

PAHs의 생물학적 처리를 위한 분해 미생물 분리 동정

김 만 · 최경균 · 고명진 · 박정훈*
전남대학교 공과대학 환경공학과

PAHs Degrading Bacterium Separation and Identification for Biological Treatment

Man Kim · Kyoung-Kyoon Choi · Myong-Jin Go · Jeong-Hun Park*
Department of environment Engineering, Chonnam National University

ABSTRACT

Pseudomonas sp. KM1 was separated from soil contaminated by petroleum and identified. The isolated strain is Gram-positive, rod-shaped and immotile. In batch culture, the optimum cultivation temperature and pH was 35°C and 7, respectively. Biodegradation of PAHs experiment with soil slurry system was performed using *Pseudomonas* sp. KM1. *Pseudomonas* sp. KM1 could degrade 7 PAHs including naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, pyrene, and fluoranthene. These mixed PAHs was easily degraded within one day except fluoranthene, which was degraded much slowly, taking several days by this isolated bacteria. *Pseudomonas* sp. KM1 is good candidate for bioremediation of PAHs contaminated soils. Biodegradation rates of naphthalene, phenanthrene and pyrene in soils were different at each soil, and the rates were decreased as sorption capacity increased.

Key words : PAHs, *Pseudomonas* sp. KM1, contaminated soil, Bioremediation, Sorption, Desorption.

요 약 문

토양에 존재하는 다핵방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)의 처리를 위하여 자연계로부터 분리된 균주는 *Pseudomonas* sp로 동정되었으며, 이 균주를 KM1으로 명명하였다. 균주의 최적 성장조건은 희분식 배양에서 35°C, pH 7로 나타났다. 분리균주 *Pseudomonas* sp. KM1에 의한 7-PAHs(naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene)의 분해실험결과 배양 1일 만에 fluoranthene을 제외한 naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene and pyrene 이 분해됨을 확인할 수 있었다. 그리고 토양유무에 따른 PAHs 분해실험 결과, 흡착분배계수와 유기물함량(%)이 큰 실험방이 경방이나 봉동보다 분리균주에 의한 생분해율(%)이 낮았다. 토양에 오염된 유기화합물의 분배특성과 토양 내 유기물함량(%)이 오염된 토양의 생물학적 처리효과에 영향을 미치는 중요한 인자인 것으로 나타났다.

주제어 : 다핵방향족탄화수소, KM1, 생물정화, 오염토양, 토양복원

1. 서 론

오늘날 급격한 산업화와 공업화로 인해 유해화학물질의 종류와 수는 매년 증가하고 있으며, 이러한 유해물질들의 부적절한 사용은 심각한 환경오염을 야기 시키고 있다

(Hicks and Caplan, 1993). 토양이나 수계 등 자연계에 노출된 유해물질들은 그 종류와 특성이 매우 다양하며, 자연적으로 존재하는 미생물들에 의해 분해되어 없어지거나, 분해되지 않고 오랜 기간동안 생태계에 잔류하게 된다. 이러한 유해물질들 중 농약, 중금속 및 다핵방향족탄화수소

*Corresponding author : parkjeol@chonnam.ac.kr

원고접수일 : 2007. 9. 17 게재승인일 : 2007. 11. 14
질의 및 토의 : 2008. 2. 29 까지

(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)등이 토양으로 유입되면 그 오염범위와 정도를 쉽게 파악하기가 어렵다. 이들은 토양에서 축적성 오염 형태를 나타내며, 물질 전달이 느려 장기간에 걸쳐 생태계에 오염을 유발시킨다(Menzie et al., 1992; Suess 1976). 또한 토양에 흡착된 오염물질이 자연적 또는 인위적인 원인에 의해 다시 이동하게 되면, 2차 토양오염 또는 지하수 오염현상이 나타나게 된다.

다핵방향족탄화수소는 자연적으로 분해가 잘 되지 않아 장기간 동안 환경 내에 존재하며 그 피해가 지속되지만, 효율적인 대처 방안이 없다. 최근의 유류 선박 사고에 의한 유류 유출로 인한 바다 오염과 해안 토양의 오염은 그 피해가 막대할 뿐만 아니라 복구에도 엄청난 시간과 비용이 소비되어 효과적인 오염 처리대책 개발이 절실하다(김태승, 신선경, 2001). 오염토양의 정화기술 개발에 대한 필요성이 인식되면서 많은 연구가 수행되었는데 이들 대부분은 물리화학적 처리에 큰 비중을 둔 것으로, 많은 비용과 장비들을 필요로 하며 2차 오염을 일으킨다는 점에서 궁극적인 오염물질 제거방법이라 할 수 없다. 이에 비해 생물학적 처리방법은 오염물질을 분해 무기화 하며, 2차 오염을 줄이며, 보다 경제적인 방법으로 알려져 있다. PAHs 중 나프탈렌(naphthalene)과 같은 저 분자량의 다핵방향족 탄화수소는 미생물에 의해 분해가 되지만, 페난트렌(phenanthrene)과 피렌(pyrene)과 같은 고 분자량의 다핵방향족 탄화수소는 미생물에 의해 잘 분해가 되지 않아 자연적인 정화가 쉽지 않기에(Guo et al., 2005), 페난트렌과 같은 고 분자량의 다핵방향족 탄화수소를 분해할 수 있는 균주를 확보하는 것이 시급하며 현재 다핵방향족 탄화수소를 분해하는 여러 종의 균주들이 연구 되어오고 있다(조용말 등, 2002; Vokering et al., 1992).

본 연구에서는 오염된 토양을 생물학적 복원기술로 처리하기 위한 기초연구로 PAHs를 분해하는 미생물을 유류로 오염된 토양으로부터 분리·동정하고, 분리된 균주의 성장에 영향을 미치는 인자의 최적조건을 도출하고자 하였으며, 분리된 균주를 이용하여 PAHs의 분해능을 평가하였다. 또한 토양 슬러리 시스템을 이용하여 토양유기물 함량에 따른 오염물의 흡착특성 및 생물학적 분해도를 관찰하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 균주의 분리 및 배지 조성

PAHs 분해균 분리를 위해 전남 여수산단에서 유류 오염된 토양을 채취하여 균 분리원으로 사용하였다. 균 분리 및 PAHs 분해능 실험에 사용된 배지(Mineral Salt

Medium)의 조성은 증류수 용액 1 L당 KH_2PO_4 3.4 g, Na_2HPO_4 3.55 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g, Hunter mineral Base 10 mL이다. Hunter mineral Base은 증류수 용액 1 L당 Nitrotriacetic acid 10.0 g, MgSO_4 14.45 g, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.00925 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3.335 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.099 g, Stock salts solution 50 mL이다(Gerhardi et al. 1994). 균주의 분리방법은 다음과 같다. 먼저 채취한 토양 1g을 yeast 1%(w/v)을 포함한 MSM 액체배지 10 mL에 호기적 조건으로 35°C, 150 rpm으로 수일동안 성장시켜 대조군과의 탁도 차이를 통해 균주의 성장을 확인하였다. 성장이 확인된 균주들은 naphthalene을 탄소원으로 하는 신선한 최소염배지에 3회 이상 계대배양하여 원하는 균주를 분리하고자 하였다. 배양으로 얻어진 단일 콜로니는 고체의 한천배지에 스트리킹(streaking)함으로써 원하는 균주를 순수분리 할 수 있었다. 한편 분리된 균을 본 연구에 사용하기 위하여, 계대 배양액을 탄소원으로 naphthalene을 포함한 MSM배지 100 mL에 1 mL를 접종하여 성장시켰으며, 균의 성장정도는 탁도와 색의 변화를 통하여 파악하였고, 대수성장기 말에 있는 균을 실험에 사용하였다.

2.2. 균주의 동정

PAHs 분해 균주에 관한 동정은 그람염색을 통한 현미경상에서의 형태학적 관찰과 API 20E kit를 이용한 생화학 특성 검사를 하였으며, 분리균의 형태는 전자 현미경(SEM, DSM940A, Germany)을 이용하여 관찰하였다.

2.3. 균주의 배양

전배양은 300 mL 삼각플라스크에 배지 100 mL, 탄소원인 naphthalene 0.1%(w/v)와 분리된 strain KM1을 접종하여 35°C, 150rpm에서 2일간 호기적으로 배양하였다. 본 배양은 전 배양과 같은 조건으로 배양액의 1%(v/v)를 새로운 배지에 접종하여 배양하였으며, 균주의 성장은 UV-visible spectrophotometer로 파장 600 nm에서 측정하였다.

2.4. PAHs 분해능 분석

분리균주에 의한 PAHs의 분해능을 알아보기 위해 7종류(naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, pyrene, fluoranthene) PAHs를 사용하였다. 실험방법은 다음과 같다. 4.2 mL 스크류 바이얼에 액상의 PAHs 초기농도 범위가 90~2400 $\mu\text{g/l}$ 를 갖도록 TCL PAHs Mix(SUPELCO 4-9156) 10 μl 를 넣은 후 시간에 따른 분해율을 분석하였다. 균주 배양액 15 mL를

centrifuge tube에 넣고, 3000 rpm에서 10분간 원심분리한다. 원심 분리 후 상등액은 버리고, 다시 멸균된 인산염 완충(20 mM, pH 7.0) 용액을 주입하여 혼합하고 원심 분리하는 과정을 3회 반복하여 기질로 이용되었던 naphthalene을 제거하고 균주를 세척 하였다. 세척된 균주는 OD(600 nm)값이 1.0 (5.7×10^8 CFU) 이상이 되도록 조절하고 다핵방향족 탄화수소로 오염된 4.2 mL vial에 0.1 mL씩 멸균된 syringe를 이용하여 접종하였다. 이후 25°C, 150 rpm에서 1일, 3일 또는 5일간 배양하고 원심 분리한 후 HPLC 분석용 1 mL vial에 옮겨 상등액의 PAHs의 농도를 HPLC(YOUNG LIN M930, M 730D, Supelcosil LC-PAH 15 cm \times 4.6 mm(5 μ m), acetonitrile : water(90 : 10), UV/VIS 254 nm, flow rate 1.2 mL/min)를 이용하여 분석하였다.

2.5. 토양 슬러리에서의 PAHs의 분해

토양에서 분리균주의 다핵방향족 탄화수소(naphthalene, phenanthrene pyrene)의 분해특성을 알아보기 위해 토양슬러리 시스템을 이용하여 실험을 수행하였다. 4.2 mL vial에 유기물 함량과 토성이 다른 3가지 토양을 각각 0.4 g씩 그리고 멸균된 인산염완충액(20 mM, pH 7.0) 4 mL을 넣고, 초기 용액의 농도가 나프탈렌(naphthalene)은 4 ppm, 피렌(pyrene)과 페난트렌(phenanthrene)은 3ppm이 되도록 각각 오염시켰다. 오염된 vials 는 25°C, 150 rpm에서 48시간 진탕하여, 오염물질이 흡착평형에 이르게 한 후 균주를 주입하여 오염물질의 생물학적 분해를 수행하였다. 균주 주입 하루 후 상등액 및 토양에 흡착된 PAHs 추출액의 농도를 HPLC를 이용하여 측정하고, 초기 주입농도 및 이들 용액 농도로 부터 균주에 의해 분해된 PAHs의 양을 계산하여 분해율(%)을 구하였다. 한편 PAHs의 토양 흡착량을 알아보기 위하여 상등액을 제거한 후, methanol 4 mL를 주입하여 이를 동안 충분히 추출시켜 탈착액의 오염물질 농도를 계산하여 토양에 흡착된 PAHs의 양을 결정하였다.

2.6. 실험토양

광주광역시에서 채취한 3종류의 토양(신동방, 경방, 봉동)을 실험에 사용하였다. 사용된 토양은 표면의 잡초나 유기물 층을 제거한 후 표토층(0~15 cm)으로부터 채취하여 그늘에서 건조한 후 2 mm 체를 통과시켰다. 한편 토양의 화학적 특성을 파악하기 위해 pH는 1 : 5법으로 측정하였다. 유기탄소(Organic Carbon, OC) 함량은 TOC analyzer (SSM-5000A, Shimadzu)를 이용하여 분석하였다. Table 1은 실험에 이용된 토양의 특성을 나타내고 있다.

Table 1. Properties of the soils used in this study

Soils	pH (1 : 5)	TOC %	Sand %	Silt %	Clay %
신동방	6.1	1.742	75.5	17.1	7.4
경방	6.3	0.658	64.3	24.5	11.3
봉동	5.9	0.668	24.1	38.7	37.2

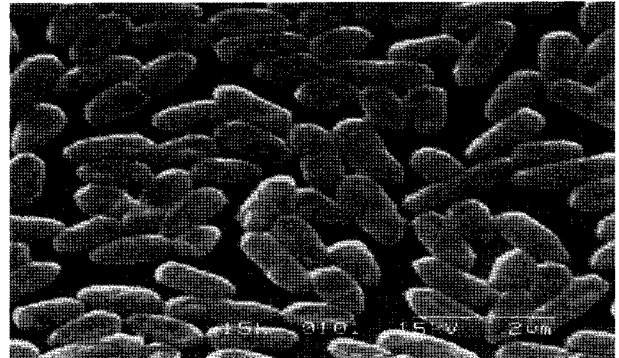


Fig. 1. The morphological observation of strains by SEM.

2.7. 흡착실험

흡착실험방법(Park et al., 2003; Sharer et al., 2003)은 3.8 mL의 인산염완충액(20 mM, pH 7.0)과 각각 토양을 1 : 10의 일정한 비율로 혼합하여 4.5 mL 마개가 있는 유리용기에 넣은 후 naphthalene, phenanthrene의 경우 초기농도 범위가 0~7 mg/L를 갖도록, pyrene의 초기농도는 0~4 mg/L가 되도록 일정량의 stock(in methanol)용액을 주입하였다. 유리용기의 빈공간은 1 mL 미만이었다. 유리용기는 테프론으로 처리된 뚜껑으로 막고 25 \pm 2°C로 유지되는 항온 교반기 넣어 6 rpm에서 24시간 동안 진탕하여 흡착평형에 이르게 하였다. 진탕 후 3000 rpm에서 10분 동안 원심분리 시키고, 상등액 1 mL를 시료에서 취해 오염물질의 농도를 액상크로마토그래피(HPLC)로 확인하였다. 흡착된 오염물질의 양은 초기농도에서 나중 액상농도의 차이로 각각의 흡착된 PAHs의 농도를 결정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 분리균주의 동정

본 연구에서는 분리균주 KM1을 한천 배지에서 배양한 후 전자현미경으로 관찰한 결과 세포의 형태가 Fig. 1과 같이 간균이었고, 운동성은 없었다. API 20E test kit(bio Merieux, France)를 이용하여 생화학 시험을 토대로 생리학적 성질을 조사한 결과 분리된 균은 Gram 음성이고, catalase 시험 및 VP 시험에 양성이며, oxidase 시험에 음성이며, H₂S는 생성하지 않았다(Table 2). 한편 kit에

Table 2. Morphological and physiological characteristics of isolated strains

Characteristics	strain
Morphology	
Gram stain	+
Shape	Rod
Physiology	
VP test	+
Gelatin liquefaction	-
Production of indole	-
Utilization of citrate	+
Urease	-
Arginine dehydrase	-
Ornithine decarboxylase	-
Lysine decarboxylase	-
Nitrate reduction	-
Production of H ₂ S	-
Acid form	
Glucose	-
Mannitol	-
Inositol	-
Sorbitol	-
Rhamnose	-
Sucrose	-
Melibiose	-
Amygdalin	-
Arabinose	-

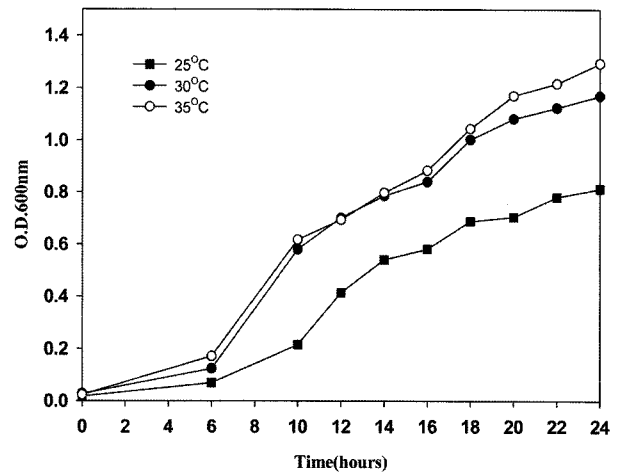
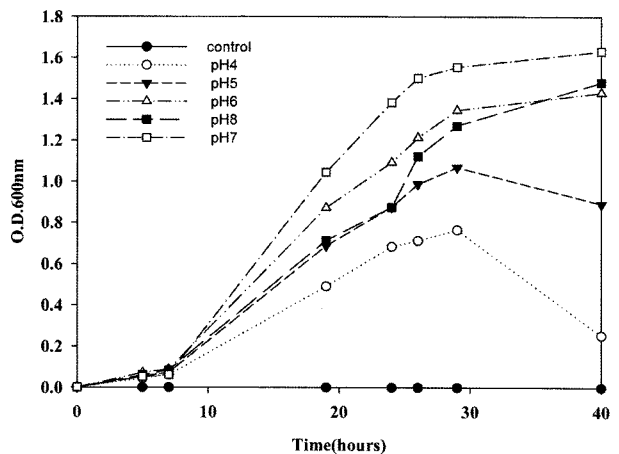
나타난 결과를 토대로 탄소원 이용성을 조사한 결과 Glucose, Mannitol, Sorbitol, Sucrose, Amygdalin, Arabinose, Insitol 등은 이용하지 못하였다. 이상의 형태 및 생리학적 특성을 토대로 분리된 균주를 *Pseudomonas* sp. KM1로 명명하였다.

3.2. 온도 및 pH의 영향

Fig. 2는 초기 배양배지의 온도를 25°C에서 35°C까지 변화시켜 온도가 균체성장에 미치는 영향에 대한 실험을 수행하였다. 균체성장은 30°C와 35°C에서 비슷한 수준에서 나타났으나 25°C에서는 성장이 상당히 낮게 나타났다. 한편 초기 pH가 균체성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 pH 4에서 8까지의 조건에서 실험을 수행한 결과, Fig. 3에서와 같이 pH 4에서는 균체의 성장이 상당히 낮았으며, pH 7에서 균체성장이 가장 높았다.

3.3. naphthalene 농도의 영향

균주의 탄소원으로 이용되었던 naphthalene 농도의 영

**Fig. 2.** The effect of temperature on cell growth of KM1 in LB liquid medium.**Fig. 3.** The effect of pH on cell growth of KM1 in LB liquid medium.

향을 알아보고자 control, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, 10000 ppm으로 농도를 달리하여 35°C, 150 rpm에서 분리 균주의 성장특성을 확인하였다. Fig. 4에서 확인할 수 있듯이 *Pseudomonas* sp. KM1은 1000 ppm 이상의 농도에서 성장이 잘 이루어짐을 확인할 수 있었지만, 100 ppm 이하의 농도에서는 뚜렷한 성장을 관찰할 수 없었다.

3.4. 균주에 의한 PAHs 분해

균주 *Pseudomonas* sp. KM1에 의한 7-PAHs (naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene)의 분해실험결과 Table 3에서와 같이 하루만에 fluoranthene을 제외한 naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene and pyrene 이 완전히 분해됨을 확인할 수 있었다. 한편, 시간이 지남에 따라 초기 분해가 어려웠던 3환의

fluoranthene 도 서서히 분해가 이루어져 5일째 되던 날에는 분해율(%)이 거의 100%에 이르렀다. 이는 PAHs의

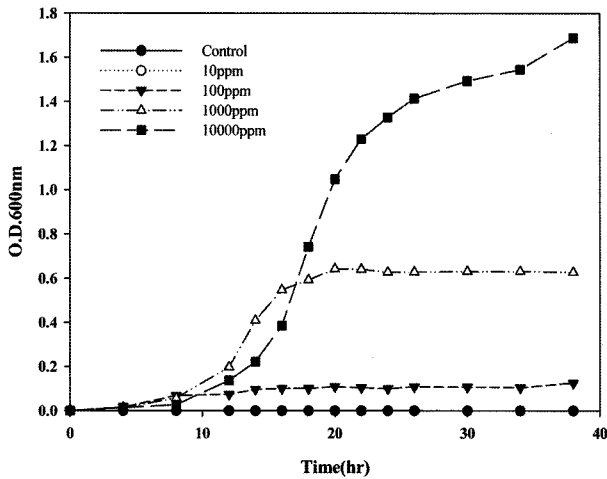


Fig. 4. The growth of isolated strain KM1 in LB liquid medium.

Table 3. Biodegradation percent of 7 mixed-PAHs in solution with *Pseudomonas* sp. KM1 as incubation time

	1일	3일	5일
Naphthalene	100	100	100
Acenaphthylene	100	100	100
Acenaphthene	100	100	100
Fluorene	100	100	100
Phenanthrene	100	100	100
Flouranthene	42.9	66.1	98.2
Pyrene	100	100	100

분해 양상은 고리수가 적은 2환의 naphthalene 이 먼저 분해되고, 3환 화합물 중에 용해도가 높은 phenanthrene, fluoranthene이 순차적으로 분해되며, 4환의 pyrene이 마지막으로 분해된다는 연구(조용말 등, 2001)와는 달리 4환의 pyrene이 3환의 fluoranthene 보다 분리 균주에 의해 먼저 분해되는 결과를 얻었다. Fig. 5는 배양 5일이 지난 후 7-PAHs의 HPLC 분석결과를 나타내는 chromatogram 으로 대조군인 균주를 넣지 않은 결과(좌)와 비교해서 다 핵방향족탄화수소의 peak가 나타나지 않았다. 이 결과로 분리된 균주 *Pseudomonas* sp. KM1은 2환-, 3환-, 4환의 고리화합물에 대한 분해능이 있음을 확인할 수 있었다.

3.5. 토양에서 분리균주의 PAHs 분해특성

Table 4는 토양이 존재하는 시료와 토양이 없는 대조군의 naphthalene, phenanthrene, pyrene에 대한 분해율(%)

Table 4. Recovery and biodegradation percent of PAHs in soil with *Pseudomonas* sp. KM1 as incubation time

Substrates	Soils	Biodegradation(%)
Naphthalene	신동방	87.90
	경방	100
Phenanthrene	신동방	33.24
	경방	48.09
	봉동	67.83
Pyrene	신동방	17.97
	경방	21.76
	봉동	60.28

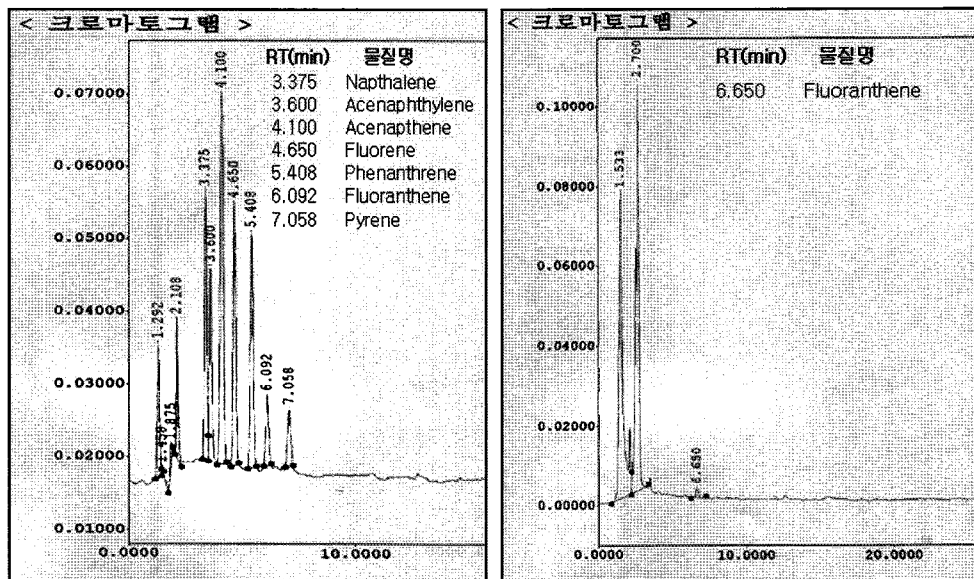


Fig. 5. HPLC chromatogram of PAHs-solution without KM1(L) and with KM1(R) after 5 day incubation.

결과이다. 기질로 첨가된 나프탈렌의 경우 각각의 토양에서 하루만에 87% 이상의 높은 분해율을 보이고 있는 반면, 페난트렌과 피렌의 경우 토양의 존재에 따라 분해율이 다양하게 나타나고 있다. 이는 유기화합물의 물리화학적 특성과 토양의 구성성분(ex, 유기물함량, 유기물의 중

류, 토성 등)이 미생물을 이용한 유기화합물처리에 관여할 수 있음을 보여준다고 할 수 있다. 한편 오염 토양에 존재하는 유기오염물질 중 PAHs는 물에 대한 용해도가 낮고, 토양에 대한 흡착력이 높아 자연 상태에서 장기간 잔존하게 되며 특히, 고분자량의 PAHs의 경우 일정부분

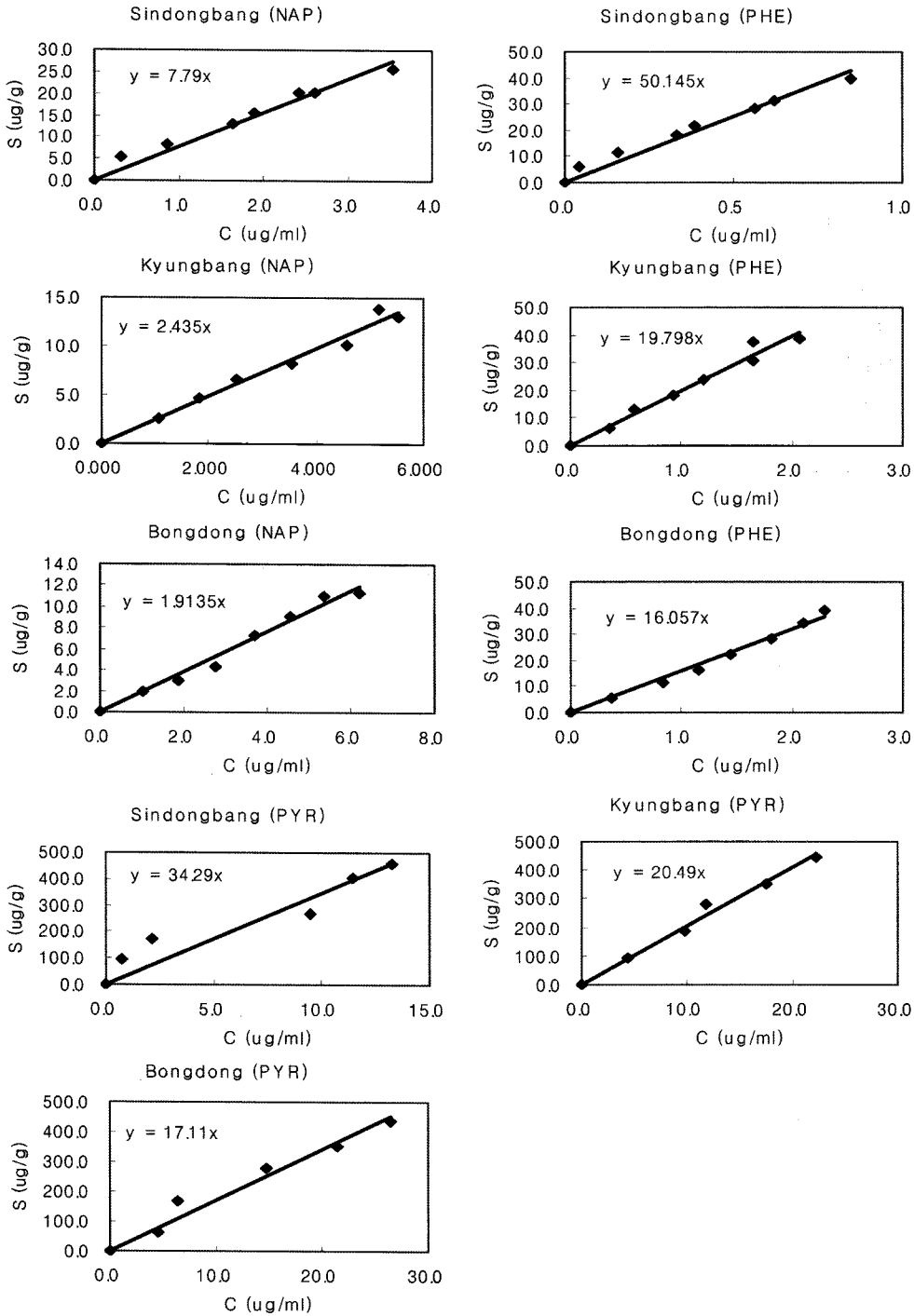


Fig. 6. Sorption isotherm of napthalene, phenanthrene and pyrene used in three soils.

은 생물학적으로 분해가 쉽지 않다는 연구 보고가 있다 (Cerniglia, 1992; Wilson and Jones, 1993; N. Chevron Cottin and G. Merlin, 2007). 하지만 본 연구에서 분리·동정된 균주 KM1은 4환의 pyrene 뿐만 아니라 각기 다른 구조를 갖는 2환의 naphthalene과, 3환의 phenanthrene 를 동시에 분해하는 것으로 나타났다. 한편 실험결과 Table 4는 상등액에 존재하는 PAHs를 하루 동안 분해한 정도를 측정하여 분해 시간이 길어질 경우 토양에 흡착된 PAHs도 서서히 탈착 후 *Pseudomonas* sp. KM1에 의해 분해되리라 사료된다.

3.6. PAHs의 토양흡착특성과 생물학적 처리

실험 토양에 대한 naphthalene, phenanthrene, pyrene의 흡착등온선은 Fig. 6에서 나타났다. 사용한 토양에서 유기화합물의 흡착등온선은 거의 선형이었다. 한편 토양에 따른 유기화합물들의 흡착실험 결과로부터 구한 흡착분배계수(Kd)와 토양의 유기탄소함량을 고려한 분배계수(Koc)를 Table 5에 나타내었다. 나프탈렌의 경우 흡착분배계수(the distribution of coefficients, Kd) 값은 1.91~ 7.79의 범위였으며, 봉동에서 가장 낮고 신동방 토양이 가장 높게 나타났다. 페난트렌의 경우 Kd 값은 16.05~ 50.14의 범위였으며, 피렌의 경우 역시 17.11~34.28로 신동방 > 경방 > 봉동 순으로 3종의 물질 모두 유기물함량이 많은 신동방에서 Kd 값이 가장 높게 나타났다. 이는 토양 구성 성분들, 특히 유기물의 함량이 유기물화합물의 흡착에 큰 영향을 미치는 것 중의 하나라는 연구(Manilala and Alexander, 1991; 남경필김재영, 2002; 이윤국 외 2007; N. Chevron Cottin and G. Merlin, 2007)와 유사한 결과이다. 하지만 비슷한 유기탄소함량을 가진 경방과 봉동 토양들에서는 Kd 값이 차이가 있는 것을 알 수 있다. 이는 흡착에 영향을 미치는 요소가 토양의 유기물함량 뿐만 아니라 토양구성 성분들의 물리화학적 특성(토양의 크기분포 및 점토의 특성)의 차이가 naphthalene, phenanthrene, pyrene의 토양흡착에 영향을 미치는 것으로 판단된다 (Pusino 외 1992; Park et al., 2001).

토양의 미네랄성분이 흡착에 큰 영향을 미치지 않으며, 토양유기물질이 흡착에 관여하는 가장 중요한 요소라고 가정할 경우, 토양유기물질의 흡착특성은 식(1)과 같이 Koc 로 나타낼 수 있다(Sharer et al., 2003; Huang et al., 1998).

$$Koc = Kd / OC(\%) \times 100 \quad (1)$$

이 실험에서 Koc의 범위는 나프탈렌에서 286.7~

Table 5. The Kd and Koc of the soils used in this study

Substrates	Soils	Kd (L/kg)	Koc (L/kg)
Naphthalene	신동방	7.79	447.3
	경방	2.44	370.3
	봉동	1.91	286.7
Phenanthrene	신동방	50.15	2878.6
	경방	19.79	3011.1
	봉동	16.06	2405.5
Pyrene	신동방	34.29	1968.4
	경방	20.49	3116.4
	봉동	17.11	2563.3

Kd: Distribution coefficient

Koc: Organic carbon normalized distribution coefficient

447.3, 페난트렌에서 2405.5~3011.1, 그리고 피렌에서 1968.4~3116.4로 토양의 유기물 함량과 및 특성 차이로 인해 편차가 조금씩 나타났다. 나프탈렌과 페난트렌의 경우 봉동에서 가장 낮았으며, 피렌은 유기물함량이 가장 높은 신동방에서 1968.4로 가장 낮게 나타났다. 한편 경방과 봉동의 유기물 함량(%)이 비슷하지만 각 유기화합물에 대한 Koc 값이 차이가 있는 것을 알 수 있었다. McCall 등에 의하면 Koc 값은 토양 중 오염물질의 이동성을 예측하는데 이용될 수 있으며, Koc 값이 5000 이상이면 토양 내 오염물질이 거의 이동하지 않고, 2000~3000 범위는 이동성이 낮다고 하였다(정현정 외 2004). 본 실험에서 Koc 값이 1000 이하인 나프탈렌의 경우 이동성이 있어 분리·동정된 균주에 의한 생물학적 처리효과가 높았지만, Koc 값이 2000~3000 내외로 다소 이동성이 적은 페난트렌과 피렌의 처리에는 효율이 낮은 것으로 나타났다. 토양에 오염된 유기오염물질은 그 물질의 물리화학적 성질에 따라서 휘발(volatilization), 광산화(photooxidation), 지하수로의 이동 또는 토양미생물에 의한 생분해(biodegradation) 등에 의해 토양으로부터 제거된다 (Alexander 1981). 오염물질 제거에 가장 큰 기여를 하는 것으로 알려진 생물분해(biodegradation)는 오염물질을 분해하는 미생물이 존재한다면 오염물질이 미생물에게 이용될 수 있는 상태로 존재하느냐를 파악하는 것이 가장 중요한 요소이다. 따라서 PAHs로 오염된 토양의 효과적인 처리에 분리·동정된 균주 KM1을 이용하기 위해서는 생물학적 처리에 많은 영향을 미치는 오염물질과 토양사이의 흡탈착 특성, 즉 거동을 파악하는게 처리하고자 하는 오염물질의 생분해도를 예측하고 결정하는데 큰 영향을 미치게 될 거라고 사료된다.

4. 결 론

유류로 오염된 토양에서 많이 발견되는 PAHs는 생분해하기 어려운 화합물로 알려져 있다. 본 연구에서는 국내 유류 오염토양에서 PAHs 분해 균주를 분리하였으며, 분리된 균주는 *Pseudomonas* sp로 동정되었으며, KM1으로 명명하였다. 균주의 최적 성장조건은 회분식 배양에서 35°C, pH 7로 나타났다. 분리균주 *Pseudomonas* sp. KM1에 의한 7-PAHs(naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene)의 분해실험결과 배양 1일 만에 fluoranthene을 제외한 naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene and pyrene 이 분해됨을 확인할 수 있었다. 토양유무에 따른 PAHs 분해실험 결과, 흡착분배계수와 유기물함량(%)이 큰 실험방이 경방이나 봉동보다 분리균주에 의한 생분해율(%)이 낮았다. 토양에 오염된 유기화합물의 분배특성과 토양 내 유기물함량(%)이 오염된 토양의 생물학적 처리효과에 영향을 미치는 중요한 인자인 것으로 나타났다.

사 사

이 논문은 2005년도 산업자원부 기초전력연구원의 지원(R-2005-7-049-01)에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

김태승, 신선경, 2001, 환경중의 다환방향족탄화수소류의 배출 및 분석 현황, *Analytical Science & Technology*.

남경필, 김재영, 2002, 생물학적 이용성과 Aging이 오염토양의 정화수준 결정에 미치는 영향, *대한환경공학회*, **24**(11), 1975-2000.

이윤국, 김해영, 김만, 박정훈, 2007, 토양에 따른 나프탈렌의 흡착 특성, *한국폐기물학회*, **24**(3), 251-258.

정현정, 도원홍, 이민희, 옥근, 2004, 토양특성에 따른 benzene, TCE, 1,2-dichlorobenzene, lindane의 흡착 특성연구, *지질학회지*, **40**(2), 241-254.

조용말, 조기철, 강지순, 조상원, 오광중, 2001, PAHs로 오염된 토양복원을 위한 *Pseudomonas* sp. 의 분해특성에 관한 연구, *대한환경공학회*, **23**(12), 2077-2086.

조용말, 조기철, 강지순, 정종현, 오광중, 2002, 회전생물반응기를 이용한 PAHs 오염토 양복원에 관한 연구, *대한환경공학회*, **24**(11), 1965-1974.

Alexander, M., 1981, *Biodegradation of chemicals of environmental concern*, *Science*, **211**, 132-138.

Arocha, A.P., Maroo, A.T., and Ben, J.M., 1996, Adsorption kinetics of Toluene on Soil Agglomerates: Soil as a Biporous Sorbent, *Environmental Science and Technology*, **30**(5), 1500.

Cerniglia, C.E., 1992, Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation*, **3**, 351-358.

Gerhardi, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A., and Krieg, N.R., 1994, *Methods for General and Molecular Bacteriology* American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Guo, C.L., Zhou, H.W., Wong, Y.S., and Tam, N.F.Y., 2005, Isolation of PAH-degrading bacteria from mangrove sediments and their biodegradation potential, *Marine Pollution Bulletin*.

Hicks, B.N. and Caplan, J.A., 1993, Bioremediation: A natural solution, *Pollution Engineering*, **25**(2), 30-33.

Huang, W., Yu, H., and Weber, W.J., Jr., 1998, Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soil and sediment. 1. A comparative analysis of experimental protocol, *Journal of Contaminant Hydrology*, **31**, 129-148.

Menzie, C.A., Potocki, B.B., and Santodonato, J., 1992, Exposure to carcinogenic PAHs in the environment, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1278-1284.

Manilal, V.B. and Alexander, M., 1991, Factors affecting the microbial degradation of phenanthrene in soil, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 401-405.

Chevron Cottin, N. and Merlin, G., 2007, Study of pyrene biodegradation capacity in two types of solid media, *Science of the Total Environment*, **380**, 116-123.

Park, J.H., Feng, Y., Ji, P., and Thomas, C.V., 2003, Assessment of Bioavailability of Soil-Sorbed Atrazine, *Applied and Environmental Quality*, **32**, 1385-1392.

Pusino, A.W.L. and Gressa, C., 1992, Influence of organic matter and its clay complexes on metoachlor adsorption on soil, *Pesticide Science*, **36**, 283-286.

Sharer, M., Park, J.H., Voice, T.C., and Boyd, S.A., 2003, Aging effect on the sorption-desorption characteristics of Anthropogenic Organic Compound in Soil, *Journal of Environmental Quality*, **32**, 1385-1392.

Suess, M.J., 1976, The environmental load and cycle of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Sci. Total Environ*, **6**, 239-250.

Wilson, S.C. and Jones, K.J., 1993, Bioremediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): review., *Environ Pollut*, **81**, 229-249.