

## ***Microcystis* sp.의 오존접촉특성 및 부산물 생성에 관한 연구**

**김영웅 · 손희종 · 유명호 · 이춘식\* · 김성윤\*\***

부산시 수질연구소  
\*진주산업대학교 환경공학과  
\*\*동경공업대학 원자로공학연구소

### **Investigation on the products generated by the ozonation of *Microcystis* sp.**

**Young-Ung Kim · Hee-Jong Son · Myung-Ho Yu  
Chun-Sik Lee\* · Seong-Yun Kim\*\***

*Pusan Water Quality Institute*  
*\*Department of Environmental Engineering, Chinju National University*  
*\*\*Research Laboratory for Nuclear Reactors, Tokyo Institute of Technology*

#### **Abstract**

This study investigated the removal characteristics, Microcystin decomposition and generation of by-products when aqueous *Microcystis* sp. is oxidized by ozone.

The concentration of Microcystin (MC) in aqueous solution has been found by HPLC analysis to decrease continuously by ozonation after the initial, abrupt increase. The kinetic constant of the decomposition of MC-RR and -LR were 0.0596 and 0.0243, respectively. This means that removal efficiency of MC-RR by its oxidative decomposition is preferable compared with that of MC-LR.

On the other hand, it has been found that the decomposition product, TOC, exhibits the continuous decrease in the concentration by further ozonation, while DOC and UV-254 increase temporarily until 10 minutes before the decrease. Furthermore, the GC/MSD analysis has revealed that the ozonation of *Microcystis* sp. for 100 minutes affords five kinds of aldehydes, six kinds of alcohols, and *trans*-1,2-dimethyl-cyclopropane.

**KEYWORDS** : *Microcystis* sp., Ozonation, Microcystin, kinetic constant, by-products, HPLC, GC/MSD

## 1. 서 론

산업의 고도화와 생활수준의 향상으로 인해 해마다 각종 폐수 방류량은 증가하여 수중의 질소와 인과 같은 영양염류의 증가로 인해 수중 생태계에 악영향을 미쳤으며, 하천과 호소의 부영양화를 초래하여 왔다. 이로 인해 하천수를 상수원으로 이용하는 지역에서는 계절별로 나타나는 다양한 조류종들로 인하여 정수처리에 직·간접적인 어려움을 겪고 있으며, 또 이들에 의해 발생하는 것으로 추측되는 이취로 수돗물에서의 민원발생이 증가하고 있는 추세에 있다.

남조류는 수질 오염이 심한 담수역에 전세계적으로 대번무를 하고 있으며 이에 따라 많은 문제를 일으키고 있다<sup>1)2)3)</sup>.

낙동강에 본격적으로 번무한 것은 1992년으로, 7월말에 폭발적으로 발생한 이후에 해마다 하절기에 대량으로 나타나 *Microcystis* sp.의 우점도가 95% 이상에 이르고 있으며, 5월말부터 10월말까지 만성적으로 출현하고 있다<sup>4)</sup>.

남조류가 생산하는 독소 화합물질 중에서 가장 빈번하게 검출되는 microcystin은 *Microcystis*속의 많은 종에 의해 생산되며 그 외 *Oscillatoria*와 *Anabaena* 속에서도 microcystin 생산종이 보고되고 있다<sup>5)</sup>. *Microcystis* sp.는 생체내에 독성물질을 함유하고 있어, 이 microcystin을 mouse나 rat의 복강내에 일정량을 주사했을 경우 1~2시간 이내에 사망하며 사인은 주로 간장에 출혈을 일으켜 사망하는 것으로 나타나 간장에 급성독성을 나타내는 간장독(Hepatotoxin)으로 밝혀졌고<sup>6)</sup>, 장기간 투여함으로써 발암촉진 작용이 있는 것으로 밝혀져 있다<sup>7)</sup>. 사멸 및 생육과정에서 독성물질이 용출되어 이를 상수원으로 이용할 경우 수돗물의 안전성에 큰 영향을 미치고 있어<sup>8)</sup> 최근 전 세계적으로 정수 공정상 microcystin의 제거에 관한 연구가 활발하게 진행중이지만 미량의 microcystin을 완전하게 제거하기란 어려움이 있다. 종래의 모래여과는 microcystin을 효과적으로 제거하지 못하는 것으로 알

려져 있으며<sup>9)</sup>, 안트라사이트와 모래의 이중 여재를 사용하는 여과과정에서 microcystin-LR을 14~60% 정도 제거하였다는 연구보고도 있다<sup>10)</sup>.

또한, 응집제, 모래 여과, 염소 산화, 활성탄 흡착, 오존 산화 등의 공정들을 적절히 결합하여 microcystin을 제거하는 실험을 실시한 결과 GAC, 오존처리에 의해 100%의 제거율을 보였다는 연구<sup>11)</sup> 및 부산 H 정수장의 원수내의 microcystin 농도가 1.3 $\mu$ g/L였으나 전염소를 거치면서 92.5%의 제거율을 보였고, 전 오존산화에 의해 0.05 $\mu$ g/L 이하로 전체 96.2%의 제거율을 보였다는 연구결과도 보고된 바 있다<sup>12)</sup>.

이와 같이 최근 전 세계적으로 정수공정에서 microcystin의 제거에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있지만, 국내에서는 상수처리시 microcystin의 제거특성에 관한 연구가 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 남조류인 *Microcystis aeruginosa*의 동결건조시킨 조체를 오존산화시켰을 때 *Microcystis aeruginosa* 제거특성과 유기물의 제거경향 및 독성물질의 용출과 분해특성에 대한 연구를 수행하였으며, 오존산화 부산물의 생성에 관한 연구에도 초점을 맞추었다.

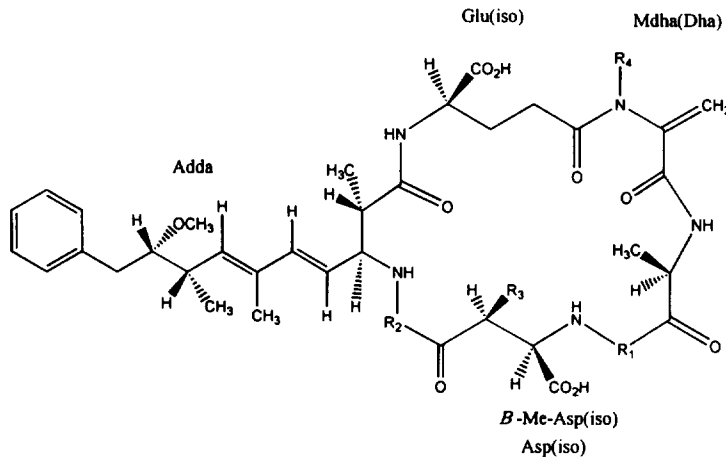
## 2. 문헌 연구

현재 세계에서 분리된 것으로는 변종을 포함하여 약 50여 종류<sup>13)14)</sup>로 알려져 있는 microcystin은 최근 들어 분리 정제의 기술발전으로 NMR, FAB mass spectrometry 등을 사용하여 그 구조가 밝혀지게 되었다.

Microcystin은 D-alanine(Ala), D-glucose acid(Glu), Erythro-methyl -dehydroalanine(Mdha) 및 탄소원자가 20개로 이루어진 아미노산인 3-amino-9-methoxy-10-phenyl-2,6,8-trimethyl-4,6-decadiene acid(Adda)의 5 종류의 구성 아미노산을 공

통괄적으로 가지고 있고, 성분에 의해 변화하는 2종의 L-amino acid(R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>)과 더불어 총 7종의 amino acid로 이루어진 환상 peptide 성분이다<sup>13)</sup>.

과적으로 산기시켰다. 연결관은 부식 및 오존과의 반응을 고려하여 실리콘 tube를 사용하였으며, 가능한 짧게 연결하였다. 반응기 상단에는 배가스 배출구를 설치하였으며, 미반응



Adda : 3-amino-methoxy-10phenyl-2,6,8-trimethyl-deca-4,6-dienoic acid  
Mdma : N-methyldehydroalanine

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	M.W.
Microcystin-RR	Arg	Arg	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	1037
Microcystin-LR	Leu	Arg	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	994

Fig. 1 The chemical Structure of Microcystin RR and LR.

### 3. 실험 및 방법

#### 3.1. 실험장치

본 연구에서 사용된 오존접촉조는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 용량 20L의 bench scale로 시료수 일정량을 오존접촉조에 채운 후, 오존을 시료수 일정량에 대해 연속적으로 접촉시킨 semi-batch reactor에서 수행하였으며 재질은 투명아크릴이며, 오존의 부식성에 대비하여 impeller는 SUS-316L로 제작하였다. 오존접촉조는 직경 18cm, 높이 100cm이며, 반응기 외벽으로 water-jacket이 설치되어져 있으며, 기·액접촉반응의 효율을 높이기 위해 저부에 원형 diffuser를 설치하여 주입되는 오존을 효

상태로 배출되는 오존가스는 오존파괴조를 거치면서 약 250℃에서 열분해되어 파괴된다.

오존발생장치(Ozonizer, EO-302, Okano works, Japan, sources oxygen, density 1% 이상)는 corona discharge 방식으로 고순도 산소를 주입하여 오존을 발생시킨 후, 유량계로 오존반응조내로 주입되는 오존양을 1.42mg/sec로 조절하여 실험하였으며, 이때 반응기내 잔류오존농도는 0.7mg/L였다.

#### 3.2. 실험 및 분석방법

낙동강 원수에서 채취한 조류(*Microcystis aeruginosa*) 조체를 동결건조시켜 초순수제조기(Millipore社)를 거친 20L의 증류수에 1g

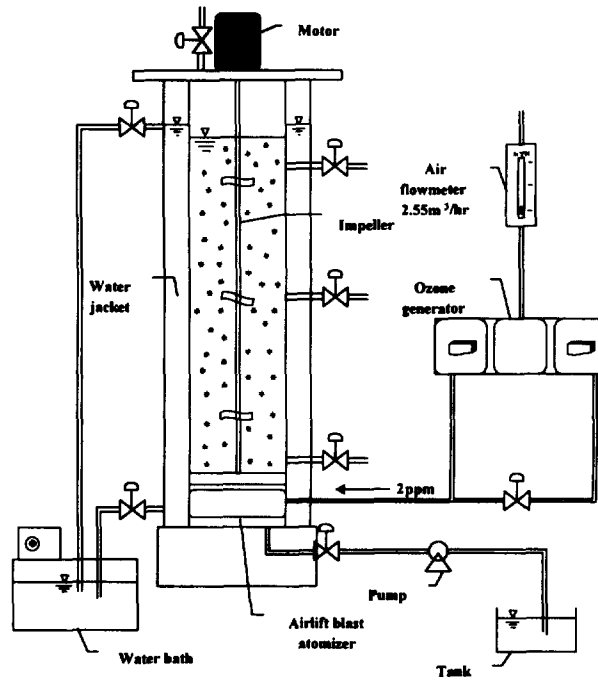


Fig. 2 Schematic diagram of ozonation apparatus.

을 투여하고, 오존접촉조의 임펠러로 5분간 충분히 혼합시킨 후 실험하였다.

오존접촉 시간별로 Microcystin, Chl-a, TOC(Shimadzu 5000), DOC(Sievers 800) 및 UV-254를 각각 측정하였다. Micro-

cystin은 시료수 500mL를 Auto-trace(SPE Workstation, Tekmar)를 이용하여 Sep-pak 카트리지(C<sub>18</sub>)에 통과시킨 후 수세과정을 거쳐 최종적으로 20% 메탄올로 추출하여 0.2  $\mu$ m 멤브레인 필터(Sartorius Minisart RC4)

Table 1 Analytical conditions of the GC/MSD and the Purge & Trap

GC/MSD
- GC : varian Star 3400CX
- MSD : Varian Saturn 2000, EI mode
- Column : DB-5MS, 60m * ID 0.25mm * 0.25 $\mu$ m
- Oven Temp. : Hold 10min, 1st rate 5 $^{\circ}$ C to 150 $^{\circ}$ C, 2nd rate 4 $^{\circ}$ C to 250 $^{\circ}$ C
Purge & Trap
- Tekmar LSC-3000 Purge and Trap Concentrator
- Purge Time : 8min
- Trap : # J (VOCARB 4000), Desorb 4min (260 $^{\circ}$ C), Bake 5min. (260 $^{\circ}$ C)

Table 2 Analytical Conditions of the HPLC

- 
- LC : Waters 2690
  - UV-Detector : Waters 996, photodiode array detector
  - Column : Nova-Pak C<sub>18</sub>, 3.9×150mm
  - Mobile phase : MeOH : 50mM phosphate buffer(pH 2.5, 58:42)
  - Flow rate : 1ml/min,
  - Detection : 238nm
- 

로 여과하여 HPLC(PDA)로 분석하였다<sup>15)</sup>. HPLC (PDA)법은 300ng까지 검출이 가능하다. DOC는 0.45 $\mu$ m cellulose ester membrane filter(ADVANTEC MFS, Inc.)를 이용하였으며, UV-254는 GF/C filter(Whatman)로 여과한 후 그 여액을 측정하였다. 모든 실험은 수질오염 공정시험법과 일본 상수도 시험법, Standard Methods에 준하여 분석하였고, 수중의 잔류오존농도는 Indigo법,

오존접촉조대로 공급되는 가스상의 오존 농도는 KI법에 의해 측정하였다.

위의 Table 1, 2에는 실험에 사용된 기기의 분석조건을 나타내었다.

## 4. 결과 및 고찰

### 4.1. 조류독소 분해

중류수에 동결건조시킨 *Microcystis*를 첨가

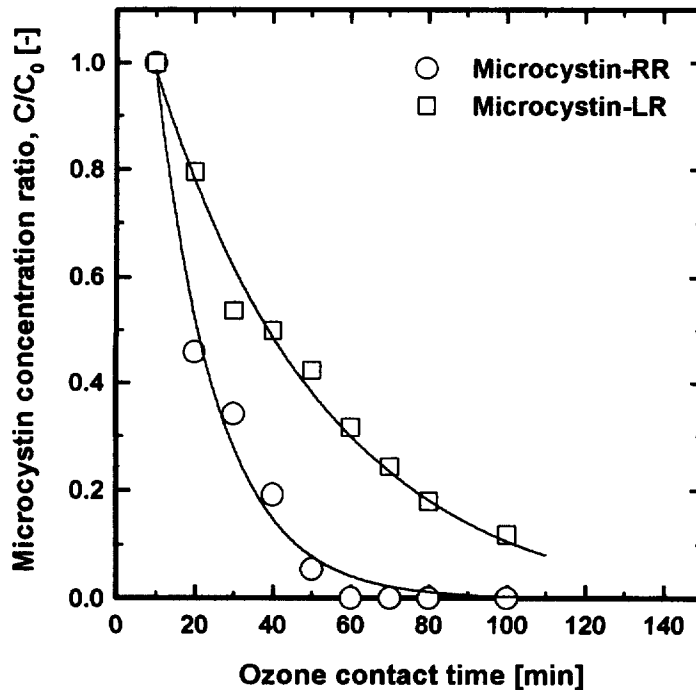


Fig. 3 Variation of Microcystin with ozone contact time.

하여 반응조에 투입하고, 오존접촉시간에 따른 microcystin의 변화를 Fig. 3에 나타내었다.

MC-RR과 -LR의 초기농도는 각각 0.47, 0.68 $\mu\text{g/L}$ 였으며, 오존접촉 10분 후 세포내 독소물질이 용출되어 MC-LR이 3.94 $\mu\text{g/L}$ 였고 MC-RR의 농도는 2.52 $\mu\text{g/L}$ 로 급격히 증가하였으나, 그 후 오존접촉시간에 따라 MC-LR과 -RR의 농도가 감소하였다. 본 실험에서 사용한 *Microcystis* sp.는 동결건조시킨 조체를 이용하였기 때문에 초기 보다 10분 후의 microcystin의 농도가 최대값을 나타내었다. 따라서 오존접촉시간 10분이 조체가 파괴되어 microcystin의 용출이 종결된 시점으로 보고 이 이후의 농도변화에 대해 고찰하기로 한다.

MC-RR은 오존접촉 60분부터는 검출되지 않았으며, MC-LR의 경우 접촉시간 100분까지 88%의 제거율을 나타내었다. 오존에 의한 MC-LR과 -RR의 분해시 MC-RR이 -LR 보다 오존에 의한 산화율이 높은 것으로 조사되었으므로, 이는 MC-RR과 -LR을 구성하는 구

성단백질의 차이에 의해 기인된 것이라 사료된다.

#### 4.2. Microcystin의 오존산화 속도상수 결정

일반적으로 속도상수는 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다.

$$C/C_0 = a \cdot \exp(-k \cdot t) \quad (1)$$

여기서 절편값  $a$ 는  $C$ (반응시간 후 농도)와  $C_0$ (초기농도)가 같을 때 ( $C=C_0$ )의 값이므로  $a$ 는 1이며,  $k$ 는 속도상수,  $t$ 는 접촉시간이다.

식(1)을 이용하여 속도상수  $k$ 를 회귀분석하여 구한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. MC-RR의 분해속도상수  $k$ 는 0.0596 $\text{min}^{-1}$ 이었으며, -LR은 0.0243 $\text{min}^{-1}$ 로 -RR이 상대적으로 분해속도상수가 큼을 알 수 있었다. 또한 MC-RR의 95% 제거에 소요되는 오존접촉시간은 약 50분 정도이나, MC-LR을 95% 제거

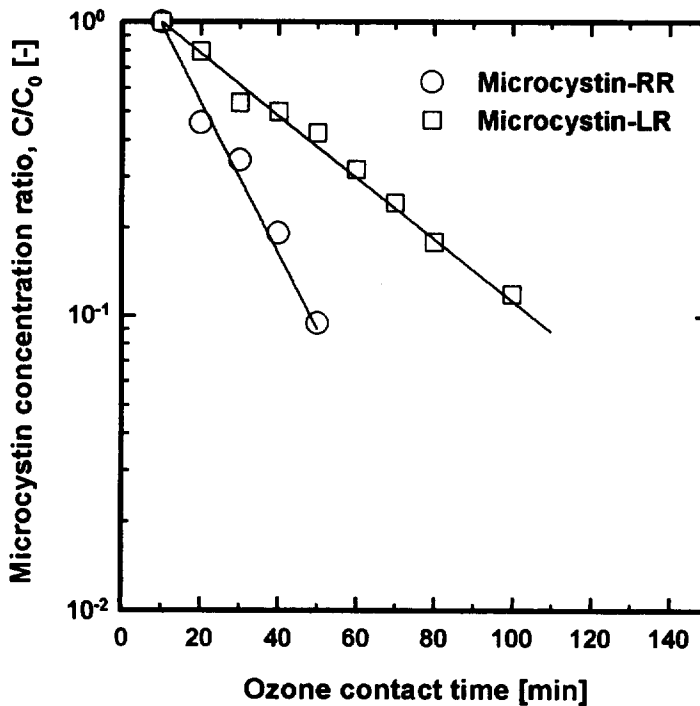


Fig. 4 First-order reaction plot of Microcystin.

하기 위해서는 약 123분 정도의 오존접촉시간을 요구함을 알 수 있었다. 따라서 독성이 강한 MC-LR의 완전한 제거를 위해서는 약 120분 정도의 충분한 오존접촉 시간이 필요함을 알 수 있었다.

**4.3. 조류색소 분해**

증류수에 *Microcystis*만을 투입하여 오존접촉시 클로로필-a의 제거경향을 Fig. 5에 나타내었다. 오존 접촉초기부터 오존산화에 의해 클로로필-a의 농도가 감소하는 것을 볼 수 있으며, 접촉 20분 후에는 약 98%의 제거효율을

나타내었다. 따라서, 클로로필-a는 오존처리에 의해 효과적으로 제거할 수 있는 것으로 나타났다.

색도변화를 찍은 사진을 Fig. 6에 나타내었으며, 오존에 의해 조체가 산화되면서 오존접촉 20분 후에는 거의 색도가 사라진 것을 볼 수 있다.

**4.4. 오존과 유기물의 산화**

오존접촉시간에 따른 생성 부산물이나 유기물 함량의 증감변화를 간접적으로 확인할 수 있는 TOC, DOC와 UV-254의 변화를 Fig. 7

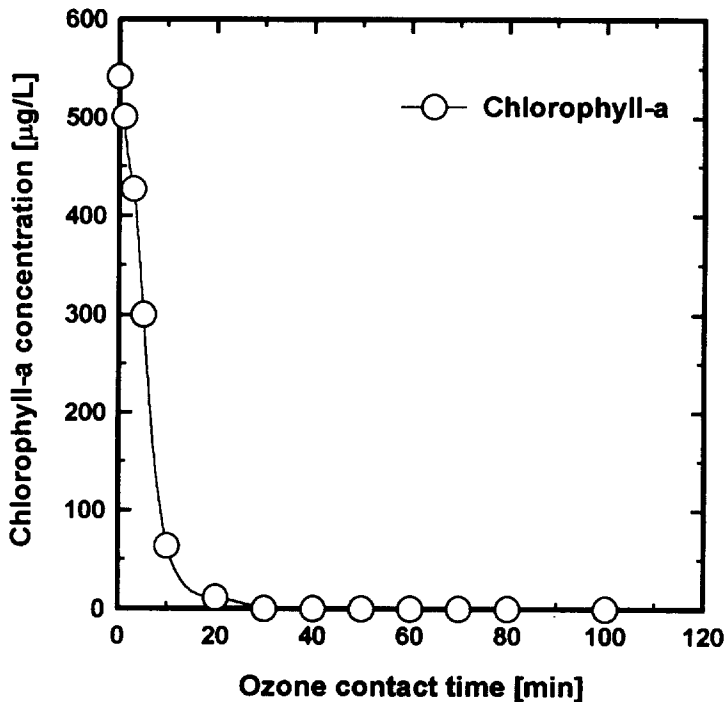


Fig. 5 Variation of Chlorophyll-a with ozone contact time.

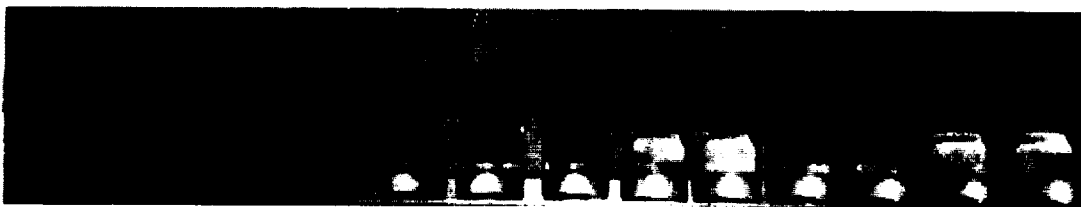


Fig. 6 Photography of algae contacted ozone.

에 나타내었다.

오존과의 접촉시간에 따라 DOC의 경우 조체가 산화되면서 파괴된 조류의 세포물질인 IOM과 EOM이 수중에 방출되어 DOC 농도를 급격히 증가시키게 되나 오존접촉 10분 이후에는 수중에 방출된 IOM(Intracellular Organic Matters)과 EOM(Extracellular Organic Matters)이 오존에 의해 산화·분해되면서 감소하는 경향을 나타내었다. 규조류의 오존처리 특성을 보고한 연구결과<sup>16)17)</sup>에서도 오존처리시 DOC 농도가 증가하였다가 감소하는 경향을 보여 본 연구와 동일한 경향을 보이고 있다.

TOC의 경우 오존접촉 초기부터 오존산화에 의해 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, UV-254는 오존접촉 10분까지는 증가하는 경향을 나타내고 있으나 그 후에는 급격히 감소하는 경향을 나타낸다. 이것은 조체내의 수많은 유기물질들이 오존산화에 의해 저분자화 및 단핵화되면서 다량의 불포화탄화수소를 생성시킨다고 판단되며, 오존접촉 10분 후부터

급격히 감소하는 것은 오존에 의해 생성된 난분해성 유기물(NBDOC)인 불포화탄화수소들이 분해성 유기물(BDOC)인 포화탄화수소로 단핵화(depolymerization)되어감에 따라 UV-254값이 지속적으로 감소하였다고 사료되어지며, 이는 오존접촉에 의해서 유기물질이 어느 수준까지 무기화(無機化)하여 안정화하는데 효과가 있으며<sup>18)</sup>, 丹保 등<sup>19)</sup>은 펄프폐수, 하수방류수, 광산폐수 등을 시료수로 하여 오존처리 후의 수질변화를 검토한 결과 수중 유기성분의 무기화가 일어나며, 동시에 총 유기성분 중 난분해성 유기성분의 비율이 감소하였다고 보고한 바 있다.

4.5. 오존에 의한 생성부산물 조사

조체를 100분 동안 오존접촉시켜 조사된 부산물의 종류를 아래의 Table 3에 나타내었으며, 생성물의 확인은 Fig. 8, 9의 GC/MSD TIC로 확인하였다.

오존접촉 직후부터 여러 종류의 부산물이 생성되어 오존접촉시간의 경과와 함께 제거되어

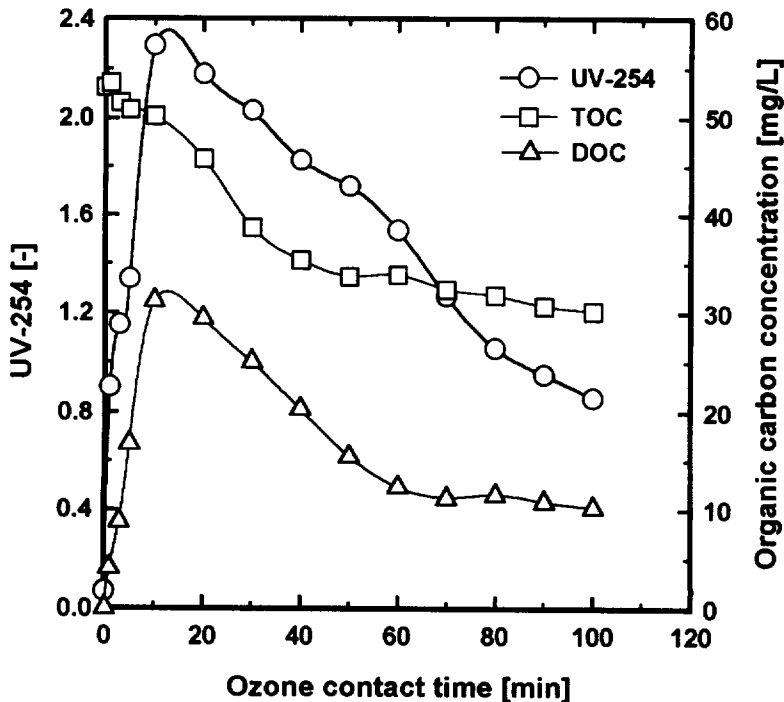


Fig. 7 Variation of Organic carbon and UV-254 with ozone contact time.





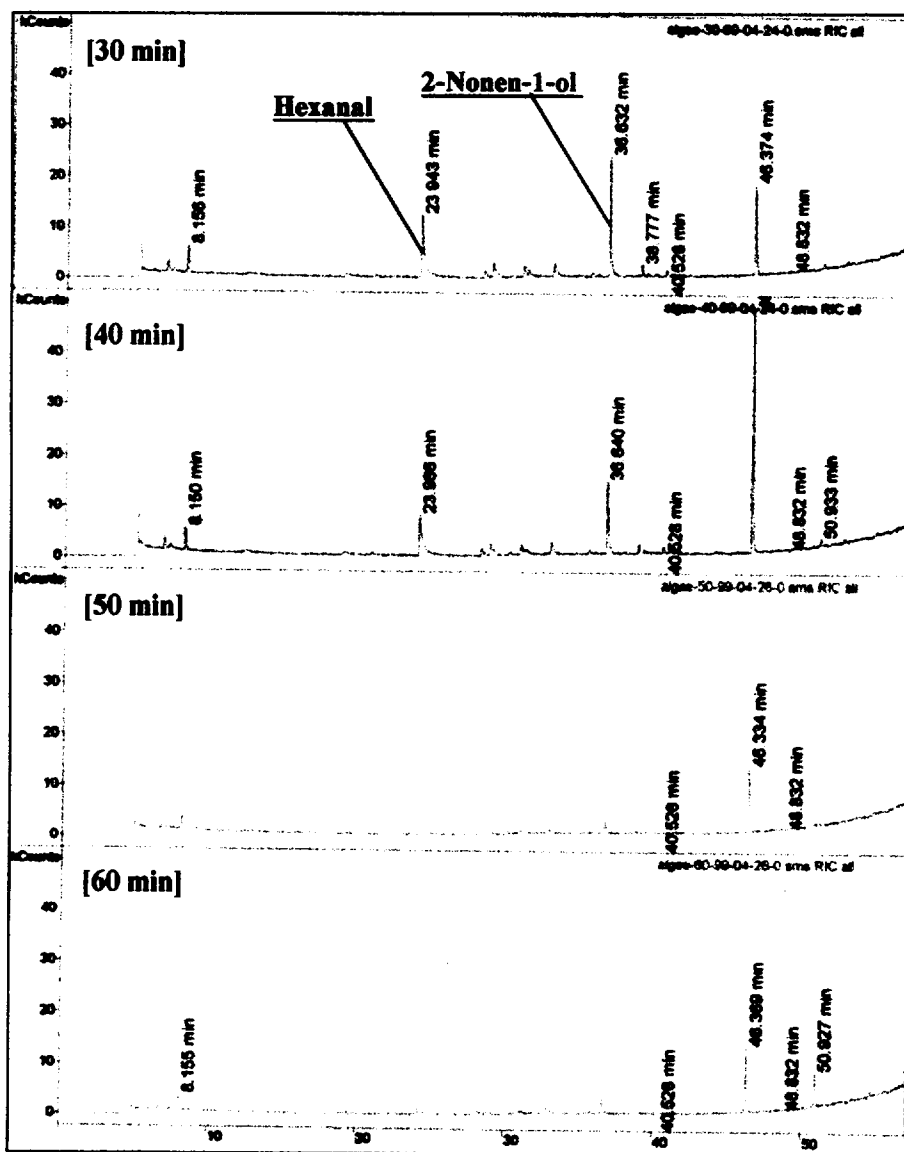


Fig. 9 The Total Ion Chromatogram of by-products by ozonation in aqueous.

Table 3 Compounds name of by-products by ozonation in aqueous

Aldehydes	Alcohol	Cycloalkene
Hexanal	Cyclodecanol	
Heptanal	3-Nonen-1-ol	
Octanal	1-Nonen-3-ol	trans-1,2-dimethyl-
Hexanal,2-ethyl	2-Propen-1-ol	Cyclopropane,
Nonanal	1-Hexanol,2-ethyl	
	1,5-Hexadien-3-ol	

## 5. 결 론

오존을 이용하여 남조류 *Microcystis* sp.와 독소물질인 Microcystin의 제거 및 분해 부산물생성에 관해 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. MC-RR과 -LR의 농도는 오존접촉 10분 후 세포내 독소물질이 용출되어 MC-LR 농도  $3.94\mu\text{g/L}$ 와 MC-RR의 농도  $2.52\mu\text{g/L}$ 로 급격히 증가하였으나, 그 후 -RR은 오존접촉 60분부터는 검출되지 않았으며, -LR의 경우 접촉시간 100분까지 88%의 제거율을 나타내었다

2. MC-RR의 분해 속도상수  $k$ 는  $0.0596\text{min}^{-1}$ 이었으며, -LR은  $0.0243\text{min}^{-1}$ 으로 -RR이 상대적으로 속도상수가 큼을 알 수 있었다. 또한 MC-RR의 95% 제거에 소요되는 오존접촉시간은 약 50분 정도이나, MC-LR을 95% 제거하기 위해서는 약 123분 정도의 오존접촉시간을 요구함을 알 수 있었다.

3. 오존접촉시간에 따라 DOC와 UV-254는 조체가 산화되면서 용출된 세포물질이 DOC와 UV-254 농도를 급격히 증가시켰으나, 오존접촉 10분 이후부터 감소하는 경향을 나타내었으며, TOC의 경우 오존접촉 초기부터 오존산화에 의해 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

4. 오존산화에 의해 생성된 부산물은 알콜류 6종, 알데하이드류 5종과 시크로알켄류 1종이 생성된 것을 확인할 수 있었다.

## References

1. 국립환경연구원. 정책관리자를 위한 부영양화 관리방안. 서울, 104 (1996).
2. Yagi, O., Ohkubo, N., Tomioka, N., and Okada, M., Effect of irradiance and temperature on photosynthetic activity of the cyanobacterium *Microcystis* sp., *Evi. Tech.* Vol. 15, 389-394 (1994).
3. Chorus, I., and Bartram, J., *Toxic cyanobacteria in water*, E & FN

- Spon, New York, 416 (1999)
4. 신재기, 낙동강 부영양화에 따른 담수조류의 생태적 연구, 인제대학교 대학원 박사학위논문, 202 (1998).
  5. Sivonen, K., et al., Isolation and characterization of a variety of microcystins from seven strains of the cyanobacterial genus *Anabaena*, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 58, 2495-2500 (1992).
  6. Falconer, I. R., et al., Liver pathology in mice in poisoning by the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*, *Aust. J. Biol. Sci.*, Vol. 34, 179-187 (1981).
  7. MacKintosh, C., Beattie, K. A., Klumpp, S., Cohen, S., and Codd, G. A., Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2 A from both mammals and higher plants, *FEBS Lett.*, Vol. 264, 187-192 (1990).
  8. 김범철, 김은경, 표동진, 박호동, 허우명, 국내 호수에서의 남조류 독소발생, 한국수질보전학회지, 제 11권, 제 3호 231-237 (1995).
  9. Hoffmann, J. H., Removal of Microcystis toxin in water purification process, *Wat. S. A.*, 2-58 (1976).
  10. Lambert, T. W., Charles, F., Holmes, B., and Hrudey, S. E., Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment, *Wat. Res.*, Vol. 30, 1411 (1966).
  11. Himberg, K., Keijola, A. M., Hiisvirta, L., Pysalo, H., and Sivon, K., The effect of water treatment process on the removal of hepatotoxins removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *oscillatoria cyanobacteria* : A laboratory study, *Wat. Res.*, Vol. 23, 979 (1989).
  12. 박혜경, 한국산 *Microcystis sp.*의 생리·생태학적 연구, 경북대학교 이학박사학위논문, 146 (1998).
  13. Watanabe, M., Harada, K. I., Hugiki, H., *Waterblooms-Its appearance and toxins*, Uni. of Tokyo Press (1994).
  14. Francis, G., Poisonous Australian lake, *Nature(London)*, Vol. 18, 11-12
  15. Harada, K. I., Chemistry and detection of Microcystins, In : *Toxic Microcystis*, CRC press, Tokyo, 103-148 (1996).
  16. 류동춘, 오존 및 입상활성탄을 이용한 정수공정의 최적화, 부경대학교 공학박사학위논문, 104 (1997).
  17. 최현미, 전오존에 의한 조류제거효과에 관한 연구, 부산대학교 공학석사학위논문, 42 (1995).
  18. 藤原啓助 外, パイロシトフラントを用いた 櫛川原水中の微量有機物 高度處理實驗(II), *日本水道協會*, Vol. 56, No. 5, 14-24 (1987).
  19. 丹保憲仁 外, 水中有機成分のオゾン酸化と生物分解成, *下水道協會雜誌*, Vol. 19, No. 216, 43-52 (1982).
  20. Phlip, C. S., Assessing ozonation research needs in water treatment, *Journal of AWWA*, Vol. 82, No. 10, 78 (1990)
  21. U. S. EPA, *Drinking Water Regulations and Health Advisories*, EPA 822-B-96-002, (1996).