

배양조류의 염소소독에 의한 클로로포름 생성특성 연구

김학철 · 최일환

한국수자원공사 K-water연구원

Formation of Chloroform from Algal Cell Cultures by Chlorination

Hak-chul Kim · Il-whan Choi

Korea Water Resources Research Institutes, Kwater, Daejeon, Korea, 305-390

Abstract

Unusual bloom of toxic cyanobacteria in water bodies have drawn attention of environmentalists world over. Major bloom of *Anabaena*, *Microcystis* in water storage reservoir, rivers and lake leading to adverse health effects have been reported from Australia, England and many part of the world. These cyanobacterial cells can release intercellular matter like toxin in water and these intercellular matter can increase the concentration of organic matter. Cellysis can occur when algal cells meet the disinfectants like chlorine in water treatment plant and the resultant rising up of DOC(Dissolved Organic Carbon) or TOC(Total Organic Carbon) can increase the formation of disinfection by products. Disinfectants that kill microorganisms react with the organic or inorganic matter in raw water. In general disinfectants oxidize the matter in raw water and the resultant products can be harmful to human. There are always conflict about which is more important, disinfection or minimizing disinfection by products. The best treatment process for raw water is the process of the lowest disinfection by products and also the the lowest microorganism. In this study the cultured cells, *Microcystis Aeruginosa(MA)*, *Anabaena Flos-aquae(AF)*, *Anabaena Cylindrica(AC)*, and the cells obtained in Daechung Dam(DC) whose dominant species was *Anabaena Cylindrica* were subjected to chlorination. Chlorination oxidizes inorganic and organic compounds and destruct live cells in raw water. Chloroform was analyzed for the cultured cells which were treated with 20mg/ℓ dose of chlorine. In general chloroform is easily formed when dissolved organic matter react with chlorine. The cultured cells contributes the concentration of dissolved organic carbon and also that of total organic carbon which might be potent precursors of chloroform formed. The correlations of the concentration of chloroform, DOC and TOC were investigate in this study.

Key Words : chlorine, chloroform, oxidation, cultured cells

I. 서론

조류는 강, 저수지, 호수에 어디든지 존재한다. 수화시기동안에는 조류세포수의 증가와 분비되는 대사물질이 수처리에 일련의 문제들을 야기한다. 첫 번째는 불쾌한 맛과 냄새, 두 번째는 특히 조류독소를 배출하는 남조류에 의한 잠재적인 독성문제, 세 번째는 응집공정에서 조류세포와 대사물질에 의한 방해이다¹⁻³. 네 번째는 총유기탄소(Total Organic Carbon)과 소독부산물 생성에 기여하는 것이다. 조류 세포는 다당류, 단백질, 펩타이드, amino-sugars 등 많은 종류의 유기질소화합물과 미량의 다른 유기산을 함유하고 있다. 이러한 물질들은 자주 extracellular organic matter(EOM)라 불리는 세포외물질의 세포내 그리고 세포의 평형에 의해서 이루어지는 확산을 통해서 성장하는 동안 분비된다. 이러한 모든 유기물들이 소독부산물 형성에 영향을 주며 주된 소독부산물인 trihalomethanes(THMs)과 haloacetic acids(HAAs)의 형성에 기여한다⁴⁻⁶. 소독부산물 형성에 미치는 조류(세포와 EOM)의 잠재적인 역할에 대해서 지난 20년 동안에 여러 연구가 이루어 졌다⁷⁻¹⁰. THMs의 경우 조류의 종류, 성장단계, 염소처리 조건(pH, 온도, 접촉시간)에 따라 달라진다. 본 연구에서는 염소농도의 변화에 따른 *Microcystis Aeruginosa*의 세포 변화와, 3 가지의 조류(*Microcystis Aeruginosa*, *Anabaena Flos-aquae*, *Anabaena Cylindrica*)를 실험실에서 배양하여 배양액의 조류세포수를 계수한 후 50,000cells/ml의 농도를 갖도록 조절하고 이 액에 염소의 농도를 20mg/l로하여 THMs중 주로 생성되는 클로로

포름의 농도를 시간에 따라 측정하였다. 본 연구에서 특히 관점을 달리해서 본 것은 TOC와 DOC값 중 어떤 것이 클로로포름의 생성과 더 큰 관련성을 갖는가에 대한 것이다.

II. 재료 및 방법

1. 조류배양 및 반응조건

*Microcystis*와 *Anabaena*의 염소농도에 따른 세포변화와 chl-a의 분해실험을 위해서 염소의 농도를 달리하여 관찰하였고 세포의 외형적 변화를 보기위하여 TEM(Transmission Electron Microscopes)로 측정하였다. THMs Formation Potential을 측정하기 위하여 대상으로 한 3종류의 배양조류의 명칭은 각각 *Microcystis Aeruginosa*, *Aphanizomenon Flos-aqua*, *Anabaena cylindrica* 이었고 *Microcystis Aeruginosa*는 MA라는 약자로 나타내었고 *Aphanizomenon Flos-aqua*는 AF, *Anabaena cylindrica*는 AC로 나타내었으며 현장조류는 대청댐에서 채취하여 DC로 나타내었다. 염소와의 반응을 위해 준비한 조류의 농도는 50,000cells/ml이었다. 2009년 7월 30일에 대청댐측에서 식물플랑크톤네트로 채취한 조체는 배양조류와 같은 방법으로 각각의 조류의 농도가 50,000 cells/mL이 되도록 증류수로 희석하여 시료를 조제하였고 염소의 농도는 20mg/L가 되도록 하였다. 염소를 가한 후 1일, 2일, 3일, 5일, 그리고 7 일째마다 시료의 일정량을 분취하여 Chloroform, TOC, DOC의 항목에 대하여 실험하였다. 조류 종의 배양을 위하여 JM 배지

를 사용하였고 온도는 25℃, 빛은 1000 lux, L/D cycle은 16:8로 유지하였다. 조류배양을 위하여 배양기를 사용하였다.

2. 실험방법

시료의 pH는 7 ± 0.5 로 조절하고 온도는 25℃, 염소의 농도는 20 mg/ml로 하였고 THMF(P(Trihalomethane Formation Potential) 실험에 따라 1, 2, 3, 5, 7일째 되는 날 시료를 취하여 반응의 종결제로 0.1N-Na₂SO₃를 사용하였다.

TOC는 배양조류 시험액을 거르지 않고 그대로 측정하였고 DOC는 0.45 μm의 cellulose nitrate membrane filter로 거른 후 측정하였

다. TOC와 DOC의 측정은 TEKMAR사의 DOHRMANN Pheonix 8000 The UV-Persulfate TOC Analyzer이라는 기기를 사용하였다.

일정 시간이 지난 후의 시료를 취하여 클로로포름 분석을 수행하였다.

Chloroform의 분석은 EPA Method 551.1 (Determination of Chlorination Disinfection Byproducts, Chlorinated Solvent, and Halogenated Pesticides/Herbicides in Drinking Water By Liquid-Liquid Extraction and Gas Chromatography with Electron-Capture Detection)방법에 따랐다. 클로로포름의 측정을 위해서 HP-6890 GC-ECD 시스템을 사용하였다. 클로로포름 분석을 위한 GC 조건은 Table 1과 같다.

Table 23. Gas Chromatographic conditions for Chloroform Analysis

Column	RTX-1701(Crossbond 14% cyanopropyl phenyl-86% dimethyl polysiloxane)
Carrier gas Flow	He 1.3 ml/min
Split ratio	50:1
Injection port temp	150℃

Ⅲ. 결과 및 고찰

Fig. 1과 Fig. 2는 *Microcystis*와 *Anabaena*의 배양액에 염소의 농도를 단계적으로 높여서 반응시킨 후 광학현미경으로 군체를 이루고 있는 또는 선 모양의 군체가 어떻게 변형되는 지

를 보여주고 있다. 염소의 농도가 높아질수록 군체가 해체되고 선 모양의 군체는 각각의 단일 셀로 해체되는 현상이 나타났다. 원래 녹색을 띄고 있는 *Microcystis*의 배양액에 염소의 농도를 높여가면서 처리한 결과 chl-a가 염소의 농도가 증가할수록 감소하는 현상을 보였다. 이것을 Fig. 3에 나타내었다.

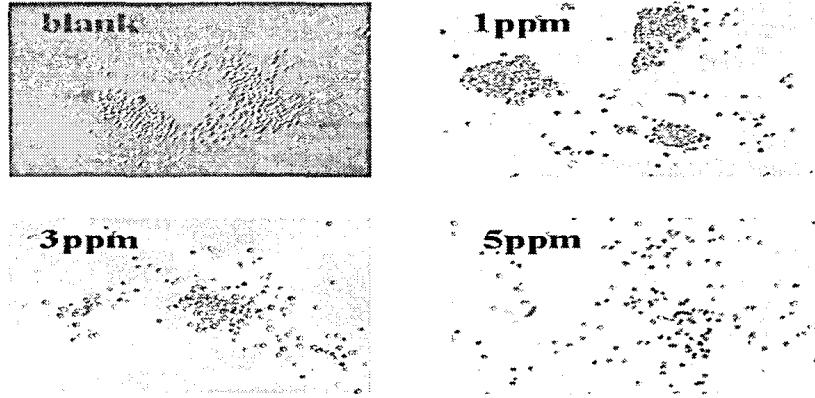


Fig. 5 Chlorinated cells of *Microcystis*.

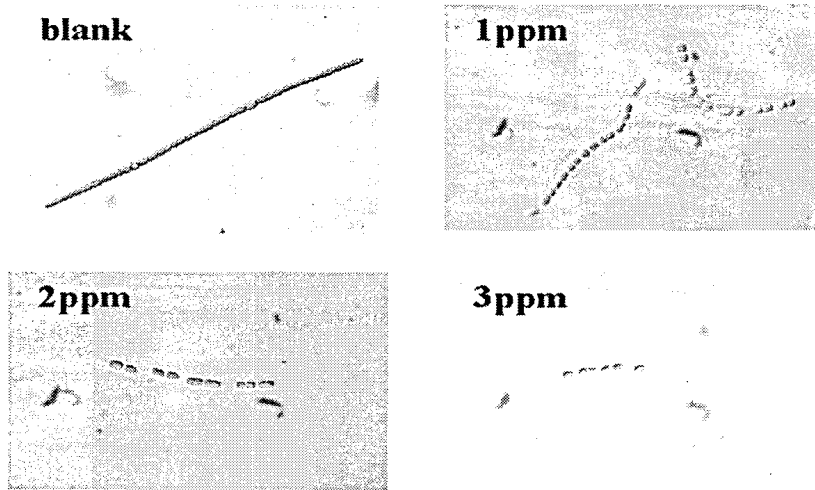


Fig. 6 Chlorinated cells of *Anabaena*.

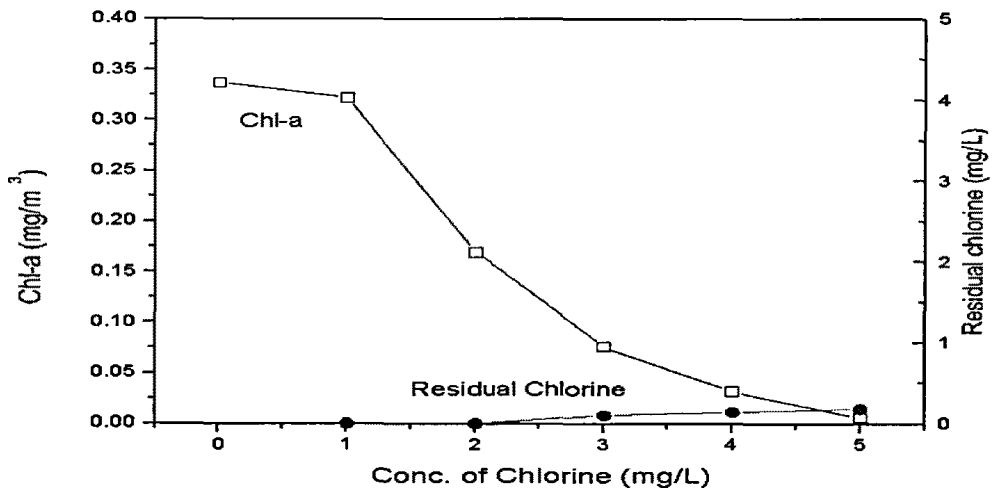


Fig. 3. Variation of chlorophyll-a of *Microcystis* cells as a function of chlorine dose.

이러한 현상은 염소의 농도를 높일수록 조류의 chl-a가 염소에 의해 산화되는 것으로 생각된다. 이러한 현상은 염소의 단계별 농도를 조류세포와 반응시킨 시료액들 간의 대조로도 확연하게 알 수 있으며, 이를 Fig. 4에 나타내었다. 염소의 농도가 높아질수록 세포를 포함하는 시료액의 농도가 초록색에서 거의 무색으로 변해가는 현상이 관찰되었다.

Fig. 5는 TEM(Transmission Electron

Microscopes)을 이용하여 염소농도의 증가에 따른 *Microcystis* 세포의 모양 변화를 관찰한 것이다. 염소가 없는 상태에서는 세포벽이 존재하는데 반하여 염소의 농도가 증가될수록 세포벽이 깨지고 심지어 세포벽이 없어지는 현상이 나타남을 알 수 있다. 이렇게 세포벽이 파괴되면 염소와 chl-a가 반응하게 되고 chl-a가 산화되면서 그 색을 잃게 되는 현상을 설명할 수 있도록 해 준다.

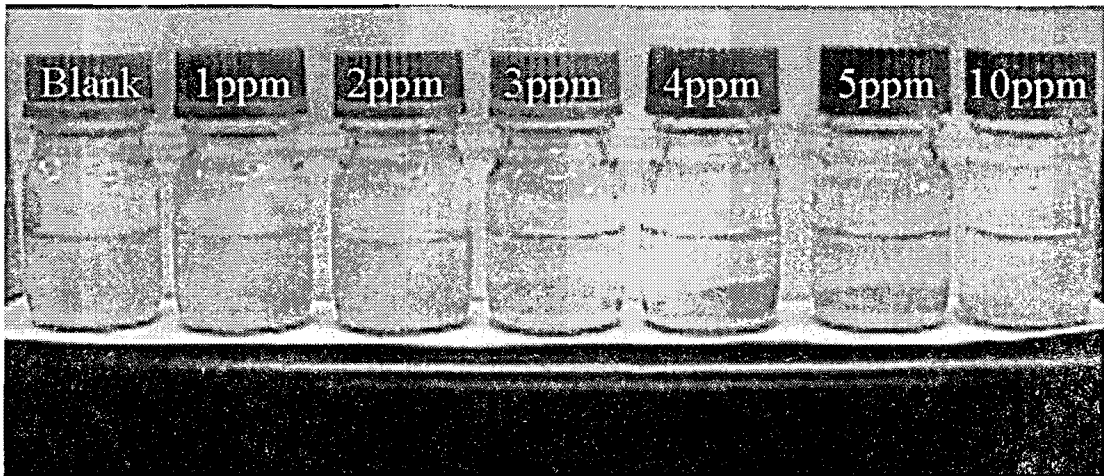


Fig. 8. Apparent change of *Microcystis* cultures by chlorination.

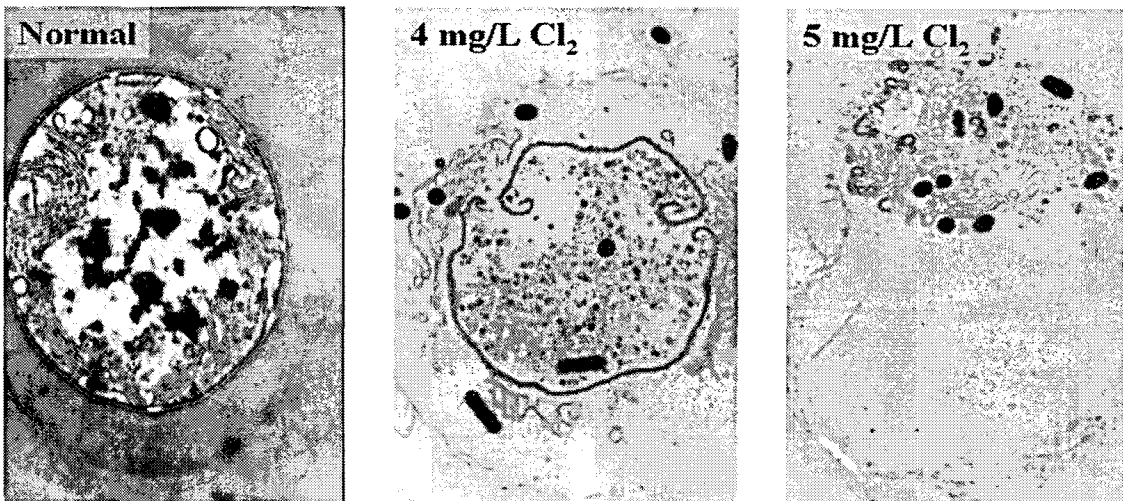


Fig. 9. Electron micrographs of normal and chlorinated *Microcystis* cells(TEM, x7,000).

Fig. 6은 염소의 농도를 20 mg/l로 하고 배양조류의 농도를 50,000 cells/ml로 한 후 THMFP 실험을 수행하여 1, 2, 3, 5, 7일째 시료를 취하여 클로로포름을 분석한 결과이다. 이 결과에 따르면 3가지 배양조류의 경우 2일째에 최대값을 보이고 그 이후에는 3일째 급격히 감소한 후 다시 약간 증가하는 경향을 보이며 대청댐의 현장조류의 경우도 거의 같은 경향을 보이지만 3일 이후 증가하는 폭이 3개의 배양조류보다 그 정도가 컸다. 이러한 현상은 액체배지와 특정 조류로만 이루어진 배양조류보다 현장조류의 시료액에 다른 유기성분이 다분히 많기 때문에 일어나는 결과라고 할 수 있다. Fig. 7의 TOC의 측정결과도 클로로포름의 결과와 흡사한 양상을 보였다. 조류의 종류에 따라 최대값의 순위가 바뀌었지만 2일째 최대값을 보이고 3일째 크게 그 값이 떨어지며 그 이후로 약간의 증가를 보이는 경향은 같았다.

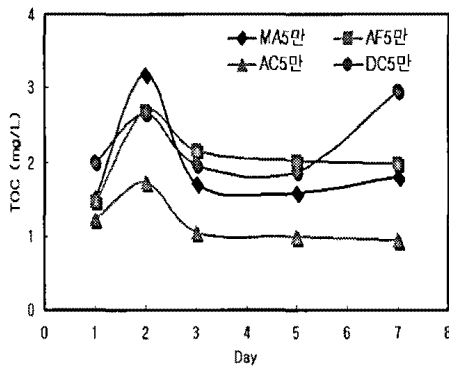


Fig. 10. Variations of TOC of algae cultures as a function of reaction time(50,000 cells/ml)

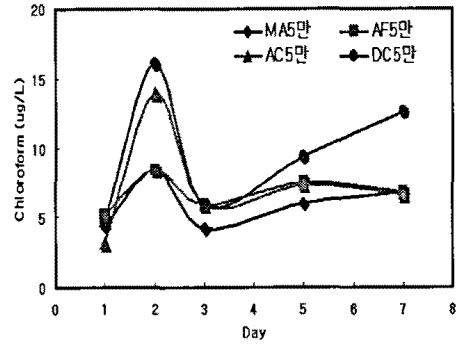


Fig. 11. Variations of Chloroform of algae cultures as a function of reaction time(50,000 cells/ml).

Fig. 8의 DOC를 측정된 결과는 클로로포름과 TOC의 경향과 크게 일치하지는 않지만 2일째 최대값을 보이는 현상과 그 이후로 감소하는 경향은 일치하였다. 외국의 문헌을 보면 조류를 배양하기 시작하여 시간이 지날수록 THMFP의 농도가 서서히 증가하는 것으로만 보고되었지만 본 연구에서의 결과는 그와는 다른 양상을 보이고 있다. 이러한 경향은 조류라는 생물이 염소와 반응하여 보이는 복잡한 반응기작의 결과라고 사료되며, 왜 이러한 결과가 나타나게 되는지를 합리적으로 설명하기는 어렵다. 다만 추측할 수 있는 것은 염소와 조류의 반응이 일어나면서 생성된 클로로포름과 TOC, DOC가 고농도로 존재하는 염소에 의해 다시 산화되어 분해되고 그 이후 염소와 조류세포의 계속적인 접촉에 의해 조류세포내 또는 조류세포외물질들이 시료액으로 분비되어 TOC와 DOC가 서서히 증가되면서 클로로포름도 증가할 수 있다는 것이다.

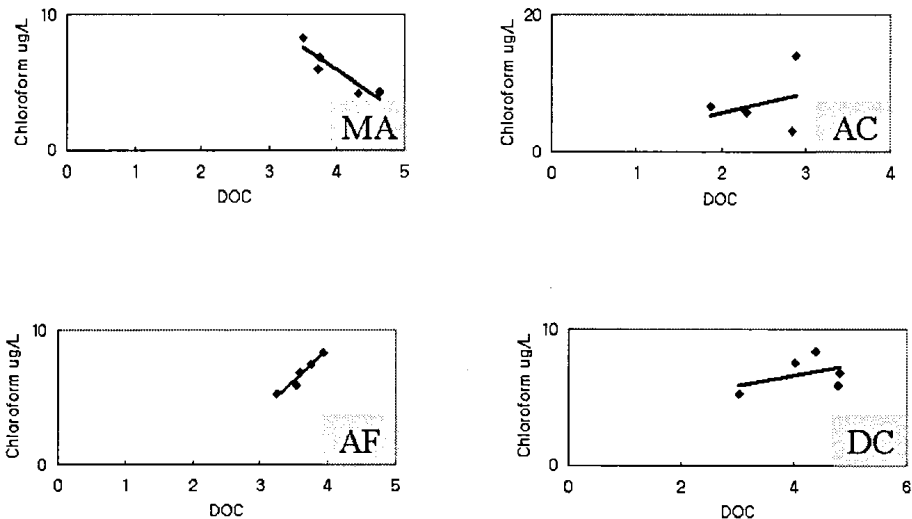


Fig. 12. Correlations between the chloroform concentrations and DOC concentrations.

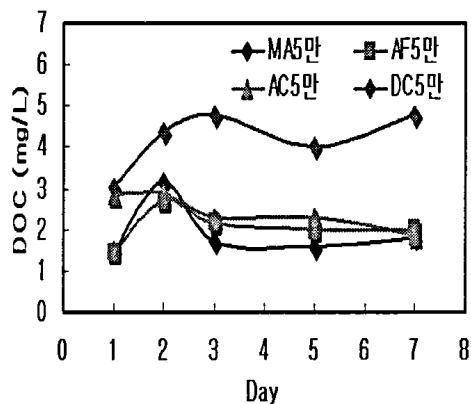


Fig. 13. Variations of DOC of algae cultures as a function of reaction time(50,000 cells/ml).

생성된 클로로포름의 농도와 그때의 TOC와 DOC농도와의 상관성은 Fig. 9와 Fig. 10에

나타내었다. DOC의 경우 *Anabaena Flos-aquae*(AF)의 경우 거의 직선적인 상관성을 보이지만 나머지 조류중에 대해서는 낮은 상관성을 보이고 있다. 반면 클로로포름과 TOC의 상관성은 모든 조류 중에 대하여 크게 나타나고 있다. 이러한 결과로 조류세포와 염소의 반응에서 시료액에 녹아있는 DOC보다는 고체성분을 포함하는 TOC가 클로로포름의 생성에 더 크게 기여하며 조류분비물보다도 조류세포 자체가 클로로포름의 전구체가 될 수 있다고 결론지을 수 있다.

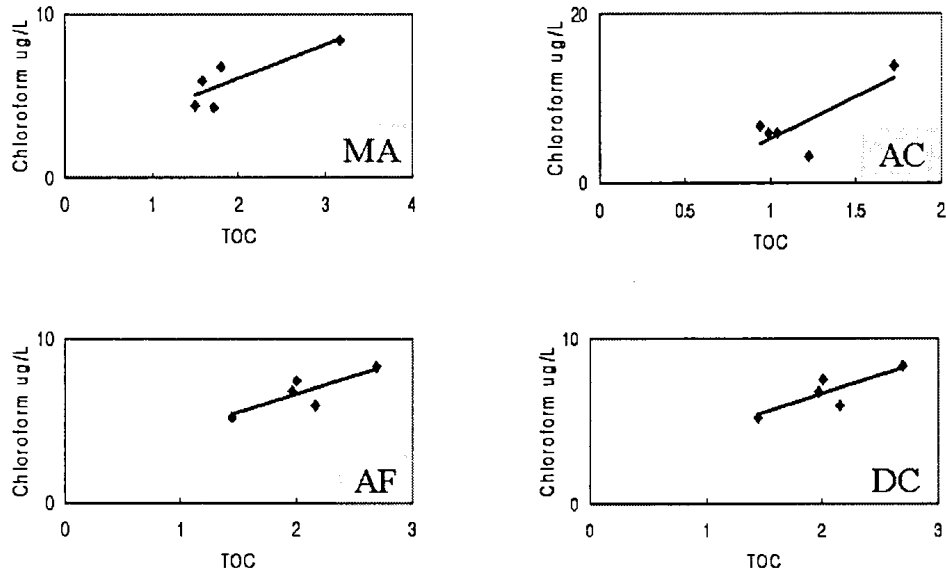


Fig. 14. Correlations between the chloroform concentrations and TOC concentrations.

IV. 결론

3가지의 배양시료와 1가지의 현장조류에 대하여 클로로포름의 생성농도를 측정하고 조류시료가 같은 세포수를 가질 때 배양된 조류세포보다 현장시료에서 생성된 클로로포름의 농도가 더 높았다. 그 이유는 현장시료의 경우 조류이외에 다른 유기물질이 혼재해 있기 때문이라고 판단된다.

특이한 점은 배양시료와 현장시료에 대한 클로로포름의 생성농도와 TOC의 측정값이 염소와 접촉하는 일주일의 기간 동안 계속 증가한 것이 아니라 2일째 최대값을 갖고 다시 감소하였다가 다시 서서히 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 생성된 클로로포름이 염소에 의해 다시 분해되었다가 염소가 세포벽을 깨뜨리면서 발생하는 세포내 유기물질의 분비현상이 증가하여 나오는 결과라고 예측할 수 있다.

본 연구에서는 시료중의 유기물의 척도인 TOC와 DOC를 측정하였고 이것이 클로로포름의 생성농도와 상관성을 가지고 있는지 조사하였다. 대체적으로 클로로포름의 생성정도는 DOC보다는 TOC와 더 큰 상관성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 이러한 현상이 나타나는 정확한 이유에 대해서는 알 수 없다. 결론적으로 클로로포름을 생성하는 전구체로서 일반적으로 물 안에 녹아 있는 유기물질만을 생각하지만 조류의 세포 자체도 염소와 반응하여 클로로포름을 생성할 수 있는 전구체가 될 수 있다고 사료된다.

참고문헌

1. Plummer, J.D., Edzwald, J.K., 2002. Effects of chlorine and ozone on algal cell properties and removal of algae by coagulation. *Journal of Water Supply*

- Research and Technology-Aqua* 51 (6), 307~318.
2. Takaara, T., Sano, D., Konno, H., Omura, T., 2007. Cellular proteins of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride. *Water Research* 41 (8), 1653~1658.
 3. Henderson, R.K., Baker, A., Parsons, S.A., Jefferson, B., 2008. Characterization of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Research* 42 (13), 3435~3445.
 4. Scully, F.E., Howell, G.D., Kravitz, R., Jewell, J.T., Hahn, V., Speed, M., 1988. Proteins in natural-waters and their relation to the formation of chlorinated organics during water disinfection. *Environmental Science & Technology*, 22 (5), 537~542.
 5. Hureiki, L., Croue', J.P., Legube, B., 1994. Chlorination studies of free and combined amino-acids. *Water Research*, 28 (12), 2521~2531.
 6. Westerhoff, P., Mash, H., 2002. Dissolved organic nitrogen in drinking water supplies: a review. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 51 (8), 415~448.
 7. Wardlaw, V.E., Perry, R., Graham, N.J.D., 1991. The role of algae as trihalomethane precursors - a review. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 40 (6), 335~345.
 8. Graham, N.J.D., Wardlaw, V.E., Perry, R., Jiang, J.Q., 1998. The significance of algae as trihalomethane precursors. *Water Science and Technology*, 37 (2), 39~83.
 9. Plummer, J.D., Edzwald, J.K., 2001. Effect of ozone on algae as precursors for trihalomethane and haloacetic acid production. *Environmental Science & Technology*, 35 (18), 3661~3668.
 10. Nguyen, M.L., Westerhoff, P., Baker, L., Hu, Q., Esparza-Soto, M., Sommerfeld, M., 2005. Characteristics and reactivity of algae produced dissolved organic carbon. *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 131 (11), 1574~1582.