한국지하수토양환경학회 추계학술발표회
2002년 9월 13일~14일 부 산 대 학 교

토양 슬러리내에 수착된 phenanthrene의 생물학적 이용성

Bioavailability of sorbed phenanthrene in soil slurries

신원식*, 김영규, 김영훈**, 송동익

경북대학교 화학공학과
*금오공과대학교 환경공학과**
*경북대학교 환경공학과***
(E-mail: wshin67@hotmail.com)

요 약 문

Bioavailability study was conducted to elucidate the relationship between sorption/desorption and biodegradation of sorbed phenanthrene in seven different soils. Mineralization kinetics was determined for phenanthrene-sorbed soil slurries inoculated with *Pseudomonas putida* (ATCC strain 17484). Two biodegradation models were used to fit mineralization kinetics; (i) a first-order degradation model and (ii) a coupled degradation-desorption model. The biodegradation rates were in order of vermicompost > Bion peat > 50% organoclay > Pahokee > blank (no soil, medium only) > montmorillonite > Ohio shale. The mineralization rate constants increased as desorption-resistance of phenanthrene increased. Among the tested sorbents, active biodegradation of phenanthrene was observed in vermicompost and Bion peat. Biodegradation in these two sorbents exhibited little lag time and a high maximum mineralized capacity. The role of sorption/desorption in bioavailability of phenanthrene sorbed in soils was discussed.

Key words: bioavailability, biodegradation kinetics, Bion peat, vermicompost, model.

1. 서론

모든 산업활동의 대부분을 차지하는 유기합성물질들은 인간에게 편의를 제공할 수 도있으나 사용되고 남은 폐유기물질들은 공기나 수질에 유입되어 인체에 악 영향을 끼칠수도 있다. 특히 수질오염이 확산되고 많은 폐기물이 매립지에 버려져서 지하수까지도 유해한 것으로 인식되었다. 염소계 유기 화합물과 방향족 탄화수소계 화합물은 적은 농도로 존재할 경우에도 발암성과 같은 독성으로 존재한다. 또한 PAH와 같은 난분해성 유기오염물질들은 물에 대한 용해도가 아주 낮고 고체상의 유기물질에 대한 친화력이 아주 강해서 토양에 흡착되어 있거나 비수용성체(NAPLs) 형태로 지표 밑에 존재함으로써 장기간에 걸친 환경 오염원으로 작용하고 있다. 따라서 이러한 오염물질들의 특성이나 이동경로를 파악하여 널리 확산되고 포화되어있는 오염원의 효율적인 처리가 필요하다. 그중 흡착제는 오염원의 이동억제, 분리로 재생의 역할을 할지는 모르나 완전한 제거는 불가능하다. 최근에는 이러한 흡/탈착의 메카니즘을 이용하여 오염원의 생물학적 처리에 많은 연구가 이루어지고 있고, 실제 적용에서 미생물필터와 반응장벽에 관심이 증대되고 있다. 미생물 필터에 의한 생물학적인 복원의 기본적인 설계는 흡착의 증가와 생분해 속도의 증가에 있고, 이는 기존의 pump & treat 또는 air sparging과 같은 공법에 비해 유지비용이 적고 원위치 처리가 가능하며, 설치비용이 적은 장점을 가지고 있다. 본 연구에서는 오염된 지하수의 현장복원에 적용하기 위한 기초연구를 수행하기 위해 여러 종류의 흡착제가 존재할 때 미치는 생물학적 이용성을

파악하였으며, 이를 통해 실제 공법에 적용하게될 permeable reactive biobarrier로 적합한 medium을 개발하고자 하였다.

2. 실험방법

생분해 실험에 사용된 흡착제로는 자연토, 분변토(vermicompost), 토탄(Pahokee 및 Bion peat), Devonian Ohio Shale, 50% HDTMA-montmorillonite, montmorillonite 등이고, 각 흡착제의 원소 함량은 Huffman Laboratories, Inc.(Golden, CO, USA)에 의뢰하여 분석하였다. 기질로는 phenanthrene(Sigma, >96%)을 사용하였고, [9,10-^{14}C] phenanthrene (ChemSyn Laboratories, 56.7 μCi/μmol, >99.9%)를 radiotracer로 사용하였다. 이때 ^{14}C-phenanthrene의 초기 radioactivity는 약 2,000 cpm/mL 이었다. 생분해에 사용된 미생물은 *Pseudomonas putida* (ATCC strain 17484)로서 KCTC로부터 분양을 받아 사용하였고, 배지는 KH_2PO_4(900 mg/L), K_2HPO_4(100 mg/L), NH_4NO_3(100 mg/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$(100 mg/L), $CaCl_2 \cdot H_2O$(100 mg/L), $FeCl_3$(10 mg/L), $NaMoO_4 \cdot 7H_2O$(2.0 μg/L), $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$(2.0 μg/L), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$(2.0 μg/L), $MnSO_4 \cdot H_2O$(2.0 μg/L), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$(2.0 μg/L)를 증류수에 녹인 다음, 121℃에서 15분간 살균하여 사용하였다. 100 mL의 배양액을 넣은 250 mL 삼각플라스크에 *Pseudomonas putida*를 접종하고, 진탕배양기를 이용하여 30℃, 120 rpm의 조건에서 배양하였다. 미생물의 성장은 OD_{600}으로 관찰하였으며 최종 지수성장 단계에 도달할 때까지 배양하였다. 생분해 실험은 캡(with Teflon-lined septa)이 달린 125 mL Erlenmeyer flask에 메탄올에 용해된 ^{12}C-phenanthrene (0.1mg/L)와 radiotracer를 투입한 후, 메탄올을 휘발시켰다. 이는 용매로 사용된 메탄올이 미생물에 탄소원으로 작용되는 것을 방지하기 위해서이다. 50 mL의 배지를 넣고 각각의 흡착제를 투입한 후, 20℃, 150rpm의 조건에서 수착시켰다. 이때 토양-용액의 비는 대략 0.2~2g/50mL으로 하였고, phenanthrene의 초기농도인 0.1, 0.5, 1mg/L에서 수착제가 없는 각각의 control 실험도 함께 행하였다. 7일간 흡착시킨 후에 지수 성장기에 도달한 미생물 1 mL(?? × 10^7 CFU)를 취해 접종하고, 생분해에 의해 생성되는 $^{14}CO_2$는 1mL NaOH(1N) 트랩을 설치하여 포집하였다. 시간대별로 NaOH를 취해 10mL의 scintillation cocktail과 혼합한 뒤 Liquid Scintillation Counter(1220 Quantulus, EG & G Wallac Co.)를 이용하여 $^{14}CO_2$의 radioactivity를 결정하였고, 생분해 실험기간 동안 호기성 조건을 유지하기 위해 하루에 두 번씩 캡을 열어 산소를 주입하였다. 생분해 실험결과는 각각 지연시간을 가진 1차 생분해 모델(1)과 탈착-생분해 연계모델(2)로 곡선맞춤을 행하였다.

$$X = X_m\{1 - e^{-k(t-\tau)}\} \quad (1)$$

여기서 X = 전체 radioactivity중 분해된 phenanthrene의 radioactivity(%), X_m = 최대 분해 가능한 Phe의 radioactivity(%), k = 1차 생분해 속도상수(일$^{-1}$), τ = 지연시간(일).

$$X = \upsilon_2(t-\tau) + (\upsilon_1 + \upsilon_2)\{1 - e^{-k(t-\tau)}\}/k \quad (2)$$

여기서 υ_1 = 초기의 용질 분해속도(% · day^{-1}), υ_2 = 탈착된 용질 분해 속도(% · day^{-1})

4. 결과 및 토론

Fig. 1과 2에 각각의 흡착제가 존재할 때의 phenanthrene의 생분해 결과와 흡착제가 존재하지 않을 때의 생분해 결과를 함께 나타내었다. 수용액상의 평형농도는 수착등온선을 이용하여 결정하였으며, 50% HDTMA-montmorillonite (0.77μg/L), Pahokee peat(1.72μg/L), 분변토(2.16μg/L), Bion peat(3.66μg/L), 자연토(16.5μg/L)으로 계산되었다. Fig. 1에서 분변토, Bion peat, 50% HDTMA-montmorillonite, natural soil 등의 경우 최대분해 능력(X_m)은 Blank에서 보다 흡착제가

존재할 경우 크게 나타났다. 이는 미생물이 흡착제에 접근이 불가능하고 수용액상의 오염물질만 분해가 가능하다는 기존의 개념과는 달리, 흡착제가 오염물질의 탈착을 지연하는 역할을 하여 bioavailability가 증가시키며 수용액산의 오염물질뿐 아니라 흡착제에 흡착된 오염물질도 분해 가능하기 때문으로 보여진다. 반면에 Ohio shale과 montmorillonite의 경우에는 blank에서 보다 최대 분해 능력(X_m)이 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 1. The first-order degradation model parameters for soil sorbed phenanthrene.

sorbent	Xm (%)	k (day^{-1})	Xm · k	τ(day)	R^2
Vermicompost	30.65±0.338	0.158±0.010	4.843	1.451±0.260	0.9904
Bion peat	28.85±0.294	0.266±0.015	7.674	2.164±0.127	0.9884
50% HDTMA-mont	26.16±0.262	0.201±0.011	5.258	3.494±0.170	0.9919
Pahokee peat	25.79±0.382	0.092±0.005	2.373	1.922±0.203	0.9964
Natural soil	25.58±0.394	0.247±0.021	6.318	1.248±0.189	0.9748
Blank[0.1ppm]	17.30±0.413	0.322±0.047	5.571	1.383±0.255	0.9257
Blank[0.5ppm]	28.36±0.327	0.247±0.017	7.005	2.843±0.170	0.9857
Blank[1.0ppm]	29.65±0.146	0.108±0.002	3.202	6.617±0.085	0.9997

Fig. 2는 흡착제가 존재하지 않는 blank에서의 생분해를 나타낸 것이다. 그림에서 초기분해 속도는 0.5 ppm > 0.1 ppm > 1.0 ppm 순으로 나타났으며, 이는 tnduyddor상의 오염물질의 농도가 클 경우 오염물질이 기질억제 역할을 하여 생분해 속도가 감소하는 것을 알 수 있다. Table 1과 2는 수착제가 존재할 때 오염원의 생분해 결과를 각각 1차 생분해 모델과 탈착-분해 연계모델로 fitting한 매개변수를 나타내었다. X_m은 분변토 > Bion peat > 50% HDTMA -montmorillonite > Pahokee peat > 자연토의 순으로 나타났으며, 이는 흡착능력과 탈착저항성이 큰 Pahokee peat과 작은 자연토에서 낮은 분해률을 나타내는 것으로 보아 적절한 유기탄소함량으로 수착능력과 탈착저항성의 유효한 범위를 가질 때 bioavailability가 증가할 수 있다고 사료된다. 또한 각 모델에서 분해속도상수(k)는 탈착저항성이 작은 순으로 높게 나타났다.

Table 2. Coupled degradation-desorption model parameters for soil-sorbed phenanthrene.

sorbent	v_1 (% · day^{-1})	v_2 (% · day^{-1})	k (day^{-1})	τ(day)	R^2
Bion peat	9.130±0.252	0.152±0.013	0.369±0.014	2.378±0.041	0.9985
Natural soil	8.658±0.355	0.196±0.014	0.427±0.022	1.585±0.048	0.9970
Vermicompost	6.120±0.194	0.208±0.020	0.257±0.013	2.191±0.065	0.9985
50% HDTMA-mont	5.279±0.239	0.106±0.037	0.230±0.019	3.410±0.101	0.9959
Pahokee peat	2.487±0.095	0.243±0.028	0.158±0.013	2.491±0.124	0.9989
Blank [0.1ppm]	15.08±0.400	0.175±0.002	1.129±0.031	2.317±0.016	0.9995
Blank [0.5ppm]	8.396±0.394	0.160±0.021	0.350±0.022	3.119±0.080	0.9965
Blank [1.0ppm]	3.206±0.055	0.062±0.039	0.119±0.008	6.747±0.115	0.9998

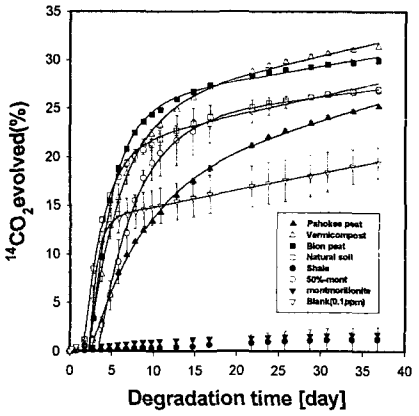

Fig. 1. Mineralization of phenanthrene sorbed in different sorbents.

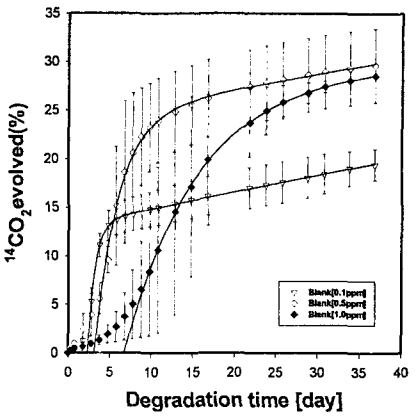

Fig. 2. Mineralization of phenanthrene on the soil-free.

4. 참고문헌

1. Lueking, A.D., Huang. W., Soderstrom-Schwarz, S., Kim, M., Weber., W.J., Jr., *J. Environ. Qual.*, 29: 317-323 (2000).
2. Guerin, W. and Boyd, S.A., *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(4): 1142-1152 (1992).
3. Karapanagioti, H.K., Childs, J., Sabatini, D.A., *Environ. Sci. Technol.*, 35: 4684-4690 (2001).
4. Laor, Y., Strom, P.F., and Farmer, W.J., *J. Biotechnol.*, 51: 227-234 (1996).
5. Lahlou, M. and Ortega-Calvo, J.J., *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(2): 2729-2735 (1999).