

아스팔텐의 미생물 분해 연구동향

오경석^a, 이종범^b, 김유진^c, 박주일^{d†}

Brief Review on the Microbial Biodegradation of Asphaltenes

Kyeongseok Oh^a, Jong-Beom Lee^b, Yu-Jin Kim^c, Joo-Il Park^{d†}

(Received: Apr. 19, 2024 / Revised: May. 3, 2024 / Accepted: May. 15, 2024)

ABSTRACT: It was known that crude oil can be mainly divided into saturates, aromatics, resins, and asphaltenes. If microbial biodegradation of asphaltenes is effectively viable, additional oil production will be expected from depleted oil reservoir. Meanwhile, biodegradation can be applied to other aspects, such as the bioremediation of spilled oil. In this case, the biodegradation of asphaltenes also plays an important role. It has been already reported that asphaltenes are decomposed by bacterial consortia. However, the biodegradation mechanism of asphaltenes has not been clearly presented. The major reason is that the molecular structure of asphaltenes is complicated and is mainly in a aggregated form. In this paper, it was presumed that the biodegradation process of asphaltenes may follow the microbial oxidation mechanism of saturates and aromatics which are easier biodegradable than asphaltenes among the crude oil components. In other words, the biodegradation process was explained by serial stages; the contact between asphaltenes and bacteria in the presence of biosurfactants, and the decomposition of alkyl groups and fused-rings within the asphaltene structure.

Keywords: Asphaltene, Biodegradation, Bacterial Consortia, Biosurfactant, Oxidation

초 록: 원유성분은 크게 saturates, aromatics, resins, 그리고 asphaltenes(아스팔텐)으로 나눌 수 있다. 미생물을 이용한 아스팔텐의 생분해가 가능할 경우, 폐유전으로부터 추가적인 원유생산이 기대된다. 한편, 다른 용도인 유출유 처리를 위해서도 미생물을 이용한 유분의 생분해를 시도할 수 있는데, 이 경우에도 아스팔텐의 분해는 중요한 역할을 한다. 이미 아스팔텐이 박테리아 군체를 통해 생분해되는 특성은 보고되어 있다. 그러나, 아스팔텐의 분해 메커니즘에 대해서는 아직까지 뚜렷하게 제시되지는 않았다. 가장 큰 이유로는 아스팔텐의 분자구조가 복잡하고, 주로 응집형태로 존재하기 때문이라 할 수 있다. 본 논문에서는 상대적으로 원유내 생분해가 유리한 saturates와 aromatics의 산화반응 메커니즘에 기초하여, 아스팔텐의 분해과정을 추정하였다. 즉, 아스팔텐은 생계면활성제에 의해 박테리아와 접촉하고, 아스팔텐 구조내의 알킬기의 분해, 그리고 접합고리의 분해로 이어지는 단계적 생분해 과정을 겪을 것으로 제시하였다.

주제어: 아스팔텐, 미생물 군체, 생분해, 생계면활성제, 산화반응

^a 인하공업전문대학 화학생명공학과 교수 (Professor, Dept. of Chemical and Biological Engineering, Inha Technical College)

^b 국립한밭대학교 화학생명공학과 박사과정 (Ph.D. Student, Dept. of Chemical and Biological Engineering, Hanbat National University)

^c 국립한밭대학교 화학생명공학과 석사과정 (Graduate Course, Dept. of Chemical and Biological Engineering, Hanbat National University)

^d 국립한밭대학교 화학생명공학과 부교수 (Associate Professor, Dept. of Chemical and Biological Engineering, Hanbat National University)

† Corresponding author(e-mail: jipark94@hanbat.ac.kr)

1. 서론

원유(crude oil)에 포함된 성분을 크게 분류하여 SARA(saturates, aromatics, resins, and asphaltenes) 성분으로 나눌 수 있는데, asphaltenes(아스팔텐)은 원유 회수(recovery)와 수송에서 원활한 흐름을 방해하는 주된 원인으로 꼽히는 물질이다. 전통적인 방식에서는 아스팔텐을 용해도 차이로 정의하기도 한다. 즉, 아스팔텐은 톨루엔과 자일렌과 같은 방향족 물질에는 잘 녹으며, 펜테인(n-pentane)이나 헵테인(n-heptane)에는 녹지 않는다^{1,2)}. 분자형태는 집합고리(fused-ring) 구조를 중심으로 주위에는 알킬기가 연결되어 있으며, 구성성분 중에는 탄화수소 이외에 황(S), 질소(N), 그리고 금속과 같은 이종원자(heteroatom)를 포함하고 있다. 현재까지 제시된 아스팔텐의 분자 구조는 분포된 지역마다 매우 다양하기에, 여러 분자 모델이 제시되었음에도 분자구조를 특정하기가 여전히 어렵다^{3,4)}. Fig. 1에서는 제안된 아스팔텐 모델의 구조식을 그림으로 제시하였다³⁾. 한편, 아스팔텐은 단일 분자로 분산되어 있기보다는 응집형태(aggregate)로 존재하는 경우가 많다^{1,3)}.

아스팔텐은 박테리아와 같은 미생물에 의해서 분해되는 것으로 알려져 있다⁵⁻⁸⁾. 아스팔텐의 분해가 가능하다는 사실은 크게 두가지 응용성을 갖고 있다. 첫째, 3차 회수까지 진행된 저류층(oil reservoir)에서

추가적인 원유생산이 가능하다. 원유 회수는 통상적으로 저류층의 압력에 의해서 생산되는 1차 회수, 물을 사용하여 저류층의 유분을 회수하는 방식의 2차 회수, 그리고 고온의 스팀과 고분자 물질을 활용한 회수방법인 3차 회수로 진행된다. 3차 회수 이후 미생물을 활용한 원유 회수증진법(microbial enhanced oil recovery, MEOR)이라는 명칭으로 현장에 적용이 가능하다⁵⁻⁸⁾. 3차 회수까지 진행된 저류층에는, 유분의 평균분자량이 크고 점도가 높아 유동성이 매우 낮은 상태에 있다. 박테리아와 같은 미생물이 분자량이 큰 탄화수소를 부분적으로라도 분해할 수 있다면, 유분의 유동성 증가로 이어져 추가적인 회수가 늘어날 것이다. MEOR에는 유분의 분해능이 밝혀진 미생물을 투입하는 방식의 in-situ 방식과 미생물의 대사활동으로 얻은 생계면활성제와 같은 물질을 투입하는 ex-situ 방식으로 나눌 수 있다^{7,8)}. 박테리아를 활용한 MEOR에 적용할 경우, 특히 관심이 가는 부분은 아스팔텐의 분해일 것이다. 원유에 포함된 성분 중 상대적으로 분자량이 작은 saturates와 aromatics의 생분해 메카니즘은 많이 보고되었다^{9,10)}. 이에 반하여, resins과 아스팔텐의 생분해에 대해서는 보고된 자료들이 적은 편이다^{11,12)}. 둘째로는, 박테리아를 유출유 처리에 응용할 수 있다. 이 경우에도, 분자량이 작은 saturates와 aromatics의 생분해 과정은 상대적으로 유리하게 진행될 것으로 예상된다.

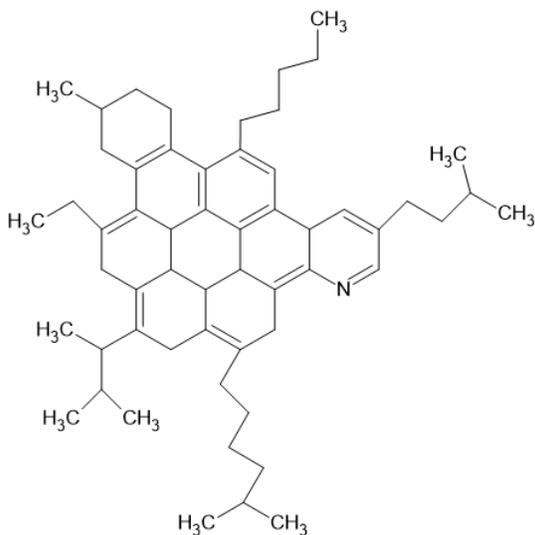


Fig. 1. One example of asphaltene molecules³⁾.

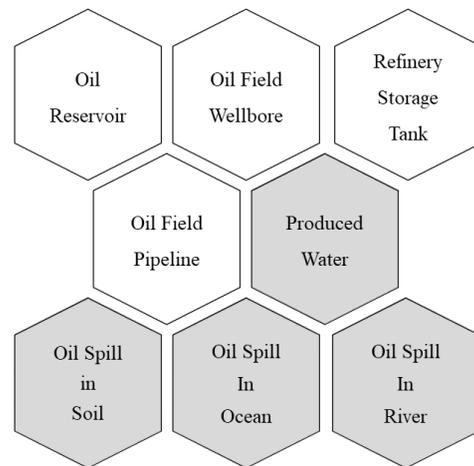


Fig. 2. Potential places where petroleum asphaltenes can be found. Here, gray color was used to emphasize the more chance of the oxidation of isolated asphaltenes.

만약, 유출유가 원유일 경우에는 아스팔텐의 분해가 진행될 경우, 생물학적 정화기능(bioremediation) 활용도가 높아질 것으로 기대할 수 있다. Saturates, aromatics와 비교하여, 아스팔텐은 생분해 메커니즘에 대해서는 아직 알려지지 않고 있다. 가장 큰 이유로, 아스팔텐의 구조가 아직까지 완전하게 정의되지 않았기 때문이다¹¹⁾. Fig. 2에는 아스팔텐이 발견될 수 있는 곳을 나열하여 나타내었다. 특히, 아스팔텐이 산화과정을 더 많이 겪을 것으로 예상되는 경우를 회색으로 표시하여 차별하여 나타내었다. 본 논문에서는, 아스팔텐의 생분해 연구들을 통해, 가능성 있는 생분해 메커니즘을 유추해 보고자 시도하였다. 아스팔텐의 구조에 바탕을 두고, 박테리아에 의한 saturates 분해와 접합고리형 aromatics의 분해 과정을 바탕으로 아스팔텐의 생분해 과정을 설명하였다. 특히, 고찰에서 아스팔텐 정량화의 어려운 문제점에 대해서 추가하여 제시하였다.

2. 본 론

2.1. 아스팔텐 특성

아스팔텐의 성분과 함량은 원유 기원(origin)에 따라서 차이가 많다. 아스팔텐은 공기 중에 노출되었을 경우 쉽게 산화된다. 산화반응이 진행된 것은, 성분 분석을 통해 알 수 있으며 초산기(-COOH)가 정량적으로 증가한다¹²⁾. Table 1에서는 아스팔텐이 있는 곳에 따라, 특성 차이를 비교하였다. 먼저, 3차 회수 후 저류층에 있는 아스팔텐은 상대적으로 고농도 조건이며, 외부에서 산소가 지원되지 않는다면 혐기성 미생물에 의한 분해가 진행될 것으로 예상

할 수 있다. 이러한 기술을 in-situ MEOR이라고 한다⁸⁾. MEOR에서 미생물과 생분해 반응이 진행된다면, 아스팔텐 분자 주위로 resins, aromatics, saturates 순서로 덮인 구조로 있기에 resins, aromatics, saturates에 비해 산화반응 정도는 낮을 것으로 예상된다. 그리고, 박테리아의 생분해 과정도 혐기성 환경에서 진행될 것으로 예상된다. 이에 반하여, 원유 이송 중 유출된 경우에는 아스팔텐의 물리화학적 산화가 이미 진행되었을 것으로 추정된다¹²⁾. 즉, 아스팔텐 분자구조를 이루는 접합고리층 외곽에 초산기(-COOH)가 생성되며 부분적인 친수성 구조를 띠게 될 것이다. 따라서, 아스팔텐은 점차 유출유 오염수 에멀전(o/w)의 오일성분 내부에서 에멀전(o/w) 경계면으로 이동하여 박테리아와의 접촉빈도가 커질 것으로 예상된다. 이후 이어지는 분해반응도 호기성 분위기에서 진행될 것으로 예상할 수 있다. Table 2에서는 박테리아 활동의 차이를 MEOR과 정화작용으로 나누어 비교하였다. 두 경우 모두, 박테리아 군체에 의한 바이오필름 형성은 예상된다¹³⁾. 산화효소의 역할은 정화작용에서 더 우세할 것으로 예상된다. 그런데, 박테리아에 의한 산화작용은 박테리아의 세포내에서 진행되는 것으로 이해할 수 있다. 아스팔텐 분자는 박테리아의 세포막을 통과하여 세포내로 유입될 것으로 예상된다⁷⁾. 만약, 세포내에서 아스팔텐이 여러 단계의 분해과정을 거친다면, 아스팔텐 내부의 탄소는 모두 CO₂로 전환되는 생광물화(biomineralization)도 가능할 것이라 예상할 수 있다.

만일, MEOR에서 미생물이 saturates, aromatics의 분해와 아스팔텐 분해가 경쟁적으로 진행된다면, 분자량이 작은 saturates, aromatics의 생분해가 더 먼저 그리고 더 많이 진행될 것으로 예상된다¹¹⁾. 또한, 일

Table 1. Comparison of Asphaltene Structure Changes before and after Oil Recovery

Cases	Before Recovery (Subsurface)	After Recovery (Open Air)
Residence of asphaltenes	Crude Oils, Bitumens	Spilled Oils In Water Or Soils
Degree of oxidation reaction in cytoplasm	Negligible	Outer Layer Of Asphaltene Fused Rings
Anaerobic or aerobic biodegradation	Mostly Anaerobic	Mostly Aerobic
Application	MEOR	Remediation
Any chances to degrade completely?	Not In This Case	If Possible, Yes

부 아스팔텐이 분해되면, 생성된 분해물은 saturate, aromatics 성분과 유사할 수 있는데, 이 물질들이 아스팔텐에서 유래한 것인지 아니면 고유성분인지 분석을 통해 구별하는 것은 거의 불가능하다. 그렇다면, 미생물에 의한 아스팔텐의 분해로 인해 생성된 분해물질을 정성적, 정량적으로 판단하기 위해서는 분리된 순수 아스팔텐(pure asphaltenes)으로 생분해를 실시하여 생성된 아스팔텐의 분해물질을 확인해야 할 것이다^{4,19)}. 그런데, 여기서도 문제가 있을 수 있다. 아스팔텐은 공기중에서 산화된다. 따라서, 원유에서 순수 아스팔텐을 분리하여 구조를 해석할 때는 주의가 필요하다. 유출유 오염수 현장에서, 아스팔텐의 산화는 더 많이 진행되었을 것이다. 산화반응의 효과는 아스팔텐 분자내의 산소원자 수 증가일 것이다. 또한, 산화반응을 통해 아스팔텐이 수용성 특성을 갖게 되기에, 아스팔텐 분자들은 오염수내의 미생물 접촉빈도가 증가할 것이다. 아스팔텐이 효소에 의한 생분해 과정이 진행되기 위해서는,

아스팔텐 분자가 박테리아 세포내로 유입되어야 할 것이다⁷⁾. 즉, 박테리아의 세포막을 통과할 수 있어야 할 것이다. Fig. 3에서는 대략적인 아스팔텐 분자 크기와 박테리아의 크기를 비교하여 개략적으로 나타내었다. 아스팔텐 분자가 단독이나 혹은 적정 수 내외로 모여 있을 경우라야 박테리아 내부로 유입이 가능할 것이다. Fig. 4에서는 아스팔텐과 박테리아가 접촉하여 아스팔텐이 생분해되는 개요도를 나타내었다. MEOR에서는 박테리아의 투입으로 박테리아와 아스팔텐이 접촉할 수 있지만, 산소가 제한적인 환경에서 박테리아의 접근은 쉽지 않을 것이다. 이때, 박테리아는 주위의 탄화수소 성분을 받아들이고 대사활동을 통해 생계면활성제를 분비할 수 있을 것이다. 주로 박테리아 군체를 형성하여 반응한다. 여러 박테리아 군체의 생계면활성제 분비는 바이오필름 형성으로 이어져, 박테리아는 아스팔텐까지 접근이 가능할 것이라 예상된다¹³⁾. 한편, 토양이나 물에 유출된 아스팔텐의 경우는 아스팔텐이

Table 2. Comparison of Bacteria Working between MEOR and Remediation

Character	MEOR	Remediation
Main Environment Of Bacteria	Anaerobic	Aerobic
Activity Of Oxidase	Not Necessarily	○
Formation Of Biofilm	○	○
Cytoplasmic Intake Of Chemicals	Not Necessarily	○
Biominingalization Capability	×	○

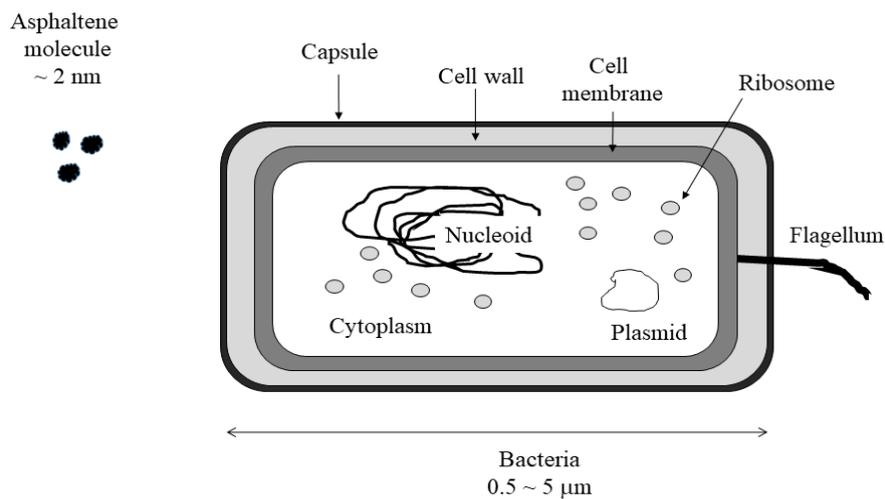


Fig. 3. Conceptual diagram of asphaltenes and bacteria.

산화과정을 거치며, 친수성과 친유성을 모두 갖는 양쪽 성질을 갖게 되어, 유출유 오염수 에멀전(o/w)의 경계면에 위치하게 될 것이다¹¹⁾. Fig. 4의 ①과 ②의 진행과정은 바이오필름 형성을 나타내었다. 만약, 박테리아의 막에 분포한 효소로 인해 아스팔텐이 부분적으로 소비될 경우, 아스팔텐은 박테리아의 세포외부에서 분해(extracellular biodegradation)가 진행될 것으로 예상된다. 이러한 경우를 ③의 진행방향으로 나타내었다. 만약, 아스팔텐이 박테리아 세포내로 유입이 된다면(④로 표시), 박테리아는 반응효소의 존재 유무에 의해 대사활동이 중지되어 세포가 죽거나, 아니면 대사활동을 진행하여 아스팔텐을 소비할 것이다. ⑤의 진행 방향에서는, 박테리아 세포내에서 일어나는 부분적인 대사활동을 나타내었다. 대사과정으로 아스팔텐이 가진 탄소를 모두 소비할 수 있다면 생광물화(biomineralization)로 분류할 수 있으며, 이를 ⑥의 진행으로 나타내었다.

2.2. 아스팔텐 생분해 사례

아스팔텐의 생분해 연구에 대해서 대표적인 사례를 Table 3에 나타내었다. Tavassoli et al.¹⁴⁾은 25종의 박테리아로부터 아스팔텐의 생분해도가 높은 종들을 선별하였다. 단일종으로는 *Bacillus lentus* TMU5-2

가 가장 높은 아스팔텐 분해율을 나타내었으며, 높은 생분해도를 가진 5개종을 선별하였다. 또한, 이들 5종으로 군체(bacterial consortia)를 구성하여 아스팔텐의 생분해 실험을 실시하였고, 약 48%의 아스팔텐 분해를 보고하였다. Jahromi et al.¹⁵⁾은 아스팔텐의 농도가 2-35g/L 농도 범위에서 4개의 서로 다른 박테리아 군체를 이용해 아스팔텐의 생분해를 시도하였다. 정지조건(static condition)과 비교하여 진탕조건(shaking condition)에서 약 51.5%까지 아스팔텐 분해를 확인하였다. Gao et al.¹⁶⁾은 원유에서 분리한 아스팔텐의 생분해와 더불어 원유내에 포함된 아스팔텐의 분해능 실험을 각각 나누어 실시하였으며, 분리한 순수 아스팔텐의 생분해도는 약 10%였던 반면, 원유내 아스팔텐의 분해는 52-72% 범위까지 높아진 결과를 보고하였다. Irají와 Ayatollahi¹⁷⁾는 계면활성제 투입을 통해, 아스팔텐의 표면을 친수성으로 개선하여 박테리아에 의한 아스팔텐의 소비를 증가시켰다. 이때, 아스팔텐은 49%까지 분해됨을 보고하였다. Navas-Cáceres et al.¹⁸⁾은 박테리아 군체를 적용하여 60g/L까지 높은 농도에서도 아스팔텐의 생분해 가능성을 확인하였으며, 상대적으로 낮은 농도인 10g/L과 20g/L에서 각각 최대 83%와 76.4%까지 아스팔텐이 분해되는 결과를 보고하였다¹⁹⁾. 생분해

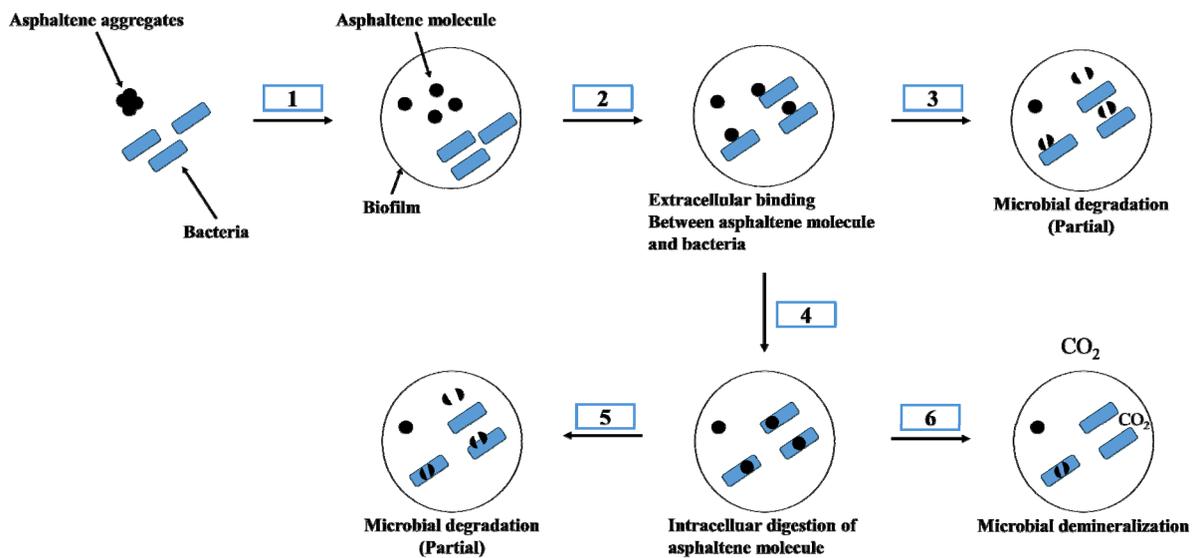


Fig. 4. Conceptual illustration of possible pathways of asphaltene aerobic biodegradation. Extracellular and intracellular biodegradation options were presented.

를 위한 단계로는, 박테리아 세포내로 아스팔텐이 유입될 수 있는가는 중요한 문제일 것이다. 원유에 함유된 saturates와 aromatics는 박테리아의 막을 통과하여 세포내에 유입되어, 세포내 산화효과에 의한 산화반응이 진행되는 것으로 알려져 있다⁷⁾.

3. 고찰

3.1. 아스팔텐 생분해 해석

Table 3에 제시한 아스팔텐의 정량은 다양한 방법으로 측정되었다. 분리한 아스팔텐을 톨루엔 용매를 이용하여 녹인 후, 분광법을 이용해 정량화를 시도하였기도 하였고^{15,17)}, 아스팔텐의 여과를 통한 무게 감량으로 생분해를 측정하기도 하였다^{14,16)}. 또한, 이산화탄소의 발생으로 아스팔텐의 생분해를 확인하기도 하였다¹⁸⁾. 여기서 생각할 수 있는 것 중에는, 아스팔텐의 분자형태가 생분해 실험 전후로 달라질

것이라는 것이다. 분해 전 아스팔텐 구조에 포함된 알카인(alkynes)기와 알켄(alkenes)기의 분해는 확실히 진행되었으나, 알데하이드(aldehyde)기의 분해는 더디게 진행된 것이 확인되기도 하였다¹⁵⁾. 즉, 생분해 실험 후 아스팔텐을 분리한 다음, 톨루엔에 녹여서 분광법을 활용하여 농도를 정량화한다고 할 경우, 생분해 실험 후의 아스팔텐의 화학구조의 차이에 의한 투과율 차이로 연결될 수 있다. 또한, 생분해 이후 아스팔텐의 용해도 차이로 인한 오차까지 포함할 경우, 아스팔텐의 정량값에 차이가 더 커질 수도 있을 것이다. 만약, 친수성이 추가된 아스팔텐은 톨루엔에 녹는 양이 줄어들고 생분해 정도가 과대 평가될 수도 있을 것이다. 그러함에도, 아스팔텐은 분자 자체가 순수한 하나의 물질이 아닌 혼합물의 형태이고, 분자의 다양성과 복잡성으로 인하여 오차는 어느 정도 감수할 수 밖에 없다고 생각된다. 이외에도, 아스팔텐은 용매상에서 영김형태를 갖는다. 농도범위가 2-5 g/L 에서도 영김형태 아스팔텐의 크기가 수 μm 에 이른다고 알려져 있다¹³⁾. 아스팔텐

Table 3. Selected Results of Asphaltene Biodegradation when Asphaltenes were used as Energy Source for Microbial Growth without Additional Supply of Bio-Based Nutrients

Strains	Degradation Of Asphaltenes	Ref.
<i>Pseudomonas spp</i> TMU2-5, <i>Bacillus licheniformis</i> TMU1-1, <i>Bacillus lentus</i> TMU5-2, <i>Bacillus cereus</i> TMU8-2, and <i>Bacillus firmus</i> TMU6-2	Five strains were screened from twenty-five asphaltene degradable strains. Asphaltene degradation was obtained up to 48% in the presence of <i>B. lentus</i> TMU5-2 and also in the presence of 5 species	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Lysinibacillus fusiformis</i>	Four different consortia were evaluated to degrade asphaltenes at the concentrations of 2-35 g/L. Up to 51.5% of asphaltene degradation was observed in shaking condition.	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Gx, Fx	Degradation of ~ 10% of pure asphaltenes and 59~72% of crude oil asphaltenes were observed.	16
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Up to 49% of asphaltene degradation was reported with the help of sodium dodecyl benzene sulfonate.	17
<i>Rhodococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Stutzerimonas</i> , <i>Cellulosimicrobium</i> , <i>Pseudomonas</i> , and <i>Paenibacillus</i>	Bacterial consortia were evaluated if highly concentrated asphaltenes can be efficiently decomposed or not. Maximum tolerance of six bacteria was observed at 60 g/L of asphaltene concentration. Asphaltene degradation was achieved up to 83% at 10 g/L of asphaltene concentration.	18
<i>Bacillus thuringiensis</i> SSL1 and <i>Bacillus cereus</i> SSSL3	Asphaltene degradation was obtained up to 67.4~76.4% at the asphaltene concentration of 20 g/L (in vitro)	19

의 단일 분자의 크기는 2-4 nm로 세포내 이동이 가능하지만, 엉킴형태 아스팔텐은 박테리아 세포막을 통과하기는 어려울 것이다. 만약, 아스팔텐의 농도가 수십 g/L의 농도에서도 박테리아에 의한 생분해가 진행되었다면, 생계면활성제의 역할을 고려해 볼 수 있을 것이다. 박테리아는 군체를 이루고 있고, 생계면활성제는 엉킴형태의 아스팔텐을 분자 수준에 가깝게 분산시키는 역할을 할 것으로 기대한다. Fig. 1에서 제시된 아스팔텐을 모델을 참조하여, 아스팔텐에 포함된 saturates와 aromatics는 각각 다른 종류의 박테리아에 의해 분해될 것으로 예상된다. 간혹, saturates와 aromatics를 동시에 분해하는 박테리아 종이 있을 수 있으나²⁰⁾, 일반적으로는 saturates를 분해하는 박테리아 군체와 aromatics를 분해하는 박테리아 군체가 다른 것으로 알려져 있다. 아스팔텐 분자에 있는 알킬기와 같은 기능기는 박테리아에 있는 수산화효소(hydroxylase)를 통해 소비될 것이며, 아스팔텐의 중심부를 이루는 접합고리부분은 외부에서부터 산화반응이 진행될 것으로 여겨진다²¹⁻²⁵⁾. Saturates의 분해과정은 최종적으로 β -oxidation을 거치며 acetyl-CoA에 의해 TCA 회로(tricarboxylic acid cycle)에서 소비될 것으로 이해되고 있다. 이후, 아스팔텐에 남아 있는 접합고리 부분은 PAH(polyaromatic hydrocarbon)와 유사할 것으로 예상하였다. 만약, 아스팔텐의 중심부 구조가 PAH와 유사한 구조일 경우, PAH의 분해과정과 유사한 산화효소에 의한 분해과정을 거칠 것으로 예상된다²¹⁻²⁵⁾. 아스팔텐 중심부는 비방향족 고리(non-aromatic rings)도 포함하고 있다. 비방향족 고리의 산화분해 반응도 PAH와 마찬가지로 초산기(-COOH) 생성으로 인해 접합고리 구조가 단계적으로 열리게 될 것으로 예상된다.

3.2. 파생 분야

박테리아의 농도가 커지기 위해서는 박테리아 군체에 포함된 박테리아들이 아스팔텐을 소비해야 한다. 그런데, 박테리아의 활동성은 매우 느리다. 이에 먹이활동에 필요한 molasse와 같은 먹이투입을 통해 박테리아의 증식 활동을 돕고, 많아진 박테리아에 의한 분해활동과 맞물릴 수도 있다⁷⁾. 만약, 아스팔텐의 생분해가 아스팔텐 내의 saturates가 먼저 분해

되고, 이후로 아스팔텐의 중심부가 PAH와 유사한 aromatics 분해가 순차적으로 진행된다면, 박테리아 군체의 단계별 투입도 고려할 수 있을 것이다. 단계적 투입을 위해서는, 분해 맞춤형 박테리아 투입을 위한 적절한 시기를 정해야 하기에 저류층의 모니터링이 필요할 것이다. 예를 들면, saturates의 분해가 진행된 후, PAH 분해에 유리한 *Bacillus* 중 박테리아에 의한 아스팔텐의 생분해를 기대할 수 있을 것이다⁹⁾. 아스팔텐의 생분해 기술은 다른 파생분야로도 활용성이 확대될 것으로 기대한다. 예를 들면, 나노플라스틱의 분해에 활용될 수 있을 것이라 예상된다. 앞서 소개하였듯, 아스팔텐의 분자 지름이 약 2-4 nm로 알려져 있다. 따라서, 아스팔텐과 나노플라스틱은 그 크기범위가 유사하다. Fig. 3에 나타난 바와 같이, 박테리아의 크기를 지름이 약 0.5-5 μ m로 생각할 수 있다. 수 나노미터 범위에 있는 작은 입자일 경우는 미생물 세포막을 통과할 수도 있을 것이다. 나노플라스틱에 의한 미생물의 활동에 대해서도 이미 알려져 있다²⁶⁾. 나노플라스틱이 박테리아와 만나기 위해서는 친수성의 박테리아가 소수성의 나노플라스틱과 만나야 하기에, 친수성과 소수성을 연결해 주는 물질이 필요할 것이다. 아스팔텐과 유사하게, EPS(extracellular polymer substrates)와 같은 물질을 방출하여 나노플라스틱과 효과적인 접촉이 가능하다. EPS라는 물질은 바이오필름을 구성하는 주요 물질이기에, 나노플라스틱과 박테리아가 접촉하기에 유리한 환경제공 역할을 한다고 할 수 있다. 이후 진행되는 과정은 세포외벽과 나노플라스틱과의 접합, 그리고, 세포내 유입을 거쳐 나노플라스틱의 분해를 예상할 수 있을 것이다. 그렇지만, 나노플라스틱의 분해를 위해서는, 맞춤형의 수산화효소와 산화효소가 필요할 것이다. 이 분야에 대한 연구는 계속 보고될 것으로 기대한다.

4. 결론

아스팔텐은 원유성분 중 분자량이 가장 큰 물질이며, 접합고리와 알킬기가 연결된 구조를 갖고 있다. 아스팔텐이 박테리아로 인해 생분해가 진행된다

면, 3차 회수까지 진행된 저류층의 추가적인 원유생산이 가능할 것이다. 또한, 원유 유출시 미생물을 활용한 정화작용 응용도 가능할 것이다. 이미, 박테리아와 같은 미생물에 의해 아스팔텐이 생분해되는 사실은 보고되어 있다. 그렇지만, 아스팔텐의 구조가 뚜렷하게 알려지지 않았기 때문에 생분해 메커니즘에 대해서는 여전히 연구과제로 남아 있다. 본 논문에서는 대표적인 아스팔텐의 분자모델에 바탕을 두고, saturates와 aromatics의 생분해 연구들을 통해 아스팔텐의 생분해 과정을 유추하여 정리하였다. 특히, 아스팔텐 특성 중에 영김현상은 잘 알려져 있다. 영김형태의 아스팔텐에 대해서는, 박테리아의 생계면활성제 분비로 아스팔텐 분자의 분산을 효과적으로 진행시킬 것으로 예상하였다. 복잡한 구조를 가진 아스팔텐의 생분해 과정은, 바이오필름 형성을 통한 분자수준으로 분산된 아스팔텐과 박테리아의 접촉, 아스팔텐 분자의 박테리아 세포막을 통과한 세포내 이동, 그리고 세포내에 내재되어 있는 효소들에 의한 분해과정으로 이어질 것으로 예상하였다. 아스팔텐의 세포내 분해과정은 saturates와 aromatics의 분해과정에 기초하여, 유사한 과정으로 진행될 것으로 예상하였다. 아스팔텐 구조에 포함된 saturates 성분이 먼저 분해되고, 계속하여 aromatics의 분해로 이어질 것으로 예상하였다. Saturates 분해에는 수산화효소에 의한 반응이 우선하며, 산화효소에 의한 분해과정을 거쳐 acetyl-CoA에 의해 소비될 것으로 예상하였다. 아스팔텐 중심부의 접합고리 부분은 산화효소에 의해 외부로부터 안쪽으로 고리구조가 열리며, 분해과정이 진행될 것으로 예상된다. 아스팔텐과 같이 분자구조가 복잡하고, 분해가 까다로운 물질에 반응하는 박테리아 군체들은 나노플라스틱 분해와 같은 환경정화에도 활용될 수 있을 것으로 기대해 본다.

사 사

이 논문은 2023학년도 국립한밭대학교 대학회계 연구비를 지원받아 작성되었음.

References

1. Oh, K., Ring, T. A., and Deo, M. D., "Asphaltene aggregation in organic solvents", *Journal of Colloid and Interface Science*, 271(1), pp. 212~219. (2004).
2. Oh, K., "Review on asphaltene architecture", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, 31(1), pp. 151~158. (2014).
3. Mullins, O. C., "The modified Yen model", *Energy & Fuels*, 24(4), pp. 2179~2207. (2010).
4. Sabbah, H., Morrow, A. L., Pomerantz, A. E., Mullins, O. C., Tan, X., Gray, M. R., and Zare, R. N., "Comparing laser desorption/laser ionization mass spectra of asphaltenes and model compounds", *Energy & Fuels*, 24(6), pp. 3589~3594. (2010).
5. Nikolova, C., and Gutierrez, T., "Use of microorganisms in the recovery of oil from recalcitrant oil reservoirs: Current state of knowledge, technological advances and future perspectives", *Frontiers in Microbiology*, 10, pp. 481081. (2020).
6. Cui, Q. F., Sun, S. S., Luo, Y. J., Yu, L., and Zhang, Z. Z., "Comparison of in-situ and ex-situ microbial enhanced oil recovery by strain *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 in laboratory sand-pack columns", *Petroleum Science and Technology*, 35(21), pp. 2044~2050. (2017).
7. Van Hamme, J. D., Singh, A., and Ward, O. P., "Recent advances in petroleum microbiology", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), pp. 503~549. (2003).
8. Oh, K., "Brief Review on Microbial Enhanced Oil Recovery", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, 38(4), pp. 1010~1019. (2021).
9. Hidalgo, K. J., Sierra-Garcia, I. N., Dellagnezze, B. M., and De Oliveira, V. M., "Metagenomic insights into the mechanisms for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the oil supply chain", *Frontiers in Microbiology*, 11, pp. 561506. (2020).
10. Olajire, A. A., and Essien, J. P., "Aerobic degradation

- of petroleum components by microbial consortia”, *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 5(5), pp. 1. (2014).
11. Nzila, A., and Musa, M. M., “Current knowledge and future challenges on bacterial degradation of the highly complex petroleum products asphaltenes and resins”, *Frontiers in Environmental Science*, 9, pp. 779644. (2021).
 12. Charrié-Duhaut, A., Lemoine, S., Adam, P., Connan, J., and Albrecht, P., “Abiotic oxidation of petroleum bitumens under natural conditions”, *Organic Geochemistry*, 31(10), pp. 977~1003. (2000).
 13. Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T. C., Tammineedi, J., Kanumuri, L., Ravuru, B. K., Ramu Dirisala, V., and Kodali, V. P., “Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review”, *Petroleum*, 4(3), pp. 241~249. (2018).
 14. Tavassoli, T., Mousavi, S. M., Shojaosadati, S. A., and Salehizadeh, H., “Asphaltene biodegradation using microorganisms isolated from oil samples”, *Fuel*, 93, pp. 142~148. (2012).
 15. Jahromi, H., Fazaelpoor, M. H., Ayatollahi, S., and Niazi, A., “Asphaltene biodegradation under shaking and static conditions”, *Fuel*, 117, pp. 230~235. (2014).
 16. Gao, H., Zhang, J., Lai, H., and Xue, Q., “Degradation of asphaltene by two *Pseudomonas aeruginosa* strains and their effects on physicochemical properties of crude oil”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 122, pp. 12~22. (2017).
 17. Iraj, S., and Ayatollahi, S., “Experimental investigation on asphaltene biodegradability using microorganism: Cell surface properties’ approach”, *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 9(2), pp. 1413~1422. (2019).
 18. Navas-Cáceres, O. D., Parada, M., and Zafra, G., “Development of a highly tolerant bacterial consortium for asphaltene biodegradation in soils”, *Environmental Science and Pollution Research*, 30(59), pp. 123439~123451. (2023).
 19. Das, S., Das, N., Choure, K., and Pandey, P., “Biodegradation of asphaltene by lipopeptide-biosurfactant producing hydrocarbonoclastic, crude oil degrading *Bacillus* spp”, *Bioresource Technology*, 382, p. 129198. (2023).
 20. Medić, A., Lješević, M., Inui, H., Beškoski, V., Kojić, I., Stojanović, K., and Karadžić, I., “Efficient biodegradation of petroleum n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic *Pseudomonas aeruginosa* strain with multidegradative capacity”, *RSC advances*, 10(24), pp. 14060~14070. (2020).
 21. Al-Hawash, A. B., Dragh, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X., & Ma, F., “Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment”, *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(2), pp. 71~76. (2018).
 22. Olajire, A. A., and Essien, J. P., “Aerobic degradation of petroleum components by microbial consortia”, *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 5(5), pp. 1. (2014).
 23. Bressler, D. C., and Gray, M. R., “Transport and reaction processes in bioremediation of organic contaminants. 1. Review of bacterial degradation and transport”, *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 1(1), pp. 20121003. (2003).
 24. Parthipan, P., Preetham, E., Machuca, L. L., Rahman, P. K., Murugan, K., and Rajasekar, A., “Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1”, *Frontiers in Microbiology*, 8, pp. 237675. (2017).
 25. Li, X., Li, H., and Qu, C., “A review of the mechanism of microbial degradation of petroleum pollution”, In *IOP conference series: Materials science and engineering*, 484(1), pp. 012060. (2019).
 26. Wang, R., Li, X., Li, J., Dai, W., and Luan, Y., “Bacterial Interactions with Nanoplastics and the Environmental Effects They Cause”, *Fermentation*, 9(11), pp. 939. (2023).