

## 비이온계 계면활성제가 미생물의 디젤 분해에 미치는 영향

### Effects of the Presence of Nonionic surfactants on Diesel Biodegradation

이효삼 · 정기형 · 김정락 · 이기세

명지대학교 환경 · 생물공학과

전화 (0335) 330-6392, FAX (0335) 337-2902

The effects of the presence of commercial non-ionic surfactants on the cell growth and diesel degradation by *Pseudomonas* sp. OSD were studied. Most surfactants inhibited the diesel biodegradation at high concentration(1000mg/l). However, some surfactants showed no inhibition at lower concentrations. Tween 20, Brij 58, Brij 78 were not inhibitory to the diesel biodegradation even at high concentration. These chosen surfactants has relatively high HLB values. There exists complicated relationship for diesel bioremediation between cell hydrophobicity, surfactant HLB, contaminants, an soil.

#### 서론

경유와 같은 NAPLs(Non-aqueous phase liquids)은 지하저장소, 주유소, 군사시설지역 같은 곳에서 유출이 되어 오염이 발생시 용해도가 상대적으로 낮아 수용액상에 용해가 되지 않고 토양내 세공사이에 작은 입자로 존재하거나, 또는 토양입자에 필름을 형성하여 존재하는 가능성이 더욱 커 미생물이 분해를 하기 위하여 접근하기 어려운 경우가 생긴다. 이 경우 수용액상으로의 물질전달이 크게 제한을 받게 된다. 즉, bioavailable가 생물학적 처리과정중에서 제한되는 중요한 요인이 되고, 수용액상으로의 전환이 필요로 하게 된다. 계면활성제는 친수성과 소수성을 가지고 있는 물질로써, NAPLs와 같은 용해도가 낮은 물질을 토양으로부터 탈착 시켜 용해시킬 수 있다. 문헌상에서는 계면활성제를 첨가시 biodegradation이 향상되는 보고도 있고, 반대로 저해가 보고도 있다. 계면활성제를 첨가시 향상이 되는 이유로는 토양에 흡착한 오염물을 micelle을 형성하여 미생물이 이용 가능하도록 용해도를 증가시킬 수 있기 때문이다. 계면활성제를 첨가시 생분해가 저해되는 이유로는 계면활성제가 미생물에게 유해하거나, hydrophobicity가 큰 미생물은 micelle 보다는 흡착오염물에 직접 접촉에 의해서 분해가 되는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 계면활성제의 세척과 bioremediation을 연계하는 공정을 위하여 biodegradation을 비교적 덜 저해하는 계면활성제를 선택하고, 토양내에서 경유의 세척 및 분해율을 실험하였다.

#### 실험방법 및 재료

본 실험에 사용한 균은 *Pseudomonas* sp. OSD이고, LB배지에서 30℃, 150rpm 조건에서 진탕배양 후 지수 성장에 있는 균을 접종하였다. 경유 분해능 실험은 100ml 플라스크에 계면활성제가 포함된 최소배지(NaNO<sub>3</sub> : 0.4g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0.15g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 0.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O

: 0.2g,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  : 0.0005g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : 0.01g/l, pH : 7.0)를 20ml 첨가 후 경유를 3%(v/v) 미생물 배양액을 2%(v/v)를 첨가후 30°C, 150rpm 조건에서 진탕배양 후 1, 2, 3, 5, 7일 후 플라스크안에 있는 잔여 경유의 양을 분석하여 경유 분해능을 관찰하였다. 본 실험에 사용된 계면활성제의 종류는 Tween계열은 20, 40, 60, 80이고, Brij 계열은 30, 35, 56, 58, 78, 98이며, Triton 100, 114를 이용하였다. 경유의 분석방법은 hex산을 주입하여 1분간 서서히 흔든 다음 24시간 동안 정치시킨후 hex산을 추출하여 GC(FID HP 6890 plus/flame ionization detector)를 사용하였다. 토양내에서 경유의 분해능 실험은 토양을 경유로 40000mg/kg으로 오염시킨 후 40ml bial에 오염된 토양 10g, 선택된 계면활성제 3ml와 미생물배양액 0.3%(ml/g)을 주입 후 1, 2, 3, 5, 7일 후 hex산을 첨가후 sonication한 후 토양내에 잔여 경유의 양을 GC로 분석하였다.

### 결과 및 고찰

Tween 계열의 계면활성제가 존재시 경유의 분해능실험 결과를 보면, 계면활성제를 첨가하지 않았을 경우 2일간은 거의 직선적인 분해능이 보이고, 3일째부터 분해능이 거의 일정한 경향을 보여지고 있다. Tween 계열의 계면활성제가 존재시 초기에는 계면활성제의 영향으로 경유제거가 억제되는 것이 관찰이 되고, 시간이 지남에 따라 전체 경유 분해율에 크게 억제가 되지 않는 것이 관찰된다. Tween 20이 존재시 다른 Tween 40, 60, 80과는 다르게 1000mg/l가 존재시에는 크게 영향을 받지 않는 것이 관찰이 된다. 또한 계면활성제가 40mg/l 존재 보다도 200mg/l가 존재시 영향을 덜 받는 것으로 관찰이 되었다. Brij 계열의 계면활성제가 존재시 분해율 실험 결과를 보면, Tween 계열과 마찬가지로 초기에는 분해능이 억제가 되는 것이 관찰이 보여지고, 시간이 지남에 따라 분해능이 억제 받지 않는 것이 관찰이 된다. 이것으로 알 수 있는 것은 OSD 균은 계면활성제가 존재시 초기에는 계면활성제에 영향으로 분해능이 제한을 받다가 시간이 지남에 따라 계면활성제에 적응이 되어 분해율에 크게 영향을 받지 않는 것으로 사료된다. 또한 분해능에 크게 영향을 미치지 않고 선택된 Tween20, Brij 58, Brij 78 계면활성제의 HLB값은 각각 16.7, 15.7, 15.3로 큰 편이다. 계면활성제 존재시 미생물의 biodegradation은 미생물의 hydrophobicity, 계면활성제의 HLB 값과 농도, 오염원 및 토양의 hydrophobicity등 복합적으로 영향을 받는 것으로 사료된다.

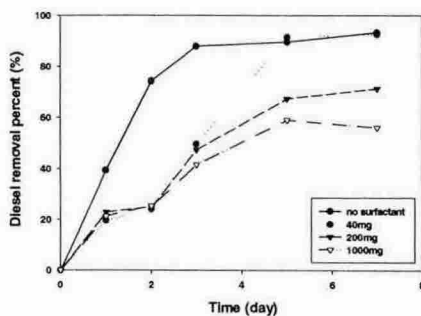


Fig. 1. Diesel biodegradation in the presence of Brij 78

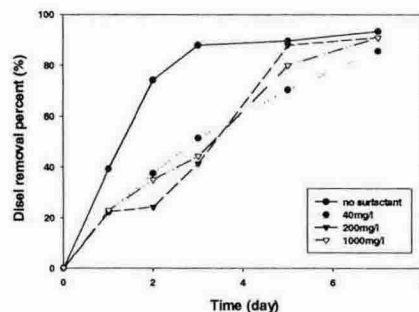


Fig. 2. Diesel biodegradation in the presence of Tween 20