

효소법 및 분광광도법을 이용한 제염지 중 구연산 분석

최광순, 전명애, 이승식, 한선호, 송규석

한국원자력연구원, 대전광역시 유성구 덕진동 대덕대로 1045

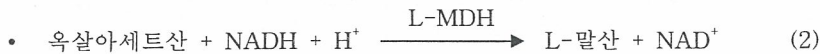
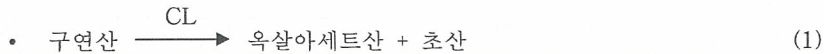
nkschoi@kaeri.re.kr

1. 서론

현재 건설 중인 방사성폐기물처분장이 준공되면 원자력발전소에서 임시보관 중인 방사성폐기물 드럼은 처분장에 보관하여 관리하게 된다. 처분장에서 방사성폐기물 드럼을 인수할 때 교과부 고시 제2008-65호 ‘중·저준위 방사성폐기물 인도규정 고시’에서 정하는 기준들을 충족하여야 하며 처분시설의 안전성분석보고서 중의 ‘중·저준위 방사성폐기물 인수기준’에 킬레이트제 관련 기준은 다음과 같다. (1) 킬레이트제 및 킬레이트 화합물을 함유하는 포장물은 핵종 이동 저감화를 위해 제한하거나 제거하여야 하며, 0.1% 이상 잔존하는 킬레이트제 등은 그 화학명과 존재량을 명시하여야 한다. (2) 킬레이트제 및 킬레이트 화합물이 폐기물 무게의 1% 이상을 함유하는 폐기물은 고형화하여야 하며, 8% 이상 함유하지 않아야 한다. 이러한 인수기준을 충족시키기 위하여 방사성폐기물 드럼 중 킬레이트 함량을 측정하여야 한다. 본 실험은 효소법과 분광광도법을 이용하여 제염지 중 구연산 측정방법을 확립하고자 하였다.

2. 실험 및 결과

구연산 분해효소 (citrate lyase ; CL)는 구연산을 옥살아세트산과 초산으로 전환시킨다 (식 1). 말산 탈수소효소 (malate dehydrogenase ; L-MDH) 및 젖산 탈수소효소 (lactate dehydrogenase ; L-LDH)가 존재하면 옥살아세트산과 옥살아세트산의 탈카르복시 반응 산물인 피루브산은 니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드 (NADH)에 의해 각각 L-말산 및 L-젖산으로 환원된다 (식 2, 식 3). 산화된 NADH의 양은 화학양론적으로 구연산의 양과 같다. NADH는 340 nm에서 1 cm 셀로 시험 용액의 흡광도를 측정하여 구한다. 구연산 함량은 NADH 농도의 감소량에 비례한다.



편의를 위하여 Boehringer Mannheim 사로부터 1.4 g lyophilizate에 pH 7.8의 glycylglycine 완충용액, 136 units의 말산 탈수소 효소, 280 units의 젖산 탈수소효소 및 5 mg의 NADH가 혼합되어 있는 시약을 증류수 12 mL로 용해하여 사용하였다 (용액 1). 이 시약은 2~8 °C에서 보관하여야 하며, 용액은 2~8 °C에서 1주 동안 그리고 -20~-25 °C에서 4주 동안 안정하다. 50 mg의 lyophilizate 시트르산 분해 효소가 들어 있는 시약은 증류수 0.3 mL로 용해하여 사용하였다 (용액 2). 이 시약도 2~8 °C에서 보관하여야 하며, 용액은 2~8 °C에서 2주 동안 그리고 -20~-25 °C에서 4주 동안 안정하다.

바탕용액과 시료용액을 아래와 같이 만들어 흡광도를 측정하였다.

	바탕용액	시료용액
용액 1	1.000 mL	1.000 mL
시료용액	-	0.200 mL
증류수	2.000 mL	1.800 mL
위의 용액을 혼합하고 24 °C 수조에서 5분간 방치한 다음 흡광도를 측정하고 (A ₁) 용액을 보관한다.		
용액 2	0.020 mL	0.020 mL
위의 용액에 용액 2을 혼합하고 24 °C 수조에서 10분간 방치한 다음 흡광도를 측정한다 (A ₂).		

바탕용액 1 및 2의 흡광도를 각각 측정하고 흡광도 차이 (A₁-A₂)를 계산한다. 시료용액도 동일하게 측정된 다음 시료용액의 흡광도 차이에서 바탕용액의 흡광도 차이를 빼준다. 시료 중의 구연산 함량이 낮으면 시료용액을 최대 2 mL까지 취할 수 있다.

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{시료}} - (A_1 - A_2)_{\text{바탕용액}}$$

구연산 농도는 아래 식을 이용하여 계산한다.

$$\text{구연산 농도 (C)} = \frac{V \times MW}{k \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ (mg/L)}$$

여기서,

V : 최종부피, mL

v : 시료부피, mL

MW : 구연산의 분자량, g/mol

d : 셀 길이, cm

k : 340 nm에서 NADH의 흡광계수, (L/mmol·cm)

Δ A : 시료용액과 바탕용액의 흡광도 차이

구연산 용액의 시료부피를 최소 0.05 mL에서 최대 0.8 mL까지 변화시키면서 측정된 회수율은 98.7±4.4%이었다. 본 방법으로 용액 중의 구연산이 정량적으로 회수되었으므로 제염지에 구연산을 점적하고 건조한 다음 증류수를 가하고 마이크로파 용해장치로 침출하여 8회 측정된 결과 회수율은 90.9±3.4%이었다. 이 때 구연산을 침출하고 3일 후에 측정된 회수율은 66.1±0.6%로 감소하였으므로 침출하고 바로 측정하여야 한다.

3. 결론

본 방법으로 용액 중의 구연산은 정량적으로 회수되었다. 제염지에 구연산을 점적하고 건조한 다음 증류수로 침출하여 측정된 회수율과 상대표준편차는 각각 90.9% 및 3.7%이었다. 본 방법은 감도가 좋을 뿐만 아니라 검정곡선을 작성하지 않고 측정하므로 분석할 때 발생하는 방사성폐기물 양을 줄일 수 있어 중·저준위 방사성폐기물 시료 적용에 매우 적절한 방법으로 사료된다.