

Microbacterium esteraromaticum CS3-1의 toluene 분해능에 미치는 benzene, ethylbenzene, xylene의 영향

전연신, 이은영, 조경숙, 류희욱^{1,2}

이화여자대학교 과학기술대학원 지하환경연구실, ¹숭실대학교 환경·화학공학과,
²바이오세인트(주)

전화 (02)3277-3519, FAX 3277-3275

Abstract

Toluene-degrading bacterium, *Microbacterium esteraromaticum* CS3-1 was isolated from the biofilter for the removal of BTEX. *Microbacterium esteraromaticum* CS3-1 was shown to utilize toluene as a primary carbon and energy source. Effect of mixed BTEX gases on toluene degradation rate by *M. esteraromaticum* CS3-1 was investigated in this study. Toluene degradation rate was 2.26(only toluene), 2.06(toluene+benzene), 2.57(toluene+ethylbenzene), and 4.74(toluene+xylene) mmole toluene · g-DCW⁻¹ · h⁻¹. Toluene degradation rate was 2.26(only toluene), 1.23(toluene+benzene+ethylbenzene), 1.52(toluene+ethylbenzene+xylene), and 1.76(toluene+benzene+ethylbenzene+xylene) mmole toluene · g-DCW⁻¹ · h⁻¹. The presence of BTEX compounds over three mixtures had a negative effect on toluene degradation rate. Toluene degradation rates were enhanced by the presence of ethylbenzene or xylene, whereas the presence of benzene had a negative effect on toluene degradation rate in comparison with toluene degradation rate when only toluene is existent.

서론

Toluene을 포함한 BTEX(Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylene) 화합물은 지하 저장 탱크, 파이프라인이나 매립지로부터 유출되어 토양과 지하수를 오염시키는 물질로서 환경오염물질로 분류되어 있고, 발암물질로 추정되고 있다. 또한 다른 석유 화합물과는 달리 물에 대한 용해도가 높기 때문에 일단 오염되면 지하수 내에서 오염지역으로부터 수천 미터 떨어진 지점까지 오염시키는 특징이 있다(Cozzarelli 등, 1990). BTEX로 오염된 토양이나 지하수를 처리하거나 복원하기 위한 효율적인 방법중의 하나가 bioremediation이다. 이 방법은 BTEX에 오염된 토양이나 지하수에 자생하는 미생물의 성장을 촉진시켜 오염물질을 제거할 수 있고, 또한 BTEX 분해 활성을 가지고 있는 미생물을 배양하여 오염된 지역에 살포하여 오염물질 분해속도를 향상시킬 수 있다. 그러나 생물학적 제거 방법은 기질간의 상승 혹은 억제작용

(억제, 경쟁, 공대사)에 의해, 미생물의 분해 활성이 영향을 받기 때문에 그 적용이 복잡하다. 실제 오염지역은 하나의 오염물질이 존재하고 있는 것이 아니라 혼합물의 형태로 존재하고 있기 때문에 생물학적 처리를 하는데 있어서 BTEX의 거동을 예측하기 위해서는 기질사이의 상호작용을 연구하는 것은 중요하다(Bitzi 등, 1991; Burbach and Perry, 1993). 즉, BTEX 혼합물을 효과적으로 처리하기 위해서는 혼합 기질이 각각의 기질의 분해속도에 미치는 영향을 단독 기질이 존재하는 경우와 비교하는 것이 필요하다. 그러나 지금까지 미생물 분해 활성과 관련하여 BTEX 혼합 가스에 대한 기존의 연구에서 각 물질의 촉진 혹은 억제 기작에 대해서는 정보가 미비하다. 본 연구에서는 toluene을 효율적으로 분해하는 *M. esteraromaticum* CS3-1을 분리하여 toluene 분해능에 미치는 benzene, ethylbenzene, xylene의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

Yeast extract(1g/L)를 첨가한 무기염배지(KH_2PO_4 1.5g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 9g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g, $\text{CaCl}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, MgSO_4 0.5g, 증류수 1L)가 20ml 들어있는 50ml 삼각플라스크에 CS3-1 균주를 접종하여 2일간 진탕 배양(30°C , 200rpm)하였다. 지수 증식기까지 성장한 균주 배양액을 8000rpm에서 5분간 원심분리하여 균체를 회수하고 pH 7의 완충용액을 이용하여 2회 세정하였다. 세정한 균체를 무기염배지 20ml에 현탁하여 BTEX를 각각 $5\mu\text{l}$ 씩 넣어 2일간 배양한 후, 원심분리 및 세정 과정을 걸쳐 균체를 준비하였다. 이 균체를 무기염배지로 현탁하여 초기 접종량을 OD 600nm에서 0.3으로 맞춘 후 최종 배양액의 부피가 20ml이고 headspace가 615ml가 되도록 혈청병에 넣고 BTEX를 단독 혹은 혼합으로 $5\mu\text{l}$ 첨가하였다. 혈청병은 teflon으로 처리된 mini-nut valve(Supleco, Co., USA)로 완전히 밀폐하였다. 균주 현탁액과 BTEX가 첨가된 혈청병은 바로 약 1분간 격렬하게 흔들어준 후 초기의 BTEX의 농도를 측정하였다. 실험이 진행되는 동안 혈청병을 30°C 에서 진탕 배양하면서(200rpm) 용기의 headspace에서의 가스 시료를 gas tight syringe로 채취하여 BTEX의 농도를 분석하였다. 이때 각 BTEX 화합물에 대한 시간별 채취는 GC상의 검출 한도 내에서 검출이 되지 않을 때까지 수행하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서 분리한 균주 *M. esteraromaticum* CS3-1은 benzene과 toluene을 단독으로 분해하였고, ethylbenzene과 *p*-xylene은 단독으로 제공할 때 성장 기질로 이용하지 않았으나 toluene과 혼합하였을 때 분해되었다. *M. esteraromaticum* CS3-1을 이용하여 toluene 분해능에 미치는 benzene, ethylbenzene, xylene의 영향을 조사하였다. Toluene이 단독으로 존재할 때와 비교하여 2개의 화합물이 공존할 때, 즉

toluene이 benzene, ethylbenzene, 또는 xylene과 존재할 때 toluene의 분해능을 Fig.1에 도시하였다.

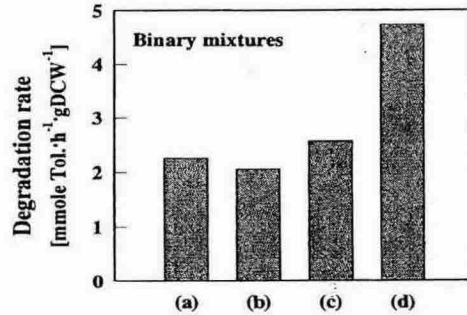


Fig.1 Effects of the binary mixtures on toluene degradation rate by *M. esteraromaticum* CS3-1. (a) only toluene, (b) toluene+benzene, (c) toluene+ethylbenzene, (d) toluene+xylene.

Toluene이 단독으로 제공되면 지연기 없이 6시간 안에 모두 분해되었고, 비분해속도로 환산한 결과 $2.26 \text{ mmole toluene} \cdot \text{g-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 였다. Toluene과 benzene을 혼합하였을 때 toluene이 단독으로 존재할 때와 비교하여 분해가 억제되어 toluene의 비분해속도가 $2.06 \text{ mmole toluene} \cdot \text{g-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 였다. 그러나 ethylbenzene 또는 xylene을 혼합하였을 때, toluene 분해가 상승되어 비분해속도가 각각 2.57, 4.74 $\text{mmole toluene} \cdot \text{g-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 증가하였다. 본 연구는 Chang등(1992)의 결과와 마찬가지로 toluene과 benzene의 2성분 혼합 가스를 공급하면 각 가스의 분해속도가 낮아졌다. Toluene과 xylene을 혼합하였을 때, toluene의 비분해속도가 $4.74 \text{ mmole toluene} \cdot \text{g-DCW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 xylene의 존재가 toluene의 분해를 가장 크게 상승하였다.

Toluene이 단독으로 존재할 때와 비교하여 3개이상의 BTEX 화합물이 공존할 때 toluene의 분해능을 Fig.2와 Fig.3에 도시하였다.

Fig.2 Effects of three mixed gas on toluene degradation rate by *M. esteraromaticum* CS3-1.

- (a) only toluene
- (b) toluene + benzene + ethylbenzene
- (c) toluene + benzene + xylene
- (d) toluene + ethylbenzene + xylene

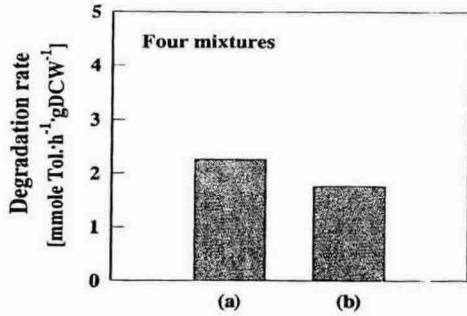


Fig.3 Effect of the four mixtures on toluene degradation rate by *M. esteraromaticum* CS3-1.

(a) only toluene

(b) toluene+benzene+ethylbenzene+xylene

단독가스 toluene의 비분해속도와 비교하여 볼 때, toluene, benzene, xylene을 혼합한 경우를 제외하고 모두 toluene의 분해를 저해하였다. Toluene, benzene, ethylbenzene을 혼합한 경우, toluene, benzene, xylene을 혼합한 경우, toluene, ethylbenzene, xylene을 혼합한 경우, toluene, benzene, ethylbenzene, xylene을 혼합한 경우 toluene의 비분해속도는 각각 1.23, 2.55, 1.52, 1.76 mmole toluene · g-DCW⁻¹ · h⁻¹ 이었다.

참고문헌

- Bitzi, U., Egli, T., and Hamer, G. 1991. The biodegradation of mixtures of organic solvents by mixed and monocultures of bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* 37, 1037-1042.
- Burback, B.L. and Perry, J.J. 1993. Biodegradation and biotransformation of groundwater pollutant mixtures by *Mycobacterium vaccae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1025-1029.
- Chang, M.-K., Voice, T.C., and Criddle, C.S. 1992. Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and p-xylene by two *Pseudomonas* isolates. *Biotechnol. & Bioeng.* 41, 1057-1065.
- Coozzarelli, I., Eganhous, R.P., and Baedecker, M.J., 1990. Transformation of monoaromatic hydrocarbons to organic acids in anoxic groundwater environment, *Environ Geol Water Sci.*, 16, 135~141.