

트리클로로에틸렌의 分解菌 同定 및 生物學的 處理

水質保全科

鄭印哲, 安美貞, 金度勳, 李康心, 金光洙, 金成林

Identification of isolated bacteria and Biodegradation of Trichloroethylene

Water Preservation Division

I. C. Jung, M. J. Ann, D. H. Kim, K. S. Lee, K. S. Kim, S. R. Kim

Abstract

This study has been carried out to investigate the growth and degradation with microorganisms capable of degrading trichloroethylene and the removal of trichloroethylene from reactor.

The conclusions from experiments are as followings :

1. The isolated strain was identified as *Pseudomonas sp.* from the results of morphological, culture and biochemical test.
2. When we used *Pseudomonas sp.* TCE-94J for used strain degradation rate and growth rate of microorganisms have lag phase about 30 hrs exponential phase was from 30 to 70 hrs and after then it was stationary phase.
3. TCE degradation rate in metanotrophic Reactor was above 50%(initial value of 2mg/l decreased to 0.85mg/l in 1hr)and its value was decreased by time passed.
4. As the results of evaporation by gas injection, TCE amount of impinger was 0.031mg and its value was trace.

I. 緒 論

새로운 화학물질의 증가로 각종 산업과 생활에 급격한 발전을 가져온 반면 이들 화학물질의 다양한 경로를 통한 배출로 인해 환경오염 및 보건위생상의 문제는 더욱 가중되어 가고 있다. 최근 주목되고 있는 화학물질중 일적으로 안정하고 표면장력이 작으며 침투성이 우수한 물질로서 금속, 전자, 드라이크리닝 용제 및 세정탈지제로서 널리 알려진 유기염소계 용제가 있다.^{1,2)}

반암성이고 급만성 증독을 일으키며 간장, 신장 장애 및 중추신경계에 심한 손상을 일으키는 이들 물질로 인한 피해는 널리 알려져 있다.^{3,4,5)}

국내에서는 유기염소계 용제로 인한 오염 현황이 많이 보고되지 않았지만 미국, 일본등 유럽 선진국에서는 지하수, 지표수, 해수 등지에서 이들로 인한 검출보고가 많은 실정^{6,7)}이며 이에 따른 법적규제 및 대책을 강화하는 실정이다.

유기염소계 용제로 오염된 물을 처리하는 방법으로는 물리적 처리방법과 생물학적 처리방법이 있다. 물리적 처리방법으로는 Air stripping과 활성탄흡착법이 주로 이용되고 있다. Air stripping은 유기용제의 휘발성을 이용해 대기로 방출시켜 제거시키는 방법이며 활성탄흡착은 수용액중의 용제를 활성탄에 흡착시켜 놓은 것으로서 간단하면서도 효과적이지만 이들은 결국 대기중 또는 고체상으로의 물질 이동에 불과해 재처리를 요하게 된다. 그러므로 이들 물질의 제거방안은 완전분해하여 무해화할 수 있는 생물학적처리가 필요하다고 볼 수 있다.

1988년 Nelson 등에 의하면 최근 자연수중에서 방향족 화합물을 분해할 수 있는 균주를 분리하였으며 그중 G4라 명명된 gram-negative 호기성 bacteria를 이용한 TCE의 분해가 최초로 시작되었다고 하였다.

따라서 본 연구는 우리 주변에서 TCE 분해능을 가진 균주를 분리 동정하고 그에 따른 생물학적 처리에 관해 살펴 보고자 한다.

II. 文 獻 考 察

1. TCE(Trichloroethylene)의 물리화학적 특성

TCE의 분자식은 C_2HCl_3 (분자량 131.39g/mol)이며 상온에서 무색 투명한 액체이고 클로로포름과 같은 단맛을 띠며 비중은 액체 1.465(20/4°C), 증기 4.54(공기=1), 끓는점: 86.7°C, 녹는점: -88°C, 발화점: 425°C(공기중), 396°C(산소중), 용해도: 0.11wt%(25°C in water)이며,

마취성, 불연성, 물에 잘 녹지 않고 금속을 부식시키는 경우는 적다. 안정제를 함유하지 않은 경우 공기중의 산소에 의하여 서서히 산화되며, 과산화물(중간체)을 경유하여 디클로로 아세틸클로라이드, 염화수소, 일산화탄소, 포스겐을 생성한다. 이 반응은 열 또는 빛에 의하여 촉진된다. 수분이 존재하면 디클로로아세트산과 염산을 생성하고 알코올, 에테르, 케톤, 아세트산에틸, 일산화탄화수소, 휘발유 등에 보통 유기용제로 완전히 혼합하며, 유지류, 그리스, 왁스 등을 잘 용해하는 특징을 지니고 있다.

TCE의 생물학적 분해

지구상에 산재되어 있는 화학물질중 분해되기 어려운 물질이 있는데 이들을 recalcitrant molecule 또는 xenobiotics라 부르며 이러한 물질이 분해하기 어려운 것은 환경중에 존재하는 미생물들이 이들을 이용할 수 없기 때문이다. 수많은 합성고분자물질(nylon, PVC, polyurethane)과 살충제 등은 자연환경 중에서 분해하기 어려우며 분해가 이루어져도 아주 느린 속도로 분해된다. 이러한 물질을 분해하는데 cooxidation 혹은 cometabolism은 중요한 역할을 한다.* Cometabolism은 살충제의 변환을 나타내는 용어였으나 최근 cooxidation과 혼동하여 사용하며 증식되지 않은 세포에 의해 기질이 활용하는 현상을 나타낸다.

자연계에서의 cooxidation 반응의 시작은 여러 미생물에 의한 동시 공격에 의해 (coincidental attack) 일어나며 반응최종단계는 분해 대상물질이 이산화탄소나 기타 무해한 물질로 변화하는 과정인데 이러한 과정을 mineralization이라고 한다.*

Hydrocarbon을 포함한 여러물질에 대한 미생물학적 cometabolism의 발견은 1960년 이전부터 연구되어 왔으며 염소화탄화수소류에 대한 연구는 1980년대에 이들 물질이 오래전부터 광범위한 사용으로 인한 자연계에서의 다량 발견되기 시작하면서부터 본격적으로 이루어졌다.

최근 연구에서 aromatic compounds 존재하에서 자란 호기성균주들이 TCE(Trichloroethylene) 분해능을 지니고 있음이 밝혀졌다. TCE의 Cometabolism을 일으키는 미생물군 중의 하나가 metanotrophic인데 이들은 호기성 상태에서 메탄의 산화에 의해 에너지를 얻는다. Fig. 2-1은 TCE의 생물학적 분해를 위한 metanotrophic metabolism을 나타낸 것이다.

Little, C.D.* 등은 aerobic, methane-oxidizing bacteria를 이용하여 TCE를 분해하였는데 type I bacterium이 methane이나 methanol을 첨가하여 배양할때 TCE를 분해하는 것으로 밝혔으며 생성물로는 CO₂와 water soluble compounds가 생산된다고 보고하였다.

Wackett 등은 *Pseudomonas putida* F1 균주의 경우 TCE 농도가 2mg/l에서 1mg/l로 낮아지는데 1시간이 소요되었다고 하였으며¹⁰⁾ Jassen등은 *Methylotroph thichosporium* OB3 균주의 경우 2mg/l에서 1mg/l로 되기까지 3시간이 걸렸다고 보고하였다.¹¹⁾

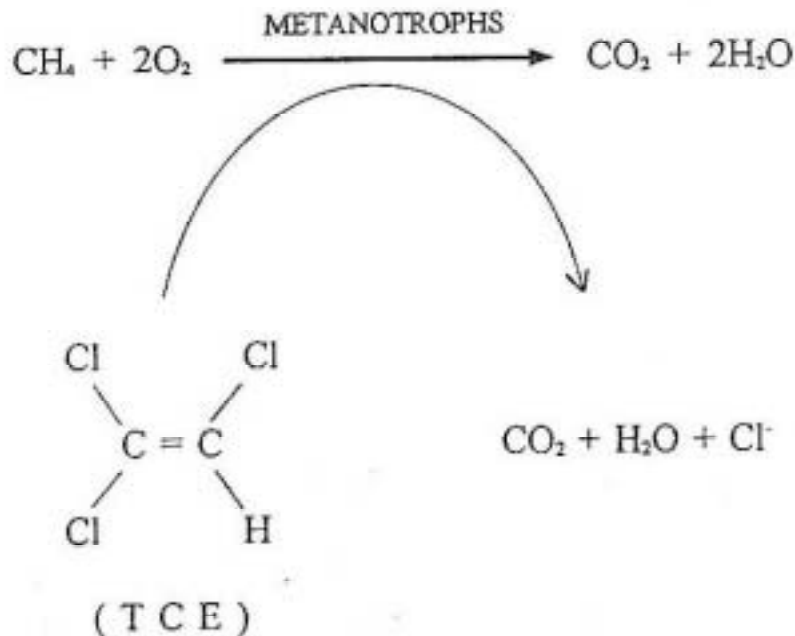


Fig. 2-1 Cometabolism of Trichloroethylene

이들중 자연계에 존재하는 것으로 알려진 *Pseudomonas sp.*의 특징을 살펴보면 우선 이들은 매우 단순한 영양요구 조건을 지니고 있으며 중성 부근의 pH와 mesophilic range의 온도에서 잘 자란다. 환경분야에서 주목받는 가장 뛰어난 특징의 하나는 탄화수소와 방향족 화합물을 분해하므로 폐수처리나 탄화수소 자화성 균으로 유망시된다고 볼 수 있다.

본 실험에서 TCE를 분해하는 균주로서 사용된 *Pseudomonas sp.*의 일반적인 특징과 대사(metabolism)에 관하여 살펴보면 다음과 같다.

Pseudomonas 속(genus)의 기본적인 모양은 끝거나 굽은 형태의 막대 모양이며 호흡대사를 하며 결코 발효대사를 일으키지 않는다. 이들 균주를 다른 균주와 구별하는 가장 특징적인 것은 glucose를 대사할때 gas를 생성하지 않는다는 것과 oxidase test에서 양성반응을 보인다는 것이다. *Pseudomonas* 속의 종(species)들은 다양한 생리학적 특징에 의해 구분되어 지는데 종마다의 분포는 매우 다양하다.

이들 균주의 일반적인 특징과 동정에 필요한 일반적인 특징을 Table. 2-1에 요약하여 나타내었다.¹³⁾

Table. 2-1 Characteristics of genus *Pseudomonas* (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., 1974)

General Characteristics	
형 태 :	Straight or curved rods but not vibrioid
	Size 0.5-1.0 μ m by 1.5-4.0 μ m
	Polar flagella
	Single or multiple
	No sheaths
	Appendages or buds
대사 및 영양 요구 조건 :	
	Respiratory metabolism, never fermentative
	Although may produce small amounts of acid from glucose anaerobically ;
	Use low-molecular-weight organic compounds, not polymers
	Some are lithotrophic
	Some use nitrate as electron acceptor anaerobically
	Some use arginine as energy source anaerobically
Minimal characteristics for identification	
1.	Gram-negative, straight or slightly curved
2.	no spores ; motile (always) ; polar flagella (flagella stain)
3.	from glucose : open, acid produced ; closed, acid not produced
4.	gas not produced from glucose
5.	oxidase, almost positive
6.	catalase, always positive
7.	photosynthetic pigments, absent
8.	methyl red, negative
10.	Voges-Proskauer, negative

III. 實驗 材料 및 方法

1. 實驗 재료

가. 분리용 시료

Trichloroethylene(TCE) 분해균을 분리하기 위하여 경남지역 공업단지 내의 TCE를 10년이상 사용해온 전자제품 생산업체에서 유출되는 폐수의 1차 침전 슬릿지와 폐유기용제 저장고 주변 등에서 토양 시료를 약 20여점 채취하여 분리용 시료로 사용하였다.

나. 배지 조성

TCE 분해균을 분리하기 위해 사용된 집적 배양용(분리용 배지) 및 보존용 배지의 조성은 Table. 3-1과 같다.

분리용 배지의 pH는 1N-KOH용액으로 7.0으로 조정하였고, 멸균된 배지를 만들기 위하여 분리용 배지를 표와 같이 용액A와 용액B로 구분하여 각각을 121℃에서 15분간 autoclave하여 사용하였다. 실험에 사용한 TCE는 100mg/l의 stock solution을 만들어 filter paper(0.22μm)를 이용하여 여과 멸균하여 사용하였다.

분리된 TCE 분해균주는 LB 한천 사면 배지에서 충분히 생육시킨 다음 냉암소에 보존하여 본 실험에 사용하였다.

Table. 3-1 Composition of culture medium

Component *Minimal Medium(g/ℓ)		Component LB-Medium(g/ℓ)	
KH ₂ PO ₄	1.6	Trypton	10
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5	Yeast extract	5
(NH ₄) ₂ SO ₄	3.0	NaCl	10
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.3	Agar	17
KI	0.001	D.W.	1000ml
Folic acid	0.0016		
Trace element**	1ml		
D.W.	1000ml		

* Minimal Medium 제조시에 Ca, Mg의 침전을 방지하기 위하여 Solution A와 Solution B를 제조하여 각각 따로 autoclave한 후 섞는다.

Solution A : KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Trace element-KOH로 pH 조정

Solution B : $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

** Trace element solution composition(g/l)

Bolic acid, 0.1 ; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.04 ; $(\text{NH}_4)_2\text{MO}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.02

$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.04 ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.045 ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.025

2. 실험 방법

가. TCE 분해균의 분리

각 지역에서 채취한 토양 1g씩을 위하여 집적 배양용 배지 100ml 삼각flask에 잘 련막한 후 TCE 농도를 2mg/l로 조정하여 30°C에서 4일간 진탕 배양하였다. 이 배양액 10ml을 새로운 집적 배양용 배지에 접종하여 4일간 다시 진탕배양한 후 TCE 분해능 유무를 육안으로 관찰하였다.

이상에서 TCE에 대한 분해능이 있는 것으로 판명된 배지의 배양액 0.1ml을 집적 배양용 평판 배지에 도말하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 평판 배지상에 형성된 colony를 1백담이 위하여 다시 집적배양용 평판배지에 옮겨 배양하면서 균일한 성장을 나타내는 colony를 선별하였고 분리용 최소 액체 배지에서 다시 배양하면서 분해능 유무를 재확인하였다.

나. 분리균의 생육도 측정

순수 분리된 TCE 분해균을 200ml의 배지를 넣은 250ml 삼각flask에 접종하여 30°C에서 광복진탕배양 (180rpm, VISION CO. LTD.)을 실시하면서 일정한 시간별로 생육도를 Spectrophotometer(Varian Cary 13)를 사용하여 600nm에서 흡광도를 측정하였다.

다. TCE의 분해능 측정

분해능을 알아보기 위한 TCE의 정량분석은 gas chromatography로 실시하였다. 일정시간 간격으로 배양액 40ml를 N-hexane으로 용매 추출법에 의해 추출하여 직접 G/C에 주입하여 분석하였다. 대조구로서는 균을 접종하지 않은 동일한 조성의 배지를 사용하였다.

TCE의 정량분석을 위한 조건은 Table. 3-2와 같으며, TCE의 Chromatogram은 Fig. 3-2와 같다.

Table. 3-2 Operating condition of GC for quantitative analysis TCE

Model	Hewlett Packard 5890 II
Detector	ECD
Column Size	0.53mm×30m
Column Packing Material	DB 624
Injection Temperature	180℃
Oven Temperature	40℃→100℃
Detector Temperature	230℃
Carrier Gas	N ₂ (30ml/min)

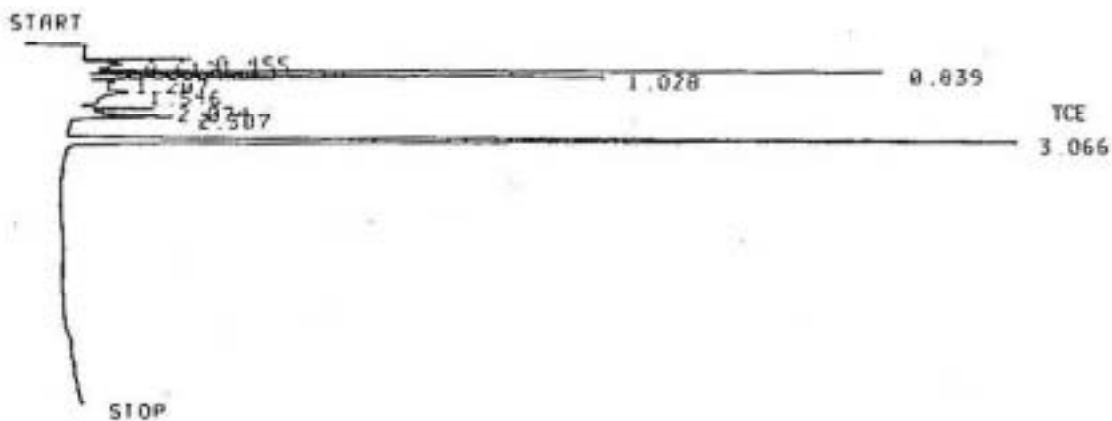


Fig. 3-2 Chromatogram of TCE

라. 공시균주의 선정

순수분리된 TCE 분해균주중에서 Spectrophotometer에 의한 생육도의 측정과 배양후의 TCE를 분해하는 시간의 정도를 비교 조사하여 분해능이 우수한 균주를 공시균으로 선정하였다.

마. 공시균의 분류 및 동정

공시균으로 선정된 TCE 분해균의 분류학상 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생화학적 재특성을 조사하였으며, 이에 따른 공시균의 분류와 동정을 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th.ed.)와 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1에 준하여 실시하였다.

(1) 형태적 특성

세포의 형태학적 제반실험은 Manual of Methods for General Bacteriology¹⁰⁾와 L.J. Bradshaw의 Laboratory Microbiology(3rd.ed.)¹¹⁾에 준하여 실시하였다.

(2) 배양학적 특성

공시균을 육즙 한천 평판 배지상에 배양시켜 colony의 형태, 표면, 색, 투명도 등을 관찰하였다. gelatin 역화실험은 nutrient gelatin stab culture로 실시하였으며, 탄수화물 발효실험은 Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria¹²⁾에 준하여 실시하였다.

(3) 생화학적 특성

공시균의 생화학적 특징을 규명하기 위한 제특성은 Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria와 Manual of Methods for General Bacteriology에 준하여 실시하였다.

바. 반응장치(Reactor) 및 방법

본 실험에 사용된 장치의 개략도는 Fig. 3-3에 나타내었다.

Fig. 3-3에 나타난 회분식 실험을 위한 반응수조는 지름 10cm, 높이 50cm, 유효용량 3500ml의 아크릴 재질로 제작되었다. 상부로부터 Air와 CH₄ 가스유입관이 연결되었고 이들 기체 유입으로 인한 가스배출관이 설치되었는데 TCE의 휘발성을 확인하기 위해 각 100ml N-H용액을 흡수액으로 한 임핀저 3SET를 설치해 대기중으로 방출될 수 있는 TCE를 포집할 수 있게 하였다.

Lanzarone 등에 의하면¹³⁾ TCE 분해를 위한 반응조에 저농도의 CH₄(1.5mg/l)를 주입하거나 CH₄와 산소를 교대로 주입하였을때 높은 제거율을 보인다고 하였으나, 본 반응조에서는 CH₄와 Air를 동시에 각각 0.1ℓ/min, 0.4ℓ/min 유량으로 공급하였다.

반응조내에 미리 CH₄와 Air로 폭기시킨 영양액(Table 3-1)을 채운뒤 O.D 0.2 배양용액 30ml를 투여하고(건조균체량 2.1mg)TCE stock solution으로 반응조내 TCE 농도를 2mg/l로 조제하여 표준시료 용액으로 한다

시료 채취는 표준시료 용액 조제후 15분 안정시켜 채취한후 이후 1시간 간격으로 채취하였으며, 임핀저 A,B,C에서도 1시간 간격으로 채취하여 분석하였다.

반응조내의 시료는 N-hexane 10ml를 이용 시료 40ml를 분취하여 용매 추출법에 의해 분석하였고 임핀저 내의 N-hexane는 직접 G/C에 주입 분석하였다.

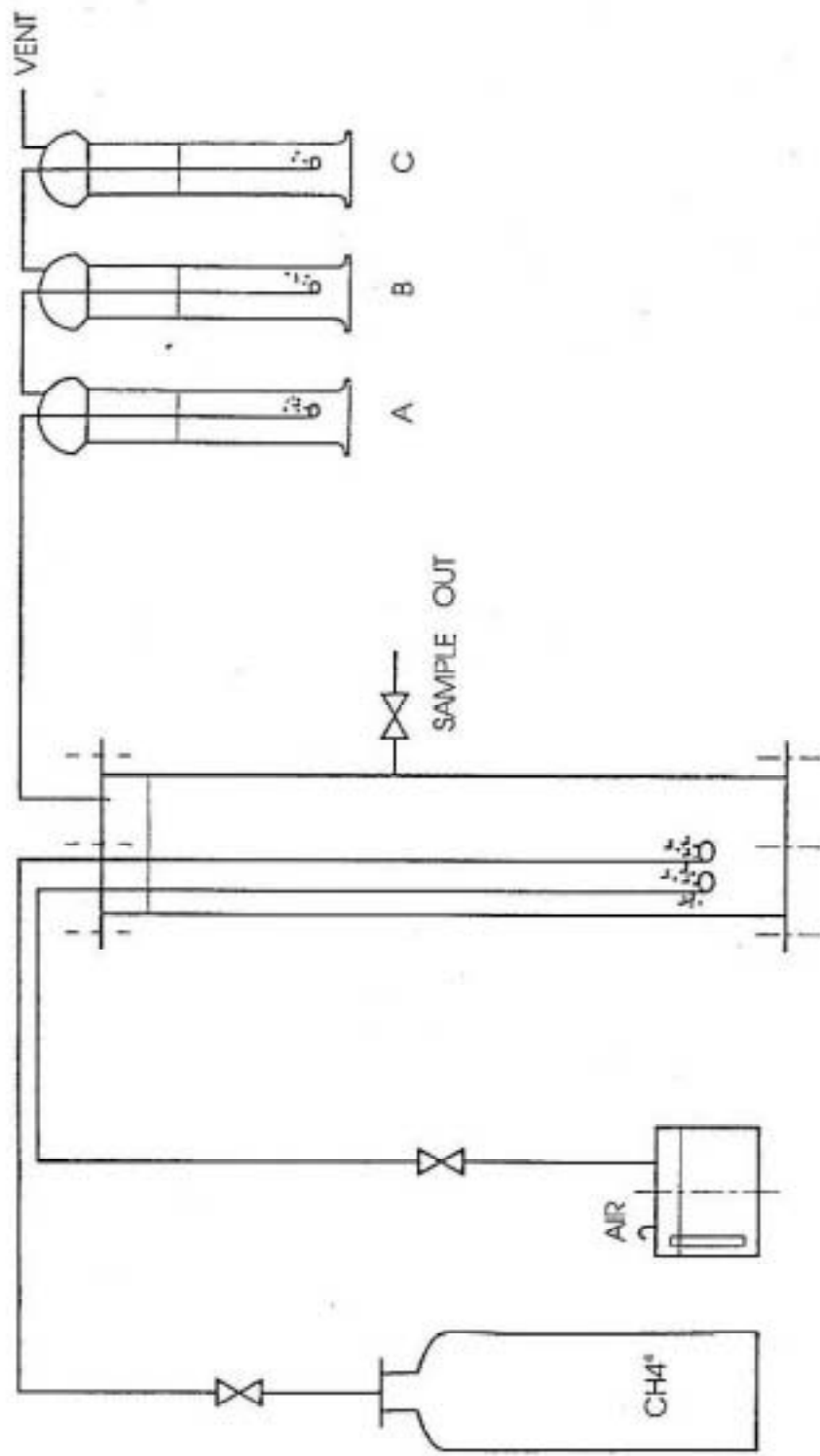


Fig.3-3 Schematic Diagram of Methanotrophic Reactor for TCE Removal

IV. 結果 및 考察

1. TCE 분해균의 분리

경남지역 공업단지내의 전자제품 생산업체에서 유출되는 폐수의 1차침전슬릿지의 폐유기용제 저장고 등에서 주변 토양을 시료로 채취하여 분리용 배지에서 진탕 배양을 실시한 결과 TCE 분해능이 있는 3개의 균주를 분리하여 TCE에 대한 분해능, 생육도 등을 비교 조사하여 우수한 성질을 나타낸 한 균주를 공시균주를 선정하였다.

2. TCE 분해균의 생육도 및 분해율 측정

분리균주 중에서 TCE 분해능이 가장 우수한 균주를 분리용 배지에서 진탕 배양하여 측정한 생육도와 분해율은 Fig 4-1과 같다. 이 균주는 약 30시간의 유도기(lag phase)를 거친후 70시

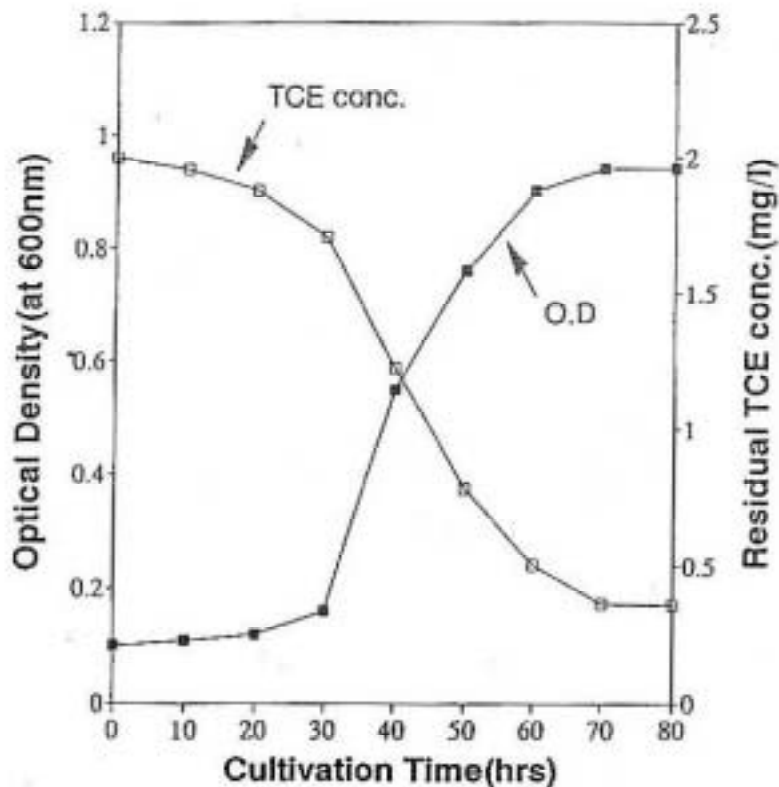


Fig. 4-1 Growth and degradability of isolated strain.

간만에 정지기에 도달하였다.

TCE의 분해율은 대수증식기인 30시간에서 70시간 사이에 가장 높아 분리 균주의 생육곡선과 비례하고 있음을 보여 주었다.

3. 균체량 측정(Biomass)

Spectrophotometer(Valian Cary 13)를 이용하여 배양액을 600nm에서의 흡광도를 측정하여 건조균체량(dry weight)과 흡광도 사이의 보정곡선(Calibration Curve)를 작성하여 건조 균체량을 측정하였다. 100ml의 배양액을 filter paper(0.22 μ m)로 여과하여 90 $^{\circ}$ C에서 12시간 건조한 후 5시간 데시케이터에서 항량후 건조 중량을 측정하였다.¹⁰⁾(Fig. 4-2)

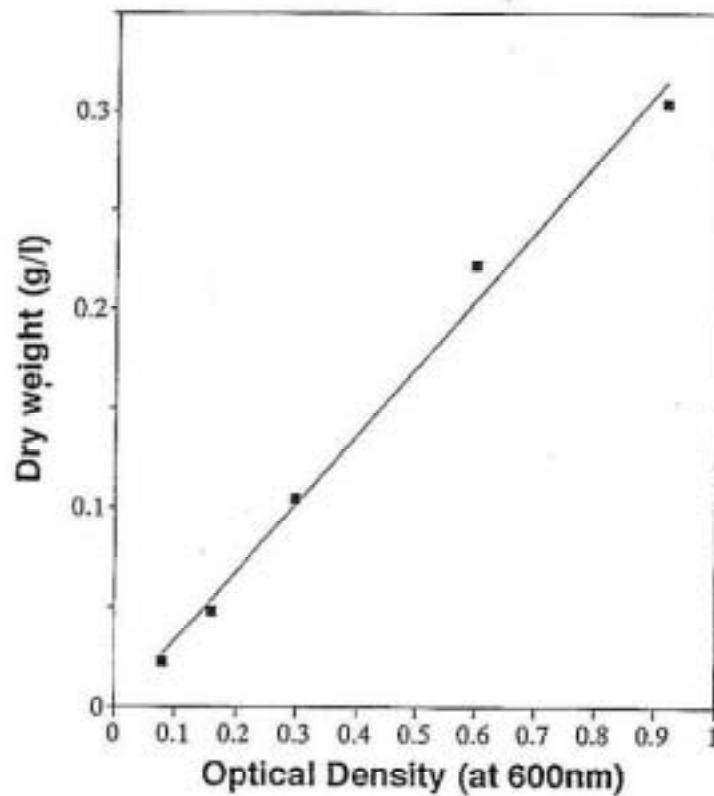


Fig. 4-2 Calibration curve of dry weight vs. O.D(isolated strain)

4. 공시균주의 선정 및 분류동정

TCE분해능 및 생육도가 우수한 1개 균주를 편의상 TCE-94J로 명명하여 형태학적, 배양적, 생화학적 제 특성을 조사하였다.

가. 형태학적 특성

공시균인 TCE-94J를 육즙한천 배지에 접종하여 시간대별로 배양하면서 광학현미경으로 관찰한 형태적인 특성은 Table 4-1과 Fig 4-3에서 보는 바와 같다. 공시균주는 끝이 둥근 단간균으로서 운동성이 있는 gram 음성균이었다.

나. 배양적 특성

공시균주를 육즙한천 평판 배지상에서 배양하여 형성된 colony 특징에 대하여 조사한 결과는 Table 4-2와 같다. 형성된 colony는 습기가 많고 중앙부가 볼록한 convex형이었다. colony의 색깔은 옅은 노란색을 띄었으며 불투명하였다. 탄수화물 발효능에 대한 실험은 Phenol red broth base 배지상에서 실시하였으며 그 결과는 Table 4-3과 같다.

Table. 4-1 Morphological characteristics of isolated strain TCE-94J

Contents	Characteristics
Shape	Short rod with round end
Cell Size(μm)	0.7~0.8 by 2.3~2.8
Motility	Positive
Gram Stain	Negative
Type of cell division	Simple division

Table. 4-2 Cultural Characteristics of isoated strain TCE-94J

Contents	Characterisitcs
Colonies on nutrient agar	Circular, entire, convex, wetted
Colony surface	Smooth
Colony color	Pale yellow
Hydrolysis of gelatin	Negative

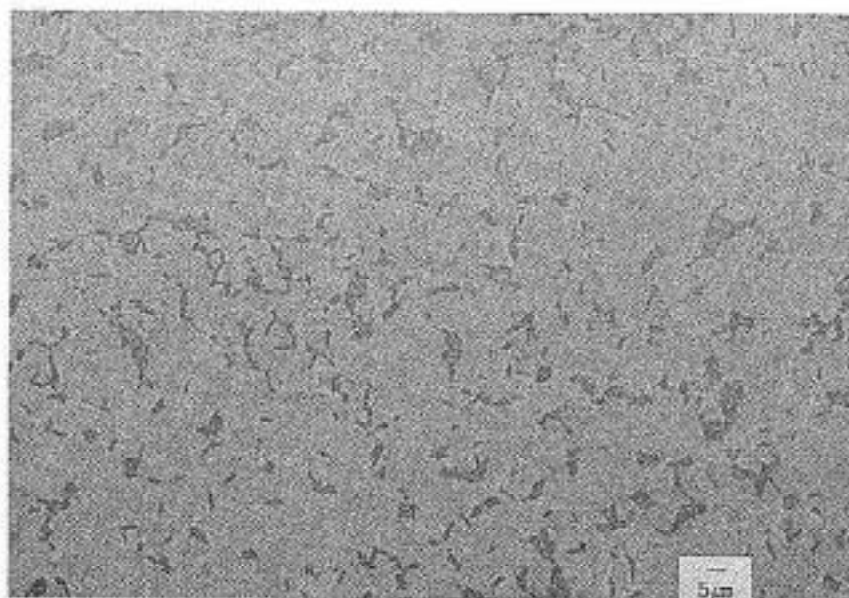
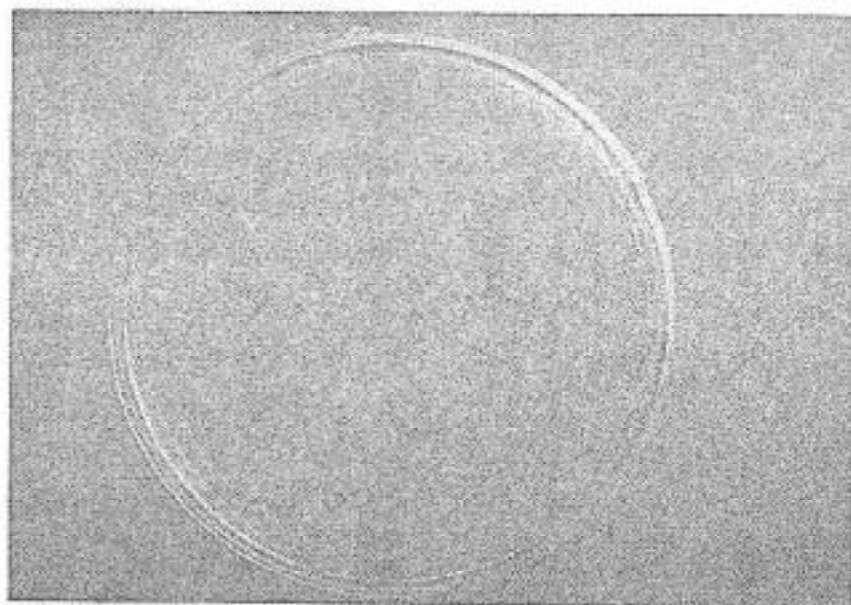


Fig. 4-3 Photograph of isolated strain TCE-94J

Table. 4-3 Test for carbohydrate utilization of isolated strain TCE-94J

Contents	isolated strain TCE-94J
Dextrose	Negative
Sucrose	Positive
Lactose	Negative
Mannitol	Negative
Sorbitol	Positive
Fructose	Positive
Xylose	Positive
Rhamnose	Negative
Inositol	Negative
Maltose	Positive
Galactose	Positive
Trehalose	Positive
Adipate	Negative
Soluble starch	Negative
Mannose	Negative
Melibiose	Positive

다. 생화학적 특성

공시균주의 생화학적 특성을 검토한 결과는 다음과 같다.(Table. 4-4) 본 균주는 Catalase, oxidase, citrate utilization, growth on KCN broth, arginine dehydrolase 양성을 나타내었고, H₂S Production, indole, decarboxylase test, urease, aesculin hydrolysis에서는 음성을 나타내었다. oxidation-fermentation test에서는 oxidation을 나타내었으며 4℃에서는 생육을 하였으나, 42℃에서는 생육하지 못하였다.

Table. 4-4 Biochemical characteristics of isolated strain TCE-94J

Contents	Isolated strain TCE-94HJ
Catalase test	Positive
Cytochrome test	Positive
Oxidation/Fermentation test	Oxidation
H ₂ S production	Negative
Nitrate reducton	Negative

Indole test	Negative
Lysine decarboxylase	Negative
Ornithine decarboxylase	Negative
Arginine dehydrolase	Positive
Aesculin hydrolysis	Negative
Urease	Negative
Growth on KCN broth	Positive
Growth at 4℃	Positive
Growth at 42℃	Negative

라. 공시균주의 분류, 동정

본 실험에서 분리한 공시균주의 형태학적, 배양적, 생화학적 제 특성을 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology(8th.ed.)와 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1과 비교 검토한 결과 *Pseudomonas*에 속하는 것으로 동정되었으며 이를 편의상 *Pseudomonas* sp. TCE-94J라 명명하여 사용하였다.

5. Metanotrophic Reactor에서의 TCE 분해

가. 반응시간에 따른 TCE의 농도변화

표준시료용액 3,500ml를 조제한 뒤 TCE의 제거효율을 알아본 결과는 Fig. 4-4와 같다. Wackett et al (1988)이 *Pseudomonas putida* F1 균주를 이용하여 TCE의 초기농도에 따른 분해속도를 보고하였는데 TCE 초기 농도가 10.16mg/l까지는 선형적인 증가 현상을 보였으며 40mg/l이 되면 더이상 분해능을 보이지 않았다고 하였다. Fig. 4-4는 고농도의 결과치를 나타내지는 않았지만 일정한 범위의 선형성이 나타남을 알 수 있다. 일반적으로 TCE 분해에 관여하는 효소는 초기에 높은 분해 속도를 가지는 것으로 알려져 있으며, Cohen 등은 Mixed methanotrophic culture의 경우에는 20mg/l의 TCE를 완전 분해하는데 30분도 걸리지 않았다고 보고하였는데, 본 실험에서는 미생물 반응후 1시간만에 50%이상의 제거효율을 보여 주고 있다.

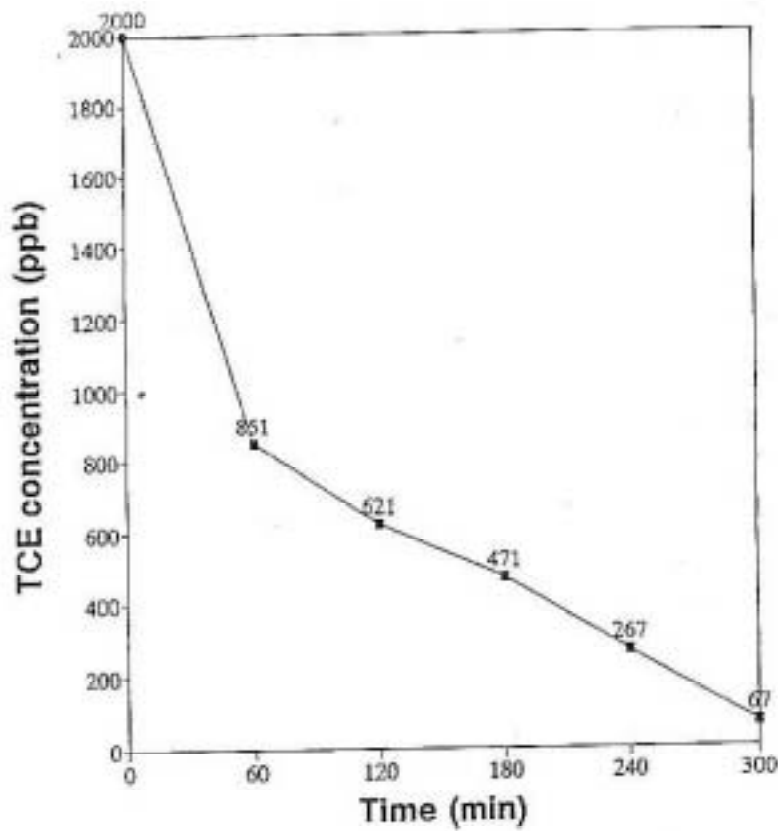


Fig. 4-4. TCE Degradation by Methanotrophic Reactor

나. 반응시간에 따른 pH의 변화

초기 반응조의 pH는 7.3으로 나타났으며 시간이 경과할수록 pH가 떨어지는 것을 Fig. 4-5에서 알 수 있다. 이는 TCE의 분해에 관여하는 효소의 유도과정에서 산성을 띄는 물질이 생성된다고 볼 수 있는데 일반적으로 알려진 TCE의 분해경로는 TCE가 산화하여 dichloroacetic acid로 변화하며 이 물질이 산화하여 이산화탄소를 생성시키는 것으로 Jassen 등은 보고하고 있다.

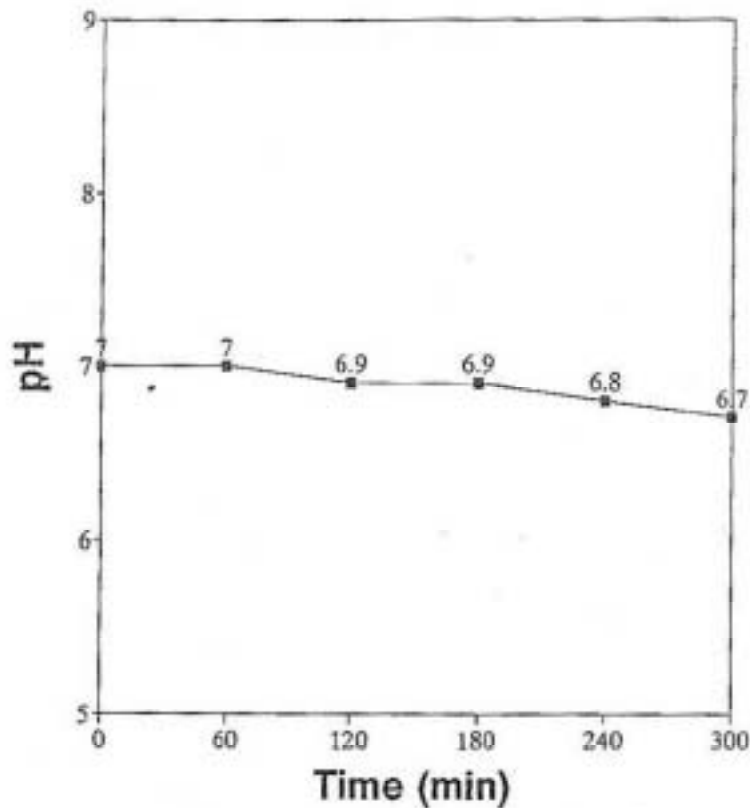


Fig. 4-5 Variation of pH Value from Reactor

본 실험에서 pH의 변화가 크게 나타나지 않는 것은 dichloroacetic acid에서 이산화탄소로 가는 과정이 매우 빠르게 진행되어 pH 변화에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 사료된다.

다. Impinger에서의 TCE 유출량 조사

TCE는 휘발성(저비점)이기 때문에 기상으로의 증발을 고려하지 않으면 안된다. 그러므로 미생물 처리의 효율을 확인하기 위해 AIR와 CH₄가스의 유입으로 인한 반응조내의 체적 팽창이 이루어져 상부에 기체 유출관이 연결되어 있으며 이 연결관은 TCE의 추출용매인 N-H를 흡수액으로 한 임핀저를 3SET 설치하여 대기로의 휘발을 확인하였다.

Fig. 4-6은 반응조의 초기 농도가 2mg/l일때의 반응시간별 임핀저내 TCE량을 나타내었는데 TCE가 임핀저 AB에서 0.031mg 포집되었으며 임핀저 C에서는 검출되지 않았다. 이는 초기 가스(AIR, CH₄) 유입으로 일시적인 TCE의 휘발이 생겼다고 보아진다.

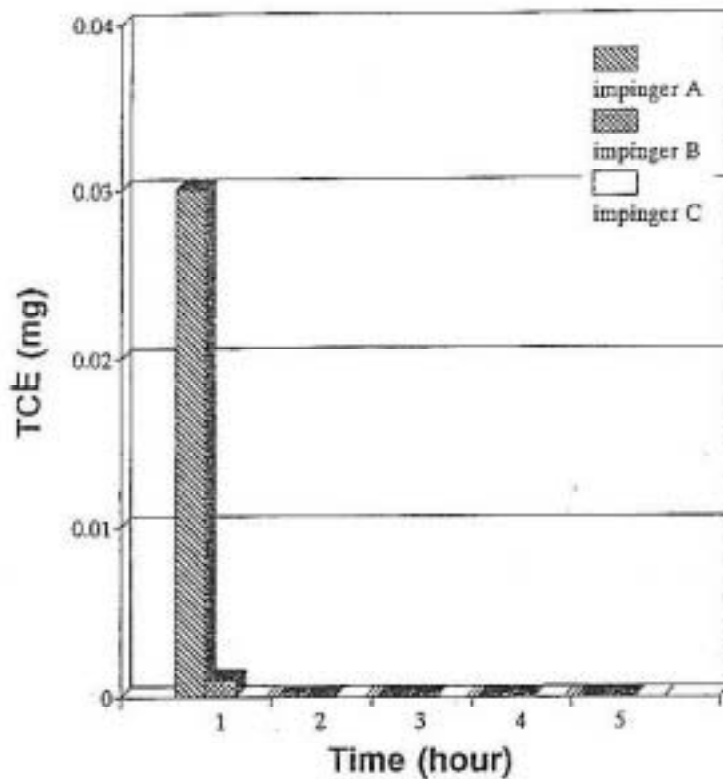


Fig. 4-6. TCE Amount(mg)from Impinger A, B, C(Init, TCE 7.0mg)

V. 結 論

본 연구는 트리클로로에틸렌의 생물학적 분해를 위한 방법의 하나로 미생물을 이용하여 TCE의 분해도 및 증식율을 조사하고 Reactor에서의 TCE 제거율을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. TCE 사용 산업장에서 채취한 토양에서의 미생물을 분리 배양하여 형태학적, 배양적, 생화학적 특성을 조사한 결과 *Pseudomonas. sp.*로 판정되었다.
2. 공시균주로 사용된 *Pseudomonas sp. TCE-94J*를 이용하여 TCE 분해율 및 분해균의 생육도를 조사한 결과 30시간 정도의 유도기를 가졌으며, 30~70시간 까지의 대수증식기를 가진 후 70 시간만에 정지기에 도달한 것으로 나타났다.

3. Metanotrophic Reactor에서의 TCE 제거는 초기농도 2mg/l에서 1시간여 만에 0.851mg/l로 50%이상 제거되었으며 시간의 경과에 따라 감소율이 둔화되었다.
4. 기체주입으로 인한 대기로의 휘발을 확인한 결과 impinger에서의 TCE는 0.031mg으로 미량 검출되었다.

VI. 參 考 文 獻

1. Merck & Co.Inc : The Merck Index 11th Edition (1983).
2. 보건사회부 : 음용수 수질관리 지침서 (1990)
3. WHO : Guidelines for Drinking-Water Quality, Vol 2.
4. Randall C Baselt, Ph.D.& Robert H. Cravey, B : Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in man Year Book Medical Publishers, Inc. pp.775~829. (1989).
5. 국립환경연구원 : 유해화학물질의 수질오염사고 방제 요강(1992).
6. 大山征也 : 니가다현에서 일어난 화학물질오염의 현황과 트리클로로에틸렌 등 환경오염방지대책요강, 공해와 대책(1990. 12).
7. C. R. Pearson & G.McConnell : Chlorinated C1 and C2 Hydrocarbons in the Marine Environment. Proceedings of the Royal Society Series B. pp.305~322. (1975).
8. Perry J. J. : Microbial Cooxidation Involving Hydrocarbons, Microbiological Reviews, 43 p.59. (1979)
9. Singleton, P. Sainsbury, D. : Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd, John Wiley & Sons, New York p.385.(1988).
10. Little, C.D, Palumbo, A.V, Herbrs. S.E, Lindstrom. M.E, Tyndall. R.L, Gilmer. P.J : Trichloroethylene biodegradation by a methan-oxidizing Bacterium, Appl Environ. Microbiol 54 pp.951-956. (1988).
11. Wackett. L.P, Gibson. D.T : Degradation of Trichloroethylene by Toluene Dioxygenase in Whole-Cell Studies with *Pseudomonas Putida* F1, Appl. Environ Microbiol 54 p.1703. (1988).
12. Janssen.D.B, Ruud. R.O, Vink.J.M, Witholt. R : Degradation of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by Methylosinus Trichosporium OB3B Expressing Soluble Methane Monooxygenase, Appl.Environ Microbiol 55 P 2819 (1989)
13. Bergy's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, The William and Wilkans Co. USA (1974).

14. Gerhardt, Murray, Costilow, and Nester : Manual of Methods for General Bacteriology, American Society for Microbiology (1981).
15. Bradshaw, L.J. : Laboratory Microbiology, 3rd. ed. W.H.C. Brown Company Publishers (1982).
16. Jean F. Mac. Faddin : Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, The William and Wilkins Co., Baltimore.
17. Lanzarone, N.A., and McCarty, P.L. "Variables That Affect TCE Degradation by Methanotrophs on Aquifer Material" presented at Eighth Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Fla.(1987.11).
18. 김종협, 이배함, 이지열 : 미생물학 실험서, 대광문화사 (1983).
19. Cohen, L.A, McCarty.P.L : Effects of Toxicity, Aeration and Reductant Supply on Trichloroethylene Transformation by a Mixed Methanotrophic Culture, Appl. Environ Microbiol 57 p.228. (1991).