 유리볼을 함께 넣었다.

한편 inducer를 사용한 효소 inducing 효과를 알기 위하여 0.01M의 xyloidine를 접종 후 균사가 반정도 피복하였을 때 첨가하여 활성을 경시적으로 매일 finger print 방법으로 조사하였다. 접종방법은 Fahraeus와 Reinhammar의 방법에 따라 액체배지에 첨가하였다.

Laccase의 활성은 Leonowicz와 Grzywnowicz가 사용한 방법<sup>1)</sup>에 따라 UV-Visible Spectrophotometer (SHIMADZU UV-1601)에 의해 측정하였다. 이 때에 1cm의 1ml volume의

1) Freiter, E.R., Chlorophenols, pp.864-872. In: H.F. Mark, D.F. Othmer, C.G. Overberg, and G.T. Seaborg (ed.), Encyclopedia of chemical technology, 3rd ed., vol.5, John Wiley & Sons, Inc., New York (1979)

quartz cuvette를 사용하였고, 배양기간에 걸쳐 laccase 활성의 측정은 syringaldazine을 반응기질로 이용하여 48시간마다 sample 0.05ml, 0.10M citrate -phosphate buffer 0.25ml, 2차 증류수 0.15ml를 첨가하여 혼합한 후, 0.50mM의 syringaldazine 0.05ml을 넣어 혼합 후, 525nm에서 60초 동안 흡광도를 측정하여 흡광도가 직선으로 증가하는 구간에서 흡광도의 차( $\Delta A$ )와 그 반응시간을 이용하여 다음의 식(1)과 (2)에 의해 laccase의 활성을 구하였다.

$$\text{Laccase Activity} = \frac{\Delta A_{525} \times \text{total volume (ml)} \times 10^0 \text{ nkat}}{\epsilon \times \Delta t \times \text{sample volume (ml)} \text{ l(liter)}} \quad \text{식(1)}$$

where, kat = mol/sec

$\epsilon$  : 65,000 (Molar absorbance coefficient of syringaldazine,  $M^{-1}cm^{-1}$ )

$\Delta A$  : Difference of absorbance at 525nm

$\Delta t$  : Reaction time (seconds, 60)

여기서, total volume이 0.50ml이 되고 sample volume이 0.05ml일 때에는 식(2)로 간단히 laccase 활성을 계산하였다.

$$\text{Laccase Activity} = \Delta A_{525} \times 2564 \frac{\text{nkat}}{l} \quad \text{식(2)}$$

#### 4. E1 공시폐액의 준비

크라프트펄프공장의 침엽수재 펄프로부터 표백폐수의 E1 폐액을 사용하였으며, pH 8.2로서 여과지(ADVANTEC;Toyo, pore size:  $5\mu m$ )로 2번 여과 후 membrane filter로 48시간 재여과하였다. 여과된 폐액은 4°C에 보관하여 공시하였다.

#### 5. 공시폐액의 탈색처리 및 측정

탈색용 액체배지의 조성은 glucose 10g, magnesium sulfate 0.5g, potassium phos phate 0.47g, sodium phosphate 0.48g, caluium nitrate 50mg, ferric chloride 3.2mg, zinc nitrate 2.0mg, cupric sulfate 2.5mg, thiamine 0.05mg, manganese sulfate 8.5mg을 1 리터로 하고 pH를 5.5로 조절하여 탈색에 사용하였다. 배양방법 및 적정 균사량집중을 위하여 - 폐액(77.7ml)+처리액(6.3ml)+증류수(16ml),... pH5.5(1N HCl사용)로 조정

- 300ml플라스크에 위 용액 100ml를 취하여 121℃, 20분간 살균

- 살균된 용액에 균사접종 및 여과액 처리

① Linderberg medium에서 배양, 최대활성을 보일 때 균사의 전거무게가 1g이 되는 균사의 양을 무균상태에서 살균 폐액에 접종하였다.

② 효소액을 여과(5μm의 membrane filterpaper 사용)하여 각각 20ml씩 접종하였다.

- 25℃에서 정치배양

\*24시간 간격으로 흡광도 측정-color unit, color removal

\*4시간 간격으로 흡광도 측정

폐액색깔의 측정은 CPPA표준방법(H5P)<sup>2)</sup>에 의거, pH를 7.6으로 조정 후, 0.8μm membrane filter로 여과하여 465nm에서 흡광도를 측정, 다음식으로 색을 계산하였다.

$$\text{Color unit(CU)} = 500 A_2/A_1 = 500 \times A_{465}/0.132$$

A1 : 500 CU Pt-Co 표준액의 흡광도(0.132)

A2 : 폐수의 흡광도

$$\text{탈색률(\%)} = 100 - (\text{처리된 sample의 CU} / \text{원액의 CU} \times 100)$$

## 제 2 항 연구결과

### 1. 효소의 활성화

활성이 강한 몇종의 균에 대하여 laccase 활성화에 미치는 inducer인 xyloidine의 첨가효과를 경시적으로 나타냈다. 그림 5-1은 가장 활성이 높은 CB-20활성의 경시적 변화로서 xyloidine을 첨가하므로써 급격한 활성의 증가를 나타냈다. laccase 활성화는 계속 증가하여 24일에는 44,000 nkat의 가장 높은 값을 보였으며, 그 이후에는 점차 감소하는 것으로 나타났다.

그러나 판막버섯(*Phanerochaete chrysosporium*) 및 느타리버섯 (*Pleurotus ostreatus*) 에 대해서는 laccase 활성을 얻지 못하였다. 배양조건에 대한 검토가 더욱 필요하다고 생각된다.

2) CPPA Technical Section Standard Method H5P (1974), Color of pulp mill effluents.

## 2. 탈색특성

### 가. 담자균에 의한 탈색

그림 5-2은 공시균을 이용한 탈색특성을 정리한 것으로 판막버섯 및 느타리버섯은 처리 첫날부터 탈색을 일으켰으며, 느타리버섯의 탈색능이 처리 2일까지는 가장 높은 것으로 나타났고, 처리 8일째 40%의 탈색능을 보여 주었다. 이에 대하여 CB-20은 2일까지도 전혀 탈색이 일어나지 않았고, 3일째부터 급격한 탈색능을 보여, 가장 높은 탈색효과를 나타냈다. 그 후 판막버섯은 처리4일째 60% 정도

의 탈색율을 나타내, 가장 높은 탈색효과를 보여주었으나, 그 후는 거의 탈색이 진전되지 않았으며, 오히려 다소 착색되는 것으로 나타났는데 대하여 느타리버섯도 15일까지 꾸준한 탈색효과를 보여주었고, 특히 CB-20은 15일 처리에서 최고 70%의 가장 높은 탈색율을 나타냈다.

### 나. 탈색에 미치는 탄소원의 영향

그림 5-3은 폐액의 탈색에 미치는 탄소원의 영향을 살펴본 결과를 나타낸 것으로서, 탄소원은 xylose, glucose, sucrose, glycerol 및 ethanol을 사용하였다. 최초 탄소원 첨가시 폐수의 색깔이 탄소원에 따라서 더욱 진해지는 결과를 나타냈는데, 예를 들면 ethanol은 첨가시 탈색효과를 나타냈는데 대하여 sucrose의 경우는 탈색보다는 오히려 착색효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 처리 1-2일에서의 탄소원간에 탈색능을 보면, glycerol 및 sucrose가 glucose와 xylose보다 떨어졌으며, 처리 4일째에는 어떤 탄소원에서도 거의 유사한 탈색효과를 얻을 수 있는 것으로 나타났다. 전체적으로 최초의 2일간에는 75% 정도의 탈색효과를 나타냈으나, 그후 2일간에는 20% 정도의 완만한 탈색현상을 나타내고 있다.

그림 5-4는 비교적 탈색효과가 크게 나타난 sucrose와 균체의 효과를 함께 조사한 결과로서 sucrose의 농도가 높을수록, 그리고 균체의 양이 많을수록 탈색효과가 큰 것으로 나타났다. 그리고 sucrose를 첨가하지 않더라도 균체만으로도 어느정도의 탈색이 일어나며, 반대로 균체가 없이 sucrose만을 첨가하더라도 탈색이 어느정도 진행됨을 알 수 있었다. 탈색효

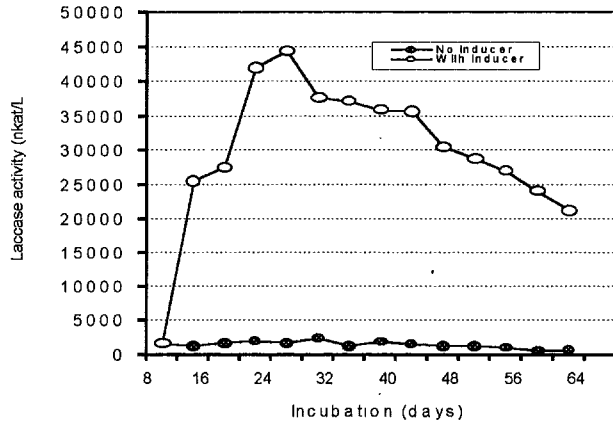


그림 5-1. Change in Laccase activity of CB-20 by inducer addition.

과는 전자인 균사의 탈색효과가 더욱 컸다.

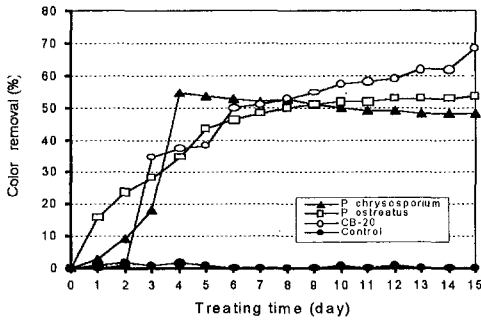


그림 5-2. Decolorization of bleached kraft pulp effluent with mycelia of variuos fungi.

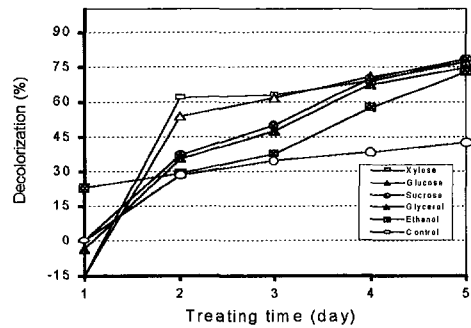


그림 5-3. The effect of carbon sources on color removal of bleached kraft pulp effluent.

#### 다. 탈색에 미치는 균체 및 배양여액의 영향

탈색에 미치는 균체 및 여과액의 영향을 그림 5-5에 나타냈다. CB-20을 배양 후 펄프표백 폐수를 소정량 가하고 탈색효과를 분석한 결과, 균체 및 여과액의 탈색효과가 처리 3일까지는 급격한 탈색증가를 보였고, 탈색효과가 동일하였으며 그 이후는 균사체의 탈색효과가 더 큰 것으로 나타났다. 그러나 균사체의 경우도 배양상태에서 효소의 생산이 되고 있으므로 엄밀한 의미에서 균사체에 의한 탈색이 일어난 것으로 인정되지 않았고, 여과액 또한 완전한 균사의 제거가 이루어지지 않아서 배양중 균체의 생장이 인정되었다.

#### 라. 탈색에 미치는 질소원의 영향

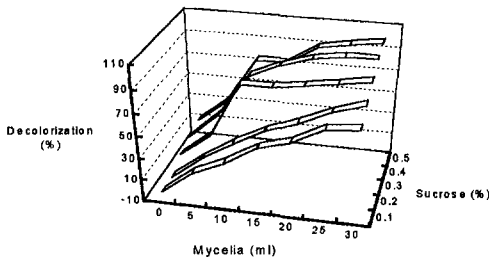


그림 5-4. The effect of sucrose and mycelium contents on color removal of bleached kraft pulp effluent.

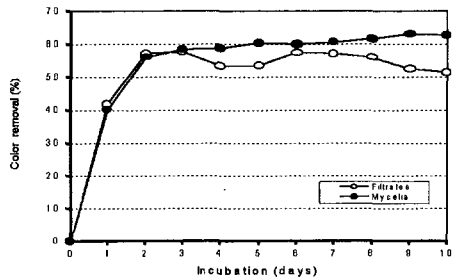


그림 5-5. The effect of filtrates and mycelia contents on color removal of bleached kraft pulp effluent



질소원으로서 Ammonium sulfate 및 Ammonium chloride를 0.1%, 0.5% 첨가하였을 때 탈색효과를 그림 5-6에 나타냈다. 그림에서 보는 바와 같이 첨가량에 따른 탈색효과의 차이가 거의 인정되지 않았다. 배양시간에 따라서는 2일까지는 급격한 탈색을 나타냈으며, 그 이후는 서서히 탈색이 증가하여 최고 60% 정도의 탈색율을 나타냈다.

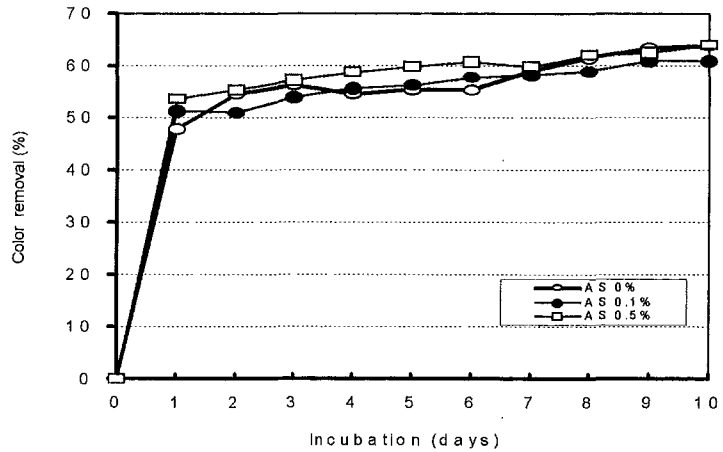


Figure 5-6. The effect of nitrogen source addition on color removal of bleached kraft pulp effluent.

### 제 3 항 결론

담자균인 판박버섯 및 느타리버섯은 처리 첫날부터 탈색을 일으켰으며, 느타리버섯의 탈색능이 처리 2일까지는 가장 높은 것으로 나타났고, 처리 8일째 40%의 탈색능을 보여 주었다. 이에 대하여 CB-20 은 2일까지도 전혀 탈색이 일어나지 않았고, 3일째부터 급격한 탈색능을 보여, 가장 높은 탈색효과를 나타냈다.

폐액의 탈색에 미치는 xylose, glucose, sucrose, glycerol 및 ethanol 등 탄소원의 영향을 조사한 결과, ethanol 은 첨가시 탈색효과를 나타냈는데 대하여 sucrose는 착색효과가 큰 것으로 나타났다. glycerol 및 sucrose가 glucose와 xylose 보다 떨어졌으며, 처리 4일째에는 어떤 탄소원에서도 유사한 탈색효과를 얻었다. Sucrose와 균사의 효과를 함께 조사한 결과, sucrose 의 농도가 높을수록, 균체의 양이 많을수록 탈색효과가 큰 것으로 나타났다.

질소원으로서 Ammonium sulfate 및 Ammonium chloride를 0.1%, 0.5%첨가하였을 때 탈색율을 증가시켰으며, 2종 약품의 첨가량에 따른 탈색효과의 차이가 거의 없었다. 배양시간에 따라서는 2일까지는 급격한 탈색을 나타냈으며, 그 이후는 서서히 탈색이 증가하여 최고 60% 정도의 탈색율을 나타냈다.

## 제 2 절 백색부후균을 이용한 유기 폐수중 난분해성 물질의 분해에 관한 연구

### 제 1 항 재료 및 방법

#### 1. 공시균주

예비실험 결과 pH 5-6부근에서 최대의 laccase 활성을 나타내는 CB-20 및 *Rhizoctonia praticolor*를 선정, 공시하였다.

#### 2. 균주의 배양

균주들의 배양은 glucose 10g, L-asparagine 2.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.47 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.48 g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 50mg, Mn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 8.5mg, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 3.2mg, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 2mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 3.91mg, thiamine 0.5mg 등을 1 l 의 증류수에 용해시켜 만든 배양액(pH 5.5)을 300ml의 삼각플라스크에 50ml씩 분주하고, 접종하였다. 플라스크에는 균사체들의 균질화를 위하여 유리볼을 함께 넣었다.

#### 3. 효소의 활성

전술의 방법으로 laccase 효소 활성을 측정하였다.

#### 4. 난분해성 염소화 화합물의 분해

페놀성화합물의 중합반응을 이용한 난분해성 방향족 화합물 4종, 방사성 동위원소로 표시된 화합물인 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, 2,4,5-trichlorophenol, pentachlorophenol(PCP), 제거에 미치는 coniferyl alcohol의 첨가효과를 검토하였다. coniferyl alcohol의 농도를 1,2,5,7,10mM로, 20시간 반응시켜 분해율을 toluene sintillation fluid에서 측정하였다.

#### 5. 난분해성 페놀성화합물의 분해에 미치는 효소들의 협동

Laccase 및 glucose 1-oxidase (GOD)가 난분해성 페놀성화합물의 분해에 미치는 영향을 조사하였다. Laccase 및 GOD의 활성은 흡광계수 65,000 및 744 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> 그리고 525 및 415nm에서의 흡광도를 이용하여 측정하였다. MWL 및 페놀성화합물과의 반응은 24℃, pH 5에서 수행하였다.

## 제 2 항 연구결과

### 1. pH를 기초한 공시균의 선발 및 효소활성의 유도특성

폐수중 염소화화합물을 laccase 효소의 도움으로 coniferyl alcohol과 중합시켜 제거하는 방법들이 제안되고 있는 바, 본 연구에서는 이러한 경우 중합이 일어나는 가장 좋은 조건의 pH가 6.5부근인 것으로 알려지고 있다. Fig. 5-9은 CB-20 및 *Rhizoctonia praticolor*로부터 생산되는 효소 laccase의 최대 활성에 미치는 pH의 효과를 나타낸 것이다. 대부분의 담자균이 생산하는 laccase효소의 최적 pH가 3.5-4.5인데 대하여 CB-20 최적 pH는 5.5를 나타냈으며, *Rhizoctonia praticolor*는 pH 6.8에서 최고의 laccase 활성을 나타냈다.

Inducer를 첨가하지 않는 상태에서 laccase 효소의 활성이 glucose를 많이 포함하는 배지에서 가장 높았는데 대하여, inducer첨가시는 laccase 효소의 활성이 glucose 및 saccharose 첨가로 억제되는 현상을 볼 수 있었다. 동일한 배지에서 inducer로서 ferulic acid를 가하였을 때, Fig. 5-10는 CB-20의 laccase 효소생산에 미치는 효과를 경시적으로 조사한 결과이다. 배양 10일째 inducer를 첨가하였으며, 20일이 지나면서 미첨가 균주에 비해 점차 효소활성이 증가하기 시작하였으며, 배양 30일만에 inducer첨가.미첨가 모두 최대의 활성을 나타냈으며, inducer첨가로 35%이상의 높은 유도효과를 나타냈다. 30일이 지나면서 급격한 효소활성 저하를 가져왔으며, 40일째 다시 ferulic acid를 첨가하더라도 다시 효소활성의 증가는 일어나지 않았다.

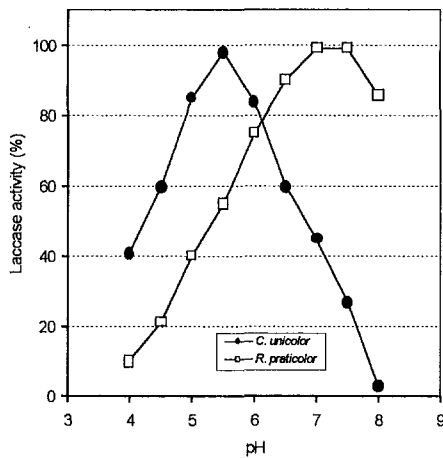


Fig. 5-9. Effect of pH on laccases from CB-20 and *Rhizoctonia praticolor*

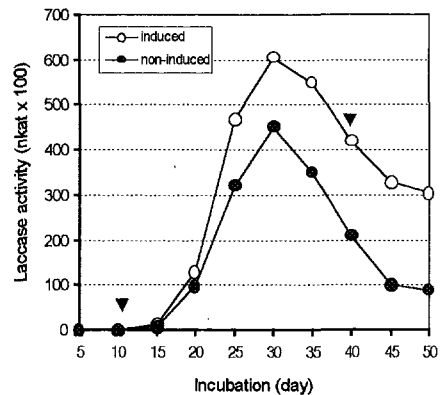


Fig. 5-10. Laccase activity during growth of CB-20 in induced and non-induced cultures. The arrow shows when ferulic acid was added.

Fig. 5-11은 *Rhizoctonia praticolor*의 효소활성을 배양 기간중 경시적으로 나타낸 것이다. inducer 첨가유.무에 따라 효소활성의 변화는 Fig. 5-10의 CB-20와 같은 경향으로 나타났다.

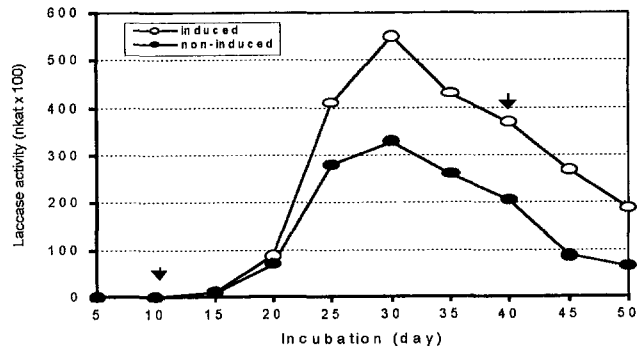


Fig. 5-11. Laccase activity during growth of *Rhizoctonia praticolor* in induced and non-induced cultures. The arrow shows when ferulic acid was added.

## 2. 염소화 난분해물질의 분해특성

가장 높은 효소활성을 나타내는 최적 pH의 2종 균주를 이용한 chlorophenol류의 실험과 관련하여, 먼저 CB-20의 laccase를 이용한 방사성 동위원소로 라벨된 chlorophenol류 4종, 4-chlorophenol, 2,4-chlorophenol, 2,4,5-trichlorophenol, 2,3,4,5,6-pentachlorophenol(PCP)에 대하여 coniferyl alcohol의 첨가량을 달리해 가면서 20시간 교반, 반응한 결과, 그림 5-12에 나타난 바와 같이 공시한 모든 chlorophenol류의 분해가 효과적으로 일어났다. Coniferyl alcohol의 첨가량은 1, 2, 5, 7, 10mM로 달리한 결과 첨가량이 증가함에 따라 chlorophenol류의 분해도 증가하는 경향으로 나타났으며, 제거율은 36-87%범위로 높았고, coniferyl alcohol의 최적 첨가량은 7mM이었다. 20시간 반응시의 분해율은 4-chlorophenol이 36%, 2,4-chlorophenol 60%, 2,4,5-trichlorophenol 70%, PCP 87%로서 PCP의 제거율이 가장 높았다.

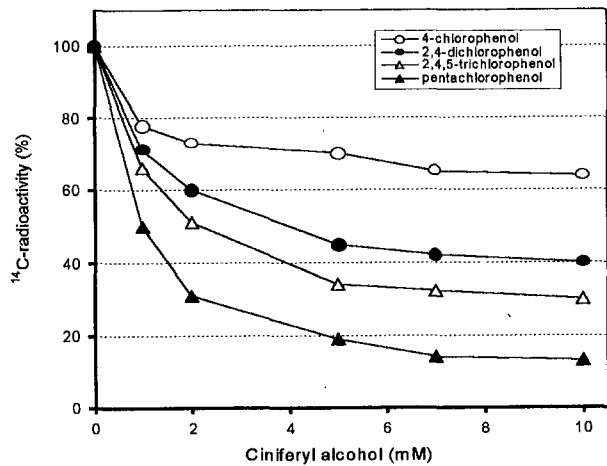


그림 5-12. Effect of coniferyl alcohol addition on the removals of chlorophenols by laccase of CB-20.

*R. praticolor*의 laccase를 이용한 실험에서 방사성 동위원소로 라벨된 chlorophenol류 4종에 대하여 coniferyl alcohol의 첨가량을 달리해 가면서 20시간 교반, 반응한 결과를 Fig. 5-13에 나타냈다. 공시한 모든 chlorophenol류가 현저히 분해됨을 알 수 있었으며, coniferyl alcohol을 1, 2, 5, 7, 10mM 첨가한 가운데 최적 첨가량은 7mM이었다. 그리고 4-chlorophenol 분해율은 34%, 2,4-chlorophenol 57%, 2,4,5-trichlorophenol 66%, PCP 85%로서 PCP의 제거율이 가장 높았다.

반응시간의 영향을 알기 위하여 coniferyl alcohol 첨가량을 최대의 분해율을 나타냈던 7mM로 고정시키고, laccase와 chlorophenol류를 넣고 12시간 반응시켰으며, 그 결과는 Fig. 5-14에 나타냈다. 그림에서 보는 바와 같이 coniferyl alcohol의 첨가가 4-chlorophenol 분해율을 40%, 2,4-chlorophenol 54%, 2,4,5-trichlorophenol 60%, PCP 76%로서 마찬가지로 PCP의 제거율이 가장 높은 결과를 얻었다.

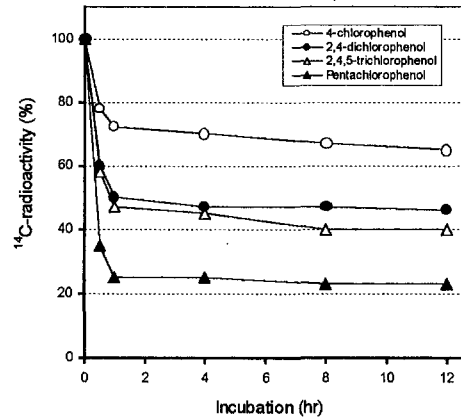
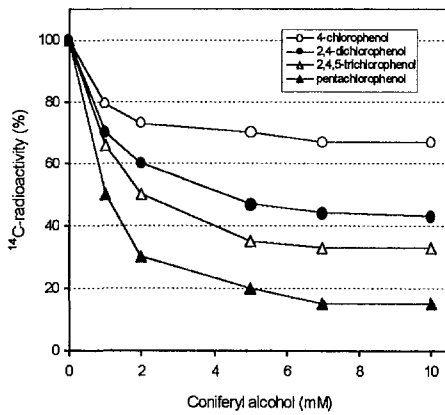


Fig. 5-13. Effect of coniferyl alcohol addition on the removals of chlorophenols by laccase of *R. praticolor*.

Fig. 5-14. Time course on removals of chlorophenols by laccase of CB-20.

상기한 laccase 및 coniferyl alcohol에 의한 chlorophenol의 제거는 2종의 균주에서 우수한 제거효과를 얻을 수 있었으며, time course 실험에서 알 수 있는 바와 같이 비교적 빠른 반응으로서 1시간 정도로 제거반응이 대부분 진행되는 것으로 나타났다. 4-chlorophenol의 경우는 1시간 처리와 12시간 처리간에 13%정도의 분해율차가 약간 있는 것을 제외하고는 다른 chlorophenol류의 분해는 신속하게 일어나는 것으로 이해된다.

### 3. CB-123에 의한 난분해성 PCP의 분해특성

공시균주의 배양과 배지조성은 대량배양용 reactor와 동일한 방법을 취하였고 배양액 2430

mℓ가 들어있는 air-lift reactor에 270mℓ의 균일하게 분산된 현탁액 접종하였다. 접종한지 5일째부터 왕성한 성장을 보였으며 비교적 균일하게 잘 분산시켜 2,5-xylidine을 첨가하여 laccase활성 측정하였으며 결과는 Fig. 5-15와 같다.

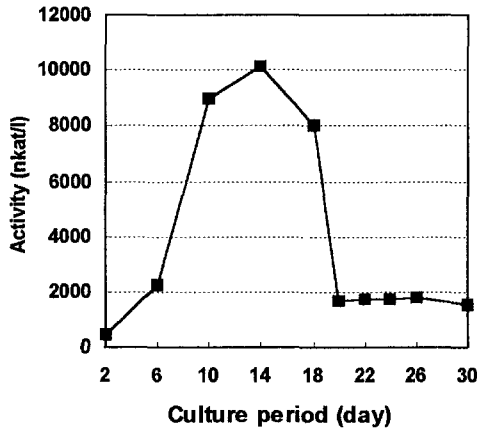


Fig. 5-15. Changes in laccase activity of tested CB-123 strain during bioreactor culture.

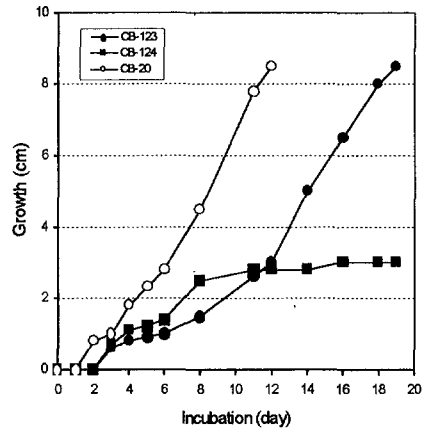


Fig. 5-16. Growth of fungi on agar media contained 10ppm pentachlorophenol.

Fig. 5-16은 10ppm의 PCP, Fig. 2-10은 500ppm의 dichlorophenol 을 포함하는 배지에서의 생육상황을 보면 10ppm에서는 CB-20의 생장이 가장 좋았고, CB-123의 생육이 비교적 좋았는데 대하여 500ppm의 dichlorophenol에서는 CB-20은 전혀 성장하지 못하였고, 오히려 CB-123이 가장 성장을 잘 하였다. 그리하여 CB-123을 이용한 PCP 분해결과를 Fig. 5-17에 나타냈다. CB-123은 50ppm 200ppm에서 신속한 분해를 일으켰으며, 100ppm의 분해가 다소 늦게 나타났는데, 다시 확인을 요한다.

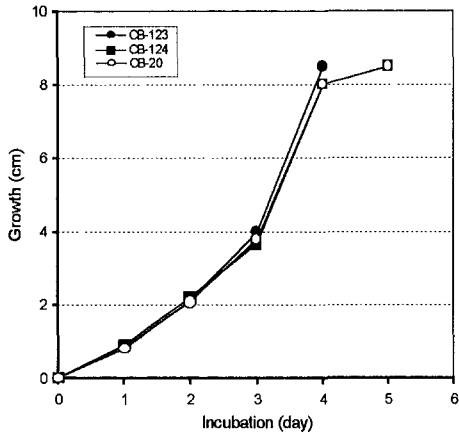


Fig. 5-17. Growth of fungi on agar media contained 10ppm dichlorophenol.

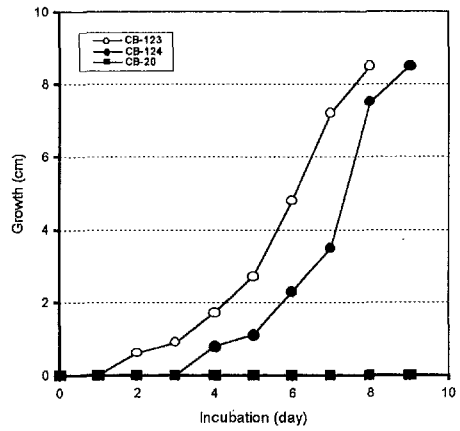


Fig. 5-18. Growth of fungi on agar media contained 500ppm dichlorophenol.

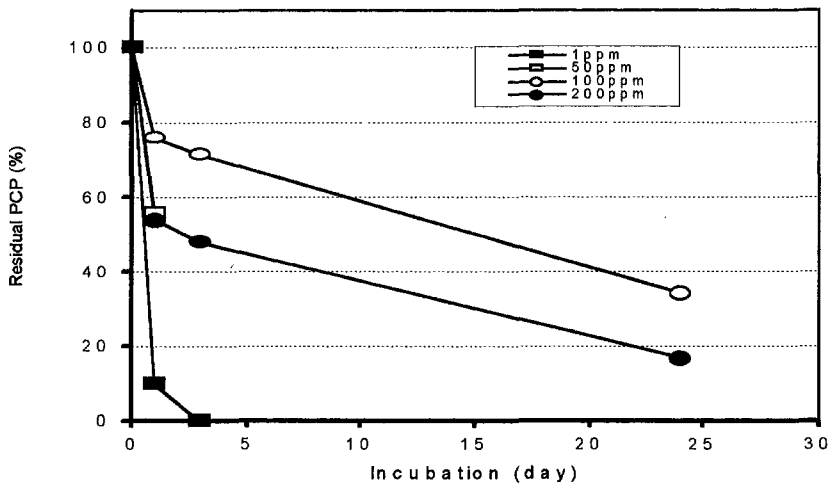


Fig. 5-19. Degradation of PCP by CB-123

#### 4. 리그닌 및 난분해성 페놀성 화합물 분해에 미치는 효소들의 협동

리그닌 분해효소, Lignin Peroxide (LIP) 및 Manganese Peroxide (MnP)가 리그닌분해에 상호간 긴밀히 작용하는 것이 보고되었으며, 근년 Laccase (LAC)가 Peroxides (LIP, MnP)와

함께 탄소-탄소결합 및 탄소-산소결합의 개열을 촉매함이 제안되었다(Kirk and Hammel 1992, Hammel et al. 1993, Marzullo et al, 1995). 지금까지 알려지고 있기는 LIP가 전자한개를 취하면서 리그닌구조를 산화시키며, 이렇게 하여 생성된 리그닌의 양이온 라디칼이 자발적인 분해반응을 일으킨다는 것이고, LAC는 페놀성기질은 페놀성 래디칼을 생성시킨다. 이렇게 생성된 래디칼이 리그닌구조의 탄소-탄소결합 및 탄소-산소결합의 개열을 촉매한다는 것이다. 이러한 사실로부터 리그닌분해에는 LIP를 작용케하는데는 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 필요하게 됨을 쉽사리 알 수 있다. 따라서 본 연구에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생성하는 D-glucose -1-oxidase (GOD)를 반응에 사용하여 양 효소간의 협동기구를 구명코자 하였다.

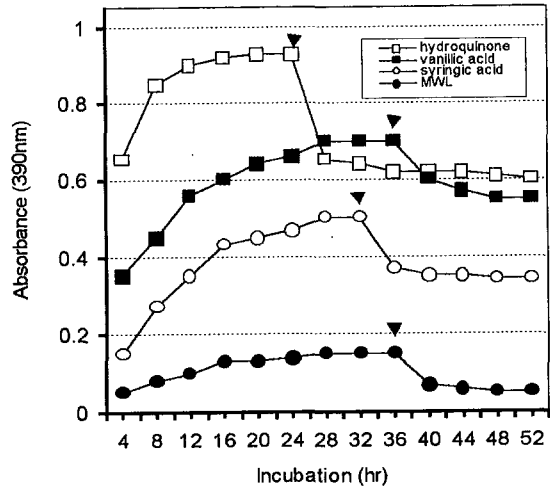


Fig. 5-20. Effect of GOD on reductions of quinones formed from phenolic compounds and MWL by Laccase. Addition of GOD is marked by arrows.

LAC는 CB-100으로부터, 그리고 GOD는 *Pleurotus ostreatus*로 부터 분리하여 공시하였다. MWL 및 난분해성 페놀성물질의 농도는 0.6mM/ml를, LAC는 5kat/ml를 사용하여 pH 5, 반응 온도 24℃에서 반응시켰으며, GOD 첨가실험에서는 MWL 및 난분해성 페놀성물질의 농도는 0.6mM/ml에, GOD를 200 및 500kat/ml의 농도조건에서 3mM의 glucose를 첨가하여 반응시켰

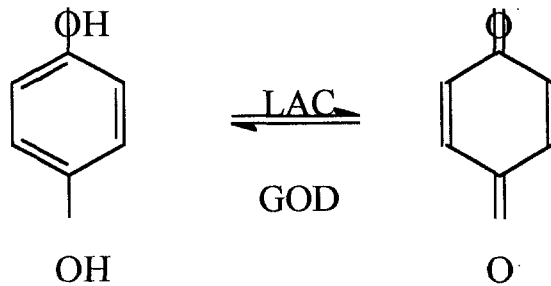


Fig. 5-21. Ping-pong oxidoreduction of hydroquinone by activities of laccase and GOD.



다. LAC와 리그닌, 페놀성화합물이 반응하여 quinoid 수준이 평형값에 달했을 때 GOD를 첨가하여 반응을 검토하였다. 그 결과를 Fig. 5-19에 나타냈다. 리그닌 및 페놀성 화합물로부터 LAC 첨가로 생성된 흡광도 390nm에서 측정된 quinoids의 수준이 반응시간과 함께 점차 증가하여 최대가 되었을 때 GOD를 첨가하면 형성된 이들 quinoids 중간체가 급격히 감소되는 현상을 보여주고 있다. 그리고 이러한 감소현상은 일정시간 후 낮은 수준으로 떨어진후 정지됨을 볼 수 있었다. vanillic acid 및 syringic acid를 LAC 와 배양한 결과 몇종의 quinoid products를 확인할 수 있었고, 카르복실기를 포함하는 생성된 quinoid products는 GOD 와 반응하여 다시 vanillic acid 및 syringic acid로 되돌아가게 된다.

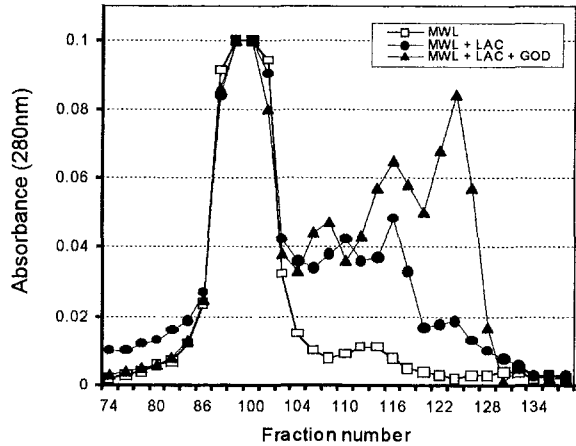


Fig. 5-22. Elution pattern of MWL on a Sephadex CL-6B column (50 x 2cm).

결과적으로 GOD는 Fig. 5-21에서 보는 바와같이 quinone을 hydroquinone으로 환원시키게 되며, 산소가 다른 전자수용체인 quinone으로 산화시키게 되어 이러한 LAC-hydroquinone-quinone 사이클이 리그닌 및 페놀성기질의 분해를 일으키게 하는 역할을 하는 것으로 이해된다.

Fig. 5-22는 MWL을 LAC 및 GOD와 반응전후의 리그닌 분자량분포를 측정한 결과를 나타낸 것이다. 리그닌을 LAC 만 첨가해서 반응하였을때도 대조구에 비해 상당량의 저분자량부분이 증가하고 있는 것으로 나타났으며, LAC와 GOD를 동시에 첨가하므로써 저분자량 부분이 급격히 증가됨을 알 수 있다. 이러한 결과로부터 리그닌 및 리그닌과 유사한 구조를 가지는 페놀성 난분해성화합물의 분해에 LAC 및 GOD가 상호 긴밀하게 협동하여 분해시킨다는 사실을 인정할 수 있다.

### 제 3 항 결론

폐수중 염소화화합물을 laccase 효소의 도움으로 coniferyl alcohol과의 중합이 일어나는 가장 좋은 조건의 pH가 6.5 부근인 2종의 균주, CB-20 및 *Rhizoctonia praticolor*를 공시하였다. 대부분의 담자균이 생산하는 laccase효소의 최적 pH가 3.5-4.5인데 대하여 CB-20 최적 pH는 5.5, *Rhizoctonia praticolor*는 pH 6.8에서 최고의 laccase 활성을 나타냈다.

inducer로서 ferulic acid 첨가한 경우, 35%이상의 높은 laccase활성 유도효과가 있었다.

2종 균주를 이용한 chlorophenol류의 제거실험 결과, chlorophenol류의 분해가 효과적으로 일어났다. coniferyl alcohol의 첨가량 7mM, 1시간정도의 반응으로 4-chlorophenol이 36%, 2,4-chlorophenol 60%, 2,4,5-trichlorophenol 70%, pentachlorophenol(PCP) 87% 제거되었으며, PCP의 제거율이 가장 높았다. CB-123 균주에 의해서도 2-dichlorophenol 및 PCP의 분해에 매우 효과적인 결과를 주었다.

리그닌 및 페놀성 화합물로부터 LAC 첨가로 생성된 quinoids가 GOD 첨가로 급격히 감소되었으며, vanillic acid 및 syringic acid를 LAC와 반응시킨 결과, 몇종의 quinoid products를 확인할 수 있었고, 생성된 quinoid products는 GOD와 반응하여 다시 vanillic acid 및 syringic acid로 되돌아가게 된다. LAC는 quinone으로 산화시키고, GOD는 quinone을 hydroquinone으로 환원시키는 LAC-quinone-hydroquinone 사이클이 리그닌 및 페놀성기질의 분해를 일으키게 하는 역할을 하는 것으로 생각된다. 리그닌에 LAC 만 첨가시 상당량의 저분자량부분이 증가하였고, LAC와 GOD를 동시에 첨가하므로써 저분자량 부분이 급격히 증가되었는, 이러한 결과로부터 리그닌 및 페놀성 난분해성화합물의 분해에 LAC 및 GOD가 상호 긴밀하게 협동하여 분해시킨다는 사실이 인정되었다.

# 제 6 장 폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화 시스템개발

## 제 1 절 자동화 공정제어 시스템 개발 및 중금속 흡착제 개발

제 1 항 FRI 20621에 의한 폐수중 크롬제거를 위한 lab scale air lift reactor system의 개발

### 1. large scale culture의 개발을 위한 최적 배양조건의 확립

폐수는 연속식으로 대량처리를 해야 하기 때문에 생물학적인 처리인 경우 처리미생물이 대량으로 필요하고, 이에 따라 처리미생물을 빨리 대량으로 배양 생산하여 처리조로 보내야 한다. 또한 처리조에서 동시에 배양하면서 처리할 경우는 다른 미생물과 경쟁할 수 있도록 처리미생물의 최적 성장조건에서 처리조를 운전하는 것이 바람직하다. 따라서 이러한 대량 처리시스템으로의 개발에 선행하여 처리 미생물의 최적 배양조건의 확립이 중요하다. 이를 위해 가장 기본이 되는 최적 온도와 최적 pH를 결정하기 위해서 여러 가지 다른 pH와 다른 온도 조건에서의 세포성장을 조사하였다. 이를 위해 사용한 배양액은 glucose 25 g/l, MgSO<sub>4</sub> 2g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3g/l, peptone 10g/l, malt extract 5g/l를 사용하였고, 500ml sagaguchi진탕 flask를 이용하여 100 rpm rotary shaker에서 진탕 배양하면서 filter paper를 이용하여 시간에 따른 dry cell weight를 측정하였다.

Fig. 6-1은 크롬제거를 위해 선발된 FRI 20621의 26℃, 28℃, 33℃ 세가지 온도에서의 성장 속도에 대한 온도의 영향을 조사한 결과로 온도가 증가함에 따라 세포성장이 증대됨을 알수 있었다. 아직은 세포성장을 저해하는 온도의 upper limit을 구하지 못하였으나 온도를 높이기 위한 energy cost를 고려할 경우 더 이상 온도를 올리는 것보다 33℃ 정도에서 배양하면 충분히 빨리 세포를 얻을 수 있기 때문에 당분간은 33℃에서 fermentor를 운전하기로 하였다.

Fig. 6-2는 FRI 20621의 성장속도에 대한 pH의 영향을 조사한 것으로 이 결과에 따르면 pH 4.2 정도가 최적 pH이므로 이 조건에서 fermentor를 운전하기로 하였다.

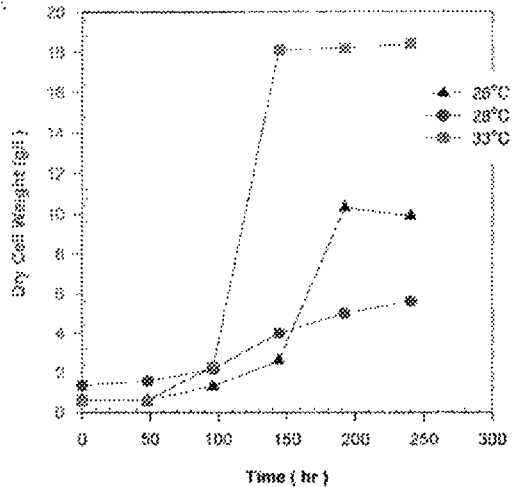


Fig. 6-1. Temperature effects on cell growth of FRI 20621. (pH=4.2)

앞으로는 크롬의 흡착 및 무독화의 관점에서 본 최적 온도와 pH를 조사하여야 한다. 하지만 큰 차이가 없을 경우에는 FRI 20621의 세포성장 면에서 본 최적 온도와 pH 조건을 그대로 대량처리 시스템에 사용하여도 무방할 것이다.

## 2. Dead cell에 의한 크롬의 흡착조사

실제 크롬의 처리에 관계하는 주요 mechanism은 FRI 20621의 세포외벽에 존재

하는 물질에 의한 생물학적 흡착(biosorption)과 세포의 대사에 의한 6가 크롬의 3가 크롬으로의 무독화가 그것이다. 일단 FRI 20621에 의해 3가 크롬으로 환원되면 3가 크롬은 배양액에 용해되어 있거나 FRI 20621의 세포벽에 흡착되거나 침전으로 남게된다. 본 실험에서 FRI 20621에 의해 6가 크롬이 세포벽 성분에 의하여 어느정도 흡착하는지 조사함으로써 나중에 생물학적 흡착을 제외한 3가 크롬으로의 무독화 정도를 추정할 수 있도록 하였다.

Fig. 6-3과 Fig. 6-4는 FRI 20621의 dead cell을 이용하여 세포의 대사활동 없이 단지 단순 흡착에 의하여 6가 크롬이 어느정도 흡착하는지 실험한 결과를 나타내고 있다. FRI 20621 dead cell 2g 을 90ppm과 11ppm의 크롬용액 400ml에 첨가하여 pH 4.0, 25℃의 조건에서 진탕flask에 의해 접촉한후 AA(Atomic Absorption Spectrophotometer)를 이용하여 용액에 남아 있는 6가 크롬의 양을 측정하였다. Fig. 6-3, Fig. 6-4에 의하면 초기농도 11ppm이나 90ppm의 경우 모두 35% 정도가 생물학적 흡착에 의하여 제거됨을 알 수 있었다. 앞으로 dead cell에 의한 6가 크롬의 흡착 isotherm과 3가 크롬의 흡착 isotherm을 조사하여 biosorption에 의한 흡착현상을 정량적으로 예측할 수 있게 해야한다.

## 3. Flask에서의 FRI 20621에 의한 크롬의 제거

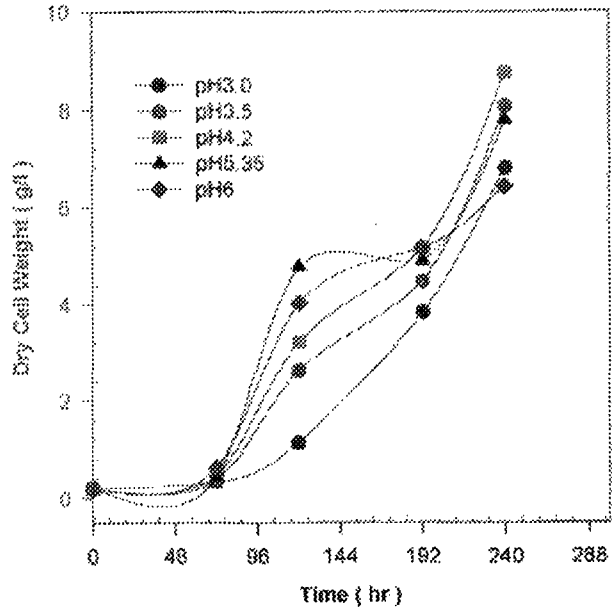


Fig. 6-2. pH effects on cell growth of FRI 20621(T=28°C)

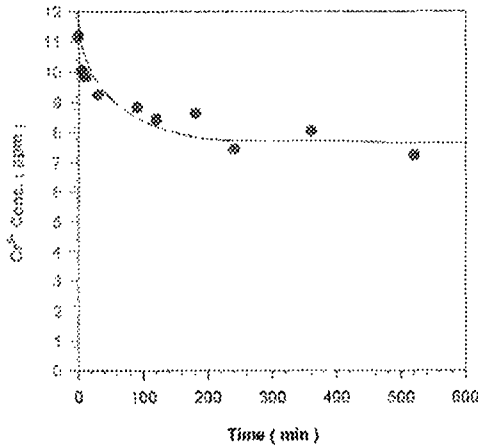


Fig. 6-3. Adsorption kinetics of chromate by the dead cells of FRI 20621 ( $C_i=11\text{ppm}$ )

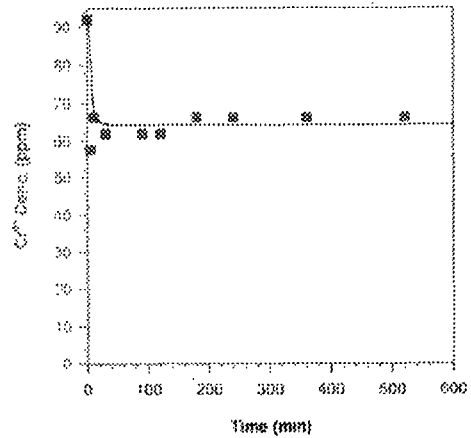


Fig. 6-4. Adsorption kinetics of chromate by the dead cells of FRI 20621 ( $C_i=90\text{ppm}$ )

FRI 20621에 의한 대량 크롬 폐수 처리 시스템을 개발하기 전에 먼저 고농도의 크롬용액 존재하에서 FRI 20621이 성장하면서 크롬을 제거할수 있는지 확인하기 위하여 초기 크롬 농도 1300ppm, 28°C, pH 3.8의 조건에서 baffled flask를 이용하여 200rpm으로 rotary shaker에서 진탕배양하였다. 이때 flask를 하나씩 희생하면서 sampling하여 dry cell weight와 잔존하는 총 크롬 양을 측정하였다. Fig. 6-5는 크롬 농도 1,300 ppm하에서의 세포성장을 나타내고 있는데 Fig. 6-1의 28°C에서의 세포성장과 비교하면 느린 세포성장을 보여주지만 그래도 좋은 세포성장을 보여주고 있어 선발된 FRI 20621이 크롬에 내성을 가지고 있다는 것이 입증되었다. 하지만 높은 크롬농도 때문에 저해를 받아 세포성장이 둔화되기 때문에 일차로 크롬농도 없이 빨리 성장시킨 후 두 번째 단계로 크롬과 접촉시키는 two phase(batch의 경우) 또는 two stage operation이 바람직하여 이후 bench scale operation에서는 이러한 전략으로 운전할 예정이다.

Fig. 6-6은 이때 AA로 측정된 잔존 총 크롬양의 시간에 따른 변화를 보여주고 있는데 약 30 % 정도의 제거율을 보여주고 있다. 이 경우 대부분의 크롬제거가 생물학적 흡

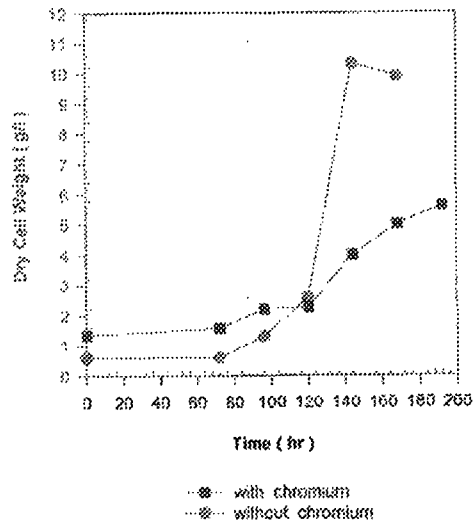


Fig. 6-5. Chromium concentration effect on cell growth of FRI 20621.

착에 의한 메커니즘에 의해 달성되었다고 생각하기 쉬우나 배지의 색깔이 초록으로 변한 것으로 보아 무독화도 상당히 진행되었음을 알 수 있었다. 현재 무독화의 정도는 AA로 총크롬을 정량하고 diphenylcarbizide에 의한 비색법에 의해 6가 크롬을 정량하여 처리조의 무독화된 3가 크롬의 양을 추정하는 방법을 시도하고 있는데 배양액내의 성분에 의한 간섭현상을 정확히 규명하지 못하여 아직은 남아있는 6가크롬의 양이나 무독화된 3가 크롬의 양을 정확히 알 수 없는 상태이다. 하지만 지금까지의 해석으로는 대략 6가 크롬 기준 80 %정도는 흡착이나 무독화에 의해 제거되는 것으로 사료된다.

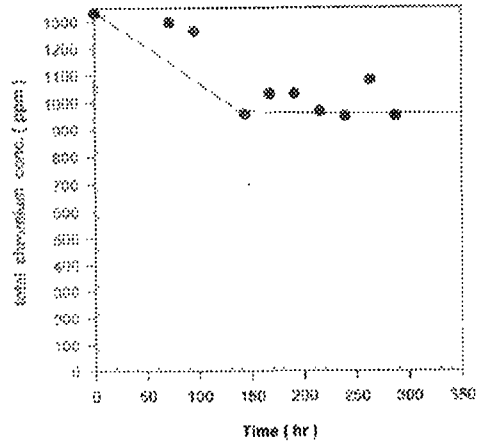


Fig. 6-6. Adsorption kinetics of total chromium by FRI 20621 in a shake ( $C_i=1,300\text{ppm}$ ).

#### 4. Lab scale fermentor에서의 FRI 20621에 의한 크롬의 제거

(Two phase batch operation)

앞서 언급하였듯이 FRI 20621을 이용한 크롬의 제거 시스템이 산업화되기 위해서는 먼저 처리미생물을 빨리 대량으로 배양, 생산하는 방법을 강구해야 한다. 이를 위해 앞서 구한 최적 조건에서 lab scale fermentor를 이용하여 1단계는 세포를 대량배양하고 2단계는 1000ppm 크롬함유수를 FRI 20621에 의해 처리하는 two phase batch operation을 시도하였다. Fermentor system를 이용할 경우 다음과 같은 여러 가지 장점이 있다. 첫째로 fermentor system에서는 최적 조건에서 세포가 성장하거나 크롬이 처리될 수 있도록 온도, pH, 용존산소 등의 자동제어가 용이하고 현재의 세포성장 상황이나 크롬처리 상황을 on-line monitor할 수 있어 최적 조건을 정밀하게 유지함으로써 처리효율을 제고시킬 수 있을 뿐만 아니라 자동화를 통한 인건비의 절약도 기대할 수 있다. 또한 자동조절에 의해 배출처리

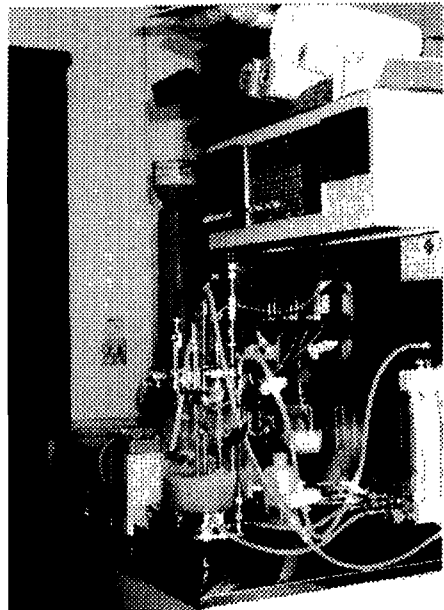


Photo 6-1. Fermentation system

수의 크롬농도를 배출기준 이하로 정확히 control할 수 있어 처리능의 안정화를 기대할 수 있다. 두째로 fermentor에서는 높은 rpm에서의 교반이 가능하여 산소전달속도를 증대시킴으로써 shaker에서는 기대하기 어려운 빠른 세포성장과 높은세포 밀도를 얻을 수 있는 장점이 있다. 특히 FRI 20621같이 균사를 형성하는 경우에는 세포의 밀도가 높을수록 점도가 높아져 산소전달이 문제가 되기 때문에 반드시 fermentor를 이용하여야 기대하는 빠른 세포성장 및 높은 밀도의 세포를 얻을수 있게 된다. 셋째는 scale-up이 용이하다는 장점이 있다.

Photo 6-1은 batch two phase operation에 사용된 fermentor system의 사진을 나타내고 있다. 이 system에서는 온도, pH, 용존산소(Dissolved Oxygen)등이 정확하게 control되고 monitor되고 있다. Fig. 6-7은 이러한 fermentor system에서의 첫 단계 운전으로서 먼저 결정된 최적 성장조건, pH 4.2 와 33° C에서 수행한 세포배양의 결과를 나타내고 있다.

이렇게 성장한 세포는 1000ppm 크롬이 첨가되어 두 번째 단계인 크롬처리 운전으로 들어가게 되는데 이때 시간에 따른 잔존 총크롬 농도의 변화가 Fig. 6-8에 나타나고 있다. 한편 shaking flask에서의 처리와 비교하기 위해 fermentor에서 성장한 세포를 shaking flask로 이동시킨 후 크롬 1000ppm을 첨가한 후 100rpm shaker에서 배양처리하였다. Fig. 6-8에 나타난 결과를 살펴보면 fermentor에서 처리한 경우가 shaking flask(제거율 33%)에서 보다 높은 제거율을 나타내고 있고 약 52%정도의 총 크롬이 제거됨을 알 수 있었다. 하지만 이것은 총 크롬의 경우이고 앞서 언급하였듯이 독성이 강한 6가 크롬의 경우 무독화와 생물학적 흡착에 의한 제거율은 훨씬 높은 것으로 예측된다. 지금 현재 Fermentor에서의 6가 크롬의 정확한 제거율은 앞서 언급하였듯이 알 수 없지만 대략 90% 이상이 되리

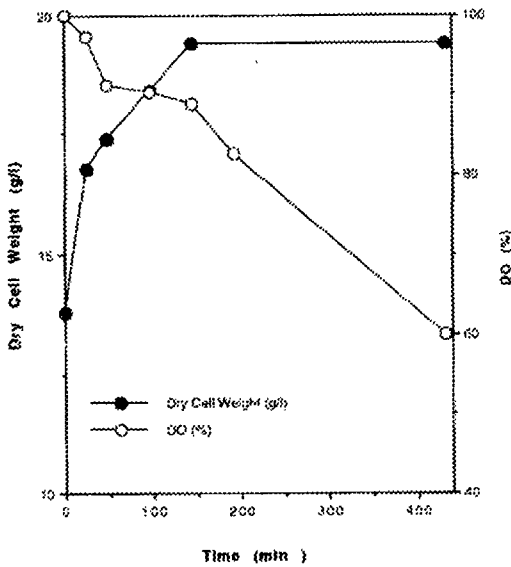


Fig. 6-7. Cell growth kinetics of FRI 20621 in fermentor.

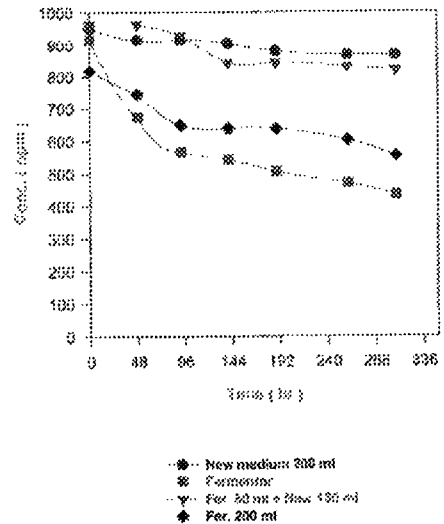


Fig. 6-8. Comparison of adsorption kinetics of total chromium by FRI 20621 between fermentor and shake flask.

라 추정된다. 또한 배양액내의 성분에 의한 제거 여부를 조사하기 위하여 세포접종을 하지 않고 배양액에 크롬을 첨가하여 총 크롬 농도를 측정한 결과 Fig. 6-8에서 알 수 있듯이 약 8%의 제거율을 보이고 있음을 알 수 있다. 이는 malt extract나  $MgSO_4$  등의 배양액중의 성분이 6가 크롬을 3가 크롬으로 환원하여 침전시키기 때문이며 실제 배양액에 용해하고 있는 3가 크롬을 고려하면 실제 3가 크롬으로 환원된 양은 훨씬 많을 것으로 추정되므로 배지성분에 의한 무독화도 그 정도는 적지만 6가 크롬의 제거 mechanism에 고려해야 한다. 한편 영양액의 고갈(depletion)에 의해 세포의 대사를 통한 무독화가 영향받지 않는가를 조사하기 위해 fermentor에서 성장한 세포배양액 50ml에 150ml의 새 배양액을 첨가하고 shaker 에서 크롬을 처리한 결과 오히려 고갈된 배양액에서의 제거 효율보다 낮은 제거 성능(제거율 13%)을 보여주고 있는데 이는 새로운 배양액에서 세포의 적응기간으로 대사가 지연되거나 희석으로 인해 세포의 초기농도가 적어졌기 때문이다.

#### 5. Air-lift reactor와의 통합공정에서의 FRI 20621을 이용한 크롬의 제거 (lab scale two phase batch operation)

보통의 fermentor는 기계적 교반을 이용하기 때문에 산소전달이 원활하여 세포배양에 적합하다. 하지만 two phase operation인 경우 세포성장보다는 접촉이 중요하기 때문에 교반이 큰 문제가 되지 않으므로 에너지가 많이 들고 세포에 손상을 입힐 수 있는 교반식 반응기 보다는 새로운 형태의 접촉조가 요구된다. 이러한 두 번째 단계에서 크롬의 제거에 필요한 접촉조로는 air-lift reactor가 있는데 이것은 기계적 교반대신 반응기안에 채워진 액체가 공기가 주입되는 부분과 주입되지 않은 부분과의 밀도 차이에 의해서 순환되는 원리를 이용한다. 이 반응기의 장점은 기포탑 반응기(bubble tower)보다는 유동이 균일하고 낮은 전단력을 유지하면서 혼합과 산소전달이 적절하게 유지되는 것이다. 그러나 단점으로는 반응기내의 dead zone이 발생하고 특히 세포의 농도가 높을 때 혼합이 효과적으로 이루어지지 않는다는 점이다. Fig. 6-9는 본실험에서 크롬처리를 위해 사용된 air-lift reactor를 모식적으로 나타내고 있고 Photo 6-2는 실제 크롬을 제거하고 있는 air-lift reactor의 사진을 보여주고 있다.

이렇게 첫단계에서 fermentor에 의해 세포를 빨리 배양하여 생산한 후 두번째 단계로 air-lift reactor에서 크롬과 접촉하여 크롬을 제거하는 전략은 연속식으로 operation할 경우 Fig. 6-10에서 보여주는 공정과 같은 system으로 개발할 수 있게 된다. 즉 연속적으로 흘러나오는 크롬 함유 폐수가 reactor안에서 fermentor로 부터의 세포와 접촉하면서 연속적으로 처리된다. 이때 연속적으로 유입되는 폐수를 처리하기 위해 세포가 연속적으로 필요하기 때문에 fermentor에서는 연속배양(continuous culture)에 의해 세포를 계속적으로 생산하여 reactor로 공급한다. Reactor에서 처리된 유출물은 thickner로 보내진다. Thichner에서는 처리된 상등액과 sludge가 분리되어 sludge의 일부는 다시 recycle하고



나머지는 sludge 처리 공정으로 보내진다.

Photo 6-3은 이러한 공정도에 입각하여 bench scale로 개발된 fermentor system과 air-lift reactor이 통합된 공정의 전모를 나타낸 사진이다.

Fig. 6-4, 6-11은 이렇게 위의 사진으로 보여준 것 같이 lab scale로 개발된 공정에서 two phase batch 형식으로 운전한 결과를 나타내고 있다. 이 fermentor- airlift 시스템에

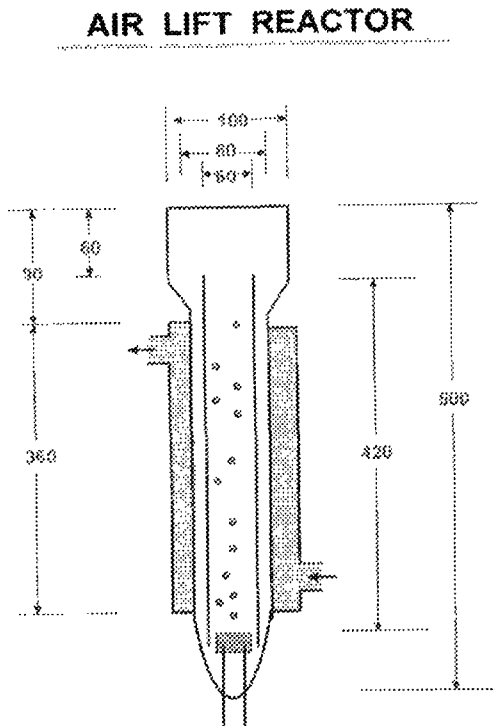


Fig. 6-9. Schematic diagram of air-lift reactor.

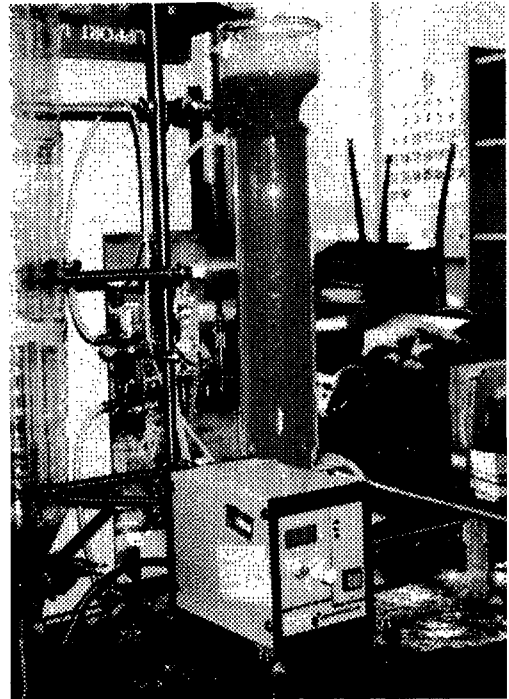


Photo 6-2. Air-lift reactor.

서 총 크롬은 약 54% 정도 제거되고 있는데 앞서 여러번 언급하였듯이 6가 크롬은 이보다 훨씬 많이 제거된 것으로 추정되고 있다.

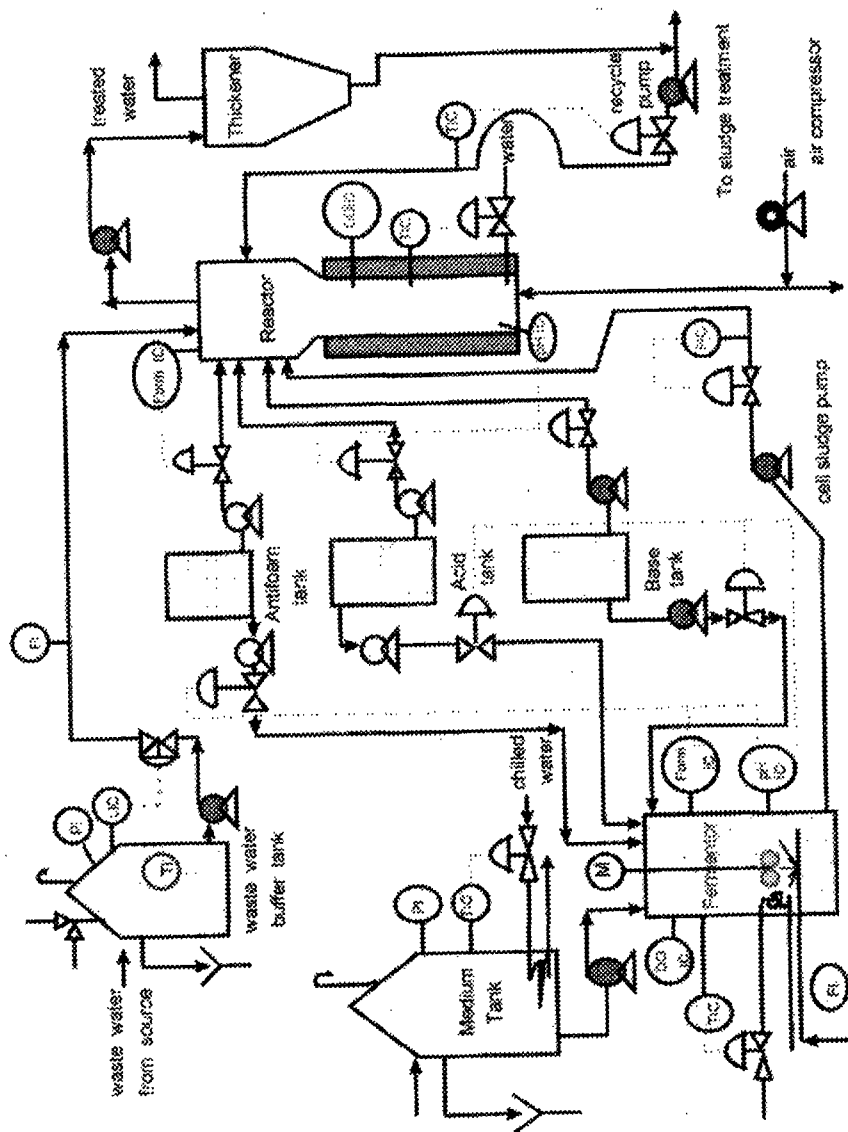


Fig. 6-10. Flow diagram of waste treatment system.

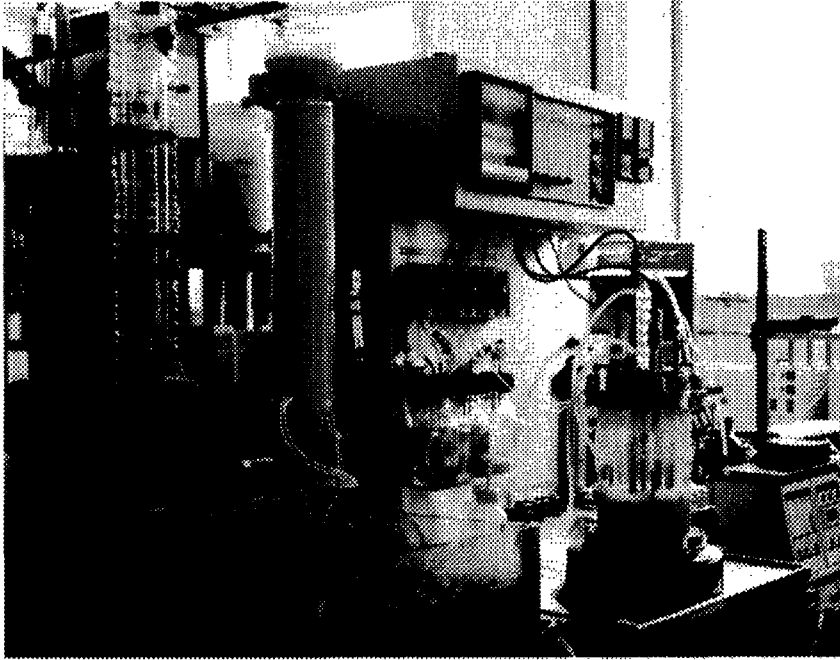


Photo 6-3. Integrated system of fermentor and air-lift reactor.

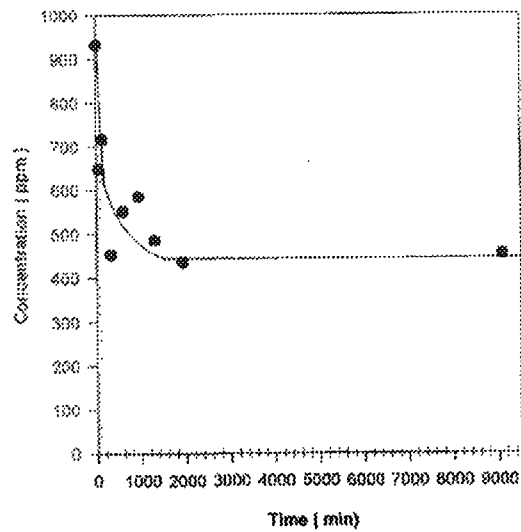


Fig. 6-11. Adsorption kinetics of total chromium by FRI 20621 through two phase operation in an integrated system of fermentor and air-lift reactor.

제 2 항 수피에 의한 폐수중 카드뮴 제거를 위한 최적 reactor system의 선발

수피에 의한 카드뮴의 선택적 흡착 현상을 이용하여 폐수중의 카드뮴을 효과적으로 제거할 수 있다는 사실은 이미 알려져 있다. 하지만 이러한 단순 흡착에 의한 제거 방법이라도 폐수가 대량으로 연속적으로 유출되기 때문에 산업적으로 이용하기 위해서는 효율적인 연속식 대량 처리 시스템의 개발이 시급하다. 여기서는 먼저 수피의 흡착 시스템의 성능을 예측하여 설계하는데 기본이 되는 흡착 등온식에 대하여 알아보고 대량 시스템에 적합한 흡착반응조를 선발함으로써 선발된 reactor system을 기준으로 연속식 대량 배양 시스템을 개발하려 한다.

1. 수피에 의한 카드뮴 흡착에 관한 흡착등온선

소나무와 상수리 나무의 수피 0.5g을 여러 초기 농도의 카드뮴 용액 100ml에 접촉시킨 후 (26°C, pH 5.5) 마지막 농도를 AA로 정량하고 물질수지에 의해 흡착된 양을 계산한후 흡착용량 q값을 결정한다. 크롬용액의 부피를 V, 사용한 흡착제의 양을 M, 초기농도를 C<sub>i</sub>, 마지막 농도를 C<sub>f</sub>라 하면  $q(\text{mg/g}) = V \times (C_i - C_f) / (1000 \times M)$ 에 의해 계산한 후 q와 C<sub>f</sub>를 plot 한다.

Fig. 6-12는 소나무의 흡착등온선을, 그리고 Fig. 6-13은 상수리나무의 흡착등온선을 보여주고 있다. 둘다 대표적인 Langmuir type의 흡착등온선을 보여주고 있고 소나무의 경우는 최대흡착용량 6 mg/g의 흡착, 그리고 상수리 나무의 경우는 최대흡착용량 7 mg/g의 흡착을 보여주고 있어서 비교적 낮은 흡착 용량을 보여주고 있다. 하지만 수피는 버려지는 자원으로 가격이 대단히 저렴하기 때문에 낮은 흡착용량에도 불구하고 충분히 경제성이 있다.

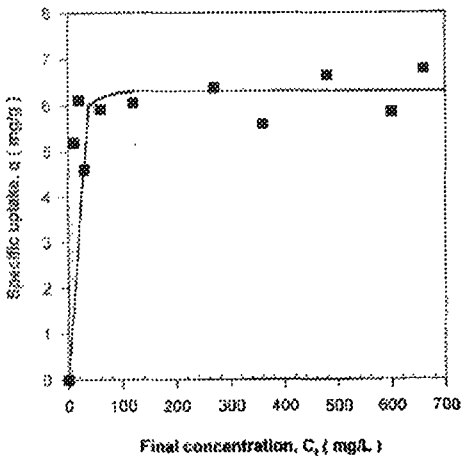


Fig. 6-12. Adsorption isotherm of cadmium by bark of red pine (T=26°C, pH=5.5)

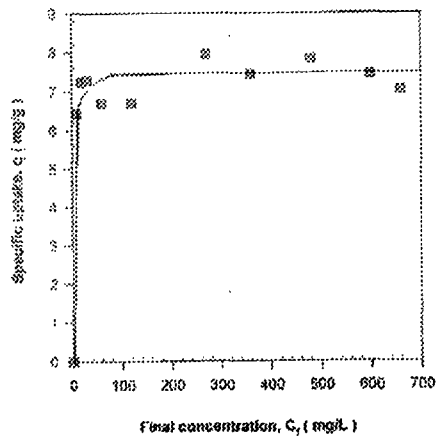


Fig. 6-13. Adsorption kinetics of cadmium by bark of sawtooth oak (T=26°C, pH=5.5)

## 2. Stirred reactor에서 수피에 의한 카드뮴 제거

대량 시스템에 적합한 흡착반응조를 선별하기 위해 먼저 가장 간단한 stirred reactor에서 수피에 의한 카드뮴의 흡착 kinetics를 조사하였다. Fig. 6-14는 소나무와 상수리나무의 수피 5g을 100 ml의 초기 농도 90ppm 카드뮴 용액에 접촉할 때 시간에 따른 잔존 카드뮴의 농도를 조사한 것으로 모든 경우, 초반에 신속히 흡착되어 30분 정도면 평형에 이르는 것으로 나타났다. 소나무의 경우는 약 30%, 소나무의 송진을 제거하기 위해 chloroform을 처리한 경우는 약 34%, 상수리 나무의 경우는 약 40% 정도 밖에 제거되지 않음을 알 수 있었다. 이는 낮은 흡착 용량에 기인하며 흡착 등온선에서의 최대 흡착용량이 상수리나무의 경우가 소나무 보다 약간 높기 때문에 카드뮴 제거율이 가장 높은 것으로 나타났다. Fig. 6-15는 소나무와 상수리 나무의 수피 10g을 100ml의 초기 농도 13ppm 카드뮴 용액에 접촉할 때 시간에 따른 잔존 카드뮴의 농도를 조사한 것으로 Fig. 6-14의 경우와 같이 30분 정도에 신속히 평형에 이르는 것을 알 수 있었다. 또한 제거율은 모든 경우 다 95% 정도의 제거율을 보여주었다. 따라서 Fig. 6-14 과 Fig. 6-15를 비교하여 보면 수피에 의한 카드뮴의 흡착은 워낙 흡착 용량이 작기 때문에 초기농도가 10ppm정도의 낮은 범위에서 이루어지는 것이 바람직 함을 알 수 있고, 따라서 고농도의 카드뮴은 화학적 방법에 의해 먼저 침전시키고 용해도 때문에 남아있는 카드뮴을 수피에 의해 추가로 기준치 이하로 낮추는 전략을 사용하는 것이 바람직하다.

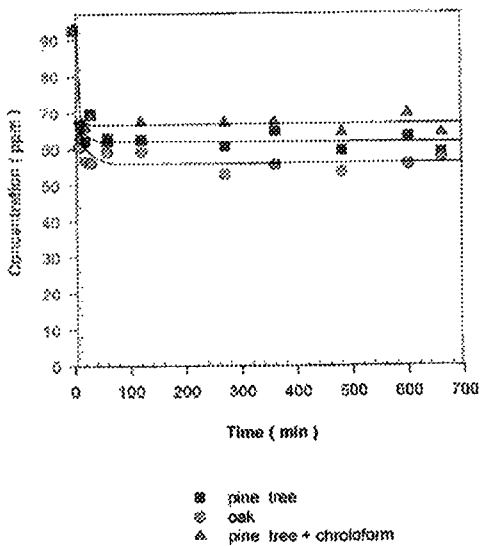


Fig. 6-14. Adsorption kinetics of cadmium by various barks in a stirred reactor. 100ml of 90ppm cadmium solution was contacted with 5 gram of bark. (rpm=100, T=26°C, pH=5.5)

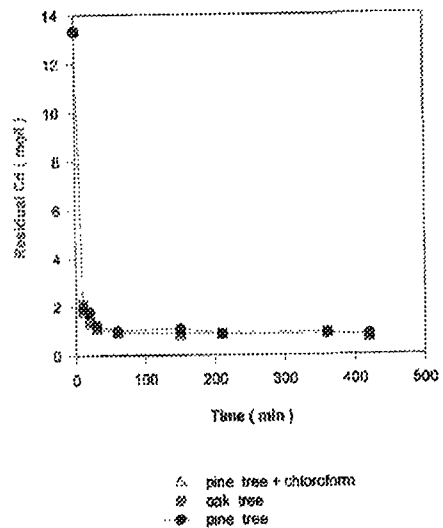


Fig. 6-15. Adsorption kinetics of cadmium by various barks in a stirred reactor. 10ml of 13ppm cadmium solution was contacted with 10gram of bark. (rpm=200, 26°C, pH=5.5)

### 3. Air-lift reactor에서 수피에 의한 카드뮴 제거

앞서 기술하고 사용된 Air-lift reactor를 이용하여 수피에 의한 카드뮴의 흡착 kinetics를 조사하였다. Fig. 6-16은 상수리 나무의 수피 30 g을 300ml의 초기 농도 10ppm 카드뮴 용액에 접촉할 때 시간에 따른 잔존 카드뮴의 농도를 조사한 것으로 모든 경우 다 초반에 신속히 흡착되어 15분 정도면 평형에 이르는 것으로 나타났다. 이는 air-lift reactor에서 mixing이 균일하여 오히려 stirred tank reactor보다 더 빨리 평형에 이르러 처리속도 면에서 우수함을 알 수 있었다. 또한 여러 cycle을 운전함으로써 안전하게 얼마나 처리할 수 있는가를 조사하였는데 제거율이 초기의 93%정도에서 2번째 cycle까지는 이 수준을 유지하다가 3번째 cycle에는 88% 4번째 cycle에는 84%로 점점 떨어짐을 알 수 있어서 두 번째 cycle까지는 안전하게 사용할 수 있고 그후 부터는 환경 기준치에 따라 사용할 수 있는 cycle의 수가 결정됨을 알 수 있다.

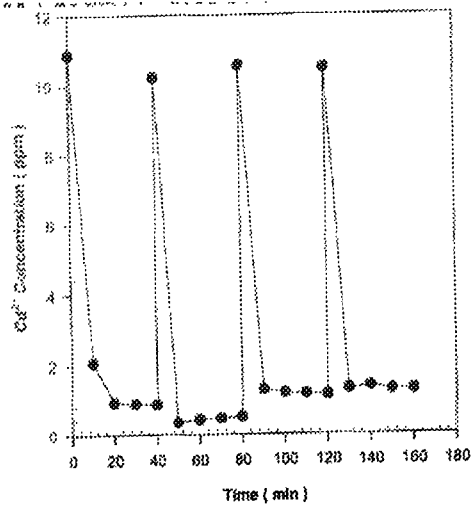


Fig. 6-16. Adsorption kinetics of cadmium by sawtooth oak in a 4 cycle batch operation with air-lift reactor 1 l of 10ppm cadmium solution was contacted with 30 gram of bark.

## 제 2 절 고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬제거

### 제 1 항 시설

그동안 6가 크롬을 3가 크롬으로 환원할 수 있는 능력을 가진 FRI 20621 백색 부후균을 batch stirred reactor, two stage fermentor-airlift system 등을 적용하여 실용화 공정의 개발을 시도하였다. 하지만 백색부후균을 그대로 suspension 상태에서 크롬 용액과 접촉시킬 경우 폐수에 균사체가 혼합되어 이를 분리하지 않으면 2차적인 오염의 원인이 되는 문제점이 있다. 따라서 처리된 폐수로 부터 균사체를 분리해야 하는데 균사체의 settling velocity가 적어 넓은 면적의 침전조나 큰 용량의 원심분리기가 요구된다. 또한 백색부후균이 air-lift 등 reactor의 벽면, 여러 sensor, 및 교반기 표면에 붙어서 자람으로 말미암아 배양기의 control system을 교란시키는 문제점이 있다. 이러한 문제점들을 해결함으로써 보다 더 효율적인 백색부후균을 이용한 환경정화 시스템을 개발하기 위해 여러 가지 방법에 의한 부후균 포자의 고정화가 시도되었다. 이를 위해 polyurethane, celite bead, 톱밥,

porous glass bead, alginate등이 matrix로 사용되었는데, 그중 톱밥의 경우 원래 백색부후균이 목질을 영양소로 이용하기 때문에 고정화할 경우 균사체가 잘 성장하였다. 따라서 이를 이용하여 shake flask, air-lift reactor, packed bed column 등 여러 반응접촉조에서 6가 크롬을 처리하여 그 제거 kinetics을 조사함으로써 그 제거성능을 비교 검토 하였다. 이밖에 polyurethane의 고정화 방법을 개발중이며 celite의 경우도 packed column에서의 제거성능을 비교 검토하였고, porous glass bead를 모델로 효율적인 고정화 방법을 모색함과 동시에 packed column에서의 제거성능을 비교 검토하였다. 또한 이렇게 개발된 고정화 방법을 중심으로 alginate를 이용한 고정화 방법을 시도하고 있다. 한편 균체성장의 향상과 세포내의 효소 induction에 의한 처리효율의 향상을 도모하기 위해 이에 적합한 배지 성분의 최적화를 위한 기초 실험이 동시에 진행되었다.

톱밥의 고정화를 위하여 우선 일정한 크기의 톱밥을 채를 이용하여 선발한다. 선발한 톱밥과 미강 20%를 섞은후 물로 soaking을 시킨다. 혼합한 것을 병에 채워 넣고 가운데 흡을 낸후에 가압멸균을 한후 plate 하나로 부더의 균사체를 흡에 접종한다. 33<sup>o</sup> C 에서 약 1 개월 동안 배양한후 균사체가 균일하게 자라면 잘게 부수어 shake flask, air-lift reactor, packed bed column 등 여러 반응접촉조에서 6가 크롬을 처리하여 그 제거 kinetics을 조사한다. 사진6-4는 톱밥에 고정화된 백색부후균을 보여주고 있다. 이러한 고정화 백색부후균을 batch stirred reactor 에서는 16 g/ 200ml, air-lift reactor에서는 30 g/ liter, packed bed는 32 gram을 충전시켜 온도 33<sup>o</sup> C

에서 운전하였다. Polyurethane을 이용한 고정화 방법으로 polyurethane foam을 잘게 찢어 세포와 함께 현탁하면서 고정화하는 방법과 bioreactor 안에서 rotary drum 형식으로 접촉하면서 고정화하는 방법이 시도되고 있다. Celite의 경우도 세포와 함께 현탁하면서 고정화 하는 방법을 시도함과 동시에 column에 미리 충전시킨후 접종하여 33<sup>o</sup> C에서 1 개월 동안 incubator 안에서 배양한후 packed bed 형식으로 접촉시켰다. 한편 porous bead의 경우도 현탁배양하면서 고정화하는 방법, 미리 column에 충전하여 incubator안에서 배양하는 방법, 공기를 주입시키면서 column에서 배양하는 방법(그림 6-24), packed column에서 배양액을 순환시켜 공기와 접촉시키는 방법(그림 6-26)등이 사용되었다. Alginate bead를 이용한 고정화 를 위해 우선 백색부후균 0.87 g을 1 liter

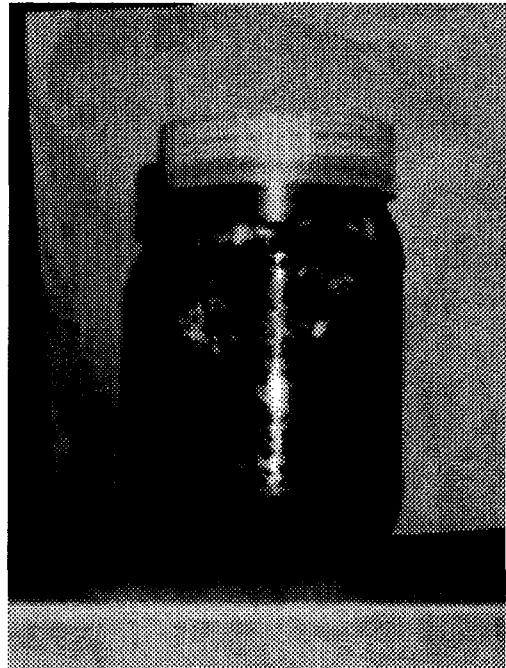


사진 6-4. 톱밥에 고정화된 FRI 20621

의 6-21 % 의 sodium alginate 용액에 넣어 섞은후 nozzle을 통해 180 mM calcium chloride 용액에 떨어뜨리면서 drop 형태로 성형시킴으로써 alginate bead안에 포획한다. Alginate bead안에 포획된 백색부후균을 현탁배양, airlift reactor에서의 배양, recycle loop을 이용한 packed bed에서의 배양을 이용하여 세포를 성장시킨후 여러 가지 다양한 접촉조에서 접촉한다.

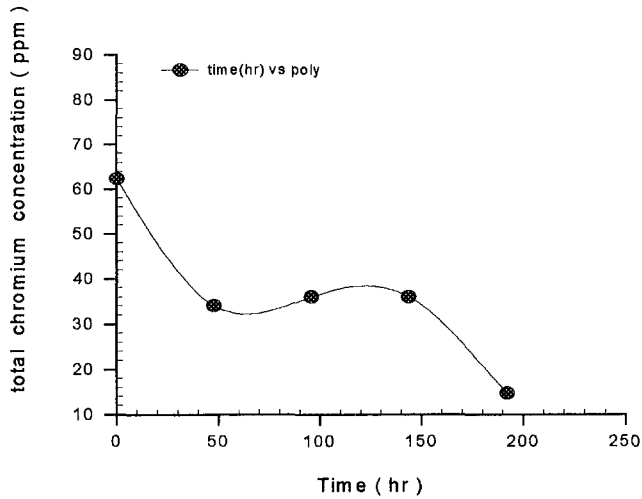


Fig.6-17. Removal of chromium by immobilized white rot fungi on polyurethane in a stirred reactor

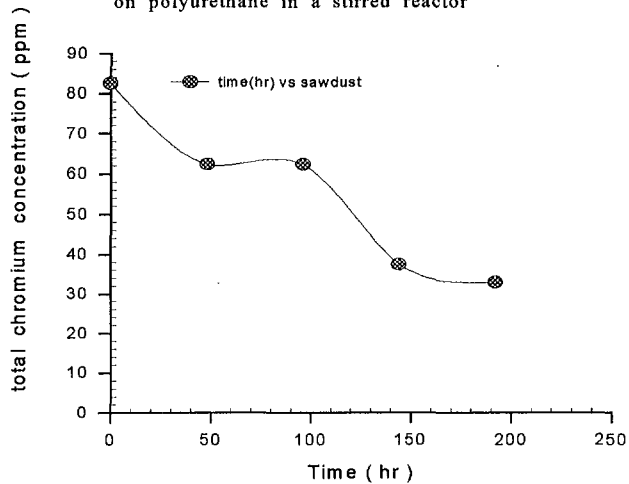


Fig. 6-18. Removal of chromium by immobilized white rot fungi on sawdust in a stirred reactor

## 제 2 항 톱밥 및 polyurethane을 이용한 고정화 방법

1. Stirred reactor에서의 톱밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬 제거  
 그림 6-17은 polyurethane에 고정화된 백색부후균, 그림 6-18은 톱밥에 고정화된 백색부후균이 stirred reactor에서 6가 크롬 용액과 접촉할 경우의 removal kinetics를 나타내고 있다. 이때 Polyurethane의 경우 77%의 제거율, 톱밥의 경우 61% 정도의 제거율을 보여줌으로써 polyurethane을 matrix로 사용하는 고정화 시스템도 더 자세히 연구할 필요가 있어서 지금 현재 bioreactor 안에서 rotary drum 형식으로 접촉하면서 고정화하는 방법을 중심



으로 연구 중이다 (사진 6-5). 톱밥에 고정화 한 경우 세포가 활성을 유지하기 위해 배지중의 영양성분이 필요한지를 조사하기 위해 그림 6-19와 같이 medium을 첨가하여 그 영향을 조사하였다. 예상과는 달리 영양액이 많을수록 제거율이 낮았는데 이는 현상적용성을 조사하기 위해 평균하지 않고 접촉시킨 결과 배지 성분이 많을수록 오염이 잘 되기 때문이라고 분석하고 있다.

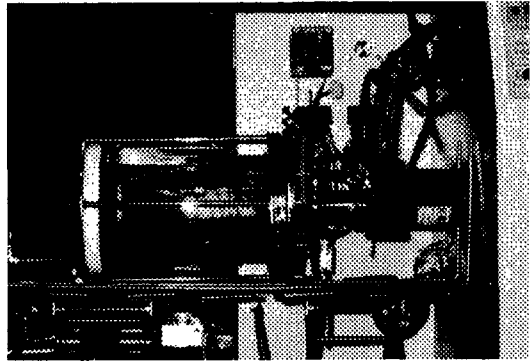


사진 6-5. polyurethane을 이용한 고정화 ( reactor type : rotary drum )

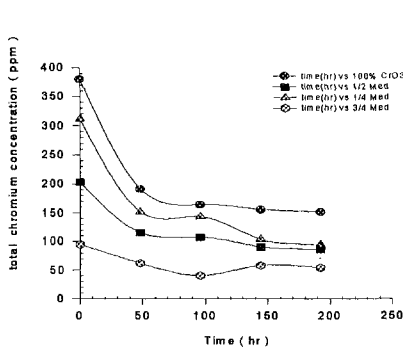


Fig. 6-19. Comparison of removal kinetics of total chromium by immobilized white rot fungi in a shake flask

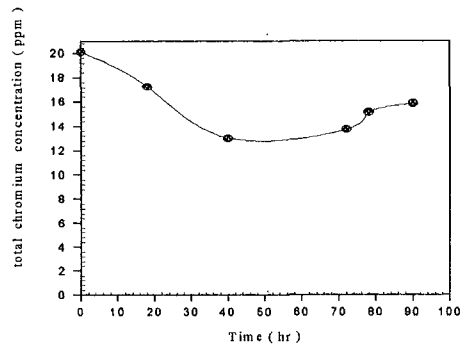


Fig. 6-20. Removal kinetics of total chromium by immobilized white rot fungi in an airlift reactor

## 2. Air-lift reactor에서의 톱밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제거

그림 6-20은 air-lift reactor에서의 톱밥 고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제거 kinetics를 보여 주고 있다. 약 35 %의 제거율 정도 밖에 보여주고 있지 않아 성능이 좋지 않음을 알 수 있는데 이는 충분한 양의 고정화 백색부후균이 첨가되지 못하였고 또한 air-lift reactor의 윗부분 벽면에 균사체가 고정화되어 자라므로써 전체의 흐름을 방해하기 때문으로 생각되어 이에 대한 보완이 필요하다.

## 3. Packed-bed 에서의 톱밥고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제거

그림 6-21은 packed-bed에서의 고정화 백색부후균을 이용한 폐수중의 6가 크롬의 제거 kinetics를 보여주고 있다. 이렇게 미생물이 고정화되어 반응제거하는 시스템은 단순흡착과 같은 breakthrough 가 있는 비정상상태 (unsteady state)의 운전이 아니라 plug reactor를 모델로 하는 정상상태의 운전이다. 따라서 체류시간을 충분히 길게, 즉 주어진 유량에서는 고정화된 균사체의 양을 늘리면 제거율이 높은채 연속적으로 운전할 수 있는 장점이 있고, breakthrough 현상이 없기 때문에 균사체의 활성이 유지되는한 오래동안 연속적으로 처리할

수 있는 장점이 있다.

본 실험에서는 체류시간을 짧게 하였기 때문에 비록 제거율은 35% 정도 밖에 되지 않지만 400시간 이상씩 오래동안 안정적으로 운전할 수 있음을 보여주어 이 시스템의 성공가능성을 시사해주고 있다.

#### 4. Celite 을 이용한 고정화 방법

사진 6-6,7은 celite에 충전시켜 incubator에서 배양한 celite column과 크롬 용액과의 접촉모습을 보여주고 있고 그림

6-22는 그 처리 결과를 나타내고 있다. 초기농도 100 ppm 에서 약 20 %의 제거율을 보여주고 있는데 이것도 단순흡착에 의한 현상에 기인하는 pattern을 보여줌으로써 실제 부후균에 의한 제거는 더욱 더 적을것으로 예상된다.

#### 5. Porous glass bead를 이용한 고정화 방법

Porous glass bead의 경우 현탁하면서 세포를 고정화할 경우 bead가 갈려서 사용할 수 없다. <사진 6-8>와 <사진 6-9>는 porous glass bead를 column에 충전시킨후 1개월간 33<sup>o</sup> C의 incubator에서 배양한 column과 이를 이용한 접촉실험을 보여주고 있고 그림 6-23은 그 처리 결과를 나타내고 있다. 그림 6-23에서 초기농도 250 ppm에서 약 20%가 제거됨을 보여

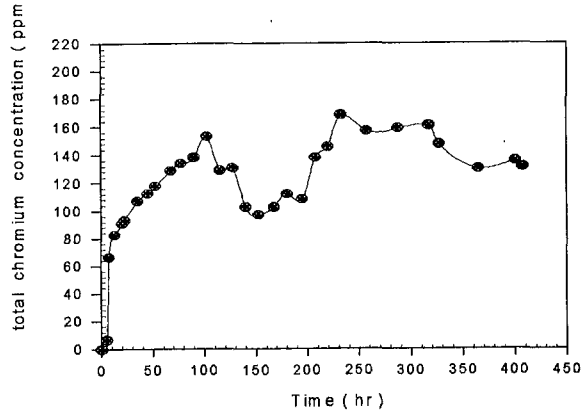


Fig. 6-21. Removal kinetics of chromium by immobilized white rot fungi in a packed bed column

o Initial chromium concentration : 200ppm  
 o Flow rate : 1ml/min (up to 77.5 Hr),  
 0.67ml/min (up to 407.5 Hr)

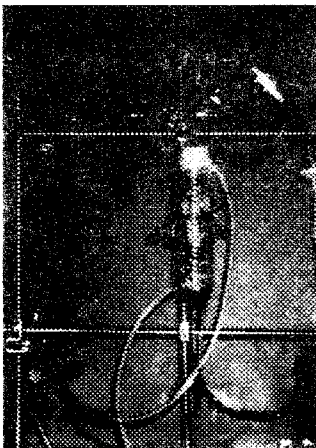


사진 6-6. Celite bead를 이용한 고정화

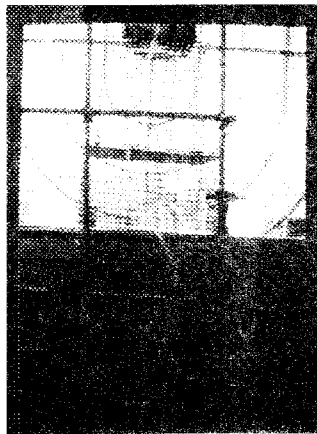


사진 6-7. operation

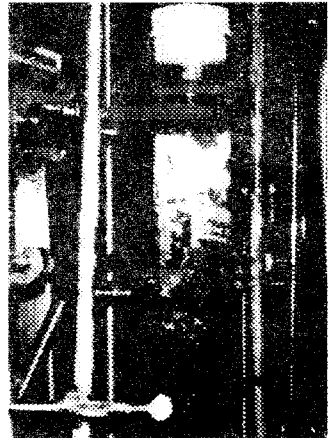


사진 6-9. porous glass bead(고정화 후)

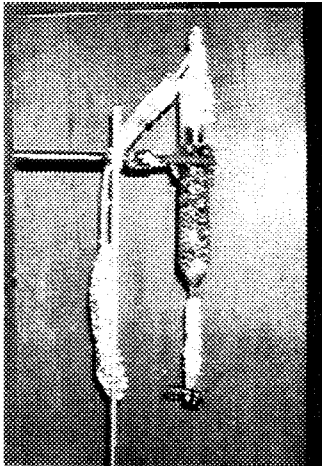


사진 6-8. porous glass bead(고정화 전)

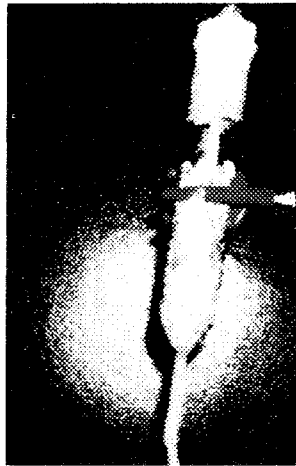


사진 6-10. porous glass bead를 이용한 고정화

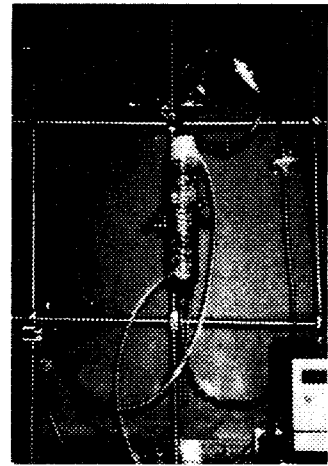


사진 6-11. porous glass bead air 공급, without condensor

주고 있다. 그 이유는 1개월간 배양하였는데도 불구하고 세포밀도가 낮아 제거속도가 느리기 때문이라고 분석이 되었다. 따라서 빠른 시간안에 세포가 packing material위에 자리게하여 빠른 시간안에 고정화할수 있는 방안의 모색이 무엇보다 중요하다. 이러한 노력으로 사진 6-1과 2에서 보여주듯이 column을 외부에서 온도 조절할 수 있게하고 air를 공급하면서 고정화를 모색하였다. ( 그림6-24 ) 10일 만에 incubator에서 고정화한 것 보다는 훨씬 세포가 많이 성장함을 알수 있었다. 하지만 계속되는 air의 공급으로 세포의 일부가 air에 entrain되고 배양액이 마르면서 column 벽면 위쪽에만 붙어자라는 현상이 목격되어 사진



사진 6-12. porous glass bead을 이용한 고정화

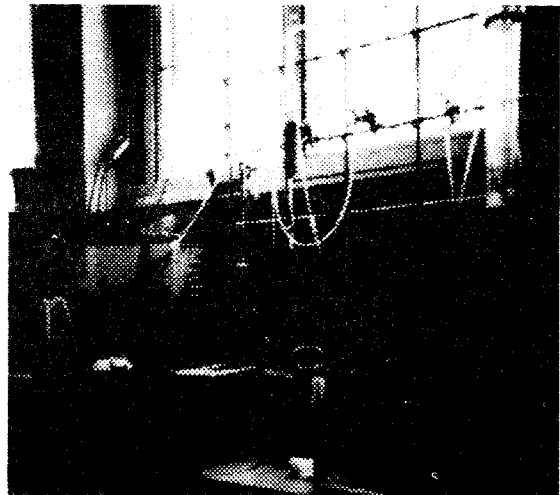


사진 6-13. porous glass bead air 공급, with condensor

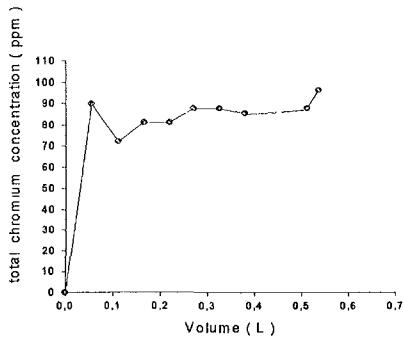


Fig. 6-22. Removal kinetics of chromium by immobilized white rot fungi in a packed bed

o initial concentration : 100ppm  
 o flow rate : 0.066ml / min  
 o matrix : celite bead (20g)

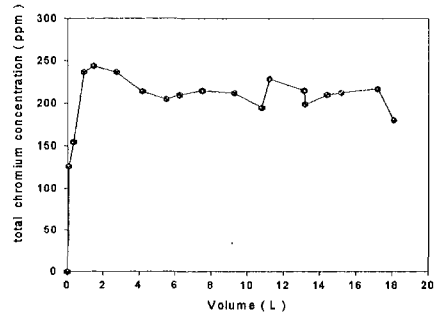


Fig. 6-23. Removal kinetics of chromium by immobilized white rot fungi in a packed bed column

o initial concentration : 250ppm  
 o flow rate : 1ml / min  
 o matrix : glass bead (30g)

6-10과 11에서 보여주는 것처럼 배양액의 건조를 고려하여 배양액을 충분히 넣고 condenser를 달아 증발되는 수증기를 recycle 하였다. 이때 균체 성장이 훨씬 개선되었음이 목격되었고 그림 6-25는 이때의 처리 결과를 나타낸 것으로써 초기 농도 250 ppm 에서 약 65 % 가 제거가 되어 효율적인 고정화 방법의 고안으로 고정화에 소요되는 시간도 절약하

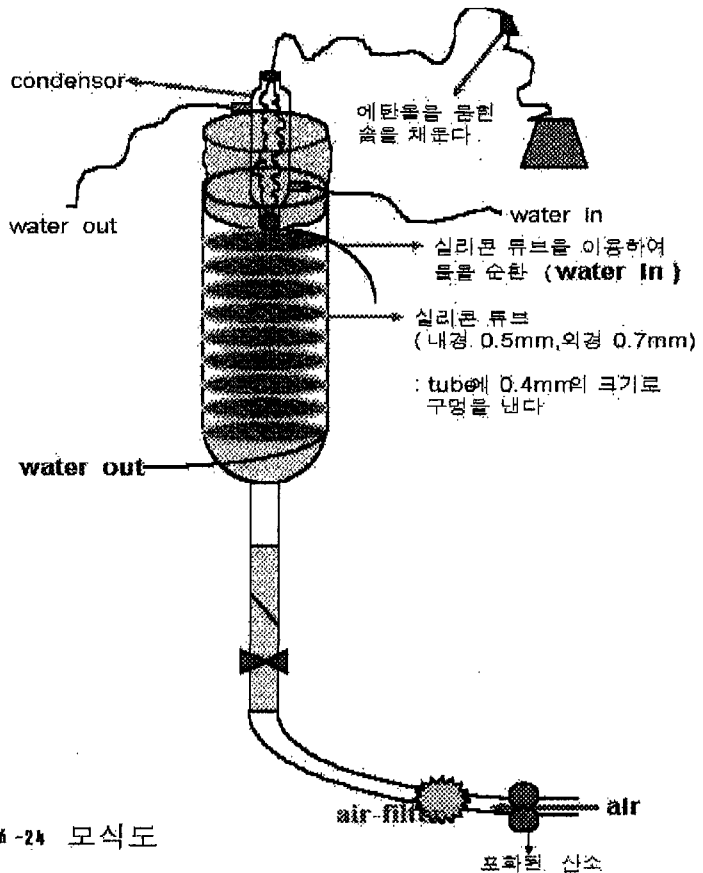


그림 6-24 모식도

고 처리효율도 높일 수 있음을 알게 되었다. 하지만 이 방법도 column 위 부분에 과량의 배양액이 존재함으로써 세포가 고정화 상태가 아닌 현탁상태에서 배양되는 two population culture 양상이 발생하여 바람직하지 않다. 따라서 이같은 문제를 해결하기 위하여 그림 6-26과 같은 recycle loop을 이용한 고정화 장치를 개발하여 성공적으로 packed column에서 세포를 고정화하였고 이렇게 고정화된 세포를 이용하여 현재 크롬용액과 접촉실험 중에 있다. 그림 6-26은 이러한 recycle loop을 이용한 고정화 장치의 모식도를 나타내고 있고 그림 6-27에서 이 장치에서의 세포성장과 그냥 incubation한 세포성장과를 비교해 보이고 있으며 recycle loop을 이용한 고정화 장치의 우수성을 보이고 있다.

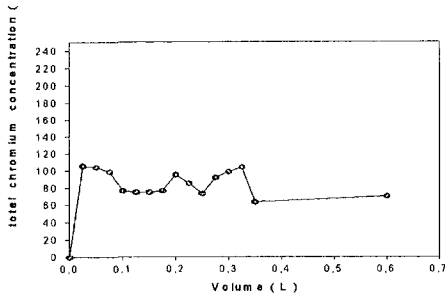


Fig. 6-25. Removal kinetics of chromium by immobilized white rot fungi in a packed bead column

o initial concentration : 250ppm  
o flow rate : 0.035ml/min  
o matrix : glass bead (30g)

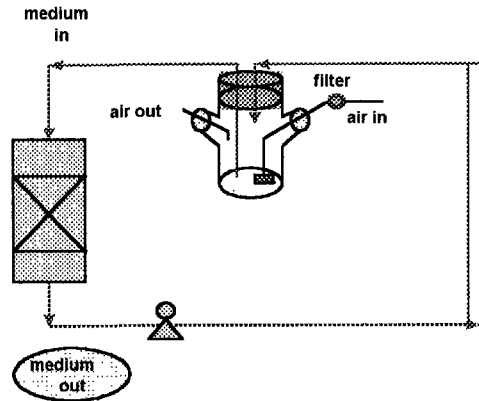


그림 6-26 모식도 (recycle system)

### 6. Alginate bead를 이용한 고정화 방법

지금 현재 개발된 recycle loop을 이용한 고정화 장치, 현탁 배양, air-lift reactor등을 이용하여 alginate bead에 entrap된 세포를 성장시키는 최적 방법을 모색중이며 이와 아울러 air-lift, packed bed 등 최적 접촉 시스템도 조사 중이다. <사진6-14>는 부후균이 고정화된 alginate bead를 보여주고 있다.

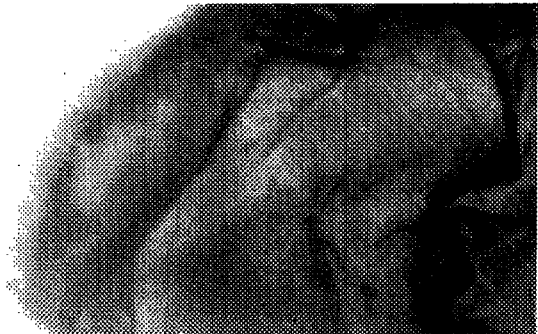


사진 6- 14. alginate bead의 형태로 고정화된 FRI 20621

### 7. 배지 최적화를 통한 처리효율의 향상

여러배지에서의 세포성장을 그림 6-28, 이때의 처리 효율을 그림 6-29에서 나타내고 있는

바 M1 배지가 가장 우수함을 알 수 있었다.

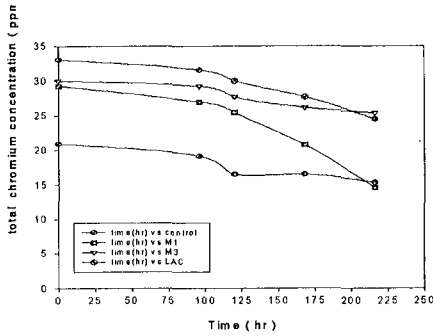


Fig.6-27. Comparison of adsorption kinetics of total chromium by FRI 20621 in several type medium

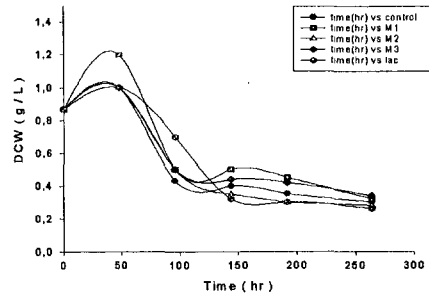


Fig.6-28. Medium effects on cell growth of FRI 20621

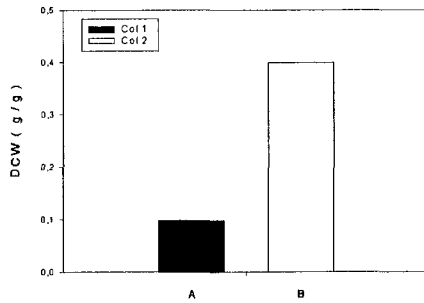


Fig.6-29. Comparison of cell growth between two different immobilization methods using porous glass bead

### 제 3 절 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거

#### 제 1 항 서설

최근 경제성장 및 국민 생활 수준의 향상에 따라 버섯류의 소비가 증대되면서 그 생산도 급격히 증대되고 있다. 또한 버섯재배도 그동안은 원목재배에 의존하였으나 표고등을 중심으로 톱밥배지나 짚배지등 고체배지를 이용한 재배방법이 최근 각광을 받고 있다. 이러한 고체배지를 이용할 경우 생산성이 원목재배보다 높고 노동력을 절감할 수 있으며 시설 자동화가 가능하여 균질의 제품을 생산할 수 있는 장점이 있다. 하지만 이러한 고체배지는 버섯 생산후 처리하기가 곤란하여 최근 축산용 조사료로 개발하고 있지만 아직은 연구개발 단계

에 있기 때문에 대부분 야적 방치하고 있다. 이경우 악취등 오히려 환경문제를 일으키고 있어서 이들의 적절한 처리방법이 요구된다. 최근 본 연구팀은 느타리 버섯 폐배지가 카드뮴 이온을 선택적으로 흡착할 수 있다는 사실을 발견하여 이를 산업적으로 이용하기 위한 가능성을 검토함과 동시에 이를 가장 잘 이용할 수 있는 공정을 선정하기 위한 기초실험을 수행하였다. 만일 이러한 폐배지를 이용한 중금속 처리공정이 성공을 거둘 경우 방치되는 폐자원을 이용하는 재활용의 측면과 이를 환경처리제로 이용함으로써 적극적으로 환경문제를 해결하는 측면의 이중효과를 얻을 수 있는 장점이 있다.

느타리 버섯 폐배지를 50<sup>o</sup> C에서 건조하여 모든 실험에 사용하였다. 흡착 등온선을 구하기 위해 여러 초기농도의 카드뮴 용액 20 ml에 0.2 g의 폐배지를 첨가하여 12시간 진탕한후 잔존 카드뮴의 농도를 AAS(Atomic Absorption Spectrophotometer)를 이용하여 측정하였다. Stirred reactor에서의 흡착을 위해서는 건조 폐배지 9g을 카드뮴 용액 200ml이 들어있는 진탕 플라스크에 넣고 27<sup>o</sup> C, 120 rpm 의 조건에서 접촉시키면서 시간에 따르는 잔존 카드뮴의 농도를 AAS로 측정하였다. 또한 cyclic operation을 위해서 한 batch cycle 에서 접촉한 폐배지를 원심분리에 의해 처리수와 분리한후 다음 cycle에서 새로운 카드뮴 용액과 접촉시키면서 기사용한 폐배지의 재사용 여부를 조사하였다. Air-lift operation을 위하여서는 초기농도 7.5 ppm와 22 ppm의 카드뮴 용액 1 liter에 45 g 의 폐배지를 넣고 처리하면서 시간에 따르는 잔존 카드뮴의 농도를 AA로 측정하였다. 또한 Packed-bed operation을 위하여 폐배지 40 g 을 packing 한 칼럼에 초기농도 18 ppm, 50 ppm의 카드뮴 용액을 각각의 유량 2.63 ml/ min., 2.25 ml/ min. 으로 흘리면서 column 유출수를 fraction collector로 모아 각각의 카드뮴농도를 AA로 측정하였다. 비슷한 요령으로 느타리 버섯 폐면 배지를 이용한 카드뮴의 흡착제거에 대한 실험을 실행하였다.

## 제 2 항 느타리버섯 폐배지를 이용한 카드뮴 이온의 흡착 제거

### 1. 느타리버섯 폐배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착등온선

그림 6-30은 느타리 버섯 폐배지의 카드뮴 이온에 대한 25<sup>o</sup> C 에서의 흡착 등온식을 나타내고 있다. 이 흡착등온선에 의하면 느타리 버섯 폐배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착은 Langmuir형식의 흡착 등온식으로 나타낼 수 있고 최대흡착량이 약 45 mg/ g 임을 알 수 있었다. 따라서 느타리 버섯 폐배지는 수피보다 훨씬 우수한 흡착 능력을 가지고 있음을 알 수 있었고 폐배지가 버려지는 자원임을 고려할 때 산업적 이용 측면에서의 경

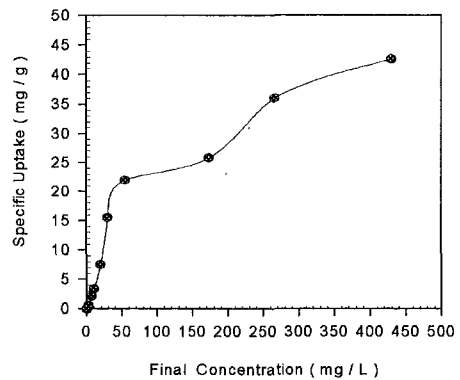


Fig.6-30. Adsorption isotherm of cadmium ion by waste solid medium (T=26<sup>o</sup>C, pH=5.5)

제성이 높다고 할 수 있다.

## 2. Stirred reactor 에서의 흡착 Kinetics

그림 6-31은 느타리버섯 폐배지를 이용하여 stirred reactor 에서 카드뮴 이온을 흡착할 경우의 흡착 kinetics를 나타낸 것으로 초기농도 7 ppm에서 8 번 batch cycle로 운전한 결과를 나타낸 것이다. 한 batch cycle 에서 접촉한 폐배지를 원심분리에 의해 처리수와 분리한후 다음 cycle에서 새로운 카드뮴 용액과 접촉시킴으로써 사용된 흡착재의 재사용을 시도하여 보았다.

한 cycle의 수피의 경우 40 분 정도에서 평형에 이르렀기 때문에 1 cycle의 접촉시간을 40분으로 하였다. 첫 번째 cycle에서는 soaking이 완벽하게 되지 않을 것으로 예상되어 접촉시간을 50분으로 늘렸는데도 불구하고 평형에 다다르지 않음을 알 수 있었고 3번째 cycle 이후 일정한 kinetics을 보여줌으로써 적어도 2시간 정도는 soaking한 후에 접촉해야함을 알 수 있었다. 또한가 지 초기에 흡착속도가 느린 이유는 배지내의 가용성의 물질이 effective diffusivity 를 낮추고 있었으나 접촉되면서 이 물질이 수용액으로 빠져나가면서 effective diffusivity가 높아졌을 가능성이 있다. 따라서 이러한 현상에 대해서 좀더 조사해야 할 필요가 있다.

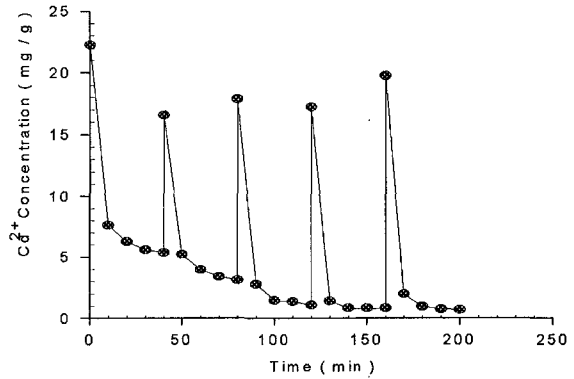


Fig.6-31. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in a stirred reactor

o temperature : 26°C  
o biomass : 9g / 200ml  
o rpm : 120  
o initial concentration : 20ppm

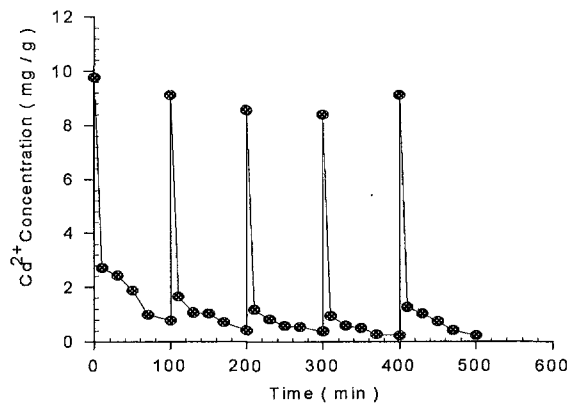


Fig.6-32. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in a stirred reactor

o temperature : 26°C  
o biomass : 9g / 200ml  
o rpm : 120  
o initial concentration : 10ppm



그림 6-31에 의하면 5 cycle의 운전동안 97 % 정도의 제거율을 안정적으로 보여주고 있고 이는 첨가된 흡착제의 양이 수피 경우(16 g/ 200 ml)의 절반정도 밖에 되지않은 면을 고려 할 때 수피보다 훨씬 경제적임을 알 수 있었다. 몇번 더 운전할 수 있는가는 첨가된 흡착제의 양과 유출수의 허용 중금속 농도에 따라 달라진다. 그림 6-32는 같은 접촉시스템에서 초기농도 22 ppm에서의 흡착 kinetics을 보여주는 것으로 그림 6-31과 같은 경향을 보여주고 있다. 즉 초기 접촉시에는 effective diffusivity가 작다가 cycle이 반복되면서 증가하는 경향과 4 cycle에서도 안정적으로 97 % 정도의 제거율을 보여주고 있다.

### 3. Air-lift reactor에서의 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 이온의 제거

그림 6-33과 6-34는 느타리버섯 폐배지의 air-lift reactor에서의 카드뮴 이온에 대한 흡착 kinetics를 나타낸 것으로 그림 6-33은 초기농도 7 ppm, 그림 6-34는 초기농도 22 ppm에서의 흡착 kinetics를 나타내고 있다. 두 그림 다 현상학적으로는 100분 정도에서 평형에 이르는 것을 보여주고 있다. 주어진 시간내의 제거율은 86-91%로 stirred reactor 보다 성능이 좋지 않음을 알 수 있다. 보통 단위 부피당 흡착제의 양을 일정하게 하면 평형에 이르는 제거율은 접촉 시스템에 관계없이 일정한데 제거율이 떨어진다는 것은 아직 평형에 도달 하지 않았다는 결론에 이를 수 있다. 따라서 air-lift 의 경우는 external mass transfer의 정도가 stirred reactor의 경우보다 열등하여 kinetics 상 long tail 이 존재하여 유출수의 요구되는 농도가 낮을 경우에는 stirred reactor보다 불리함을 알 수 있었다. 이러한 air-lift reactor에서도 cyclic operation이 가능하나 여기에서는 시도되지 않았다.

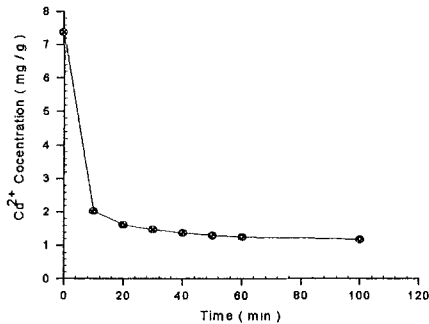


Fig.6-33. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in an air-lift reactor

o temperature : 26°C  
o initial concentration : 10ppm  
o biomass : 45g / L

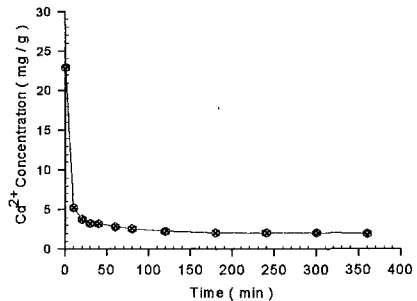


Fig.6-34. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in an air-lift reactor

o temperature : 26°C  
o initial concentration : 22ppm  
o biomass : 45g / L

#### 4. Packed-bed에서의 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 이온의 제거

그림 6-35와 6-36은 버섯 폐배지가 충전되어 있는 packed bed에서 초기농도 50 ppm과 18 ppm의 카드뮴 용액을 처리한 결과를 나타내고 있다. 이러한 운전은 대표적인 비정상상태 (unsteady operation)의 운전으로 packed bed의 흡착량에 한계가 있기 때문에 시간이 지나면서 adsorption zone이 column 아래 방향으로 이동하여 column 밑에 도달하면 농도가 갑자기 올라가는 breakthrough 현상을 목격하게 된다. 만일 이러한 breakthrough현상이 일어나지 않게 하기 위해서는 흡착체가 계속해서 첨가되는 매우 긴 moving bed column을 사용하면 되는데 이때의 운전은 정상상태가 된다.

그림 6-35에 의하면 초기농도 50 ppm인 경우 유출수 10 liter에서 breakthrough 현상이 일어나게 됨을 알수 있어 40 gram의 폐배지로 50 ppm 카드뮴 용액 10 liter를 안정되게 처리할 수 있음을 알수 있었다.

또한 그림 6-36에서 보는 바와 같이 초기농도가 20 ppm 정도로 낮은 경우에는 흡착량이 적어 adsorption zone의 이동 속도가 상대적으로 느리게 되어 훨씬 오랜 시간 후에 breakthrough현상이 일어남을 알 수 있다. 따라서 이경우는 약 25 liter 까지 안정되게 처리할 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 상수리 수피의 경우 20 gram 의 수피가 충전되어 있을 때 초기농도 20 ppm의 카드뮴 용액 2.5 liter 밖에 처리못하는 결과(96년 결과)에 비하면 약 5배 우수한 처리능력을 가지고 있음을 알수 있었다. 이러한 점을 고려할 때 packed-bed에서의 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 이온의 제거는 수피를 사용할 때보다 훨씬 경제적이며, 또한 stirred reactor나 air-lift reactor를 사용할 때보다 훨씬 작업이 용이하고 경제적임을 알 수 있었다.

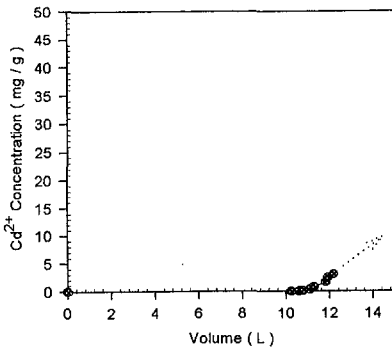


Fig.6-35. The breakthrough curve of cadmium adsorption by waste solid medium in a packed bed column

o biomass : 40g  
o initial concentration : 50ppm  
o flow rate : 2.25ml / min

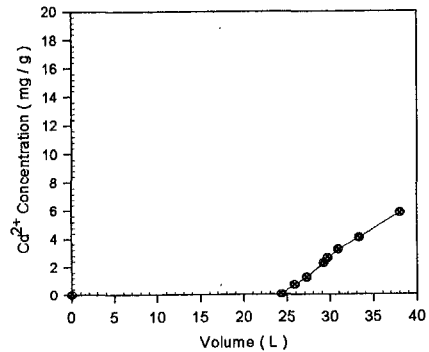


Fig.6-36. The breakthrough curve of cadmium adsorption by waste solid medium in a packed bed column

o biomass : 40g  
o initial concentration : 18ppm  
o flow rate : 2.62ml / min

### 제 3 항 느타리버섯 폐면배지를 이용한 카드뮴 이온의 흡착 제거

#### 1. 느타리 버섯 폐면배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착등온선

그림 6-37은 느타리 버섯 폐면배지의 카드뮴 이온에 대한 26<sup>o</sup>C 에서의 흡착 등온식을 나타내고 있다. 이 흡착등온선에 의하면 느타리 버섯 폐배지의 카드뮴 이온에 대한 흡착은 Langmuir형식의 흡착 등온식으로 나타낼 수 있고 최대흡착량이 약 17.5 mg/g 임을 알 수 있었다. 따라서 느타리 버섯 폐면배지는 느타리 버섯 폐배지의 흡착 능력의 절반 밖에 안됨을 알 수 있었고 폐배지가 버려지는 자원임을 고려할 때 여전히 산업적 이용 측면에서의 경제성이 높다고 할 수 있다.

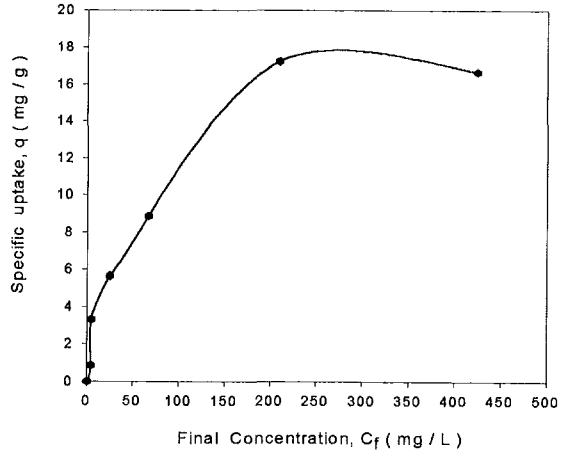


Fig.6-37. Adsorption isotherms of cadmium by waste solid medium (T=26<sup>o</sup>C, pH=5.5)

#### 2. Stirred reactor 에서의 흡착 Kinetics

그림 6-38은 느타리버섯 폐면배지를 이용하여 stirred reactor에서 카드뮴 이온을 흡착할 경우의 흡착 kinetics를 나타낸 것으로 초기농도 40 ppm에서 5 번 batch cycle로 운전한 결과를 나타낸 것으로 90 % 정도의 제거율을 보여주고 있다. 마찬가지로 한 batch cycle 에서 접촉한 폐배지를 원심분리에 의해 처리수와 분리한후 다음 cycle에서 새로운 카드뮴 용액과 접촉시킴으로써 사용된 흡착재의 재사용을 시도하여 보았다. 또 마찬가지로 첫 번째 cycle 에서는 soaking이 완벽하게 되지 않을 것으로 예상되어 접촉시간을 90분으로 늘렸는데도 불구하고 평형에 다다르지 않음을 알 수 있었고 2번째 cycle 이후 일정한 kinetics을 보여주었다. 폐면배지와 마찬가지로 초기에 흡착속도가 느린 이유가 설명될 수 있다.

그림 6-39는 초기 농도 10 ppm 의 경우로 4 cycle의 운전동안 90 % 정도의 제거율을 안정적으로 보여주고 있다. 몇번 더 운전할 수 있는가는 첨가된 흡착재의 양과 유출수의 허용 중금속 농도에 따라 달라진다. 마찬가지로 초기 접촉시에는 effective diffusivity가 작다가 cycle이 반복되면서 증가하는 경향도 보여주고 있다.

#### 3. Air-lift reactor에서의 버섯 폐면배지에 의한 카드뮴 이온의 제거

그림 6-40은 느타리버섯 폐배지의 air-lift reactor에서의 카드뮴 이온에 대한 흡착 kinetics를 나타낸 것으로 초기농도 10 ppm에서의 흡착 kinetics를 나타내고 있으며 10분

정도에서 평형에 이르는 것을 보여주고 있다. 주어진 시간내의 제거율은 80% 정도로 비교적 성능이 좋음을 알 수 있다.

4. Packed-bed  
에서의 버섯 폐면배지에 의한 카드뮴 이온의 제거

그림 6-41은 버섯 폐면배지가 충전되어 있는 packed bed에서 초기농도 10 ppm의 카드뮴 용액을 처리한 결과를 나타내고 있다. 마찬가지로 이러한 운전은 대표적인 비정상상태(unsteady operation)의 운전으로 packed bed의 흡착량에 한계가 있기 때문에 시간이 지나면서 adsorption zone이 column 아래 방향으로 이동하여 column 밑에 도달하면 농도가 갑자기 올라가는 breakthrough 현상을 목격하게 된다. 이 그

림에 의하면 유출수 12 liter정도에서 breakthrough 현상이 일어나게 됨을 알 수 있어 10 gram의 폐배지로 10 ppm 카드뮴 용액 12 liter를 안정되게 처리할 수 있음을 알 수 있어서 폐면배지에 비하면 열등한 처리능력을 가지고 있음을 알 수 있었다.

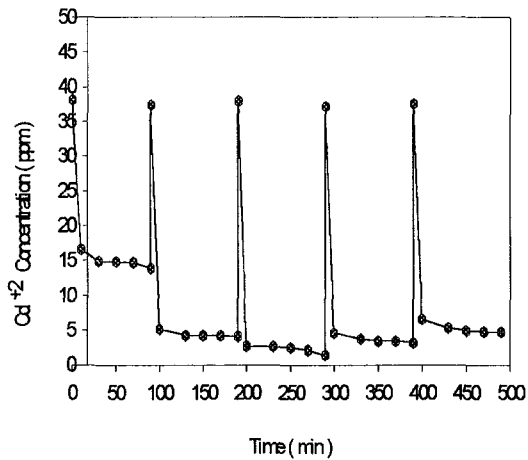


Fig 6-38. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in a 4 cycle batch operation with stirred reactor 200ml of 40ppm cadmium solution was contacted with 9 gram of waste solid medium ( $T=26^{\circ}\text{C}$ , rpm=120)

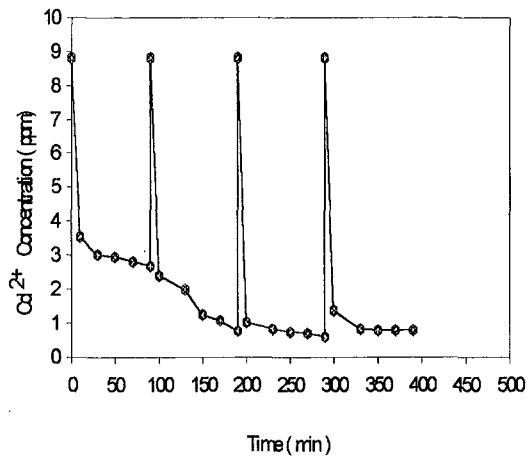


Fig 6-39. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in a 4 cycle batch operation with stirred reactor 200ml of 10ppm cadmium solution was contacted with 9 gram of waste solid medium ( $T=26^{\circ}\text{C}$ , rpm=120)

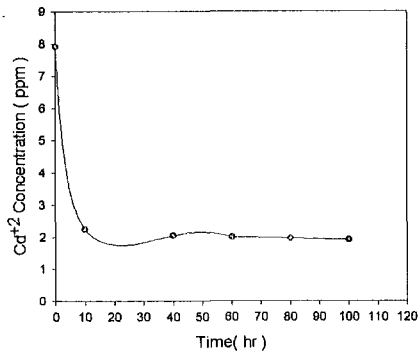


Fig.6-40. Adsorption kinetics of cadmium by waste solid medium in an air-lift reactor

<ul style="list-style-type: none"> <li>o temperature : 26°C</li> <li>o initial concentration : 10ppm</li> <li>o biomass : 45g / L</li> </ul>
--

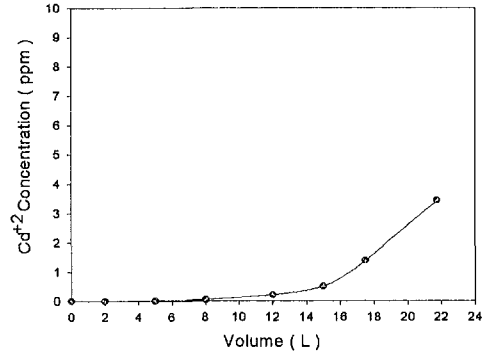


Fig.6-41. The breakthrough curve of cadmium adsorption by waste solid medium in a packed bed column

<ul style="list-style-type: none"> <li>o biomass : 10g</li> <li>o initial concentration : 10ppm</li> <li>o flow rate : 3.2ml / min</li> </ul>
---

## APPENDIX

### 사용배지

#### 1. control

glucose	25g/l
malt extract	10g/l
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3g/l
peptone	10g/l

#### 2. M1 medium ( nitrogen limiting )

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.2g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5g/l
CaCO <sub>3</sub>	0.06g/l
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.18g/l
Thamine	1mg/l
Sodium citrate	2.5g/l
glucose	20g/l

#### 3. M2 medium ( nitrogen sufficient )

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.2g/1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5g/1
CaCO <sub>3</sub>	0.06g/1
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	2g/1
Thamine	1mg/1
Sodium citrate	2.5g/1
glucose	20g/1

4. M3 medium

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.5g/1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g/1
CaCl <sub>2</sub>	0.1g/1
Tween 20	0.5g/1
Thamine	1mg/1
veratryl alcohol	0.2mM
glucose	10g/1

5. M4 medium

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.5g/1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g/1
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.1g/1
Tween 80	0.5g/1
Thamine	1mg/1
veratryl alcohol	0.2mM

6. Laccase 생산용 배지

Stock Reagent

Basal-medium

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	5g/1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	20g/1
CaCl <sub>2</sub>	1g/1

Trace element solution, 100ml

Trace element solution

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.5g/1
CuSO <sub>4</sub>	0.1g/1
CoCl <sub>2</sub>	0.1g/1
NaCl	1g
MnSO <sub>4</sub>	0.5g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.1g/1

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 10mg/l  
AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.1g/l  
Nitrilotriactate 1.5g

#### Culture Composition

basal medium  
: filter sterilized - 100ml  
10% glucose  
: autoclaved - 100ml  
0.1M 2,2-dimethylsuccinate, pH4.2  
: autoclaved - 100ml  
thamine ( 100mg/L stock )  
: filter sterilized - 100ml  
ammonium tartrate ( 8g/L stock )  
: autoclaved - 25ml  
veratryl alcohol ( 0.4M stock )  
: filter sterilized - 100ml  
trace element  
: filter sterilized - 60ml

## 제 4 절 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온 제거 (광산 폐수 적용을 위한 Simulation 실험)

### 제 1 항 서설

지금까지 느타리버섯 폐배지를 이용하면 폐수중의 카드뮴이온을 흡착 제거할 수 있음을 알았고, 이를 산업적으로 이용할 수 있는 시스템의 개발을 위하여 stirred reactor, airlift reactor, packed column등의 lab-scale 실험을 거쳐 pilot-plant scale의 system을 설계 제작하여 운영해오고 있다. 이중 아직 시도하지 않은 향류(counter current)로 접촉할 수 있는 bubble column을 제작하여 그 산업적 이용가능성을 검토하였다.

한편 지금까지 개발된 pilot system은 도금공장 등의 산업폐수 처리에 적절한 시스템이다. 이러한 산업 폐수 뿐만 아니라 이와 병행하여 현재 토양 및 지하수오염 문제가 심각한 폐광산의 침출수 처리를 위해 느타리버섯 폐배지를 이용하는 시도를 하고 있다. 이에 적합한 실용화 시스템의 simulation model로서 여러 가지 실험실 규모의 접촉반응조를 이용하여 카드뮴의 제거를 시도하였다. 접촉 시스템으로 continuous flow system, airlift tank system, two stage airlift tank system, maze tank system 등의 여러 접촉반응조를 사용하

여 카드뮴의 제거율을 조사함으로써 그 실용화 가능성을 검토하였다. 이 중 카드뮴 제거 면에서 가장 우수하고 폐광산에는 전기를 이용하기 어려우므로 가급적 동력이 적게들어 운전비를 최소화하고 운전 및 보수가 용이하여 인건비를 줄일 수 있는 형태인 maze tank system을 폐광산 침출수 적용을 위한 model system으로 정하고 실패수 적용을 위한 simulation 실험을 수행하였다.

실패수 적용을 위한 현장이 경기도 화성군 삼보광산으로 정해지고 이곳 폐광 침출수에 주로 아연과 망간이 함유되어 있음이 밝혀짐에 따라 느타리 버섯 폐배지에 의한 카드뮴 흡착뿐만 아니라 아연, 망간, 구리등 기타 중금속에 대한 흡착 가능성 조사가 필요하게 되어 이들 중금속에 대한 흡착등온선을 조사하였다. 또한 아연 제거를 중심으로 maze tank system의 single stage operation, two stage operation을 거쳐 현장에 적절한 maze system을 설계하여 실패수 적용을 시도하였으며 이를 바탕으로 더욱더 효율적인 maze system을 개발하여 그 이용 가능성을 검토하였다.

## 제 2 항 재료 및 방법

공시재료로 느타리버섯 폐배지를 120<sup>0</sup> C에서 12시간 건조하여 사용하였고 simulation study로서 실 폐수대신 카드뮴, 구리, 아연, 망간 용액을 사용하였다. 이러한 중금속 이온의 분석을 위해서는 AAS(atomic absorption spectrophotometer)를 사용하였다.

Bubble column(Fig. 6-42참조)을 위해 특별히 제작된 tray를 이용하여 column을 6개의 compartment로 나누었다. 이 tray는 4개의 4mm hole을 가지고 있고 45<sup>0</sup>의 각도로 위 아래 방향으로 경사가 있기 때문에 공기의 주입을 중단하면 흡착제가 아래의 compartment로 이동될 수 있도록 설계되었다. 또한 이러한 tray type의 단점을 보완하기 위하여 단과 단 사이를 butterfly valve로 연결함으로써 compartment 사이의 segregation을 증진시킨 새로운 형태의 bubble column(J-L bubble column)을 개발하였다. 이 column은 5단으로 되어 있고 공기의 주입을 중단하고 valve를 열면 흡착제가 아래의 compartment로 빨리 이동할 수 있도록 보완하였다. 이를 위해 폐배지를 alginate bead에 포획한 흡착제를 사용하였다. 이러한 흡착제는 폐배지 2g을 1% sodium alginate 150ml에 넣어 혼합한후 180mM CaCl 용액에 떨어뜨려 제조하였다. 이렇게 제조된 bead를 bubble column 내 6개의 단에 각각 20g씩 넣고 초기 농도 10 ppm의 카드뮴 용액을 8ml/min와 12.3 ml/min의 두가지 유속으로 접촉시켰다. 새로운 J-L column의 경우는 working volume 720 ml로서 위의 bead를 각 단당 20g 씩 넣고 초기 농도 5 ppm 카드뮴 용액을 12 ml/min의 유속으로 접촉시켰으며, breakthrough 현상을 목격하기 위해서 각 단당 10g 씩 넣고 유속을 24 ml/min 늘려서 접촉하였다.

폐광산 침출수 처리를 위한 접촉 시스템으로 continuous flow system, airlift tank system, two stage airlift tank system, maze tank system 등이 시도되었다. Continuous flow system은 느타리버섯 폐배지를 100g씩 packing한 6개의 sack을 working volume 8



liter의 접촉조에 설치한 후 10 ppm의 카드뮴 용액을 36ml/min의 속도로 연속적으로 접촉시키면서 유출구에서의 카드뮴 농도를 AAS로 측정하였다. Airlift tank system 역시 느타리버섯 폐배지를 100g씩 packing한 6개의 sack이 working volume 14 liter의 접촉조에 설치되었으며 continuous flow system과는 달리 air가 공급되어 유동성을 증가시켰다. 이때 10 ppm의 카드뮴 용액을 36ml/min의 속도로 연속적으로 접촉시키면서 유출구에서의 카드뮴 농도를 AAS로 측정하였다. Two stage airlift tank system은 제거율을 향상

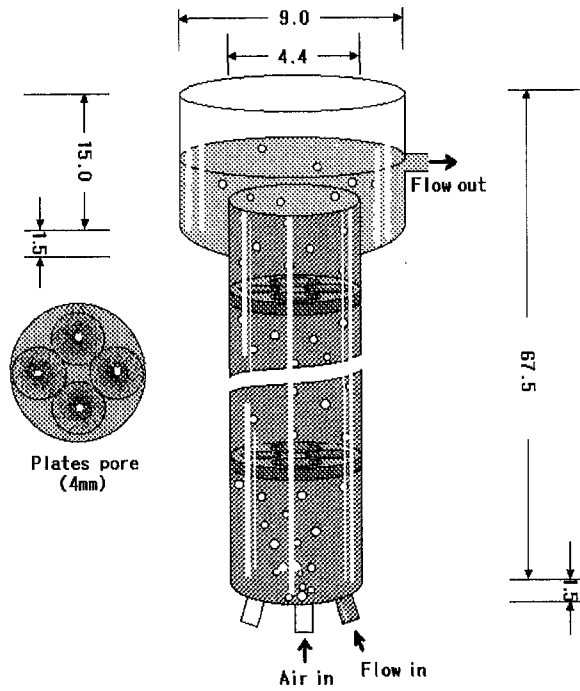


Fig. 6-42. Bubble column

시키기 위해 airlift tank system을 series로 연결시킨 시스템이다. 이때의 카드뮴 용액의 공급속도는 20ml이었다. Maze system은 접촉반응조내에 zigzag 형태의 수로를 만든 후 수로 사이사이에 느타리버섯 폐배지를 100g씩 packing한 6개의 sack을 working volume 6 liter의 접촉조에 설치한 후 10 ppm의 카드뮴 용액을 20ml/min의 속도로 연속적으로 접촉시키면서 유출구에서의 카드뮴 농도를 AAS로 측정하였다. 조사한 여러 접촉 시스템 중에서 카드뮴 제거 면에서 가장 우수하고 폐광산에 적용하기 쉬운 maze tank system을 폐광산 침출수 적용을 위한 model system으로 정하고 실패수 적용을 위한 simulation 실험을 수행하였다.

한편 실패수 적용을 위한 현장이 경기도 화성군 삼보광산으로 정해지고 이곳 폐광 침출수에 주로 아연과 망간이 함유되어 있음이 밝혀짐에 따라 느타리 버섯 폐배지에 의해 이들 중금속 이온들도 흡착제거가 가능한지 조사가 필요하게 되어 이들 중금속에 대한 흡착등온선을 조사하였다. 이를 위해 여러 초기농도의 중금속 이온 20ml에 0.2 g의 폐배지를 넣고 26°C 150 rpm의 조건에서 10시간 접촉 후 평형 농도를 AA로 분석하였다.

선정된 maze system을 현장에 적용하기 위해 아연 제거를 중심으로 maze tank system의 single stage operation, two stage operation을 시도하였다. Single stage operation을 위해 느타리버섯 폐배지를 100g씩 packing한 6개의 sack을 working volume 6 liter의 접촉조

에 설치한 후 20 ppm의 아연 용액을 5, 10, 20ml/min의 속도로 연속적으로 접촉시키면서 유출액의 농도를 AA로 측정하였다. Two stage operation은 단지 single stage를 두 개 series로 연결한 것으로 같은 조건에서 20ml/min의 속도로 아연 용액을 연속적으로 접촉시켰다. 이를 바탕으로 현장에 적절한 cartridge type의 maze system을 설계하여 실패 수 적용을 시도하였으며 이를 바탕으로 더욱 더 효율적인 maze system을 개발하여 그 이용 가능성을 검토하였다.

### 제 3 항 연구결과

#### 1. Bubble column

Bubble column은 column의 위 부분에서는 새로 feeding된 흡착제가 밑에서부터 흡착되어 농도가 낮아진 카드뮴 용액과 접촉하고 아래 부분에서는 거의 다 사용된 흡착제가 새로 feeding된 고농도의 카드뮴과 접촉함으로써 흡착제의 효율을 높일 수 있는 시스템이다. Fig. 6-43은 bubble column에서 연속식 처리 결과를 나타낸 것으로 접촉 후 400분 정도면 정상상태에 도달하며 카드뮴 용액 공급속도 8ml/min에서는 89%의 제거율을, 12.3 ml/min의 공급속도에서는 82%의 제거율을 보여줌으로써 flow rate가 증가할수록 처리효율이 떨어짐을 알 수 있다. Fig.6-43에서는 column 높이에 따른 카드뮴 농도의 변화를 나타낸 것이다. 이때 compartment사이의 leaking이 없을 경우 compartment안

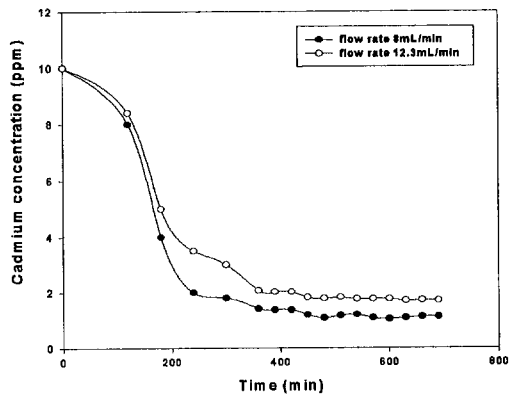


Fig.6-43.Adsorption in bubble column according to the change of flow rate.

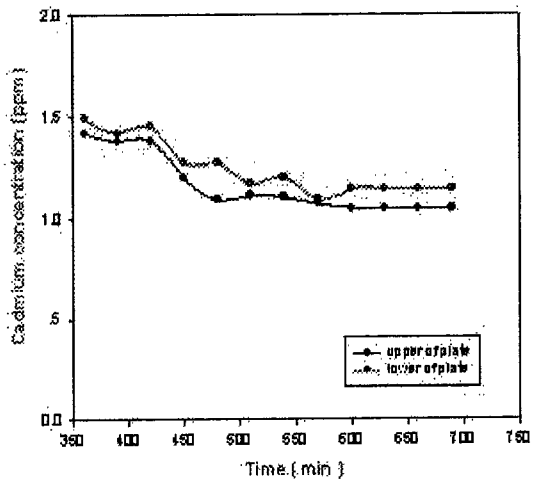


Fig.6-44.Comparison of cadmium concentration according to column height in bubble column.

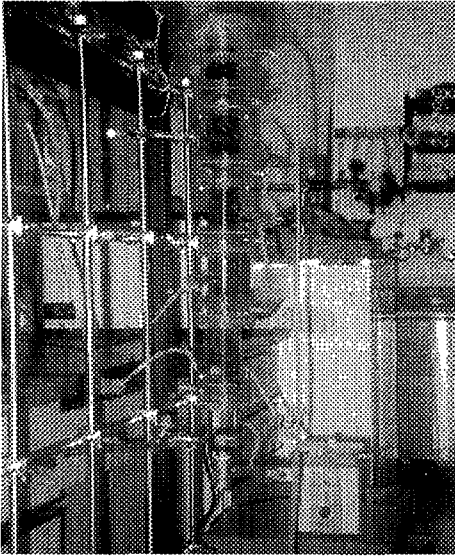


Fig. 6-45. Bubble column의 모습

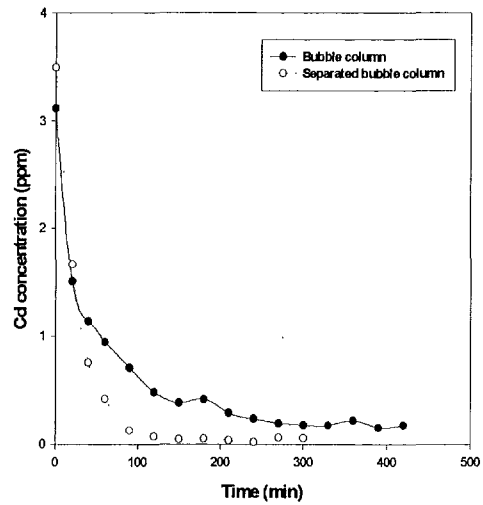


Fig.6-46. Comparison of adsorption kinetics between bubble column and separated bubble column. (flow rate = 12mL/min)

에서는 uniform하지만 compartment와 compartment 사이에는 농도차가 커져 column의 높이가 높을수록 점점 카드뮴농도가 낮아지는 현상이 뚜렷할 것으로 예상된다. 하지만 Fig.6-43 에서는 column의 위와 아래에서의 농도차이가 있긴 하지만 심하지 않음을 알 수 있어서 leaking 현상이 상당히 많이 일어나고 있음을 알 수 있다.

이러한 leaking 현상을 보완하기 위해 단과 단 사이를 butterfly valve로 연결한 새로운 형태의 bubble column(J-L bubble column)이 개발되었다. 이 column은 폐수가 아래에서 위로 흐르면서 air bubble에 의한 요동으로 각단의 흡착제와 접촉하다가 일정 시간후 air 공급을 중단하고 valve를 열어 각단의 흡착제를 아래 단으로 순차적으로 이동시킴으로써 향류 접촉이 이루어지게 한다. Fig.6-45는 이러한 bubble column을 보여주고 있고, Fig.6-46은 이러한 bubble column의 valve를 다 열어놓고 운전한 경우(bubble column)와 닫아놓고 운전한 경우(separated bubble column)의 카드뮴 adsorption kinetics를 보여주고 있다. Valve를 열었을 경우에는 일반적인 bubble column과 동일하므로 개발된 bubble column이 훨씬 빨리 평형에 도달함으로써 우수한 mass transfer characteristics을 보여주고 있다. Fig.6-47은 각 단에서의 카드뮴 농도의 변화를 나타내고 있는데 아래에서 윗단으로 올라 갈수록 카드뮴이 흡착되어 농도가 점점 낮아짐을 알 수 있었고 단과 단 사이의 농도차이가 명확하게 유지됨으로써 leaking 현상이 없어졌음을 알 수 있었고 따라서 개발된 J-L bubble column은 tray type의 문제점을 잘 보완한 design임을 알 수 있었다. Fig. 6-48은 breakthrough 현상을 목격하기 위하여 흡착제의 양을 반으로 줄이고 처리 유량을 두배로 늘린 경우의 흡착 양상을 보여 주는 것으로 100 분 이후부터 서서히 유출 농도가 증가함에 따라 breakthrough현

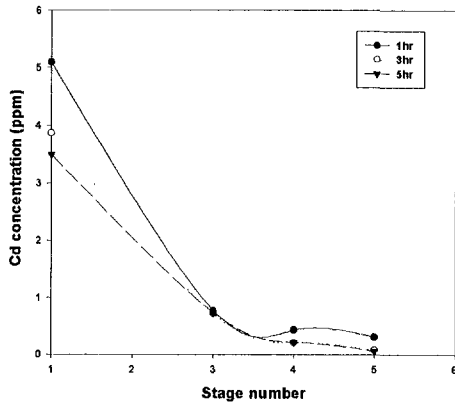


Fig.6-47. Concentration profile of Cd according to time and stage of separated bubble column. (flow rate = 12mL/min)

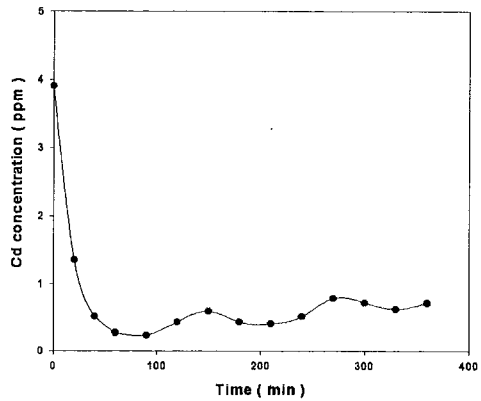


Fig.6-48. Adsorption kinetics of Cd at bubble column. (flow rate = 24 mL/min)

상이 일어남을 알 수 있다. 따라서 적절한 시간에 흡착제를 교환하지 않으면 흡착제가 포화되어 유출 농도가 배출 기준을 초과하게 된다. Fig. 6-49는 이때 각단에서의 카드뮴 농도를 나타낸 것인데 초기에는 정상적인 profile을 나타내나 breakthrough 현상이 나타나는 말기에는 불안한 profile을 보여주고 있다.

이러한 breakthrough 현상을 방지하기 위해 흡착제를 교환해야 하는데, 보통의 bubble column은 breakthrough가 일어나기 전에 한꺼번에 교환할 수밖에 없으나 새로운 J-L bubble column은 순차적으로 조금씩 교환하여 breakthrough 현상을 방지하여 단위 시간당 소모되는 흡착제의 양을 절감시킬 수 있는 장점이 있다. 이러한 장점을 확인하기 위해서 alginate bead를 흡착제로 사용하여 J-L bubble column에서 카드뮴 흡착을 수행하였다. Fig. 6-50은 일반적인 alginate bead에 의한 카드뮴 흡착 양상을 보여주고 있고 Fig. 6-51은 이때의 각단에서의 농도 profile을 보여주고 있다. 25 gram의 bead로 300 시간에 한번씩 교환한다면 계속해서 breakthrough현상을 초래할 수밖에 없음을 알 수 있다. 하지만 Fig.6-52는 5 gram의 bead를 60분에 한번씩 각단에서 교환한 경우의 흡착양상을 보여주고 있다. 300시간 기준으로 보면 Fig. 6-50의 경우와 마찬가지로 25 gram이 소모되었으나 breakthrough

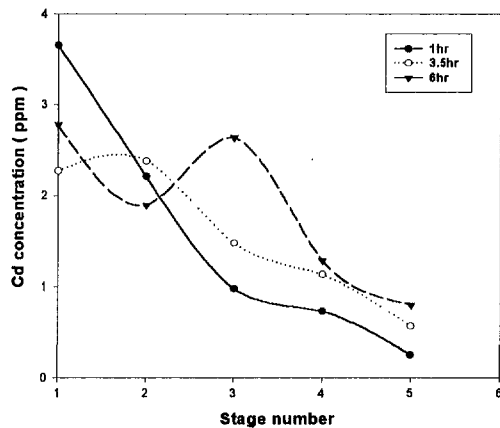


Fig.6-49. Comparison of adsorption kinetics according to time and stage. (flow rate = 24 mL/min)

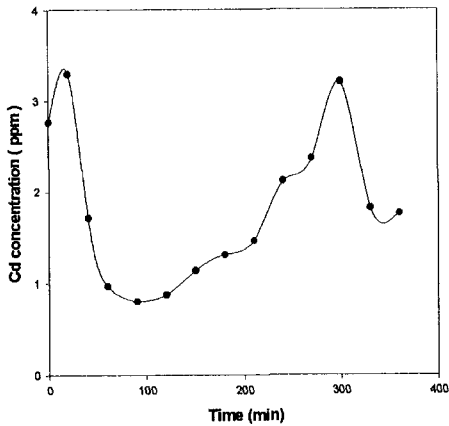


Fig.6-50. Adsorption kinetics of Cd for pure Na-Alginate beads at J-L bubble column. ( flow rate = 24mL/min )

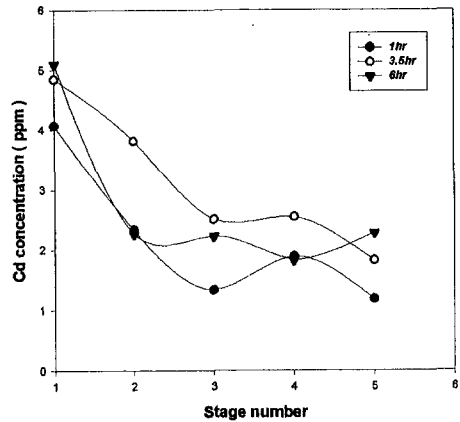


Fig.6-51. Concentration profile of Cd for pure Na-Alginate beads according to time and stage of J-L bubble column. ( flow rate = 24mL/min )

현상이 없다. Fig.6-53은 이 경우의 각단에서의 카드뮴 농도 변화를 보여주고 있는데 이경우도 말기에는 불안정한 profile이 형성됨을 알 수 있어 좀더 자주 교환하거나 더 많은 양을 첨가하여야 안정된 operation을 보장받을 수 있다. 따라서 Fig. 6-52에서 보여준 operation은 breakthrough 현상을 방지하기 위한 최소한의 흡착제를 사용한 경우라 말할 수 있다. 어쨌든 Fig. 6-50에서 breakthrough를 방지하기 위해서는 매 100시간 25 gram을 교환

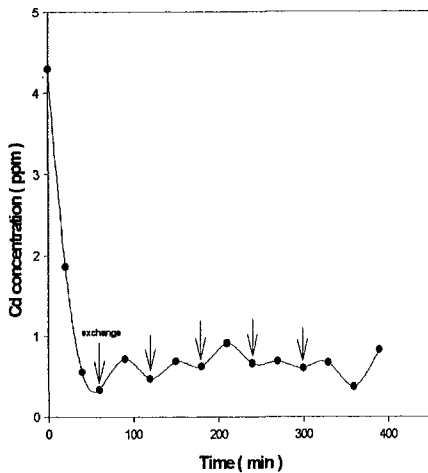


Fig.6-52. Adsorption kinetics of Cd by pure Na-Alginate beads in 5 cycle operation with J-L bubble column. ( flow rate = 24mL/min )

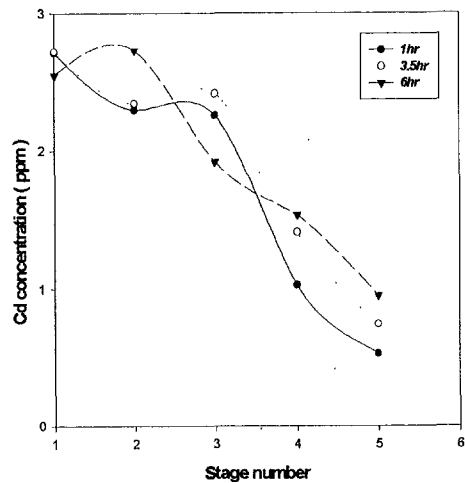


Fig.6-53. Concentration profile of Cd for pure Na-Alginate beads according to time and stage at cycle operation of J-L bubble column. ( flow rate = 24mL/min )

해주어야 하는 사실을 고려하면 새로운 J-L bubble column에 의한 흡착으로는 이보다 적은 1/3의 정도의 흡착제만으로도 breakthrough를 방지할 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 개발한 J-L bubble column은 연속식 향류 흡착이 가능할 뿐만 아니라 이를 통해 사용되어 지는 흡착제의 양을 줄일 수 있는 장점이 있음을 알 수 있었다.

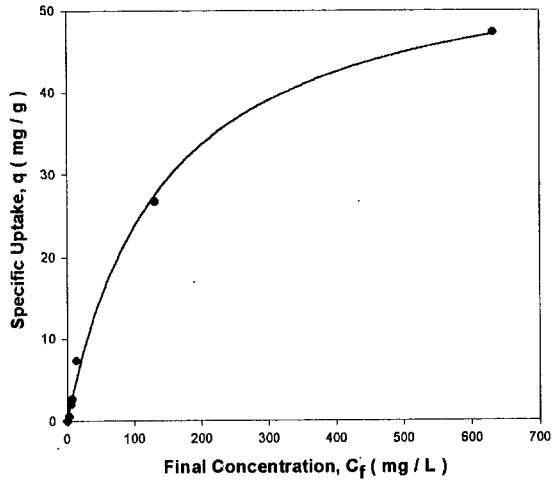


Fig.6-54. Copper adsorption isotherm for waste solid medium. (  $a=57.7572$ ,  $b=144.2159$  )

2. 폐배지에 의한 구리, 망간, 아연 이온의 흡착 등온선

실패수 적용을 위한 현장이 경기도 화성군 삼보광산으로 정해지고 이곳 폐광 침출수에 주로 아연과 망간이 함유되어 있음이 밝혀짐에 따라 느타리 버섯 폐배지에 의해 이들 중금속

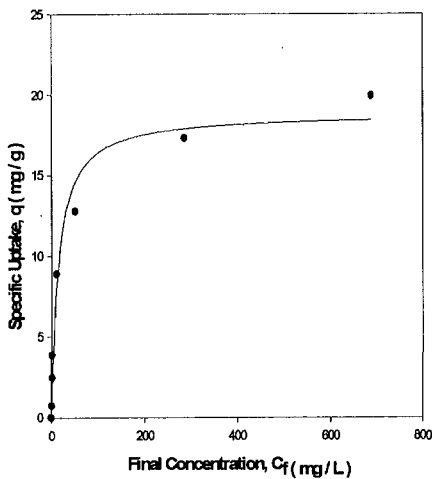


Fig.6-55. Manganese adsorption isotherm for waste solid medium (  $a=18.8321$ ,  $b=14.8414$  )

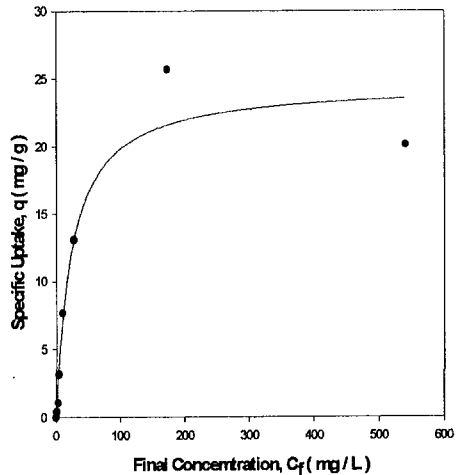


Fig.6-56. Zinc adsorption isotherm for waste solid medium (  $a=24.5901$ ,  $b=24.1206$  )

이온들도 흡착제거가 가능한지 조사가 필요하게 되었다. 따라서 느타리버섯 폐배지에 의한 아연, 망간, 및 구리에 대한 흡착등온선을 조사하였고 Fig.6-54, 6-55, 6-56에 각각 구리, 망간, 아연에 대한 흡착 등온식을 나타내었다. 실선은 Langmuir isotherm에 non-linear regression한 결과를 나타내고 있으며 대부분 Langmuir isotherm에 따르는 것으로 나타났으며 최대 흡착량은 구리, 아연, 망간의 순서로 감소함을 알 수 있었다. 특히 아연의 경우에는 최대흡착량이 약 25 mg/g으로 카드뮴에 비해 적으므로 삼보광산 처리시 보다 많은 양의 폐배지가 요구됨을 알 수 있었다. 또한 아연 뿐만 아니라 구리, 망간, 카드뮴 등 타 금속 이온의 흡착도 선택성이 크므로 실제 침출수 처럼 여러 이온이 공존하는 경우에는 쉽게 폐배지의 adsorption site가 포화되어 제거를 원하는 중금속 이온의 흡착이 저해 받을 수 있음을 알 수 있었다.

#### 가. Continuous flow system

느타리버섯 폐배지를 이용한 폐광의 갭내수나 침출수 처리시스템은 설치될 장소가 산간 폐광지대이므로 전력의 공급이나 고급기술자의 유지가 어렵기 때문에 될 수 있는 한 동력이 적게 들고 보수유지가 간단하고 운전조작이 간편해야 한다. Continuous flow system은 낙차를 이용하여 연속적으로 처리할수 있고 구조가 간단하여 유지보수 및 운전이 용이한 장점이 있다. Fig. 6-57은 이러한 system을 보여주고 있으며 Fig.6-58은 이 시스템에서의 운전 결과를 보여주고 있는데 카드뮴 제거율이 20%정도 밖에 되지 않아 많은 장점에도 불구하고 사용하기 불가능함을 알 수 있었다. 이렇게 제거율이 낮은 이유는 공급된 적은 유량으로는 카드뮴과 흡착제간의 충분한 접촉을 일으킬만한 turbulence가 일어나지 않기 때문이다. 따라서 mass transfer를 증진시키기 위해 airlift tank system이 사용되었다.

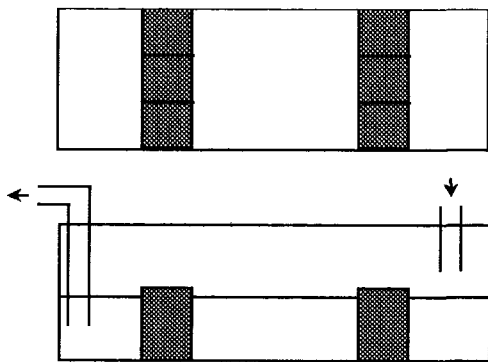


Fig.6-57. Continuous flow system

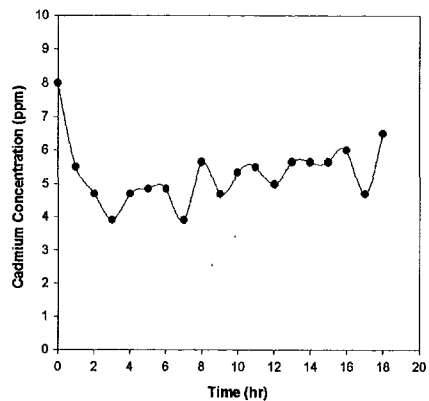


Fig.6-58. Absorption of cadmium to waste solid medium in continuous flow system. ( flow rate = 36 mL/min )

나. Airlift tank system

Airlift tank system은 continuous flow system에 air를 주입하여 circulation을 하게하는 시스템으로 Fig. 6-59에 나타나 있으며 Fig. 6-60에서 그 처리결과를 보여주고 있다. 두 가지 공급속도에서의 제거율을 조사하였는데 36 ml/min에서는 36%, 20 ml/min에서는 72%의 제거율을 보여줌으로서 공기의 유입에 의한 circulation의 증대로 제거율이 continuous flow system에 비교하여 증진되었음을 알 수 있었다.

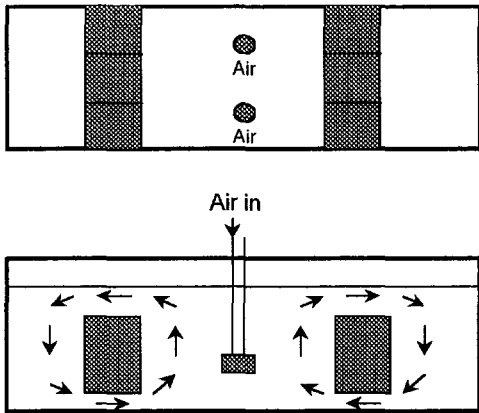


Fig.6-59. Airlift tank system

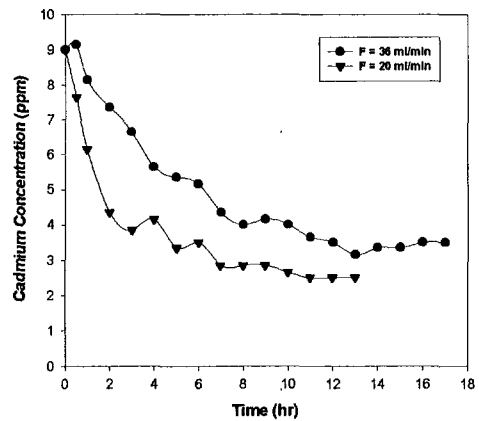


Fig.6-60. Adsorption of cadmium to waste solid medium in airlift tank system at various flow rate.

Fig. 6-61은 two stage airlift tank system을 보여주고 있고 Fig. 6-62는 이 시스템에서의 처리결과를 나타내고 있는데 첫 번째 단계에서는 72%, 두 번째 단계에서는 83%의 카드뮴 제거율을 보여줌으로써 단수를 늘리면 원하는 제거율을 얼마든지 확보할 수 있음을 알 수 있었다. Airlift은 air를 공급하여 유동성을 향상시켰으나 air 때문에 거품이 생기고 전력비가 많이 드는 단점이 있다. 따라서 동력비가 저렴하면서 충분히 유동성을 확보할 수 있는 새로운 시스템의 개발이 요구된다.

다. Maze system

Maze system이 continuous flow system과 airlift system의 단점을 보강하기 위하여 시도되었다. 이 시스템은 Fig. 6-63과 같이 접촉반응조 안에 zigzag 형태의 수로를 만든후 그 사이에 느타리버섯 폐

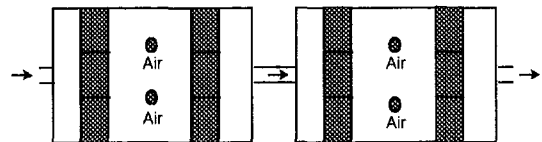


Fig.6-61. Two stage airlift tank system



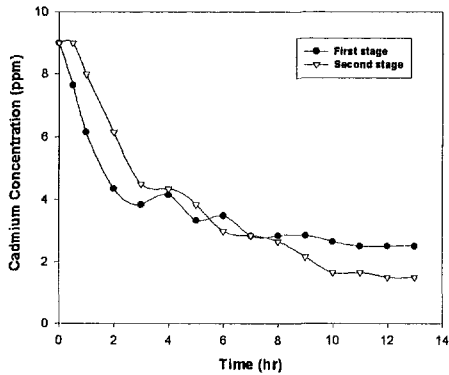


Fig.6-62. Adsorption of cadmium to waste solid medium in two stage airlift tank system. ( flow rate = 20 mL/min)

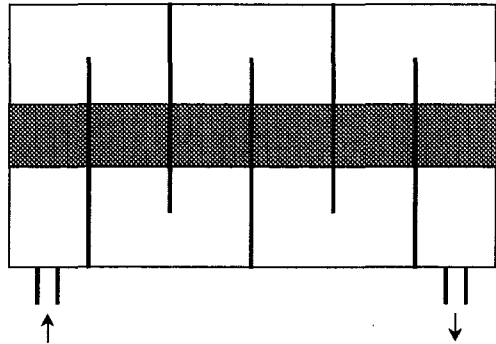


Fig.6-63 Maze tank system

배지를 넣은 sack을 설치하여 카드뮴 용액이 수로를 빠져나가는 흐름에 의해 자연적으로 접촉이 일어나도록 한 system으로 Fig. 6-64에 의하면 91%의 제거율을 보였다. 이 maze system이 카드뮴 제거 면에서 가장 우수하고 동력이 거의 들지 않아 전기 공급에 문제가 되는 폐광산의 실정에 알맞으며 운전 및 보수가 용이하기 때문에 폐광산 침출수 적용을 위한 model system으로 정하고 실패수 적용을 위한 simulation 실험을 수행하였고 이를 바탕으로

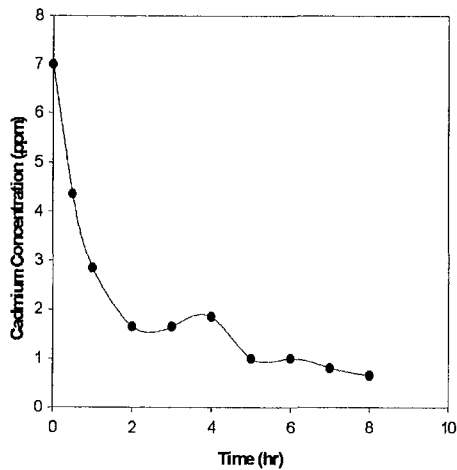


Fig.6-64. Adsorption of cadmium to waste solid medium in maze tank system. ( flow rate = 20 mL/min)

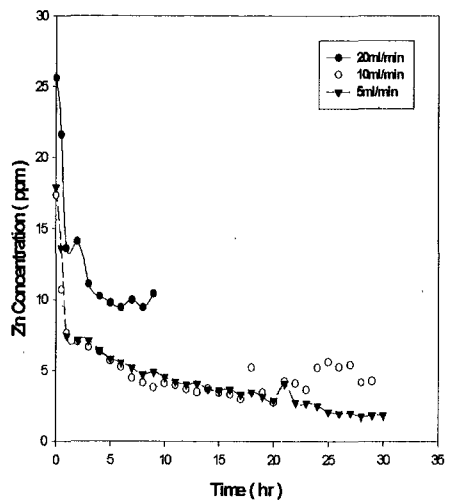


Fig. 6-65. Adsorption kinetics of Zn at different flow rate

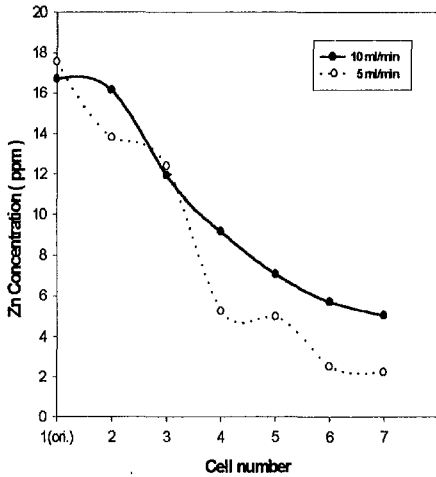


Fig.6-66. Concentration profile of zinc at different flow rate in each cell of maze tank system

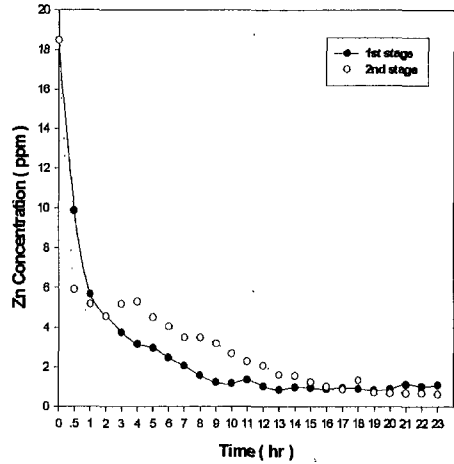


Fig.6-67. Adsorption kinetics of Zn at each stage in two-stage maze tank system ( flow rate = 20 mL/min )

현장용 maze system을 설계하여 임업연구원과 함께 현장 적용 실험을 실시하였다. 실패수 적용을 위한 simulation 실험은 20ppm 아연 용액을 중심으로 실시하였다.

Fig. 6-65는 같은 maze system에서 여러 가지 유량에서의 아연 이온의 흡착 kinetics를 나타낸 것이다. 유량이 큰 경우에는 저 농도로 떨어지자마자 breakthrough 현상을 보이게 되어 제거율이 낮아진다. 따라서 유량이 어느 정도 클 경우에는 흡착제를 더 첨가하든지 two stage operation이 바람직 하다. 이 경우 10 ml/min 이하에서는 거의 같은 제거율을 보여주고 있다. 단지 20 시간 이후 부터는 조금씩 유출 농도가 증가함을 보여 주어 5ml/min에 비해 breakthrough 현상이 일찍 일어나는 것을 목격할 수 있었다. Breakthrough 후에는 폐배지를 교환해야 하는데 이때 인건비가 많이 들므로 될 수 있는 한 주어진 폐배지나 일정한 크기의 maze tank system에서는 유량을 적게 운전하는 것이 유리하

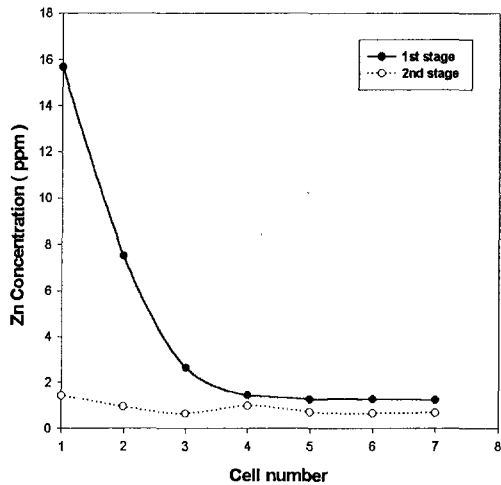


Fig.5-68. Concentration profile of zinc in each cell of two-stage maze tank system. ( flow rate = 20 mL/min )

다. Fig. 6-66은 30시간 후 각 cell에서의 아연 농도를 표시한 것이다. J-L bubble column 처럼 downstream으로 가면서 각 단계에서의 농도가 감소하는 것을 목격할 수 있었으며 각 cell이 segregation이 잘 되어 하나의 ideal stage로 작용할 수 있음을 알 수 있었다.

Fig. 6-67은 앞의 maze tank를 두 개 series로 연결하여 운전하였을 때의 각 stage 유출구에서의 아연농도의 시간에 따른 변화를 plot한 것이다. 정상상태에 이르렀을 때 2nd stage에서의 농도가 1st stage 보다 적게 유지됨을 알 수 있었고 Fig. 6-68은 이때 각 cell에서의 농도를 나타내는 것으로 아연의 제거는 거의 첫째 단계에서 다 이루어 짐을 알 수 있었다. 또한 two stage는 단지 single stage의 연장에 불과하다는 것을 알게 되었다.

량이 크므로 two stage를 설치하여 실험하기로 하고 cartridge type의 maze system을 설계하여 현장 실험을 실시하였다. 현장 실험 결과 유량이 클 경우에는 넓은 면적의 maze tank system이 필요하고 폐배지의 교환 때문에 vertical type의 multi-stage 대신 평면에서 부지를 최소화 할수 있는 multi-stage maze system이 필요하게 됨에 따라 다음 그림 Fig. 6-69와 같은 maze system을 새로운 maze system으로 제시하게 되었다. Fig. 6-70은 이러한 개념으로 실제 제작된 cartridge type의 two-stage maze system의 사진이며 Fig. 6-71은 이를 이용한 아연 용액의 제거에 관한 simulation 실험 결과로 98 % 이상 제거됨을 알 수 있었고 Fig. 6-72는 이때의 각 cell에서의 아연 농도를 보여주는 것으로 single stage operation과 같은 경향을 나타낸다.

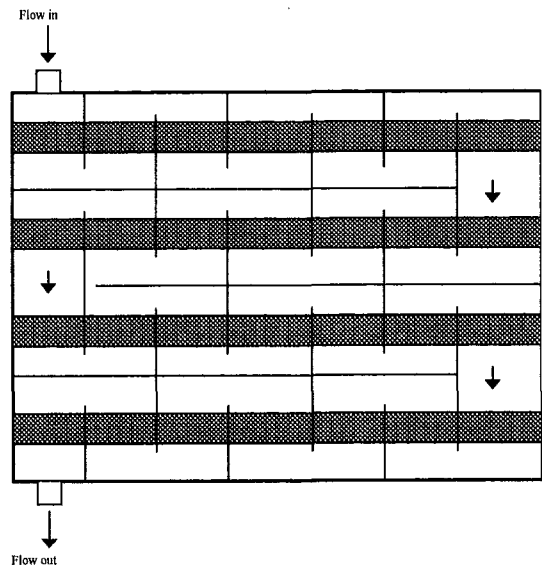


Fig.6-69. New maze tank system

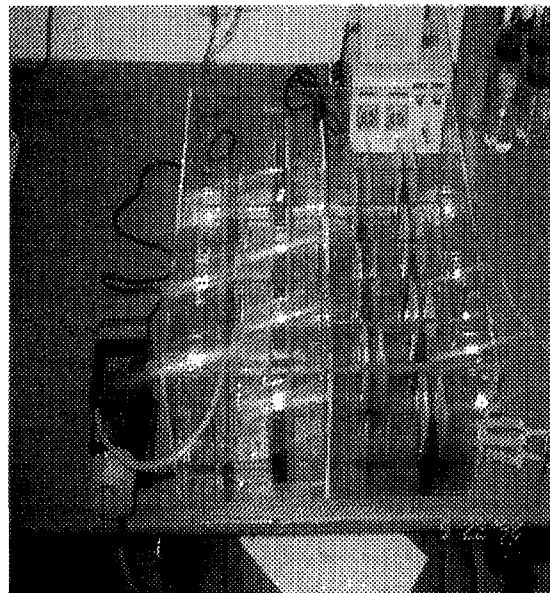


Fig. 6-70. New maze tank system의 모습

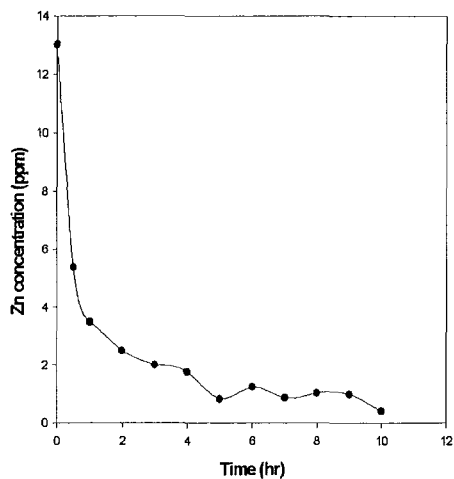


Fig.6-71. Adsorption kinetics of Zn for new maze tank system. ( flow rate = 60 mL/min )

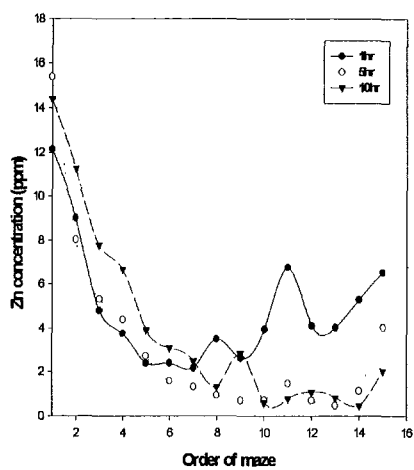


Fig.6-72. Concentration profile of Zn at different time in each cell of new maze tank system. ( flow rate = 60mL/min )

# 제 7 장 수질정화 실연 및 보급

## 제 1 절 폐목질자원을 이용한 중금속 제거

### 제 1 항 수피를 이용한 카드뮴 이온의 제거

#### 1. 서설

실험실 규모로 여러 가지 reactor type에 적용해 보았다. 이를 통한 결과를 중심으로 현장 적용 가능성을 알아보기 위하여 pilot plant 규모의 reactor를 이용하여 카드뮴 이온을 제거해 보았다. 공시재료는 소나무(*Pinus densiflora*)의 수피를 이용하였다. 수피를 약 50℃에서 48시간동안 건조시킨 후 마쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄된 수피를 40~80 mesh의 크기로 체로 거른 것을 사용하였다. 공시 카드뮴 폐액으로는 황산카드뮴( $CdSO_4$ )을 물에 희석한 것을 공시 폐액으로 하였으며 폐액의 농도는 10ppm 수준으로 하였다.

Reactor type은 airlift reactor와 packed bed reactor을 이용하여 카드뮴 이온을 제거하였다. Airlift reactor에서는 소나무 수피 400g과 pH 5.5의 카드뮴 용액 10ppm 130ℓ을 airlift reactor에 넣고 처리하면서 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 90, 120, 180, 230분마다 용액을 채취하여 Whatman filter paper No 40(Φ110mm)으로 여과하였다. 접촉 전 중금속 용액과 여과한 용액중의 농도를 유도결합플라스마원자방출 분광분석기( ICP : Inductively Coupled Plasma, Jobin Yvon JY 24)로 측정하여 시간에 따른 농도의 변화를 알아보았다. 또한 packed bed reactor에서는 공시재료로 소나무 수피 800g을 내경 16×길이 88cm인 칼럼에 충전시킨 후 초기농도 10ppm 용액을 유량 294ml/min으로 column을 통과시켜 용액을 채취하였다. 채취된 카드뮴 용액은 ICP를 사용하여 농도를 측정하였다.

#### 2. Airlift reactor에서의 흡착 kinetics

Airlift reactor를 이용하여 수피에 의한 카드뮴의 흡착 kinetics를 조사하였다. 그림 7- 1은 소나무의 수피 400g을 130ℓ 초기농도 10ppm 카드뮴 용액에 접촉할 때 시간에 따른 잔존 카드뮴의 농도를 조사한 것으로 30분 정도면 평형에 이르는 것으로 나타났다.

#### 3. Packed bed reactor에서의 흡착 kinetics

Packed bed는 연속적으로 사용할 수 있고 reactor vessel의 부피가 적은 장점이 있다. 따라서 packed bed reactor를 이용하여 수피에 의한 카드뮴의 흡착 kinetics를 조사하였다. 그림 7- 2는 소나무의 수피 800g을 column에 충전하고 초기농도 10ppm 카드뮴 용액을 연속적으로 column에 처리할 때 시간에 따른 출구에서의 카드뮴의 농도를 조사한 것으로 400ℓ를 처리할 때까지는 낮은 농도의 카드뮴을 유지하다가 450ℓ 후에는 카드뮴의 농도가 breakthrough 현상이 목격되었다. 따라서 주어진 800g의 소나무 수피는 400ℓ까지는 안전하

게 처리함을 알 수 있었다.

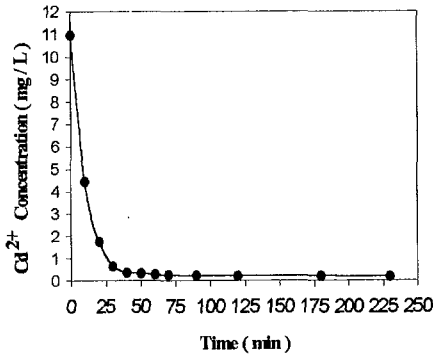


그림 7-1. Airlift reactor에서 카드뮴 흡착 kinetics

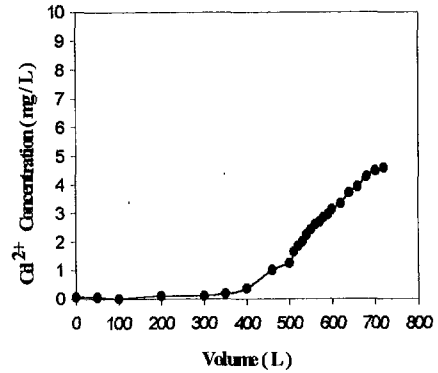


그림 7-2. Packed bed reactor에서의 breakthrough curve

## 제 2 항 은행나무 낙엽을 이용한 폐수중의 크롬의 제거

### 1. 서설

은행나무 낙엽의 효율적 이용을 위해 독성을 가지는 6가 크롬의 선택적 흡착 현상과 이를 이용한 연속식 대량 수처리 시스템의 개발을 목적으로 적용 가능성을 조사하였다. 이를 위해 흡착 등온선을 구하였고, stirred reactor, airlift reactor, packed bed reactor 등 여러 반응 시스템에서의 제거속도를 조사하였다.

공시재료는 은행나무(*Ginkgo biloba* L.)의 낙엽을 이용하였다. 가을철 낙엽 후 곧바로 수거하여 이용하였으며, 약 50℃에서 48시간동안 건조시킨 후 마쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄된 은행잎은 40~80 mesh의 크기로 체로 거른 것을 사용하였다.

### 2. 은행나무 낙엽을 이용한 크롬의 흡착 제거

은행나무 낙엽에 의한 크롬의 선택적 흡착 현상을 이용하여 폐수중의 크롬을 효과적으로 제거할 수 있다. 그러나 이러한 단순 흡착에 의한 제거 방법이라도 산업적으로 이용할 때, 폐수가 대량으로 연속적으로 유출되기 때문에 효율적인 연속식 대량처리 시스템에 관한 연구가 필요하다. 따라서 먼저 은행나무 낙엽의 흡착 시스템의 성능을 예측하여 설계하는데 기본이 되는 흡착등온식에 대하여 조사하였고 대량 시스템에 적합한 흡착 반응조를 선발함으로써 선발된 reactor system을 기준으로 연속식 대량 시스템을 모색하였다.

#### 가. 은행나무 낙엽의 크롬에 대한 흡착등온선

그림 7- 3은 은행나무 낙엽의 크롬에 대한 26℃에서의 흡착등온식을 나타내고 있다.

이 흡착등온식에 의하면 은행나무 낙엽의 크롬에 대한 흡착은 모두 대표적인 Langmuir형식의 흡착등온식으로 나타낼 수 있고 최대흡착량이 약 30mg/g임을 알 수 있었다.

나. 은행나무낙엽의 카드뮴에 대한 흡착등온선

그림 7- 4는 은행나무 낙엽의 카드뮴에 대한 26℃에서의 흡착등온식을 나타내고 있다. 이 흡착등온식에 의하면 은행나무 낙엽의 카드뮴에 대한 흡착은 모두 대표적인 Langmuir형식의 흡착등온식으로 나타낼 수 있고 최대흡착량이 약 25mg/g임을 알 수 있었다.

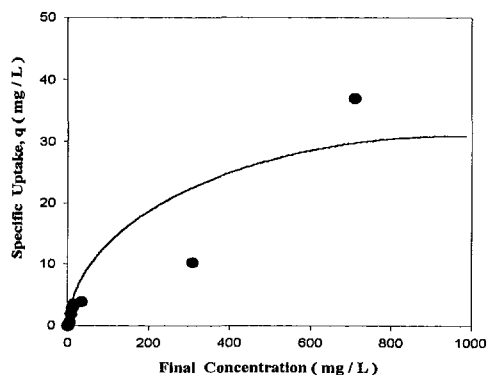


그림 7-3. 크롬 흡착등온선 ( pH 5.5 )

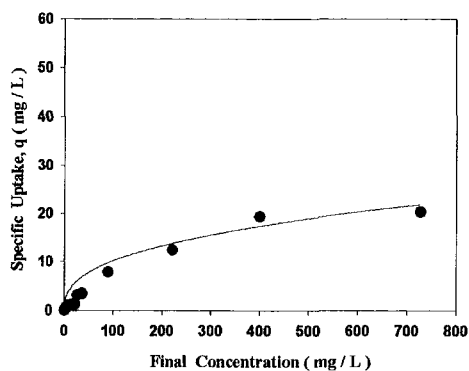


그림 7-4. 카드뮴 흡착등온선 ( pH 5.5 )

다. Stirred reactor를 이용한 크롬 제거

대량 시스템에 적합한 흡착반응조를 선발하기 위해 가장 간단한 stirred reactor에서 은행나무 낙엽에 의한 흡착 kinetics를 조사하였다. 그림 7- 5는 은행잎을 이용하여 stirred reactor에서 시간에 따른 크롬의 흡착 kinetics로 초기농도 10ppm의 크롬과 급격한 농도변화는 없지만 100분이 경과하면서 평형에 다다르는 것을 목격할 수 있었으며 95% 이상의 크롬 제거율을 보여주었다. 좀더 반응을 시킬 경우 낮은 농도까지 처리할 수 있을 것이라 추측된다.

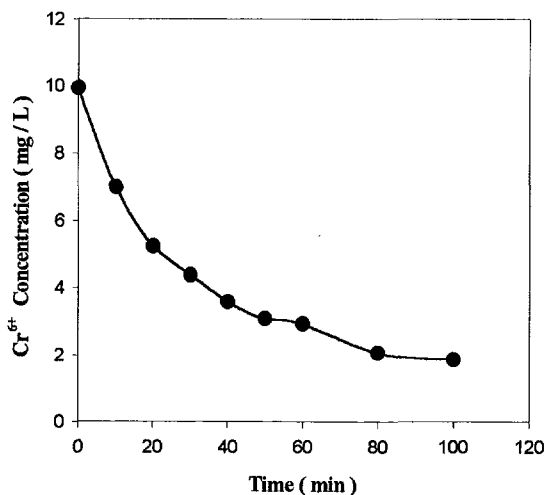


그림 7-5. Stirred reactor에서 크롬 흡착 Kinetics

라. Packed bed reactor에서의 크롬 흡착 kinetics

은행나무 낙엽의 크롬흡착을 연속적으로 유도하기 위하여 packed bed를 적용해 보았다. Packed bed는 연속적으로 사용할 수 있고 reactor vessel의 부피가 작다는 장점이 있다. 따라서 packed bed reactor를 이용하여 은행나무 낙엽에 의한 크롬 흡착 kinetics를 조사하였다. 그림 7- 6은 은행나무 낙엽 45g을 column에 충전하고 초기농도 10ppm 카드뮴 용액을 연속식으로 column에 처리할 때 시간에 따른 출구에서의 크롬의 농도를 조사한 것으로 10 l를 처리할 때 까지도 낮은 농도의 크롬을 유지하였다. 이러한 운전은 대표적인 비정상상태의 운전으로 packed bed의 흡착량에 한계가 있기 때문에 시간이 지나면서 adsorption zone이 column 아래 방향으로 이동하여 column밑에 도달하면 농도가 갑자기 올라가 breakthrough 현상을 나타낸다. 그러나 은행나무 낙엽 packed bed reactor에서는 유출수 10 l까지는 breakthrough현상이 보이지 않고 안정적으로 낮은 농도를 유지하고 있어서 크롬 폐액의 흡착에는 은행나무 낙엽이 다른 재료보다 매우 유용함이 입증되었다.

마. Airlift reactor에서의 크롬 흡착 kinetics

그림 7- 7은 은행나무 낙엽의 airlift reactor에서의 크롬에 대한 흡착 kinetics를 나타낸 것이다. 초기농도 10ppm을 은행나무 낙엽 45g과 120분간 접촉시킨 결과 58%의 제거율을 보였다. 현상학적으로 보았을 때 120분 정도의 시간에서는 평형에 이르지 않은 것 같이 보인다. 이러한 결과는 은행나무 낙엽의 경우 effectivity diffusivity가 초기에는 작다가 시간이 경과함에 따라 안정적으로 크롬을 제거할 것이라 예측된다.

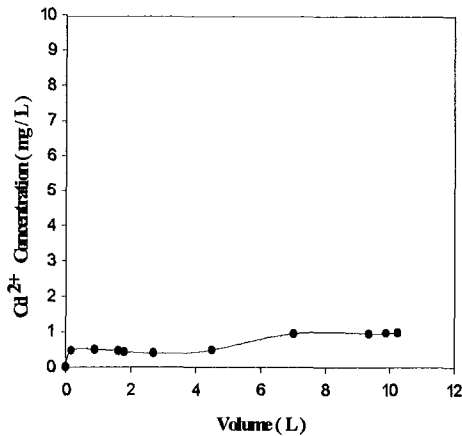


그림 7-6. Packed bed reactor에서의 breakthrough curve

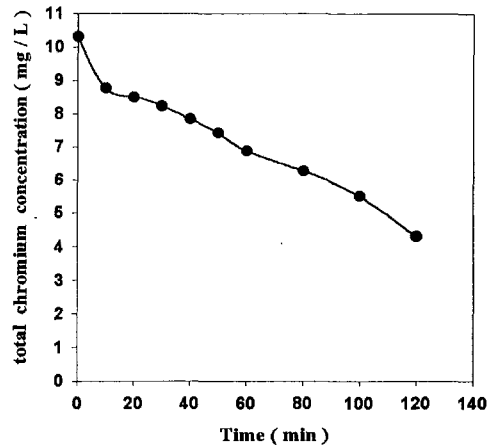


그림 7-7. Airlift reactor에서의 흡착 kinetics



바. pH에 따른 크롬 흡착 효과

그림 7- 8은 최적의 흡착조건을 알아보기 위한 것으로 pH에 따른 흡착 효과를 알아보았다. 크롬용액 10ppm 20ml에 powder 형태의 은행나무 낙엽 0.2g을 넣고 pH의 조건을 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12으로 하였다. 반응 조건은 25°C, 150rpm으로 15시간 동안 접촉시켰다. 반응한 결과 pH 10에서 흡착 효과가 좋은 것으로 나타났으며, 현장적용성을 감안한다면 pH 4~10의 범위내에서 반응한다면 그 다지 문제가 되지 않을 것으로 생각되어진다.

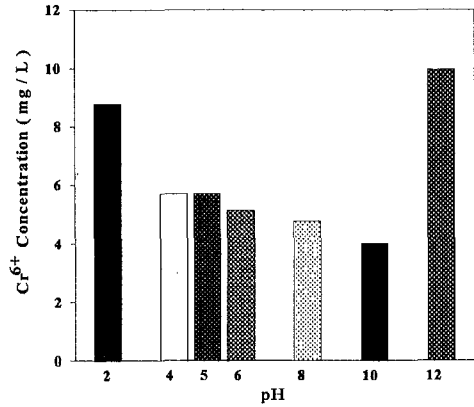


그림 7-8. pH에 따른 흡착 효과

사. 고정화 방법에 의한 크롬 흡착 kinetics

은행나무 낙엽을 건조하여 powder 형태로 만들 경우 입자가 상당히 굵기 때문에 여러 reactor type에 적용할 경우 operation에 문제가 되어 이를 보완하기 위하여 고정화 방법을 도입하였다. 그림 7- 9는 Powder 형태의 은행나무 낙엽 10g을 1%의 sodium alginate 2.5 liter와 혼합한 후 이를 직경 1.5mm의 bead로 만든 후 airlift reactor에서 크롬용액을 처리해 보았다. 초기 농도 10ppm의 크롬용액을 bead와 접촉 시키면서 시간에 따른 흡착 kinetics를 알아보았다. 그 결과 고정화하지 않은 은행나무 낙엽의 결과와 유사한 결과를 보였지만 450분간 접촉하므로써 94%의 크롬 제거율을 얻을 수 있었다. 이를 통하여 은행나무 낙엽은 external

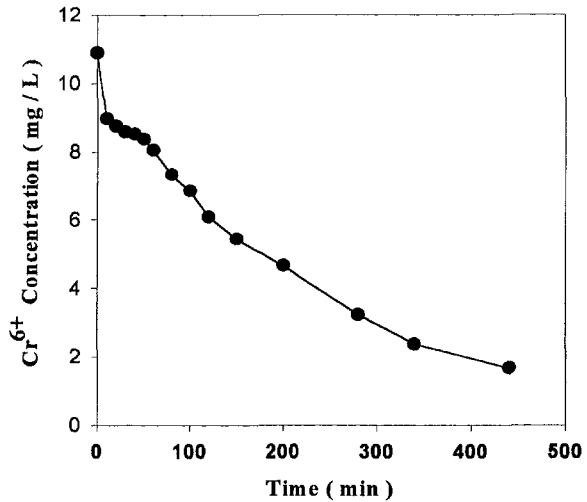


그림 7-9. 고정화 방법에 의한 packed bed reactor에서의 흡착 kinetics mass transfer의 정도가 열등하여

kinetics상 long tail이 존재함을 알 수 있었다. 또한 effectivity diffusivity가 초기에는 작다가 시간이 경과함에 따라 안정적으로 크롬을 제거할 수 있음을 확인할 수 있었다.

제 3 항 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거

### 1. 서설

수피와 더불어 이미 2년차 연구과제를 수행하면서 실험실 규모로 여러 가지 reactor type에 적용해 보았다. 이를 통한 결과를 중심으로 현장 적용 가능성을 알아보기 위하여 pilot plant 규모의 reactor를 이용하여 카드뮴 이온을 제거해 보았다. 공시재료는 느타리버섯 폐배지(*Pleurotus ostreatus*)를 이용하였다. 느타리버섯 폐배지를 약 50℃에서 48시간동안 건조시킨 후 황산카드뮴( $CdSO_4$ )을 물에 희석한 것을 공시 폐액으로 하였으며 폐액의 농도는 10ppm 수준으로 하였다.

Reactor type은 packed bed reactor을 이용하여 카드뮴 이온을 제거하였다. 공시재료인 느타리버섯 폐배지 800g을 내경 16×길이 88cm인 칼럼에 충전시킨 후 초기농도 8ppm 용액을 유량 2.78 l/hr으로 column을 통과시켜 용액을 채취하였다. 채취된 카드뮴 용액은 ICP(Inductively Coupled Plasma, Jobin Yvon JY 24)를 사용하여 농도를 측정하였다. 또한 최적의 흡착 조건으로서 pH를 달리하여 흡착 효과를 알아보았으며 느타리버섯 폐배지의 중금속에 대한 선택성을 알아보기 위하여 여러 가지 중금속을 동일한 조건에서 반응 시킨 후 그 제거율을 알아 보았다.

### 2. Packed bed reactor에서의 카드뮴 흡착 kinetics

이미 실험실 규모의 작은 column을 이용하여 실험한 바가 있는 packed bed를 실험실내에서 그 크기를 크게하여 좀더 현장에 적용의 가능성을 타진해 보았다. 그림 7- 10은 lab scale에서와 마찬가지로 느타리버섯 폐배지를 충전시킨 후 packed bed에서 초기농도 8 ppm의 카드뮴 용액을 처리해 보았다. 그 결과 대표적인 비정상상태(unsteady operation)의 운전으로 packed bed의 흡착량에 한계가 있기 때문에 시간이 지나면서 adsorption zone이 column 아래 방향으로 이동하여 column 밑에 도달하면 농도가 갑자기 올라가는 breakthrough 현상을 목격하게 된다. 이러한 breakthrough point는 유출수 500 liter부터 나타나기 시작하였으며 방류수 기준을 따진다면 적어도 550 liter까지는 안정적으로 처리할 수 있을 것으로 예측된다. 만일 이러한 breakthrough현상이 일어나지 않게 하기 위해서는 흡착제가 계속해서 첨가되는 매우 긴 moving bed column을 사용하여 정상상태의 운전을 선택해야 할 것이다. 이러한 결과를 이용하여 소나무 수피와 느타리버섯 폐배지와 비교한다면 처리 효과에 있어서는 큰 차이를 보이는 것 같지 않게 보이지만 실제로 느타리버섯 폐배지를 이용하여 packed bed reactor에서의 flow rate이 약 10배정도 빠르다는 것을 감안한다면 소나무 수피를 이용하는 것 보다 훨씬 큰 처리 효과를 기대할 수 있을 것으로 예측되어진다.

또한 이러한 차이는 실제로 많은 양의 폐수가 방류된다는 점을 감안한다면 느타리버섯 폐배지가 소나무 수피보다는 경제적이 수 있다.

### 3. pH에 따른 카드뮴 흡착 효과

그림 7- 11은 최적의 흡착조건을 알아보기 위한 것으로 pH에 따른 흡착 효과를 알아보았다. 크롬용액 10ppm 20ml 에 powder 형태의 느타리 버섯 폐배지 0.2g을 넣고 pH의 조건을 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12으로 하였다. 반응 조건은 25℃, 150rpm으로 15시간 동안 접촉시켰다. 반응한 결과 pH 4~10 범위에서 흡착 효과가 좋은 것으로 나타났으며, 실제 방류되어지는 폐수의 pH가 2~10이내라는 것을 감안한다면 pH 조정을 하지 않고 처리할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

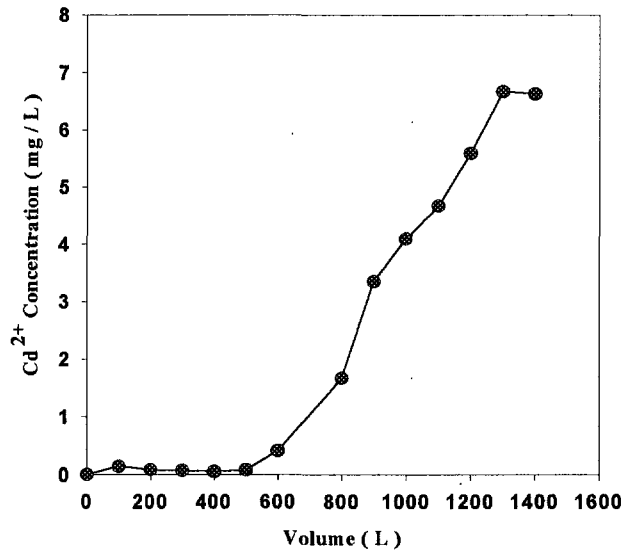


그림 7-10. Packed bed reactor에서의 흡착 kinetics

#### 4. 중금속에 따른 흡착 효과

Table 7-1은 여러 가지 중금속을 이용하여 느타리 버섯 폐배지의 흡착 효과를 알아 보았다. 반응 조건은 stirred reactor 에서 1g의 폐배지에 10ml 의 카드뮴, 망간, 구리, 아연, 철, 납을 180rpm, 26℃에서 30분간 반응 시킨 후 반응 전의 농도와 반응 후의 농도를 AAS(Atomic Absorption Spectrometer: AA-6601F) 를 이용하여 측정하였다. 느타리 버섯 폐배지는

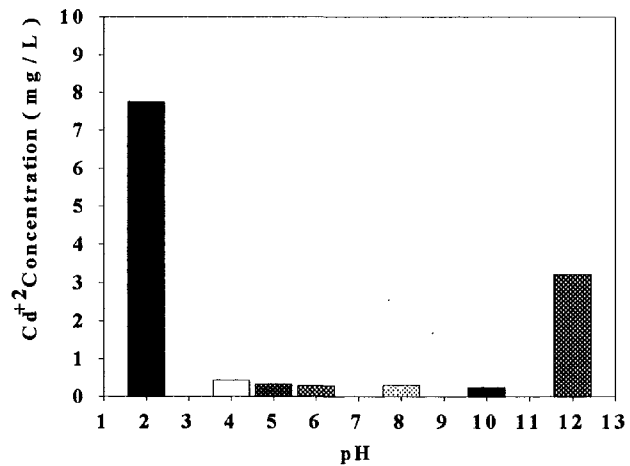


그림 7-11. pH에 따른 흡착 효과

stirred reactor에서 철을 제외하고 90%이상의 제거율을 보였다. 하지만 이 같은 결과는 단독으로 존재할 경우이었기 때문에 실제수에 있어서부분적으로는 낮은 흡착 효과를 나타낼

것이라 예측되어진다.

Table. 7-1 느타리버섯 폐배지의 중금속에 따른 제거 효과

( 단위 : mg / l )

	Mn	Cu	Cd	Zn	Fe	Pb
반응 전 농도	7.6766	9.5924	9.9345	8.2968	9.1275	9.2568
반응 후 농도	0.1307	1.4340	0.2301	0.4612	4.3226	0.046
제거율(%)	93.29	85.05	97.68	94.441	52.64	99.50

## 제 2 절 폐목질자원을 이용한 중금속 제거실연

### 제 1 항 Maze tank system을 이용한 폐광산의 중금속 제거

#### 1. 서설

그 동안 폐목질자원을 여러 가지 reactor을 이용하여 중금속을 처리하여 보았다. 느타리버섯 폐배지, 소나무 수피를 이용하여 폐수중의 카드뮴 이온을 제거할 수 있는 정화 시스템을 개발하는데 집중해 왔다. 따라서 지금까지의 결과를 중심으로 이에 적합한 반응기로서 maze tank system(그림 7- 12)을 이용하여 실패수를 적용시켜 보았다. 기존의 제거하려는 중금속을 폐광수내의 카드뮴 이온을 목적 중금속으로 해왔지만 실제 적용하려는 폐광산의 경우 아연과 망간이 약 40ppm으로 존재한다는 것을 알았다. 따라서 폐목질자원을 이용한 환경정화 시스템의 적용을 하기 위한 현장적용은 maze tank system을 이용하여 아연의 제거 가능성과 효율성을 타진해 보았으며 실연화 하기 위한 실패수 화성군 소재 삼보광산의 광미 침출수를 선택하였다.

#### 2. 실험실내에서 실패수 적용

현장 적용에 앞서 삼보광산의 광미 침출수를 실험실내에서 maze tank system을 이용하여 처리해 보았다. 광미 침출수의 경우는 여러 중금속이 존재하므로 인공 폐수를 처리하는 것 보다 다르기 때문에 폐목질 자체에 흡착되어 포화되는 속도와 양의 차이가 있을 것으로 예측되기 때문에 이러한 점을 해결하는 방안으로 현장에서의 실연화에 앞서 실험실내에서 가능성을 타진해 보았다.

그림 7- 13은 카트리지를 15개에 느타리버섯 폐배지를 800g씩 충전시킨 후 maze tank에 카트리지를 넣고 광미 침출수를 처리한 결과이다. 초기 tank에 물을 만수위까지 채운 후 유입구에 라인을 설치하여 tank내로 흘려보냈다. Tank내로 흘러 들어온 폐수는 지그제그의 형태

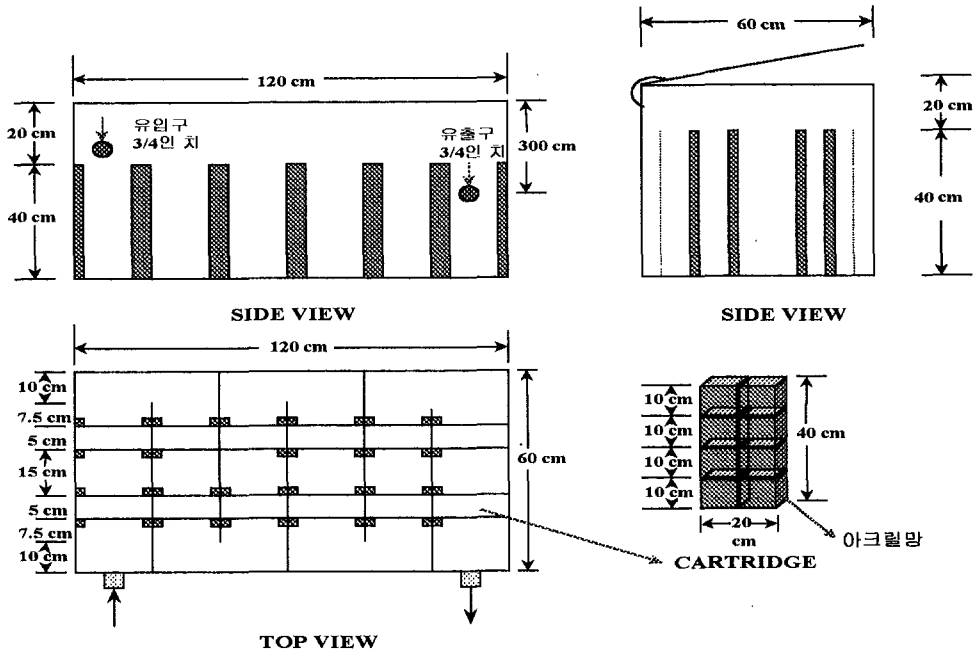


그림 7-12. Maze tank system의 구조

로 수로를 따라 2.27 l/min로 유출되는 것을 받아 중금속의 농도와 BOD의 변화를 알아보았다. 그 결과 중금속의 경우 아연(약 30ppm)과 망간(약 36ppm)의 초기 농도가 가장 높았으며 제거능력에 있어서는 망간보다는 아연을 선택적으로 많이 흡착한다는 것을 알 수 있었으며 이 실험에서의 조건으로 “가, 나” 또는 특정지역의 방류기준으로 200 l 정도 밖에 처리하지 못함을 나타내었다. 이러한 결과는 느타리버섯 폐배지가 한 금속만을 흡착 제거하는 것이 아니라 다른 미량의 중금속도 함

께 흡착 제거됨으로써 반응을 할 수 있는 active site가 빠른 시간안에 포화되거나 유입되어 유출되기까지의 유속이 빨라 실제로 반응할 시간이 짧아지므로써 일어나는 현상일 것이라 예측하였다. 그림 7- 14는 중금속을 분석한 후 BOD의 변화를 조사한 결과이다. 총 방류되어지는 배출량이 2000m<sup>3</sup>이하라 가정할 때 BOD의 방류수 기준인 80~120mg/l 과 비슷하거나 조금 높은 결과를 보였다. 하지만 배출량이 2000m<sup>3</sup>이상일 경우 50~100mg/l 정도 높은 결과라 할 수 있다. 결국 BOD의 문제도 해결해야 할 문제로 남게 되었다.

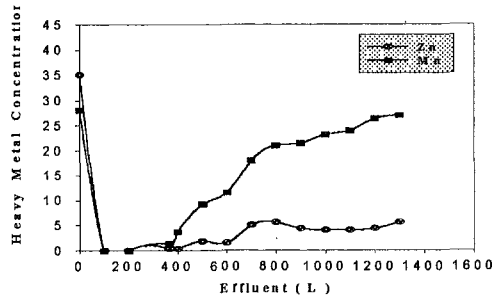


그림 7-13. 느타리버섯 폐배지를 이용한 maze tank system의 적용 ( 망간과 아연의 농도변화 )

### 3. 현장에서 실패수 적용

Maze tank의 카트리지에 여러 가지 biomass를 달리하여 충전시킨 후 tank내에 넣고 삼보광산의 광미 침출수를 현장에 설치하여 처리해 보았다. 현장에서 실패수를 적용하기 전 갱내수를 떠와서 분석한 결과 중금속의 함량이 낮은 관계(그림 7-15)로 고농도의 중금속을 함유하는 광미 침출수를 target으로하여 카트리지에 biomass를 충전시켜 maze tank에 끼운 후 유속을 변화 시켜 좀 더 효과적인 결과를 얻고자 시도하였다. 이것은 앞서 실험실내에서 실패수 적용 결과를 토대로 하였으며 그 방법과 결과는 다음과 같다.

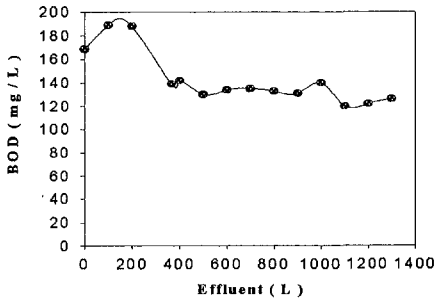


그림 7-14. 느타리버섯 폐배지를 이용한 maze tank system의 적용( BOD 변화 곡선 )

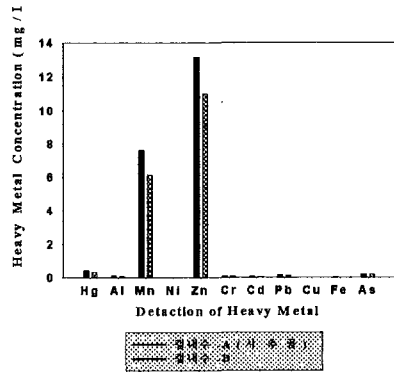


그림 7-15. 경기도 화성군 소재 삼보광산의 갱내수에 함유된 중금속의 종류 및 농도

#### 가. 적용 방법 I

##### 1) 현장 적용

그림 7- 16은 maze tank을 이용하여 현장에 적용한 방법을 나타내는 모식도로써 type I과 type II를 보여주고 있다. Type I은 느타리버섯 폐배지를 11개의 카트리지에 충전시킨 것을 각 단에 끼워 넣었다. 그리고 마지막단에는 BOD 제거를 위하여 활성탄을 이용하였다. 유속은 1500ml/min으로 하였으며 무동력으로 유입구와 연결하여 광미 침출수를 처리하였다. Type II는 톱밥에 고정화된 부후개떡버섯(*Tyromyces palustris*)을 폐배지 대신 충전시킨 후

동일한 방법으로 각 단에 끼워 넣었고, BOD 제거를 위하여 마지막 단은 활성탄으로 채웠다. 광미 침출수의 공급은 type I과는 별도의 라인을 설치하여 유입시켰다. 유속에 있어서는 type I보다 작은 500ml/min으로 하였다.

각 type의 시료채취는

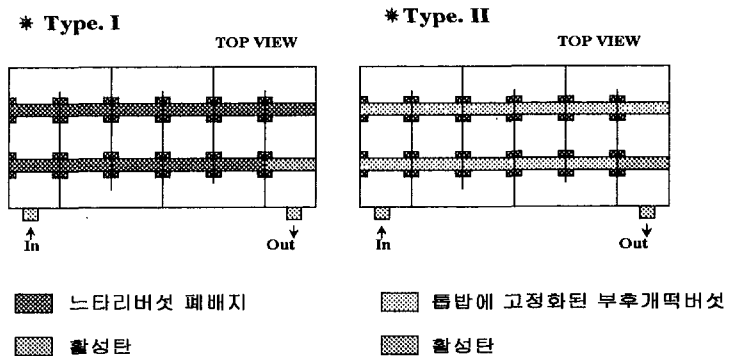
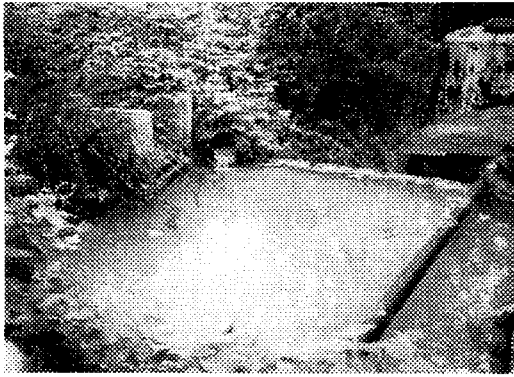
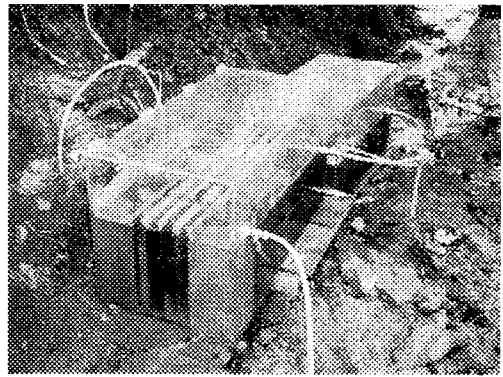


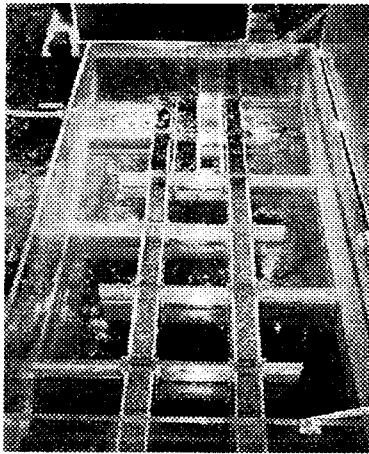
그림 7-16. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도



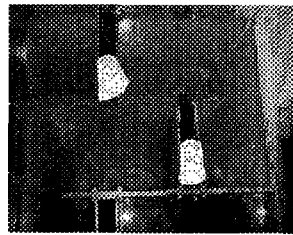
폐광 광미침출수



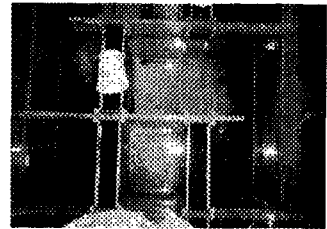
폐광수 처리 실연



처리장치 내부



유입시 폐수



배출시의 폐수

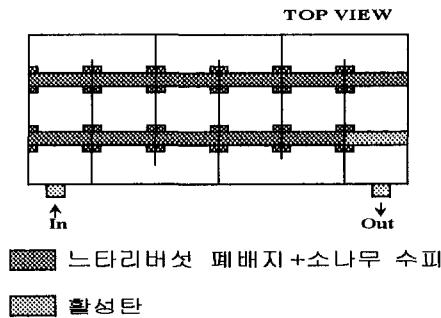
2일간 유출구로부터 2시간마다 받았다. 그림 7- 17은 maze tank을 이용하여 광미 침출수를 처리한 type III과 type IV를 나타내고 있는 모식도로써 type I과 type II에서 이용한 느타리버섯 폐배지와 톱밥에 고정화된 부후개떡버섯(*Tyromyces palustris*)외에도 소나무 수피, 활성탄을 이용하여 카트리지를 충전시켰다.

Type III에서는 느타리버섯 폐배지+소나무 수피를 충전시킨 카트리지를 끼운 후 마지막 한단은 활성탄을 끼워 BOD 제거를 시도하였다. 이때의 유속은 type I과 마찬가지로 1500ml/min하였다. Type IV의 경우는 소나무 수피+활성탄을 1:1 비율로 혼합한 것과 소나무 수피, 톱밥에 고정화된 부후개떡버섯+소나무 수피 그리고 느타리버섯 폐배지를 이용하여 카트리지에 충전시킨 후 각 단에 끼워 넣고 광미 침출수와 접촉시켰다. 이때의 유속은 type II와 마찬가지로 500ml/min하였다. 처리시간에 있어서는 2일간 2시간마다 시료를 채취하였다.

## 2) 현장 적용 결과

그림 7- 18은 maze tank system을 이용하여 type I~IV 방법에 의해 처리한 결과를 나타낸 것으로 아연에 대한 흡착 kinetics를 보여주고 있다. 이 결과에 의하면 type I~IV 방법 중 아연에 대한 처리 효과는 type III>I>IV>II 순으로 나타났다. 하지만 그림 7- 17에서

\* Type. III



\* Type. IV

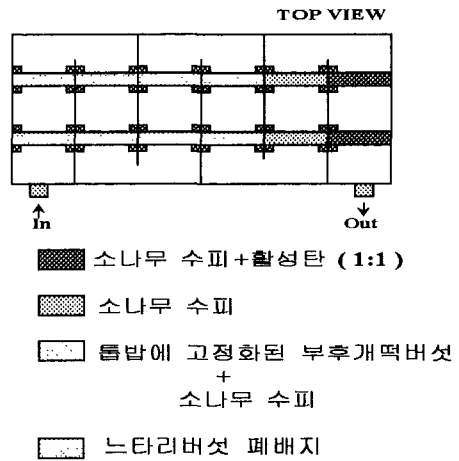


그림 7-17. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

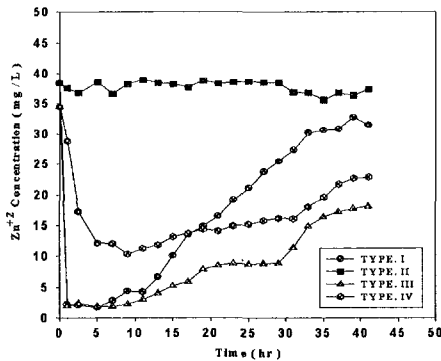


그림 7-18. Maze tank system을 이용한 type I~type IV의 흡착 kinetics (아연)

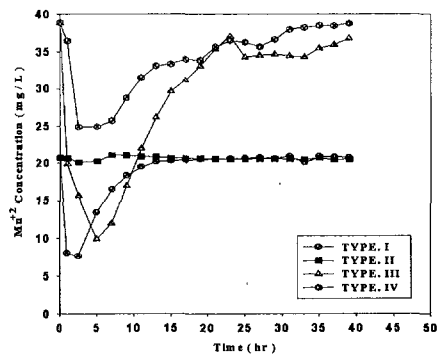


그림 7-19. Maze tank system을 이용한 type I~type IV의 흡착 kinetics (망간)

바와 같이 처리 효과가 좋은 type I과 III의 경우 청정지역의 방류수 기준인 5mg/ℓ 이하까지 처리할 수 있는 시간이 7~9시간뿐이 안된다는 문제점을 드러냈다. 실제로 방류되는 양을 고려할 때 빠르고 장시간 운전할 수 있는 정화 시스템으로 선발하기에는 상당한 문제점으로 드러났다. 그림 7-19에서는 망간에 대한 흡착 kinetics를 보여주고 있다. 아연에 대한 흡착 kinetics와 비교해 보면 제어효과가 낮은 결과를 보였다. Type I과 III은 아연에 대한 운전 시간이 7시간정도인 반면에 망간에 대해서는 2~4시간에서 빠르게 포화되어 평형에 다다름을 확인할 수 있었다. Type I과 III에 사용한 느타리버섯 폐배지는 망간보다는



아연에 대해 선택적 흡착이 일어남을 알 수 있었고 또한 한 종류의 증금속과 반응하여 처리할 수 있는 시간과는 많은 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 장시간 운전할 수 있는 흡착제의 개발이 우선되어야 함을 알 수 있었다.

나. 적용 방법 II

1) 현장 적용

그림 7- 20에서는 2개의 maze tank을 이용하여 유입되는 광미 침출수를 연속적으로 처리하였다. Type I~IV에서는 maze tank를 1개만 이용한 반면에 이 방법의 경우에는 운전시간을 늘리기 위한 방법으로 상단(제1기)에서 처리하여 방류하는 것을 하단(제2기)으로 보내어 연속적으로 처리하였다. 정확한 증금속의 농도 변화를 알아보기 위하여 상단에서 유출되는 유출수를 채취하고 하단으로 보내진 광미 침출수를 처리하여 방류되는 유출수를 채취하여 그 농도변화를 알아 보았다. 상단의 유속은 400ml/min으로 하였으며, 카트리지가 구성은 느타리버섯 폐배지와 소나무 수피+느타리버섯 폐배지를 3:7 비율로 하여 충전시킨 후 각 단에 끼워 넣었다.

하단의 유속은 380ml/min으로하여 톱밥에 고정화된 부후개떡버섯(*Tyromyces palustris*)+ 소나무 수피를 1:1

비율로 혼합한 것과 소나무 수피 그리고 소나무 수피+활성탄을 각각 카트리지에 충전시킨 후 유입되어 처리한 광미 침출수는 유출구를 통해 2시간마다 채취하였다.

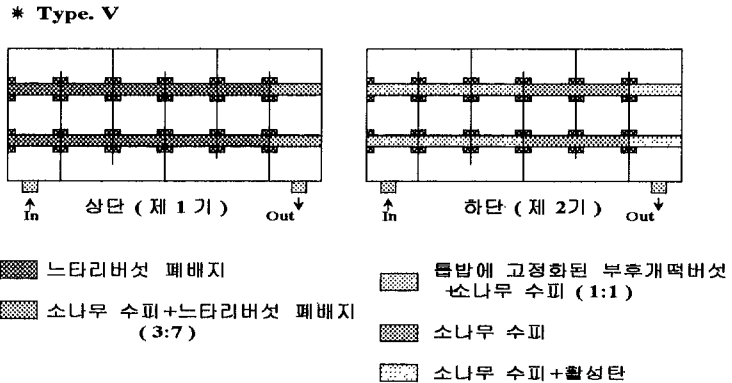


그림 20. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

2) 현장 적용 결과

그림 7- 21은 maze tank system을 이용하여 type V 방법에 의한 아연과 망간의 흡착 kinetics를 보여주고 있다. 이 결과에 의하면 상단과 하단에서 아연의 흡착 kinetics는 type I와 III의 결과와 유사함을 보였다. 특히 하단에서 처리된 광미 침출수는 아연에 대해서 청정지역의 방류수 기준인 5mg/l 이하까지 처리할 수 있는 시간이 20시간으로 type I나 III보다는 장시간 운전할 수 있음을 확인할 수 있었다. 하지만 망간에 대한 흡착 kinetics를 보면 type I과 III에서의 결과와 마찬가지로 제거 효과에 있어서 흡착능력이 거의 없거나 흡착 제거되는 것이 빠른 시간내에 포화상태에 다다름을 보였다.

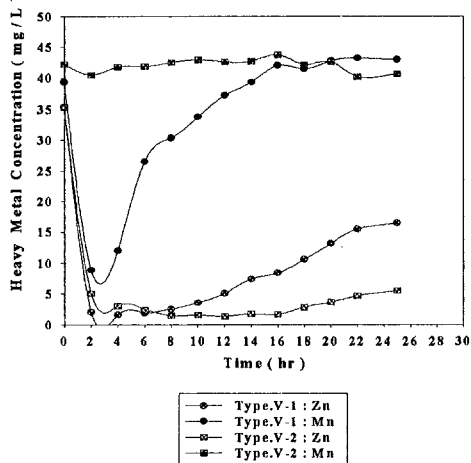


그림 7-21. Maze tank system을 이용한 type V의 흡착 kinetics (아연, 망간)

### 다. 적용 방법 III

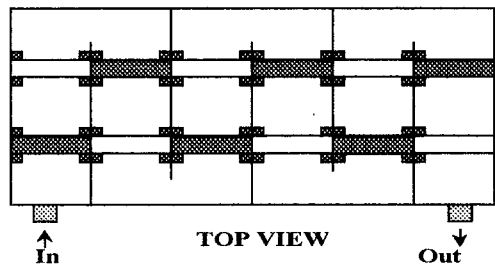
#### 1) 현장 적용

그림 7- 22에서는 1개의 maze tank을 이용하여 유입되는 광미 침출수를 처리하면서 각 단마다 시료를 채취하면서 각 단에서의 아연의 농도변화를 알아보았다. 유속은 1480ml/min 으로 하였으며, 카트리지가 구성은 소나무 수피 충전시킨 후 각 단에 끼워 넣었다.

#### 2) 현장 적용 결과

그림 7- 23은 수피만을 이용하여 카트리지에 충전시킨 후 maze tank에 끼워 놓고 광미 침출수를 처리하였다. 각 단별로 채취한 시료를 아연에 대한 농도변화를 분석한 결과 전혀 제거되지 않음을 보였다. 앞서 한 방법중 제거 효과가 거의 없음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 소나무 수피가 가지는 최대흡착량이 작고 여러 중금속이 존재함으로써 빠른 시간내에 포화되었을 것이라 예측된다. 이러한 결과로써 소나무 수피를 중금속 처리제로 이용하는 측면은 비경제적임을 알 수 있었다.

#### \* Type. VI



소나무 수피

그림 7-22. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

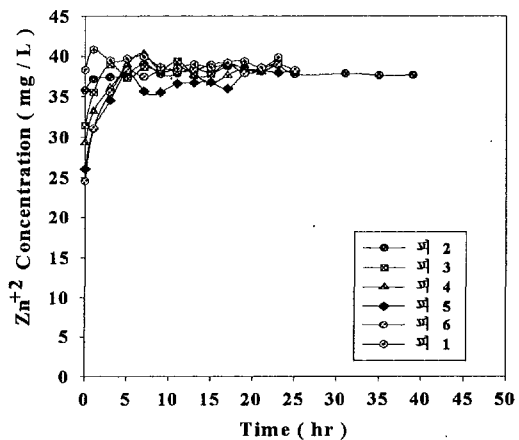


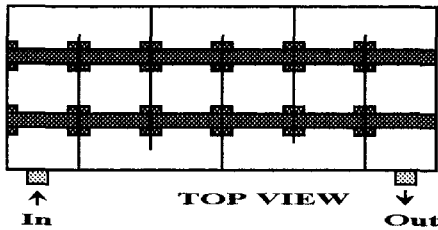
그림 7-23. Maze tank system을 이용한 type VI의 흡착 kinetics (아연)

라. 적용 방법 IV

1) 현장 적용

그림 7- 24는 느타리버섯 폐배지와 다시마를 8:2 비율로 혼합한 후 카트리지에 충전시킨 후 maze tank의 각 단에 맞춰 넣었다. 유입수의 유량은 상단의 경우 초기에 780ml/min, 하단은 540ml/min로 운전하였다. 2시간 후 상단과 하단의 유속을 각각 230ml/min와 780ml/min로 하였다. 다시마의 경우 이미 증금속에 대한 흡착력이 우수함이 알려져 있기 때문에 제거 효율과 장시간 운전할 목적으로 흡착효과가 좋은 느타리버섯 폐배지와 혼합하여 광미 침출수를 처리해 보았다. TypeVII에서도 마찬가지로 각 단별의 아연에 대한 흡착 kinetics만을 보았다.

\* Type. VII



■ 느타리버섯 폐배지 + 다시마 (8:2)

그림 7-24. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

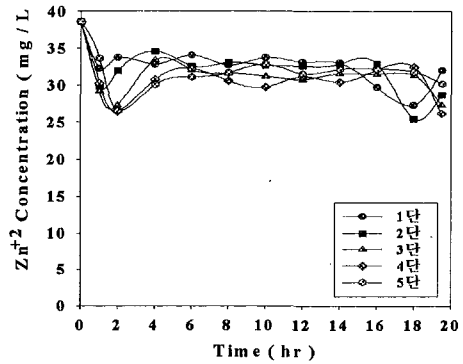


그림 7-25. Maze tank system을 이용한 type VIII의 흡착 kinetics. (아연)

2) 현장 적용 결과

그림 7- 25는 느타리버섯 폐배지와 다시마를 혼합한 것을 카트리지에 충전시킨 후 maze tank에 끼워 놓고 광미 침출수를 처리한 결과이다. 이 결과를 보면 느타리버섯 폐배지를 이용한 것과 유사한 결과를 보였다. 최종 방류수(5단)를 채취하여 아연에 대한 흡착 제거되는 경향을 보여주었지만 방류수 기준에 7시간 정도 견딜 수 있음을 확인할 수 있었다.

마. 적용 방법 V

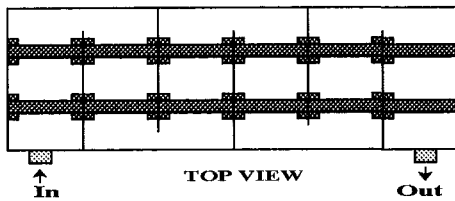
1) 현장 적용

그림 7- 26은 산림부식질을 카트리지에 충전시킨 후 maze tank에 끼워 놓고 광미 침출수를 처리한 결과이다. 산림부식질의 경우 증금속에 대한 흡착효과가 좋다는 점을 이용하여 현장에서 증금속 흡착제로써 활용해 보았다. 시료는 각 단별로 채취하여 아연에 대한 흡착 kinetics를 알아 보았다. 유입구로 유입되는 유속은 초기에 480ml/min, 1300ml/min, 480ml/min, 1830ml/min로 변화되었다.

② 현장 적용 결과

그림 7- 27은 혼합한 것을 카트리지에 충전시킨 후 maze tank에 끼워 놓고 광미 침출수를 처리한 결과이다. 실험실내에서 인공폐수에 적용한 결과는 좋아지만 현장에서 maze tank system을 이용하여 광미 침출수를 처리한 결과에서는 흡착효과를 볼 수 없었다. 이것은 자주 변화된 유량의 영향이 있을 것이라 예측되어지며 또한 앞의 결과들과 마찬가지로 최대흡착량이 작아 저농도에서는 효과적이지만 고농도의 실패수에서는 빠른 시간내에 포화상태에 이르는 것으로 보여진다.

\* Type. VIII



부식질

그림 7-26. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

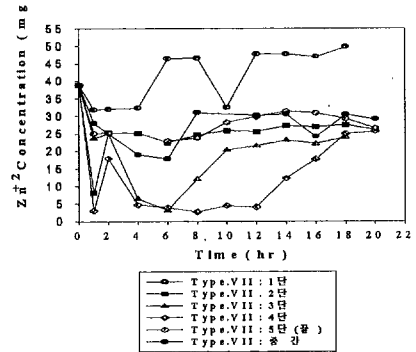


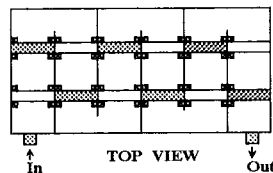
그림 7-27. Maze tank system을 이용한 type VII 흡착 kinetics (아연)

바. 적용 방법 VI

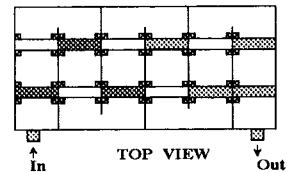
1) 현장 적용

그림 7- 28은 type IX와 X의 방법으로 광미 침출수를 처리해 보았다. Type IX에서는 소나무 수피+다시마를 3:1로 혼합한 것과 소나무 수피+다시마+활성탄을 1:1:1로 혼합된 것을 카트리지에 충전시킨 후 480ml/ℓ의 유속으로 maze tank내로 유입되는 광미 침출수의 아연에 대한 흡착효과를 알아 보았다. Type X에서는 type IX에서 사용했던 소나무 수피, 새로운 소나무 수피 그리고 소나무 수피+활성탄을 1:1로 혼합한 것을 카트리지에 충전시켜 처리된 광미 침출수의 아연

\* Type. IX, X



소나무 수피+다시마 (3:1)  
 소나무 수피+다시마+활성탄 (1:1:1)



Type. VI에서  
 소나무 수피 재이용  
 소나무 수피 새것 사용  
 소나무 수피+활성탄 (1:1)

그림 7-28. Maze tank system을 이용한 현장 적용 모식도

에 대한 흡착효과를 알아 보았다. 이때의 유속은 1280ml/ℓ로 하였다.

### 2) 현장 적용 결과

그림 7- 29는 type IX와 X의 maze tank에서의 아연에 대한 흡착 kinetics를 보여주고 있다. 지금까지 다른 type보다도 흡착 효율이 떨어짐을 확인할 수 있었다. 아울러 소나무 수피를 이용한 경우 모두 흡착 제거가 좋지 않음을 재확인되었다. 앞서 언급한 바와 같이 소나무 수피는 중금속에 대한 최대흡착량이 작고 실패수에 존재하는 다른 이온들간의 경쟁이 있어 그림 7- 29와 같은 결과를 나타낸다고 예측된다.

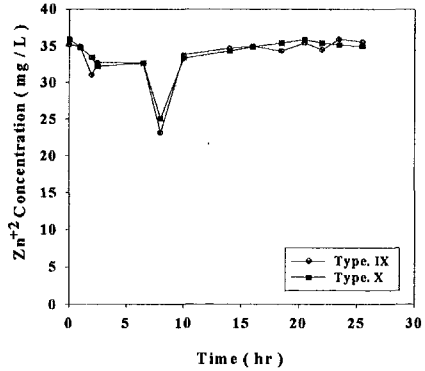


그림 7-29. Maze tank system을 이용한 type IX와 X흡착 kinetics(아연)

## 제 3 절 버섯균을 이용한 중금속 제거

### 제 1 항 시루뻨버섯(*Inonotus cuticularis*) alginate bead를 이용한 크롬제거

1. 실험실내 airlift reactor에서의 alginate bead 고정화 시루뻨버섯을 이용한 6가 크롬의 제거

그림 7- 30은 airlift reactor에서의 alginate bead 고정화 시루뻨버섯을 이용한 6가 크롬의 제거 kinetics를 보여주고 있다. 초기농도 4.5ppm의 크롬용액 23ℓ를 alginate bead 1100g을 airlift reactor에서 반응시킨 결과 100시간 이후부터 95%이상의 제거율을 보여주었다. 비록 저농도의 인공폐수였지만 실패수 적용을 하는데 있어서 가능성을 보였다.

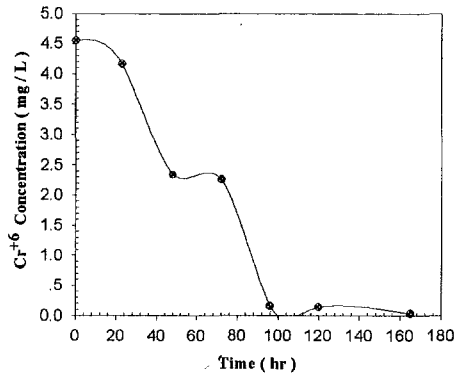


그림 7-30. Airlift reactor에서의 alginate bead로 고정화하였을 때 크롬제거 kinetics

2. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead 고정화 시루뻨버섯 이용 실패수 적용

실험실내에서 지금까지 alginate bead 고정화 시루뻨 버섯을 이용하여 6가 크롬에 대한 kinetics 을 알아보았다. 이를 토대로하여 인천 소재 남동공단 도금조합의 폐수에 함유되어 있는 크롬과 반응시켰다. 도금조합의 폐수를 분석한 결과 그림 7- 31에서와 같이 크롬이 약

450ppm의 고농도 로 함유되어 있었다.

그 밖에도 구리, 니켈, 아연 등이 상당량 함유하고 있었다. 따라서 6가 크롬에 저항성을 가지고 있어 제거능을 가지는 시루뻨버섯을 효율적으로 제거하기 위하여 alginate bead로 고정화한 시루뻨 버섯을 실험실내에서 23ℓ의 airlift reactor상에서 도금 조합 폐수를 처리 하였다. 그림 7- 32는 alginate bead로 고정화한 시루뻨버섯에

의한 제거 kinetics를 보여 주고 있다. 10ppm이하의 카드뮴, 납의 경우 99.9%의 제거율을 보였고, 크롬의 경우 약 80.1%의 제거율을 보여주었다. 그 밖의 구리, 철, 아연은 각각 61.42%, 58.11%, 33.2%의 제거율을 보여 주므로써 전반적으로 크롬이외에도 제거능을 가지고 있음을 알 수 있었다. 그림 7- 33에서는 시간에 따른 BOD의 변화를 알아 보았다. 비록 중금속을 제거하더라도 바로 방류시킬 수 있는가를 알아보기 위한 것으로 BOD의 경우 방류수 기준을 80ppm이라고 할 때 기준치보다 6배 가량 높은 것으로 나타났다. 따라서 시루뻨버섯을 이용하여 도금공장의 폐수를 처리하기 위해서는 BOD를 감안한 처리 시스템이 필요함을 보였다.

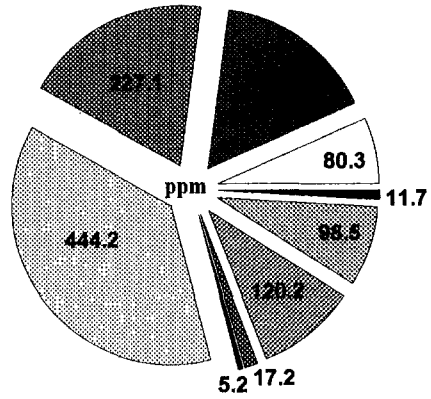
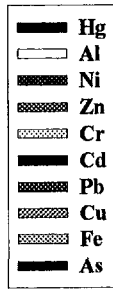


그림 7-31. 인천남동공단 도금조합의 중금속 분포도

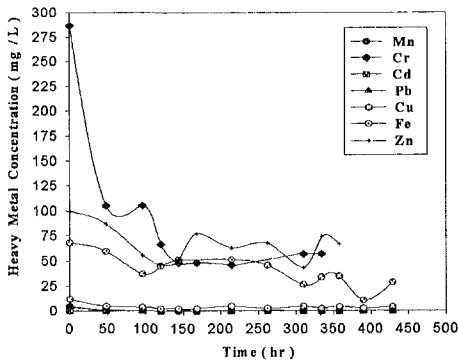


그림 7-32. 시루뻨버섯 alginate 고정화 bead를 이용한 크롬 제거 kinetics

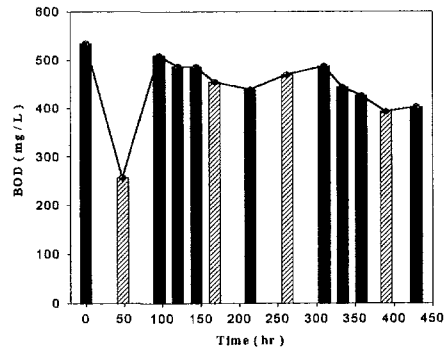


그림 7-33. 시루뻨버섯 alginate 고정화 bead를 이용한 크롬 제거 kinetics에서의 BOD 변화 (인천남동공단 도금조합)

제 2 항 부후개떡버섯(*Tyromyces palustris*) alginate bead를 이용한 구리 제거

1. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead 고정화 부후개떡버섯을 이용한 카드뮴 제거  
 그림 7- 34는 750g의 alginate bead를 3.7ppm의 카드뮴 용액 23 l와 접촉시켰을 때의 제  
 거 kinetics를 나타내고 있다.  
 방류수 허용기준이 0.1ppm이라  
 면 거의 400시간 운전했을 때  
 약 95%의 제거율을 보였다. 실  
 제 이러한 결과는 실패수 적용  
 가능성을 보여 주었다.

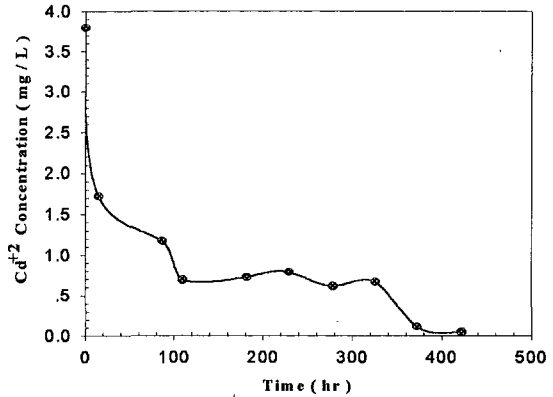


그림 7-34. 부후개떡버섯 alginate 고정화 bead  
 를 이용한 크롬 제거 kinetics

2. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead고정화 부후개떡버섯을 이용한 실패수 적용 I.  
 (성남 주양전자 전자회로기판 공장폐수)

그림 7- 35는 성남 소재 주양전  
 자의 전자회로기판 공장폐수를 분  
 석한 결과이다. 분석결과에 의하  
 면 구리와 망간이 주요 함유 중금  
 속으로 나타났다. 이를 구리와 카  
 드뮴에 대한 제거능을 가지는 부  
 후개떡버섯을 alginate bead로 고  
 정화한 750g을 23 l의 airlift  
 reactor상에서 구리의 제거  
 kinetics를 알아보았다. 초기농도  
 78.46ppm의 구리는 그림 7- 36에

Hg	0.053 ppm
Al	2.137 ppm
Mn	7.776ppm
Ni	ND
Zn	10.275ppm
Cr	0.096ppm
Cd	0.076ppm
Pb	1.541ppm
Cu	78.461ppm
Fe	0.612ppm
As	0.2ppm

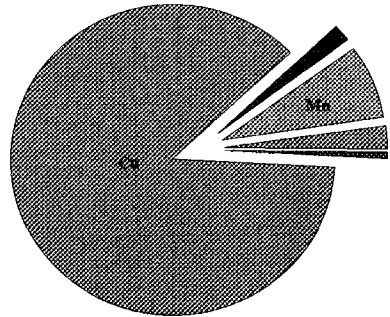


그림 7-35. 성남 소재 주양전자의 전자회로기판  
 공장폐수의 중금속 분포도

서 보는 것과 같이 100시간(3~4일)내에 99.64%의 제거율을 보였다. 이와같은 결과는 방류  
 수 기준인 3ppm이하라는 조건을 충분히 만족시킬 만한 것이지만 주양전자의 하루 발생되는  
 폐수량이 180톤이라는 점을 감안한다면 제거되어지는 시간이 길다는 것이 단점이다. 하지만  
 화학물질에 의한 2차적 수질오염이 없는 친환경적인 폐수정화방법이라는 점과 화학반응 한  
 계이하의 농도도 처리 가능하다는 점 외에도 폐수처리의 경비가 화학처리를 할 경우 약품비  
 용만 4,000원/톤인 반면에 버섯처리로 처리할 경우 버섯 alginate bead의 생산비용이 1,000  
 원/톤에 불과하다는 이점을 생각할 때 상당한 처리 효과가 기대되어진다.

3. 실험실내 airlift reactor에서 alginate bead 고정화 부후개떡버섯 이용 실패수 적용  
 II. (화성군 삼보광산 광미 침출수)

그림 7-37은 alginate bead 고정화 부후개떡버섯 1100g을 이용하여 폐광 침출수와 접촉시켰을 때의 제거 kinetics을 나타내고 있다. 삼보광산의 광미 침출

수의 경우 주요 중금속이 아연, 망간, 구리, 크롬의 순으로 다량 존재함이 확인된바 있다. 하지만 부후개떡버섯의 경우 지금까지는 구리와 카드뮴에 대한 제어능이 있는 것으로 밝혀졌다. 그림 7-37의 결과를 보면 아연에 대한 제거효과가 98%에 달함을 알 수 있었다. 그림 7-38에서는 균처리 이후 변화된 BOD를 조사한 것이다. 앞서 다른 BOD 분석 결과와 비교해

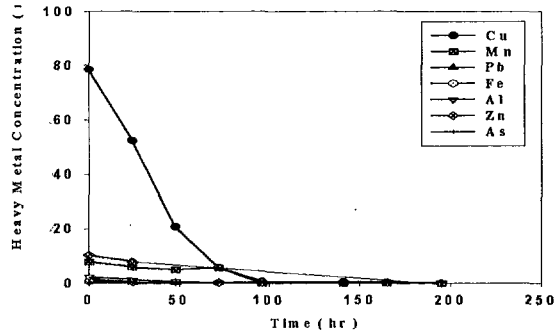


그림 7-36. 부후개떡버섯 alginate 고정화 bead를 이용한 중금속 제거 kinetics

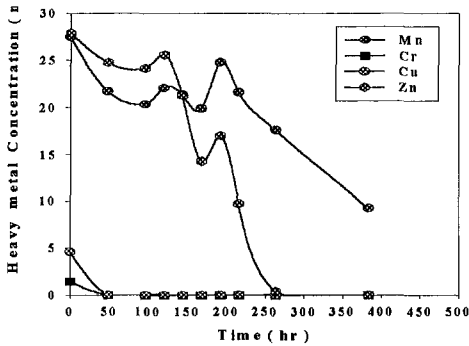


그림 7-37. 부후개떡버섯 alginate 고정화 bead를 이용한 중금속 제거 kinetics

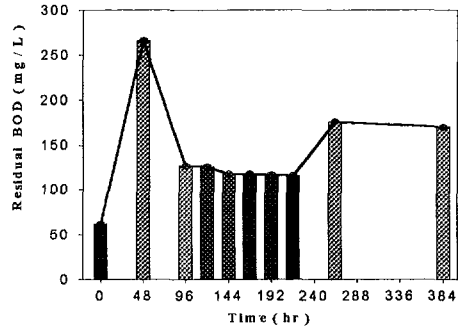


그림 7-38. 부후개떡버섯 alginate 고정화 bead를 이용한 중금속 제거 kinetics에서의 BOD변화 (삼보광산 광미 침출수)

본다면 조금 낮은 농도이지만 전체 시료의 평균적 BOD가 120~140ppm으로 방류수 기준치인 80ppm보다 50~60ppm이 더 높은 것으로 나타났다. 역시 이 결과에서도 중금속을 제거한 후 BOD를 제거할 수 있는 별도의 처리가 필요함을 확인되었다.

4. 부후개떡버섯 톱밥 고정화 균주를 이용한 구리 및 카드뮴에 대한 흡착등온선

톱밥에 고정화된 부후개떡버섯이 특정의 중금속에 대해 어느정도의 흡착능력을 가지고 있는가를 확인하였다. 흡착등온선은 stirred reactor에서 여러 초기농도의 카드뮴 용액 10 ml에 0.2g의 톱밥 고정화된 부후개떡버섯을 첨가하여 120시간 진탕배양한 후 잔존 카드뮴의 농도를 AAS(Atpmic Absorption Spectrophotometer)를 이용하여 분석하였다. 그림 7-39는



톱밥 고정화된 부후개떡버섯의 27°C에서의 흡착 등온식을 나타내고 있다. 이 흡착등온선에 의하면 톱밥 고정화된 부후개떡버섯의 카드뮴에 대한 흡착은 Langmuir형식의 흡착 등온식으로 나타낼수 있고 최대 흡착량이 약 20~25mg/g임을 확인할 수 있었다. 마찬가지로 그림 7-40의 경우도 동일한 방법으로 27°C에서의 구리에 대한 흡착등온선을 나타낸 것이다. 이때 구리에 대한 흡착은 Langmuir형식의 흡착 등온식으로 나타났고 최대 흡착량은 약 20mg./g임을 보였다.

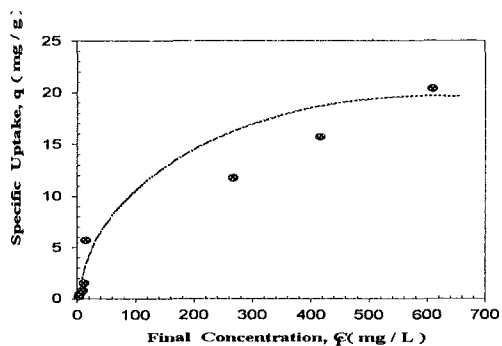


그림 7-39. 구리 흡착등온선 ( pH 4.5 )

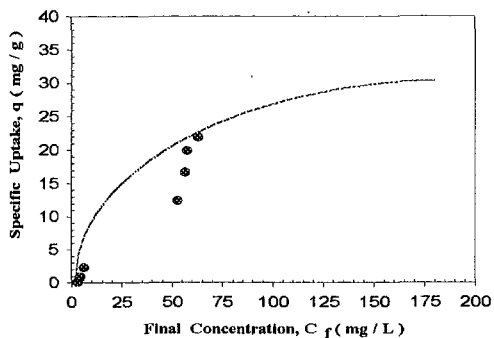
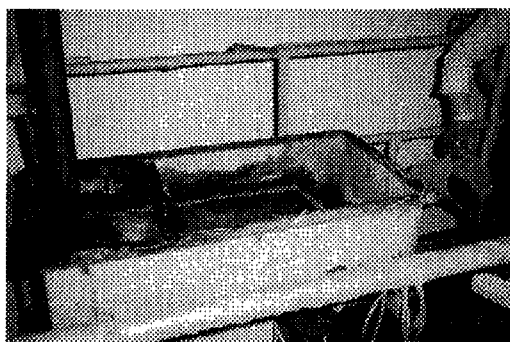


그림 7-40. 카드뮴 흡착등온선 ( pH 5.5 )



전자회로기관 공장폐수(구리) 배출모습



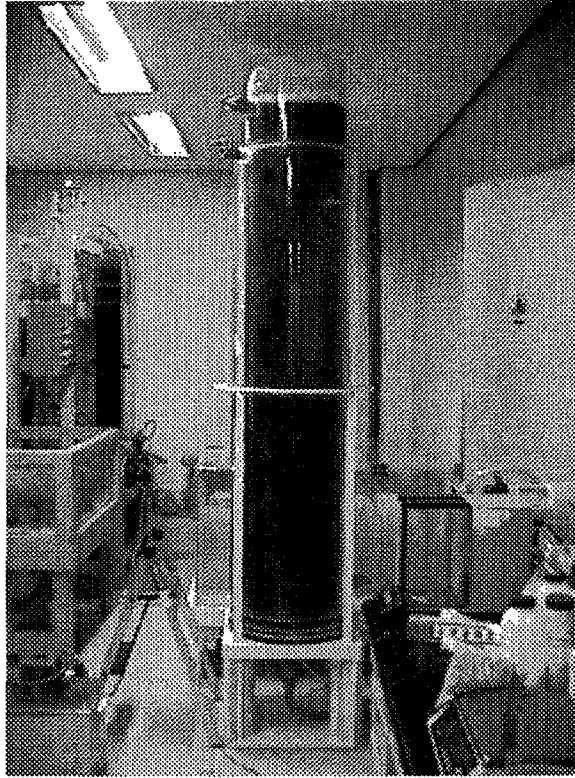
공장폐수의 화학처리 모습



부후개떡버섯균에 100시간 처리폐수



버섯균 배양모습(집중 30일 후)



버섯균에 의한 폐수정화 공정

## 제 8 장 결 론

산림자원이 갖고 있는 환경에 대한 자정 정화능력을 찾아내어 그 능력을 극대화시키기 위한 기술로 발전시키고, 이를 바이오테크 자원으로 상품화시키며 나아가 환경정화 능력을 시스템화하여 중금속류 및 난분해성 물질로 인한 수질오염을 최소화시키기 위한 연구가 농림부 첨단연구기술개발과제로 1995년 12월 부터 강원대, 충북대, 고려대와 공동으로 3년간 추진되었다.

세부연구내용은 중금속 및 난분해성 물질 제거를 위한 균주 개발로, 환경유해물질로 지정된 크롬, 비소, 구리 및 카드뮴을 제거할 수 있는 버섯균주를 개발하였으며, 난분해성 물질로 펄프 표백과정에서 발생하는 트리클로르구아이아콜(TCG)과 맹독성 농약 등에 많이 사용되었던 펜타클로르페놀(PCP)을 분해하는 버섯균주를 개발하여 특허출원하였다.

유해중금속 6가크롬 제거 균주로 개발된 시루뻨버섯은 크롬 농도 2,000mg/L의 60%정도의 제거가 가능하며, 6가크롬을 안전한 화합물인 3가크롬으로 환원시키는 작용을 함을 밝혔다. 이러한 작용기작과 시루뻨버섯에 의한 6가크롬의 제거방법을 특허출원(제98-29157호)하였다. 또한 동 균주는 무기태상의 비소를 유기태상의 메틸화된 비소로 변환시켰으며, 그 제거능은 비소 500mg/L의 100%에 이른다.

부후개떡버섯은 카드뮴을 균사체내에 흡착시키는 특이적인 균주로 카드뮴 200mg/L의 70% 이상의 제거능을 갖고 있다. 이러한 특성을 이용하여 카드뮴 폐수의 제거방법을 특허출원(제98-39518호)하였다. 또 동 균주는 균대사물질로 수산(oxalic acid)을 분비하며, 수산과 구리가 반응하여 구리착염체를 형성한다. 배양액중에 구리의 제거능은 2,000mg/L의 98%이상이었다. 이러한 특성과 구리폐수의 제거방법에 관해 특허출원(제98-29156호)하였다.

PCP의 분해균주로 판막버섯을 개발하였으며, 500mg/L이하 농도의 PCP는 분해가 가능함을 확인하였다. 이 균주는 PCP와 접촉한 초기상태에서 6~10%를 균체의 물리적인 작용에 의해 흡착하였으며, 이후 균생육에 PCP를 이용하였고, 배양 21일 이후에는 100%가 제거되어 짐을 확인하였다. (특허출원 제98-39517호) 펄프표백 과정에서 발생하는 유기염소화합물 트리클로르구아이아콜(TCG)의 분해균주로 구름버섯을 개발하였으며, 이 균이 분비하는 균체의 효소 laccase의 작용에 의해 TCG 100mg/L의 90%이상 제거되었다. (특허출원 제98-29158호) 그 외 유기폐수중 난분해성 물질인 PCP와 TCP(트리클로르페놀)의 제거 균주로 CB-20과 *Rhizoctonia praticolor*를 선발하였으며, PCP의 물질제거율은 87%, TCP의 물질제거율은 70%이었으며, 펄프 폐액의 탈색율은 70%였다.

중금속 함유 폐수의 흡착재료로 은행나무 낙엽을 이용하여 6가크롬을 흡착시키는 기술을 개발하였으며, 특허출원(제98-54824호)하였다. 최대 흡착능은 낙엽 1g당 6가크롬 30mg의 흡착이 가능하며, 알긴산나트륨1%와 은행나무 낙엽 10mg/L를 Airlift반응기에서 450분간 접촉하였을 때 6가크롬 94%가 제거되었다. 또한 낙엽송 낙엽은 카드뮴을 흡착하며, 낙엽 1g당 카드뮴 45mg의 흡착 제거가 가능하였다.

느타리버섯 폐배지는 카드뮴을 흡착하는 특이적인 성질을 갖고 있으며, 최대 흡착능은 폐

배지 1g 당 카드뮴 45mg의 제거가 가능하였다. 따라서 폐배지 40g으로 50mg/L 카드뮴 폐수 10ℓ를 안정적으로 처리할 수 있다. 또한 느타리버섯 폐면배지도 카드뮴 흡착력이 우수하며, 최대 흡착능은 배지 1g 당 카드뮴 17.5mg의 흡착이 가능하였다. 즉, 폐면배지 9g으로 카드뮴 40mg/L 200ml를 4회까지 안정적으로 처리할 수 있었다.

소나무 수피는 구리, 아연 및 납을 흡착하는 성질을 갖고 있으며, 최대 흡착능은 구리 50mg/g, 아연 41mg/g, 납 45mg/g이었다. 여기에 경금속인 칼슘과 마그네슘을 첨가하였을 때 중금속의 흡착능이 증가하며, 구리와 카드뮴은 약20%, 아연은 10%, 납은 95%이상 흡착이 증가되었다. 또 소나무 수피의 인산화 처리로 구리 및 아연 이온의 80%정도가 흡착 증가되었다.

한편 소나무 수피를 900℃로 활성화 처리하였을 때 카드뮴 및 구리의 흡착이 매우 우수하였으므로 수피의 활성화 방법 및 이를 이용한 중금속 흡착재의 개발을 특허출원중에 있다. 최대 흡착능은 카드뮴 및 구리 150mg/L의 100%제거가 가능하다. 여기에 황을 첨가하면 구리 흡착능이 100%이상 증가하였다. 동 기술은 중금속에 대한 고도의 흡착능을 갖고 있으므로 고순도 정수필터로 활용 가능할 것으로 판단된다.

지금까지 개발된 기술을 현장실연을 통한 중금속 제거 실연실험을 실시하였다. 우선 폐광산 중금속 제거 실연으로 화성군 봉담면 소재의 삼보광산 광미 침출수를 Maze tank system 반응기로 침출수중의 아연을 제거하였다. Maze tank system은 상기에서 중금속 제거제로 성능이 우수하다고 도출된 폐배지, 수피, 낙엽 및 활성화탄 등의 제거재료를 탈착식 카트리지를 이용하여 채우고, 폐액이 카트리지를 통과하도록 하였다. 제거능은 폐수중 40ppm 아연을 24시간동안 청정지역 방류기준(아연의 청정지역 방류기준 : 5mg/L)이하로 제거가능하였다. 이 반응기의 특징은 폐광산 등과 같이 전기의 공급이 차단된 곳에 무동력으로 작동할 수 있다는 점이며, 반응기의 용량 조절은 논과 같은 곳을 tank로 이용시 효율의 극대화를 기할 수 있다. 또 낙엽, 수피, 폐배지 등과 같은 임산 폐자원을 유효하게 이용할 수 있다. 그러나 중금속 흡착이온의 폐슬러지가 대량 생산된다는 문제점이 있으며, 이를 소각하면 중금속이온의 탈착은 가능할 것으로 판단되지만 이에 대한 환경오염 영향 평가가 필요할 것으로 판단된다. 또 방류 폐수중 BOD의 증가가 문제될 수 있으나, 폐수의 흐름을 길게하여 산소와 접촉할 수 있는 시간을 많게 하여 줌으로 이러한 문제점도 해결할 수 있을 것으로 판단된다.

산업폐수의 중금속 제거 실연시험으로 인천 남동공단 도금조합의 도금공장 폐수를 적용하였다. 적용 반응기는 airlift reactor이며, 150시간 접촉시켰다. 제거물질로 시루벤버섯 bead를 이용하였으며, 제거 중금속은 크롬444mg/L를 함유한 폐수를 크롬 농도 50mg/L로 줄일 수 있었다. 또 카드뮴 5.2mg/L를 0mg/L로, 납 17.2mg/L를 0mg/L으로 제거할 수 있었다. 현재 도금공장 폐수중 중금속제거에 사용되는 화학처리 비용은 14,000원/톤 정도이며, 이를 버섯bead로 처리하였을 때 처리비용은 10,400원/톤 정도로 약 25%정도 비용을 절감시킬 수 있다고 판명 되었다.

또 전자회로기판 제조 공장의 폐수를 Airlift reactor에서 부후개떡버섯 bead와 부후개떡버섯 고정화 톱밥으로 100시간 접촉반응을 시켰을 때, 중금속은 구리 농도 78mg/L가

0.5mg/L로, 망간 7.7mg/L가 0mg/L, 알루미늄 2.1mg/L가 0mg/L로 제거되었다. 기존 화학처리 비용은 4,000원/톤이었으나, 고정화 톱밥 균주비용은 1,000원/톤 정도로 기존의 처리비용을 3배이상 절감시킬 수 있었다. 이러한 산업폐수를 처리하였을 때의 특징은 화학반응한계점 이하의 중금속도 제거가 가능하며, 처리 후 화학물질로 인한 2차적인 수질오염이 없다는 점이다. 그러나 접촉반응시간이 100시간이상 소요되므로 반응시설이 차지하는 부지면적이 화학처리시 보다 2배이상 넓어야한다는 점과 중금속이온 흡착 슬러지가 많이 발생한다는 문제점이 있다. 따라서 금후 본 과제가 해결해야 할 문제점은 기 개발된 연속운전식 반응시스템(Bubble column)의 Pilot scale화 연구와 중금속 이온흡착 슬러지의 안전처리 및 재이용에 관한 연구 및 기업기술화를 위한 적용시험 등이 있다. 참고로, 1997년도 환경연감에 의하면 국내 유독물 총 유통량은 15백만톤/년이며, 폐수방류량은 2.5백만<sup>3</sup>/일, 폐수발생량은 8.9백만<sup>3</sup>/일이다.

지금까지의 연구결과에 대한 활용방안은 전자회로기판제조 공장폐수, 도금공장 폐수, 염색공장의염료·안료폐수, 펄프폐액, 광산 폐수중의 중금속제거에 버섯균 이용 기술을 규모를 확대한 파일럿스케일의 검정이 필요하며, 이후 기업기술로 이전하려고 한다. 또 버섯균을 알긴산 비드화시킨 기술은 파일럿스케일화된 반응기의 중금속 제거제로 활용할 수 있으므로 이를 바이오테크 상품화로 활용하기 위해 특허출원 및 바이오테크 실연화를 도모하고자 한다. 그 외에 활성화 수피를 고순도의 중금속제거 필터로 활용하기 위하여 특허출원 및 상품화 실연을 도모하고, 낙엽, 수피, 느타리버섯 폐배지를 이용한 중금속 제거 기술을 특허출원하고, 기업기술로 이전하고자 한다. 또 현재 개발된 airlift반응기는 배치식이므로 이를 연속적으로 배출되는 폐수에 적용하기 위하여 Bubble column 이용 연속식 airlift 반응기에서 실연하고, 담체 재활용 기술을 기업기술로 이전하고자 한다.

# 부 록

## 1. 발표논문

여 백

# '96 學術發表論文集

1996 PROCEEDINGS OF THE KOREAN SOCIETY OF  
WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ANNUAL MEETING

1996年 4月 26日(金)~27日(土)  
( 林業研究院 )

韓國木材工學會



여 백

## 나. 임산화학분야

1. 수목 抽出物의 生理活性에 관한 研究 -- 이학주, 이성숙, 김중섭, 최돈하, 권병목, 복성해 --- 124
2. 해당화 근부의 추출성분(제1보) ----- 문성필, 전기엽 --- 130
3. 현사시나무(Populus albaglandulosa)의 후라보노이드 二量體 ----- 감연호, 배영수 --- 135
4. 잣나무, 낙엽송 및 아피통材의 推出成分이 塗膜硬化 및 塗膜性能에  
미치는영향 ----- 김종인 --- 137
5. 수피에 의한 중금속 흡착 메카니즘 ----- 백기현, 최인규, 박재순 --- 145
6. 수피조성분에 의한 중금속 흡착 ----- 백기현, 최인규, 신 금 --- 150
7. 페 소나무 수피의 유효 이용(제5보) ----- 문성필, 박성천 --- 156
8. 수용성 아크릴 수지의 자외선 흡수제와 HALS 첨가가 일본잎갈나무의  
변색에 미치는 영향 ----- 강경택, 이필우 --- 161
9. 전통한지의 물성학적 특성 평가 분석 ----- 김용삼, 전 철 --- 171
10. 한지벽지 개발 및 특성 ----- 윤승락, 조현진, 박상범, 김효주, 김문희, 김재경, 김사익 --- 177
11. 알칼리 반응성 증점제가 도공액의 보수성에 미치는 영향 ----- 이용규, 김영환 --- 184
12. Oxaloacetase와 초기 목질 분해 ----- 손동원, 이동훈, 오정수 --- 190
13. Pleurotus cornucopiae를 이용한 펄프·제지 공장 폐수 처리에  
관한 연구 ----- 임현아, 강진하 --- 195
14. 개나리 켈루스 리그난의 特性에 關한 研究 ----- 최돈하, 五十幡 俊成, 梅澤 俊明  
黑田 宏之, 島田 幹夫 ----- 201
15. 폐목질 원료를 이용한 느타리버섯 재배 ----- 이종신, 이화형 --- 210
16. FRI 2062 菌株의 크롬 및 비소制御를 위한 톱밥擔體의 이용 가능성 ----- 이동훈 --- 212
17. 94개월 경과 방부처리제의 야외 내후성 평가 ----- 강창호, 이동훈 --- 220
18. 木材學, 林産學 및 製紙學 관련 국제학술잡지의 Rank ----- 김윤수 --- 226

# 수피에 의한 중금속 흡착 메카니즘

백지현\*, 최인규\*, 박태환\*\*

고려대학교 신림자연과학관, \*원문대학교 원문자연과학관, \*\*

## 1. 서론

수피에 의한 중금속 흡착메카니즘은 다양한 이론들로 설명되고 있다. Randall(1974) 등은 수피의 중금속 흡착 메카니즘을 수피의 주성분인 탄닌화합물에 함유된 페놀기의 수산기가 2개의 H<sup>+</sup>를 방출하고 그 위치에 2가의 금속에 이온교환 방법으로 결합한다고 추정하였다. 또한 Kumar와 Dara(1981)도 중금속 흡착은 수피의 물질과 중금속간에 착염이 형성되어 중금속이 수피에 흡착된다고 발표하였다.

Takahashi와 Arika(1987)는 quercetin을 레이온 섬유에 고정시킨 담체에 우라늄(U)을 흡착시켜 실험한 결과 quercetin의 =O기 혹은 -OH기에 U이 킬레팅(chelating)한다는 것을 IR실험에서 흡수대 890cm<sup>-1</sup>에서 O=U=O 결합의 stretching 진동을 통하여 확인하였다. 이러한 결과는 galocatechin을 aminopolystyrene에 고정화시킨 담체에서도 증명되었다(Arika와 Takahashi, 1990).

이상의 화학적인 결합과는 다르게 Freer(1989) 등은 타닌레진에 Pb<sup>2+</sup>를 흡착시켜 전자 현미경으로 그 레진을 관찰한 바 상당량의 Pb<sup>2+</sup>가 레진의 표면 구멍 사이에 흡착되었다는 사실을 발견했으며, Yamaguchi(1992) 등도 타닌레진에 Cu<sup>2+</sup>를 흡착시키고 전자현미경으로 관찰한 바, 중금속 흡착은 화학적인 결합보다는 물리적인 흡착에 좌우된다고 보고하였다. 현재까지는 중금속 흡착의 정확한 메카니즘이 정립되어 있지 않다.

그러므로 본 연구는 수피에 의한 중금속 흡착메카니즘을 구명하는데 일익을 하고자 시도되었다.

## 1. 서론

깨끗한 목질 자원인 수피를 이용하여 폐·하수중의 중금속을 제거함으로써 토양 및 하천의 오염 물질을 제거하고 이와 아울러 산림생물자원을 환경재로서의 이용을 증가시키는 매우 중요하다고 본다.

수피에 의한 중금속흡착은 이미 70년대 중엽부터 시도되어 왔다. 특히 담체의 종류, 중금속종류, 흡착인자 및 방법에 따른 중금속제거 효율에 관한 연구가 주종을 이루고 있다(Kumar and Dara 1981, Kumar and Dara 1982, Randall et al. 1974a). 그러나 중금속 흡착메카니즘에 관한 연구는 빈약한 편이다(Randall et al. 1974b, Randall 1977, Young et al. 1975). 일반적으로 수피에 의한 중금속 흡착은 수피에 함유된 탄닌, 후라보노이드류 및 리그닌 같은 조성분에 함유된 多價수산기에 의해 일어난다고 추측되고 있다(Arika and Takashi 1990, Yamaguchi et al. 1992)

그러므로 본 연구에서는 흡착메카니즘 구명의 일환으로서 수피에 함유된 추출물 그리고 각 조성분, 및 리그닌에 의한 중금속흡착을 조사하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

공시재료로는 소나무(*Pinus densiflora*), 상수리나무(*Quercus acutissima*)의 수피리그닌, 온수 추출물,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  추출물 및 6종의 후라보노이드(flavonoid)류가 이용되었다. 채취된 수피를 약  $50^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 마쇄한 후 40-60mesh로 선별하여 리그닌과 추출물을 생산하기 전까지 밀봉 보관하며 사용하였다.

여 백

1996년도

추계학술발표대회 및 국제심포지움  
논문집

- 환경생명공학 -

일 시 : 1996년 10월 26일(토)

장 소 : 부산대학교 대학교본부동



사단 한국산업미생물학회

여 백

- P-168 Properties of electrofusant between *Lactobacillus acidophilus* 88 and *Lactobacillus* sp. J-C7  
Hyun-Jung Choi, Hyung-Suk Baik and Hong-Ki Jun (Dept. of Microbiology, Pusan Nat'l Univ.)
- P-169 Overexpression of glucose oxidase in *Saccharomyces cerevisiae* .....  
 ..... Sung-Yong Hong, Hee-Kyung Choi, Young-Ho Lee, Un-Hwa Pek and Joon-Ki Jung\*  
 (Doosan Training and Technical Center, \*Biopilot Plant, Korea Research Institute of Biosci. and Biotech.)
- P-170 Sequencing analysis of the plasmid from *Bifidobacterium longum* KJ .....  
 ..... Myeong-Soo Park, Dong-Woo Shin, Ke-Ho Lee and Geun-Eog Ji\*  
 (Dept. of Food Sci. and Tech., Seoul Nat'l Univ., \*Dept of Food Sci. and Nutrition, Hallym Univ.)
- P-171 Effect of promotor on the over-expression of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 insecticidal protein gene .....  
 ..... Sung Hei Hwang and Hyung-Hoan Lee (Dept. of Biology, Konkuk Univ.)

● 환경 및 생태학

- P-172 백색 부패 곰팡이에 의한 방향족 탄화수소의 분해 및 Lignin peroxidase의 영향 .....  
 ..... 김미선 · 이진석 · 이인구 · 박순철 · 둔광웅 (한국에너지기술연구소, 바이오매스 연구팀)
- P-173 *Penicillium* sp.를 이용한 잡초의 생물학적 방제 .....  
 ..... 김관경 · 박동진 · 최정섭<sup>1</sup> · 황인택<sup>1</sup> · 홍경식<sup>1</sup> · 김창진 (KIST 생명공학연구소, <sup>1</sup>화학연구소)
- P-174 Studies on disposal of household garbage using effective microorganisms .....  
 ..... Hyo-Joung Seol, Jong-Goo Kim, Hong-Joo Son, Jong-Kun Lee and Sang Joon Lee  
 (Dept. of Microbiology, Natural Sci. College, Pusan Nat'l Univ.)
- P-175 Degradation of crude oil by biosurfactant producing *Pseudomonas* sp. ....  
 ..... Wan-Su Suk, Sun-Hee Goo, Geun-Tae Park, Kun Lee, Jong-Kun Lee  
 ..... and Sang Joon Lee (Dept. of Microbiology, Natural Sci. College, Pusan Nat'l Univ.)
- P-176 철 환원균에 의한 고령토내의 철 제거. ....  
 ..... 이은영<sup>1</sup> · 배 무<sup>1</sup> · 조경숙<sup>2</sup> · 류희옥<sup>3</sup>  
 (<sup>1</sup>이화여자대학교 생물학과, <sup>2</sup>환경공학과, <sup>3</sup>숭실대학교 화학공학과)
- P-177 폐당밀을 에너지원으로 이용한 염료와 폐당밀의 동시 탈색 .....  
 ..... 김성준 · 正田誠 (동경공업대학 자원화학연구소)
- P-178 등길성 고분자 생성 미생물의 선발 .....  
 ..... 윤상홍 · 송재경 · 고승주 · 류진창 (농업과학기술원 분자유전과)
- P-179 *Penicillium janthinellum*에 의한 염료의 흡착 제거 특성 .....  
 ..... 이재혁 · 전역한 (경희대학교 식품가공학과)
- P-180 *Corynebacterium* sp. K-199가 생산하는 단백질응집체에 관한 연구 .....  
 ..... 김영준 · 최양문<sup>1</sup> · 조홍연<sup>2</sup> · 양한철  
 (고려대학교 식품공학과, <sup>1</sup>고려대학교 생물공학연구소, <sup>2</sup>고려대학교 식품생명공학과)
- P-181 YWO-5가 생산하는 돈분폐수 처리용 응집제 생산조건의 최적화 .....  
 ..... 여승재 · 최양문<sup>1</sup> · 조홍연<sup>2</sup> · 양한철  
 (고려대학교 식품공학과, <sup>1</sup>고려대학교 생물공학연구소, <sup>2</sup>고려대학교 식품생명공학과)
- P-182 중량천, 안양천에서 분리한 중금속 제거 균주의 특성 .....  
 ..... 배우철 · 장승욱 · 정병철 (명지대학교 생명과학과)
- P-183 음식물 쓰레기 퇴비화공정에 관한 연구 .....  
 ..... 홍석일 · 윤정원 · 김승옥\* (수원대학교 유전공학과, \*고려대학교 화학공학과)
- P-184 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거 및 무독화 .....  
 ..... 민용원<sup>1</sup> · 이동훈<sup>2</sup> · 이해익<sup>2</sup> · 정연호<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학부, <sup>2</sup>임업연구원 임산공학부)
- P-185 Purple non-sulfur bacteria의 light에 의한 성장 및 특성 연구 .....  
 ..... 오광근 · 이철우 · 전영중 (제일제당주식회사 종합연구소)
- P-186 Dye를 이용한 백색부후균의 리그닌분해성 비교연구 .....  
 ..... 김현수 · 오광근 · 전영중 (제일제당주식회사 종합연구소)
- P-187 미생물 발효 촉진제를 이용한 음식물 찌꺼기의 사료화 .....  
 ..... 서은희 · 이기영 · 윤은승 · 이성택\*  
 (호서대학교 식품영양학과, \*한국과학기술원 생물과학과)
- P-188 Diversity of the *Vibrio* species isolated from Korean sea-water .....  
 ..... Young-Jun Yoon, Duk-Soo Hwang, Jung-Wan Kim and Young-Hwan Ko  
 (Dept. of Biology, Univ. of Incheon, <sup>1</sup>Dept. of Food Sci. and Tech., Cheju Nat'l Univ.)



홍석일, 윤정원, \*김승욱

수원대학교 유전공학과, \*고려대학교 화학공학과

대중 음식점에서 발생하는 음식물 쓰레기 100kg을 수거하고 분쇄기를 이용하여 일정한 입자로 잘게 부순후, 대형 반응기에 투입하여 퇴비화 공정 개발을 위한 연구를 수행하였다.

음식물 쓰레기의 분해과정중 실험실에서 개발한 퇴비화 미생물 제제 투입, 교반횟수, 교반시간과 같은 조건을 다양하게 변화시켜서 각각의 퇴비화 과정동안의 미생물수, pH, C/N ratio, 수분함량 그리고 온도의 변화를 측정하여, 음식물 쓰레기의 분해 정도를 측정하였다. 36시간 주기로 교반을 하거나, 24시간 주기로 1회 2분간 교반을 시켜주면 혐기적 분해가 발생되어 지독한 악취가 발생하였고, 혐기적 분해는 급격한 pH의 증가를 보였다. 퇴비화 미생물 제제를 투입하고, 24시간 주기로 1회 3-5분 동안의 교반을 실시해준 실험구는 악취가 발생하지 않았으며 입자크기도 균일하게 형성되었다.

#### P-184 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거 및 무독화

민용원<sup>1</sup>, 이동훈<sup>2</sup>, 이해익<sup>1</sup>, 정연호<sup>1</sup><sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학부, <sup>2</sup>임업연구원 임산공학부

산화제, 금속표면처리, 방청제, 안료등으로 사용되는 6가 크롬은 호흡기 장애, 폐암, 부식성 피부염, 알레르기성 피부염 등을 일으키므로 폐수 중으로 부터 제거되어야 한다. 그러나 3가 크롬은 일반적으로 사람과 동물에 무해한 것으로 알려져 있다. 참나무류에 많이 발생하는 백색부후균을 이용하여 폐수중의 6가 크롬의 제거 및 무독화를 시도하였다. 선발된 크롬 내성 백색부후균은 유독성 6가 크롬을 생물학적 흡착에 의해 일부 제거함과 아울러 무독성의 3가 크롬으로 환원함으로써 효과적으로 폐수중의 6가 크롬을 처리할 수 있음이 밝혀졌다. 선발된 균주의 성장을 조사한 결과 온도 33°C, pH 4.2에서 최적성장을 밝혀졌다. 6가 크롬 100 ppm의 존재하에서 백색부후균에 의한 6가 크롬의 제거 및 무독화가 stirred reactor 와 air-lift reactor에서 시도되었고, 이를 통한 크롬 존재하에서의 세포성장 및 6가 크롬 제거에 대한 kinetics의 조사로 부터 백색부후균의 6가 크롬 제거 능력이 평가되었다.

## CP/MAS Carbon-13 NMR 및 FT-IR에 의한 山林腐植質의 化學的 構造<sup>1\*</sup>

崔仁圭<sup>2</sup> · 安世喜<sup>3</sup>

### Chemical Structures of Forest Humic Substances as Determined by FT-IR and CP/MAS Carbon-13 NMR Spectroscopy<sup>1\*</sup>

In-Gyu Choi<sup>2</sup> and Sye-Hee Ahn<sup>3</sup>

#### 抄 錄

국내 산림 부식질의 화학적 구조를 탐색하기 위하여 온대북부와 난대 지역에서 각각의 침엽수림, 활엽수림, 혼효림으로부터 산림부식질을 채취하여 humic acid를 추출 정제하여 FT-IR 및 CP/MAS Carbon-13 NMR spectroscopy 방법을 이용하여 분석하였다.

Humic acid의 주요한 FT-IR 피크로는 수소가 결합된 OH기, C-H의 비대칭 신축에 의한 methylene, 방향환의 C=C 이중결합과 conjugated 된 C=O, vinyl 또는 aryl 형태의 에테르 또는 다당류를 나타내었다. 그러나 FT-IR 분석에 의해서는 기후대나 임상별로 피크의 강약에 의한 작은 차이는 있었지만 큰 차이가 없었으며, 결과적으로 산림부식질은 방향환을 가지면서 OH기와 COOH기를 함유하고 포화 지방족 탄소를 다량으로 함유한 중합 물질로 판명되었다. Carbon-13 NMR 스펙트럼에서는 긴 사슬의 메틸탄소, 다당류의 glycosidic 결합을 하고 있는 anomer 탄소, 리그닌으로부터의 메톡실 탄소, 탄수화물이나 지방족 알코올, 리그닌의 syringyl 탄소, 산소가 치환된 방향족 탄소, 알킬이 치환된 방향족 탄소, 페놀성 탄소, 카르복실 탄소, 카르보닐 탄소 등의 공명을 보여주고 있다. 채취지역 구분없이 포화 알킬 탄소량이 다른 탄소량에 비하여 현저하게 높게 나타났으며, 상대적으로 활엽수림으로부터 추출된 humic acid는 많은 탄수화물을 포함하고 있으며 침엽수림의 humic acid는 긴 사슬의 methylene으로 구성된 포화 알킬 계통의 화합물을 많이 함유하고 있었다. 전체탄소에서 차지하는 humic acid 내의 방향족 탄소의 비율은 21~46%를 나타내고 있으며 온대 북부 활엽수림에서 제일 높게 나타났으며, 난대 지방의 humic acid에서 낮은 방향족 탄소량을 보였다. Carbon-13 NMR 분석 결과는 온대북부 지역의 humic acid는 상대적으로 많은 양의 카르보닐 및 카르복실을 함유한 포화 알킬 탄소와 방향족 탄소의 성질을 가지고 있으며 반대로 난대 지역의 humic acid는 탄수화물 형태의 탄소를 많이 함유한 것으로 판단된다.

<sup>1</sup> 接受 1998年 7月 27日 Received on July 27, 1998.

\* 이 논문은 농림수산부에서 시행한 농림수산물특정연구사업인 「폐목질자원 및 산림미생물을 이용한 환경정화 기술 및 시스템 개발(96~98)」과제의 연구 결과입니다.

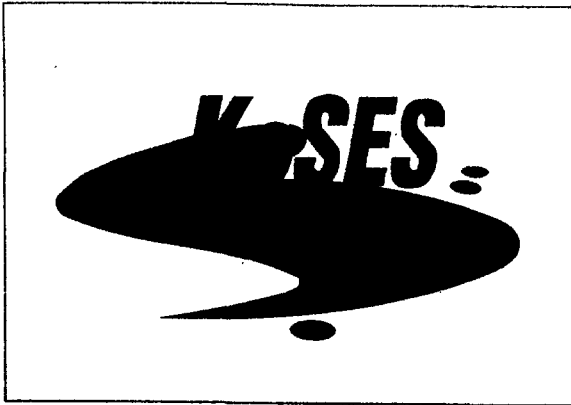
<sup>2</sup> 林業研究院 Forestry Research Institute, Seoul, Korea.

<sup>3</sup> 大邱大學校 Taegu University, Kyungsan, Korea.

여 백

— 경북지부 결성 및 1996년도 추계

# 학술발표회 논문집



- 일시 : 1996년 11월 22일 (금) 14:00
- 장소 : 포항공과대학교 정보통신연구소
- 주최 : (사) 한국토양환경학회
- 후원 : 환경부  
포항종합제철(주)  
포항공과대학교

여 백

## 2 분과 : 물리화학적 처리 II

좌장 : 이재영 (서울시립대)  
김인수 (광주과학기술원)

- p. 81~87 폐광산 지역에서 발생하는 중금속의 Chemical Fixation을 위한 토양의 물리화학적 특성실험과 Bentonite의 흡착실험  
장암, 최용수, 김인수 /  
광주과학기술원, 한국과학기술연구원
- p. 88~91 Electrokinetic 정화기술에 의한 토양내의 납성분 제거  
정하익 / 한국건설기술연구원 지반연구실
- p. 92~96 폐광산 광미로부터 알칼리 침출에 의한 As의 분리 제거  
이재령, 오종기, 이화영, 김성규, 박재구 /  
한국과학기술연구원 금속연구부, 한양대 자원·환경공학과
- p. 97~101 수피를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거  
민용원, 이해익, 정연호 / 강원대 식품생명공학부
- p. 102~105 난지도 매립지의 침출수와 가스 거동에 관한 수리지질학적 해석  
김윤영, 이강근 / 서울대 지질학과
- p. 106~109 지하수 오염 정화를 위한 PTS 공정의 모사  
김주형, 이종협 / 서울대 화학공학과
- p. 110~113 세계의 토양환경정책  
송창수 / LG건설

## 수피에 의한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거

민용원, 이해익, 정언호

강원대학교 식품생명공학부

### 요 약

산림부산물인 수피에 의한 카드뮴 이온의 선택적 흡착 현상을 이용하여 인공폐수로부터 카드뮴이온의 제거를 시도하였다. 카드뮴 이온 선택성이 우수한 소나무와 상수리 나무의 수피를 이용한 효율적인 연속식 대량 수처리 시스템의 개발을 위한 기초 실험으로 카드뮴 이온 흡착 등온선을 조사하였고, batch stirred reactor, airlift reactor, packed bed column 등 여러 접촉시스템에서의 카드뮴 이온의 제거 효율을 검토하였다. 카드뮴 흡착등온선은 두 수피 모두 Langmuir 형식으로 나타났으며 소나무 수피의 최대흡착용량은 약 7 mg/g, 상수리나무 수피의 경우에는 약 8 mg/g 정도로 나타났다. Batch stirred reactor를 이용한 시스템에서 초기농도 13 ppm의 카드뮴용액 100 ml 을 수피 10 g 과 접촉시킨 결과 30분 이내에 95% 이상 제거되는 효율성을 보여주었다. Airlift reactor를 이용한 시스템에서는 수피 30 g 을 초기농도 10 ppm 카드뮴 용액 1 liter와 접촉시킨 결과 15분 이내에 93 % 이상 제거되었으며 4 cycle 반복 운전에서도 거의 같은 성능을 유지하였고 그이상의 cycle 에서는 점점 성능이 떨어짐을 보여주었다. Packed bed column을 이용한 시스템에서는 20 g 의 수피를 충전시켰을 경우 초기농도 20 ppm에서 effluent 2.5 liter 까지는 95 % 정도의 제거효율을 보여주었다.

### 1. 서 론

오늘날 산업발달의 가속화와 인구증가로 인해 좁은 국토에 폐기물량이 급격하게 늘어나고 있고, 특히 전국에 산재하고 있는 불량매립지, 폐광지역, 화학공단의 지하수 및 토양오염이 점차 심각한 문제로 대두되고 있다. 따라서 크게 오염되어 가고 있는 토양, 지하수 및 하천을 본래의 상태로 회복시키기 위한 저렴하고 안정적인 처리 시스템의 개발이 시급하게 요청되고 있다. 특히 토양, 지하수 및 하천에 존재하는 카드뮴, 크롬, 납, 구리, 수은, 아연, 니켈 등의 중금속이온은 동식물의 생태계에 막대한 지장을 초래하며 먹이 연쇄를 통하여 국민 건강에도 막대한 해를 끼치고 있다. 여러 중금속중에 카드뮴은 이따이 이따이 병의 원인으로 잘 알려져 있고 이밖에 위장 및 내분비장애등 여러 가지 증후의 원인이 되고 있다. 이러한 카드뮴은 합금, 도금, 진자 등의 산업지역뿐만 아니라 날로 늘어나고 있는 폐광산 지역에서도 문제가 되고 있고 특히 최근에는 경기도 광명시의 광산부근에서 자연함유의 10-50 배나 높은 카드뮴을 함유한 짚이 생산된 것으로 보고됨으로써 사회적 불의를 일으키기도 하였다.

이렇게 문제가 되는 카드뮴을 수계(water system)에서 제거하기 위해서 수산화물, 유화물, 또는 탄산염으로 침전시키는 화학 침전법, 이온교환 수지법, 응집제에 의한 부상분리법, 활성탄 흡착법 등의 방법을 사용하고 있는데 그 어느 경우나 고가의 장비와 계속되는 약품 및 처리제의 첨가

# '97 學術發表論文集

1997 PROCEEDINGS OF THE KOREAN SOCIETY OF  
WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ANNUAL MEETING

1997年 4月 18日(金)~19日(土)  
( 東 國 大 學 校 )

韓 國 木 材 工 學 會



여 백

B- 9. 아세틸화 대나무재의 초음파 전달속도 .....	이관영 · 강호양	160
B-10. 초음파특성에 미치는 함수율과 온도의 영향 .....	강호양 · Rolf Booker	166
B-11. 담양산 대나무의 浸染특성에 관한 測色學的 연구 .....	정우양 · 문경희	170
<b>C. 목재보존 · 성분 및 화학가공분야</b>		
C- 1. 목재의 소비절약을 위한 방부처리 방안의 제시 .....	이동흡	179
C- 2. FRI 20621에 의한 수질오염원인 크롬 및 비소의 해독기작 .....	이동흡 · 강창호 · 손동원	184
C- 3. 유해 중금속인 카드뮴 및 구리에 대한 목재부후균 <i>Tyromyces palustris</i> 의 흡착 .....	김난형 · 이동흡 · 오정수 · 강호덕 · 손동원	189
C- 4. 방부처리재의 아의 흰개미 防蟻效力 .....	손동원 · 이동흡 · 강창호 · 김난형	194
C- 5. 주목( <i>Taxus cuspidata</i> ) 잎의 추출성분 .....	함연호 · 박완근 · 한상섭 · 배영수	197
C- 6. 목재 방부처리에 있어서 구리화합물 정착제로서 키토산 이용에 관한 연구 .....	이종신	200
C- 7. 일본잎갈나무( <i>Larix leptolepis</i> ) 잎의 Flavonoid 배당체 .....	김진규 · 배영수	205
C- 8. 생강나무( <i>Lindera obtusiloba</i> ) 수피의 Flavonoid 추출성분 .....	이상극 · 배영수	208
C- 9. 해당화 근부의 추출성분(제 2보) .....	문성필 · 이문영	211
- 열수추출물에서 분리한 고분자구분의 특성 -		
C-10. 소나무류 針葉內 Phenolic acid의 정량적 분석 .....	이상우 · 서재덕 · 손두식 · 엄태진	215
C-11. 바이오매스 液化物의 樹脂化 .....	노정관 · 秦野恭典 · 塔村眞一郎 · 山田龍彦 · 小野廣邦	220
I. 페놀-액화목재와 포름알데하드의 반응성 및 수분제거형 액화법 개발		
<b>D. 펄프 · 제지분야</b>		
D- 1. 물리화학적 처리에 의한 효소당화율 .....	장준복 · 엄태진 · 이원희	229
- 폭쇄 및 탈리그닌 처리에 의한 비표면적 변화와 효소당화율 -		
D- 2. Lipase를 이용한 쇄목펄프의 수지제거 .....	온형근 · 강진하 · 박성철	235
D- 3. <i>Phanerochaete sordida</i> YK-624를 이용한 펄프 · 제지공장 폐수처리에 관한 연구 .....	임현아 · 강진하 · 정인수	241
D- 4. 효소처리가 Recycled Pulp 특성에 미치는 영향 .....	최윤성 · 원종명	247
D- 5. 이온성 단량체가 도공용 라텍스의 물성에 미치는 영향 .....	이용규 · 박규재	255
D- 6. 도공원지 및 바인더가 도공지의 품질에 미치는 영향 .....	황석우 · 박규재 · 이용규	261
D- 7. Amphoteric latex가 종이물성에 미치는 영향 .....	강효필 · 원종명	267
D- 8. 오존처리 고수율펄프의 고해특성 .....	윤승락 · 小島康夫	274
D- 9. Recycling에 따른 미세분의 각질화 .....	이도희 · 원종명	280
D-10. A Study on the Particle Design of Pigment for Papermaking .....	이종만 · 조병목	288

## FRI 20621에 의한 수질오염원인 크롬 및 비소의 解毒機作

이동흡 · 강창호 · 손동원  
(임업연구원 목재가공과)

### 1. 서론

크롬 및 비소화합물의 오염 제어균류를 개발하기 위해 활성 및 내성균주를 선발하고, 선발되어진 균류(FRI 20621균주)의 적정균 생육조건 및 오염제어능을 이미 보고한 바 있다. 그러나 지금까지 이러한 제어기작은 균체막을 통과할 때 전위차에 의해 6가크롬이 3가크롬으로, 무기태비소가 유기태비소로 변환되며 무독화 되어짐을 추정할 수 있었으나, 이에 대한 해독기작은 정확하게 밝혀진 바 없다. 따라서 선발된 균주 FRI 20621을 갖고 그 해독기작을 현미경을 사용하여 물리화학적으로 구명하였으며, 또 기기분석을 통해 화학적 변환과정을 확인하였다.

### 2. 수행방법

#### 가. 6가크롬의 3가크롬 환원

중크롬산칼륨 함유 배양기중에 생육중인 균사를 주사형 프로브현미경(Nano Scope III-a, Tapping Mode AFM, 미국 디지털인스트루먼트사)으로 관찰하였으며, 불용성으로 oxalate결정된 3가크롬의 여부를 구명하기 위해 주사X선 분석시스템 내장형 전자현미경에서 3가크롬의 결정을 조사 확인했다.

#### 나. 비소화합물의 변환

진탕배양한 FRI 20621균주를 호모게나이저하고 이를 500ml용 진탕 삼각후라스 크에 200ml를 넣어 1주간 마그네틱 스톨링바를 돌리며 진탕하여 균활력을 증강시키고, 여기에 배양기내의 비소농도가 200ppm이 되게 오산화비소를 넣고, 트랩으로 연결, 선단부가 9N의 염산을 통과하도록 하여 유기화된 비소가 포집이 되게 하였다. 이후 미국 National Bureau of Standard (NBS)의 생물표준시료 SRM-1571법에 의해 무기태5가비소, 무기태3가비소 및 유기태비소로 구분하였으며 비소화합물은 ICP로 정량하였다.

비소화합물의 메틸화에 의한 dimethylarsin 또는 trimethylarsin으로의 변환과정을 검정하기 위해 10ml의 FRI 20621균주를 산소로 충만된 밀폐된 50ml용의 배양기내에 배양한 후 배양기내의 밀폐공기를 공기포집용 인젝터로 포집하고 이를 개스크로

## 유해중금속인 카드뮴과 구리에 대한 목재부후균

### *Tyromyces palustris*의 흡착

김난형<sup>1</sup> · 이동훈<sup>1</sup> · 오정수<sup>2</sup> · 강호덕<sup>3</sup> · 손동원<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>임업연구원 목재가공과 · <sup>2</sup>동국대학교 산림자원학과 · <sup>3</sup>산림청)

#### I. 서론

현대 사회는 산업화와 인구의 지속적인 도시집중으로 여러가지 폐기물에 의한 환경오염이 급속히 진행되어 대기오염, 토양오염, 수질오염 등에 심각한 문제가 야기되고 있다. 특히, 공업단지의 산업폐수는 상당량의 중금속이 존재하며 이러한 폐수로 인한 인근 담수와 근해로의 중금속 유입은 주요 환경오염의 원인이 되고 있다.

중금속에 의한 환경오염이 문제가 되는 것은 직접적으로 인체에 피해를 줄 뿐만 아니라 미량이라도 생물체내에 축적되면 잘 배설되지 않기 때문이다. 그리고 환경에 배출된 중금속은 분해나 자정작용을 받지 않고 생물권을 순환하면서 먹이 연쇄를 따라 생물의 생체조직내의 필수관능기를 절단시키며 단백질의 입체구조를 변화시킨다. 이로인해 유전적인 특성 및 효소의 생화학적인 활성과 물질의 수송체계 등에 영향을 미치게 되고 점차 생태계를 파괴하게 된다. 산업폐수중에는 카드뮴, 구리, 납, 수은, 크롬, 코발트, 구리, 비소, 아연이온 등의 유독성 금속들이 함유되어 있으며 그중 카드뮴은 비중이  $5\text{g/cm}^3$  이상인 2가의 중금속으로 건전지, 염색원료, 자동차 타이어 등의 제조 및 금속공업, 석유화학공업, 초자가공, 사진재료에 널리 쓰이며 아연 광산 지역의 토양 또는 폐수 등의 광범위한 오염원이 되며 인간과 자연환경에 치명적인 해를 입힌다.

구리는 전선, 전동기, 전기기계, 아연, 주석과의 합금이나 황동, 청동이나 니켈을 가한 동품, 화폐등에 이용이 되며 생물에게 있어서 필수 미량원소이지만 과다할 경우 유해한 성분이 된다. 독성으로는 직업병으로 구리 중독 또는 급성 중독은 'Willson'씨병의 예와 같이 대사 결핍에서 오는 조직동의 구리의 고농도 축적 등이 그 예이며 인체의 뇌, 피부, 간, 이자, 심근에 축적된다.

지금까지 중금속을 미생물적으로 제어하기 위한 연구는 원핵생물인 세균을 이용한 연구가 대부분이며 진핵생물인 곰팡이나 효모등에 대해서는 극히 제한된 보고가 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 산림미생물인 목재부후균을 이용하는 방법을 제안하여 보다 친환경적인 방법으로 중금속을 제어하기 위하여 그 목적이 있다. 아울러 중금속 제어 과정에서 얻어진 기초지식을 바이오리메디에이션(bioremediation)

여 백

山林科學 國際세미나  
要旨集

PROCEEDINGS OF '97 INTERNATIONAL  
SEMINAR ON FOREST SCIENCE  
CHUNGBUK NATIONAL UNIVERSITY

日時: 1997年 4月 15日

場所: 忠北大學校 農科大學

主催: 忠北大學校 農科大學, 山林科學部

School of Forest Science  
College of Agriculture  
Chungbuk National University  
Cheongju 361-763, Korea

여 백

1. 신 농림지역에서의 목질계폐재의 이용 방안  
Utilization of Waste Wood Materials for New Areas  
like Agriculture or Fishery  
  
Hiroshi Yamamoto 박사 (일본 북해도 임산물연구소장)
2. 높은 효소생산능을 가진 백색부후균 *Cerrena unicolor*로부터  
균체의 락케이스효소  
Extracellular laccase from the selected, best enzyme  
producing white-rot fungus, *Cerrena unicolor*  
  
Andrzej Leonowicz 박사 (폴란드 마리아-큐리대학교 생화학과 교수)
3. *Cerrena unicolor* 락케이스효소의 고정화 및 유기용매에서의 활성  
Immobilization of *Cerrena unicolor* laccase and its  
activity in organic solvents  
  
Andrzej Leonowicz 박사 (폴란드 마리아-큐리대학교 생화학과 교수)
4. *Cerrena unicolor* 균체의 락케이스효소의 Humus-철 복합체에의  
고정화 연구  
An attempt to immobilization of *Cerrena unicolor*  
extracellular laccase to humus-iron complex  
  
Andrzej Leonowicz 박사 (폴란드 마리아-큐리대학교 생화학과 교수)
5. 리그닌 및 페놀성 화합물의 분해에 미치는 균체 락케이스효소 및  
글루코오스 산화효소의 Feed-back 활성  
Feed-back activity of fungal laccase and GOD in  
transformation of Bjorkman lignin and some phenolic compounds  
  
Andrzej Leonowicz 박사 (폴란드 마리아-큐리대학교 생화학과 교수)
6. 균체 락케이스효소를 이용한 염소화페놀성분의 해독  
Removal of chlorophenols from water environment by  
fungal laccase in the presence of coniferyl alcohol  
  
조 남 석 박사(충북대학교 산림과학부 교수)



## Extracellular laccase from the selected, best enzyme producing white-rot fungus *Cerrena unicolor*

Andrzej Leonowicz, Liliana Gianfreda<sup>\*1</sup>, Jerzy Rogalski, Magdalena Jaszek, Jolanta Luterek, Maria Wojtas-Wasilewska, Elzbieta Malarczyk, Andrzej Dawidowicz, Monika Fink-Boots, Grazyna Ginalska and Nam-Seok Cho<sup>\*2</sup>

Department of Biochemistry, Maria Curie-Sklodowska University, Sklodowska Place 3, PL 20031 Lublin, Poland

\*1 Department of Chemical-Agricultural Sciences, University of Federico II in Naples, Via Universita 100, IT 80055 Portici (Na), Italy

\*2 School of Forest Science, College of Agriculture, Chungbuk National University, Choengju 360-763, Republic of Korea

---

### SUMMARY

Screening of wood rotting fungi for extracellular laccase production and its inducibility by ferulic acid was made. This compound was chosen after screening various inducers with *Trametes versicolor* laccase. Three forms of the enzyme from the most potential fungus *Cerrena unicolor* were isolated from the culture filtrate and purified by affinity chromatography. The two constitutive laccase forms from the ferulic acid induced culture and the inducible one were purified 182.1, 120.6 and 182.2 fold. Purification yields were 10.1%, 9.4% and 3.2%, molecular weights 65, 63, and 59 kD respectively, and pH optimum of all forms was 5.5.

Key words: Wood-rotting fungi; Laccase; *Cerrena unicolor*; Induction; Ferulic acid; Lignin modifying enzymes

---

### INTRODUCTION

Fungal laccase (benzenediol:oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) seems to be a promising enzymic agent applicable for various biotechnological processes. Laccase and a very similar polyphenol oxidase can be used as a free enzyme and an immobilized preparation both in water and in some organic solvents, improving in several biotechnological

## Immobilization of *Cerrena unicolor* laccase and its activity in organic solvents

Luterek, J., Gianfreda, L.\*<sup>1</sup>, Wojtas-Wasilewska, M.  
Cho, Nam-Seok\*<sup>2</sup>, Rogalski, J., Jaszek, M., Malarczyk, E.  
Staszczak, M., Fink-Boots, M., and Leonowicz, A.

Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University  
Maria Curie-Skłodowska Square 3, Pl 20-031 Lublin, Poland

\*1 Department of Chemical-Agricultural Sciences, University of Federico  
II in Naples, Via Università 100, 80055 Portici (Na), Italy

\*2 School of Forest Science, Chungbuk National University  
Cheongju 360-763, Republic of Korea

---

### SUMMARY

The extracellular laccase of *Cerrena unicolor* was purified and immobilized on glass beads. The storage stability and the effects of various water-miscible organic solvents on free and immobilized preparations were studied. The Michaelis constant and pH optima of immobilized and free enzymes in the presence of three selected organic solvents were examined.

---

**Key words** : *Cerrena unicolor*; laccase; immobilization; organic solvents; syringaldazine

### INTRODUCTION

Fungal laccase (benzenediol:oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) is present in several fungal strains belonging to various classes. The enzyme is produced by the different genera of ascomycetes (*Aspergillus nidulans* [1], *Neurospora crassa* [2], *Podospora anserina* [3,4], some deuteromycetes (*Botrytis cinerea* [5,6]), and mainly basidiomycetes [7]. The basidiomycete class includes preferentially various wood and litter decomposing and soil inhabiting fungi [8]. Laccase secreted into the environment catalyzes numerous important reactions that are responsible for maintaining the biological activity of a soil in particular, it participates in the humification processes and may catalyze the coupling of some xenobiotics to the humic

## Feed-back activity of fungal laccase and glucose oxidase in transformation of Bjorkman lignin and some phenolic compounds

Andrzej Leonowicz, Jerzy Rogalski, Magdalena Jaszek, Jolanta Luterek  
Maria Wojtas-Wasilewska, Elzbieta Malarczyk, Grazyna Ginalska  
Monika Fink-Boots and Nam-Seok Cho\*<sup>1</sup>

Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University  
Skłodowska Place 3, PL-20031 Lublin, Poland

\*1 School of Forest Science, Chungbuk National University  
Choengju 360-763, Republic of Korea

---

### SUMMARY

A screening of wood rotting basidiomycete fungi grown in a mineral liquid medium was conducted for glucose oxidase (GOD) and laccase (LAC) production as well for ligninolytic activity measured by a Remazol reaction. The results shown, that only reach in GOD genera are as well lignin degraders as effective producers of extracellular LAC. The poor in GOD fungi neither shown LAC nor ligninolytic activity. The Bjorkman lignin and three phenolic compounds were tested on the sequential activity of laccase and GOD. In the presence of LAC, generation of quinoid intermediates formed as well from Bjorkman lignin as from phenolic compounds was observed. The addition of GOD caused a diminution of the quinone level. During incubation of Bjorkman lignin with LAC and GOD depolymerization occurred; in the experiments omitting GOD the quantities of low molecular products were markedly lower. Consequently, the consecutive ping-pong activity of LAC and GOD disturbed the polymerization and improved the efficiency of depolymerization processes

**Keywords:** Wood-rotting fungi; screening; laccase; glucose oxidase; enzyme cooperation; Remazol; lignin degradation.

---

### INTRODUCTION

White-rot fungi, especially *Trametes versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium* have been studied mainly because of their ligninolytic activity.

## Removal of chlorophenols from water effluent by fungal laccase in the presence of coniferyl alcohol

Nam-Seok Cho\*, Jerzy Rogalski, Magdalena Jaszek  
Jolanta Luterek, Maria Wojtas-Wasilewska  
Elzbieta Malarczyk, Monika Fink-Boots and Andrzej Leonowicz

\* School of Forest Science, Chungbuk National University  
Cheongju 360-763, Republic of Korea

Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University  
Skłodowska Place 3, PL 20031 Lublin, Poland

---

### SUMMARY

The effect of coniferyl alcohol on removal of chlorinated phenols from water environment by *Rhizoctonia praticola* and *Cerrena unicolor* laccases was studied. In optimal conditions 7 mM coniferyl alcohol removed from the supernatant about 34% radioactivity of 4-chlorophenol, 57% one of 2,4-dichlorophenol, 66% 2,4,5-trichlorophenol and 85% pentachlorophenol, compared to the level without laccase activity. After a fast initial decrease the concentration of radioactivity in supernatant lowered much slower.

**Key words:** chlorophenols removal; coniferyl alcohol; laccase; *Rhizoctonia praticola*; *Cerrena unicolor*

---

### INTRODUCTION

Fungal laccase (benzenediol:oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) extracellularly produced by several wood rotting fungi (Bollag and Leonowicz, 1984) seems to be applicable for various biotechnological processes (Burbonais et al., 1992; Burbonais et al., 1995, Manzanares et al., 1995). Among possible applications, the enzyme is considered, for example, as a dechlorinating factor (Roy-Arcand and Archibald, 1991). Its broad activity on hydrogen donors provides opportunities for removing certain phenolic and other aromatic compounds from natural and industrial wastewaters (Altlow et al., 1984; Bollag, 1983; Nannipieri and Bollag, 1991).

여 백

**of the International Symposium and 1997 Spring Meeting  
of the Korean Society for Applied Microbiology**

International Symposium on

**Strain Development**

**Bioindustry**

**April 25 -26, 1997  
Seoul National University  
Seoul, Korea**

**The Korean Society for Applied Microbiology**

여 백

(Dept. of Biotechnol. & Bioeng., Pukyong Nat'l Univ.)

- P-204 Development of enzyme-linked immunosorbent assay system for the detection of deoxynivalenol in corns ..... Hyang-Burm Lee, Dong-Hwa Shon, Kunio Kosaka<sup>1</sup>, and Yoshio Ueno<sup>1</sup>  
(Food Chem. & Physics Div., Korea Food Research Institute, <sup>1</sup>Dept. of Toxicology & Microbial Chem., Science of Univ. of Tokyo, Japan)
- P-205 The growth of *Pichia* sp. A9 in the waste brine of kimchi production ..... Min-Ho Choi and Yun-Hee Park (Dept. of Biotechnol., Ajou Univ.)
- P-206 새로운 응집활성 측정 방법 ..... 여승재 · <sup>1</sup>최양문 · <sup>2</sup>조홍연 · 양한철  
(고려대학교 식품공학과, <sup>1</sup>생물공학연구소, <sup>2</sup>식품생명공학과)
- P-207 Enhanced in-situ mobilization and biodegradation of PAH from the soil by solvent/surfactant system ..... Eunki Kim, Anbo Liu<sup>1</sup>, Iksung Ahn<sup>2</sup>, L.W. Lion<sup>1</sup>, and M.L. Shuler<sup>2</sup>  
(Dept. of Biol. Eng., Inha Univ., School of Environmental Eng.<sup>1</sup>, Chemical Eng.<sup>2</sup>, Cornell Univ.)
- P-208 고정화 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거 ..... 민용원<sup>1</sup> · 이동훈<sup>2</sup> · 이해익<sup>1</sup> · 정연호<sup>1</sup> (<sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학부, <sup>2</sup>임업연구원 임산공학부)
- P-209 Isolation of polyphosphate accumulating bacteria and their phosphate removal characteristics · Kong-Shik Shin, Min-Ho Yoon, and Woo-Young Choi (Dept. of Agric. Chem., Chungnam Nat'l Univ.)
- P-210 Effect of bulking agent for the production of fermented feed from food residues ..... Eun-Hee Suh, Jae-Kyung Yang<sup>1</sup>, Ki-Young Lee  
(Dept. of Food & Nutrition, Hoseo Univ., <sup>1</sup>Dept. of Biological Sciences, KAIST)

#### ● 효소 및 고분자물질

- P-211 Structure-emulsifying activity relationship of a lipopolysaccharide biosurfactant, EMULSAN ..... Pil Kim and Jung Hoe Kim (Dept. of Biological Sciences, KAIST)
- P-212 Kinetic Resolution and asymmetric synthesis of chiral amines using  $\omega$ -transaminase ..... Jong-Shik Shin and Byung-Gee Kim  
(Dept. of Chemical Technol. & Institute for Mol. Biol. & Genetics, Seoul Nat'l Univ.)
- P-213 Purification of a bacteriolytic enzyme from *Bacillus* sp. active against *Streptococcus mutans* ..... Bong-Yong Lee<sup>1</sup>, Seung-Ho Ohk<sup>1</sup>, So-Young Kim<sup>1</sup>, Dong-Hoon Bai<sup>2</sup>, Ju-Hyun Yu<sup>1</sup>, and Seung-Ku Yoo<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Bioproducts Research Center & Dept. of Biotechnol., Yonsei Univ., <sup>2</sup>Dept. of Food Eng., Dankook Univ.)
- P-214 Purification and Characterization of a di-d-fructofuranose 2,6' : 6,2' dianhydride (DFA IV) producing enzyme from *Arthrobacter* sp. K2032 ..... Ki-Bang Song, Jeong-Woo Seo, Il-Kyung Maeng, and Sang-Ki Rhee  
(Microbial Metabolic Eng. R.U., KRIBB, KIST)
- P-215 항돌연변이원성 세포의 다당류 생산균주의 분리 및 특성 ..... 윤연정 · 우철주 · 이창호 · 박희동 (경북대학교 식품공학과)
- P-216 Purification and characterization of two types of endo-chitinase from *Trichoderma viride* KH 104 ..... Sang-Yong Lim and Ke-Ho Lee (Dept. of Food Sci. & Technol., Seoul Nat'l Univ.)
- P-217 Gene expression and localization of *Rahnella aquatilis* levansucrase in *Escherichia coli* ..... Seo Jeong-Woo, Ki-Bang Song, Il-Kyoung Maeng, Chul-Ho Kim, and Sang-Ki Rhee  
(Microbial Metabolic Eng. R.U., KRIBB, KIST)
- P-218 Purification and characterization of *Hydrogenophaga* sp. YHS-A2 chitinase from *Escherichia coli* ..... Dong-Seong Han, Han-Seung Lee, Sung-Won Chol, Hak-Jong Choi, Ju-Hyun Yu, and Doo-Hwan Oh  
(Dept. of Biotechnol. & Bioproducts Research Center, Yonsei Univ.)
- P-219 Purification and action-pattern of a maltogenic amylase from *Bacillus polymyxa* KSM-409 ..... Jei Won Park, Jae Woo Lee, Byung Ju Kim, Bo Na Lee, and Young Bac Kim



**P-207**            **Enhanced in-situ mobilization and biodegradation of PAH  
from the soil by solvent/surfactant system**

Eunki Kim\*, Anbo Liu<sup>1</sup>, Iksung Ahn<sup>2</sup>, L.W. Lion<sup>1</sup>, M.L.Shuler<sup>2</sup>  
Dept. of Biological Eng. Inha Univ., Incheon, Korea 402-751  
School of Environmental Eng<sup>1</sup>., Chemical Eng.<sup>2</sup>, Cornell University, USA

Mobilization and biodegradation of phenanthrene in the soil was enhanced by using paraffin oil which was stabilized by the addition of surfactant(Brij 30). The ratio of paraffin oil/Brij 30 was determined by measuring the changes in the critical micelle concentration. Stabilized paraffin oil emulsion could solubilize more phenanthrene than control experiments. Column experiment showed increased phenanthrene mobilization from the contaminated soil. Phenanthrene mobilized in the paraffin oil/Brij 30 emulsion could be biodegraded more faster than in water phase or surfactant solution. This result indicates that paraffin oil/surfactant system can be effective and non-toxic for the removal of PAH from the contaminated soil.

**P-208**            **고정화 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거**

민용민<sup>1</sup>, 이동흡<sup>2</sup>, 이해익<sup>1</sup>, 정연호<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학부, <sup>2</sup>임업연구원 임산공학부

인체내에 축적되어 생리적인 작용을 방해하는 중금속들은 환경오염의 주요 원인으로 알려져왔다. 그중 6가 크롬의 경우 피부염, 미각장애, 위장염, 폐암 등을 일으키며 이들 대부분은 산화제, 금속표면제, 인쇄잉크 등으로부터 유래된다. 최근에 이러한 독성을 나타내는 6가 크롬을 백색부후균에 의해 제거 또는 무독화시키는 생물학적 처리에 관심이 집중되고 있다. 이러한 백색부후균을 환경정화 시스템에서 보다 효율적으로 이용하기 위해 여러 가지 방법에 의한 부후균 포자의 고정화가 시도되었다. 이를 위해 polyurethane, celite bead, 톱밥 등이 matrix로 사용되었다. 그중 톱밥을 이용한 고정화가 성공적이어서 이를 이용하여 shake flask, air-lift reactor, packed bed column 등 여러 반응접촉조에서 6가 크롬을 처리하여 그 제거 kinetics을 조사하였고 여러 반응접촉조에서의 제거성능을 비교 검토 하였다.

# Enzymes of White-rot Fungi Cooperate in Biodeterioration of Lignin Barrier\*<sup>1</sup>

Andrzej Leonowicz\*<sup>2</sup> · Nam-Seok Cho\*<sup>3</sup> · Maria W. Wasilewska\*<sup>2</sup> ·  
Jerzy Rogalski\*<sup>2</sup> · Jolanta Luterek\*<sup>2</sup>

## 목질리그닌의 생물학적 분해시 백색 부후균류 효소들의 상호작용\*<sup>1</sup>

안드레 레오노비취\*<sup>2</sup> · 조 남 석\*<sup>3</sup> · 마리아 바실레브스카\*<sup>2</sup> ·  
조오지 로갈스키\*<sup>2</sup> · 올란타 루테렉\*<sup>2</sup>

### 요 약

목재를 분해시키는 담자균류들은 목재 및 목질복합체에 쉽사리 침투하여 복잡한 리그노셀룰로오스 복합체를 분해시킨다. 이러한 분해에는 많은 효소시스템들이 복합적으로 작용하면서 상호 협동하는 것으로 보고되고 있다. 지금까지 알려진 효소들은 통상 3개의 그룹으로 나눌 수 있는데, 그 하나는 목재성분을 직접적으로 공격하는 효소군들, 예를 들면 cellulase complex, laccase(LAC), lignin peroxidase(LIP), horse-radish peroxidase(HRP), manganese-independent peroxidase(MIP) 및 protocatechuate 3,4-dioxygenase(PCD) 등이 있고, 두번째 그룹으로서 manganese-dependent peroxidase(MnP), aryl alcohol oxidase(AAO), 및 glyoxal oxidase(GLO) 등인데, 이들 효소들은 목질을 직접적으로 공격하지 않고 제1그룹의 효소들과 협동하여 작용하는 것으로 알려지고 있다. 제3그룹의 효소들은 glucose oxidase(GOD) 및 cellobiose : quinone oxidoreductase(CBQ)로서 feedback type의 효소들로서 목재고분자의 분해시 대사의 고리를 결합시켜 주는 매우 중요한 기능을 하는 효소군들이다. 그러나 이외에도 다른 분해기구가 밝혀지고 있으며, 기타 효소들에 의한 리그노셀룰로오스의 분해반응기구의 해명에는 상당한 시간이 걸릴 것으로 사료된다.

**Keywords:** White-rot fungi, basidiomycetes, lignocellulose, laccase, cellulase, biotransformation, ligninase

## 1. INTRODUCTION

### 1.1 What means the lignocellulose complex and why its structure is so durable?

The lignocellulose is a compact, almost crystalline complex. Polysaccharide components in

microfibers are densely packed in layers of lignin, which protects them from the activity of hydrolytic enzymes and other external factors, and serves as a stabilizer of the complex structure.

This structure endows plants with the neces-

\*1 접수 1997년 5월 1일 Received May 1, 1997

\*2 폴란드 마리아·큐리스클로도브스카대학교 Maria Curie-Skłodowska University, PL20031 Lublin, Poland

\*3 충북대학교 산림과학부 School of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

# Purification of extracellular *Cerrena unicolor* laccase by means of affinity chromatography<sup>\*1</sup>

A. Leonowicz · L. Gianfreda<sup>\*2</sup> · J. Rogalski · M. Jaszek · J. Luterek · M. W.-Wasilewska,  
E. Malarczyk · A. Dawidowicz · M. Fink-Boots · G. Ginalska and Nam-Seok Cho<sup>\*3</sup>

## 친화크로마토그래프법을 이용한 *Cerrena unicolor* laccase의 정제특성<sup>\*1</sup>

에이 레오노비취 · 엘 지안프레다<sup>\*2</sup> · 제이 로갈스키 · 엠 야색 · 제이 루테렉  
엠 바실레브스카 · 엘 말라첵 · 에이 다비도비취 · 엠 핑크부츠 · 지 기날스카 · 조남석<sup>\*3</sup>

### 요 약

균체가 생산하는 laccase 효소가 다방면으로 이용되면서, 이 효소를 균체로부터 대량으로 생산하고 분리·정제하여야 할 필요성이 대두되고 있다. 아울러 이 효소의 활성을 유도하기 위한 inducer로서 2,5-xylydine 이 주로 사용되고 있는바, 이 xylydine의 유독성이 인정되면서 사람에게 독성을 주지 않는 환경 친화적 inducer의 검색이 필요하게 되었다.

본 연구에서는 백색부후균 *Cerrena unicolor*가 분비하는 laccase 효소의 유도를 위한 inducer로서 ferulic acid를 사용하였으며, 균체로부터 생산 및 분리된 laccase 효소의 정제특성을 구명코자 하였다. 본 효소(constitutive enzyme)로서 I 및 II를, ferulic acid를 inducer로 사용한 경우 inducing 효소 III을 분리·정제하였다. 본 효소 I 및 II의 Michaelis 정수는 각각 737 M, 716 M 이었고, inducing 효소 III은 167 M 로서, 기질에 대한 높은 친화성을 보여주고 있다. 분자량도 각각 65 kD, 63 kD 였으며, inducing 효소 III은 59 kD 였다. 두 효소 모두 15 - 19%의 당 및 단백질분자당 4 M의 동(Cu)을 함유하고 있었다. 정제효율은 효소 I 및 II가 10.1%, 9.4% 였으며, III은 3.2% 였다. 모든 효소의 최적 pH는 5.5 였으며, 최적온도는 비교적 높은 40°C 였다.

Key words: white-rot fungus; laccase; *Cerrena unicolor*; purification; affinity chromatography

#### \*1 Received on

본 연구의 일부는 '96 농림수산 기술개발사업(첨단기술개발과제)의 연구비지원으로 수행되었음.

폴란드 마리아-큐리대학교 Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University Place 3, PL 20031, Lublin, Poland

\*2 이태리 페데리코대학교 Department of Chemical-Agricultural Sciences, University of Federico II, Via Università, 100, IT 80055 Portici Naples, Italy

\*3 충북대학교 농과대학 College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Republic of Korea

## Appearance of Laccase in Wood-Rotting Fungi and Its Inducibility\*1

A. Leonowicz\*2 · L. Gianfreda\*3 · J. Rogalski\*2 · M. Jaszek\*2 ·  
J. Luterek\*2 · M. W. Wasilewska\*2 · E. Malarczyk\*2 · A. Dawidowicz\*2 ·  
M. Fink-Boots\*2 · G. Ginalska\*2 · M. Staszczak\*2 · Nam-Seok Cho\*4

### 목재부후균으로부터 Laccase 효소의 생산 및 유도

안드레 레오노비취\*2 · 리리아나 지안프레다\*3 · 죠오지 로갈스키\*2 · 마그다 야색\*2 ·  
올란타 루테렉\*2 · 마리아 바실레브스카\*2 · 엘리자베타 말라츠크\*2 · 안드레 다비도비취\*2 ·  
모니카 핑크보츠\*2 · 그리지나 기날스카\*2 · 마그다 스타스츠크\*2 · 조 남 석\*4

### 요 약

목재부후균으로부터 락케이스 효소의 생산 및 유도를 위하여 여러가지 유도약품(inducer)을 사용하였다. 이들 가운데 ferulic acid, pentachlorophenol 및 2,5-xylydine이 매우 높은 락케이스 활성을 나타내게하였으며, 거의 동일한 유도효과를 보여주었다. 이들 약품 이외에도 sinapic acid, syringic acid 및 coffeic acid 등도 높은 락케이스 활성을 주었는데, 산의 형태가 알데히드류보다도 높은 유도효과를 나타냈다. 그리고 실험한 48개 균주가운데 38개 균주가 락케이스를 생산하였으며, 이 가운데 32균주가 ferulic acid에 의해 강한 효소유도 활성을 보였다. 이러한 결과는 지금까지 락케이스 효소의 검출이 어려웠던 *Abortiporus biennis* 및 *Gleophyllum odoratum*에서도 높은 락케이스 효소의 유도를 가능하게 하였다. 아울러 가장 높은 효소활성을 나타낸 균주로서는 *Cerrena unicolor*였으며, 그 락케이스 효소활성이 무처리 및 inducer 첨가시 각각 40,000 및 60,000 nkat/l 정도였다.

**Keywords** : Laccase, ferulic acid, inducer, white-rotting fungi, *Cerrena unicolor*, constitutive enzyme, 2,5-xylydine pentachlorophenol

### 1. INTRODUCTION

Fungal laccase seems to be a promising enzymic agent applicable for various biotechnological pro-

cess. Laccase and a very similar polyphenol oxidase can be used as a free enzyme and an immobilized preparation both in water and in some organic solvents, improving in several processes this way (Mil-

\*1 접수 1997년 5월 23일 Received May 23, 1997

본 연구의 일부는 '95 농림수산 기술개발사업(첨단기술개발과제)의 연구비지원으로 수행되었음.

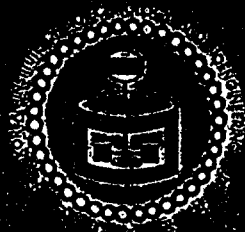
\*2 폴란드 마리아=큐리대학교-Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University Place 3, PL 20031, Lublin, Poland

\*3 이탈리아 페데리코대학교 Department of Chemical-Agricultural Sciences, University of Federico II, Via Universita 100, IT 80055 Portici Naples, Italy

\*4 충북대학교 농과대학 College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Republic of Korea

여 백

사단법인 한국생물공학회  
1997년도 추계학술발표회



일시 : 1997. 10. 9(목) ~ 11일(토)

장소 : 대구대학교 자연과학대학 학술강연회장

주최 : 한국생물공학회

여 백

		Page
P416	김영곤, 류근갑 울산대학교 화학공학과 <i>Humicola insolens</i> 로부터 생산된 Avicel 분해 효소의 정제 및 특성연구	163
P417	장순옥, 한윤진, 정육진*, 정병철 명지대학교 생명과학과, 화학공학과* <i>Phanerochaete chrysosporium</i> PSBL-1의 고정화를 통한 lignin-degrading enzyme의 생산	165
P418	박찬현, 김경태, 김남기 성균관대학교 화학공학과 혐기성 소화 공정에 있어서 미생물을 이용한 소화 효율 증대에 관한 연구	167
P419	이태근, 김선기, 윤성희*, 강선철** (사)효살림연구소*, 대구대학교 생물공학과** 음식물 쓰레기의 퇴비화에 관한 연구	169
P420	Eunki Kim, Anbo Liu*, Iksung Ahn**, L.W. Lion*, M.L. Shuler** Inha University., Dept. of Biological Engineering Enhanced in-situ mobilization and biodegradation of phenanthrene from the soil by paraffin oil/surfactant	171
P421	김진아, 김연옥*, 김종수**, 이회찬 선문대학교 화학공학부*, 미생물학과*, 환경공학과** 축산폐수의 혐기성 처리를 위한 암모니아성 질소 제거	173
P422	민용원, 이동홍**, 이해익*, 정연호* 강원대학교 식품생명과학부*, 임업연구원 임산가공부** 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거	175
P423	정연호*, 민용원*, 이동홍**, 이해익* 강원대학교 식품생명공학부*, 임업연구원** 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거	177
P424	윤동원, 이진중*, 김동운**, 이기영 전남대학교 화공과, 생물공학과, 전남전문대 환경공학과*, 광양전문대 석유화학 과** 회분식 탈질 반응조에서 여러 가지 탄소원의 영향	179
P425	오유관, 손효환, 이성호, 박성엽, 이진, 박성훈 부산대학교 화학공학과 Effect of pretreatment conditions on VFAs production from municipal sludge : chemical and thermal pretreatment	181
P426	손효환, 오유관, 이성호, 김중태, 이진, 박성훈 부산대학교 화학공학과 Effect of pretreatment conditions on VFAs production from municipal sludge : primary and recycle sludge	183
P427	김경태, 박성훈 부산대학교 화학공학과 Biodegradation: Kinetics of chlorinated hydrocarbons by <i>Methylophilus trichosporium</i> PP358 in the presence and absence of enzyme competition by methane and methanol	185
SECTION 5	생변환 및 효소공학	
P501	최성목, 우영계 서울대학교 화학공학과 Peroxidase를 촉매로 사용한 Polyaniline의 합성	187



## 백색부후균을 이용한 6가 크롬의 제거

민용원\*, 이동훈\*\*, 이해익\*, 정연호\*

강원대학교 식품생명공학부\*, 임업연구원 임산가공부\*\*

전화 ( 0361 ) 250-6484, FAX ( 0361 ) 54-3835

### 서론

인체내에 축적되어 생리적인 작용을 방해하는 중금속들은 환경오염의 주요 원인으로 알려져왔다. 그중 6가 크롬의 경우 피부염, 미각장애, 위장염, 폐암 등을 일으키며 이들 대부분은 산화제, 금속표면제, 인쇄잉크 등으로부터 유래된다. 그러나 3가 크롬은 일반적으로 사람과 동물에 무해한 것으로 알려져 있다. 최근에 이러한 독성을 나타내는 6가 크롬을 백색부후균에 의해 제거 또는 3가로 무독화시키는 생물학적 처리에 관심이 집중되고 있는데 이러한 목적으로 참나무류에 많이 발생하는 백색부후균이 선발되었다.

본 연구에서는 선발된 균주를 이용한 6가 크롬 제거시스템의 실용화 가능성을 검토하기 위하여 최적성장 조건을 조사하였으며 stirred reactor인 fermentor에서 1 단계 균체성장과 2 단계 접촉의 two phase 운전, fermentor 와 airlift 접촉조를 이용한 통합공정의 운전등을 통하여 6가 크롬의 제거 kinetics를 조사하였다. 또한 이러한 결과를 토대로 하여 백색부후균을 환경정화 시스템에서 보다 효율적으로 이용하기 위해 여러 가지 방법에 의한 부후균의 고정화가 시도되었다. 이를 위해 polyurethane, celite bead, 톱밥, glass bead, alginate bead등이 matrix로 사용되었고, 접촉시스템으로는 stirred reactor, air-lift reactor, packed bed column 등 여러 반응접촉조에서 6가 크롬을 처리하여 그 제거 kinetics을 조사함으로써 여러 고정화 방법과 여러 반응접촉조에서의 제거성능을 비교 검토 하였다.

### 실험

선발된 균주는 크롬에 대한 저항성을 가지는 백색부후균 FRI 20621으로 균체 배양을 위해 glucose(25g/l), MgSO<sub>4</sub>(2g/l), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(3g/l), malt extract(10g/l), peptone(5g/l)과 배지의 최적화 실험을 통해 선발된 laccase 생산용 배지를 이용하였다. 여러 가지 방법의 고정화를 위해 column내(bed: 3.9 $\phi$  × 22cm)에 여러 matrix를 충전시키고 incubator안에서 고정화를 시도하였다. 톱밥을 이용한 고정화에서는 입자 크기가 40 mesh인 것을 이용하였고 cellite bead는 직경 150~207 $\mu$ m, glass bead는 평균직경 1.15cm인 것을 이용하였다. Fermentor나 air-lift 등에서의 접촉후 잔존 크롬 정량은 atomic absorption spectrophotometer를 이용하여 분석하였다.

# 느타리버섯 폐배지를 이용한 폐수중의 카드뮴 이온의 제거

정연호\*, 민용원\*, 이동훈\*\*, 이해익\*

상원대학교 식품생명공학부\*, 임업연구원\*\*

전화 (0361) 250-6484, FAX (0361) 54-3835

## 서론

최근 국민 생활 수준의 향상에 따라 버섯류의 소비 및 생산이 증대되고 있다. 또한 버섯재배도 그동안은 원목재배에 의존하였으나 톱밥배지나 짚배지등 고체배지를 이용한 재배방법이 최근 각광을 받고 있다. 이러한 고체배지를 이용할 경우 생산성이 원목재배보다 높고 시설 자동화가 가능하여 노동비 절감 및 균질의 제품을 생산할 수 있는 장점이 있다. 하지만 이러한 고체배지는 버섯생산후 처리하기가 곤란하여 최근 축산용 조사료로 개발하고 있지만 아직은 연구개발 단계에 있기 때문에 대부분 야적 방치하고 있다. 이경우 악취등 오히려 환경문제를 일으키고 있어서 이들의 적절한 처리방법이 요구된다. 이러한 느타리 버섯 폐배지가 카드뮴 이온을 선택적으로 흡착할 수 있다는 사실이 발견되어 이를 산업적으로 이용하기 위한 가능성을 검토하였다. 만일 이러한 폐배지를 이용한 카드뮴 처리공정의 개발이 성공을 거둘 경우 방치되는 폐자원을 이용하는 재활용의 측면과 이를 환경처리제로 이용함으로써 적극적으로 환경문제를 해결하는 측면의 이중효과를 얻을 수 있는 장점이 있다.

따라서 본 연구에서는 느타리버섯 폐배지에 의한 카드뮴의 선택적 흡착 현상을 이용한 효율적인 연속식 대량 수처리 시스템의 개발을 최종목표로 하여 실용적 수처리 시스템에의 적용 가능성을 조사하기 위해 카드뮴 흡착 등온선을 구하였고, batch stirred reactor, airlift reactor, packed bed column 등 여러 반응시스템에서의 제거 속도를 조사함으로써 최적 접촉시스템의 선정을 위한 기초 연구를 수행하였다.

## 실험

흡착 등온선을 구하기 위해 여러 초기농도의 카드뮴 용액 20 ml에 0.2 g의 폐배지를 첨가하여 12 시간 진탕한후 잔존 카드뮴의 농도를 AA(Atomic Absorption Spectrophotometer)를 이용하여 측정하였다. Stirred reactor에서의 흡착을 위해서는 건조 폐배지 9 g과 초기농도 22 ppm 의 카드뮴 용액 200 ml 을, Air-lift reactor 운전을 위하여서는 45 g 의 폐배지와 초기농도 22 ppm의 카드뮴 용액 1 liter를 접촉시키면서 시간에 따르는 잔존 카드뮴의 농도를 AA로 측정하였다. 또한 cyclic operation을 위해서 한 batch cycle 에서 접촉한 폐배지를 원심분리에 의해 처리수와 분리한후 다음 cycle에서 새로운 카드뮴 용액과 접촉시키면서 이미 사용한 폐배지의 재사용 여부를 조사하였다. 또한 packed-bed 운전을 위하여 폐배지 40 g을 충전한 칼럼에 초기농도 20 ppm, 의 카드뮴 용액을 각각의 유량 2.63 ml/min.으로 흘리면서

# 여 백

# '97 秋季學術發表論文集

1997 PROCEEDINGS OF THE KOREAN SOCIETY OF  
WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ANNUAL MEETING

1997年 10月 23日(木)~24日(金)  
(東國大學校)

韓國木材工學會

여 백

4. 물푸레나무( <i>Fraxinus rhynchophylla</i> ) 수피의 쿠마린 화합물	함연호 · 김진규 · 이상극 · 배영수	127
5. 신기능성 물질 탐색을 위한 주요 소나무류 잎의 특수성분 분석에 관한 연구	조재현 · 황병호 · 이현중 · 조국란 · 강하영 · 유순희	130
6. 미류나무 분화조직중 세포벽다당류의 화학적 성상	박운계 · 엄태진	136
7. 일본 일갈나무재로부터 Diterpene의 단리	Zhao Julian · 황병호	141
8. 농산 및 입산페자원으로부터 xylan의 단리	변지혜 · 임부국 · 양재경 · 이종운	147
9. Cytotoxic Constituents from <i>Magnolia obovata</i>	김영균 · 유시용 · 한용남 · 김성식	153
10. Photo-irradiation에 의한 리그닌-금속 착화합물의 형성	최경화 · 왕립균 · 윤병호	158
11. 갈색부후균 <i>Tyromyces palustris</i> 의 수산대사를 이용한 구리의 제어	손동원 · 이동훈 · 강창호	164
12. Inducer를 이용한 목재부후균으로부터 Laccase 효소의 생산	조남석 · 김영신 · 방명혁 · 최윤정 · 남장현 · A. 레오노비취	170
13. 국내산 주요 수종 소경계의 치수안정화에 관한 연구 - PEG (Polyethylene Glycol) 처리에 의하여 -	권구중 · 김남훈	175
14. 진동감쇠성 고분자의 합성과 목질재료에의 응용	이현중	181
15. 벗짚을 이용한 소다 - 안트라퀴논 펄프 및 알칼리성 아황산염-안트라퀴논 펄프 제조	박성중 · 강진하 · 박성철	187
16. Solvolysis법에 의한 용해용펄프의 제조 가능성 검토	양재경 · 임부국 · 장준복 · 이종운	193
17. 폭쇄처리 및 산소 · 알칼리법에 의한 용해용펄프의 제조	권기훈 · 임부국 · 양재경 · 이종운	199
18. 고지의 효소표백 및 개질 - 단리된 조효소를 이용한 고지처리에 있어서 백색도 및 물성변화 -	양재경 · 이종명 · 엄태진	205
19. Xylanase 처리가 재생성유 특성에 미치는 영향	최윤성 · 원종명 · 이병우 · 박창수	211
20. 폐지를 이용한 과실용 무공해 내포장재의 개발	이호철 · 임부국 · 양재경 · 이종운	219
21. 리그닌 분해균에 의해 처리된 폐액중의 핵산 관련 화합물	이선호 · 近藤隆一郎 · 坂井克己	225
22. 단리 Mn-Peroxidase를 이용한 펄프폐액처리에 관한 연구	은주영 · 조준형 · Kokki Sakai · Ryuichiro Kondo	231

## Inducer를 이용한 목재부후균으로부터 Laccase 효소의 생산

조남석<sup>1</sup> · 김영신<sup>1</sup> · 방명혁<sup>1</sup> · 최윤정<sup>1</sup> · 남장현<sup>1</sup> · 안드레 레오노비취<sup>2</sup>  
 충북대학교 임산공학과 · <sup>2</sup>폴란드 마리아-큐리대학교 생화학과)

## Production of Laccase from Wood-Rotting Fungi by using Inducer

Nam-Seok Cho<sup>1</sup> · Y. S. Kim<sup>1</sup> · M. H. Pang<sup>1</sup> · Y. J. Choi<sup>1</sup> · J. H. Nam<sup>1</sup> · A. Leonowicz<sup>2</sup>  
 (<sup>1</sup> Chungbuk National University · <sup>2</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Poland)

## 1. 서 론

급속한 산업화로 야기된 환경오염문제 가운데 수질오염과 관련된 폐수처리 및 처리수의 재사용에 대한 관심이 한층 더해가고 있다. 오늘날 이용되고 있는 화학약품의 제조와 사용, 그리고 폐기에 이르는 과정에서 상당량의 화합물들이 배출되고 있으며, 이런 물질 가운데 인간과 동식물에 유해한 독성물질 및 중금속등이 포함되어 있다. 이런 유해물질에는 목재의 리그닌과 유사한 구조를 가지는 화합물이 있는데, 목재부후균이 리그닌을 분해한다는 점에 착안하여 이러한 부후균의 특성을 이용하여 유해 독성물질을 분해하려는 많은 연구<sup>1-3)</sup>가 이루어지고 있다. 리그닌을 분해하는 효소로서 몇몇의 백색부후균이 분비하는 lignin peroxidase(Li-P), Mn peroxidase(Mn-P)와 laccase, glucose oxidase, cellobiooxidoreductase 등 과같은 여러 가지 효소들이 관여하는 것으로 알려지고 있는데, 펄프와 제지산업에서 이러한 리그닌 분해효소를 이용한 생명공학적인 접근이 펄프화, 펄프표백, 종이의 표면특성개량뿐 만 아니라 이런 공정상에서 발생하는 폐수의 정화에까지도 사용하려는 연구 및 실용화까지도 전망되고 있다.

일반적으로 백색부후균에서 발견되는 laccase는 리그닌 모델화합물을 중합하거나 해중합하기 위하여 페놀성 수산기로부터 하나의 전자를 분리시키는 촉매작용을 하며, Laccase는 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate)와 같은 물질이 1차 매개물(primary mediator)로 공존할 때에 페놀성 화합물을 산화시킬 수 있고, Li-P와 Mn-P와 함께 하여 리그닌을 분해할 수 있는 능력이 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>4)</sup> *Fomes annosus*, *Pholia mutabilis*, *Pleurotus ostreatus*와 *Trametes versicolor*의 배양액에서 xylydine이 세포외효소(extracellular enzyme)형성을 촉진시킨다는 결과를 얻었다.<sup>5)</sup>

리그닌 분해효소를 실제 응용하려는 연구는 폐수처리뿐 만 아니라 생물학적 펄프화, 생물학적 표백 등으로 그 이용분야가 다양하다. 그러므로 이 리그닌 분해활성이 높은 효소를 분비하며 이용하기에 보다 경제적이고 작업이 용이한 균의 선발과, 기존 리그닌 분해균의 생리, 배양 상태의 조건 개선 등에 관하여 보다 많은 연구가 요구되고 있다.

본 연구는 백색부후균으로 밝혀진 몇 종의 균들에 대하여 이들이 생산하는 laccase 효소의 방향족 화합물의 분해능력을 검정하고, 이러한 laccase 효소의 활성에 미치는 inducer의 첨가효과를 구명하기 위하여 실시하였다.

갈색부후균 *Tyromyces palustris*의 수산대사를 이용한 구리의 제어

손동원 · 이동흡 · 강창호  
(임업연구원 목재가공과)

## 1. 서론

오늘날 인간에게 있어 가장 위협적인 요소는 환경의 파괴일 것이다. 하천으로 흘러 넘치는 산업폐수에는 상당량의 중금속이 포함되어 있으며, 이러한 중금속은 생물체에 축적되어 지고 생물권에서 순환되어져, 결국 생물의 유전적인 특성을 변화시키어 결국 생태계를 파괴하게 된다.

지금까지의 수질정화에 대한 노력은 주로 화학적인 방법을 이용하였으나, 2차 오염물질의 생성과 에너지 효율면이나, 경제적인 면에서 많은 문제점을 지니고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위한 하나의 방법, 즉 생물학적 방법으로 미생물을 이용하여 중금속 이온을 분리하는 방법이 있다.

구리는 산업의 기초재료로 이용되어 지는 물질이며, 생물계에 있어서도 필수적인 영양원이지만, 과다할 경우 유해한 성분이다. 인체에 있어서는 주로 뇌, 피부, 간, 이자에 구리가 축적되어져, 구리 중독을 일으킨다.

본 연구에서는 갈색부후균이 생성하는 수산을 이용하여 중금속중에서 구리를 제어하는 것을 목표로 하여 그 제어 매커니즘과 실제 공정에서 응용될 수 있도록 소형 정화조에서 그 가능성을 검토하여 보았다.

## 2. 재료 및 방법

## 2.1 공시재료

공시균으로는 갈색부후균 *Tyromyces palustris* (FRI 21055; 부후개떡버섯), *Laetiporus sulphureus* (FRI 20631; 덕다리버섯), *Gloeophyllum trabeum* (FRI 20652), *Daedalea dickinsii* (FRI 20323; 등갈색송편버섯), *Fomitopsis pinicola* (FRI 20414; 소나무잔나비버섯), *Serpula lacrymans*(FRI 20965; 버즘버섯), *Lentinus lepideus* (FRI 20641; 잣버섯)을 사용하였다.

## 2.2 배양기

배양기 조성은 glucose 25g, malt extract 10g, peptone 5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.3g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2g을 증류수에 녹여 전량이 1,000ml이 되게 조정하였으며, 고행 배양기는 위의 배양액 1,000ml에 한천 20g을 첨가하여 사용하였다.

## 2.3 방법



여 백

'97 농업환경 심포지움

# 우리나라 농업환경기준

1997년 11월 7일(금)

농촌진흥청 농업과학기술원 작물보호부 강당



## 한 국 환 경 농 학 회

후원 : 한국과학기술단체총연합회, 한국학술진흥재단, 한국농림수산과학협회

여 백

## 활성화 수피를 이용한 중금속 흡착제의 개발

양재의, 박창진<sup>1</sup>, 이해익<sup>1</sup>, 김정제  
강원대학교 자원생물환경학부, <sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학부

폐수 처리 과정 중 중금속 제거에 사용되는 침전법이나 이온 교환법 등은 2차 오염이나 고비용, 불완전 제거 등의 문제점이 있다. 본 연구는 임산부산물인 수피를 활성화(activation)시켜 중금속 제거제로의 활용 가능성을 탐색하고 이에 관한 이론을 정립하는데 그 목적이 있다.

활성화시킨 수피 흡착제를 사용하여 Batch, Air-Lift Reactor 및 Column 시험을 통해 수용액 중 Cd과 Cu의 흡착 제거 효율을 조사했다. 수피의 활성화 온도(600~900℃)에 따른 중금속 제거율, 활성화 수피와 생수피, 활성화탄이나 참숯과 같은 시판 상품과의 중금속 제거율 비교, 반응 용액의 농도와 반응 온도, 반응 시간 변화에 따른 중금속 제거율의 변화, Adsorption Isotherm, Kinetic parameter (order, rate curve, rate constant)를 통한 중금속 흡착 제거 속도와 최적 반응 시간, 흡착량의 변화와 용액의 평형 pH와의 관계 등을 기초로 하여 반응 mechanism과 흡착제로서의 가능성을 평가하여 보았다.

다양한 활성화 조건 중에서 900℃에서 활성화시킨 수피의 제거 효율이 가장 높았고, 생수피와 시판 활성화탄, 참숯과 비교하였을 때도 가장 많은 중금속을 제거하였으며, 중금속 최대 제거율( $q_{max}$ )은 반응 온도에 따라 다소 차이는 있지만 70~90mg/g 정도인 것으로 나타났다. 특히, 대부분의 다른 흡착제가 저농도에서 평형을 이루는데 반해, 본 연구에 사용된 활성화시킨 수피는 150mg/L 이하의 농도에서 중금속을 완전 제거하는 것으로 나타났으며, 반응 시작 60분내에 전체 흡착량의 90% 이상을 흡착하는 것으로 나타났다. 흡착량의 증대에 따른 pH의 감소와 흡착 전 후의 흡착제 표면 변화, Kinetic parameter를 통해 활성화 수피의 흡착 mechanism이 surface complexation에 의한 것이라고 추측할 수 있었다.

## 2,5-Xylidine을 이용한 목재부후균으로부터 Laccase 효소의 유도\*

조 남 석<sup>\*2</sup> · 김 영 신<sup>\*2</sup> · 방 명 혁<sup>\*2</sup> · 최 우 정<sup>\*2</sup> · 남 장 현<sup>\*2</sup> · 안 드 레 레 오 노 비 칙<sup>\*3</sup>

### Induction of Laccase from Wood-Rotting Fungi with 2,5-Xylidine<sup>\*1</sup>

Nam-Seok Cho · Y.S. Kim · M.H. Pang · Y.J. Choi · J.H. Nam · A. Leonowicz<sup>\*2</sup>

#### ABSTRACT

Some white-rot fungi, screened at the Laboratory of Forest Products Microbiological Chemistry, Chungbuk-National-University-were cultured and added the inducer of laccase enzyme, 2,5-xylidine. The fungi named by CB-13, CB-20, CB-99, CB-100 and CB-123 strains showed positive results in the decolorization of aromatic compounds, carminic acid and Rhemazol brilliant blue R.

Concerned to the inducing effect of 2,5-xylidine on laccase activity, CB-20, CB-100 and CB-123 strains showed very high activity by addition of 2,5-xylidine, whilst CB-13, CB-99 and CB-124 strains produced relatively high laccase enzymes, regardless of inducer addition. There were no any laccase activities on CB-25, CB-64 and CB-139, even in addition of inducer. It is confirmed that some screened fungi have decolorizing ability on aromatic compounds, carminic acid and Rhemazol brilliant blue R. Also, the addition of inducer, 2,5-xylidine, has increased the activity of laccase enzyme which is secreted from some white-rot fungi.

**Keywords** : laccase, carminic acid, Rhemazol brilliant blue R, inducer, white-rotting fungi, 2,5-xylidine, decolorization

#### 1. 서 론

급속한 산업화로 야기된 환경오염문제 중 폐수처리나 폐수의 회수 문제와 같이 수질오염에 대한 관심이 한층 더해가고 있다. 이러한 폐수중에 포함된

유해물질 가운데는 목재 리그닌유도체와 유사한 구조를 가지는 화합물이 있으며, 일부 목재부후균이 리그닌을 분해하는 점이 착안하여 이 특성을 이용, 이를 제거할 목적으로 많은 연구 (Magdoff *et al.*, 1984; Rappe, 1980)가 이루어지고 있다. 리그닌을 분해하

\*1 Received on March 26, 1998.

본 연구는 95 농림수산 기술개발사업(첨단기술개발과제) 및 한국과학재단 국제공동연구과제(985-0600-011-2)의 연구비지원으로 수행되었음.

\*2 충북대학교 농과대학 College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Republic of Korea

\*3 폴란드 마리아-큐리대학교 Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University Place 3, PL 20031, Lublin, Poland.

## *Tyromyces palustris*를 이용한 구리의 제거\*<sup>1</sup>

손 동 원\*<sup>2</sup> · 이 동 흡\*<sup>2</sup> · 강 창 호\*<sup>2</sup>

## Copper Uptake by *Tyromyces palustris*\*<sup>1</sup>

Dong-Weon Son\*<sup>2</sup> · Dong-Heub Lee\*<sup>2</sup> · Chang-Ho Kang\*<sup>2</sup>

### ABSTRACT

In this research, the removal or uptake of heavy metals such as coppers by using oxalic acid metabolism of wood rot fungi, *Tyromyces palustris* were endeavored.

As results, the addition of oxalic acid to copper containing culture did not cause the mycelium growth, but *Tyromyces palustris* was able to grow in this culture without inhibition. *Tyromyces palustris* grew with the circular halo type in copper containing culture, and this type was formed as collectives after examining by microscope; and considered as copper oxalates by analyzing FT-IR comparison experiment with standards. According to this result, *Tyromyces palustris* has secreted oxalic acid during incubation, this secreted oxalic acid was combined with coppers, and formed copper oxalates by chelating reactions. In other words, the oxalic acid was might be as non-toxifying agent of coppers in medium.

By using this copper removal mechanisms, *Tyromyces palustris* immobilized sawdust was used in bench scale air lift system for removing coppers. The added coppers were almost removed from the system within 72hrs.

Therefore, this nonenzymatic wood degradation mechanism may give a possibility for removing coppers from copper containing waste water.

**Keywords :** *Tyromyces palustris*, oxalic acid metabolism, clarification, wastewater, copper uptake

### 1. 서 론

전세계적으로 약 6만종의 화학품이 일상생활에서 쓰여지고 있으며, 매년 신종 화학물질이 200~1,000종 정도 증가되는 추세이다. 이러한 물질은 제조 및 사용과정중 화학 또는 생물학적으로 환경정화 처리가 되지 않은, 즉 수계방류기준 이상인 상태에서 수계로 방류되기 때문에 환경중 축적농도가 매년 증가 추세

에 있다(이 등, 1994).

일반적으로 중금속원소들은 자연상태에서 저농도의 상태로 수중이나 토양에 널리 분포하고 있으나 산업의 발달과 함께 자연환경이 급속하게 오염되면서 그 농도가 자연상태보다 2~3배 높게 나타나고 있으며 심한 경우는 90배가 넘는다고 한다.

이들 중금속 중 구리는 주로 그 발생원이 동판, 동선, 도금공장, 동광산 폐액 등 기초산업분야가 대부분이며, 과다하게 인체에 노출되면 급성일 경우에는

\*1 접수 1997년 12월 1일 Received December 1, 1997

\*2 임업연구원 Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea

여 백

# '98 學術發表論文集

1998 PROCEEDINGS OF THE KOREAN SOCIETY OF  
WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ANNUAL MEETING

1998年 4月 24日(金)~25日(土)  
(東國大學校)

韓國木材工學會



여 백

# 木質分解菌에 의한 Pentachlorophenol의 微生物分解<sup>\*1</sup>

최 인 규<sup>\*1</sup>·안 세 희<sup>\*2</sup>

(\*1임업연구원 임산화학과 · \*2대구대학교 산림자원학과)

## 1. 머리말

PCP는 1936년에 처음 상업적으로 소개가 된 이후 농업을 비롯한 산업 전반에서 제초제, 살균제, 살충제, 방부제 등으로 수 십년간 다양하게 이용되었다. 유기염소화합물은 발암성(carcinogenic), 돌연변이성(mutagenic) 등의 유해성이 보고되고 있으며 특히, 5개의 염소가 aromatic ring에 치환된 pentachlorophenol(이후 PCP라 명함)은 독성이 아주 강한 것으로 보고되었다(Rochkind-Dubinsky et al., 1987). 지금까지 여러 산업에서 다량으로 이용된 후 방출되고 있는 유기염소화합물의 처리에는 일부 화학적 물리적 방법, 소각 등의 방법이 이용되었으나, 넓은 범위의 오염원을 제거할 수 없고, 막대한 경비가 들어 근래는 환경수복의 방법으로 미생물을 이용한 bioremediation(生物環境修復) 기술이 환경친화적인 처리법으로 연구되고 있다. 현재까지 PCP의 분해미생물로서는 세균으로 *Pseudomonas*속(Kiyohara et al., 1992) 등을 이용하여 광범위하게 연구되어 왔으나 실제 적용에 있어서는 효율성에 문제가 제기되어, 근래에는 lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase의 균체외효소 시스템을 가지고 있는 백색부후균에 의한 난분해성 물질의 분해에 대한 관심과 기대가 증폭되어 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그러나 지금까지 주로 연구되어온 균주는 리그닌 부후력이 뛰어난 것으로 알려진 *Phanerochaete chrysosporium*과 *P. sordida* 정도이다. *P. chrysosporium*은 PCP이외에 여러 종류의 trichlorophenol(Joshi and Gold, 1993), chlorobiphenyl(Dietrich et al., 1995), dichlorodibenzo-dioxin(Takada et al., 1996) 등의 유기염소화합물에 대한 분해능이 뛰어난 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 리그닌 분해력이 우수한 목질분해균 7종을 이용하여 난분해성물질인 PCP에 대한 저항성을 살펴보고, 저항성이 우수한 균주 3종을 선발하여 PCP에 대한 분해력 및 분해속도를 HPLC를 이용하여 규명하였다. 또한 분해대사산물로 발생하는 화합물을 GC/MS로 분석하여 PCP의 분해mechanism을 추론하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 시약

Pentachlorophenol(purity, 99%)은 Wako Chemical Co.에서, Bacto-peptone 등의 균주배양용 시약은 Difco 등에서 구입하여 사용하였다.

### 2.2 공시균주 및 배양

사용된 균주의 종류는 아래와 같다. *Ganoderma lucidum*(20435, G5), *Ganoderma lucidum*(20432, G2), *Phanerochaete chrysosporium*(PH), *Coriolus versicolor*(CO),

## FRI 20621 균체 고정화를 이용한 6가 크롬의 제거

민 용 원<sup>1</sup> · 이 동 흡<sup>1</sup> · 이 해 익<sup>2</sup> · 정 연 호<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>임업연구원 목재가공과 · <sup>2</sup>강원대학교 식품생명공학부)

### 1. 서 론

FRI 20621(백색부후균)을 이용하면 수질오염원인 6가 크롬과 비소를 제거할 수 있음을 지난해에 보고한 바 있다. 이 균은 담자균류로 박테리아보다 균사체가 수천배내지 수만배 이상 크기 때문에 자연상태에서는 박테리아 등에 오염이 되고, 이와 더불어 6가 크롬의 제거능력도 상실되어진다. 따라서 이 균을 산업현장에서 크롬제거능을 유지시키면서 장기 사용하도록 하기 위해서는 균체에 다른 잡균이 들어가지 않도록 피막으로 고정화시키는 특수기능을 부여하여야 한다.

균체의 고정화에는 담체결합법, 가교중합법과 겔包括法이 있으며, 고정화 재료에 따라서 각종 물질이 이용되고 있고, 균의 특성을 고려하여서 본래의 기능을 잘 발휘할 수 있는 최적의 담체를 사용하여야 한다. 본 연구에서는 담체결합을 위해 다공질유리인 glass bead와 해조류인 알긴산을 포괄제로 사용하였다.

FRI 20621균체가 산업현장의 폐수와 접촉에서 최대의 크롬제거기능을 발휘하게 하기 위하여 우선 균체와의 적성을 알기 위하여 최적 배양 방법을 모색해 보았다. 그리고 stirred reactor, airlift reactor, packed bed reactor 등 여러 반응 시스템에서 제거효율을 조사하였다. 이 과정은 농림부 첨단과제로 실시하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 공시균주

# 은행나무의 낙엽을 이용한 크롬의 흡착 제거

이 동 흡 · 민 용 원 · 강 창 호 · 손 동 원

(임업연구원 목재가공과)

## 1. 서 론

은행나무(*Ginkgo biloba* L.)은 내공해 수종으로 가로수, 방화수, 정자목 등으로 식재되고 있으며, 최근 잎은 고혈압, 심장병 등의 약용으로 이용되고 있다.

본 연구에서 은행나무 낙엽은 크롬에 대한 흡착능력이 뛰어난을 밝혀졌다. 이러한 은행나무 낙엽의 효율적 이용을 위해 독성을 가지는 6가 크롬의 선택적 흡착 현상과 이를 이용한 연속식 대량 수처리 시스템의 개발을 목적으로 적용 가능성을 조사하였다. 이를 위해 흡착 등온선을 구하였고, stirred reactor, airlift reactor, packed bed reactor 등 여러 반응 시스템에서의 제거속도를 조사함으로써 최적 접촉시스템의 선정을 위한 기초연구를 농림부 첨단연구과제로 수행하였다.

## 2. 실험 및 방법

### 가. 공시재료

#### (1) 공시재료

공시재료는 은행나무(*Ginkgo biloba* L.)의 낙엽을 이용하였다. 은행나무잎은 가을철 낙엽 후 곧바로 수거하여 이용하였으며, 약 50℃에서 48시간동안 건조시킨 후 마쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄된 은행잎은 40~80 mesh의 크기로 채로 거른 것을 사용하였다.

#### (2) 공시 크롬 폐액

CrO<sub>3</sub>을 물에 희석한 것을 공시 폐액으로 하였으며, 폐액농도는 각각

## 소나무 및 상수리나무 수피를 이용한 카드뮴 흡착

민 용 원<sup>1</sup> · 이 동 흡<sup>1</sup> · 이 해 익<sup>2</sup> · 정 언 호<sup>2</sup> · 백 기 현<sup>3</sup>  
 ( <sup>1</sup>임업연구원 목재가공과 · <sup>2</sup>강원대 식품생명공학부 · <sup>3</sup>고려대 산림자원학과 )

### 1. 서 론

목재체적의 약 10~20%에 상응하는 대량의 수피가 경제적인 이용방도를 찾지 못한채 임산 폐기물로 버려지고 있다. 수피는 잘 썩지 않고 폐기가 용이하지 않으며 공장주변 환경오염을 야기시키기 때문에 수피 이용의 합리적 방안이 요구되어지고 있다. 한때 수피를 이용하여 해수중의 우라늄 추출이 주목을 받았으나 경제성의 문제로 연구가 지속되지 못하고 있다. 수피 성분 중 타닌은 2가 중금속을 이온교환방법으로 결합시키며, 또 수피와 중금속의 착염현상이 중금속을 수피중에 고정시킨다는 보고도 있다.

본 연구에서는 수피의 효율적 이용을 위해 2가의 중금속인 카드뮴을 대상으로 흡착을 유도하였으며 이를 중금속 제어시의 흡착재로 이용하기 위해 airlift reactor, packed bed reactor를 이용하여 카드뮴 제거 효율성을 검토 비교하기 위한 기초연구를 농림부 첨단연구과제로 수행하였다.

### 2. 실험 및 방법

#### 가. 공시 재료

(1)공시재료 : 공시재료는 소나무(*Pinus densiflora*)와 상수리나무(*Quercus acutissima*)의 수피를 이용하였다. 수피를 약 50℃에서 48시간동안 건조시킨 후 마쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄된 수피를 40~80 mesh의 크기로 체로 거른 것을 사용하였다.

(2)공시 카드뮴 폐액 : 황산카드뮴( $CdSO_4$ )을 물에 희석한 것을 공시 폐액으로 하였으며, 폐액농도 각각 0, 10, 30, 50, 100, 200, 500, 1000mg/L 수준으로 하였다.

## 느타리버섯 폐면배지를 이용한 카드뮴의 제거

민 용 원<sup>1</sup> · 이 동 흡<sup>1</sup> · 이 해 익<sup>2</sup> · 정 연 호<sup>2</sup>  
 (\*<sup>1</sup>임업연구원 목재가공과 · <sup>2</sup>강원대학교 식품생명공학부)

### 1. 서 론

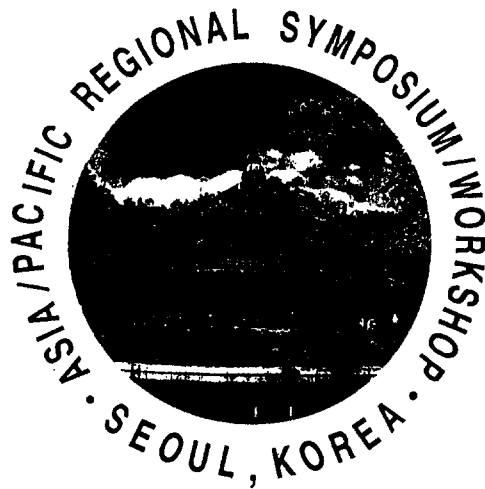
느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)은 국내에서는 물론 세계 각국에서도 잘알려져 있는 버섯으로 각종 闊葉樹의 枯死木 叢生 또는 群生으로 발생하며 재배하기가 비교적 쉽기 때문에 세계적으로 널리 인공재배되고 있다. 인공재배에는 농산부산물인 톱밥, 볏짚, 사탕수수박, 옥수수박, 폐면, 바나나 줄기나 잎 등을 광범위하게 이용할 수 있으며, 국내에서는 톱밥, 볏짚, 폐면배지를 이용하고 있다. 그러나 버섯생산후 폐면배지는 처리하기가 곤란하여 최근 축산용 조사료로 개발하고 있지만 아직은 연구개발 단계에 있기 때문에 대부분 야적 방치하고 있다. 이 경우 악취 등 환경문제를 야기시키므로 이들의 적절한 처리방법이 요구된다.

이러한 때 느타리버섯 폐면배지가 카드뮴 이온을 선택적으로 흡착할 수 있다는 사실이 발견되어 이를 산업적으로 이용하기 위한 가능성을 검토하였다. 만일 이러한 부산물을 이용한 카드뮴 처리공정의 개발이 성공을 거둘 경우 방치되는 폐자원의 재활용과 측면과 이를 환경처리제로 이용하는 이중효과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 따라서 본 연구에서는 느타리버섯 폐면배지에 의한 카드뮴의 선택적 흡착현상과 이를 이용한 연속식 대량 수처리 시스템의 개발을 목적으로 적용 가능성을 조사하였다. 이를 위해 카드뮴 흡착등온선을 구하였고, batch stirred reactor, airlift reactor, packed bed column 등 여러 반응 시스템에서의 제거속도를 조사함으로써 최적 접촉시스템의 선정을 위한 기초연구를 농림부 첨단연구과제로 수행하였다.

여 백



SETAC/UNIDO ASIA/PACIFIC REGIONAL SYMPOSIUM/WORKSHOP  
ON  
ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT AND MANAGEMENT OF CHEMICALS



ABSTRACT BOOK

20-24 APRIL 1998

SEOUL, REPUBLIC OF KOREA



여 백

## ACTIVATION OF BARK FOR HEAVY METAL ADSORBENT

Jae E. Yang\*, Chang Jin Park\*, Jeong Je Kim\* and Hae Ik Rhee\*\*

\*Division of Biological Environment, \*\*Division of Food & Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Objective of this research was to develop the adsorbent for heavy metals by activating the bark (ACTBARK) at temperatures of 600–900°C under a high relative humidity condition. Batch and air-lift reactor experiments were conducted to assess the efficiency of the ACTBARK for Cu and Cd removal from aqueous solution. Removal efficiency of the ACTBARK for Cu and Cd was highest at 900°C, at which more Cu and Cd were adsorbed than the commercial activated carbon and charcoal. Nearly all of the Cu and Cd in solution with concentrations less than 150 mg/L were removed. The weight of adsorbed metal per unit ACTBARK was ranged from 50 to 80 mg/g, but those values were decreased with lowering activation temperature. pH of the equilibrating solution was decreased as increasing Cu and Cd adsorption on the ACTBARK. Adsorption isotherm of the ACTBARK for Cu and Cd followed the Langmuir type. Cadmium adsorption on the ACTBARK followed the multiple first-order kinetics, but Cu adsorption showed the single first-order kinetics. Selectivity of the ACTBARK was in the order of Cu >> Zn > Ni > Pb > Fe > Cd > Mn >> Mg ≈ Ca. Removal efficiency (%) of the ACTBARK for Cd and Cu in the air-lift reactor were about 80% within 60 minutes of reaction time. Results demonstrated that the mechanism of the ACTBARK for Cu and Cd adsorption was assumed to be surface complexation.

木質分解菌에 의한 Pentachlorophenol의 微生物分解<sup>\*1</sup>

崔仁圭<sup>\*2</sup>·安世喜<sup>\*2</sup>

Biodegradation of Pentachlorophenol by  
Various White Rot Fungi<sup>\*1</sup>

In-Gyu Choi<sup>\*2</sup> · Sye-Hee Ahn<sup>\*3</sup>

ABSTRACT

In this research, 7 species of white rot fungi were used for determining the resistance against pentachlorophenol (PCP). Three fungi with good PCP resistance were selected for evaluating the biodegradability, and biodegradation mechanism by HPLC and GC/MS spectrometry.

Among 7 fungi, there were significant differences on PCP resistance on 4 different PCP concentrations. In the concentrations of 50 and 100ppm ( $\mu\text{g}$  of PCP per g of 2% malt extract agar), most fungi were easily able to grow, and well suited to newly PCP-added condition, but in that of more than 250ppm, the mycelia growths of *Ganoderma lucidum* 20435, *G. lucidum* 20432, *Pleurotus ostreatus*, and *Daldinia concentrica* were significantly inhibited or even stopped by the addition of PCP to the culture. However, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, and *Inonotus cuticularis* still kept growing at 250ppm, indicating the potential utilization of wood rot fungi to high concentrated PCP biodegradation. Particularly, *P. chrysosporium* even showed very rapid growth rate at more than 500ppm of PCP concentration.

Three selected fungi based on the above results showed an excellent biodegradability against PCP. *P. chrysosporium* degraded PCP up to 84% on the first day of incubation, and during 7 days, most of added PCP were degraded. *T. versicolor* also showed more than 90% of biodegradability at 7th day, and even though the initial stage of degradation was very slow, *I. cuticularis* has been approached to 90% at 21st day after incubation with dense growing pattern of mycelia. Therefore, the PCP biodegradability was definitely dependent on the rapid suitability of fungi to newly PCP-added condition. In addition, the PCP biodegradation by filtrates of *P. chrysosporium*, *T. versicolor*, and *I. cuticularis* was very minimal or limited, suggesting that the extracellular enzyme system may be not so significantly related to the PCP biodegradation.

\*1 접수 1998년 6월 20일 Received June 20, 1998

\*2 일원연구원 임산공학부 Forestry Research Institute, Forest Products Technology Div. 207 Cheongnyangri Dong, Dongdaemoon Gu, Seoul 130-012, Korea

\*3 대구대학교 산림자원학과 Dept. of Forest Resources, Taegu University, Kyungsan 712-714, Korea

木質分解菌에 의한 4,5,6-Trichloroguaiacol의 微生物分解\*<sup>1</sup>

安世喜\*<sup>2</sup> · 崔仁圭\*<sup>2</sup>

Biodegradation of 4,5,6-Trichloroguaiacol by White Rot Fungi, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, and *Inonotus cuticularis*\*<sup>1</sup>

Sye-Hee Ahn\*<sup>2</sup> · In-Gyu Choi\*<sup>3</sup>

ABSTRACT

In order to evaluate the biodegradability and mechanism of 4,5,6-trichloroguaiacol (TCG) produced from bleaching process in pulp mill by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, and *Inonotus cuticularis*, changes in TCG and its metabolites during biodegradation were analyzed by HPLC, and GC/MS spectrometry.

By three fungi, the maximum biodegradability against TCG were very quickly reached, compared with other chlorinated aromatic compounds such as PCP. Within 24 hrs, *T. versicolor* indicated up to 95% of TCG removal rate, and *P. chrysosporium* and *I. cuticularis* also showed more than 80%, and 90%, respectively. Particularly, in case of *T. versicolor*, the removal rate of TCG after 1 hr. incubation was reached to approximately 90%, implying very rapid metabolization of TCG. However, by analyzing the filtrates extracted from TCG containing culture by GC/MS, the major metabolites at initial stage of biodegradation were dimers, indicating that the added TCG monomers were quickly polymerized. The others were trichloroveratrole, dichloroguaiacol, and trichlorobenzoic acid, suggesting that TCG may be biodegraded by several sequential reactions such as polymerization, oxidation, methylation, dechlorination, and hydroxylation.

In other experiments, the extracellular fluid which did not contain any fungal mycelia was used to evaluate the effect of mycelia on TCG biodegradation. The extracellular fluid of *T. versicolor* also biodegraded TCG up to 90% within 24hrs, but those of *P. chrysosporium* and *I. cuticularis* did not show any good biodegradability. *T. versicolor* showed the highest value of laccase, and other two fungi indicated a little activity of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP). In addition, the laccase activity of *T. versicolor* was very linearly proportional to the removal rate of

\*<sup>1</sup> 접수 1998년 6월 20일 Received June 20, 1998

\*<sup>2</sup> 대구대학교 산림자원학과 Dept. of Forest Resources, Taegu University, Kyungsan 712-714, Korea

\*<sup>3</sup> 임업연구원 임산공학부 Forestry Research Institute, Forest Products Technology Div. 207 Cheongnyangri Dong, Dongdaemoon Gu, Seoul 130-012, Korea

여 백

사단법인 한국생물공학회  
'97 생물화공 연구결과 발표 및  
1998년도 추계학술발표대회



일 시 : 1998. 10. 16(금) ~ 17(토)  
장 소 : 한양대학교 안산캠퍼스 백남학술관  
주 최 : 한국생물공학회

# 여 백

P417	이동훈*, 민용원*, 손동원*, 이해익**, 정인호** 임업연구원 임산공학과*, 강원대학교 식품생명공학부** 고령화 관색부추근줄 이용원 중금속 함유 산업폐수의 처리 술 조, 장영민, 이기동, 박민성, 명성운, 정육진, 정병철*	16일 (금)
P418	영기대학교 정경기술원(화학공학과, 생명과학과)* A comparative study of lead biosorption to <i>Zoogloea ramigera</i> HFSLR, <i>Dunaliella bardaui</i> and chitin in a packed bed column	16일 (금)
P419	성기돈, 이진석, 이주노, 신철승, 박순철 한국에너지기술연구원, 바이오메스팀 CO <sub>2</sub> 내성균주 <i>Chlorella</i> sp. KR-1에 대한 SO <sub>x</sub> 와 NO <sub>x</sub> 의 영향	16일 (금)
P420	황실훈, 이상호, 경수배, 김덕술, 송주영 창원대학교 공업화학과, 생물공학연구소	16일 (금)
P421	<i>Paracoccus denitrificans</i> 의 permeabilization에 의한 탈질역가 김윤자, 고성환, 이현우, 오영숙, 이홍금, 김상진 한국해양연구소 해양생물부 미생물연구소	16일 (금)
P422	Oil Resin 분해 미생물 분리 및 분해능 조사 조귀준, 김은기 인하대학교 생물공학과 환경응용생물공학실 식품부산물로부터 미생물계면활성제의 생산	16일 (금)
P423	김상희, 이범규, 김중균 부경대학교 생물공학과 PVA에 고정화 시킨 탈질균에 의한 질산염의 제거	16일 (금)
P424	Sung-Ho Lee, You-Kwan Oh, Hyo-Surb Kim, Sunghoon Park Department of Chemical Engineering, Pusan National University BIODEGRADATION OF C. I. REACTIVE BLUE 144 IN A CONTINUOUS UPFLOW ANAEROBIC SLUDGE BLANKET REACTOR	16일 (금)
P425	김효선, 오유관, 이성호, 박성훈 부산대학교 화학공학과 Adsorption of C. I. Reactive Blue 114 on Anaerobic Granular Sludge	16일 (금)
P426	고성환, 심두섭, 김윤자, 이홍금, 김상진 한국해양연구소 해양생물부 미생물연구소 유류분해 미생물 혼합제제 개발 및 현장적용성 연구	16일 (금)
P427	이재찬, 이기영 전남대학교 생물화학공학과 다당을 이용한 유화 및 직류전류에 의한 탈유화	16일 (금)
Section 5	생변환 및 효소공학	발표일
P501	이경희, 유연우 아주대학교 화학생물공학부 (S)-Ketoprofen 분할용 고효율 효소탐색	17일 (토)
P502	송기범, 서정우, 장기효, 김철호, 정봉현*, 이상기 Microbial Metabolic Engineering and Bioprocess Research Unit*, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology Two levansucrases from <i>Zymomonas mobilis</i> and <i>Rahnella aquatilis</i> : Comparison of molecular and enzymatic characteristics	17일 (토)



P407	Jung Rae Kim <sup>1</sup> , Hyun Ok Jung <sup>1</sup> , Gyo Yeol Jung <sup>2</sup> , Sunghoon Park <sup>1</sup> <sup>1</sup> Department of Chemical Engineering, Pusan National University <sup>2</sup> Institute for Environmental Technology and Industry, Pusan National University Enhancement of the stability of CO bioconversion activity of <i>Citrobacter</i> sp. Y19 by addition of iron sulfate and potassium phosphate	16월 (금)
P408	Hyun-ok Jung, Jung-rae Kim, Gyo-yeol Jung <sup>*</sup> , Sung-hoon Park Department of Chemical Engineering, Pusan National University Institute for Environmental Technology and Industry, Pusan National University Isolation and Identification of <i>Rhodospseudomonas</i> sp. P4 Which Converts Carbon Monoxide to Hydrogen	16월 (금)
P409	백기태, 김충식, 이현호, 양지원 한국과학기술원 화학공학과 가용화 방식에 따른 <i>Rhodococcus rhodochrous</i> IGTS8의 탈황능 연구	16월 (금)
P410	Ki Beom Lee and Seung-Hyeon Moon Dept. of Environmental Science and Engineering, Kwangju Institute of Science and Technology A study on oxidation of veratryl alcohol by lignin peroxidase in an electrochemical reactor	16월 (금)
P411	박시재, 이상엽 <sup>*</sup> , 장용근 한국과학기술원 화학공학과 Cloning of desulfurization genes from newly isolated <i>Gordona</i> sp. CYKS1	16월 (금)
P412	이재열, 강현아, 조중훈, 양지원 한국과학기술원 화학공학과 <i>Chlorella</i> sp. HA-1에 의한 이산화탄소의 생물학적 고정화	16월 (금)
P413	양진우, 장덕진 명지대학교 화학공학과 미생물의 비성장속도와 지연기의 측정을 통한 유해오염물질의 독성검사	16월 (금)
P414	의승우, 이준명, 장덕진 명지대학교 화학공학과 <i>Pseudomonas putida</i> F1과 <i>Burkholderia cepacia</i> G4에 의한 BTEX, trichloroethylene의 분해시 기질간의 상호작용	16월 (금)
P415	전주미 <sup>*</sup> , 민용원 <sup>**</sup> , 이동흙 <sup>**</sup> , 손동원 <sup>**</sup> , 이해익 <sup>*</sup> , 정연호 <sup>*</sup> 강원대학교 식품생명공학부 <sup>*</sup> , 임업 연구원 <sup>**</sup> 백색부후균을 이용한 크롬 제거에 관한 연구	16월 (금)
P416	이찬진 <sup>*</sup> , 민용원 <sup>**</sup> , 이동흙 <sup>**</sup> , 손동원 <sup>**</sup> , 이해익 <sup>*</sup> , 정연호 <sup>*</sup> 강원대학교 식품생명공학부 <sup>*</sup> , 임업 연구원 <sup>**</sup> Maze tank system을 이용한 광산폐수중의 중금속 제거	16월 (금)

P417	이동훈*, 민용원*, 손동원*, 이해익**, 정연호** 임업연구원 임산공학부*, 강원대학교 식품생명공학부** 고정화 갈색부후균을 이용한 중금속 함유 산업폐수의 처리	16일 (금)
P418	송훈, 강영민, 이기동, 박민정, 명정은, 정옥진, 정병철* 명기대학교 청정기술원/화학공학과, 생명과학과* A comparative study of lead biosorption to <i>Zoogloea ramigera</i> 115SLR, <i>Dunaliella bardawil</i> and chitin in a packed bed column	16일 (금)
P419	성기훈, 이진석, 이주노, 신철승, 박순철 한국에너지기술연구소 바이오메스팀 CO <sub>2</sub> 내성균주 <i>Chlorella</i> sp. KR-1에 대한 SO <sub>x</sub> 와 NO <sub>x</sub> 의 영향	16일 (금)
P420	황신연, 이상호, 정수배, 김덕술, 송주영 창원대학교 공업화학과, 생물공학연구소 <i>Paracoccus denitrificans</i> 의 permeabilization에 의한 탈질역가	16일 (금)
P421	김윤자, 고성환, 이현우, 오영숙, 이홍금, 김상진 한국해양연구소 해양생물부 미생물연구소 Oily Resin 분해 미생물 분리 및 분해능 조사	16일 (금)
P422	조귀준, 김은기 인하대학교 생물공학과 환경응용생물공학실 식품부산물로부터 미생물계면활성제의 생산	16일 (금)
P423	김상희, 이범규, 김중균 부경대학교 생물공학과 PVA에 고정화 시킨 탈질균에 의한 질산염의 제거	16일 (금)
P424	Sung-Ho Lee, You-Kwan Oh, Hyo-Surb Kim, Sunghoon Park Department of Chemical Engineering, Pusan National University BIODEGRADATION OF C. I. REACTIVE BLUE 144 IN A CONTINUOUS UPFLOW ANAEROBIC SLUDGE BLANKET REACTOR	16일 (금)
P425	김효섭, 오유관, 이성호, 박성훈 부산대학교 화학공학과 Adsorption of C. I. Reactive Blue 114 on Anaerobic Granular Sludge	16일 (금)
P426	고성환, 심두섭, 김윤자, 이홍금, 김상진 한국해양연구소 해양생물부 미생물연구소 유류분해 미생물 혼합계재 개발 및 현장적용성 연구	16일 (금)
P427	이재찬, 이기영 전남대학교 생물화학공학과 다당을 이용한 유화 및 직류전류에 의한 탈유화	16일 (금)
Section 5	생변환 및 효소공학	발표일
P501	이경희, 유연우 아주대학교 화학생명공학부 (S)-Ketoprofen 분할용 고효율 효소탐색	17일 (토)
P502	송기범, 서정우, 장기효, 김철호, 정봉현*, 이상기 Microbial Metabolic Engineering and Bioprocess Research Unit*, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology Two levansucrases from <i>Zymomonas mobilis</i> and <i>Rahnella aquatilis</i> ; Comparison of molecular and enzymatic characteristics	17일 (토)

## 백색부후균을 이용한 크롬 제거에 관한 연구

전주미\*, 민용원\*\*, 이동훈\*\*, 손동원\*\*, 이해익\*, 정연호\*  
강원대학교 식품생명공학부\*, 입업 연구원\*\*

### 서론

크롬 화합물은 산업적으로 많이 이용되고 있으며, 도시와 산업폐수로부터 해양과 민물에 침전되어 환경 오염을 일으키는 요인으로 작용한다. Cr(VI)은 수용성 오염물질로 독성을 지닌 발암물질이고, Cr(III)은 자연계에서 불용성으로 존재하는 화합물로 무독성이다.

Cr(VI)을 Cr(III)으로 환원시키는 작용은 무독화 과정뿐만이 아니라 수용성 환경에서 크롬의 제거를 최대화하는데 필요하다. 최근, Cr(VI)의 생물학적 처리는 Cr(VI)을 Cr(III)으로 환원시킬 수 있는 다양한 미생물이 발견되면서 점점 더 주목받고 있다.

이 연구에서는 기존의 백색부후균과는 다르게 크롬에 저항성을 지닌 백색부후균(FRI 20621)을 이용하여 세포벽 성분(chitin, melanin)과 물리화학적 흡착에 의한 크롬제거와 세포내 효소에 의해 토양과 산업폐수에 존재하는 수용성 오염물질로 독성을 지닌 Cr(VI)을 무독성, 불용성인 Cr(III)으로 환원시키는 메커니즘에 대해 조사하였다.

### 실험

고농도의 크롬용액 존재 하에서 FRI 20621이 성장하면서 크롬을 제거할 수 있는지 확인하기 위해서 초기 크롬 농도 13000ppm, 28°C, pH 4.2, 200rpm의 조건에서 5일 동안 배양하였다. 총 크롬 양은 atomic absorption spectrophotometer를 사용하여 측정하였고, Cr(VI)은 diphenylcarbazide 법으로 결정하였다. Bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Bradford 방법으로 단백질 양을 정량하였고, sodium dedecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis는 Laemmli 방법을 이용하였으며, 전기 영동이 gel 염색은 silver staining하였다. Peroxidase와 laccase의 활성은 ABTS-reagent를 이용하여 분석하였다.

### 결과 및 토의

수용성인 Cr(VI)은 독성이 강하기 때문에 폐수로부터 이를 제거하기 위한 연구가 많이 진행되었다. Cr(VI)을 환원하는 성질이 세균에서 널리 알려지고 있다. *Pseudomonas*속 세균은 물론 *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Ds. vulgaris*등 통성 및 편성 혐기성 세균이 Cr(VI)을 환원하는 것으로 알려지고 있다. 하지만 백색부후균에 대한 것은 아직 연구된 바가 없다. 대부분의 Cr(VI)을 환원하는 세균은 Cr(VI)에 대한 내성이 높은 것으로 보고되고 있다. 백색부후균도 마찬가지로 크롬에 대해 내성을 지니는 것으로 확인되었다. Fig.1.에서는 크롬용액을 백색부후균에 의해 접촉시킨후 잔존 총 크롬 양을 시간에 따른 변화를 조사한 것으로 약 30%의 제거율을 보였고, 배지의 색이 초록색으로 변하는 것으로 보아 크롬제거가 생물학적 흡착뿐만 아니라 무독화에 의한 가능성을 육안으로 확인 할 수 있었다.

백색부후균에 의한 중금속제거의 이용가능성이 확인됨에 따라 크롬을 제거하는 메커니즘을

## Maze tank system을 이용한 광산폐수중의 중금속 제거

의창진\*, 민용원\*\*, 이동훈\*\*, 손동원\*\*, 이해익\*, 정연호\*

강원대학교 식품생명공학부\*, 임업연구원\*\*

전화 (0361) 250-6484, FAX (0361) 54-3835

### 서론

최근 국민 생활 수준의 향상에 따라 버섯류의 소비 및 생산이 증대되고 있다. 또한 버섯재배도 그 동안은 원목재배에 의존하였으나 톱밥배지나 짚배지등 고체배지를 이용한 재배방법이 최근 각광을 받고 있다. 이러한 고체배지를 이용할 경우 생산성이 원목재배보다 높고 시설 자동화가 가능하여 노동비 절감 및 균질의 제품을 생산할 수 있는 장점이 있다. 하지만 이러한 고체배지는 버섯생산 후 처리하기가 곤란하여 최근 축산용 조사료로 개발하고 있지만 아직은 연구개발 단계에 있기 때문에 대부분 야적 방치하고 있다. 이 경우 악취등 오히려 환경문제를 일으키고 있어서 이들의 적절한 처리방법이 요구된다. 이러한 느타리 버섯 폐배지가 중금속 이온을 선택적으로 흡착할 수 있다는 사실이 발견되어 이를 폐광산의 침출수 처리제로 이용함으로써 적극적으로 환경문제를 해결할 수 있는 이중효과가 기대된다.

따라서 본 연구에서는 느타리 버섯 폐배지를 이용하여 최근 문제가 되고 있는 폐광 침출수로부터 중금속을 제거할 수 있는 실용화 시스템의 simulation model로서 maze tank system을 이용한 중금속의 제거를 시도하였고 실제 현장 실험을 통해 실용화 가능성을 조사하였다.

### 실험

Maze tank system내에서 느타리 버섯 폐배지에 의한 시간에 따른 카드뮴과 아연 이온의 흡착정도를 알아보기 위해 접촉조내에 600g의 느타리 버섯 폐배지를 100g 씩 나누어 담은 6개의 sack을 Fig.1 과 같은 각 미로 사이에 고정시킨 후, 카드뮴의 경우 초기농도 7 ppm의 카드뮴 용액을 20 mL/min의 flow rate로 6 liter의 working volume을 유지하며 8 시간 접촉시켰다. 또한 아연의 경우 초기농도 18 ppm의 아연 용액을 20 mL/min의 flow rate로 7 liter의 working volume을 유지하며 23 시간 접촉시켰다. 흡착 후 시간에 따른 각 중금속의 잔존 농도를 AA(Atomic Absorption Spectrophotometer)를 이용하여 측정하였다. 한편 현장 적용 실험을 위하여 scale-up된 장치를 경기도 화성군에 있는 삼보광산에 설치하여 실용화 가능성을 조사하였다.

## 고정화 갈색부후균을 이용한 중금속 함유 산업폐수의 처리

이동훈\*, 민용원\*, 손동원\*, 이해익\*\*, 정연호\*\*

임업연구원 임산공학부\*, 강원대학교 식품생명공학부\*\*

전화 ( 02 ) 961-2575, FAX (02) 967-5101

### 서론

백색부후균은 균체내 생리대사물질로 수산(oxalic acid)을 이용하는 반면, 갈색부후균은 수산을 배양기중에 축적한다. 축적되어진 수산이 금속이온과 반응하여 착염체를 형성함은 손<sup>1)</sup> (1998)등에 의해 발표되어진 바 있다. 담자균류에 속하는 갈색부후균은 무균상태에서 이용이 가능하며, 자연상태에서는 장기간 사용이 불가능하기 때문에 실제 산업 폐수의 적용에 어려움이 있다.

본 실험에서는 이러한 갈색부후균의 기작을 현장에서 장기간 이용하기 위한 1단계의 시도로 sodium alginate로 균체를 고정화하였다. 이를 구리, 아연 및 카드뮴이 다량 함유된 산업폐수의 정화를 위해 pilot scale의 airlift reactor에서 처리를 시도하고 이에 따른 중금속류의 제어 효과를 검토하였다.

### 실험방법

선발된 균주는 갈색부후균 *Tyromyces palustris*(균주보존번호 이하 FRI 21055로 칭함)으로 임업연구원에서 분양 받아 사용하였다. FRI 21055은 균체 배양을 위해 glucose(25g/l), MgSO<sub>4</sub>(2g/l), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(3g/l), malt extract(10g/l), peptone(5g/l)을 이용하여 배양하였다. 한편 균체 고정화를 위해 sodium alginate 3%(w/v)를 이용하였다. 실제 산업폐수를 적용하기 위해 전자회로기판 공장폐수와 광산의 광미 침출수를 현장에서 도입한 후, 임업연구원 내에 설치되어 있는 pilot plant scale의 airlift reactor에서 실시하였다.

### 결과 및 토의

FRI 21055 균주의 구리제어 기작은 균이 분비하는 수산에 의해 구리 착염이 형성됨이라는 것이 보고된바 있다. 따라서 이를 산업폐수에 적용하기 위해 FRI 21055 균주를 alginate bead로 고정하고, 성남시 소재 (주)주양전자의 전자회로기판제조 공장폐수에 적용한 결과를 Fig.1에 나타내었다. 동 폐수 중에는 구리 90mg/L, 망간과 아연이 약 8mg/L, 그외 다수의 중금속이 소량 함유되어 있었다. Airlift reactor상에

# Protecting Land, Water, Biological Resources



90th Annual Meeting  
Baltimore, MD • Oct. 18-22, 1998

American Society of Agronomy  
Crop Science Society of America  
Soil Science Society of America

여 백

pm

**Div. A-5/A-6**  
**Div. S-II—SOILS AND ENVIRONMENTAL QUALITY**

Session 10—Baltimore Convention Center, Exhibit Hall  
ABCD, First Floor

**SOIL AND WATER REMEDIATION**

Posters on Display 8:00 am–5:00 pm

AUTHORS PRESENT 2:30–4:30 pm

Poster  
no.

- 1517 **Guidelines for Land Farming Pesticide-Contaminated Soils.** B.D. COOK, P.R. BLOOM, G.S. EISSNER, B.L. MURDOCK, Univ. of Minnesota, Minnesota Dept. of Agric., and Texas on Environ.
- 1518 **Bulrush Response to Simazine and Metolachlor in Constructed Wetlands from a Container Nursery.** S.N. LANSFORD, G.K. STEARMAN, D.B. GEORGE, K.L. CARLSON, C.D. BELLW, Tennessee Tech Univ.
- 1519 **Effect of a Pseudomonas Rhamnolipid Biosurfactant on Herbicide Sorption in Soil.** M.A. LOCKE\*, R.M. ZABLOTOWICZ, J.T. TREVORS, H. LEE, USDA-ARS, Stoneville, MS and Univ. of Guelph
- 1520 **Iron-Enhanced Remediation of RDX-Contaminated Water and Soil.** J. SINGH\*, S.D. COMFORT, P.J. SHEA, Univ. of Nebraska
- 1521 **Bioaccessible Lead Distribution as Effected by Phosphate Leaching.** J. YANG\*, S.W. CASTEEL, R.W. BLANCHARD, D. MOSBY, Univ. of Missouri
- 1522 **Chelate-Assisted Phytoextraction of Lead from Contaminated Soils.** G.B. BEGONIA\*, M.T. BEGONIA, M.S. KAMBHAMPATI, Jackson State Univ. and Southern Univ., New Orleans, LA.
- 1523 **Removal of Cadmium Ion from Wastewater by Waste Solid Media of Pleurotus.** H.I. RHEE\*, Y.H. JEONG, D.H. LEE, J.E. YANG, Kangwon Nat'l Univ. and Forestry Res. Inst., Korea.
- 1524 **Development of the Adsorbent for Heavy Metals by Activation of Bark.** J.E. YANG\*, C.J. PARK, H.I. RHEE, D.H. LEE, J.J. KIM, Kangwon Nat'l Univ. and Forestry Res. Inst., Korea.
- 1525 **Enhancement of Cr and U Phyto remediation in Soils.** H. SHAHANDEH\*, L.R. HOSSNER, Texas A&M Univ.
- 1526 **Effects of Tall Fescue on Soil Selenium Redistribution, Leaching, and Biostratation in Soils Contaminated by Selenium.** L.L. WU\*, X. GUO, M.A. HARIVANDI, Univ. of California-Davis
- 1527 **Evaluating Endpoint of Bioremediated Hydrocarbon Contaminated Soils: Water Repellency.** X. LI\*, Y. FENG, N. SAWATSKY, Alberta Res. Council and Univ. of Alberta.
- 1528 **Bio-Denitrification of Groundwater Using Innocuous Vegetable Oil.** W.J. HUNTER, USDA-ARS, Fort Collins, CO.
- 1529 **Impact of Domestic Wastewater Quality and Application Rate on Soil Depth Required for Renovation.** N. RUDY, R.B. RENEAU JR., C. HAGEDORN, VPI&SU

**Wednesday pm**

**ENVIRONMENTAL QUALITY**

Session 11—Baltimore Convention Center, Room 301,  
Third Floor

PRESIDING: John Hutson, Flinders Univ., Adelaide, Australia

**PHYTOACCUMULATION AND REMEDIATION**

- 1:40 **Introductory Remarks.**
- 1:45 **Is Phytoremediation for Fertilizer-Derived Cadmium Possible?** M.J. MCFUGHEIN, R.F. HAMON, R.T. HENDERSON, M.K. SMARE, CSIRO Land and Water Australia.
- 2:00 **Sunflower Trace Metal Uptake via Mycorrhizal Hyphae.** K.B. LEE\*, P.D. SMITH, S.E. WILLIAMS, Univ. of Wyoming
- 2:15 **Phytoremediation of Organic Contaminants Using Forage Crops.** T. CHEKOL, E.K. DZANTOR, R. VOUGH, Univ. of Maryland
- 2:30 **On-Farm Use of Cover Crops to Recycle Residual N Following Staked Tomato Production.** C.S. GARDNER, O.S. MBUYAN, Florida A&M Univ.
- 2:45 **An Economic, Efficient Approach to Groundwater Remediation Using Alfalfa.** M.P. RUSSELL\*, J.F. LAMB, C.P. VANCE, B.R. MONTGOMERY, A.L. MALAN, B.S. MILLER, USDA-ARS, Minnesota Dept. of Agric., and Carrington Res. and Ext. Ctr.
- 3:00 **Discussion.**
- 3:15 **Adjourn.**

**Div. A-6—INTERNATIONAL AGRONOMY**

Session 13—Baltimore Convention Center, Exhibit Hall  
ABCD, First Floor

**MICROBIOLOGY TOPICS IN INTERNATIONAL AGRONOMY**

Posters on Display 8:00 am–5:00 pm

AUTHORS PRESENT 2:00–4:00 pm

Poster  
no.

- 1514 **Characterizing the Environment in a Peanut Aflatoxin Resistance Screening Nursery.** K.T. INGRAM\*, C.C. HOLBROOK, Univ. of Georgia and USDA-ARS.



여 백

# '98 秋季學術發表論文集

1998 PROCEEDINGS OF THE KOREAN SOCIETY OF  
WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY AUTUMN MEETING

1998年 10月 30日(金) ~ 31日(土)  
( 全 南 大 學 校 )

韓 國 木 材 工 學 會

여 백

B- 9. F/U 물비와 Composite 원재료의 형상이 시간의 경과에 따른 Formaldehyde 방출량 및 방출경향에 미치는 영향 .....	박 현 · 유영삼 .....	174
---	-----------------	-----

C. 목재성분 · 목재보존 및 화학가공 분야 (Organizer: 전남대 김윤수 교수)

C- 1. Adsorption characteristics of chromes in industrial effluents by coniferous leaves .....	조남식 · M. Aoyama · S. Doi .....	183
C- 2. 신갈나무 세포벽의 탄수화물 구조에 관한 연구 .....	임부국 · 양재경 · 장준복 · 이종윤 .....	189
C- 3. 목재처리된 cellulose계 자원으로부터 xylan의 단리 및 정제에 관한 연구 .....	변지혜 · 임부국 · 양재경 · 이종윤 .....	195
C- 4. 느릅나무근피의 화학조성분 분석 .....	김상순 · 최장욱 · 엄태진 .....	201
C- 5. 미이용 목질잔여물의 탄화 이용개발(I)-수종의 간벌재 탄화와 탄화성능 .....	공식우 · 김병로 .....	207
C- 6. 산림부식질의 화학구조 및 중금속 흡착 특성 .....	안세희 · 박재순 · 최인규 .....	213
C- 7. 액화목재의 성분분석 .....	황병호 · 조국란 · 공영토 · 도금현 .....	221
C- 8. 액화탄수화물의 성분분석(I) .....	장준복 · 양재경 · 도금현 · 공영토 .....	226
C- 9. 액화탄수화물의 성분분석(II) .....	장준복 · 도금현 · 공영토 .....	232
C-10. 신문고지로부터 cellulose acetate 제조조건 탐색 .....	권기훈 · 임부국 · 양재경 · 이종윤 .....	237
C-11. 리그닌분해효소 · Laccase의 생산 및 고정화 .....	조남식 · 최윤정 · 남장현 .....	243
C-12. 액화목재의 기능소재 개발 - 액화목재를 이용한 우레탄 발포재 제조 .....	공영토 · 도금현 · 강인애 · 강창호 · 이동훈 · 손동원 .....	249
<del>C-13. 저독성-용매에-의한-목재의-액화</del> .....	<del>공영토 · 도금현 · 강인애 .....</del>	<del>255</del>
C-14. 무기질 복합목재 및 합판의 제조와 광화특성 .....	도금현 · 공영토 · 강은창 .....	260
C-15. 목질, 무기질 복합보드의 반건식 제조공정 개선 .....	서진식 · 조재성 · 박종영 .....	266
C-16. 유화성 방미제의 예비방부제 적성 검정 .....	'이동훈' · 강창호 · 손동원 .....	275
C-17. 수양버들(Salix babylonica L.)수피의 추출성분 .....	이상극 · 김진규 · 함연호 · 배영수 .....	281
C-18. 분버들나무(Salix rorida Lachschevitz)수피의 추출성분 .....	김태훈 · 함연호 · 배영수 .....	284
C-19. 아까시나무(Robinia pseudoacacia L.) 심재의 추출성분 .....	김진규 · 이상극 · 함연호 · 배영수 .....	287
C-20. Cytotoxic triterpenes from <i>Physocarpus intermedius</i> .....	김영균 · 광병만 · 유시용 .....	290

D. 펄프 · 제지 분야 (Organizer: 전남대 임기표 교수)

D- 1. 벗집펄프를 이용한 성형포장재의 물성에 관한 연구-천연첨가제의 첨가(제1보) .....	오승원 · 강진하 .....	299
D- 2. 벗집펄프를 이용한 성형포장재의 물성에 관한 연구-합성첨가제의 첨가(제2보) .....	오승원 · 강진하 .....	306
D- 3. Ganoderma lucidum을 이용한 펄프, 제지공장 폐수처리에 관한 연구 ..	임현아 · 강진하 · 정인수 .....	313
<del>D- 4. 효소를 이용한 신갈나무크라프트펄프의 무염소표백</del> .....	<del>강진하 · 박성중 · 임현아 .....</del>	<del>319</del>
D- 5. 효소를 이용한 소나무크라프트펄프의 무염소표백 .....	강진하 · 박성중 · 정인수 .....	325
D- 6. The Effect of Hydroxyl Radical and Metal ion during Oxygen Delignification .....	김용식 · 최경화 · 왕립균 · 윤병호 .....	331
D- 7. 건식처리된 폐지 및 세단폐지를 사용한 만곡물드의 성형방법에 관한 연구 .....	이호철 · 임부국 · 양재경 · 이종윤 .....	336
D- 8. 중성 cellulose에 의한 복사제지의 탈묵 .....	박운제 · 이증명 · 엄태진 .....	341
D- 9. 전남 승주군 송광사 승보전유물(삼세불화) 보수 .....	전경미 · 전 철 · 김성주 .....	347
D-10. Calcium Hardness 조절을 위한 새로운 공정수 처리 기술 .....	지경락 · 류정용 · 신중호 · 송봉근 · 오세균 .....	356
D-11. 골판지 고지의 탈수성 개선을 위한 전분 분해효소의 적용 .....	서형일 · 류정용 · 신중호 · 송봉근 · 오세균 .....	362
D-12. Effect of Xylanase Pretreatment on TCF and ECF Bleaching of Oak Kraft pulp .....	백기현 · 김동호 · 안병준 .....	368

## 리그닌분해효소, Laccase, 의 생산 및 고정화 Production of Ligninase, Laccase, and Its Immobilization

조남석, 최윤정, 남장현(충북대 임산공학과)

Andrzej Leonowicz(Maria-Curie University, Poland)

### 1. 서언

*Phanerochaete chrysosporium* 및 *Trametes versicolor* 는 리그닌분해균으로서뿐만 아니라 생물학적 표백균<sup>1,2)</sup>으로서 널리 연구되어 왔다. 그러한 리그닌분해조건하에서 *P. chrysosporium* 는 2종의 세포의 heme peroxidases 인 lignin peroxidase(LiP) 및 manganese peroxidase (MnP)<sup>3,4)</sup> 를 생산한다. 이들 효소들이 주로 리그닌을 분해시키는 시스템을 가지고 있다. *Phanerochaete chrysosporium* 가 생산하는 LiP 은 크라프트펄프의 표백작용을 가지며 아울러 이어지는 화학약품을 사용한 표백작용을 돕는것으로 보고<sup>5)</sup> 되고 있다. *Trametes versicolor* 는 LiP 및 MnP 이외에 1종이상의 laccase를 생산한다. 최근들어 균체가 생산하는 효소를 리그닌분해, 펄프의 표백 및 각종 난분해성 폐농성물질의 분해에 널리 이용되고 있으며, 많은 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 생물학적 접근으로 펄프폐수의 처리의 경우 필요한 약품의 72%를 절약할 수 있다는 연구보고<sup>6,7)</sup>가 발표되고 있다.

본 연구에서는 담자균이 생산하는 Laccase를 유도하고, 생산된 효소를 재사용하기 위하여 매우 중요한 효소의 고정화에 대하여 검토하였으며 그 결과를 보고코자 한다.

### 2. 재료 및 방법

#### 2.1 백색 부후균의 laccase 활성의 유도

리그닌 분해효소 활성을 측정하기 위하여 glucose 10g, L-asparagine 2.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.47 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.48 g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 50mg, Mn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 8.5mg, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 3.2mg, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 2mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 3.91mg, thiamine 0.5mg 등을 1 l의 증류수에 용해시켜 만든 배양액(pH 5.5)을 300 ml의 삼각후라스크에 50ml씩 분주하고, 접종하였다. Laccase 활성은 Shimadzu UV-Visible Recording Spectrophotometer (UV-160A) 을 사용, syringaldazine을 기질로 하여 525nm 에서 측정하였다.

#### 2.2 새로운 inducer 탐색

laccase 의 활성유도를 위해 널리 사용되는 2,5-xylidine 의 대체 inducer 로서 몇종의 폐농성화합물의 효소활성 유도효과를 검토하였다. 이들 inducer는 2,5-xylidine 의 경우와 마찬가지로 배지에 접종후, 균사가 반정도 피복하였을때 첨가하여 활성을 경시적으로 조사하였다.

#### 2.3 효소의 분리 및 정제

효소는 가장 효소활성이 높았던 CB-20 의 배양여과액으로부터 분리하였으며, Fahraeus and Reinhammar 의 방법<sup>8)</sup>을 다소 변경시켜 정제하였다. 최종적으로 분리된 초효소를 DEAE-cellulose컬럼을 이용 정제하였으며, 0 - 0.35 M NaCl 을 사용, 활성부분을 용리시켜, 가장 높은 활성의 효소단백질을 분리 하였다. 단백질 정량은 228.5nm 및 234.5nm-의 흡광도차이를 측정하는 Ehresmann 의 방법<sup>9)</sup>으로 정량하였으며, 표준곡선은 bovine serum albumin 을 표준품으로 하여 만들었다.

# Emerging Technologies of Pulping & Papermaking of Fast-Growing Wood

Proceeding of the International Symposium on Emerging Technologies of Pulping & Papermaking of Fast-Growing Wood, November 23 - 25, 1998, Guangzhou, P.R. China

Editors

**Liu Huanbin, Zhan Huaiyu and Xie Yimin**

State Key Laboratory of Pulp & Paper Engineering,  
South China University of Technology, Guangzhou, 510641,  
P.R. China  
ppeskl@scut.edu.cn and ppymxie@scut.edu.cn

**Organized by**

State Key Laboratory of Pulp & Paper Engineering  
South China University of Technology, P.R.China

Guangdong Province Association of Science & Technology

Guangdong Technical Association of Paper Industry

**Co-organized by**

Laboratory of Cellulose and Lignocellulosics Chemistry,  
Guangzhou Institute of Chemistry, Chinese Academy of Science, P.R. China

**SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS  
GUANGZHOU, 1998**

<b>A Surfactant System Prepared from Modified Lignin and Petroleum Sulfonate</b> .....	350
Chen Fangeng, Ou Yifang and Li Zhongzheng	
<b>Removal of Chlorinated Phenols From the Effluent by Fungal Laccase</b> .....	357
Nam-Seok Cho, J.H. Nam, Y.J. Choi and Andrzej Leonowicz	
<b>Sulfur Modificaiton of Kraft Lignin and Synthesis of Resin</b> .....	365
Chengxia Ren, Keli Chen, Shulan Shi and Huiren Hu	
<b>Purificaiton of AS-CMP Effluent by Combined Photosynthetic Bacteria and Coagulation Treatment</b> .....	373
Shubin Wu and Wenzhi Liang	
<b>Study on Treatment of De-inking Pulp Waste Water with Two Stages</b> .....	380
Jinzhong Chen, Zhonghao Chen and Yongwen Ma	
<b>A Preliminary Study on Secondary Biological Treatment of Effluent from Paper Mills</b> .....	386
Liu Qi	
<b>Concentration of Aerosol Particles above and below A Casuarina Equisentifolia Forest Canopy</b> .....	390
Qian Gongwang and Hu Yan	
<b>SESSION 7 COMPUTER SIMULATION AND CONTROL IN PULPING AND PAPERMAKING PROCESSES</b>	
<b>Kraft Mill Fiberline Simulation Including Rigorous Metals Equilibrium Calculations</b> .....	394
Yongxiang Gu and Lou Edwards	
<b>Computer Simulation of RDH Kraft Pulping System</b> .....	402
H. Cao, A. Kirkman, H. Jameel and U. Sezgi	
<b>A Kappa Number Mathematical Model for Batch Kraft Pulping Control</b> .....	410
Qi Luo and Huanbin Liu	
<b>Kappa Number Determination in Kraft Pulping by NIR Spectroscopic Measurements on Spent Liquor</b> .....	417
Xinshen Wu, Yimin Xie and Huanbin Liu	
<b>SESSION 8 APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY IN PULPING AND PAPERMAKING PROCESSES</b>	
<b>Biological Chemimechanical Pulping of Aspen</b> .....	424
Lin Lu, Yu Jaluan and Chen Jiayang	

## REMOVAL OF CHLORINATED PHENOLS FROM THE EFFLUENT BY FUNGAL LACCASE

Nam-Seok Cho, J.H. Nam, Y.J. Choi and Andrzej Leonowicz\*

School of Forest Resources, Chungbuk National University  
Cheongju.361-763, Republic of Korea

\* Department of Biochemistry, Maria Curie-Sklodowska University  
Sklodowska Place 3, PL 20031 Lublin, Poland

### ABSTRACT

The effect of coniferyl alcohol on removal of chlorinated phenols from the effluent by *Rhizoctonia praticola* and *Cerrena unicolor* laccases was studied. Good removal of chlorinated phenolic compounds can be achieved in the presence of coniferyl alcohol. In optimal conditions 7mM coniferyl alcohol removed about 34.8% radioactivity of 4-chlorophenol from the effluent supernatant, 58% 2,4-dichlorophenol, 66.5% 2,4,5-trichlorophenol and 86% pentachlorophenol, compared to the reaction condition without laccase. The oxidative coupling process functions in two steps, firstly chlorinated phenols with non-chlorinated phenolic co-substrates are enzymatically oxidized to free radicals or reactive quinones, and then subsequent oxidative coupling of the products is completed without further involvement of the enzyme. Laccase seems like to polymerize it initially generating mesomeric free radicals, which then undergo further non-enzymatic reaction.

Key words: chlorophenols; removal; coniferyl alcohol; laccase;  
*Rhizoctonia praticola*; *Cerrena unicolor*

### INTRODUCTION

Fungal laccase extracellularly produced by several wood rotting fungi (Bollag and Leonowicz, 1984) seems to be applicable for various biotechnological processes (Burbonais *et al.*, 1995, Manzanares *et al.*, 1995). Its broad activity on hydrogen donor provides opportunities for removing certain phenolic and other aromatic compounds from natural and industrial wastewaters (Nannipieri and Bollag, 1991). Among possible applications, the enzyme is considered, for example, as a dechlorinating factor (Roy-Arcand and Archibald, 1991). The oxidation

357



## Holzforschung

Volume 52 (1998), Issue 6

### Original Papers

- A.P. SINGH, J. SELL, U. SCHMITT, T. ZIMMERMANN and B. DAWSON  
Radial Striation of S2 Layer in Mild Compression Wood Tracheids of *Pinus radiata*
- N.R.A. JALIL, T. ITOH, M. H. SAHRI and M.Z. JUSOH  
Periodicity of Xylem Growth of Rubberwood (*Hevea brasiliensis*) Grown in Malaysia
- H. LINDSTRÖM, J.W. EVANS and S.P. VERRILL  
Influence of Cambial Age and Growth Conditions on Microfibril Angle in Young Norway Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.)
- O. DÖNISCH, J. BAUCH, M. MÜLLER and O. GREIS  
Subcellular Quantitative Determination of K and Ca in Phloem, Cambium and Xylem Cells of Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) During Earlywood and Latewood Formation
- J. LUTEREK, L. GIANFREDA, M. WOJTAS-WASILEWSKA, N.S. CHO, J. ROGALSKI, M. JASZEK, E. MALARCZYK, M. STASZCZAK, M. FINK-BOOTS and A. LEONOWICZ  
Activity of Free and Immobilized Extracellular *Cerreno unicolor* Laccase in Water Miscible Organic Solvents
- H. YAMAGUCHI and K.-I. OKUOA  
Chemically Modified Tannin and Tannin-Copper Complexes as Wood Preservatives
- L. HELSEN and E. VAN DEN BULCK  
The Microdistribution of Copper, Chromium and Arsenic in CCA Treated Wood and its Pyrolysis Residue Using Energy Dispersive X-Ray Analysis in Scanning Electron Microscopy
- V. SCHREPFER and F.H. SCHWEINGRUBER  
Anatomical Structures in Reshaped Press-Dried Wood
- C.A.S. HILL, D. JONES, G. STRICKLAND and N.S. CETIN  
Kinetic and Mechanistic Aspects of the Acetylation of Wood with Acetic Anhydride
- L. RAHKAMO, M. SIIKA-AHO, L. VIKKARI, T. LEPPÄNEN and J. BUCHERT  
Effects of Cellulases and Hemicellulase on the Alkaline Solubility of Dissolving Pulps
- H.-T. CHEN, M. FUNAOKA and Y.-Z. LAI  
Characteristics of Bagasse Lignin *in Situ* and in Alkaline Delignification
- B. SAAKE, R. LEHNEN, E. SCHMEKAL, A. NEUBAUER and H. H. NIMZ  
Bleaching of Formacell Pulp from Aspen Wood with Ozone and Peracetic Acid in Organic Solvents
- M. TAKATANI, S. FUKUMOTO, S. FUJITA, T. YAMAZAKI, R. HAMADA, T. KITAYAMA and T. OKAMOTO  
Performance of Phenol-Formaldehyde Based Wood Adhesives Containing Steam Exploded Beech Flour

Nam-Seok Cho · Jerzy Rogalski · Magdalena Jaszek  
 Jolanta Luterek · Maria Wojtas-Wasilewska  
 Elzbieta Malarczyk · Monika Fink-Boots  
 Andrzej Leonowicz

## Effect of coniferyl alcohol addition on removal of chlorophenols from water effluent by fungal laccase

Received: April 24, 1998 / Accepted: September 7, 1998

**Abstract** The effect of coniferyl alcohol on removal of chlorinated phenols from a water environment by *Rhizoctonia praticola* and *Cerrena unicolor* laccases was studied. At optimal conditions in which 7mM coniferyl alcohol and laccase were added to chlorinated phenols over 20h, about 34% of the radioactivity of 4-chlorophenol, 57% of 2,4-dichlorophenol, 66% of 2,4,5-trichlorophenol, and 85% of pentachlorophenol were removed from the supernatants, compared to the level without laccase activity. After 12-h incubation periods at the optimal concentrations of coniferyl alcohol and laccase (added simultaneously), the fast first phase of chlorophenol removal was complete in 1h, and eventually coniferyl alcohol enhanced the removal of 4-chlorophenol by 40%, 2,4-dichlorophenol by 54%, 2,4,5-trichlorophenol by 60%, and pentachlorophenol by 76%.

**Key words** Chlorophenols · Coniferyl alcohol · Laccase · *Rhizoctonia praticola* · *Cerrena unicolor*

### Introduction

Fungal laccase (benzenediol:oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2), extracellularly produced by several wood rotting fungi,<sup>1</sup> seems to be applicable to various biotechnological processes.<sup>2-4</sup> Among possible applications, the enzyme is considered to be a dechlorinating factor.<sup>5</sup> Its broad activity on hydrogen donors provides opportunities for removing certain phenolic and other aromatic compounds from natural and industrial wastewaters.<sup>6-8</sup>

N.-S. Cho (✉)  
 School of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Republic of Korea  
 Tel. +82-431-2612542; Fax +82-431-2732241  
 e-mail: nscho@cbucc.chungbuk.ac.kr

J. Rogalski · M. Jaszek · J. Luterek · M. Wojtas-Wasilewska ·  
 E. Malarczyk · M. Fink-Boots · A. Leonowicz  
 Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University,  
 PL 20031 Lublin, Poland

The oxidation of phenolic compounds generates phenoxy radicals and quinoid intermediates that are subsequently transformed to dimers and insoluble polymers with aromatic amines such as chloroamines.<sup>9</sup> After sedimentation, such polymers may be removed from the water environment.<sup>10</sup> Substrates that react readily with the enzyme enhance the removal of such aromatic amines, which are less reactive.<sup>11</sup>

Roper et al.<sup>12</sup> proposed the decontamination of industrial wastewaters from chlorophenols by copolymerization with typical laccase hydrogen donors such as guaiacol or 2,6-dimethoxyphenol. But, as these substances are still toxic for water, the objective of this study was to investigate the effect of addition of coniferyl alcohol on the removal of chlorophenols in the effluents. Coniferyl alcohol is more acceptable in the environment than phenolic compounds of outside origin. The applied concentration of coniferyl alcohol was five times lower than the others.<sup>5,12</sup> This compound also is known as a constituent of lignified tissue<sup>12</sup> during lignin biosynthesis in vivo and as the substrate for in vitro enzymatic production of lignin model dehydrogenative polymer (DHP).<sup>13</sup>

### Materials and methods

#### Biological material

*Rhizoctonia praticola* (De Candelle ex Fr.) and *Cerrena unicolor* (Bull. ex Fr.) Murr. were obtained from the Fungal Culture Collections of the Department of Biochemistry, University of Lublin, Poland (FCL) and the Department of Forest Products, Chungbuk National University, Cheongju, Korea (FCC). The fungi were maintained on 2% (w/v) malt agar slants.

#### Culture conditions

For inoculation the fungal agar plugs (ca. 0.5cm) were cut and grown in a basal medium based on the Czapek Dox and

백색부후균을 이용한 pentachlorophenol과  
2-chlorophenol의 분해

Degradation of pentachlorophenol and  
2-chlorophenol by White-rot fungi

충북대학교 대학원

임산공학과 펄프·제지학 전공

남 장 현

1998년 12월

## 2. 특허출원

여 백

# 特 許

名 稱: 시루뺨버섯 균주를 이용한 크롬함유 폐수의  
처리방법

出願人: 임업연구원

出願番號: 제 98-29156 호

出願日字: 1998 년 7 월 20 일

방식심사란	담 당	심 사 관

【서류명】 특허출원서

【수신처】 특허청장 귀하

【원서번호】 2

【제출일자】 1998.07.20

【발명의 국문명칭】 시루뽕 버섯 균주를 이용한 크롬함유 폐수의 처리방법

【발명의 영문명칭】 The method of disposing of  
waste water containing  
Crom using Inonotus cuticularis

【출원인】

【국문명칭】 임업연구원

【영문명칭】 Forestry Research Institute  
Republic of Korea

【대표자】 박재욱

【출원인구분】 각급 시험 연구기관

【우편번호】 130-012

【주소】 서울특별시 동대문구 청량리2동 207

【국적】 KR

【대리인】

【성명】 강석주

【대리인코드】 A400

【전화번호】 02-567-0506

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 김현철

【대리인코드】 A420

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 이상호

【대리인코드】 H415

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【발명자】

【국문성명】 이동흠

【영문성명】 LEE, DONG HEUB

【주민등록번호】 560102-1068835

【우편번호】 132-023

【주소】 서울특별시 도봉구 방학3동 신동아아파트 29-1310

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

대리인

대리인

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원심사를 청구합니다.

대리인

대리인

대리인

강석주

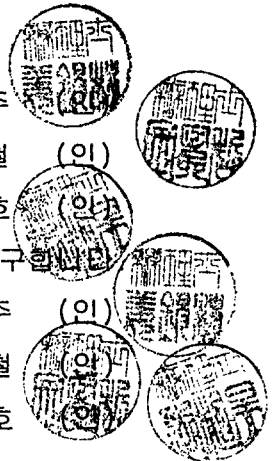
김현철 (인)

이상호

강석주 (인)

김현철

이상호



【수수료】

【기본출원료】	13 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원



【심사청구료】 5 항 269,000 원

【합계】 298,000 원

【면제사유】 국가에 속하는 특허·실용신안등록출원

【면제후 수수료】 0 원

- 【첨부서류】
1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통
  2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통
  3. 위임장(및 동 번역문)
  4. 수수료 면제신청서 1부

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 시루뺨버섯 균주를 이용하여 크롬을 함유하는 폐수의 처리방법에 있어서, 크롬을 함유하는 폐수를 소나무비늘버섯과에 속하는 시루뺨버섯 속의 균주인 FRI20621 균주의 배양체와 접촉시켜 환원 및 흡착시키는 것을 특징으로 하는 시루뺨버섯 균주를 이용한 크롬함유 폐수의 처리방법에 관한 것으로 종래의 화학적처리에 의한 불편을 해소하고 친환경적인 크롬함유 폐수의 처리방법이다.

### 【대표도】

도1

# 特 許

名 稱: 부후개떡버섯 균주를 이용한 구리함유 폐수의  
처리방법

出願人: 임업연구원

出願番號: 제 98-29157 호

出願日字: 1998 년 7 월 20 일

방식심사란	담 당	심 사 관

【서류명】 특허출원서

【수신처】 특허청장 귀하

【원서번호】 3

【제출일자】 1998.07.20

【발명의 국문명칭】 부후개떡버섯 균주를 이용한 구리함유 폐수의 처리방법

【발명의 영문명칭】 The method of disposing  
of waste water containing  
Copper using Tyromyces  
palustris

【출원인】

【국문명칭】 임업연구원

【영문명칭】 Forestry Research Institute  
Republic of Korea

【대표자】 박재욱

【출원인구분】 각급 시험 연구기관

【우편번호】 130-012

【주소】 서울특별시 동대문구 청량리2동 207

【국적】 KR

【대리인】

【성명】 강석주

【대리인코드】 A400

【전화번호】 02-567-0506

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 김현철

【대리인코드】 A420

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 이상호

【대리인코드】 H415

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【발명자】

【국문성명】 이동흡

【영문성명】 LEE, DONG HEUB

【주민등록번호】 560102-1068835

【우편번호】 132-023

【주소】 서울특별시 도봉구 방학3동 신동아아파트 29-1310

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 강창호

【영문성명】 KANG , CHANG HO

【주민등록번호】 470910-1010313

【우편번호】 403-020

【주소】 인천광역시 부평구 산곡동 182 한양아파트 14-203

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 손동원

【영문성명】 SON, DONG WEON

【주민등록번호】 650320-1345425

【우편번호】 131-203

【주소】 서울특별시 중랑구 면목3동 용마한신아파트 1-412

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다

대리인

대리인

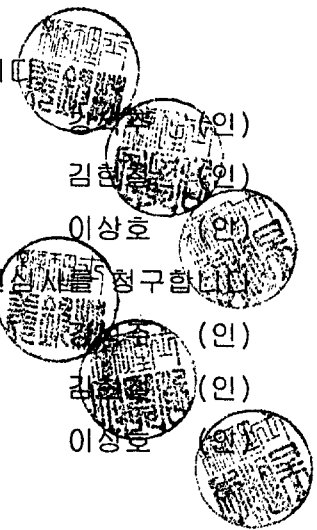
대리인

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원 심사를 청구합니다

대리인

대리인

대리인



【수수료】

【기본출원료】	13 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	2 항	173,000 원
【합계】		202,000 원

【면제사유】 국가에 속하는 특허·실용신안등록출원

【면제후 수수료】 0 원

- 【첨부서류】
1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통
  2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통
  3. 위임장(및 동 번역문)
  4. 수수료 면제신청서 1부

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 균주처리에 의한 구리이온을 함유하는 폐수처리방법에 있어서, 구멍장이 버섯과에 속하는 개떡버섯 속의 균주인 부후개떡버섯과 구리이온을 함유하는 폐수를 접촉시켜 부후개떡버섯의 배양에 의하여 생산되는 화합물인 수산과 구리이온을 반응시켜 구리이온을 제거함을 특징으로 하는 균주를 이용한 구리함유 폐수의 처리방법으로 현재의 화학처리 시스템을 친환경적인 미생물처리시스템으로 치환하여 줌으로서, 보다 저가의 비용으로 산업폐수중의 구리이온의 제거를 할 수 있고, 본 발명이 자연산물에 의한 처리방법이므로 2차오염을 방지할 수 있는 유용한 발명인 것이다.

### 【대표도】

도7

# 特 許

名 稱: 구름버섯 균주를 이용한 삼염화 구아리아콜의  
폐수의 처리방법

出願人: 임업연구원

出願番號: 제 98-29158 호

出願日字: 1998 년 7 월 20 일



방식심사란	담	당	심	사	관

【서류명】 특허출원서

【수신처】 특허청장 귀하

【원서번호】 4

【제출일자】 1998.07.20

【발명의 국문명칭】 구름버섯 균주를 이용한 삼염화구아이아콜의 처리방법

【발명의 영문명칭】 The method of disposing of  
trichloroguaiacol using  
Coriolus versicolor

【출원인】

【국문명칭】 임업연구원

【영문명칭】 Forestry Research Institute  
Republic of Korea

【대표자】 박재욱

【출원인구분】 각급 시험 연구기관

【우편번호】 130-012

【주소】 서울특별시 동대문구 청량리2동 207

【국적】 KR

【대리인】

【성명】 강석주

【대리인코드】 A400

【전화번호】 02-567-0506

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 김현철

【대리인코드】 A420

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 이상호

【대리인코드】 H415

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【발명자】

【국문성명】 최인규

【영문성명】 CHOI, IN GYU

【주민등록번호】 621120-1343521

【우편번호】 142-764

【주소】 서울특별시 강북구 번2동 주공아파트 402동 904호

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

강석주

대리인

김현철

대리인

이상호

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원심사를 청구합니다.

대리인

강석주

대리인

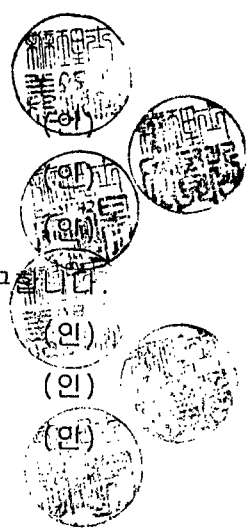
김현철

대리인

이상호

【수수료】

【기본출원료】	15 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원



【심사청구료】 3 항 205,000 원

【합계】 234,000 원

【면제사유】 국가에 속하는 특허·실용신안등록출원

【면제후 수수료】 0 원

【첨부서류】 1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통

2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통

3. 위임장(및 동 번역문)

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 구름버섯(*Coriolus versicolor*) 균주를 이용한 삼염화구아이아콜(4,5,6-trichloroguaiacol)의 처리방법에 관한 것이다. 본 발명은 유기염소화합물 로써의 삼염화구아이아콜의 처리시 탈염소화반응을 유도하는 신규한 방법을 제공함으로써 처리속도 및 처리효율 측면에서 현저한 개선 효과를 나타낼 수 있는 구름버섯 균주를 이용한 삼염화구아이아콜의 처리방법으로써 "피디에이배지(이하 PDA배지라 함)로부터 배양된 구름버섯(*Coriolus versicolor*)균주를 와이엠피지배지(이하 YMPG 배지라 함)에서 재배양시킨 후 박층정지상(shallow stationary phase) 액체배지에서 배양시킨 구름버섯 배양액에 삼염화구아이아콜을 혼합하여 분해처리함을 특징으로 하는 구름버섯 균주를 이용한 삼염화구아이아콜의 처리방법"을 제공한다.

### 【대표도】

도 1

# 特許出願書

出願番號	제 98 - 호
出願日	1998. 9. 23.
出願人	대한민국 임업연구원
名 稱	부후개떡버섯균주를 이용한 카드뮴 함유 폐수의 처리방법

## 엘엔케이國際特許法律事務所

서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

(☎ 568-9808~9 FAX: 567-0363)

( \* 출원번호통지서는 특허청에서 나오는데로 즉시 송부해 드리겠습니다. )

【서류명】 특허출원서

【수신처】 특허청장 귀하

【원서번호】 2

【제출일자】 1998.09.23

【발명의 국문명칭】 부후개떡버섯균주를 이용한 카드뮴 함유 폐수의 처리방법

【발명의 영문명칭】 The method of uptake treatment  
of Cadmium containing waste  
water by *Tyromyces palustris*

【출원인】

【국문명칭】 대한민국 임업연구원

【영문명칭】 Forestry Research Institute  
Republic of Korea

【대표자】 박재욱

【출원인구분】 국가기관 및 기타 법인

【우편번호】 130-012

【주소】 서울특별시 동대문구 청량리2동 207

【국적】 KR

【대리인】

【성명】 강석주

【대리인코드】 A400

【전화번호】 02-567-0506

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 김현철

【대리인코드】 A420

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 이상호

【대리인코드】 H415

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【발명자】

【국문성명】 이동흠

【영문성명】 LEE, DONG HEUB

【주민등록번호】 560102-1068835

【우편번호】 132-023

【주소】 서울특별시 도봉구 방학3동 신동아아파트 29-1310

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 강창호

【영문성명】 KANG, CHANG HO

【주민등록번호】 470910-1010313

【우편번호】 403-020

【주소】 인천광역시 부평구 산곡동 182 한양아파트 14동 203호

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 손동원

【영문성명】 SON, DONG WON

【주민등록번호】 650320-1345425

【우편번호】 131-203

【주소】 서울특별시 중랑구 면목3동 용마한신아파트 1동 412호

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

강석주

대리인

김현철 (인)

대리인

이상호 (인)

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원심사를 청구합니다.

대리인

강석주 (인)

대리인

김현철 (인)

대리인

이상호

【수수료】

【기본출원료】	15 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	3 항	205,000 원
【합계】		234,000 원

【면제사유】 국가에 속하는 특허·실용신안등록출원

【면제후 수수료】 0 원

- 【첨부서류】
1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통
  2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통
  3. 위임장(및 동 번역문)
  4. 수수료 면제신청서 1부



## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 특정의 균주를 이용하여 카드뮴을 함유하는 폐수의 처리방법에 관한 것으로서, 대표적인 중금속 독성물질인 카드뮴이 함유된 폐수를 처리하기 위한 방법으로 현재 시행되고 있는 화학, 물리적인 처리시스템을 친환경적인 미생물처리 시스템으로 바꾸어 주고, 보다 저가의 환경처리 시스템을 제공하며, 처리후의 잔류물이 자연분해가 가능하도록 하는 미생물에 의한 카드뮴 함유폐수의 처리방법을 제공함에 그 목적이 있으며, 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 균주처리에 의한 카드뮴을 함유하는 폐수처리방법에 있어서, 구멍장이 버섯과에 속하는 개떡버섯속의 균주인 부후개떡버섯(*Tyromyces palustris*) 균주 배양시킨 후 카드뮴 함유폐수와 접촉 배양시킴으로써 카드뮴을 흡착시켜 제거함을 특징으로 하는 부후개떡버섯 균주를 이용한 카드뮴 함유 폐수의 처리 방법을 제공한다.

### 【대표도】

도 1

# 特 許 出 願 書

出願番號	제 98 - 호
出 願 日	1998. 9. 23.
出 願 人	대한민국 임업연구원
名 稱	판막버섯을 이용한 독성 오염화페놀의 처리방법

## 엘엔케이國際特許法律事務所

서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

(☎ 568-9808~9 FAX: 567-0363)

( \* 출원번호통지서는 특허청에서 나오는데로 즉시 송부해 드리겠습니다. )

【서류명】 특허출원서

【수신처】 특허청장 귀하

【원서번호】 1

【제출일자】 1998.09.23

【발명의 국문명칭】 판막버섯을 이용한 독성 오염화페놀의 처리방법

【발명의 영문명칭】 The method of bioremediation  
of Pentachlorophenol  
containing waste water by  
Phanerochaete chrysosporium

【출원인】

【국문명칭】 대한민국 임업연구원

【영문명칭】 Forestry Research Institute  
Republic of Korea

【대표자】 박재욱

【출원인구분】 국가기관 및 기타 법인

【우편번호】 130-012

【주소】 서울특별시 동대문구 청량리2동 207

【국적】 KR

【대리인】

【성명】 강석주

【대리인코드】 A400

【전화번호】 02-567-0506

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 김현철

【대리인코드】 A420

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【대리인】

【성명】 이상호

【대리인코드】 H415

【전화번호】 02-568-9809

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호

【발명자】

【국문성명】 최인규

【영문성명】 CHOI, IN GYU

【주민등록번호】 621120-1343521

【우편번호】 142-764

【주소】 서울특별시 강북구 번2동 주공아파트 403동 904호

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

강석주

(인)

대리인

김현철

(인)

대리인

이상호

(인)

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원심사를 청구합니다.

대리인

강석주

(인)

대리인

김현철

(인)

대리인

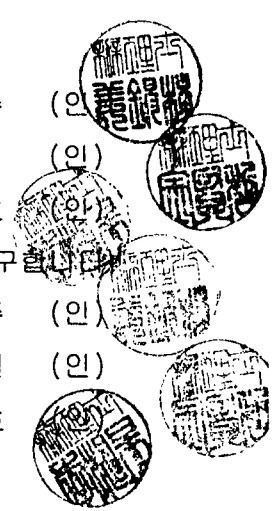
이상호

(인)

【수수료】

【기본출원료】 14 면 29,000 원

【가산출원료】 0 면 0 원



【우선권 주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 3 항 205,000 원

【합계】 234,000 원

【면제사유】 국가에 속하는 특허·실용신안등록출원

【면제후 수수료】 0 원

- 【첨부서류】
1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통
  2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통
  3. 위임장(및 동 번역문)
  4. 수수료 면제신청서 1부

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 특정의 균주를 이용하여 독성 오염화페놀(pentachlorophenol)을 처리하는 방법에 관한 것으로서, 대표적인 독성 유기염소화합물로서 오염화페놀(PCP)이 함유된 폐기물 등이 고농도로 함유된 오염물질을 처리하기 위한 방법으로써 현재 시행되고 있는 화학, 물리적인 처리시스템을 친환경적인 미생물처리 시스템으로 바꾸어 주고, 보다 저가이고 고효율을 나타내는 환경처리 시스템을 제공하며, 처리후의 잔류물이 자연분해가 가능하도록 하는 미생물에 의한 독성 오염화페놀의 처리방법을 제공함에 그 목적이 있으며, 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 균주를 이용하여 오염화페놀을 처리하는 방법에 있어서, 목질분해미생물인 판막버섯 (*Phanerochaete chrysosporium*) 균주를 배양시킨 후 오염화페놀과 접촉시킴으로써 분해시킴을 특징으로 하는 판막버섯을 이용한 독성 오염화페놀의 처리방법을 제공한다.

### 【대표도】

도 1

관인생략

출원번호통지서



발급사람  
(대리인)

강석주

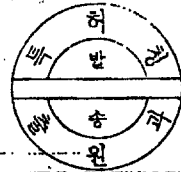
1 5 5 0 5 0

주소 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 601호 일앤  
드케이 국제특허법률사무소

출원일자: 1998.12.14. 심사청구(유) 공개신청(무)

출원번호: 1998년 특허출원 제 54824 호

출원인: 대한민국 임업연구원



특 허 청 장

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 우리 주변에서 흔히 볼 수 있는 은행나무 낙엽을 이용하여 6가크롬을 함유하는 폐수를 처리하는 방법에 관한 것으로서, 대표적인 중금속 독성물질인 6가크롬이 함유된 폐수를 처리하기 위한 방법으로써 현행 시행되고 있는 화학, 물리적인 처리 시스템을 친환경적인 처리시스템으로 바꾸어 주고, 보다 저가의 환경처리 시스템을 제공하며, 처리 후 잔류물과의 분리가 용이한 6가크롬 함유폐수의 처리방법을 제공함에 그 목적이 있는 것으로, 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 생물유래물질을 이용하여 6가크롬 함유폐수를 처리하는 방법에 있어서, 6가크롬을 함유하는 폐수를 세절된 은행나무(*Ginkgo biloba* L)의 낙엽과 접촉시켜 흡착시키는 것을 특징으로 하는 은행나무 낙엽을 이용한 6가크롬 함유폐수의 처리방법을 제공한다.

### 【대표도】

도 1



결 재	담당	사무관	과장

【서류명】 위임장

【수임자】

【성명】 강석주

【대리인코드】 9-1998-000108-3

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【수임자】

【성명】 이상호

【대리인코드】 9-1998-000440-6

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【수임자】

【성명】 김현철

【대리인코드】 9-1998-000128-8

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【사건의 표시】

【출원번호】 —

【출원일자】

【심사청구일자】

【발명의 명칭】 공기방울 집축법에 의한 연속식 중금속항유 폐수의 처리방법

【위임사항】 1. 모든 출원에 관한 모든 절차

2. 출원의 변경, 포기, 취하

3. 특허권의 존속기간의 연장등록출원의 취하

4. 청구의 취하

5. 신청의 취하

6. 특허법 제55조제1항(실용신안법 제11조)의 규정에 의한 우선권주장  
이나 그 취하

7. 복대리인의 선임

8. 특허법 제132조의3 및 제132조의 4(실용신안법 제35조, 의장법 제7  
2조, 상표법 제79조)의 규정에 의한 심판청구

【위임자】

【명칭】 임업연구원

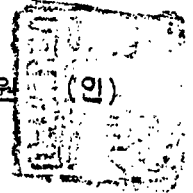
【출원인코드】 3-1998-006631-3

【취지】 특허법 제7조의 규정에 의하여 위와 같이 위임함.

위임인

임업연구원 (인)

【위임일자】 1999.02.\_\_\_\_



# 발명의 성질 설명서

◇ 발명의 명칭: 공기방울 접촉법에 의한 연속식 중금속 함유 폐수처리 방법

The method of bioremediation of heavy metal containing wastewater and/or continuous uptake treatment system by bubble column.

◇ 발명자: 강원대학교 조교수 정연호

강원대학교 학생 이창진

임업연구원 임업연구사 이동흡

◇ 발명기관: 임업연구원

## 1. 소속기관의 업무

산림의 환경, 임산공학, 산림생물, 산림경영 및 임업생산기술 분야의 시험연구조사와 시험림, 수목원의 관리에 관한 사무를 관장함.

## 2. 발명자의 임무: 목재의 보존에 관한 연구

가. 목재 및 목질재료의 생물열화요인 연구

나. 목재 및 목질재료의 보존제 연구

다. 목재 및 목질재료의 보존처리 연구

라. 목질재료의 내후성 평가 연구

마. 열화생물의 생물학적 길항기능 이용 연구

## 3. 발명의 성질

본 발명은 생물학적 흡착에 의한 폐수중의 중금속 처리를 효율적으로 수행할 수 있는 공기방울 접촉조(J-L Bubble column)에 관한 것으로, 발명된 새로운

접촉조는 연속식 운전이 가능하며 종래의 공기방울 접촉조보다 처리효율이 우수하고 생물학적 흡착제의 양을 줄일 수 있는 장점을 가지고 있다.

4. 직무발명 여부: 직무발명

5. 발명의 실용성

본 발명자는 중금속 함유 폐수와 생물학적 흡착제가 연속식 향류 방향으로 접촉할 수 있는 장치를 고안함으로써, 현재 시행되고 있는 회분식의 중금속 처리 시스템을 연속적 중금속 처리 시스템으로 전환시키고, 중금속의 흡착제의 사용을 줄임으로써 보다 경제적인 환경처리시스템을 제공한다.

따라서 본 발명은 기존의 공기방울 접촉조를 개조하여 공기방울 접촉조를 고안하였고, 이를 이용하여 느타리버섯 폐배지와 다시마, 알긴산나트륨 비드 등 대표적인 생물학적 흡착제에 적용한 것이다.

6. 발명승계에 관한 의견: 소속기관에서 승계

1999. 2.

서명자(발명자) 임업연구원

강원대학교	교수	정연호
강원대학교	학생	이창진
임업연구원	임업연구사	이동흡



## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 생물학적 흡착에 의한 폐수중의 중금속 처리를 효율적으로 수행할 수 있는 제이-엘 공기방울 접촉조(J-L Bubble column)에 관한 것으로, 발명된 새로운 접촉조는 연속식 운전이 가능하며 종래의 공기방울 접촉조보다 처리효율이 우수하고 생물학적 흡착제의 양을 줄일 수 있는 장점을 가지고 있다.

### 【대표도】

도 1, 도 2, 도5

## 【명세서】

### 【발명의 명칭】

공기방울 접촉법에 의한 연속식 중금속 함유 폐수의 생물학적 처리 방법

### 【도면의 간단한 설명】

도 1은 제이-엘 공기방울 접촉조의 구조를 나타낸 모식도

도 2는 제이-엘 공기방울 접촉조의 각 단의 밸브가 열린 상태와 닫혀진 상태에서의 카드뮴 흡착율에 대한 비교

도 3는 제이-엘 공기방울 접촉조에서 다시마에 의한 카드뮴이온의 흡착

도 4는 제이-엘 공기방울 접촉조에서 순수한 알긴산나트륨 비드에 의한 카드뮴이온의 흡착

도 5는 제이-엘 공기방울 접촉조에서 순수한 알긴산나트륨 비드의 교환에 의한 카드뮴이온의 흡착

### 【발명의 상세한 설명】

### 【발명의 목적】

결 재	법 원	사 무 관	과 장

【서류명】 위임장

【수임자】

【성명】 강석주

【대리인코드】 9-1998-000108-3

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【수임자】

【성명】 이상호

【대리인코드】 9-1998-000440-6

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【수임자】

【성명】 김현철

【대리인코드】 9-1998-000128-8

【전화번호】 568-9808

【주소】 서울시 강남구 역삼동 822-5 대건빌딩 701호

【사건의 표시】

【출원번호】 —

【출원일자】

【심사청구일자】

【발명의 명칭】 수피의 활성화 방법 및 그를 이용한 중금속 흡착제의 제조방법

- 【위임사항】
1. 모든 출원에 관한 모든 절차
  2. 출원의 변경, 포기, 취하
  3. 특허권의 존속기간의 연장등록출원의 취하
  4. 청구의 취하

5. 신청의 취하
6. 특허법 제55조제1항(실용신안법 제11조)의 규정에 의한 우선권주장  
이나 그 취하
7. 복대리인의 선임
8. 특허법 제132조의3 및 제132조의 4(실용신안법 제35조, 의장법 제7  
2조, 상표법 제79조)의 규정에 의한 심판청구

**【위임자】**

**【명칭】** 임업연구원

**【출원인코드】** 3-1998-006631-3

**【취지】** 특허법 제7조의 규정에 의하여 위와 같이 위임함.

위임인

임업연구원



**【위임일자】** 1999.02.\_\_\_\_

# 발명의 성질 설명서

◇ 발명의 명칭: 수피의 활성화 방법 및 그를 이용한 중금속 흡착제의 제조방법

Method and apparatus for activation of bark, and development as heavy metal adsorbent

◇ 발명자: 강원대학교 부교수 양재의

강원대학교 대학원생 박창진

임업연구원 임업연구사 이동흡

◇ 발명기관: 임업연구원

## 1. 소속기관의 업무

산림의 환경, 임산공학, 산림생물, 산림경영 및 임업생산기술 분야의 시험연구조사와 시험림, 수목원의 관리에 관한 사무를 관장함.

## 2. 발명자의 임무: 목재의 보존에 관한 연구

가. 목재 및 목질재료의 생물열화요인 연구

나. 목재 및 목질재료의 보존제 연구

다. 목재 및 목질재료의 보존처리 연구

라. 목질재료의 내후성 평가 연구

마. 열화생물의 생물학적 길항기능 이용 연구

## 3. 발명의 성질

본 발명은 임산부산물의 일종으로 폐기되는 樹皮를 간편하게 활성화시킬 수 있는 방법을 개발하여 폐수 중의 중금속을 처리할 때 현재 시행되고 있는 물리, 화학적 처리 방법 보다 저렴한 비용으로 더 높은 중금속 제거 효율을 발휘하는 중금



속 흡착제를 개발하는데 그 목적이 있다.

4. 직무발명 여부: 직무발명

5. 발명의 실용성

본 발명자는 폐기물로 버려지는 소나무 樹皮를 고온 포화증기 상태에서 간편하게 탄화-활성화시킬 수 있는 방법의 개발과 활성화된 수피를 폐수 중의 구리(Cu)와 카드뮴(Cd) 같은 중금속을 제거하는 흡착제로 개발하는 것으로써 폐자원을 재활용할 수 있을 뿐만 아니라 기존의 폐수 처리제보다 저비용으로 높은 처리 효율을 보여 줄 수 있는 방법을 제공할 수 있기 때문에 유용한 발명으로 간주되어 실용적으로 活用될 수 있으리라 기대된다.

6. 발명승계에 관한 의견: 소속기관에서 승계

1999. 2.

서명자(발명자) 임업연구원

강원대학교	부교수	양재의
강원대학교	대학원생	박창진
임업연구원	임업연구사	이동흡



## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 임산부산물의 일종으로 폐기되는 樹皮를 간편하게 활성화시킬 수 있는 방법을 개발하여 폐수 중의 중금속을 처리할 때 현재 시행되고 있는 물리, 화학적 처리 방법 보다 저렴한 비용으로 더 높은 중금속 제거 효율을 발휘하는 중금속 흡착제를 개발하는데 그 목적이 있다. 수피의 중금속 제거 효율을 증가시키기 위한 활성화 방법으로 수피를 고온 포화습도의 상태에서 활성화시켰다(도 1). 본 발명은 수피를 활성화시킴으로써 수피 입자 표면적을 증가시킴과 동시에 흡착제로서의 고형격자(matrix)를 유지시킬 수 있는 이론을 기초로 하였다. 이 방법을 통해 900℃에서 제작된 활성화 수피는 폐수 중의 Cu와 Cd과 같은 중금속을 제거하는데 가장 높은 효율을 보였다(도 2). 활성화 수피는 처리 전의 수피와 비교하여 중금속 제거 능력이 6~8배 이상 향상된 것으로 나타났으며, 제거 중금속의 종류도 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 철(Fe), 망간(Mn), 니켈(Ni), 납(Pb), 아연(Zn) 등으로 다양했다(도 3). 활성화 수피의 구리(Cu)와 카드뮴(Cd)에 대한 최대흡착량은 각각 활성화 수피 1g당 80mg과 53mg인 것으로 나타났다(도 4, 5). 활성화 수피는 현재 흡착제로 많이 사용되고 있는 활성탄(Activated carbon)보다 3배 이상 중금속을 제거할 수 있는 것으로 나타났다(도 6, 7). 이러한 결과를 통해 본 발명은 간편한 방법으로 폐기물인 樹皮를 활성화시켜 폐수 중의 중금속을 제거할 수 있는 중금속 흡착제로 활용될 수 있는 방안을 제공할 수 있다.

### 【대표도】

도 1, 도 2, 도 3, 도 4, 도 5, 도 6, 도 7