

## 탈질 미생물의 2,4,6-Trinitrotoluene(TNT) 분해에 관한 연구

이태진 · 가현진

세명대학교 환경공학과

(1999년 7월 26일 접수, 1999년 11월 1일 채택)

## A Study of 2,4,6-Trinitrotoluene Transformation under Denitrification Conditions

Taejin Lee · Hyunjin Ga

*Department of Environmental Engineering, Semyung University*

### ABSTRACT

This study was conducted to find an optimal TNT transformation condition with the addition of different carbon and energy sources in a batch reactor. When TNT and nitrate were present in the medium, the cell growth and TNT transformation was slower because nitrate and TNT was competitively served as electron acceptor. Transformation of TNT was faster when TNT in the medium was nitrogen source and acetate as a carbon source. Cell growth and nitrate transformation was slower when yeast extract was not present in the medium. The proposed intermediates of TNT biotransformation from the earlier studies was not detected in this experiment but the intermediates are tentatively proposed as nitro and amino-free compounds. These results should be helpful for the operation of the munition waste treatment in the future.

---

Key Words : TNT, Biotransformation, Denitrification

## 요 약 문

여러 가지의 탄소 및 에너지원이 존재하는 상태에서 탈질 미생물에 의한 TNT의 최적분해조건을 회분식 실험을 통하여 도출하고자 하였다. 탈질 미생물의 성장률은 배양액에 TNT가 없을 때 가장 왕성하게 나타났으며 배양액에 TNT와 질산이온이 공존하는 경우에는 경쟁적으로 전자 수용체로 작용하여 탈질 미생물의 성장이 지연되었다. TNT가 질소원 또는 에너지원으로 배양액에서 작용할 때 가장 빠른 TNT 제거율을 보여 주었으며 배양액의 Yeast Extract의 첨가는 질산이온의 환원율을 가속화하였다. 미생물의 성장과 TNT 분해율의 직접적인 상관관계는 없었으며 본 실험을 통하여 TNT의 분해산물을 완전히 파악하지는 못하였으나 TNT의 니트로그룹이나 아미노그룹을 함유하지 않는 또 다른 분해산물을 생성하였음을 알 수 있었는데 이러한 결과는 차후 TNT의 무해화 공정 적용에 도움이 될 것으로 사료된다.

주제어 : TNT, 생분해, 탈질 미생물

## 1. 서 론

2,4,6-trinitrotoluene(TNT)과 같은 폭발물 제조물질에 의한 환경오염은 매년 증가하는 양상을 보이고 있으나 국내 오염상황은 정확히 통계화 되어 있지 않다. 미국의 경우 약 1,100여개의 군사시설 지역에서 백만큐빅야드의 토양이 TNT에 의해 오염된 것으로 보고되었으며 주 정부나 연방정부도 이의 심각성을 인식하고 오염된 토양의 복원에 많은 지원을 아끼지 않고 있다.<sup>1)</sup> 이러한 군사시설 제조업에서 유발되는 폭발물 오염은 수생식물의 성장저해 뿐만 아니라 군사시설 제조업 종사자들의 간이나 위장에 나쁜 영향을 주는 직업병을 유발한다고 알려져 있다. 폭발물 오염물의 생물학적 처리방법은 다른 처리방법에 비해 비교적 저렴하므로(\$30~\$150/yd<sup>3</sup>) 많은 연구자들이 관심을 가지고 있으나 그 분해경로나 제한요소 등 TNT의 생물학적 분해 메커니즘에 관한 연구는 아직 명확하게 파악되지 않고 있다.

지금까지의 미생물에 의한 TNT 분해연구는 크게 호기조건과 혐기조건으로 대별할 수 있다. 호기성 조건에서의 TNT 분해는 *P. chrysosporium*, *Pseudomonas*와 같은 순수미생물 또는 혼합 미생물을 이용하였으며 미생물이 TNT를 탄소원이나 에너지원으로 사용할 수 있도록 환경을 조성하였다. 호기 조건에서 Composting을 적용하여 TNT를 분해하고자 하였을 때 TNT의 완전분해(무기탄소화)는 이

루어지지 않았고 TNT 분해산물로 monoaminodinitrotoluene (MADNT), diaminomono nitrotoluene (DAMNT)와 TNT의 니트로 그룹의 환원이 비교적 느리게 진행됨으로서 중합체인 Azoxy 화합물이 생성된다고 보고되었으며 *White rot fungus*를 이용하였을 때 10~30%의 무기탄소화를 이룰 수 있었으나 높은 농도의 TNT가 존재할 경우(25mg/ℓ 이상) 미생물활동이 매우 위축되어 실제적으로 오염된 지역에 *White rot fungus*를 적용하는 데는 어려움이 있다고 보고된 바 있다.<sup>5~7,12)</sup>

혐기성조건에서 미생물 분해는 탈질 미생물, 황산염환원균, 메탄생성균 등을 이용하였는데 TNT의 환원속도가 호기성조건보다 빠르게 진행되고 Azoxy 화합물과 같은 미생물 분해가 어려운 중합체의 생성이 매우 미미하다고 보고되었다. 혐기성 조건에서 TNT의 무기탄소화는 보고되지 않았으나 질소원으로 배양했을 때 분해산물로 p-크레졸, toluene 등 니트로 그룹의 완전 제거된 형태의 유기물이 검출되기도 하였다.<sup>2,4,9)</sup>

요약해보면 호기성 조건에서 TNT 분해는 일부분의 무기탄소화는 가능하나 분해속도가 느리고, 분해가 거의 불가능한 Azoxy 화합물이 형성되며, 미생물이 TNT 농도에 너무 민감하여 TNT 분해의 실제적 접근이 매우 어려우나 혐기성 조건에서는 비록 TNT의 무기탄소화는 아직 보고되지 않았으나 빠른 환원작용, 복합체의 비생성, 고농도의 적응성 등 현

장적용에 큰 가능성을 가지고 있다.<sup>8,11)</sup> 더욱이 혐기성 조건에서 p-크레졸이나 toluene과 같은 분해산물은 일반 미생물로도 분해가 매우 쉬운 물질로 알려져 있고 특히 Boopathy & Kulpa<sup>3,4)</sup>의 연구에 의하면 혐기미생물 중 탈질 미생물의 TNT의 분해 작용이 메탄생성 미생물이나 황산염환원균의 작용보다 효과적으로 나타난바 있다.

본 실험에서는 TNT 분해에 탁월한 탈질 미생물을 배양하여 TNT를 첨가함으로써 탈질 미생물에 의한 TNT의 분해과정을 고찰하고자 한다. 그 방법으로 탈질 미생물 배양액의 조성을 달리함으로써 배지 조성에 따른 미생물의 성장과 에너지원의 변화를 살펴 보고 TNT의 분해와 상관관계를 조사한다. 또한 본 실험에서 생성된 분해산물을 기존의 TNT 분해산물로 추정된 물질과 비교·검토함으로써 탈질 미생물에 의한 TNT의 분해경로와 기존의 분해경로의 유사성을 판단하고자 한다. 따라서 본 연구결과는 TNT 분해공정의 차후 실제적 접근방법을 모색하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

## 2. 연구방법

### 2.1. 시약 및 배양액

본 실험에서 사용된 TNT, 2-amino,4,6-dinitrotoluene(2A46DNT), 4-amino,2,6- dinitrotoluene(4A26DNT), 2,6-dinitrotoluene(26DNT), 2,4-dinitrotoluene(24DNT), 2-nitrotoluene(2NT), 4-nitrotoluene(4NT), 2-aminotoluene(2AT), 4-aminotoluene(4AT)는 Chem Service에서 구매하였으며 사용된 유기용매는 모두 HPLC급 이었다. 회분식 반응조에 사용된 배양액은 기본적으로 초산을 탄소원으로 하고 질산이온을 에너지원으로 구성하였으며 일정한 pH를 조성하기 위해 완충용액으로 인산을 사용하여 제조한 후 가성소다 또는 황산을 사용하여 pH를 7로 조정하였다. 또한 복합용액인 yeast extract를 모든 조건에서 100mg/ℓ 로 유지하였다. 배양액 제조에 쓰여진 모든 약품은 순도 99% 이상으로 배양액에서 화학적 조성을 다음 Table 1에 요약하였다. 배양액의 혐기조건을 맞추

Table 1. Concentration of the nutrients for batch experiment

Compounds	Concentration(mg/l)
CH <sub>3</sub> COONa	100.00
KNO <sub>3</sub>	76.00
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	2550.00
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	975.00
Yeast Extract	100.00
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	30.00
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	1.50
Na <sub>2</sub> EDTA	21.50
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	8.50
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	5.00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.50
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.60
CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.05
NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1.00
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	10.00
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	2.40

어 주기 위해 배양액은 10분 이상 질소폭기한 후 용존산소분석기(CORNING, CAT. 475657)를 통해 용존산소량이 없음을 확인한 다음 증기멸균 하였으며 실험에 사용된 세럼병과 주사기 등 모든 재료는 15분 동안 증기멸균과정을 거치었다. 염의 침진을 막기 위해 800mg/ℓ CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O의 0.3mℓ를 증기멸균 후 상온에서 배양액에 주입하였고 온도는 25℃를 유지하였으며 기계교반기(Mechanical Shaker)는 120rpm을 유지하도록 하였다. 약 10mℓ의 시료를 채취한 후 -4℃에서 냉장 보관하였다.

### 2.2. 분석방법

탈질 미생물을 분리하기 위해 충청북도 세명대학교 인근 하수구에서 채취된 토양을 Table 1에 나타난 배양액에 접종한 후 혐기상태에서 배양하였다. 흡광광도분석기(SHIMAZU UV1601)를 이용하여 600nm에서 배양액의 흡광도를 측정함으로써 미생물의 성장을 측정하였다. 미생물에 의한 흡광 이외의 간섭작용을 보정해주기 위해 미생물 접종이 되지 않은 시료를 준비하여 접종된 시료와 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 보정하였다.

TNT와 분해산물의 측정을 위하여 RESTEK-5 칼럼과 불꽃이온검출기가 장착된 가스크로마토그래피(YOUNGLIN GC 600D)를 이용하였다. TNT와 분해산물을 분리하기 위한 GC 오븐의 온도 프로그램은 30°C에서 10분간 머무른 후 1분에 10°C씩 증가하여 130°C에 도달하게 하고 다시 1분에 5°C씩 증가하여 220°C에 도달하도록 하였고 추출용매 주입구와 검출기의 온도는 250°C를 유지하였다. TNT와 분해산물의 측정을 위하여 10ml의 시료를 0.5 ml의 헥산으로 추출한 후 10 $\mu$ l 주사기를 이용하여 추출액의 2 $\mu$ l를 가스크로마토그래피의 주입구를 통하여 주입하였다. 미생물의 TNT 분해에 의해 나타날 수 있는 분해산물들의 체류시간은 Table 2에 나타낸 바와 같다.

Table 2. Retention time(RT) of the proposed intermediates with TNT transformation

Compounds	Retention time(min)
TNT	37.90
2A46DNT	44.73
4A26DNT	43.32
24DNT	33.21
26DNT	30.99
4NT	23.04
2NT	21.65
4AT	19.69
2AT	19.68
Toluene	8.88
m-cresol	19.82
o-cresol	19.29

미생물 배양액에서 질산이온, 아질산이온, 그리고 암모니아의 농도측정을 위하여 수질공해공정시험법의 부루신법, 디아조화법, 인도페놀법을 각각 이용하였다. 각 농도측정을 위하여 시료 1ml를 사용하였으며 UV/VIS spectrophotometer(SHIMAZU)로 각 시료의 흡광도를 측정하였다. Chemical Oxygen Demand(COD)는 Standard Methods의 Closed Flux를 이용한 적정법을 참조하였다. 본 연구에서 사용한 실험 방법을 Table 3에 요약하였다.

### 2.3. 미생물의 성장실험

본 미생물 성장실험은 탈질 미생물 성장과 TNT 분해특성을 살펴보고자 세럼병을 이용하여 회분식 반응조를 설치한 후 여러 조합의 에너지원을 공급하고 각 조건에서 에너지원의 이용특성을 비교·분석하고자 하였다. 회분식 반응조에 공급된 에너지원의 구성을 아래 Table 4에 나타내었다. Table 4의 각 배양액에서 초산과 질산이온 또는 TNT가 첨가되거나 되지않음을 알 수 있는데 이는 초산은 탄소

Table 3. Experimental methods for the analysis

Target Compounds	Experimetal methods
TNT & Intermediates	Gas Chromatography
Bacterial Growth	UV/VIS Spectrophotometer
Nitrate	Brucine Method <sup>13)</sup>
Nitrite	Diazotized Method <sup>14)</sup>
Ammonia	Indophenol Method <sup>15)</sup>
Chemical Oxygen Demand (COD)	Closed Flux <sup>16)</sup>

Table 4. Energy source compositions in the batch experiment

Medium	Electron Donor (Acetate)	Electron Acceptor (Nitrate)	Target Compound (TNT)	Yeast Extract	Seeding (Microorganism)
Medium A	○	○	○	○	○
Medium B	×	○	○	○	○
Medium C	○	×	○	○	○
Medium D	○	○	×	○	○
Medium E	○	○	○	×	○
Medium F	○	○	○	○	×

×: Absence, ○: Presence

원 및 전자주계로서, 질산이나 TNT는 질소원 또는 전자수용체로 작용될 수 있음을 상기하면 각 배양액에서 미생물 성장을 모니터링 함으로서 각각의 화학물질이 미생물 성장에 대한 역할을 구분할 수 있다.

### 3. 결 과

#### 3.1. 미생물의 성장과 에너지원의 역할

미생물의 성장과 TNT 분해의 상관관계를 살펴보기 위해 Table 4에 열거된 에너지원으로 구성된 배양액에 탈질 미생물을 접종하고 광학적 관찰을 통해 미생물의 성장을 시간에 따라 측정하였다. Fig. 1에서 보여지듯이 미생물의 성장은 배양액(F)을 제외한 모든 배양액에서 나타났는데 이는 본 실험에서 사용된 미생물은 질산이나 TNT를 초기 전자수용체(Primary Electron Acceptor)로서 사용함과 동시에 질소원(Nitrogen Source)으로 사용하고 있음을 나타낸다. 배양액에 TNT가 없을 경우(배양액 D) 미생물의 성장특성은 다른 배양액(TNT가 함유된 경우)보다 지체가 짧게 나타났는데 이는 TNT가 함유된 배양액에서는 질산의 환원과 TNT의 니트로그룹의 환원이 경쟁적으로 진행되고 있으며 TNT의 환원보다 질산이온의 환원이 선호된다는 것을 보여준다.

본 실험에서 초기전자주계(Primary Electron Donor)로 초산이 사용되었는데 Fig. 1에 도식된 초산이 배양액에 존재하는 경우(배양액 A)와 초산이 존재하지 않는 경우(배양액 B)의 미생물 성장곡선을 비교해보면 미생물 성장의 차이가 매우 미미한 것을 알 수 있다. 이는 배양액 A에 주입된 초산이 미생물 성장에 미치는 영향은 매우 미미하다는 것을 의미하는데 이러한 결과는 초산 이외에 배양액에 존재하는 yeast extract가 탄소원으로 작용하고 있는 것으로 보여진다. 다시 말해서 배양액에 탄소원으로 초산과 yeast extract가 존재하고 질산이 전자수용체로 미생물의 성장을 지원하나 질산의 농도가 부족되어 제한기질(limiting substrate)로 작용하여 배양액에 주입된 초산의 농도에서 미생물의 성장은 초산이 주입되지 않은 배양액과 매우 유사하게 나타나

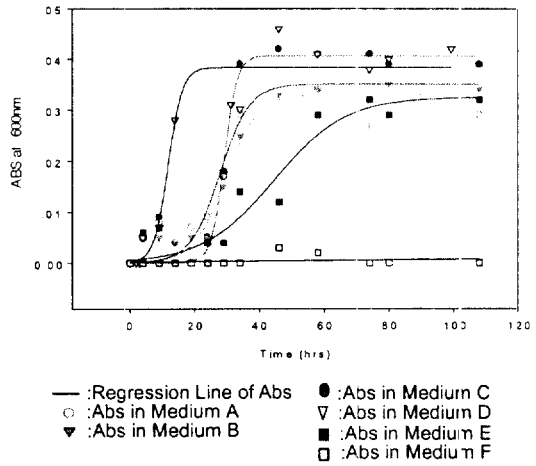


Fig. 1. The effects of the microorganism growth on the different energy sources. (Abs represents absorbance.)

는 것이다. 이는 배양액 E에서(yeast extract가 없을 때) 성장의 지연이 확연히 나타나고 있는 것으로도 알 수 있다.

본 실험에서 보여주는 TNT외에 다른 초기 전자수용체와 질소원이 배제된 배양액에서의(배양액 C) 미생물의 성장은 TNT가 초기에너지원과 질소원으로 사용되고 있음을 나타내는 것으로 TNT의 탈니트로기의 가능성을 제시한다고 볼 수 있다. Boopathy et al.<sup>4)</sup>의 연구결과에 따르면 TNT는 탈질 미생물의 성장과정에서 공동대사작용에 의해 분해된다고 보고하였으며 또 다른 연구 결과에서는<sup>2,3)</sup> 황산염환원균을 이용하였는데 이 때의 TNT는 질소원 및 초기에너지원으로 사용되었고 그 분해산물로 톨루엔이 검출되었다고 보고하였다. 본 실험의 결과는 TNT를 초기 에너지원 및 질소원으로의 활용한 Boopathy의 실험결과와 매우 유사한 것이나 황산염환원균 뿐 아니라 탈질 미생물에 의해서도 TNT가 초기에너지원 및 질소원으로 사용될 수 있음을 새롭게 보여 주었다.

#### 3.2. TNT가 미생물의 탈질에 미치는 영향

Fig. 1에서 사용된 배양액 구성과 동일하게 조성된 회분식 반응조에서 질산성 질소 및 아질산성 질소의 변화를 Fig. 2에 도식하였다. 미생물 접종이

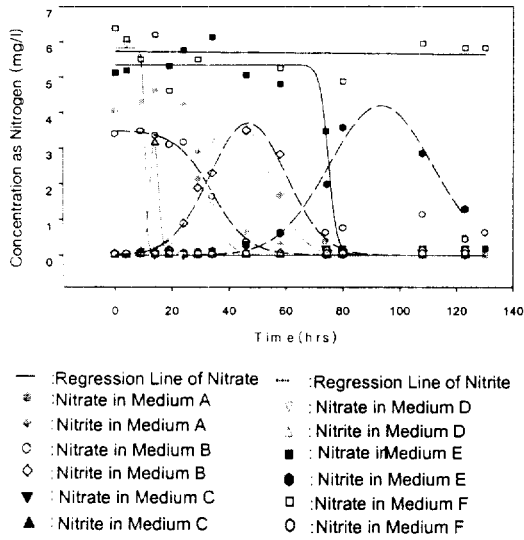


Fig. 2. Nitrate and nitrite concentration with different concentration of energy sources.

없는 배양액에서(배양액 F) 질산성 질소의 농도는 실험이 진행된 기간동안 변화가 없었는데 이는 미생물 접종이 없을 경우 질산성 질소의 비생물학적(abiotic) 변화는 없다는 것을 의미한다. 초산과 질산성 질소가 존재하고 TNT가 없는 배양액에서(배양액 D) 질산성 질소의 농도는 다른 배양액에 비해 빠르게 줄어들었으며 질산성 질소의 감소와 더불어 아질산성 질소의 농도가 증가하다가 감소하는 전형적인 탈질형태를 보여주었다. 이는 앞의 Fig. 1에서 나타난 미생물의 성장곡선과도 일치하는 결과로 TNT가 배양액에 없는 경우 질산이온의 환원은 매우 급격히 일어나는 것을 알 수 있다. 초산이 배양액에 있는 경우(배양액 A)와 없는 경우(배양액 B)에 질산성 이온의 변화는 매우 유사하게 나타났는데 이 역시 Fig. 1에서 나타난 결과와 동일하게 배양액에서 미생물에 성장에 미치는 초산의 역할은 미미하다는 것을 알 수 있다. Yeast Extract가 배양액에 없는 경우(배양액 E) 질산성 질소와 아질산성 질소의 변화가 가장 늦었는데 이는 Yeast Extract가 미생물의 대사작용을 빠르게 촉진한다는 것을 보여주는 것이다.

Fig. 3은 Fig. 1에서 사용된 배양액의 조성과 동일한 상태에서 미생물의 TNT의 제거율을 도식한 것이다. 각 배양액에서 TNT의 농도는 25mg/ℓ로 동일하게 유지하였으며 시간에 따라 TNT의 농도를

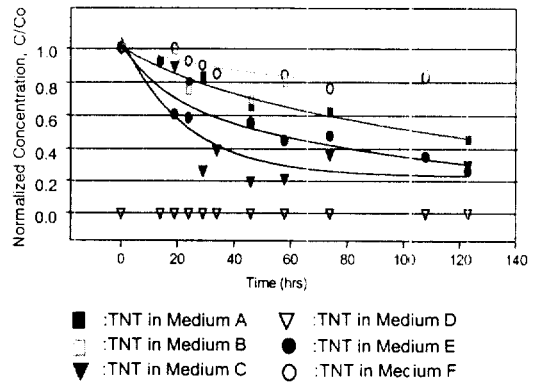


Fig. 3. TNT concentration with the different energy sources in serum bottles.

측정하였다. 미생물 접종이 없는 경우 초기에 주입된 TNT의 약 20%의 손실이 있었으며 Fig. 1과 Fig. 2에서 나타난 미생물 성장실험과 질산성 질소의 환원 실험과 유사하게 배양액 A와 배양액 B에서 TNT의 제거율이 가장 더디게 나타났다. 특히 배양액 B의 경우 TNT 변환률에 있어서 바탕실험과 거의 차이가 없었다. 이는 배양액에 TNT와 같은 경쟁적 물질이 존재할 경우 TNT를 제외한 에너지원에 의해 미생물의 성장은 지속하더라도 TNT의 분해는 일어나지 않을 수 있다는 것을 나타내는 것이다. TNT가 질소원 또는 전자수용체로 작용할 수 있는 배양액 C에 변환률이 가장 높게 나타났으며 Yeast Extract가 없는 경우(배양액 E)는 미생물 성장실험 결과와 다르게 TNT의 제거율이 그 다음으로 빠르게 나타났으며 TNT가 질산성 질소와 같이 있을 경우(배양액 D) TNT의 제거율은 Yeast Extract가 없는 경우(배양액 E)보다 약간 더 늦게 나타났다. Osmon & Klausmeier<sup>19)</sup>의 실험결과에서는 배양액 중 Yeast Extract의 첨가는 TNT의 분해를 촉진한다고 하였으며 Won<sup>12)</sup>의 보고에 의하면 yeast extract가 질소원을 함유한다고 하였다 따라서 본 실험과 같이 TNT가 질소원으로 사용되는 경우 yeast extract의 첨가는 배지에 질소원을 공급하여 TNT의 분해 촉진에 긍정적인 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

### 3.3. 미생물에 의한 TNT의 분해산물

혐기성 상태에서 미생물의 TNT 분해경로는 호기

성 미생물의 분해 경로에 비해 비교적 단순하게 나타난다. Fig. 4는 현재까지 연구된 혐기성 미생물에 의한 TNT 분해 경로를 요약한 것이다. 분해 경로를 살펴보면 TNT의 para-위치의 니트로 그룹이 아미노 그룹으로 환원되어 4A2DNT로 전환되고 ortho-위치의 니트로 그룹이 환원되면서 24DA6NT로 변하게 된다. 24DA6NT는 다시 triaminotoluene (TAT)로 환원되면서 세 개의 아미노그룹은 수산화기로 치환되거나 TNT의 고리 구조에서 떼어져 나와 2,4,6-trihydroxytoluene 또는 toluene으로 변하게 된다.

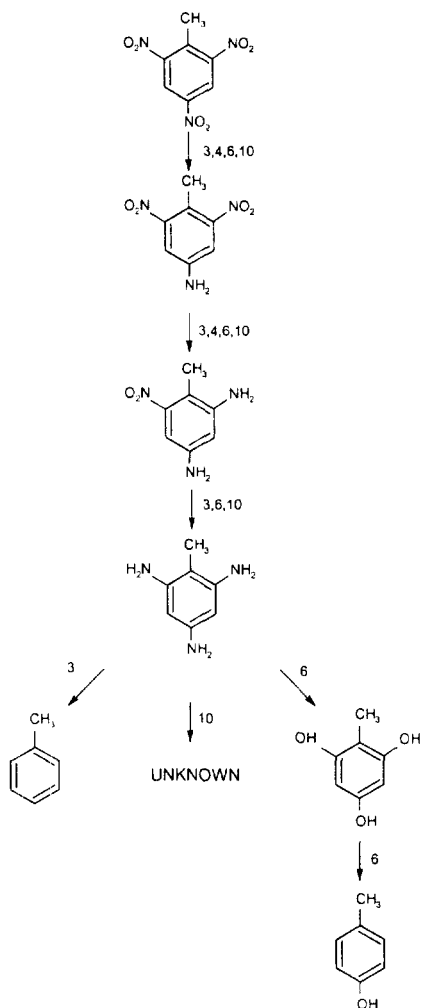


Fig. 4. Transformation pathways of 2,4,6-trinitrotoluene under anaerobic conditions.<sup>17,18)</sup> (Numbers next to arrows refer to references.)

본 실험에서 나타난 미생물에 의한 TNT의 분해 특성은 Boopathy<sup>2)</sup>의 연구결과와 유사한 TNT가 배양액에서 질소원과 초기전자수용체로 미생물의 성장원이 되고 있는데 이 때 Boopathy가 제시한 분해 경로는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 TNT가 TAT로 환원된 다음 탈아미노작용에 의해 톨루엔으로 변하는 것이다. 따라서 본 실험에서는 Fig. 4에 제시된 분해경로상의 분해산물을 구매하여 가스크로마토그래피로 그 체류시간을 비교·검토하였다. 본 실험에서 보여지는 분해산물의 유형은 사용된 모든 배양액에서 동일한 형태로 나타나는데 Fig. 5에 배양액 C에서 핵산 추출된 크로마토그램의 유형을 나타내었다. Fig. 5의 GRAPH A는 초기 주입된 TNT와 가

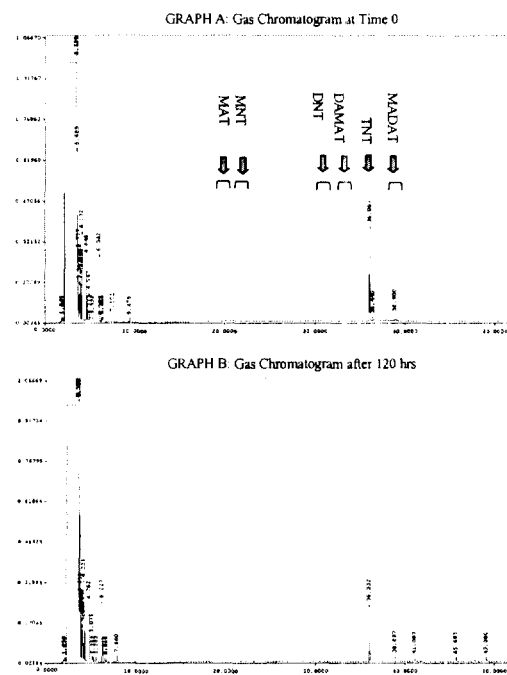


Fig. 5. Chromatogram of TNT and the intermediates with incubation of the microorganism in the presence of TNT and acetate. Arrows in GRAPH A represent retention times of the compounds in the standard solution. (MADNT: monoaminodinitrotoluene, DAMNT: diamonimononitrotoluene, DNT: dinitrotoluene, MNT: mononitrotoluene, MAT: mcnoaminotoluene)

능한 분해산물이 나타날 수 있는 체류시간을 도식하였고 GRAPH B는 120시간 후의 TNT농도변화를 보여준다. 그림에서 알 수 있는 바와 같이 TNT가 분해되어서 나타날 수 있는 가능한 분해산물은 본 실험과정에서 발견되지 않았다. 이는 TNT가 혐기 상태에서 복합체를 형성하게 되어 더 큰분자로 변환되었거나 본 실험에서 사용된 실험방법에서 발견될 수 없는 (예를 들어 매우 극성인 물질)로 전환되었음을 나타낸다고 볼 수 있다. 그러나 혐기상태에서 azoxy화합물의 생성은 매우 기대하기 어려우므로 잠정적이거나 후자의 가능성이 높다고 볼 수 있다. 따라서 이의 연구에 더 많은 노력이 강구되어야 한다고 보여진다.

#### 4. 결 론

세럼병을 이용한 회분식 실험에서 나타난 결과를 살펴보면 본 실험에서 사용된 탈질 미생물의 특성은 TNT를 초기에너지원 및 질소원으로 사용하고 있다는 것이다. Boopathy & Kulpa<sup>2,3)</sup>의 보고서에 나타났듯이 초기에너지원으로 사용된 TNT의 분해 작용은 탈니트로기의 작용에 의해 질소가 함유되지 않은 톨루엔을 마지막 분해산물로 나타낸다. 본 실험에서는 황산염환원균뿐만 아니라 탈질미생물에 의한 TNT의 분해도 질소원 또는 초기 에너지원으로 사용된다는 것을 보여주었고 이 조건에서 TNT의 분해력이 가장 빠르다는 것을 알 수 있었다. 배양액에 Yeast Extract를 주입함으로써 미생물의 성장과 질산의 환원력을 높여 주었으나 질소원으로서 TNT가 사용될 때 Yeast Extract의 첨가는 배양액에 질소원이 공급됨으로서 TNT의 분해가 저해되는 현상을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 Won<sup>11,12)</sup>의 보고서에 나타났듯이 Yeast Extract가 가지고 있는 질소의 영향으로 볼 수 있다. 가스 크로마토그래프를 이용한 TNT 분해산물의 측정에서 기존에 보고된 경로상의 분해산물은 검출되지 않았으나 기존에 보고된 분해경로와 다른 형태의 분해과정이 존재한다는 것을 알 수 있었으며 차후 이에 대한 연구에 지속적인 관심이 요구되는 바이다. 본 실험에서 나타난 주요한 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 회분식 반응조에서 탈질미생물의 성장률은 TNT가 배양액에 없을 때 가장 왕성하게 나타났으며 배양액에 TNT와 질산이온이 공존하는 경우 경쟁적으로 전자수용체로서 작용하여 탈질 미생물의 성장을 지연시키는 요인이 된다. 또한 TNT를 초기에너지원(primary electron acceptor) 또는 질소원으로 이용시 가장 빠른 TNT 제거율을 보여 주었다.
- 2) TNT의 미생물 분해는 TNT의 니트로그룹의 환원으로 대부분 실험에서 MADAT, DAMNT를 중간 분해산물로 생성한다. 이러한 아미노그룹을 가지는 중간 생성물은 반응성이 강한 관계로 TNT의 폭발성은 약화할 수 있으나 더욱 유해한 물질로의 전환이라는 관점에서 바람직하지 못하다. 본 실험에서는 TNT의 분해산물을 완전히 파악하지 못하였으나 TNT의 니트로그룹이나 아미노그룹을 함유하지 않는 또 다른 분해산물을 생성하였음을 알 수 있는데 이러한 결과는 분해산물의 완전히 파악함으로써 차후 TNT의 무해화 공정 적용에 도움이 될 것으로 사료된다.

#### 사 사

본 연구는 1997년~1998년 한국과학재단 지원 "국산연구기기 활용과제"의 일환으로 수행되었으며 지원에 감사드리는 바입니다.

#### 참 고 문 헌

1. Bartell R., "Introduction/overview," *Proceedings of Workshop on Composting of Explosives Contaminated Soils*, Report No. CETHA-TS-SR-89276, U.S. Army Toxic and Hazardous Material Agency(USATHAMA), Edgewood, MD 21010-5401, September (1989).
2. Boopathy, R. and C. F. Kulpa, "Trinitrotoluene(TNT) as a Sole Nitrogen Source



- for a Sulfate Reducing Bacterium *Desulfovibrio Sp.* (B Strain) Isolated from an Anaerobic Digester," *Curr. microbiol.*, **25**, 235~241(1992).
3. Boopathy, R. and C. F. Kulpa, "Metabolism of 2,4,6-Trinitrotoluene(TNT) by *Desulfovibrio sp.* (B Strain)," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **39**, 270~275(1993).
  4. Boopathy, R., M. Wilson, and C. F. Kulpa, "Anaerobic Removal of 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) Under Different Electron Accepting Conditions: Laboratory Study," *Water Environ. Res.*, **65**, 271~273(1993).
  5. Duque, E., A. Haidour, F. Godoy, and J. L. Ramos, "Construction of a *Pseudomonas* Hybrid Strain that Mineralizes 2,4,6-trinitrotoluene," *J. Bacteriol.*, **175**, 2278~2283(1993).
  6. Kaplan, D. L. and A. M. Kaplan, "Thermophilic Biotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene Under Stimulated Composting Conditions," *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 757~760(1982).
  7. Michals, J. and G. Gottschalk, "Inhibition of the Lignin Peroxide of Phanerochate *Chrysosporium* by Hydroxyamino-dinitrotoluene, an Early Intermediate in the Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene," *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 187~194(1994).
  8. Preslan, J. E., B. B. Hatrel, M. Emersion, L. White, and W. J. Goerge, "An Improved Method for Analysis of 2,4,6-trinitrotoluene and Its Metabolites from Compost and Contaminated Soils," *J. hazard. materials*, **33**, 329~337(1993).
  9. Preuss, A. J. Fimpel, and G. Diekert, "Anaerobic Transformation of 2,4,6-trinitrotoluene(TNT)," *Arch. Microbiol.*, **159**, 345~353(1993).
  10. Smock, L. A., D. L. Stoneburner, and J. R. Clark, "The Toxic Effects of Trinitrotoluene(TNT) and Its Primary Degradation Products on Two Species of Algae and the Fathead Minnow," *Water Res.*, **10**, 537~543(1976).
  11. Won, W. D., L. H. Disalvo & N. G. James, "Toxicity and Mutagenicity of 2,4,6-Trinitrotoluene and Its Microbial Metabolites," *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 576~580(1976).
  12. Won, W. D., R. J. Heckley, D. J. Glocer and J. C. Hoffsommer, "Metabolic Dispositions of 2,4,6-Trinitrotoluene," *Appl. Environ. Microbiol.*, **27**, 513~516(1974).
  13. 환경부 고시 제96-32호 수질 공해공정법 제11항 암모니아성 질소, 동화기술(1997).
  14. 환경부 고시 제96-32호 수질 공해공정법 제12항 아질산성 질소, 동화기술(1997).
  15. 환경부 고시 제96-32호 수질 공해공정법 제13항 질산성 질소, 동화기술(1997).
  16. APHA, AWWA, WPCF, "Oxygen Demand (Chemical)." In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 16th Edition(1985).
  17. Taejin Lee and K. J. Williamson, "The Fate of <sup>14</sup>C-Trinitrotoluene(TNT) Biotransformation by Sheep Rumen Fluids," *J of KSEE*, **19**(6), 843~852(1997).
  18. Taejin Lee, "Trinitrotoluene(TNT) Biotransformation Pathways Under Aerobic and Anaerobic Condition," *Environ. Eng. Res.*, 1(2), 81~87(1996).
  19. Osmon, J. L. and R. E. Klausmeier, "The microbial Degradation of Explosives," *Dev. Ind. Microbiol.*, **14**, 247~252(1972).