

특강 III.

Electron Donor와 Electron Acceptor의 농도가 사염화탄소의
생물분해에 미치는 영향

배 우 근

국립환경연구원

Effects of Electron Donor and Electron Acceptor on
Biodegradation of CCl_4

Wookeun Bae

National Institute of Environmental Research

Abstract

Biodegradation of carbon tetrachloride (CTC) in denitrifying and aerobic columns was investigated under various conditions of electron-acceptor and electron-donor availability. CTC removal increased when the electron-acceptor (nitrate) injection was stopped in the denitrifying column; however, CTC removal decreased when electron donor (acetate) was deleted in the denitrifying and the aerobic column. Small fractions of the CTC removed appeared as chloroform, indicating that reductive dechlorination of CTC was occurring. The results from the denitrifying column support the hypothesis that CTC behaves as an electron acceptor that competes for the pool of available electrons inside the bacterial cells.

Electron Donor와 Electron Acceptor의 농도가 사염화탄소의 생물분해에 미치는 영향

서 언

사염화탄소의 생물학적 분해가 혐기성 상태(Bouwer와 McCarty, 1983a) 또는 무산소(anoxic)상태(Bouwer와 McCarty, 1983b ; Bae 등, 1990)에서 관찰된 바 있다. 사염화탄소의 생물분해와 함께 클로로폼이 생성되었는데(Bouwer와 McCarty, 1983b) 이는 사염화탄소가 환원분해될 수 있음을 보여 주는 것이다.

환원반응은 전자의 공급을 필요로 하므로 사염화탄소의 생물학적 환원분해에도 전자 공급원(electron donor)이 필요할 것이다. 뿐만 아니라 사염화탄소의 환원반응은 생물체 내에서 전자를 소비하는 다른 반응들과 전자를 얻기 위해 경쟁하게 될 것이다. 생물체에서 전자를 주로 소비하는 반응은 호흡이며, 이때 전자를 소비하는 물질은 미생물의 종류에 따라 O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 등으로 나뉘는데 이들을 electron acceptor라 부른다. 그러므로 사염화탄소의 환원분해시 electron donor와 electron acceptor의 농도가 반응속도에 직접적으로 영향을 미칠 것으로 예견된다.

본 연구는 탈질(denitrifying) 또는 호기성 미생물에 의한 사염화탄소의 분해에 electron donor와 electron acceptor가 어떻게 영향을 미치는지를 실험을 통해 보이고자 한다.

실험장치 및 방법

아래 그림 1에서 보인 바와 같은 소규모 유리관 반응기를 사용하여 실험하였다. 반응기는 직경 3mm의 유리구슬로 채워져 있어 미생물이 생물막(biofilm)형태로 존재할 수 있게 하였다. Electron donor와 electron acceptor의 주입이 별도로 이루어질 수 있게 하였는데 electron donor로는 acetate(CH_3COO^-)를 사용하였고 electron acceptor로는 NO_3^- 또는 H_2O_2 를 썼다.

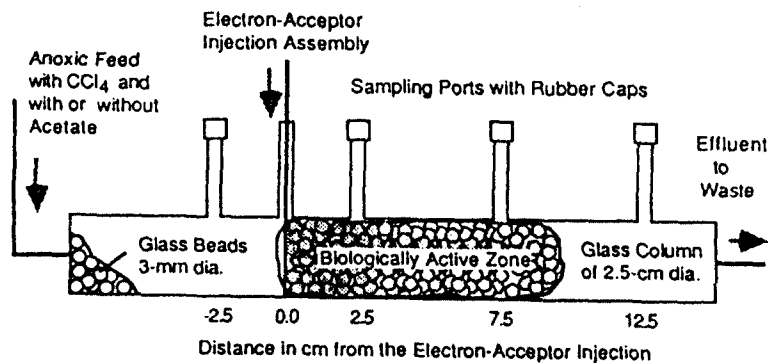


Figure 1. Schematic of the Biofilm Reactor Used to Create a Biologically Active Zone.

반응기 내에 생물막형태의 미생물활성대가 형성된 다음 사염화탄소를 기질에 녹여 유입시켰다. 미생물이 사염화탄소에 충분히 적응되었을 때 다음 3가지의 운전상태에서 사염화탄소의 제거율을 측정하였다. 즉 electron donor와 electron acceptor가 정상시와 같이 주입되는 정상상태(normal), electron donor의 공급을 중단한 경우(no acetate), 그리고 electron acceptor의 주입을 중단한 경우(no nitrate 혹은 no H₂O₂)에 대해 각각 실험을 수행하였다.

시료는 그림 1의 시료채취공(sampling ports)으로부터 주사기를 이용하여 채취하였으며 채취된 시료는 dodecane으로 추출한 후 ECD가 장착된 G.C.로 사염화탄소의 농도를 측정하였다.

실험결과 및 고찰

그림 2는 탈질 반응기에 사염화탄소를 18.6±8.7 µg/l의 농도로 유입시켜 얻은 결과이다. 그림은 2가지의 뚜렷한 경향을 보이고 있다. 첫째, electron acceptor(nitrate)를 제거한 경우(26일자 및 70일자 실험) 사염화탄소의 제거율이 정상상태(12일자 및 23일자 실험)에 비해 크게 향상되었다. 이 결과는 사염화탄소가 전

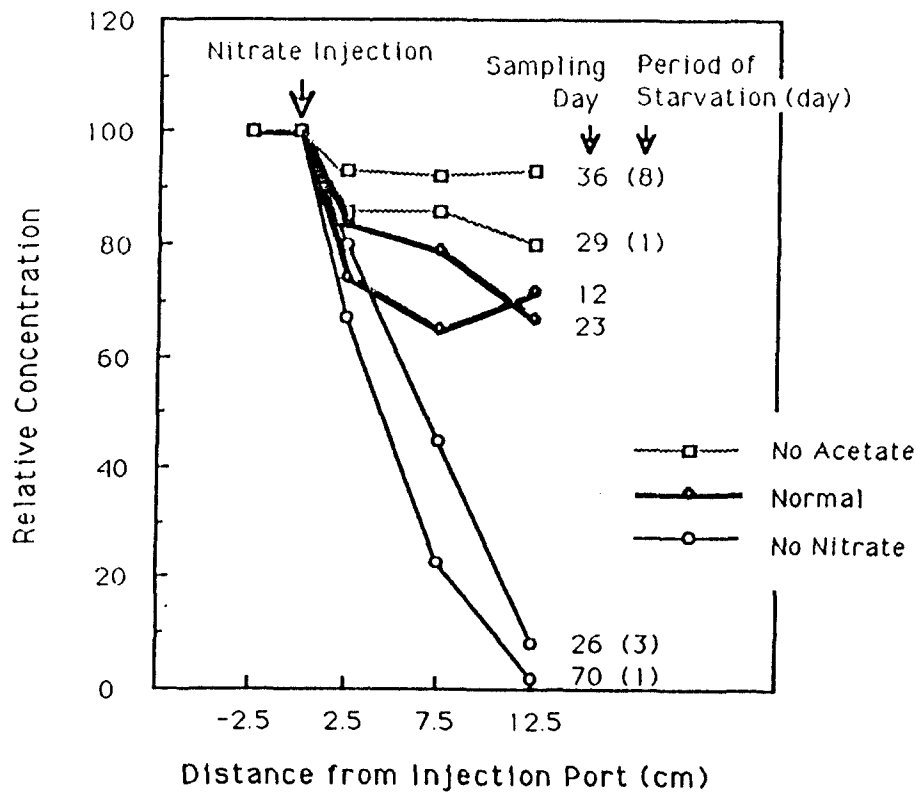


Figure 2. CCl₄ Removals with Low Input Concentrations (18.6±8.7 µg/l) in the Denitrification Column at Different Operating Conditions.

자를 소비하면서 nitrate와 전자획득을 위해 경쟁하고 있음을 시사한다. 사염화탄소의 제거와 함께 소량의 클로로폼이 생산되었는데 이것은 사염화탄소가 환원 분해됨을 입증하는 결과이다. 두번째 경향은 electron donor(acetate)를 제거했을 때(29일자 및 36일자 실험) 사염화탄소의 제거율이 정상상태에 비해 저하한 것이다. 이 결과는 사염화탄소의 분해시 전자를 필요로 하고 있음을 보이는 것이다. 특이한 것은 29일자 및 36일자 실험에서 acetate의 주입이 중단되었는데도 불구하고 사염화탄소가 어느 정도 제거되고 있는 사실이다. 미생물은 외부로부터의 유기물 공급이 없을 때 체내에 축적해 두었던 유기물을 조금씩 사용하므로써 생명을 유지하는 기능을 가지고 있는데, 이 실험에서도 미생물 체내의 유기물이 electron donor로 사용되고 있음을 추정할 수 있다. 체내에 축적된 유기물은 굶주림(starvation)이 지속됨에 따라 점차 소진되는데 실험결과에서도 외부의 유기물 공급중단이 오래감에 따라 사염화탄소의 제거율이 더욱 감소하는 경향을 보여 사염화탄소의 분해작용이 electron donor의 공급을 필요로함을 확인해 주고 있다.

유입 사염화탄소의 농도를 $737 \pm 128 \mu\text{g/l}$ 로 증가시켜 실험한 결과도 그림 1과 같은 경향을 나타내었다(data not shown). 즉 electron acceptor의 주입이 없을 때 사염화탄소의 제거율이 증가하고 electron donor의 공급이 없을 때 제거율은 감소하였다. 역시 소량의 클로로폼이 생산되었다.

Electron acceptor로 H_2O_2 를 주입한 호기성 박테리아의 실험결과(그림 3)는 그림 1과 다소 다른 경향을 보이고 있다. 즉, electron acceptor를 제거한 경우에도 사염화탄소의 제거율은 정상상태에 비해 증가하지 않았다. Electron donor를 제거했을 때는 초기에는 제거율에 별변화가 없다가 starvation이 오래 지속되었을 때 비로소 제거율이 감소되었다. 이 실험에서도 여전히 소량의 클로로폼이 생산되므로써 사염화탄소의 환원분해가 호기성 상태에서도 진행될 수 있음을 보여 주었다.

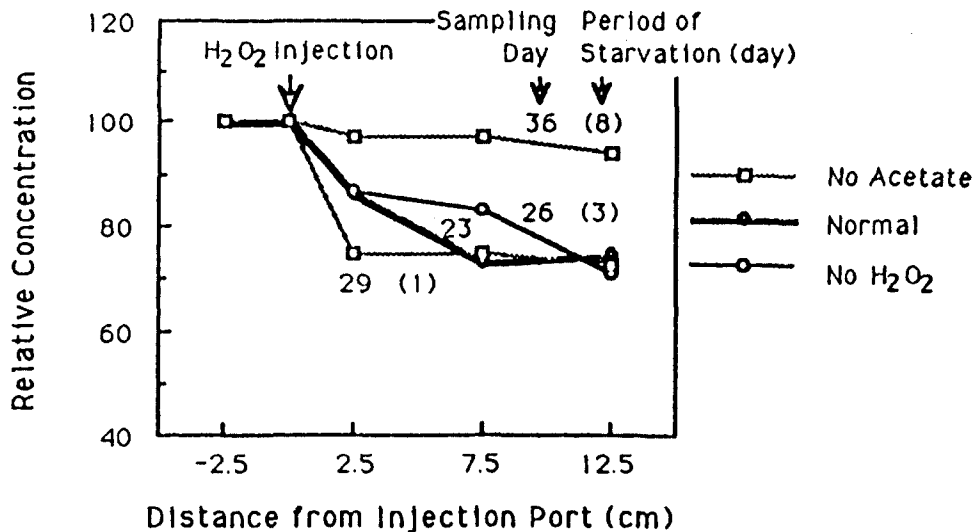


Figure 3. CCl_4 Removals with Low Input Concentrations ($18.6 \pm 8.7 \mu\text{g/l}$) in the Aerobic Column at Different Operating Conditions.

Castro 등(1985)의 vitro 실험에서 사염화탄소가 P-450 효소에 의해 클로로폼으로 환원분해된 바 있다. 이들의 실험에서는 세포 내의 electron carrier인 NADH (nicotinamide adenine dinucleotide-reduced form)가 electron donor로 공급되었다. 세포 내의 NADH는 외부 electron donor의 공급이 많거나 electron acceptor의 공급이 적을 때 그 농도가 높아진다. 그러므로 그림 2에서 사염화탄소의 제거율이 electron acceptor의 주입을 중단했을 때 높아진 것은 이때 세포 내의 NADH 농도가 높아졌기 때문으로, 또 electron donor의 공급이 없을 때 사염화탄소 제거율이 낮아진 것은 이때 NADH 농도가 낮아졌기 때문일 것으로 보인다. 한편 호기성 미생물에 의한 실험(그림 3)에서 사염화탄소의 제거율이 electron acceptor의 농도에 영향을 받지 않는 것은 호기성 세포 내의 사염화탄소 분해효소가 저농도의 NADH에 의해 포화되었기 때문일 가능성이 있다. 이 가능성을 확인하기 위해서는 향후 더 많은 연구가 필요하다.

요 약

탈질 박테리아를 이용한 사염화탄소의 분해 실험에서 electron donor의 공급이 중단 되면 사염화탄소의 제거율이 낮아지고, 반면 electron acceptor의 주입이 중단되면 제거율이 높아졌다. 사염화탄소의 제거시 클로로폼이 생산되어 사염화탄소가 환원되고 있음을 보여 주었다. 이 결과는 사염화탄소가 일종의 electron acceptor로 작용하면서 전자를 얻기 위해 세포 내의 다른 electron acceptor와 경쟁한다는 가설을 뒷받침 한다.

호기성 박테리아에 의해서도 실험조건하에서 상당량(25~30%)의 사염화탄소가 제거되었다. Electron donor 공급이 장시간 중단되었을 때 역시 사염화탄소의 제거율이 저하하였으나 electron acceptor의 공급중단에는 영향을 받지 않았다. 그러나 사염화탄소의 제거와 함께 클로로폼이 형성되므로써 사염화탄소의 환원분해가 호기성 상태에서도 진행될 수 있음을 보여 주었다.

참고문헌

- Bae, W., Odencrantz, J.E., Rittmann, B.E., and Valocchi, A.J., 1990. Transformation Kinetics of Trace-Level Halogenated Organic Contaminants in a Biologically Active Zone (BAZ) Induced by Nitrate Injection. J. Contaminant Hydrology, 6:53-68.
- Bouwer, E.J. and McCarty, P.L., 1983a. Transformations of 1- and 2-Carbon Halogenated Aliphatic Organic Compounds Under Methanogenic Conditions. Appl. Environ. Microbiol., 45:1286-1294.
- Bouwer, E.J. and McCarty, P.L., 1983b. Transformation of Halogenated Organic Compounds Under Denitrification Conditions. Appl. Environ. Microbiol., 45:1295-1299.
- Castro, C.E., Wade, R.S., and Belser, N.O., 1985. Biodehalogenation : Reactions of Cytochrome P-450 with Polyhalomethanes. Biochemistry, 24:204-210.