

활성슬러지 혼합미생물과 *Nocardia asteroides*에 의한 페놀화합물 분해시 양성자이온의 영향

조관형·조영태·우달식¹
청운대학교 토목환경공학과·²충청대학 환경화공학부·³한국계면공학연구소
(2002년 3월 15일 접수; 2002년 5월 15일 채택)

Proton Effect on the Degradation of Phenolic Compound by Activated Sludge and *Nocardia asteroides*

Kwan-Hyung Jo, Young-Tai Cho¹ and Dal-Sik Woo^{2,3}

¹Department of Civil and Environmental Engineering, Chungwoon University, Hongsung 350-701, Korea

²Faculty of Environmental and Chemical Engineering, Chung-cheong College, Cheongju 363-890, Korea

³Korea Interfacial Science and Engineering Institute, Seoul 137-132, Korea

(Manuscript received 15 March, 2002; accepted 15 May, 2002)

This study was investigated to evaluate the effect of the sodium ion and pH on toxicity of dinitrophenol at high concentrations (0.41 to 0.54 mM), over a sodium concentration range of 0.1 mM to 107 mM and over a pH range of 5 to 9. The concentration of sodium ions in the activated sludge mixed liquor seemed to have very little effect on dinitrophenol toxicity. However, lack of sodium in the growth media resulted in a reduction of the dinitrophenol degradation rate by bacterial isolate from the activated sludge culture, which has been identified as *Nocardia asteroides*. Dinitrophenol inhibition was found to be strongly dependent on mixed liquor pH. The dinitrophenol degradation rate was highest in the pH range of 6.95 to 7.84; at pH 5.94 degradation of 75 mg/L dinitrophenol was significantly inhibited; at pH < 5.77, dinitrophenol degradation was completely inhibited after approximately 30% of the dinitrophenol was degraded.

Key words: Acclimation, Inhibition, Nitrophenol, pH, Sodium ion

1. 서 론

페놀화합물 중에서 디니트로페놀은 자연생태계에서 분해가 매우 느리거나 전혀 분해가 되지 않는 독성이 강한 화합물로 잘 알려져 있다. 디니트로페놀의 독성의 원인은 많이 있겠지만 그 중에서도 다음의 두 가지의 원인에 기인된다고 보고되고 있다. 첫 번째 원인으로서는 페놀분자구조에 존재하고 있는 두 개의 니트로기(NO_2^-)가 효소에 의한 분해를 방해하는 것이고,¹⁾ 두 번째 원인으로는 니트로페놀의 농도가 높을 때 세포 내에서 이것이 호흡과 아데노신삼인산 (ATP, Adenosine Triphosphate)을 생산하는 산화성 인산화반응의 uncoupler로서 작용하기

때문인 것으로 보고되고 있다.

미생물세포가 디니트로페놀과 같은 uncoupler에 노출되었을 때의 결과를 보면, 일차적으로 산소흡수율이 증가되어 진행되다가 결국에 가서는 성장이 저해를 받게되어 세포생산의 감소를 초래하게 된다.^{2,3)} Uncoupler의 양성자 구배(proton gradient)와 ATP 인산화반응의 방해를 극복할 수 있는 메커니즘으로서는 양성자구배를 나트륨이온의 구배로 전환시키는 것이다. 호흡하고 있는 박테리아에 있어서 전자이동시 발생되는 자유에너지는 세포막의 양성자 펌프와 연관되어 있는데 이 양성자펌프는 양성자 구배를 조성하기 때문에 결과적으로 ATP 합성효소에 사용될 ATP의 인산화반응을 주도한다. 최근의 연구결과에 의하면 몇몇 박테리아는 이를 생에너지 공정에서 uncoupling 양이온으로서 양성자이온 대신에 나트륨이온(Na^+)으로 대체 가능함을 보

Corresponding Author : Kwan-Hyung Jo, Dept of Civil and Environmental Engineering, Chungwoon University, Hongsung 350-701, Korea
Phone : +82-41-630-3287
E-mail : jokwan@chungwoon.ac.kr

여주고 있다. Avetisyan 등⁴⁾의 결과에 의하면 양성자가 많은 환경이나 세포막 양성자구배를 방해하는 높은 pH에서 성장시킨 *E. coli*에서 나트륨이온에 자극되어 호흡이 약화되는 것을 확인하였다. 나트륨이온 순환개념의 틀에서 살펴보면, 정상적인 양성자구배의 유지가 힘든 조건에서는 ATP를 형성하기 위해 나트륨이온 구배는 특성화된 $\text{Na}^+ \text{-ATP}$ 합성효소와 연관되어 있음을 알 수 있다.⁵⁾ 또한 나트륨이온이 유발시키는 비산화성 인산화반응은 몇몇 혐기성 박테리아에서도 발견되었는데, 이들 박테리아에서 Na^+ -구배-디카르복실라아제가 ATP 생산에 사용되었다.^{6,7)}

Mayer와 Ellersiek⁸⁾은 용액의 pH를 낮출 경우 악산성 물질의 독성이 증가하였고, 또한 이온화 물질과 비이온화 물질의 비를 변화시키면 약염기성 물질의 독성이 감소됨을 나타내었다. Sprague⁹⁾는 비이온화 유기성 분자화합물이 이온화 된 것보다 독성이 더 강하였는데, 그 이유는 비이온화된 물질이 세포막을 보다 쉽게 투과하였기 때문이며, pH가 이온화 정도와 계속되는 세포막 침투의 정도를 결정하는 주요한 인자로 보았다. 니트로기의 아미노기로의 환원에 의한 디니트로페놀의 세포분해는 산화성 탈아미노화로 계속되었으며, pH값이 중성 부근일 때 최적상태를 나타내었다.¹⁰⁾ *Corynebacterium simplex*에 의한 디니트로페놀로부터의 NO_2^- 의 분리에 따른 분해는 pH 8.0에서 최대를 나타내었다.¹¹⁾ 본 연구에서는 고농도의 디니트로페놀이 포함된 인공폐수의 분해시 나트륨이온과 pH의 영향을 조사하여 효율적인 처리방안을 제시하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 나트륨이온의 영향 실험

디니트로페놀의 분해에 순응시킨 활성슬러지를 이용하여 서로 다른 나트륨이온농도에서 디니트로페놀 분해정도를 알아보기 위하여 플라스크 반응조를 이용한 1개월 동안의 단기간 실험을 실시하였다. 250 mL 용량의 플라스크 반응조에 연속회분식 반응조에서 순응시킨 활성슬러지를 200 mL 투입하였으며 여기에 디니트로페놀(75 mg/L, 100 mg/L)과 K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , 그리고 CaCl_2 와 같은 무기염을 영양원으로 동시에 주입하여 조사하였다. 플라스크 반응조내 활성슬러지 농도는 1,300 mg/L에서 1,600 mg/L로 증가시켜 실험하였다. Table 1에 플라스크 반응조의 실험 조건을 요약하여 정리하였다. 플라스크 반응조의 내용물은 200 rpm으로 운전되는 교반기를 이용하여 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도를 유지하는 상태에서 폭기와 혼합을 동시에 수행하였다.

디니트로페놀이 활성슬러지에 의해 분해될 때 나트륨이온의 영향에 대한 실험은 나트륨이온 농도를 0.14에서 107 mM의 범위에서 변화시켜며 수행하였다. 실험기간 동안 혼합액의 나트륨이온농도는 염화나트륨을 이용하여 일정농도를 유지시켰다. 초기에 디니트로페놀을 분해하였던 활성슬러지 식종액 내 나트륨이온의 농도는 9.3 mM 이었으며, 인산완충액으로 세척을 하여 활성슬러지 식종액내의 나트륨이온을 제거하였다. 첫 번째 플라스크 반응조실험에서, 활성슬러지 혼합액을 인산완충액으로 1회 세척하여 나트륨이온의 농도를 $\frac{1}{2}$ 로 감소시켜 4.65 mM이 되게 하였다. 두 번째 실험에서는, 활성슬러지 혼합액을 인산완충액으로 6회 세척하여 나트륨이온의 농도를 0.14 mM이 되게 하였다.

Table 1. Activated sludge flask reactor conditions for sodium ion effect on dinitrophenol biodegradation

Variable	Concentration
pH	7.1 ± 0.1
C : N ratio (g/g)	6 : 1
MLSS (mg/L)	1,306 ~ 1,630
Reaction period (hr)	24 ~ 36
Dinitrophenol(mM)	0.41 ~ 0.54
Dinitrophenol(mg/L)	75 ~ 100

2.2. pH의 영향 실험

활성슬러지에 의한 디니트로페놀 저해의 pH에 대한 영향을 조사하기 위하여, pH를 5부터 9까지 변화시켰다. pH 범위를 5에서 9까지 선정한 이유로는, pH를 5이하로 낮출 경우에는 다른 내성영향들이 디니트로페놀 분해미생물의 활동을 제한할 수 있고, pH를 9이상으로 높일 경우에는 마그네슘이나 칼슘과 같은 무기영양물질에 포함된 것들이 침전물을 형성하여 이용불가능하게 되기 때문이다. 혼합액의 pH는 완충용액 ($0.4 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$, $0.4 \text{ M NaH}_2\text{PO}_4$), 산 ($0.2 \text{ M citric acid}$, 0.4 M HCl), 염기 (0.4 M tris) 등을 주입하여 실험전에 조절하였다.

2.3. 디니트로페놀 분해박테리아의 분리

나트륨이온의 영향을 세밀히 관찰하기 위하여 디니트로페놀 농도 0.41 mM에 순응시킨 박테리아의 균주를 활성슬러지로부터 분리하였다. 분리균주는 디니트로페놀을 단일 탄소원과 에너지원 그리고 질소원으로 이용하는 것을 보여주고 있는데, 활성슬러지로부터 균주를 추출해내는 것은 Silverstein 등¹³⁾이 개발한 방법을 따랐다. 디니트로페놀 분해균의

활성슬러지 혼합미생물과 *Nocardia asteroides*에 의한 폐놀화합물 분해시 양성자이온의 영향

군집을 얻기 위하여 디니트로페놀과 한천을 이용하여 평판배지를 만들었다. 이후 개별군집은 단일탄소원과 에너지 기질로서 50 mg의 디니트로페놀과 Table 2에 나타낸 것과 같은 무기염을 함유시킨 한천에 계대배양을 통하여 재배양 시켰다. 그후에 배지에서 성장된 순수균주세포를 배양액을 함유하고 있는 250 mL의 Erlenmeyer 플라스크에 접종시켜 디니트로페놀의 분해에 관한 실험을 하였다. 최종적으로 디니트로페놀-한천평판에 위의 배양액을 접종시킴으로써 플라스크내 순수배양 균주의 오염여부를 판별하였다. 세포벽 지질분석 (cell wall lipid analysis)을 통하여 분리균주를 동정해내는 데이터 베이스(Microcheck Inc., Northfield, VT, USA)를 이용하였다.

Table 2. Bacterial growth media used for pure culture and activated sludge flask experiments for sodium ion effect

Constituent	Activated sludge	Isolate
NaCl (mM)	0.14 ~ 107	0 ~ 93.3
K ₂ HPO ₄ (mg/L)		810
KH ₂ PO ₄ (mg/L)		500
CaCl ₂ (mg/L)		10
MgSO ₄ · 7H ₂ O (mg/L)		10
Dinitrophenol(mg/L)	78 ~ 100	12

2.3. 박테리아 분리균주

*Nocardia asteroides*는 외부공급 성장인자를 필요로 하지 않았으며, 탄소원과 에너지원으로서 고순도 디니트로페놀을 함유한 액체배지에서 성장하였는데, Table 2에 나타낸 바와 같이 무기염을 추가로 공급하였는데 Na₂HPO₄ 대신에 0.81 g/L의 K₂HPO₄로 교체하여 투입하였다. 이것은 미생물 성장배지에서 나트륨이온을 완전히 제거하고, 이후 나트륨이온의 농도를 변화시켜가며 주입하여 그 영향을 알아보기 위함이다. 순수배양 디니트로페놀 분해미생물의 저해시 나트륨이온의 영향에 대한 실험은 나트륨이온의 농도를 0 ~ 93.3 mM의 농도범위에서 행하였다. 실험기간 동안 나트륨이온의 농도는 염화나트륨의 주입에 의하여 유지시켰다. 모든 미생물 성장배지의 pH는 인산완충액으로 pH 6.8을 유지시켰다. 활성슬러지 풀록형성 미생물보다 순수배양 미생물이 디니트로페놀에 좀더 민감한 것으로 예상하였다. 또한, 디니트로페놀에 의해서만 성장을 유지해온 순수배양 미생물이 활성슬러지 내에 있는 디니트로페놀 분해미생물보다 세포수에 있어서 훨씬 적

을 것으로 예상하였다. 심각한 저해를 피하기 위하여, 그리고 적정한 반응기간동안 디니트로페놀 분해곡선을 관찰하기 위하여 순수배양 미생물에 대한 디니트로페놀의 초기농도는 0.065 mM로 하여 실험하였다. 박테리아균주를 이용한 나트륨이온 영향실험은 200 mL의 액체배지를 함유하고 있는 250 mL의 마개부착 플라스크 반응조에서 호기적으로 수행되었다. 플라스크 반응조의 내용물은 200 rpm으로 운전되고 있는 교반기에 의해 혼합을 시켰으며 반응온도는 22 ± 2 °C를 유지시켰다.

2.4. 분석방법

DNP 농도를 측정하기 위해 시료를 플라스크 반응조로부터 주사기를 사용하여 6시간 간격으로 채취하였다. 시료는 채취 즉시 0.2 μm polycarbonate filter로 진공 여과시켜 미생물 활동을 억제시키기 위해 4 °C를 유지하고 있는 냉장고에서 보관하였다. 분광광도계 (UV 160, Shimadzu Co., Japan)의 자외선 흡수파장 260 nm에서 시료내 디니트로페놀의 양을 측정하였고, 미생물농도는 Standard Methods¹⁴⁾에 있는 막여과법을 사용하여 MLSS로 측정하였다. 순수배양 미생물을 함유하고 있는 플라스크 반응조 내 세포농도는 20 mL의 시료를 0.2 μm polycarbonate filter로 진공 여과시켜 측정하였다. 이후 여과지는 80 °C에서 20시간동안 건조시킨 후 무게를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 나트륨 이온의 영향

활성슬러지 미생물의 디니트로페놀에 대한 독성을 나트륨이온으로 완화시킬 수 있는지의 여부를 실험하여 보았다. 나트륨이온의 농도 범위는 활성슬러지 미생물의 나트륨이온에 대한 내성을 고려하여 0 < [Na⁺] < 107 mM의 범위로 하였다. 저해에 대한 일반적인 정의에서와 같이 본 실험에서도 디니트로페놀의 분해저해는 성장지체나 반응속도의 감소 또는 디니트로페놀에 순응시킨 활성슬러지 미생물의 분해능력의 완전한 소실로 간주하였다. 활성슬러지 미생물의 디니트로페놀 생분해에 미치는 나트륨 이온의 영향은 디니트로페놀의 농도를 75 ~ 100 mg/L (0.41 ~ 0.54 mM)의 범위에서 조사하였다. 다른 연구자들은 디니트로페놀의 농도를 92 mg/L (0.5 mM) 까지 높여서 미생물에 의한 분해를 관찰하였는데,¹²⁾ 그 이상의 농도에서는 고농도에 적응시킨 미생물에서조차도 급격하게 저해가 발생되었다. 유효용량 4리터의 연속회분식 반응조를 이용하여 실험실적 규모의 연구를 수행하였는데, 반응에 사용된 미생물은 디니트로페놀의 분해에 적응시킨 미생

조 관 형 · 조 영 태 · 우 달 식

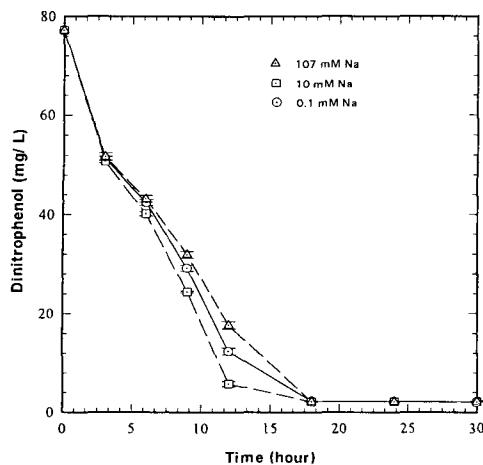


Fig. 1. Dinitrophenol degradation profiles by acclimated activated sludge washed single time. Initial dinitrophenol concentration was 0.41 mM (75 mg/L).

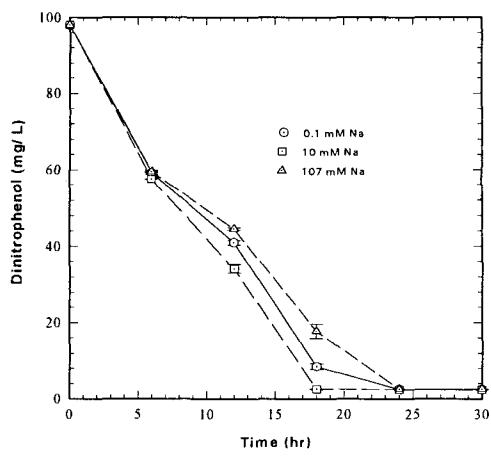


Fig. 2. Dinitrophenol degradation profiles by acclimated activated sludge washed single time. Initial dinitrophenol concentration was 0.54 mM (100 mg/L).

물이었으며 디니트로페놀과 글루코즈를 탄소원과 에너지원으로 사용하였으며 저농도의 디니트로페놀 분해에서는 질소원으로서 질산칼륨(KNO_3)을 사용하였다. 그리고 소규모의 플라스크 반응조 실험에 사용한 미생물은 연속회분식 반응조에서 배양한 활성슬러지 미생물을 식종원으로하여 고농도의 디니트로페놀의 분해시 나트륨이온과 pH의 영향을 조사하였다.

1회 및 6회 세척한 활성슬러지를 이용하여 디니트로페놀을 0.41 mM과 0.54 mM의 두 가지 농도로 고정시켜 투입하였다. 이 농도는 고농도의 디니트로페놀의 분해에 순응된 미생물에서 조차도 저해를 일으킬 수 있는 농도이며, 따라서 이 농도에서는 디니트로페놀의 uncoupling 효과를 완화하는 나트륨이온의 효과를 관찰할 수 있을 것으로 기대하였다. 1회 세척한 활성슬러지 미생물을 상대로 한 디니트로페놀 분해시 나트륨이온의 영향에 대한 결과를 Fig. 1과 2에 나타내었다. Fig. 1은 나트륨이온의 농도가 0.93 ~ 93.9 mM이 있을 때 0.41 mM (75 mg/L) 디니트로페놀의 분해곡선이다. 분해곡선에서의 각 데이터는 중복실험($n = 3$)의 평균치로부터 구하였다. Fig. 1에 나타내었듯이 반응시간 12.5시간에서 나트륨이온의 농도가 가장 높을 때인 107 mM에서는 저해가 일어나서 분해가 가장 느리었고, 나트륨이온의 농도가 10 mM 일 때 가장 빠르게 분해되었으나 반응시간이 24시간으로 길어졌을 때에는 모든 나트륨이온 농도조건에서 잔류 디니트로페놀의 농도가 비슷함을 알 수 있다. 플라스크 반응조내 MLSS 농도는 건조중량으로 1,309 ~ 1,346 mg/L의 범위에 있었다.

상황하에서 디니트로페놀의 농도를 0.54 mM (100 mg/L)로 증가시켰을 때의 분해곡선이다. Fig. 2로부터 알 수 있듯이 반응시간이 6시간 경과될 때까지 나트륨이온의 농도별로 큰 차이를 보이지 않다가 반응시간 12.5시간에서 나트륨이온의 농도가 가장 높을 때인 107 mM에서는 저해가 일어나서 분해가 가장 느리었고, 나트륨이온의 농도가 10 mM 일 때 가장 빠르게 분해되었으나 반응시간이 24시간으로 길어졌을 때에는 모든 나트륨이온 농도조건에서 잔류 디니트로페놀의 농도가 비슷함을 알 수 있다. 플라스크 반응조내 MLSS 농도는 건조중량으로 1,309 ~ 1,346 mg/L의 범위에 있었다.

Fig. 3과 4에 있는 디니트로페놀 분해곡선은 나트륨이온의 농도를 약 0 mM로 낮추기 위하여 6회 세척한 활성슬러지를 이용하여 실험한 결과이며, 또한 9.33와 93.3 mM의 고농도 나트륨이온농도에서 실험한 결과이다. Fig. 3에서는 초기 디니트로페놀의 농도가 0.41 mM (75 mg/L)인 것에 비해서 Fig. 4에서는 0.54 mM (100 mg/L)에서 실험한 결과이다. 6회 세척한 활성슬러지 농도는 각각 1,386과 1,630 mg/L이었다. 모든 실험에 있어서 활성슬러지 미생물을 1회 세척하였거나 6회 세척하였거나 서로 다른 나트륨이온의 농도에서 디니트로페놀의 생분해에는 큰 차이가 없었다. 또한, 나트륨이온의 농도를 0 mM까지 낮추어 초기 디니트로페놀의 농도를 0.41에서 0.54 mM (75에서 100 mg/L)로 20% 이상 증가시켰어도 디니트로페놀의 생분해에는 큰 차이가 없었다. Fig. 2와 4는 초기 디니트로페놀의 농도를 증가시켰

활성污泥지 혼합미생물과 *Nocardia asteroides*에 의한 폐놀화합물 분해시 양성자이온의 영향

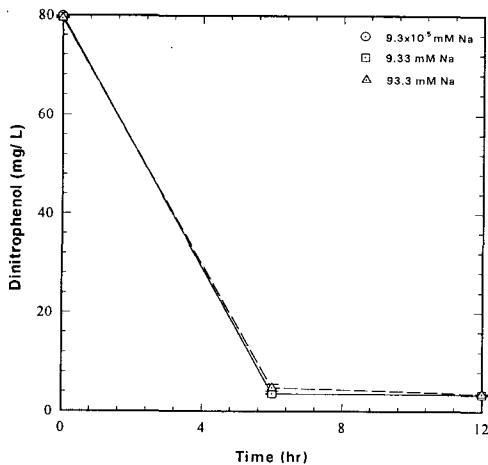


Fig. 3. Dinitrophenol degradation profiles by acclimated activated sludge washed six times. Initial dinitrophenol concentration was 0.41 mM (75 mg/L).

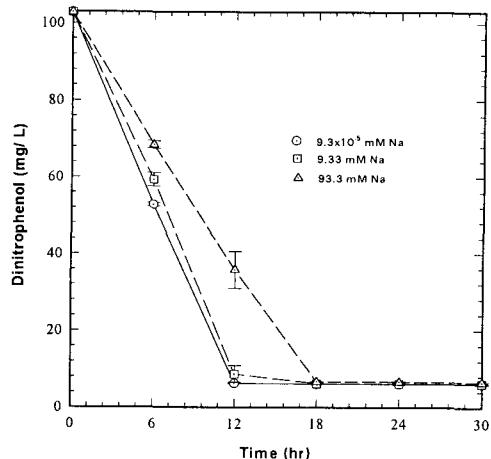


Fig. 4. Dinitrophenol degradation profiles by acclimated activated sludge washed six times. Initial dinitrophenol concentration was 0.54 mM (100 mg/L).

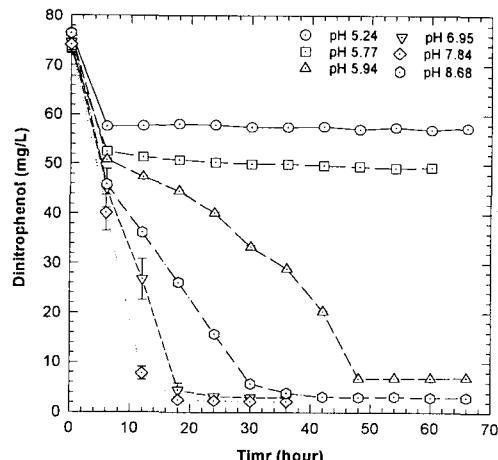


Fig. 5. Dinitrophenol degradation profiles from flask experiments to investigate effect of pH on DNP degradation by acclimated activated sludge. Initial dinitrophenol concentration was 75 mg/L.

을 때의 실험결과이며, 나트륨이온의 농도를 93.3에서 106.95 mM 까지 고농도에서 디니트로페놀의 생분해가 약간 느린 것을 알 수 있다. 이것은 디니트로페놀의 독성의 결과라기보다는 디니트로페놀 분해균의 고염도 환경에서의 스트레스⁴⁾ 때문인 것으로 사료된다.

3.2. pH의 영향

Fig. 5는 pH에 따른 디니트로페놀의 분해경향을

나타낸 것으로서 각각의 활성污泥지 플라스크 반응조는 실험직전에 완충용액을 사용하여 pH값을 5.24, 5.77, 5.94, 6.95, 7.84, 및 8.68로 고정시켰다. 모든 플라스크 반응조의 초기 디니트로페놀 농도는 75 mg/L이었고, MLSS 농도는 1,290 mg/L로 하였다. 디니트로페놀의 분해결과 pH의 변화는 없는 것으로 확인되었다. 본 실험에서, 최대 디니트로페놀 분해율은 pH 6.95와 7.84에서 나타났으며, pH 5.24와 pH 5.77에서는 디니트로페놀 분해의 뚜렷한 저해를 보여주고 있다. 그럼에서도 알 수 있듯이 디니트로페놀 분해에 있어서 심각한 저해는 pH 5.24 ~ 5.94의 범위에서 관찰되었고, pH 8.68에서는 디니트로페놀 분해가 다소 느렸다. 이에 대한 이유는, 디니트로페놀은 pK_a 값이 4.09인 약산성 물질로서 pH가 알칼리성으로 증가함에 따라 이온화가 더욱 증대되어 독성이 커졌기 때문으로 볼 수 있다. 이 두 pH에서의 분해곡선 실험결과를 여러가지 미생물 반응속도모델에 적용하여 보았으나, 0차 반응속도모델의 적용이 가장 우수하였고 분석결과를 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Zero-order rate constant for pH 6.95 and 7.84 profiles in Fig. 5.

pH	Rate Constant (mg/L/hr)	Maximum specific degradation rate coefficient (mg/mgMLSS/hr)
6.95	7.57 ± 0.16	$0.0058 \pm 1.23E-04$
7.84	8.03 ± 0.04	$0.0062 \pm 3.09E-05$

3.3. 순수배양 미생물에 의한 디니트로페놀 분해 시 나트륨이온의 영향

*Nocardia asteroides*로 동정된 순수배양 미생물에 의한 디니트로페놀의 생분해시 두 가지 나트륨이온 농도 (0과 93.3 mM)에서의 디니트로페놀 분해곡선을 Fig. 6에 나타내었다. 순수배양 미생물에 대한 나트륨이온 영향실험에서 초기 디니트로페놀의 농도는 0.065 mM (12 mg/L)이었다. 나트륨이온의 농도가 0과 93.3 mM 일 때 각 플라스크 반응조내 세포농도는 건조중량으로 3.75 mg/L 이었다. 활성슬러지 실험에서처럼 디니트로페놀 분해곡선에서의 각 데이터는 중복실험의 평균치로부터 구하였다. 이들 실험결과로부터 알 수 있듯이, 나트륨이 없는 배지에서 성장된 분리균주는 93.3 mM의 나트륨이온이 있는 조건에서 성장한 동일 균주보다 디니트로페놀을 더디게 분해하는 것으로 나타났다. 비교적 높은 나트륨이온 농도를 이용하였기 때문에 디니트로페놀 분해능력의 차이가 과소평가 된 것처럼 보인다.

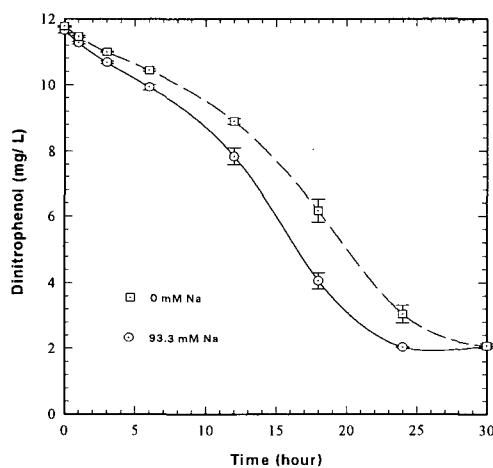


Fig. 6. Dinitrophenol concentration profiles for flask degradation by *Nocardia asteroides* with either 0 or 93.9 mM sodium ion in the medium. Initial dinitrophenol concentration in the flasks was 0.065 mM (12 mg/L).

활성슬러지 미생물의 경우 미생물 배지내 나트륨이온의 농도를 0.14 mM로 낮추었을 때 디니트로페놀의 분해에 아무런 영향을 주지 못하였으나, 순수배양배지내 나트륨이온의 완전제거로 말미암아 93.3 mM의 나트륨이온이 있을 때와 비교하여 디니트로페놀 분해가 느린 것으로 나타났다. *Nocardia asteroides* 분리균주를 가지고 실험한 위의 결과는 Dimroth 등⁶⁾과 Hilpert 등⁷⁾의 결과와 같이 나트륨이

온이 uncoupler의 존재시 ATP 생성반응을 유도하는 공통점을 나타내고 있는데, 세포질막 내외의 나트륨이온 농도구배의 인위적인 환경조성은 디니트로페놀과 같은 uncoupler의 존재시 ATP의 산화성 인산화반응을 추진하는 역할을 할 수 있는 것으로 사료된다.

4. 결 론

연속회분식 반응조내에서 디니트로페놀의 분해에 미리 순응된 활성슬러지와 순수배양 미생물을 이용하여, 디니트로페놀 생분해에 영향을 줄 수 있는 여러 가지 환경인자중에서 나트륨이온과 pH에 대한 영향을 실험을 통해 조사, 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 활성슬러지 미생물을 이용하여 서로 다른 나트륨이온 농도조건에서 디니트로페놀의 분해 저해를 관찰한 결과 디니트로페놀의 농도 0.41 mM (75 mg/L) 또는 0.54 mM (100 mg/L)에서도 분해저해는 없었다.
- 2) 성장배지내 나트륨이온의 농도를 0.1 mM까지 낮추어서 디니트로페놀의 분해 저해를 관찰한 결과 디니트로페놀의 농도 0.41 mM (75 mg/L) 또는 0.54 mM (100 mg/L)에서도 분해저해는 없었다.
- 3) 디니트로페놀 분해에 있어서 심각한 저해는 pH 5.24 ~ 5.94의 범위에서 관찰되었고, pH 8.68에서는 디니트로페놀의 분해가 다소 느렸다.
- 4) 활성슬러지로부터 분리해낸 미생물 균주의 성장배지내 나트륨이온의 완전제거는 93 mM의 나트륨이온이 있을 때와 비교하여 디니트로페놀이 0.065 mM (12 mg/L) 있을 때 이의 분해속도를 느리게 하였다.

참 고 문 헌

- 1) Bruhn, C., H. Lenke, and H. J. Knackmuss, 1987, Nitrosubstituted aromatic compounds as nitrogen source for bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 208-210.
- 2) Moos, L. P., E. J. Kirsch, R. F. Wukasch, and C. P. L. Grady, Jr., 1983, Pentachlorophenol biodegradation, I. Aerobic. *Water Res.*, 17, 1575-1584.
- 3) Klecka, G. M. and W. J. Maier, 1985, Kinetics of microbial growth on pentachlorophenol, *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 46-53.
- 4) Avetisyan, A. V., A. V. Bogachev, R. A. Murtasina, and V. P. Skulachev, 1992, ATP -driven Na^+ transport and Na^+ -dependent ATP synthesis in *Escherichia coli* grown at low $\Delta\mu_{\text{H}^+}$. *FEBS Lett.*, 306, 199-202.

활성슬러지 혼합미생물과 *Nocardia asteroides*에 의한 폐놀화합물 분해시 양성자이온의 영향

- 5) Avetisyan, A. V., P. A. Dibrov, V. P. Skulachev, and M. V. Sokolov, 1989, The Na⁺-motive in *Escherichia coli*, *FEBS Lett.*, 254, 17-21.
- 6) Dimroth, P., 1987, Sodium ion transport de-carboxylases and other aspects of sodium ion cycling in bacteria, *Microbiol. Rev.*, 51, 320-340.
- 7) Hilpert, W., B. Schink, and P. Dimroth, 1984, Life by a new decarboxylation-dependent energy conservation mechanism with Na⁺ as coupling ion, *EMBO J.*, 3, 1665-1680.
- 8) Mayer, F. L. Jr. and M. R. Ellersieck, 1988, Experiences with single-species tests for acute toxic effects in freshwater animals, *Ambio.*, 17, 367-375.
- 9) Sprague, J. B., 1985, Factors that modify toxicity, In Fundamentals of aquatic toxicology, G. M. Rand and S. R. Petrocelli (eds.), Hemisphere, Washington, D.C., USA., 124-163pp.
- 10) Shea, P. J., J. Weber, and M. R. Overcash, 1983, Biological activities of 2, 4-dinitrophenol in plant-soil systems, *Residue Rev.*, 87, 2-41.
- 11) Gundersen, K. and H. L. Jensen, 1956, A soil bacterium decomposing organic nitrocompounds, *Acta Agric. Scand.*, 6, 100-114.
- 12) Lenke, S., D. H. Pieper, C. Bruhn, and H. J. Knackmuss, 1992, Degradation of 2,4-Dinitrophenol by Two *Rhodococcus erythropolis* Strains, HL 24-1 and HL 24-2, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 2928-2932.
- 13) Silverstein, J., T. F. Hess, N. A. Mutaari, and R. Brown, 1994, Enumeration of toxic compound degrading bacteria in a multi-species activated sludge biomass, *Water Sci. Technol.*, 29, 309-316.
- 14) American Public Health Assoc., American Water Works Assoc., and Water Environ. Fed., 1995, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed., Washington, D.C., USA.