

전분 환 투입에 의한 실험실 규모 침전지 저부에서의 생화학적 환경 변화와 화약물질(TNT 및 RDX) 분해

박지은 · 배범한*

가천대학교 토목환경공학과

Shifts in Biochemical Environments and Subsequent Degradation of Explosive Compounds (TNT and RDX) by Starch Ball Addition in the Benthic Zone of Bench Scale Settling Basins

Jieun Park · Bumhan Bae*

Department of Civil & Environmental Engineering, Gachon University

ABSTRACT

A starch ball was devised to conveniently supply carbon source to indigenous microorganisms and to enhance biotransformation of explosive compounds(TNT and RDX) in the sediments of settling basins installed in military shooting ranges. To identify optimum dose/sediment ratio for degradation of explosives in the basin, a series of bench scale settling basin experiments were performed for 30 days while monitoring supernatant pH, DO, concentrations of nitrite, nitrate, sulfate, explosive compounds, and acute toxicity measured by bacterial luminescence. Addition of starch ball induced changes in oxidation conditions from oxic to anoxic in the benthic zone of the basin, which resulted in subsequent reductive degradation of both TNT and RDX in the liquid and solid phase of basin. However, fermentation products of excess starch, acetic acid and formic acid, caused acute toxicity in the liquid phase. The optimum ratio of starch ball/sediment for explosive compounds degradation by inducing changes in bio-geochemical environments without increase in acute toxicity, was found to be 0.009~0.017.

Key words : Biodegradation, Indigenous microorganisms, Starch ball, RDX, TNT

1. 서 론

Nitro-치환 화약물질은 살충제, 제약 및 염료 등에 사용되는 물질이지만, TNT(2,4,6-trinitrotoluene) 및 RDX(1,3,5-Trinitroperhydro-1,3,5-triazine)와 같은 화약물질 생산에 가장 널리 사용되었다(Schackmann and Muller, 1991). 화약물질은 난분해성으로 제조, 탄약 생산, 훈련장 사용 등에 의해 환경으로 배출되어 주변 환경오염을 일으키며, 모든 국가에서 군사력을 유지하고 있으므로 화약물질오염은 국지적인 문제가 아니라 전 지구적 문제로 대두되고 있다. 미국에서는 2차 세계대전과 한국 전쟁 시 생산된 화약물질로, 독일에서는 비군사화과정에서 발생한 화약물

질에 의해, 그리고 캐나다에서는 103개 군사훈련장에서 미산화 및 불발탄에서 배출되는 화약물질로 오염문제가 발생하였다(Hawari et al., 2000). TNT와 RDX는 미국 EPA 지정 C급 발암물질이며(US EPA 2012), ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 선정 100대 유해물질로(ATSDR, 2011), 식물(Pallazo and Leggett, 1986), 수중생물 및 포유류(Peters et al., 2009, Talmage et al., 1999) 및 인체(Bruns-Nagel et al., 1999)에 악영향을 준다.

화약물질은 고도로 산화되어 있어, 벤젠 고리의 산화분해보다는 $-NO_2$ 기가 2개의 전자를 받을 때마다 $-NO$, $-NHOH$ 및 $-NH_2$ 기로 순차적으로 환원되는 반응이 선행

*Corresponding author : bhbae@gachon.ac.kr

Received : 2014. 3. 26 Reviewed : 2014. 4. 22 Accepted : 2014. 4. 25

Discussion until : 2014. 8. 31

된다(McCormick et al., 1976). 따라서 호기성 조건보다는 혐기성 조건에서 쉽게 환원된다. TNT는 혐기성 소화조에서 분리한 황산염 환원균 *Desulfovibrio* sp.(strain B)에 의해 질소원으로 사용되었으며(Boopathy and Kulpa, 1993), 메탄균인 *Methanococcus* sp.은 TNT를 질소원 혹은 탄소원으로 사용하지 않았지만 6일 내 100% 환원하였다(Boopathy, 1994). Lewis et al.(1996)은 혐기성 조건에서 *Clostridium bifermentans*에 의해 TNT가 TAT(triaminotoluene)로 환원되고, TAT와 pyruvic aldehyde가 중합되어 존재하는 것으로 보고하였다. 호기성 분해에서도 TNT의 $-NO_2$ 기의 환원이 진행되었으며, 호기성/혐기성 조건의 상호작용에 의해 완전분해가 증진되었다(Bradley and Chapelle, 1995).

RDX 역시 $-NO_2$ 기의 환원이 진행되며, 분해산물로 MNX(mononitroso-RDX), TNX(trinitroso-RDX) 및 formaldehyde가 검출되었다(McCormick et al., 1981). RDX 분해는 황산이온 환원미생물(Boopathy et al., 1998), 질산환원조건(Freedman and Sutherland, 1998), 탈질조건(Singh et al., 2009), 혐기성 슬러지(Hawari et al., 2000; Zhao et al., 2004), 초산발효(Sherburne et al., 2005) 및 H_2 를 전자공여체로 할 경우(Beller, 2002)등과 같이 거의 모든 혐기성 조건에서 분해되고, 주된 반응산물로는 $HCHO$, $HCOOH$, N_2O , methylenedinitramine 등이 검출되었다.

호기성 조건에서도 RDX 분해가 보고되었다. RDX 오염지하수에서 RDX를 질소원으로 사용하는 호기성 *Stenotrophomonas maltophilia* PB1(Binks et al., 1995)이 분리되었고, 화약물질 오염토양에서 분리한 그람양성 *Rhodococcus* sp. strain DN22는 denitration 반응으로 RDX에서 $-NO_2$ 를 제거한 뒤, 질소원으로 사용한다(Coleman et al., 1998). 이상과 같이 화약물질이 난분해성임에도 불구하고 다양한 조건에서 다수 미생물에 의해 분해가 가능하며, 특히 화약물질 오염지역에서 이를 분해하는 미생물이 많이 분리되고 있다.

미생물이 화약물질을 분해하더라도, 분해시 발생하는 에너지량이 높지 않은 경우가 많다. 이에 탄소원을 투입하여 미생물 성장과 공대사에 의한 화약물질 제거를 촉진하는 방안이 고안되었다. 토양칼럼실험에서 호기성 TNT 분해시 glucose 혹은 영양물질을 주입하면 효율이 증진되었고(Bruns-Nagel et al., 1996; Muter et al., 2012), 슬러리 반응조 혹은 토양칼럼실험에서 TNT 분해에 당밀이 최적 탄소원으로 선정되었다(Manning et al., 1994; Boopathy, 2000). RDX 분해시에도 외부 탄소원을 첨가하면

제거효율이 증가하였다. Zhao et al.(2004)는 UXO 처분장이 있던 해양퇴적토에 RDX와 HMX(octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine)를 혼합하여 혐기성 조건에서 배양하면서 glucose, acetate 및 citrate를 투입한 결과 RDX와 HMX의 완전분해가 증진되었다. RDX 오염 지하수에서는 acetate에 의해 활성화된 철환원 박테리아에 의해 분해속도가 증진되었고(Livemore et al., 2013), 메탄생성균에 의한 RDX 분해시 ethanol, propylene glycol, butylate를 주입하면 역시 분해율이 증가하였다(Adrain et al., 2003).

반면, 혐기성 황산염 환원균 *Desulfovibrio* 종은 RDX 분해에 외부 기질 영향을 받지 않으며(Arnett and Adrian, 2009), 토양칼럼실험에서 RDX 분해시 starch를 주입하면 효율은 증가하지만 Microtox로 측정한 유출수 독성도 함께 증가하는 단점도 보고되었다(Davis et al., 2004).

국내 군사격장은 대부분 경사면에 위치하여 강우로 유출되는 오염 표토가 하천으로 유입한다(MoD, 2002; Park et al., 2008). 이에 군에서도 오염물질 저감을 위해 사격장에 침전지와 습지를 설치하고 있으나(Bae and Park, 2014), 침강 토양에 부착된 잔류화약물질이 용해되어 하천으로 배출될 가능성이 있다. 군 사격장이 외딴 지역에 위치하고 있어 생물학적 분해증진을 위한 탄소원 공급설비를 설치하기 어렵고, 전문적 관리인력 배치는 군 전력을 약화시킬 것이며, 정당한 군사훈련이 방해받아서는 안 된다. 이에 본 연구에서는 사격장에 설치된 침전지 미생물을 외부탄소원으로 활성화시켜 화약물질 분해를 증진할 수 있는 탄소원 공급방법으로 전분 환을 제조하였으며, 전분 환 투입으로 발생하는 퇴적토와 상부 수계의 생화학적 변화 및 화약물질 분해 증진 효과를 조사하였다.

2. 실험 방법 및 분석 방법

2.1. 전분 환 제조

본 연구를 위해 시험 제조한 전분 환의 크기는 약 1.9~2.0 cm, 1개당 무게 3.17 ± 0.33 g, 비중 1.2의 완전히 건조된 고체상태의 구체로(Fig. 1), 군 사격장 침전지가 크기 때문에 인력으로 침전지에 멀리, 그리고 골고루 살포할 수 있는 크기로 제작하였다. 따라서 전분 환을 물에 넣으면 곧바로 침강하고, 물속에서 서서히 용해하여 분해되므로 지속적인 효과를 발휘하며, 비중이 무거운 침전지에서 유출되지 않는다.

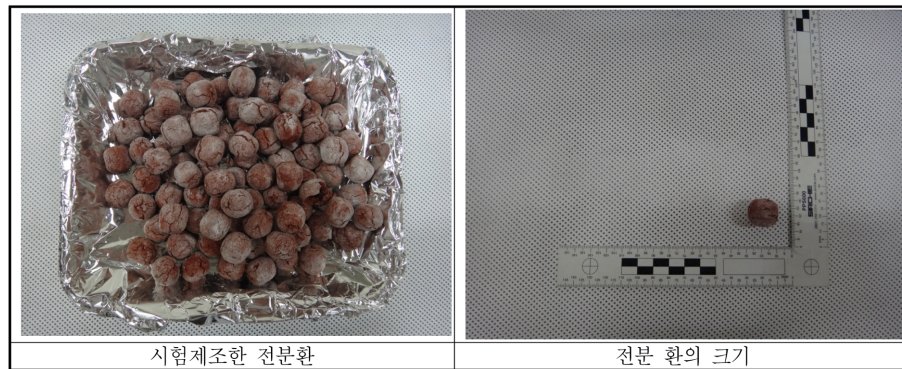


Fig. 1. Photographs of the starch ball produced in the laboratory.

Table 1. Composition of sedimentation basin experiments

Sedimentation basin	Designation	Composition	Starch/Soil ratio (g/g)
RDX1	RSo	RDX + Soil	0.000
RDX2	RSSa	RDX + Soil + 4 Starch Balls	0.009
RDX3	RSSb	RDX + Soil + 8 Starch Balls	0.017
RDX4	RSSc	RDX + Soil + 12 Starch Balls	0.025
RDX5	RSSd	RDX + Soil + 16 Starch Balls	0.034
TNT1	TSo	TNT + Soil	0.000
TNT2	TSSa	TNT + Soil + 4 Starch Balls	0.009
TNT3	TSSb	TNT + Soil + 8 Starch Balls	0.017
TNT4	TSSc	TNT + Soil + 12 Starch Balls	0.025
TNT5	TSSd	TNT + Soil + 16 Starch Balls	0.034

2.2. 실험실규모 침전조

전분 환의 효과를 확인하기 위해 현장 조건을 모사한 실험실 규모의 침전조를 운용하였다. 용량 30 L의 사다리꼴 플라스틱 박스에 경기도 북부 ○○○ 사격장에서 채취한 화약물질 오염토양 1.5 kg을 넣고, 증류수 28 L를 첨가하였다. 각각의 화약물질별로 5개의 침전조를 운영하였는데, 전분 환을 넣지 않은 대조군과 전분 환의 수량을 증가하며 변화시킨 침전조 4개로 구성하였다. 각 침전조별 전분 환/토양의 무게비는 최소 0.009에서 최고 0.034로 변화하였고, 그에 따른 반응조명을 Table 1에 표기하였다. 반응조는 실온($20^{\circ}\text{C} \pm 3$)에서 30일간 운전하면서, 외부 오염물질 유입방지와 침전조 바닥 조건을 모사하기 위해 덮개를 덮고 운영하였다. 일정시간(3일 혹은 6일) 간격으로 일정 깊이(상부에서 5 cm)에서 상정액 15 mL을 채취하여 분석시료로 사용하였다. 화약물질 농도 이외에도 pH, 온도, NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , COD, 유기산과 상정액에 대한 발광미생물을 이용한 급성독성을 측정하였다. 침전조 운영 최종일인 30일에는 최종 시료를 채취하고, 침전지 바닥에 있는 퇴적토 시료가 교란되지 않도록 피펫으로 상층부에서 채취한 다음 잔류 화약물질 농도를 측정하였다.

2.3. 분석방법

화약물질 분석에 사용한 HPLC 시스템은 Varian Prostar Gradient System(240 solvent delivery module, 335 photodiode array detector, 410 autosampler, 500 column valve module)으로 구성되어 있으며, 분석 조건은 유량 0.8 mL/min(Methanol : Water = 55 : 45)와 190~600 nm scanning mode이며, 정량은 UV 230 nm에서 실시하였다. 토양 내 화약물질 분석방법은 US EPA에서 개발한 SW-846 method 8330B와 동등한 방법으로 다음과 같다. 침전조 토양을 알루미늄 접시에 수집하여 상온 및 암소에서 풍건하고, 건조시료는 균질화하기 위해 No. 30체를 이용하여 체가름 하였다. 40 mL amber vial에 토양시료 10 g과 ACN(Acetonitrile) 20 mL을 첨가한 후, Teflon-lined cap으로 밀봉하고 30°C 이하의 sonic bath에서 18 시간 동안 sonication 추출하였다. 추출 후, 30분간 방치하여 토양을 침전시킨 후, 상정액 5 mL과 5 g/L CaCl_2 용액 5 mL을 vial에 충분히 혼합시킨 후 15분간 침전시켰다. 상정액은 0.2 μm PTFE filter로 여과하였다. 초기의 3 mL은 버리고 나머지 시료를 HPLC 분석하였다. 이와 같이 분석한 RDX와 TNT의 HPLC 검출한계는 각각 22

Table 2. Physico-chemical properties of the explosives contaminated soils used in the experiment

Name	Unit	RDX contaminate soil	TNT contaminate soil
EC	dS/m	0.59	0.49
T-N	%	0.05	0.06
NH ₄ ⁺	mg/kg	0.005	ND
NO ₃ ⁻	mg/kg	124.6	109.4
CEC	cmol/kg	12.26	13.24
Exchangeable K	mg/kg	92.76	77.22
Exchangeable Na	mg/kg	72.09	77.24
T-P	mg/kg	233.27	229.37
P ₂ O ₅	mg/kg	30.98	28.03
Organic Contents	%	4.08 ± 0.21	3.89 ± 0.39

ug/L 및 24 ug/L이었다.

화학적 산소요구량(COD)은 Standard method(1995)의 rapid COD test법으로, T-N은 Hach사의 즉석분석법을, NO₂⁻, NO₃⁻ 및 SO₄²⁻는 IC(ion chromatography)로 측정하였다. IC는 Metrohm ion analysis의 761 Compact IC와 Metrosep A Supp 4 250/4.0 column(4.0 × 250 mm × 9 μm)을 사용하였고, 1.8 mM Na₂CO₃와 1.7 mM NaHCO₃ 용액(pH 10.2)을 사용하여 20°C에서 유량 0.7 mL/min로 용리하였다. 급성 독성은 LumixTox를 사용하여 측정하였는데, *Vibrio fischeri*를 재활성화하여 NaCl 2% 용액으로 보정한 시료에 넣고, Lumis mini로 대조군과 시료 첨가군에서 발생하는 광자량의 차이를 측정하여 발광저해도를 계산하였다. 이 때 phenol을 표준액으로 사용하여 비교하였다.

정량에 사용한 TNT 및 RDX 표준용액은 Accu Standard(New Haven, CT, USA)에서 구매하였고, 추출에 사용된 용매는 HPLC급이었으며, 다른 화약물질은 ACS 급이었다. 또한 실험에 사용된 탈이온수는 고순도(18.3 MΩ·cm)이었다.

3. 결과 및 토의

3.1. 토성 및 오염도

실험에 사용한 토양의 토성은 sandy silt이며, 서울대학교 농생명과학공동기기원에 위탁하여 분석한 토양의 물리화학적 특성(Table 2)은 오염된 화약물질 종류만 다를 뿐 거의 동일한 토양이다. TNT 오염토양에서 NH₄⁺가 불검출된 반면, RDX 오염토양에는 NH₄⁺가 0.005 mg/kg으로 소량 존재하였다. 침전지에 넣은 오염토양의 RDX 및 TNT 초기 농도는 각각 44.48 ± 8.36 및 1.61 ± 0.09 mg/kg이었다.

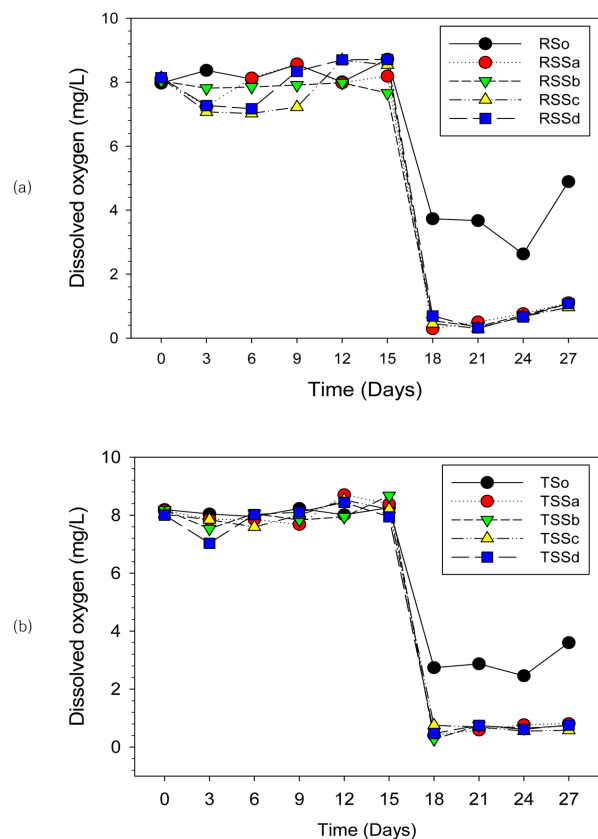


Fig. 2. Changes in dissolved oxygen concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil (b) TNT contaminated soil.

3.2. 액상 이온농도 변화

침전지 내 용존산소 농도변화는 Fig. 2와 같다. RDX 및 TNT 침전지 모두 약 15일 까지는 DO가 지속적으로 감소하다가, 18일부터 DO가 크게 감소하여 1.0 mg/L 이하로 유지되었다. 전반적으로 전분 환을 많이 투입할수록 용존산소가 감소하는 경향을 보였는데, 이는 투입한 전분

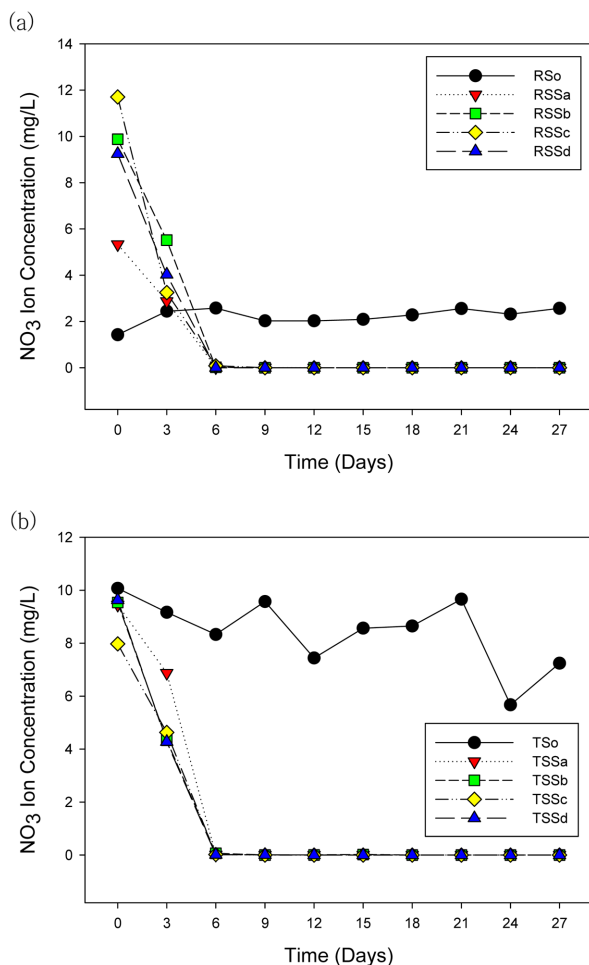


Fig. 3. Changes in nitrate concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

환이 미생물에 의하여 분해되면서 수중의 용존산소가 고갈되었기 때문이라 판단된다. 반면, 전분 환을 투입하지 않은 RSo 및 TSo 침전조에서는 교반하지 않고, 뚜껑을 덮어두었음에도 DO 농도가 2.5 mg/L 이상으로 유지되었다.

상징액의 질산이온 및 아질산이온 농도 변화는 각각 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 두 화학물질 첨가 침전조 모두에서 질산 및 아질산 이온 농도에서는 차이가 있으나, 변화 추이는 동일하다. 초기 약 10~12 mg/L의 질산이온 농도가 급격히 감소하면서 6일부터는 거의 검출되지 않고, 아질산 이온 농도는 3일까지는 증가하다가 감소하기 시작하여 6일 이후에는 거의 검출되지 않았다. 용존산소 농도, 질산 이온 및 아질산 이온 농도 변화를 고려하면 침전지 저부에서 아산소(suboxic) 상태가 유지되어 탈질현상이 발생한 것으로 판단된다(Berner, 1981). 반면 전분 환을 넣지 않은 대조군에서는 RDX 및 TNT 침전조 모두에서

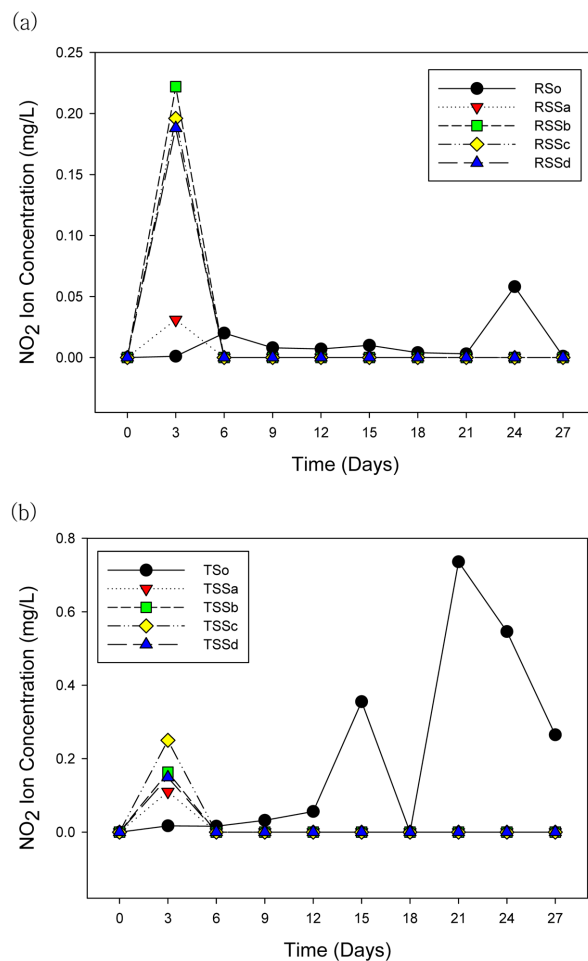


Fig. 4. Changes in nitrite concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

질산성 이온의 농도변화가 거의 없었다.

실험이 지속되면서, 질산 및 아질산 이온이 완전히 제거된 6일 경부터 황산이온 농도가 감소하였다. 전분 환을 넣지 않은 RDX 침전조에서는 황산이온 농도가 약 2~4 mg/L에서, TNT 침전조에서는 이보다 높은 11~13 mg/L에서 일정하게 유지된 반면, 전분 환을 넣은 경우 투입량에 비례하여 황산이온 농도가 빨리 감소하였다(Fig. 5). 이 결과는 침전조 저부 산소가 고갈되면서 무산소(anoxic) 상태로 진행되어 황산이온이 환원제거 되었기 때문이라 판단된다. 특히 DO 농도가 크게 감소하였던 15~18일 사이에서 황산이온 농도가 크게 감소하며, 악취가 발생한 것은 상기의 해석을 뒷받침해주는 결과라 사료된다.

3.3. 액상 pH 및 유기산 농도 변화

투입한 전분 환의 양에 대하여 침전조 용액에서의 화학

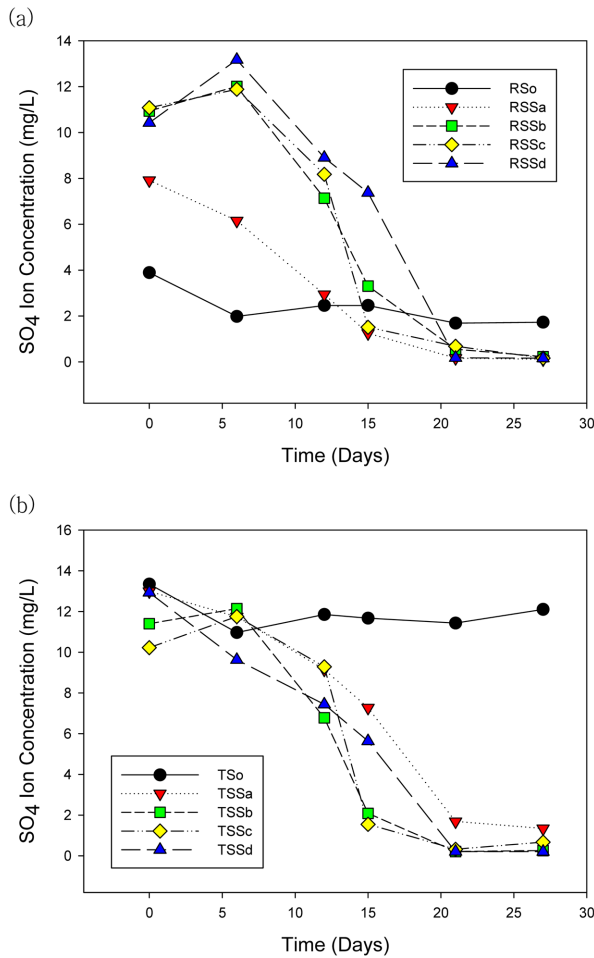


Fig. 5. Changes in sulfate concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

적 변화가 비례하는 추이가 pH 측정값에서도 동일하게 관측되었다. Fig. 6에서와 같이 전분환을 투입하지 않은 대조군(RSo 및 TSo)에서는 pH가 6.5~7.0 사이로 거의 변화가 없었지만, 전분 환을 투입한 반응조에서는 pH가 감소하였다가 증가하는 경향을 보였다. 특히, 전분 환 투입량이 많을수록 pH가 5.0까지 크게 감소하였고, 실험 종료일인 30일에도 pH 6으로 유지되었다. pH 감소는 투입된 전분 환으로 인해 침전지 저부 산소가 고갈되어 환원 상태로 변화하였고, 환원상태에서 전분 환에서 용해된 전분이 산 발효되어 유기산이 생성되었기 때문이라 판단된다. 이에 상정액내 유기산(acetic 및 formic acid)농도를 측정한 결과는 Fig. 7 및 8과 같다. Davis et al.(2004)은 화약물질 분해를 위해 토양에 전분을 투입하였을 때, acetic acid가 생성되었다고 보고하였는데, 본 연구에서도 동일하게 acetic acid와 formic acid가 생성되었다.

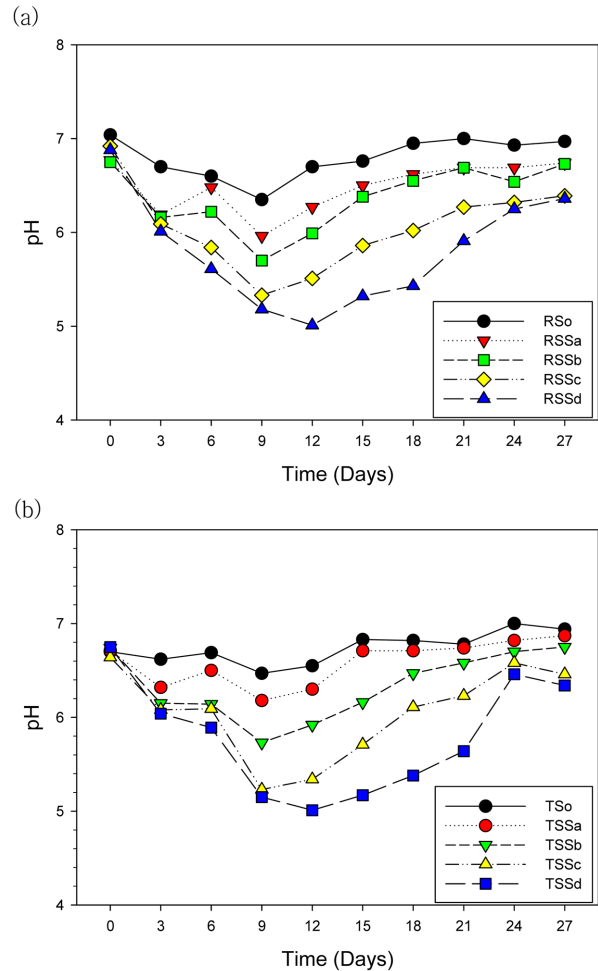


Fig. 6. Changes in pH of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

화약물질은 고도로 산화된 상태이므로 환원반응이 우선 발생하며, 탈질조건에서 분해가 가능하다. Han et al. (1996)은 탈질조건에서 TNT와 전환산물이 분해가능함을 보고하였고, Freedman(1998)는 탈질미생물에 의하여 nitrocellulose가 분해된다고 보고하였다. 최근에 Singh et al.(2009)는 탈질 미생물에 의한 RDX 환원 및 분해를 보고하였다. Boopathy et al.(1998)도 황산염 환원상태에서의 TNT 제거를 보고한 바 있다. 따라서 실험실 규모 침전지에 전분 환을 투입함에 따라 저부에서 미생물의 생화학적 전분 제거에 산소가 소모되면서 탈질 및 황산염 환원조건으로 환경이 변화되었고, 이는 용액 및 퇴적토 내 화약물질 농도에도 큰 영향을 주었다.

3.4. 화약물질 농도 변화

침전조 상부 용액 내 화약물질 RDX의 농도 변화는

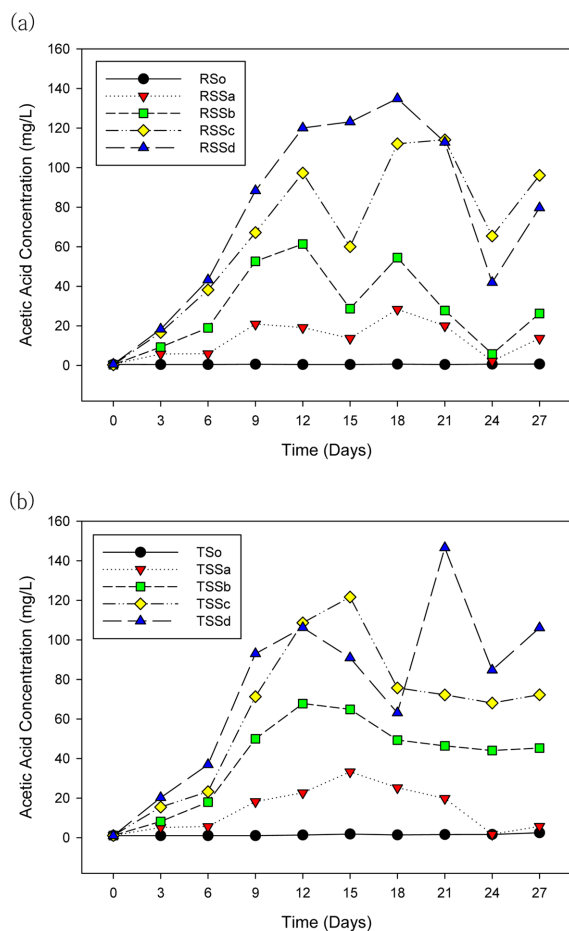


Fig. 7. Changes in acetic acid concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

Fig. 9와 같다. TNT의 경우 초기 오염도가 낮아 용액에서는 검출되지 않았으나, RDX는 오염도가 높아 고체상에서 입상으로 용해 및 확산되어 용액에서 지속적으로 검출되었다. 대조군에서는 실험 초기 RDX 농도는 0.48 mg/L에서 서서히 증가하여 9일에는 최고 1.44 mg/L이 검출되었고, 그 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 반면 전분 환을 투여한 경우, 초기농도 약 0.5 mg/L에서 3일까지는 증가하였으나, 전분 환이 용해되어 미생물 활성이 증가함에 따라 급격히 감소하여 9~15일 이후에는 검출되지 않았다. 그러나 전분 환을 넣지 않은 대조군에서는 실험 27일 후에도 용액의 RDX 농도가 1.0 mg/L 이상 높게 검출되어, 전분 환에 의한 토착미생물군 활성증진 및 화학물질 제거 효과가 확인되었다.

최종 실험이 완료된 후, 침전지 퇴적도를 채취하여 화학물질 농도를 분석한 결과는 Fig. 10과 같다. 전분 환을 넣지 않은 경우, 초기 RDX농도 44.48 mg/kg에서 1.54

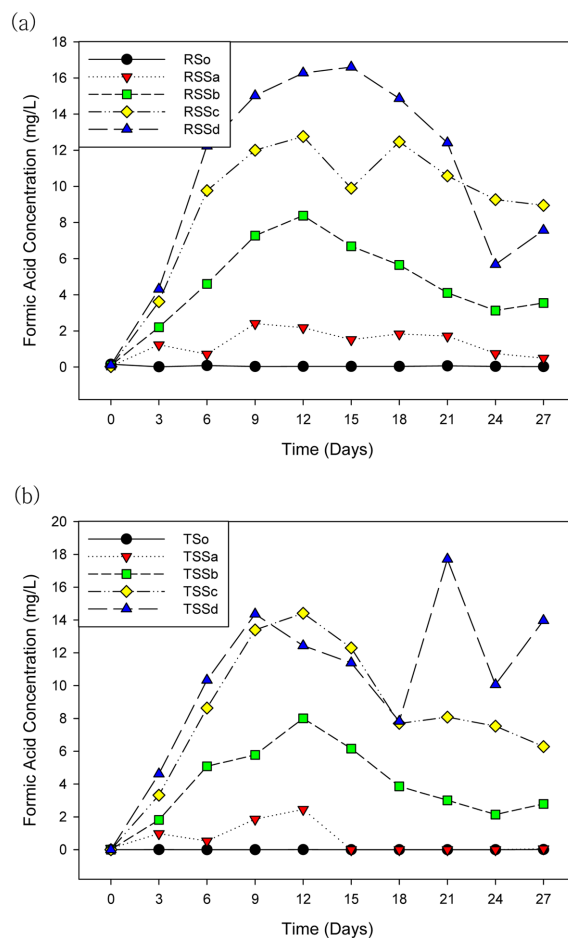


Fig. 8. Changes in formic acid concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

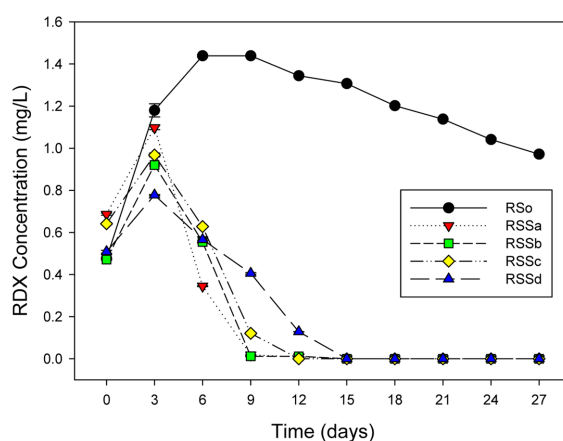
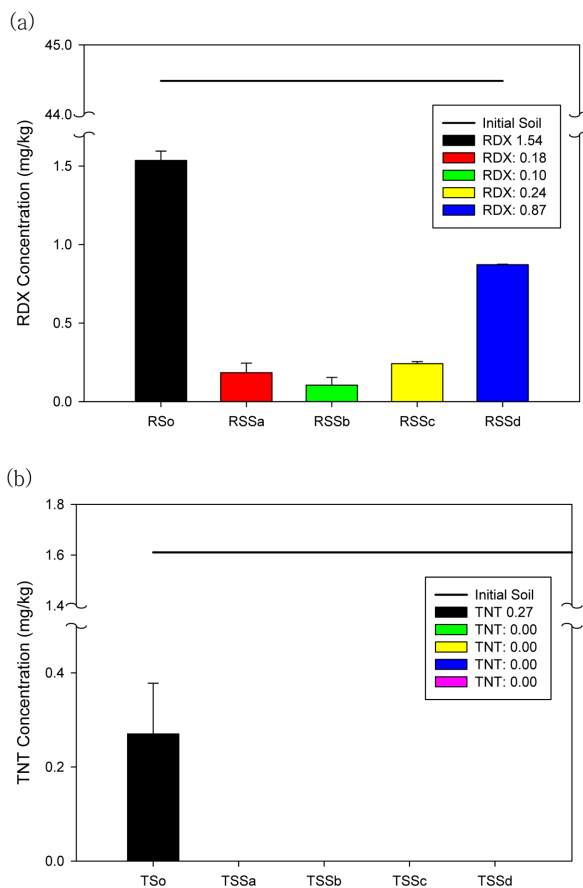


Fig. 9. Changes in RDX concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin.

mg/kg이 잔류하였으나, 전분 환을 넣은 경우에는 각각 0.10~0.18 mg/kg만이 잔류하였다. TNT의 경우에는 초기

Table 3. Calculation of mass balance of explosive compounds

Designation	Initial (mg)	Remaining after 27 days(mg)			Removal(%)
		In liquid	In solid	Total	
RSo	66.72	27.16	2.31	29.47	55.8
RSSa		0	0.27	0.27	99.6
RSSb		0	0.15	0.15	99.8
RSSc		0	0.36	0.36	99.5
RSSd		0	1.31	1.31	98.0
TSo	2.42	0	1.05	1.05	56.6
TSSa		0	0	0	100
TSSb		0	0	0	100
TSSc		0	0	0	100
TSSd		0	0	0	100

**Fig. 10.** Concentration of explosive compounds in the soil at the end of the experiment.

TNT 농도가 1.61 mg/kg으로 낮았음에도 불구하고 전분 환을 넣지 않은 경우에는 0.27 mg/kg이 잔류하였고, 전분 환을 넣은 퇴적토에서 모두 불검출되었다. 이에 화약물질 초기 및 최종농도에 대한 물질수지를 바탕으로 총제거율을 산정하면 다음의 Table 3과 같다. TNT 오염토에서

전분 환 첨가시 제거율은 100%이고, 대조군에서는 56.6%의 제거율을 보였다. RDX 오염토에서 전분환을 첨가하지 않은 자연적 상태에서는 27일 후 55.8%만 제거되었으나, 전분 환 첨가 시 최고 99.8% 제거되었으며, 전분/토양 비가 0.009~0.017 사이에서 가장 높은 제거율을 보였다.

3.5. 유출수 COD 및 독성

전분 환이 유기산으로 분해되지만 일부는 완전히 산화되지 않았기에 수계로 유출된다면 하천의 DO를 소모하여 하천환경을 악화시킬 것이다. 이에 유출수 COD를 분석한 결과는 Fig. 11과 같다. 투입한 전분 환의 숫자가 많을수록 유출수 COD는 증가하는 경향을 보였으며, RDX 및 TNT 침전조에서 각각 최고 362.7 mg/L 및 464 mg/L이었다. 침전조 운전 18일까지 증가하다가 이후에는 소폭 감소하는 추세로 전환되었다. 그러나 전분/토양 비가 0.009인 RSSa 및 TSSa 침전조에서는 COD가 투입한 토양에서 자연적으로 발생하는 COD보다 오차범위 내에서 소폭 높은 값을 보이고 있어, 전분환 비율을 최적화한다면 유출수 COD 문제는 해결할 수 있을 것이라 사료된다.

전분 환을 투여하여 화약물질의 농도감소가 확인되었으나, 일부 화약물질은 분해시 생물학적/무생물학적 반응에 의해 독성이 강한 부산물이 생성되거나, 투입 전분에 의해 독성이 발생할 수 있다(Funk et al., 1993, Davis et al., 2004). 이에 Fig. 12와 같이 침전조 액상의 급성독성을 측정하였다. 대조군 액상시료에서 RDX 및 TNT 침전조 모두 급성독성의 증가가 관측되지 않은 반면, 전분 환을 투입한 경우에는 시간이 경과함에 따라 투입량이 증가할수록 약 50%까지 발광저해도가 증가하다가 20일 경부터 서서히 감소하였다. 전분 환 투여량이 낮은 RSSa 및 TSSa에서는 대조군과 유사한 경향을 보이지만, 그 이외에

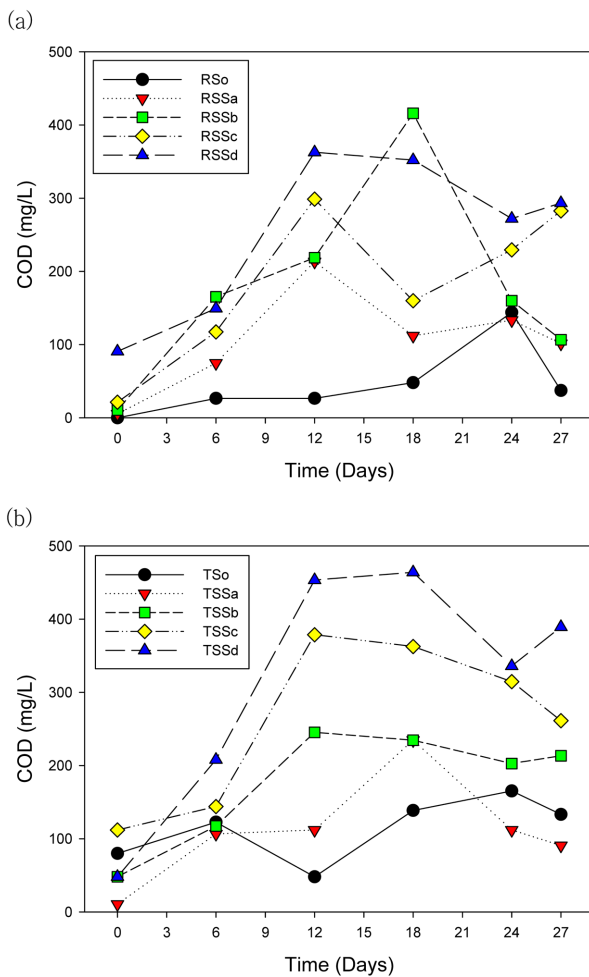


Fig. 11. Changes in COD concentration of the liquid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

는 30% 정도의 발광저해도를 보이고 있으며, 급성독성 변화추이는 유기산 농도 변화 경향과 유사하였다. Davis et al.(2004)은 전분 투입으로 발생하는 acetic acid가 Microtox에 의한 급성독성에 영향을 주지 않는다고 하였으나, 이온크로마토그래프 분석에서 acetic acid외에 독성이 강한 formic acid도 형성되었다. 이에 Fig. 13과 같이 acetic 및 formic acid에 의한 발광독성을 측정된 결과, 급성독성으로 측정할 경우, 두 유기산 모두 독성이 있는 것으로 확인되었다. 반응조 액상 내 acetic acid 농도가 130 mg/L 이상, formic acid 농도가 14.5 mg/L 검출된 RSSd 침전조 18일 시료(Fig. 7a)의 액상 발광저해도는 약 54%(Fig. 12a)이며, 이 유기산 농도를 acetic acid와 formic acid 표준용액 발광저해도 상관식으로 산정하면 각각 43% 및 29%의 발광저해도를 나타낸다. 만약 두 유기

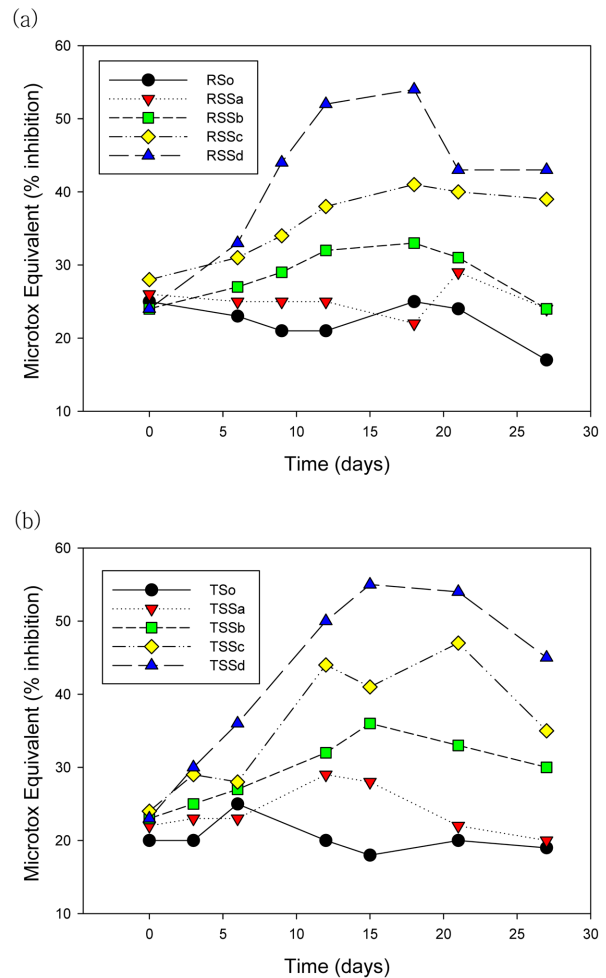


Fig. 12. Changes in acute toxicity of the liquid phase of the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

산에 의한 발광저해가 상가적이라고 하면, 총 72%의 발광저해가 일어나고, 상감적이라면 이보다 발광저해가 낮게 나타날 것이다. 따라서 액상 시료에서 검출된 급성독성은 화학물질 전환산물에 의한 것이 아닌, 전분 분해시 발생하는 유기산에 기인한 것이라 할 수 있다.

실험실 규모 침전지 퇴적토의 급성독성 분석결과는 Fig. 14와 같다. RDX에 대한 급성독성은 전분 환을 투입하지 않은 경우는 초기 토양 17.3%에 비해 12%로 급성독성이 감소하였으나, 전분 환을 투입한 경우에는 RSSa에서 RSSd까지 각각 21, 29, 27 및 25%로 조금씩 증가하였다. TNT 침전조에서는 초기토양 13%에 비해 대조군 15%로, TSSa에서 TSSd까지는 각각 25, 24, 25 및 28%로 역시 조금씩 증가하고 있다. 그러나 액상시료와 같이 고독성을 나타내는 50% 정도의 급성독성을 보이지는

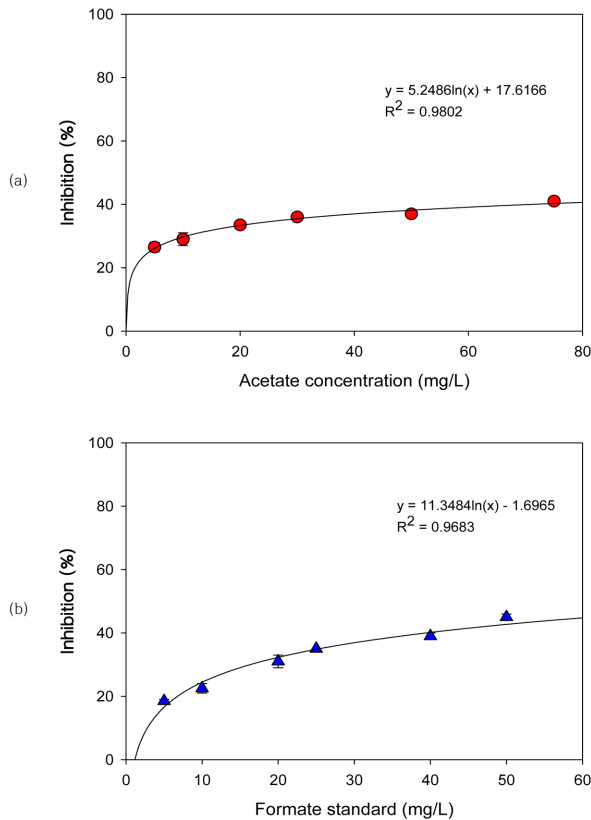


Fig. 13. Acute toxicity of noble compound (a) acetate and (b) formate.

않았다.

이상의 결과에서와 같이, 전분 환을 다량으로 투입할 경우에는 전분의 산발효 분해로 생성되는 독성 유기산과 화약물질 분해산물로 인하여 독성이 증가할 가능성이 있다. 따라서 독성이 크게 증가하지 않는 범위인 전분/토양 무게비 0.009~0.017 비율에서 첨가하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났다.

4. 결 론

이상에서와 같이 실험실 규모 침전지를 이용하여 화약물질로 오염된 토양이 침전하였을 때, 전분 환 투입이 화약물질제거율에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과 전분 환을 투입할 경우, 토착미생물의 활성을 증가시켜 RDX 및 TNT 분해가 증진되었다. 이에 따라 전분 환 투입 15 일 이후 액상 내 RDX는 완전히 제거되었다. 용액 COD, pH, DO, 아질산이온, 질산이온, 황산이온 등의 종합적 분석을 통하여 산 발효, 황산염 환원, 탈질 작용 등과 같이 다양한 방법으로 토착미생물이 활성화되는 것을 확인하였다. 발광미생물을 이용한 독성분석 결과, 처리용액 및 퇴

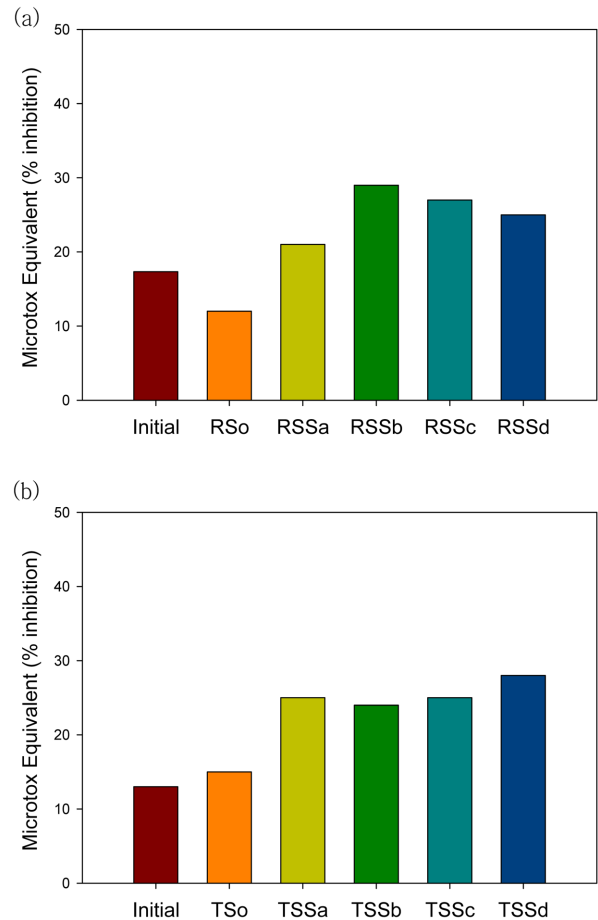


Fig. 14. Comparison of acute toxicity of the solid phase in the bench top scale sedimentation basin. (a) RDX contaminated soil and (b) TNT contaminated soil.

적토에 대한 독성을 증가시키지 않으면서 화약물질 분해를 증진할 수 있는 최적의 전분/오염토양 무게비율은 0.009~0.017인 것이 확인되었다. 최적의 조건에서 전분 환을 사용할 경우, RDX 제거율은 1.79배 증가하였고 TNT 제거율은 1.77배 증가하였다. 화약물질로 오염된 토양, 지하수, 퇴적토 및 수계는 대부분 군 사격장, 화약물질 생산 공장, 혹은 탄약저장소 등과 같은 군사관련시설 인근에 위치한다. 대부분의 군사시설이 외딴 곳에 위치하고 있으므로, 화약물질 오염을 제거하기 위한 시설의 설치와 유지관리가 매우 어렵다. 그러므로 외부탄소원 주입으로 토착미생물의 활성화를 이용하는 공대사 방법은 자연적이고 친환경적인 녹색기술로, 유지관리가 간편하며 현장조건에 최적화된 방법이라 할 수 있다.

현재 전분 환 살포에 의한 화약물질 제거방법이 실험실 조건과는 상이한 현장조건에서 작용하는지 여부와, 현장 적용시 발생할 수 있는 전분 환의 보관성, 주변 생물에

의한 섭식 등과 같은 제반 문제를 확인하기 위한 현장실증 실험을 진행하고 있다.

사 사

본 연구는 환경부 환경산업기술원 GAIA Project No.173-111-036 지원으로 수행되었습니다.

References

- Adrian, N.R., Arnett, C.M., and Hickey, R.F., 2003, Stimulating the anaerobic biodegradation of explosives by the addition of hydrogen or electron donors that produce hydrogen, *Wat. Res.*, **37**, 3499-3507.
- Arnett, C.M. and Adran, N.R., 2009, Cosubstrate independent mineralization of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) by a *Desulfovibrio* species under anaerobic conditions, *Biodegradation*, **20**, 15-26.
- American Public Health Association, 1995, Standard Methods, 19th ed.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2011, <http://www.atsdr.cdc.gov/spl/>
- Bae, B. and Park, J., 2014, Distribution and migration characteristics of explosive compounds in soil at military shooting ranges in Gyeonggi province, *J. Kor. Geo-Environ. Soc.*, **15**(6), 17-29.
- Beller, H.R., 2002, Anaerobic biotransformation of RDX (hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine) by aquifer bacteria using hydrogen as the sole electron donor, *Wat. Res.*, **36**, 2533-2540.
- Berner, R.A., 1981, A new geochemical classification of sedimentary environments, *J. of Sedi. Petro.*, **51**, 359-365.
- Binks, P.R., Nicklin, S., and Bruce, N.C., 1995, Degradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) by *Stenotrophomonas maltophilia* PB1, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 1318-1322.
- Boopathy, R., 1994, Transformation of nitroaromatic compounds by methanogenic bacterium *Methanococcus* sp. (strain B), *Arch. Microbiol.*, **162**, 131-137.
- Boopathy, R., 2000, Bioremediation of explosives contaminated soil, *Int. Biodeter. Biodegr.*, **46**, 29-36.
- Boopathy, R. and Kulpa, C.F., 1993, Nitroaromatic compounds serve as nitrogen source for *Desulfovibrio* sp. (strain B), *Can. J. Microbiol.*, **42**, 1203-1208.
- Boopathy, R., Gurgas, M., Ullian, J., and Manning, J.F., 1998, Metabolism of explosive compounds by sulfate-reducing bacteria, *Current Microbiology*, **37**(2), 127-131.
- Bradley, P.M. and Chapelle, F.H., 1995, Factors affecting microbial 2,4,6-mineralization in contaminates soil, *Environ. Sci. Technol.*, **29**(3), 802-806.
- Bruns-Nagel, D., Breitung, J., von Low, E., Steinbach, K., Gontzy, T., Kahl, M., Blotevogel, K.-H., and Gemsa, D., 1996, Microbial transformation of 2,4,6-Trinitrotoluene in aerobic soil columns, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2651-2656.
- Bruns-Nagel, D., Scherrer, S., Casper, B., Garn, H., Drzyzge, O., von Low, E., and Gemsa, D., 1999, Effect of 2,4,6-trinitrotoluene and its metabolites on human monocytes, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2566-2570.
- Coleman, N.V., Nelson, D.R., and Duxbury T., 1998, Aerobic biodegradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) as a nitrogen source by a *Rhodococcus* sp., strain DN22, *Soil. Biol. Biochem.*, **30**, 1159-1167.
- Davis, L., Wani, A.H., O'Neal, B.R., and Hansen, L.D., 2004, RDX biodegradation column study: comparison of electron donors for biologically induced reductive transformation in groundwater, *J. Hazard. Mater.*, **B112**, 45-54.
- Freedman, D.L. and Sutherland, K.W., 1998, Biodegradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) under nitrate-reducing conditions, *Water Sci. Technol.*, **38**(7), 33-40.
- Funk S.B., Roberts, D.J., Crawford, D.L., and Crawford, R.L., 1993, Initial phase optimization for bioremediation of munition compound contaminated soils, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2171-2177.
- Han, G.B. and Clarkson, W.W., 1996, Removal of TNT and biotransformation products under sequential anaerobic/denitrifying conditions, *Environ. Eng. Res.*, **1**(1), 73-79.
- Lewis, T.A., Goszczynski, Crawford, R.L., Korus, R.A., and Admassu, W., 1996, Products of anaerobic 2,4,6-trinitrotoluene(TNT) transformation by *Clostridium bifermentans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 4669-4674.
- Livemore, J.A., Jin, Y.O., Arnseth, R.W., LePuil, M., and Mattes, T.E., 2013, Microbial community dynamics during acetate biostimulation of RDX-contaminated groundwater, *Environ. Sci. Technol.*, **47**, 7672-7678.
- Hawari, J., Beaudet, S., Halasz, A., Thiboutot, S., and Ampleman, G., 2000, Microbial degradation of explosives: biotransformation versus mineralization, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 605-618.
- Manning, J.F., Boopathy, R., and Kulpa, C.F., 1994, A Laboratory Study in Support of the Pilot Demonstration of a Biological Soil Slurry Reactor, Argonne National Laboratory, SFIM-AEC-TS-CR-9408.
- McCormick, N.G., Feeherry, F.E., and Levinson, H.S., 1976, Microbial transformation of 2,4,6-trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds, *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 949-958.

- McCormick, N.G., Cornell, J.H., and Kaplan, A.M., 1981, Biodegradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine, *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 817-823.
- Ministry of Defense, 2002, Remedial Investigation and Counter Measure for Contaminants Spread in the Military Shooting Range.
- Muter, O., Potapova, K., Limane, B., Sproge, K., Jakobsone, I., Cepurnieks, G., and Bartkevics, V., 2012, The role of nutrients in the biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene in liquid and soil, *J. Environ. Manage.*, **98**, 51-55.
- Pallazo, A.J. and Leggett D.C., 1986, Effect and Disposition of TNT in a terrestrial plant, *J. Environ. Qual.*, **15**, 49-52.
- Park, S.H., Bae, B., Kim, M., and Jang, Y.Y., 2008, Distribution and behavior of mixed contaminants, explosives and heavy metals, at a small scale military shooting range, *J. KSWQ*, **24**(5), 523-532.
- Peters, G.T., Burton, D.T., Paulson, R.L., and Turley, S.D., 2009, The acute and chronic toxicity of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) to three freshwater invertebrates, *Environ. Tox. Chem.*, **10**(8), 1073-1081.
- Schackmann, A. and Muller, R., 1991, Reduction of nitroaromatic compounds by different *Pseudomonas* species under aerobic conditions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 809-813.
- Sherburne, L.A., Shrout, J.D., and Alvarez, P.J.J., 2005, Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) degradation by *Acetobacterium paludosum*, *Biodegradation*, **16**, 539-547.
- Singh, R., Soni, P., Kumar, P., Purohit, S., and Singh, A., 2009, Biodegradation of high explosive production effluent containing RDX and HMX by denitrifying bacteria, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 269-275.
- Talmage, S.S., Opresko, D.M., Maxwell, C.J., Welsh, C.J.E., Cretella, F.M., Reno, P.H., and Daniel, B.F., 1999, Nitroaromatic munition compounds: environmental effects and screening values, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **161**, 1-156.
- US EPA, 2007, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, SW-846.
- US EPA, 2012, 2012 Edition of the drinking water standards and health advisories, EPA 822-R-09-011. Office of Water, Washington, DC, USA, 6-7.
- Zhao, J.-S., Greer, C.W., Thiboutot, S., Ampleman, G., and Hawari, J., 2004, Biodegradation of the nitramine explosives hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine in cold marine sediment under anaerobic and oligotrophic conditions, *Can. J. Microbiol.*, **50**, 91-96.