

## 염소처리에 의한 Microcystin의 제거

### Removal of microcystin by chlorination

이태관, 진정숙

Tae-Gwan Lee, Jung-Sook Jin

계명대학교 환경과학과

College of Environmental Science, Keimyung University

#### Abstract

On this study, removal method for microcystin, toxic substance released from the blue-green algae, using chloride was investigated. 82 ~ 98% of Microcystin were removed within 1 hr when sample had microcystin only. However, if the sample had algae cell removal efficiency was decreased to 50%, except the concentration of chloride 10 Cl-mg/l. As a result, intermediate-chlorination which dose chloride after coagulation process is considered the optimum method for the removal of microcystin because most of algae cell could remove during the coagulation process.

**Keywords** : Microcystin, Chlorination, *Microcystis aeruginosa*,

#### 1. 서론

우리나라 상수원은 대부분 댐이나 하천수에 의존하고 있으나, 부영양화에 의한 이들 수원의 오염에 대한 예방책이나 조류가 다량 발생한 경우에 대한 정수처리 방법에 관한 대책이 미비하다. 다량의 조류가 정수장으로 유입되면 응집저해, 여과장치 막힘 현상 등으로 정수처리 효율이 떨어져서 물 이용의 어려움을 초래하게 되며, 일부 남조류에 의한 건강상 피해를 유발할 수 있다.

남조류의 독소 중에 하나인 Microcystin은 사상성 남조류(*Anabaena*, *Oscillatoria*, *Noctoc*, *Hapalosiphon*)와 군체성 남조류(*Microcystis*)에 의해서 생성된다. 이 중에서 *Microcystis*는 우리나라뿐만 아니라 일본, 중국, 러시아 등 극동아시아 지역의 호소에서 출현하는 대표적인 종이다<sup>1)</sup>. 조류에 대한 피해는 1870년 호주를 시작으로 미국, 캐나

다, 영국, 일본 등 많은 나라에서 보고되고 있다<sup>2)</sup>. 그 중에서도 *Microcystis*에 의한 급성 독성 피해가 많이 보고되고 있으며, 그 원인물질은 microcystin으로 밝혀졌다<sup>3)</sup>.

Microcystin은 공통적으로 함유되어 있는  $\gamma$ -linked glutamic acid (Glu), 3-amino-9-methoxy-10-phenyl-2,6,8-trimethyldeca-4,6-dienoic acid(Adda), D-alanine(Ala),  $\beta$ -linked erythro- $\beta$ -methylaspartic acid( $\beta$ -Me-Asp), N-methyldehydroalanine (Mdha), 의 5개 아미노산과 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>로 표시되는 2개의 아미노산으로 이루어져 있으며, 분자량은 909~1067이다<sup>4)</sup>, <sup>5)</sup>. Microcystin에 의해 사람이 사망한 사고는 없었지만, 접촉에 의해 피부염이나 복통, 두통, 알레르기 등을 일으킨 보고가 있었으며<sup>6)~8)</sup>, 간암 발생의 증가 원인이 된다는 보고도 있다<sup>9)</sup>.

아직까지 국내에서는 남조류 독소에 의한 야생동물이나 가축 등의 직접적인 피해는 보고되지 않

았으나, 매년 여름 몇몇 수원에서 남조류에 의한 수화현상이 발생하고 있으므로<sup>10)</sup>, 이들을 상수원으로 장기간 사용할 경우 심각한 문제가 발생할 수 있다. 그러나, 이와 관련된 국내 연구는 수화 발생현황 파악<sup>11)</sup>이나, 독소분리<sup>12)</sup>에 관한 연구 등에 그치고 있으며, 조류와 독성물질 처리에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다.

몇몇 연구자들에 의해서 염소에 의한 microcystin 제거에 대한 연구가 수행되었으나, 우리나라 대부분의 정수장에서 행하고 있는 전염소 처리와 같이 조류 조체를 함유한 시료에 대한 연구는 수행되지 않았다.

따라서 본 논문에서는 조류 세포를 함유한 시료와 microcystin 표준액으로 조제한 시료를 대상으로 염소에 의한 microcystin의 제거율을 조사하였다.

## 2. 연구 방법

### 2.1 실험 재료

본 실험에서 사용한 조류는 *Microcystis aeruginosa*로서 국립환경연구원으로부터 분주받아 M<sub>11</sub>배지에 계대배양 하였다. M<sub>11</sub>배지의 조성은 Table 1과 같다. 조류는 25 °C, 조도 1900~2000 Lux, 명암주기 18h : 6h, 교반속도 50 rpm에서 배양하였다. 배양한 조류는 현미경을 이용하여 Hemocytometer로 측정하였다.

Table 1. The chemical composition of M<sub>11</sub> media

CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.004%
Fe-citrate	0.0006%
NaNO <sub>3</sub>	0.01%
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.001%
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0075%
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.002%

본 실험에서는 응집저해가 가장 큰 대수증식기의 *Microcystis aeruginosa*를 사용하였다<sup>13)</sup>.

### 2.2 실험 방법

염소처리에 의한 microcystin 제거 실험을 위해서 microcystin 표준액을 증류수에 일정농도로 희석하여 조제한 시료와 실제 전염소처리와 같이 조류 세포를 포함한 시료에 염소를 주입한 실험으로

나누어 실험하였다. 우선, microcystin 표준액을 이용한 실험은 microcystin-LR의 농도를 10 µg/l, microcystin-RR의 농도를 5 µg/l 가 되도록 조제한 시료였다. 조류수는 수화 발생시의 조류개체수인 6×10<sup>6</sup> cell/ml로 조정하여 조제한 시료였다.

염소농도는 일반 정수장에서 미생물 처리를 위해 투여하는 범위로 2, 3 mg/l로 하였고, 여름철 조류가 대발생하는 경우는 과량의 염소를 주입하므로, 염소농도를 과량으로 한 10 mg/l로 투여하여 실험하였다. 반응시간은 0, 2, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 720 분으로 하였다. 반응 수온을 25 °C로 조정하기 위해서 shaking water bath에서 수온을 25 °C로 조절하여 50 rpm으로 shaking하면서 실험을 수행하였다.

### 2.3 분석 방법

Microcystin-LR 표준물질 0.5 mg을 20 % 메탄올 2.5 ml에 녹여 200 µg/ml로 제조한다. Microcystin-RR도 같은 방법으로 200 µg/ml의 표준용액을 제조한다.

검량선 작성을 위해서 각각의 표준물질의 농도를 100, 50, 25, 10, 5 µg/ml로 조제한 시료를 10 µl씩 HPLC에 주입하여 peak면적법에 의하여 검량선을 작성하였다.

분석에 사용한 HPLC 조건은 Table 2와 같다.

Table 2. HPLC condition for analysis of microcystin

HPLC	
LC	Waters
UV-Detector	Waters 2487
Column	Novapak C <sub>18</sub> , 4 µm(3.9×150 mm)
Mobile phase	Methanol : 50 mM phosphate buffer (52 : 48), pH 2.5
Flow rate	1 ml/min
Detection wavelength	238 nm
Injection volume	10 µl

Microcystin 분석을 위해서 대상시료를 GF/C 여과지에 여과시킨 후 Fig. 1과 같이 세포성 시료와 용존성 시료로 나누어서 전처리 하였다. GF/C에 의해 통과된 여액의 용존성 시료는 100 % 메탄올과 증류수로 활성화된 C<sub>18</sub>-cartridge에 통과시켜서 microcystin을 추출하였다. 10 % 메탄올로

cartridge를 세척하고 100 % 메탄올로 C<sub>18</sub>-cartridge에 추출된 microcystin을 용출하였다. Microcystin을 용출한 100 % 메탄올을 증발시키고, 다시 10 % 메탄올에 녹여서 HPLC로 측정하였다. GF/C에 걸러진 세포성 시료는 냉동과 해동을 5 회 이상 반복하고, 100 % 메탄올 10 ml에 12 시간 둔다. 그리고, GF/C로 여과하여 그 여액을 용존성 시료와 같은 방법으로 추출한다.

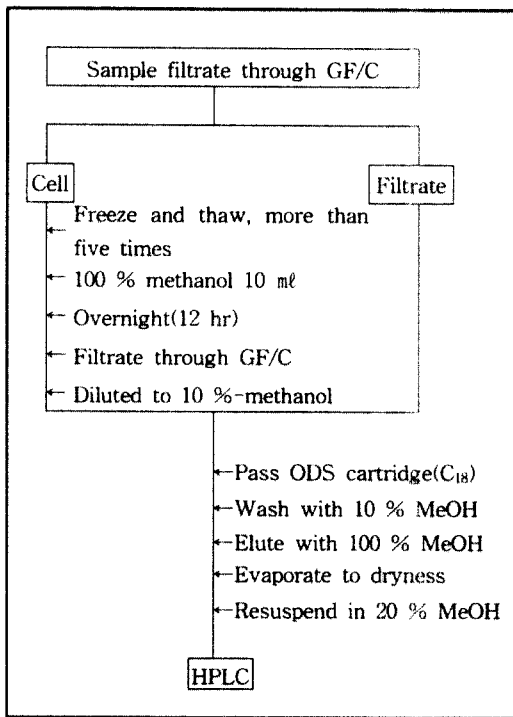


Fig. 1. Pretreatment of sample for microcystin analysis

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 Microcystin 표준액에 대한 염소처리

염소에 의한 microcystin 분해 실험은 우선 증류수에 microcystin 표준액만 있는 시료와 실제 전염소처리를 하게 되는 조건인 조류 세포가 있는 시료로 구분하여 실험하였다.

Fig. 2와 Fig. 3은 표준액으로 제조한 microcystin 시료에서 LR과 RR 각각의 제거율을 나타낸 그래프이다. Microcystin-LR은 염소 농도가 낮은 2 Cl-mg/l와 3 Cl-mg/l이 주입되었을

경우에는 접촉시간 120 분 이상부터 95 % 이상 제거되었으며, 과량으로 주입한 농도인 10 Cl-mg/l에서는 30 분 이후부터 95 % 이상의 제거율로 매우 높은 제거율을 나타내었다. Microcystin-RR은 본 실험에서 사용한 모든 염소 농도에서 반응시간이 30 분 이후부터 95 % 이상의 제거율을 나타내었고, 60 분 이후부터는 완전히 제거되는 것으로 나타났다. 이는 Nicholson 등이 이와 같은 실험을 하여 접촉시간 30 분에 70 ~ 80 %까지 남조 독소를 제거한다는 보고와 최일환 등에 의해서 연구되었던 연구 결과와 유사하게 나타났다<sup>14), 15)</sup>. 이렇게 분해된 microcystin 류는 여러 가지 부산물을 발생하는데, 그 중 하나는 dihydroximicrocystin이었으며, 다른 부산물은 microcystin의 입체 이성체나 구조 이성체이었는데 독성은 감지되지 않았다고 한다<sup>16)</sup>.

본 연구에서는 microcystin-LR보다는 -RR이 염소에 의해서 더 쉽게 제거되는 것으로 나타났다. 이는 microcystin 구조에서 R<sub>1</sub>과 R<sub>2</sub> 자리에 결합하는 단백질의 차이인 것으로 생각되어지며 이에 대한 자세한 연구는 차후에 이루어져야 할 것이다.

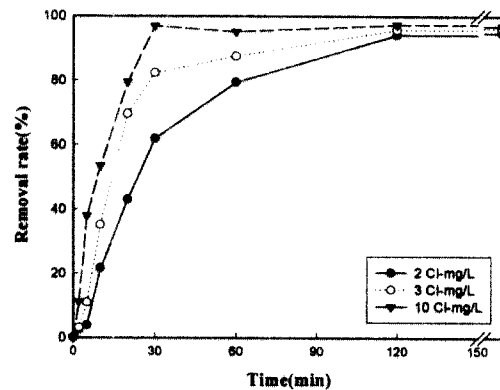


Fig. 2. Removal rate of microcystin-LR dependent on contact time at each chlorine concentration

#### 3.2 세포를 함유한 시료에 대한 염소처리

실제 정수장에서는 용존되어 있는 microcystin과 함께 조류세포도 포함되어 있는 원수가 유입된다. 따라서, 전염소처리와 같은 조건인 조류 세포를 포함하는 시료에 염소를 주입하여 microcystin의 농도 변화를 살펴보았다.

시료의 조류 개체수는 낙동강 하류 지역에 수화  
가 발생하였을 경우에  $10^6$  cell/ml까지 발생하므로  
 $6 \times 10^6$  cell/ml로 조정하였고, 염소량은 앞의 실험  
과 동일하게 하였다.

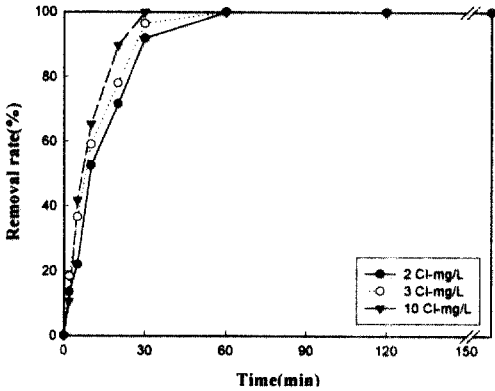


Fig. 3. Removal rate of microcystin-RR dependent on contact time at each chlorine concentration

Fig. 4와 5는 전염소처리에 의해 제거되는  
microcystin-LR과 microcystin-RR을 나타낸 그래  
프이다. 조류 세포가 있는 시료에서의  
microcystin-LR은 염소농도 2 Cl-mg/l, 3 Cl-mg/  
l에서는 반응시간이 60 분일 때까지 제거율이 40  
%를 넘지를 못했다. 그리고 720 분까지도 제거율  
이 60%가 되지 않는 것으로 나타나 Fig. 2와 3에  
서 나타난 결과와는 제거율에서 차이가 많았다.  
염소가 10 Cl-mg/l 주입된 시료에서는 접촉시간  
이 120 분 이상 되면서 제거율이 90%이상으로  
나타났다. Microcystin-RR에서도 이와 유사한 경  
향을 나타내었다.

Fig. 2와 Fig. 4를 비교해 보면, 염소농도 10 Cl-  
mg/l 일 때, Fig. 2에서는 접촉시간 15 분일 때  
이미 50% 이상의 microcystin-LR이 제거되는 것  
으로 나타났으나, Fig. 4에서는 20%도 제거되지  
않는 것으로 나타났다. 그 이하의 반응시간에서도  
Fig. 2에서는 급격하게 제거가 이루어지고 있는  
것을 알 수 있으나, 실제 조류가 있는 Fig. 4에서  
는 제거가 거의 이루어지고 있지 않았다. 이는 조  
류 세포가 있는 시료에는 AOM(Algogenic  
Organic Matter)이 수중에 존재하여 micro-  
cystin과 반응하는 염소를 소비하기 때문이거나,  
microcystin이 염소에 의해 제거되더라도 조류내  
의 microcystin이 세포외로 유출되는 속도와

microcystin이 제거되는 속도가 같아서 제거되지  
않는 것으로 보이기 때문이다.

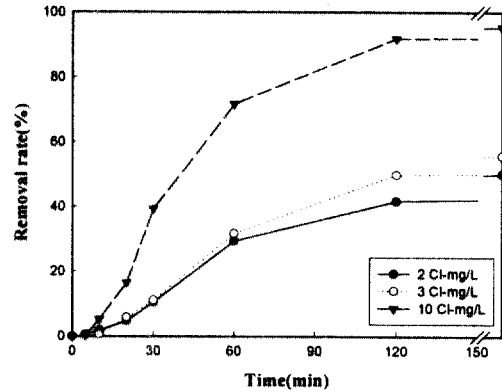


Fig. 4. Removal rate of microcystin-LR dependent on contact time at each chlorine concentration (prechlorination)

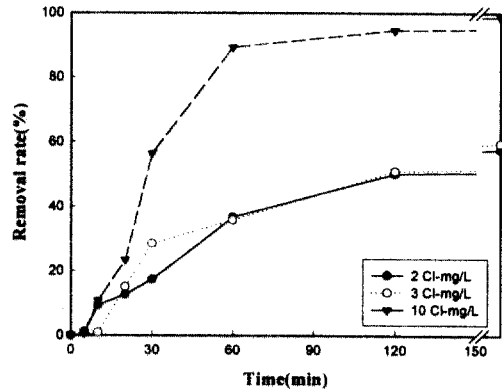


Fig. 5. Removal rate of microcystin-RR dependent on contact time at each chlorine concentration (prechlorination)

본 실험에서는 염소에 의해서 microcystin이 제  
거되는 것을 확인하였고, 효율도 매우 높은 것  
으로 나타났다. 그러나 세포를 함유한 시료에 대해  
서는 그 효율이 낮았다. 또한, 남조류 세포 자체를  
염소에 의해서 먼저 산화시키는 것은 세포로부터  
독소와 유기물질을 용출시켜서 정수처리에 더 많  
은 어려움을 초래하거나, 용출된 유기물질이 염소

와 반응해서 또 다른 발암성 물질인 THMs 및 DBPs를 생성할 우려가 있기 때문에 조류가 대량으로 정수장에 유입되었을 때 전염소를 과다하게 주입하는 것은 올바른 처리법이 아닌 것으로 생각된다<sup>17)</sup>.

따라서, 조류 세포를 응집 공정에서 처리하고, 수중에 남아있는 암모니아성 질소나 유기물질 및 독성물질을 염소로 처리하는 중간염소처리법이 효율적일 것으로 사료된다.

#### 4. 결론

본 논문은 염소를 이용하여 남조류가 생성하는 독성물질인 microcystin의 제거에 대해서 순수 microcystin만 함유한 시료와 조류 세포를 함유한 시료에 대한 연구 결과는 다음과 같다.

1. Microcystin만 존재하는 시료를 염소 처리한 결과 1시간 내에 약 82 ~ 98% 까지 제거되었다.
2. 조류 세포를 함유한 시료는 염소 농도 10 Cl-mg/l를 제외하고 제거효율이 50%로 낮아졌다.
3. Microcystin-LR보다 microcystin-RR의 제거율이 더 높게 나타났다.
4. 염소에 의한 microcystin 제거방법은 전염소 처리에서 염소를 과다하게 주입하여 처리하는 것보다 응집 공정에서 조류 세포를 제거한 후 염소를 주입하는 중간 염소처리가 바람직한 것으로 나타났다.

#### 5. 참고문헌

1. Watanabe, M. F. and Oishi, S. Toxicities of *Microcystis aeruginosa* collected from some lakes, reservoirs, ponds and amoat in Tokyo and adjacent regions. *Jpn. J. Limnol.*, 41, 5-9 (1980).
2. Carmichael, W. W. and Saffermann, R. S. A. status report on planktonic cyanobacteria(blue-green algae) and their toxins. EPA, 135-141 (1992).
3. Sivonen, K. Isolation and characterization of a variety of microcystins from seven strains of the cyanobacterial genus *Anabaena*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 2495-2500 (1992).
4. Botes, D. P., Wessels, P. L., Kruger, H., Runnegar, M. T. C., Santikarn, S., Smith, R. J. Barna, J. C. J. and Williams, D. H. Structural studies on cyanoginosins-LR, -YR, -YA and -YM, peptide toxins from *microcystis aeruginosa*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans., I*, 2747 (1985).
5. Rinehart, K. L., Harada, K. -L., Namikoshi, M., Chen, C., Harvis, C. A., Munroe, M. H. G., Blunt, J. W., Mulligan, P. E., Beasley, V. R., Dahlem, A. M. and Carmichael, W. W. Nodularin, microcystin, and the configuration of Adda. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 8557-8562 (1988).
6. Byth, S. Palm Island mystery disease. *J. Aust.*, 2, 40-42 (1980).
7. Billings, W. H. *Water-associated human illness in north-east Pennsylvania and its suspected association with blue-green algae blooms. The Water Environment ; Algal Toxins and Health.* Plenum Press., 243-255 (1981).
8. Turner, P. C., Gammie, A. J., Hollinrake, K. and Codd, G. A. Pneumonia associated with cyanobacteria. *BMJ*, 300, 1440-1441 (1990).
9. Nishiwaki, R. M., Nishiwaki, S., Ohta, T., Yoshizawa, S., Sukanwma, M., Harada, K.-I., Watanabe, M. F. and Fujiki, H. Structure-function relationships of microcystins, liver tumor promoters, interaction with protein phosphatase. *Jpn. J. Cancer Res.*, 82, 993-996 (1991).
10. Park, H. K. Seasonal succession of phytoplankton in some artificial lakes of Korea. *J. KSWPRC*, 8, 150-158 (1992).
11. 김용재, 이정호. "낙동강 수계의 6개 댐 호의 식물 플랑크톤 군집구조비교". *Korean Journal of Limnology*, 29(4), 347-362 (1996).
12. 박혜경, 진익렬, 류홍일, 류재근, 함森悠 平. "Microcystin(Cyanobacteria)분리주에 서의 Microcystin 생성에 관한 연구". *한 국수질보 전학회지*, 12(1), 29-34 (1996).
13. 이태관, 박상원, 배현균, 유대식, 김정. "Microcystis aeruginosa의 성장특성 및 응집에 미치는 영향". *수처리기술*, 6(1), 33-42 (1998).
14. Nakajima, A. and Sakaguchi, T. Selective

- accumulation of heavy metals by microorganism. *Appl. Microbio. and technol.*, 24, 59-64 (1986).
15. 최일환, 김선규, 김학철, 김순홍. "염소처리에 의한 남조류 Microcystins 제거 특성". *대한환경공학회지*, 23(6), 903-910 (2001).
  16. Tsuij, K., Watanuki, T., Watanabe, M. F. and Nakazawa, H. Stability of microcystin from cyanobacteria-4. Effect of chlorination on decomposition. *Toxicon*, 35, 1033-1041 (1997).
  17. 이태관, "THMs 발생제어에 관한 실험적 고찰", *수처리기술*, 5(4), 33-41 (1997)