

PAH로 오염된 토양의 미생물 분해 가속화 연구

이효진, 우승한*, 박종문*

(주) 엔비자인

*포항공대 환경공학부/화학공학과

somnus76@postech.ac.kr

Abstracts

Bioremediation of hazardous hydrophobic organic compounds, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), is a major environmental concern due to their toxic and carcinogenic properties. Due to their low solubility in water, the compounds are microbiologically persistent. This work investigates optimal conditions to enhance the biodegradation of phenanthrene in water and soil-slurry systems. Biodegradation tests were performed with three different types of supplements: glucose as a general carbon source, salicylate as an enzyme inducer, and Triton X-100 as a surfactant. The tests indicate that glucose and Triton X-100 were not very effective to increase biodegradation rate, even though the number of microorganisms are highly increased in the case of glucose addition. Salicylate accelerated biodegradation of phenanthrene, but the addition above optimal concentration inhibited microbial growth. Salicylate is considered to be an attractive alternative for the successful bioremediation of PAH-contaminated soil.

key word : PAH, phenanthrene, biodegradation, soil bioremediation, salicylate

1.서론

다환방향족 탄화수소 (PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)는 화석연료의 불완전 연소나, 석유류의 수송, 사용, 처분시의 환경사고 등으로 인해 자연계에 방출된다. 이러한 물질들은 그 유독성과 발암가능성으로 인해 주요 환경오염물질 중 하나로 인식되어 왔다 (참고문헌 1). 이 물질들은 미생물에 의해 완전한 mineralization이 가능한 것으로 밝혀져 있으나, 용해도가 매우 낮아 분해속도가 매우 느린 것으로 알려져 왔다. 이를 해결하기 위해 계면활성제, 추가 탄소원 첨가 등을 적용하기도 한다. 계면활성제의 경우 토양입자로부터의 물질전달과 미생물 분해속도 사이의 균형에 의존하게 되며, 전자가 후자보다 느린 경우 계면활성제 첨가에 따라 전체 분해속도는 증가할 가능성이 있다 (참고문헌 2). 반면, 계면활성제 그 자체의 흡착, 독성 또는 접촉 방해 효과 등에 의해 효과가 없거나 부정적 결과를 보여주는 경우도 많다. 탄소원 첨가의 경우 분해활성 미생물의 수를 증가시키는 역할을 함으로써 분해속도를 증가시킬 수 있다는 가정을 전제로 하고 있다. 이 경우 증가된 미생물이 분해활성을 가지고 있는지의 여부가 관건이 된다. 그렇지 않다면, 오히려 분해 미생물이 이들 미생물과의 경쟁효과에 의해 피해를 받을 가능성이 있다. 특히 PAH의 미생물 분해 효소들을 발현시키는 유전자는 미생물의 1차대사와는 직접적 관계가 없다. 특히 첫 번째 분해 단계인 dioxygenase의 효소반응이 가장 중요한 단계이므로 이러한 분해기작을 충분히 조사

하고 이를 발현시키기 위한 방법을 찾는 것이 필수적이다. 본 연구에서는 대표적 일반 탄소원인 포도당과 계면활성제인 Triton X-100, 효소유도 물질인 살리실산을 대상으로 액상과 토양슬러리에서 분해에 관해 보고하고자 한다.

2. 본론

2.1 실험방법

실험에 사용된 미생물은 phenanthrene 분해 미생물로 분리된 혼합 미생물을 사용하였고, 미생물 분리, 배양방법, 토양의 특성, 분석방법은 참고문헌 3에 자세하게 기술하였다. 액상처리에서는 phenanthrene 농도를 증가시키기 위해 Triton X-100 1%의 배지용액에 다양한 농도의 phenanthrene을 완전 용해시킨 50mL를 삼각플라스크내에 준비하여 150rpm에서 실험하였다. 토양 슬러리 처리에서는 phenanthrene을 100~10000mg/kg으로 오염시킨 균일한 실트형 토양 1~9g을 배지용액 50mL와 혼합하여 마찬가지로 배양하였다. 토양 슬러리의 경우 필요한 경우만 Triton X-100을 첨가하였다. 액상처리에서는 포도당과 살리실산 각각 또는 혼합첨가에 따른 영향을 조사하였고, 토양 처리에서는 살리실산, Triton X-100 첨가 및 phenanthrene 농도, 토양 함량에 따른 영향을 조사하였다. 이때 각 시료의 시간별 미생물 성장정도와 phenanthrene 농도를 분석하여 결과를 비교하였다.

2.2 결과 및 고찰

그림 1에서 보는 바와 같이 일반 탄소원으로 포도당을 100, 500, 2000mg/kg을 첨가할 경우 농도가 증가할수록 미생물 수는 비례하여 증가한다. 탄소원 농도 증가에 따라 phenanthrene 분해율도 약간 증가하여, 2000mg/kg 첨가의 경우 223 시간 후 22% 분해되었다. 이러한 분해율 증가는 초기의 미생물 성장단계에서 이루어진 후 거의 증가하지 않고 있는데, 이는 미생물 균체 증가에 따른 미생물 표면 흡착 증가와 같은 단순 mass 효과인 것으로 보여진다.

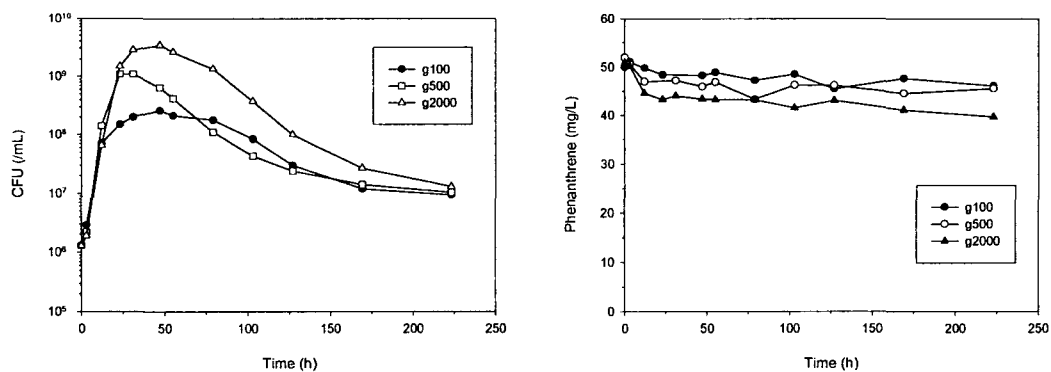


그림 1. 포도당 첨가에 따른 미생물 성장과 phenanthrene 분해.

그림 2에서는 살리실산의 첨가량에 따른 분해효과를 보였다. 살리실산을 0~200mg/kg으로 첨가량을 증가시킬 경우 분해효율은 급격하게 증가하였으나, 500mg/kg 이상일 경우 저해를 받는 것으로 보이고, 1000mg/kg에서 미생물은 살리실산의 독성으로 인해 대부분 사멸하는 결과를 얻었다. 살리실산 200mg/kg을 첨가할 경우 214시간 경과 후 80.8%의 phenanthrene이 분해되는 결과를 얻었다. 살리실산은 phenanthrene 분해 단계중 두 번째 효소반응군의

생성물로 첫 단계 oxygenase 효소 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다 (참고문헌 4). 따라서, 살리실산의 첨가에 따라 미생물 수의 증가뿐만 아니라 그 미생물의 효소 발현 기능을 촉진하여 phenanthrene 분해를 가속화한 것으로 추정된다.

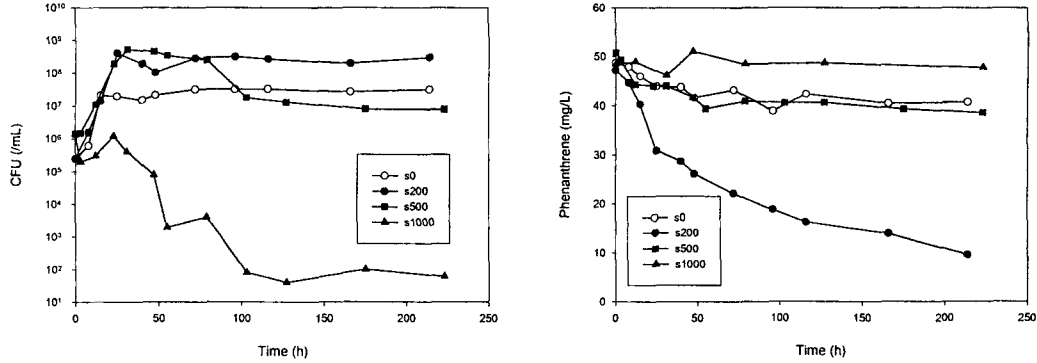


그림 2. 살리실산 첨가에 따른 미생물 성장과 phenanthrene 분해

그림 3은 일반 탄소원과 효소발현 유도물질의 혼합첨가에 따른 효율 극대화 가능성을 조사하기 위해 수행된 결과이다. 살리실산만을 200mg/L 첨가한 경우가 살리실산 200mg/L와 포도당 200mg/L를 함께 첨가한 경우에 비해 phenanthrene 분해속도가 높은 것을 확인하였다. 이는 포도당을 첨가함으로써 살리실산이 존재하더라도 오히려 1차대사 기능이 강화된 결과에 기인하는 것으로 보인다. 즉, phenanthrene과 같은 저항성 유해물질의 분해를 위해서는 일반 탄소원의 첨가가 오히려 저해가 될 수 있음을 암시한다.

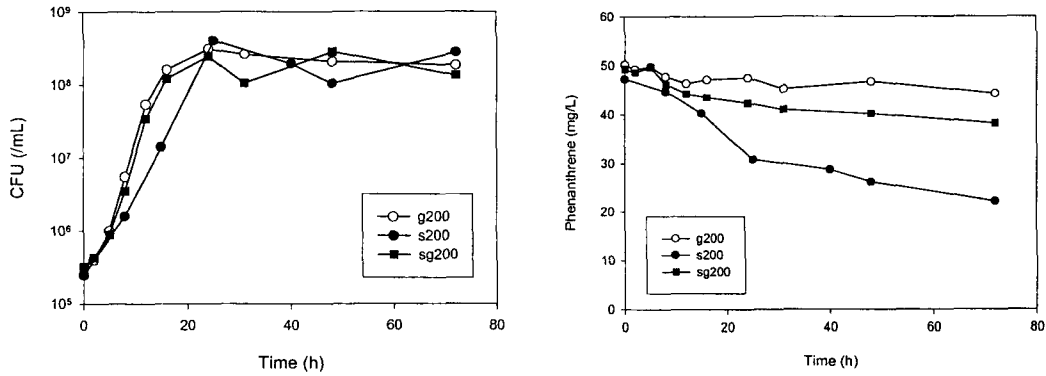


그림 3. 포도당과 살리실산 혼합 첨가에 따른 미생물 성장과 phenanthrene 분해

그림 4는 phenanthrene 1000mg/kg으로 오염된 토양 1g과 배지용액 50mL으로 이루어진 슬러리에서 살리실산 첨가에 따른 영향을 확인해 본 것이다. 살리실산 첨가하지 않은 경우 초기 약 13mg/L slurry의 phenanthrene은 110시간 경과 후 완전히 분해되는 것을 확인하였다. 살리실산 200mg/L를 첨가할 경우 분해 속도는 더욱 증가하여 48시간만에 완전히 분해되었다. 이는 용액처리에서의 분해속도보다 급격하게 증가한 것으로 실토형 토양의 효과로 보이며 이는 미생물 집착에 따른 활성도 증가 및 phenanthrene의 균일한 분산등에 기인한 것으로 보인다. 미생물 수를 자세히 관찰하면 60시간 경과 후 (s0의 경우), 미생물 수가 다시 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이것은 다른 미생물 군이 새롭게 성장하는 시기로서 이

후 phenanthrene의 분해도 계속적으로 진행되는 것을 볼 수 있다.

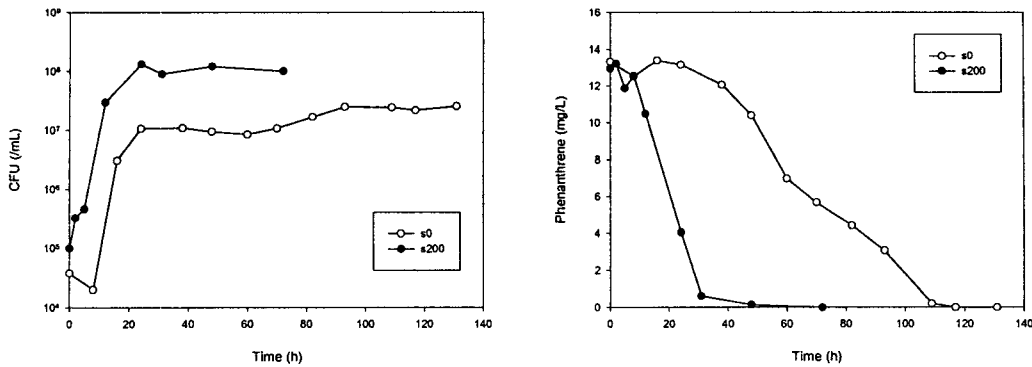


그림 4. 고농도 토양 슬러리에서 살리실산 첨가에 따른 미생물 성장과 phenanthrene 분해

기타 계면활성제 첨가의 영향을 조사한 결과 분해효율 증가 효과는 거의 없는 것으로 확인되었다. phenanthrene 농도와 토양의 함량을 증가시킬 경우 상대적으로 적응기간이 길어졌으나, 최고 분해속도는 더욱 증가하는 결과를 얻었다.

3. 결론

유해 오염물질의 하나로 다환방향족 탄화수소군 중 phenanthrene을 대상으로 분해 혼합미생물을 사용하여 처리효율 극대화 실험을 수행하였다. 일반 탄소원으로서의 포도당 첨가 시 큰 분해효율 증가효과를 발견할 수 없었으나, phenanthrene 분해의 결정적 역할을 수행하는 초기 효소반응 단계의 효소 발현을 유도하는 물질인 살리실산의 첨가시 분해효율이 급격하게 증가하는 것을 확인하였다. 이는 계면활성제가 투여된 용액상뿐만 아니라 토양 슬러리에서도 확인되었다. 그러나, 살리실산의 농도가 최적치 이상으로 증가할 경우 그 독성으로 인해 미생물 성장이 저해받는 결과를 얻었다. 이와 같이, 다환방향족 탄화수소로 오염된 토양의 생물학적 정화에 있어서 탄소원 첨가에 의한 미생물 수의 단순한 증가, 계면활성제 투여에 의한 용해도의 단순한 증가보다는 핵심 분해효소의 발현을 유도하는 방법이 더욱 효과적일 것으로 생각된다.

4. 참고문헌

1. Keith LH, Telliard WA. Priority pollutants: I. A perspective view, *Environ Sci Technol*, 13:416-423, 1979.
2. Volkering F, Breure AM, Sterkenburg A, van Anandel JG. Microbial degradation of PAHs: Effect of substrate availability on bacterial growth kinetics. *Appl Microbiol Biotechnol*, 36:548-552, 1992.
3. Woo SH, Park JM, Rittmann BE. Evaluation of the Interaction between Biodegradation and Sorption of Phenanthrene in Soil-Slurry Systems, *Biotechnol Bioeng*, 73:12-24, 2001.
4. Woo SH, Rittmann BE. Microbial energetics and stoichiometry for biodegradation of aromatic compounds involving oxygenation reactions, *Biodegradation*, 11: 213-227, 2000.