

## 유해유기물질에 대한 미생물 분해 반응식의 이론적 예측

우승한 · 박종문\*

포항공과대학교 환경공학부

### Theoretical Estimation of Stoichiometry for Biodegradation of Hazardous Organic Compounds

Seung Han Woo and Jong Moon Park\*

School of Environmental Science and Engineering, POSTECH

#### ABSTRACT

Theoretical estimation of overall stoichiometry for the microbial degradation of hazardous organic compounds is described. Half-reaction method based on microbial energetics was used in the theoretical estimation. In addition to the half-reaction method, other theoretical methods such as intermediate formation, oxygenation reaction, and estimation of the standard free energy of formation by group contribution theory were also applied. As a case study, the application of these methods was demonstrated for the estimation of microbial kinetics in the biodegradation of phenanthrene which was chosen as a model hazardous organic compound along with glucose and hexadecane. The cell yield, oxygen requirement, nitrogen requirement, and mineralization ratio could be estimated from the overall stoichiometry. It is believed that these theoretical estimation methods are useful tools for practical design and assessment of bioremediation of soil and groundwater contaminated with hazardous organic compounds.

**Key words :** biodegradation, hazardous organic compounds, model, stoichiometry

#### 요 약 문

유해유기물질의 미생물 분해시 일어나는 총괄반응을 이론적으로 예측하는 방법을 기술하였다. 열역학적 이론을 바탕으로 하는 반쪽반응 방법을 사용하였고, 최근에 도입된 이론들인 중간체 생성 반응, oxygenation 반응, 그룹이론에 의한 표준 자유생성에너지 예측기법 등을 적용하였다. 대표적인 유해유기물질인 phenanthrene과 함께 glucose, hexadecane의 미생물 분해 반응식을 실제로 계산하였다. 예측된 총괄반응식을 이용하여 미생물 수율, 산소 요구량, 질소 요구량, 무기화율 등의 정보를 얻을 수 있었으며, 이는 오염된 지하수/토양의 생물복원 공법 설계 및 자연정화 평가 등에 유용하게 적용될 수 있을 것으로 기대한다.

**주제어 :** 미생물 분해, 유해유기물질, 모델, 반응식

#### 1. 서 론

오늘날 급격한 산업화로 인해 합성 유기화학물질의 종류와 수는 매년 큰 폭으로 증가하고 있고 이러한 유해물질들의 부적절한 사용은 심각한 환경오염을 야기시키고

있다. 토양이나 수계에 노출된 유해물질들은 그 종류와 특성에 따라 자연적으로 존재하는 미생물들에 의해 완전 혹은 부분 분해되거나 그렇지 않을 경우 전혀 분해되지 않고 오랜 기간동안 생태계에 잔류하게 된다. 따라서, 특정 화학물질의 환경 위해성을 평가하고, 자연 정화 혹은 인

\*Corresponding author : jmpark@postech.ac.kr

원고접수일 : 2002. 9. 9 게재승인일 : 2003. 3. 25

질의 및 토의 : 2003. 9. 30 까지

위적인 복원 기술을 적용하기 위해서는 그 물질의 생분해 가능성과 미생물 분해 반응식에 대한 이해와 예측이 필수적이다. 특히, 최종 미생물 분해 반응식은 생물복원 (bioremediation)의 적용시 설계에 반드시 필요한 산소 요구량, 질소원 투여량, 무기화율(mineralization ratio), 미생물 개체수 증가량 등의 정보를 제공하는 중요한 도구가 된다.

전자공여체가 되는 유해유기물질의 생분해에 대한 수학적 모델링은 전형적으로 미생물 성장, 기질의 섭취, 미생물의 소멸 반응식을 포함한다. 각각의 반응속도식은 실험적 또는 이론적으로 얻어진 수율값으로 상호 연결되어 있다. 이론적인 반응관계식은 대체로 균형인자 방법(regularity method)<sup>1-3)</sup> 또는 반쪽반응 방법(half-reactions method)<sup>4-7)</sup>에 의해 만들어 질 수 있다. 균형인자 방법 중에서는 여러가지 균형상수를 비교한 결과 Gibbs energy-dissipation이 수율예측에 가장 적절하다고 보고한 바 있다<sup>8)</sup>. 그럼에도 불구하고, 이러한 균형인자 방법은 실험값 없이 순수하게 미생물 수율을 예측하기는 어렵다. 게다가 탄소가 6개 이상인 탄화수소의 경우 제대로 예측하기 어려운 것으로 보고하고 있다. 반면 반쪽반응 방법의 경우 실험값이 없는 경우에도 예측가능하며, 물리화학적 데이터가 부족한 특정물질의 경우, 중간체 생성반응이 중요한 역할을 할 경우<sup>7)</sup>, 에너지 회수 효율을 저감시키는 oxygenation 반응이 일어나는 경우<sup>9)</sup>에도 성공적으로 적용될 수 있다. 이러한 장점으로 인해 유해유기물질이 주로 분자량이 크고, 부분 분해가 흔히 일어나며, 대부분의 방향족 물질의 분해에 oxygenation 반응이 관여한다는 것을 감안하면, 이러한 반쪽반응 방법이 유해유기물질에 대한 미생물 분해 반응식의 예측과 수학적 모델링에 중요한 수단이 될 수 있다.

1969년 McCarty가 기질분해와 미생물 성장 사이의 반쪽반응에서 에너지와 전자의 물질수지에 대한 이론을 제시함으로써 전자공여체와 전자수용체에 따라 질산화, 메탄화, 발효, 복합기질반응 등과 같은 다양한 환경조건을 가지는 미생물 반응에 대해서도 하나의 이론으로 각각의 총괄반응식을 예측할 수 있게 되었으며 계산사례는 일반 환경공학 교재에 잘 기술되어 있다<sup>10)</sup>. 따라서, 본 기고에서는 반쪽반응 방법<sup>4,5)</sup> 기초하여 근래에 수정 보완된 방법들 즉, 중간체 생성반응<sup>7)</sup>과 oxygenation 반응<sup>9)</sup>을 중심으로 유해유기물질의 미생물 분해 반응식의 예측방법을 기술하고자 한다. 또한, 표준 자유생성에너지 데이터가 부족한 물질에 대해 그룹이론을 적용하여 예측하는 방법도 함께 다룰 것이다<sup>11,12)</sup>. 본고에서는 실례로서 대표적인 유

해유기물질로서 방향족 탄화수소의 하나인 phenanthrene을 대상으로 기술하고자 한다.

## 2. 본 론

### 2.1. 물질수지와 에너지 수지

#### 2.1.1 Mineralization

미생물은 기질의 산화 환원 반응을 통해 세포합성과 이에 필요한 에너지를 얻는다. 일반적으로, 전자공여체(electron donor)가 산화되어 유효전자(available electron)를 방출할 때, 전자의 일부( $f_s^o$ )는 세포의 합성에 사용되고 다른 일부( $f_e^o$ )는 이에 필요한 에너지를 생산하기 위해 전자수용체(electron acceptor)로 전달된다. Fig. 1(a)에 이러한 전자와 에너지의 흐름을 도식화하였다.

세포의 합성만을 고려할 때, 전자공여체로부터 전자수용체로 전달되면서 생산된 에너지는 세포의 합성에 투자된 에너지와 동일하다. 즉, 다음과 같은 에너지 수지식이 성립된다<sup>4,5)</sup>.

$$-f_e^o K \Delta G_r^{\circ'} = f_s^o \Delta G_{syn}^{\circ'} \quad (1)$$

여기서,  $\Delta G_r^{\circ'}$ 는 에너지 생성반응의 표준자유에너지,  $\Delta G_{syn}^{\circ'}$ 는 세포합성 반응의 표준자유에너지,  $K$ 는 에너지 전달효율이다. 식 (1)은 전자공여체에서 전자수용체로 전달되는 전자당량의  $f_e^o$  분율이 세포 전자당량의  $f_s^o$  분율 만큼의 세포합성에 투자되는 것을 의미한다. 세포합성과 에너지 생산 사이의 전자흐름의 비율을  $A$ 라고 정의하면 식은 다음과 같다.

$$A = \frac{f_e^o}{f_s^o} = -\frac{\Delta G_{syn}^{\circ'}}{K \Delta G_r^{\circ'}} \quad (2)$$

다음으로 전자수지를 고려하면, 기질의 완전 무기물화(mineralization) 반응에서는 전자공여체의 전자는 전자수용체로 전달되거나 세포합성으로만 사용되므로 다음과 같은 관계가 성립한다<sup>4,5)</sup>.

$$f_e^o + f_s^o = 1 \quad (3)$$

식 (2)에서  $A$  값을 알면 다음과 같은 식으로부터  $f_s^o$ 와  $f_e^o$ 를 동시에 구할 수 있다.

$$f_s^o = \frac{1}{1+A} \quad \text{and} \quad f_e^o = \frac{A}{1+A} \quad (4)$$

#### 2.1.2 중간체 생성

Fig. 1(b)와 같이 전자공여 기질이 완전 무기물화되지 않고 중간체가 생성될 경우는 전자수지의 수정이 필요하

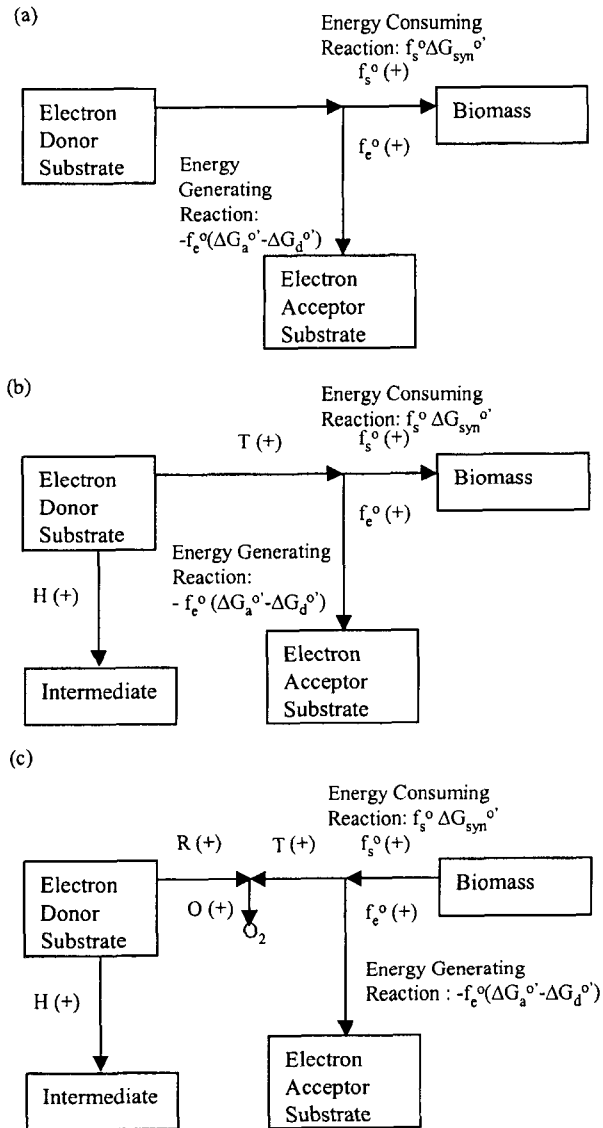


Fig. 1. Electron and energy flows for biodegradation of an electron-donor substrate. (a) complete mineralization, (b) intermediate formation, (c) oxygenation reaction. (a) and (b) are the figures from ref. 9.

다. 유효전자 중에서 에너지 생산 혹은 세포합성으로 사용되는 분율을  $T$ (Transfer)라 하고, 중간체로 보유되는 분율을  $H$ (Hold)로 정의하면 다음 전자수지가 성립한다<sup>7)</sup>.

$$T + H = 1 \tag{5}$$

$$f_e^o + f_s^o = T \tag{6}$$

식 (4)와 마찬가지로 각각 투자되는 전자 분율은 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$f_s^o = \frac{T}{1+A} \text{ and } f_e^o = \frac{TA}{1+A} \tag{7}$$

### 2.1.3 Oxygenation 반응

환경에 유해한 유기오염물질의 많은 경우는 BTEX, PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), PCBs (Polychlorinated biphenyls), 다이옥신에서와 같이 벤젠고리를 포함하고 있다. 미생물 반응에서 이러한 방향족 탄화수소의 벤젠고리를 분해하기 위해서는 oxygenation 반응이 필수적으로 관여한다<sup>13)</sup>. 따라서, Fig. 1(c)와 같이 이러한 반응이 관여할 경우 전자수지를 반드시 수정할 필요가 있다<sup>9)</sup>. 왜냐하면, 기질로부터 방출되는 전자의 모든 부분이 에너지 생산 혹은 세포합성에 사용되거나 혹은 중간체로 보유되는 것이 아니기 때문이다. 대신에 분해반응의 기질로 직접 사용되는 산소를 환원하는데 사용된다(전자수용체로 사용되는 산소는 다른에 주의할 필요가 있다). 기질로부터 방출되어 중간체로 보유되지 않는 전자의 분율을  $R$ (Release)이라 하고, oxygenation 반응의 산소를 환원시키기 위해 사용되는 전자의 분율을  $O$ 라 정의하면, 다음과 같은 수정된 전자수지를 얻을 수 있다.

$$T + H + O = 1 \text{ and } R = T + O \tag{8}$$

그러나, 이러한 경우에도  $f_s^o$ 와  $f_e^o$ 의 합은 여전히 식 (6)을 따르고, 각각의 값도 식 (7)과 동일하게 얻을 수 있다. 이때 각각의 값은 일어나는 반응의 전자당량을 추적함으로써 주어질 수 있다. 식 (6), (7), (8)은 중간체가 형성되거나 oxygenation 반응이 일어나거나에 관계없이 범용적으로 사용될 수 있다. 즉, 두 경우 모두 일어나지 않으면  $H=0, O=0, T=1$ 이 되어 식 (6)은 식 (3)과 동일하다.

### 2.2. 반쪽반응식과 총괄반응식의 계산

이상과 같이 미생물 반응에서의 에너지수지(식 1)와 물질수지(식 6, 8)를 확립하였으므로, 주어진 시스템의 반쪽반응과의 관계를 알면 총괄반응식의 계산이 가능해진다. 우선, 식 (1)에서  $\Delta G_r^o'$ 은 전자공여체의 반쪽반응( $\Delta G_d^o'$ )과 전자수용체 반쪽반응( $\Delta G_a^o'$ )의 차이로서 다음과 같이 정의된다.

$$\Delta G_r^o' = \Delta G_a^o' - \Delta G_d^o' \tag{9}$$

그리고, 식 (1)의  $\Delta G_{syn}^o'$ 는 탄소원과 질소원을 고려하여 다음과 같이 정의할 수 있다.

$$\Delta G_{syn}^o' = \frac{\Delta G_{pyr}^o' - \Delta G_{cs}^o'}{K^m} + \frac{\Delta G_c^o'}{K} + \frac{\Delta G_{amm}^o' - \Delta G_{ns}^o'}{K^m} \tag{10}$$

이 식에서 탄소원과 질소원에 대해 공통입구 개념을 도입하였는데, 탄소원의 경우 pyruvate ( $\Delta G_{pyr}^o'$ ) 이고 질소원의

경우 암모니아( $\Delta G_{amm}^{\circ}$ )이다. 첫째항은 탄소원에서 pyruvate 사이의 표준 반응자유에너지 차이를 나타내고, 셋째항은 질소원과 암모니아 사이의 표준 반응자유에너지 차이이다. 둘째항은 pyruvate와 암모니아를 사용해서 세포의 거대분자를 합성할 때의 표준 반응자유에너지  $\Delta G_c^{\circ}$ 를 나타낸다. 그러나, 이 값은 이론적인 반응식이 없으므로 실험값(18.8 kJ/e-cq)을 사용한다. 에너지는 항상 전자전달 과정에서 손실이 일어나는데 탄소원 혹은 질소원의 공통입구와의 상대적 에너지 수준에 따라 지수  $m$ 은 +1 혹은 -1을 가진다. 예를 들어, glucose의 경우 첫째항의 분자는 음의 값을 가지고 이는 glucose가 pyruvate로 전환될 때 에너지가 생성된다는 의미이며 그 에너지의 일부는 손실되므로  $m$ 은 -1을 취한다. 반면 첫째항의 분자가 양의 값이면 에너지가 필요하다는 의미이며 그 에너지보다 더 많은 양이 필요하므로  $m$ 은 +1이 된다.

이와 같이, 원하는 반응 시스템이 주어지면 식 (9)와 식 (10)에서 각각 표준 반응자유에너지를 구할 수 있고, 이를 식 (2)에 대입하면  $A$ 값을 얻을 수 있고, 식 (7)에서 에너지 생산 혹은 세포합성으로 분배되는 전자 분율을 구할 수 있다. 원하는 미생물 반응에서 전자공여체의 반쪽반응식을  $R_d$ , 전자수용체의 반쪽반응식을  $R_a$ , 세포합성 반쪽반응식을  $R_c$ 라 하면, 총괄반응식( $R_t$ )은 다음과 같은 관계를 가진다.

$$R_t = f_e^o(R_a - R_d) + f_s^o(R_c - R_d) \quad (11)$$

식 (6)의 전자수지식을 대입하면 다음과 같이 정리할 수 있다.

$$R_t = -TR_d + f_e^o R_a + f_s^o R_c \quad (12)$$

이 식은 중간체 생성과 oxygenation 반응 및 다양한 탄소원, 질소원, 전자공여체, 전자수용체를 포함하는 여러가지 미생물 반응에 적용될 수 있는 일반식이다.

### 2.3. Phenanthrene의 미생물 분해

#### 2.3.1 Phenanthrene의 분해 반응

대표적인 유해유기물질인 PAH(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)는 암 또는 돌연변이를 유발하는 것으로 알려져 있다. 미국 EPA에서는 129개의 priority pollutants 중 16개의 PAH를 지정하고 있다<sup>14)</sup>. PAH는 유기물이 탈 때 언제든지 형성될 수 있는 물질로서 자연적인 화재 등에 의해서도 발생된다. 그러나, 오늘날 석유, 석탄등 화석 연료의 사용이 급증함에 따라 PAH의 발생은 더욱 증가하게 되었다. 즉, 석탄 건류공정, 화력 발전소, 제철공정, 타이어, 아스팔트 생산공정, 석유 정제공정, 쓰레기 소각공정 등에서 흔히 배출되고 있다<sup>15)</sup>. 이러한 PAH는 물에 대

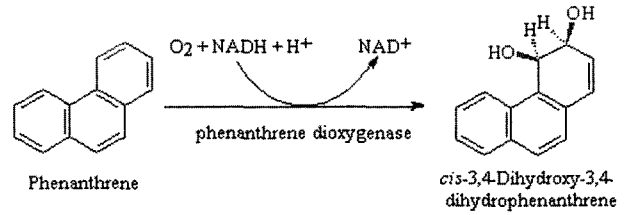


Fig. 2. The first step of phenanthrene biodegradation; dioxygenase reaction.

한 용해도가 매우 낮고 토양에 대한 흡착력이 높아 자연 상태에서는 장기간 토양에 잔존하게 되며 천천히 그러나 주로 미생물에 의해 분해된다.

PAH류 중에서 벤젠고리 3개인 phenanthrene은 대표적인 PAH로서 분해 미생물의 종류도 다양하게 발표되었고, 분해기작도 잘 알려져 있다<sup>13,15)</sup>. Fig. 2에서 보는 바와 같이 phenanthrene의 분해를 위해서는 벤젠 고리에 산소를 삽입하는 최초의 반응인 oxygenation 반응을 반드시 필요로 한다. Phenanthrene은 단일종의 미생물에 의해 완전 무기물화가 가능하며, 이 때 많은 효소반응과 중간체를 거치게 된다. 그러나, 몇 개의 효소반응 묶음에 의해 여러반응이 상대적으로 빠른 속도로 일어나고, 그 결과 몇몇 중요한 중간체를 생성시키는 것으로 알려져 있어 대체적으로 3단계의 분해로 해석할 수 있다<sup>9)</sup>. 여기서는 대표적으로 발견되는 중간체로서 1-hydroxy-2-naphthoate를 선택하여, 2단계 무기물화 반응에 대해 분해 총괄반응식을 구하고자 한다(Fig. 3(c)). 뿐만 아니라, 비교 대상으로 대표적 탄소원인 glucose, 지방족 탄화수소로서 hexadecane에 대한 미생물 반응식도 고려하였으며 이에 대한 요약된 분해 기작을 Fig. 3에 나타내었다.

#### 2.3.2 반쪽반응식의 구성

대상 반응의 총괄반응식을 구하기 위해서는 식 (12)에서 3종류의 반쪽반응식을 확립하여야 한다. phenanthrene의 호기성 분해 반응을 가정하면 전자수용체 반응식( $R_a$ )은 다음과 같이 표현된다.

$$\frac{1}{4}O_2 + H^+ + e^- = \frac{1}{2}H_2O \quad (13)$$

그리고, 암모니아를 질소원으로 할 때의 미생물 합성 반쪽반응식( $R_c$ )은 다음과 같다. 이때 미생물에 대한 분자식은 세포의 원소구성 실험들을 바탕으로 제안된 것으로 미생물 성장 모델에서 일반적으로 사용되는  $C_5H_7O_2N$ 으로 가정한다<sup>16)</sup>.

$$\frac{5}{20}H_2CO_3 + \frac{1}{20}NH_4^+ + \frac{19}{20}H^+ + e^- = \frac{1}{20}C_5H_7O_2N + \frac{13}{20}H_2O \quad (14)$$

특히, 모든 반쪽반응식을 구성할 때, 전자 1몰 당량을 기

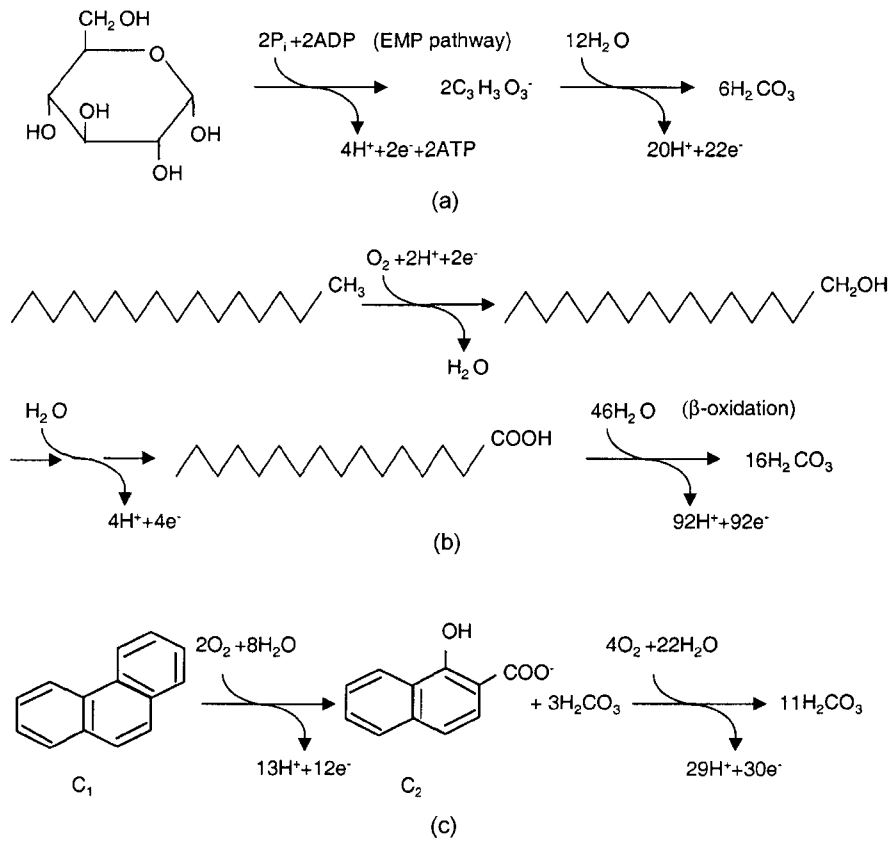


Fig. 3. Simplified biodegradation pathways for glucose (a), hexadecane (b), and phenanthrene (c). Phenanthrene pathway represents two-step biodegradation of phenanthrene (C<sub>1</sub>) via 1-hydroxy-2-naphthoate (C<sub>2</sub>).

준으로 표현하면 편리하다.

다음으로, 전자공여체의 반쪽반응식을 4가지 경우[(1) glucose, (2) hexadecane, (3) phenanthrene 1단계 분해, (4) phenanthrene 2단계 분해]에 대해서 구성해 보면 Table 1 과 같다. 전자분배는 기질 1몰당 생성되는 전자를 추적함으로써 찾아낼 수 있다. 예를 들어 Case C1에서 phenanthrene 1몰이 분해되어 1-hydroxy-2-naphthoate로 전환되는 동안, 총 전자 66 몰당량 중 46몰은 1-hydroxy-2-naphthoate에 보유되고, 나머지 20몰이 방출되어 그 중 8몰은 oxygenation 반응에서 2몰의 산소를 환원시키는데 사용되고, 나머지 12몰은 전자전달계의 최종 전자수용체인 산소로 전달되어 에너지를 생산하는데 사용된다.

2.3.3 그룹이론을 이용한 표준 생성자유에너지 예측

반쪽반응식의 표준 자유에너지는 각 반응물과 생성물의 표준 생성자유에너지를 알면 다음과 같은 식에서 구할 수 있다.

$$\Delta G^0(\text{reaction}) = \sum_j \Delta G_f^0(\text{products}) - \sum_j \Delta G_f^0(\text{reactants}) \quad (15)$$

중요 물질에 대한 표준 생성자유에너지는 여러 문헌에서

찾아 사용할 수 있으나, 특정 물질들에 대해서는 실험치가 보고되지 않은 경우가 흔히 있다. 이러한 경우, 그룹이론을 응용하여 표준 생성자유에너지를 예측할 수 있다<sup>11,12)</sup>. Fig. 4와 Table 2에 문헌에 보고된 바 없는 phenanthrene과 1-hydroxy-2-naphthoate에 대하여 그룹이론을 적용하여 계산한 실례를 나타내었다.

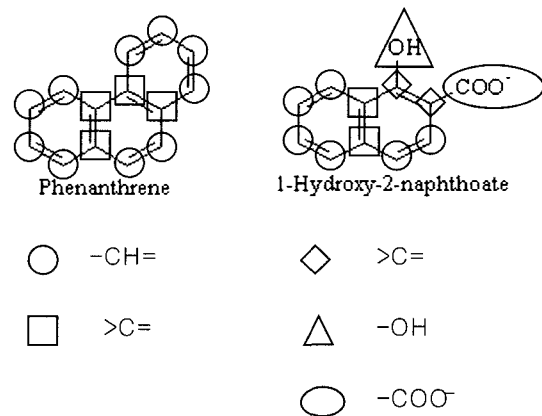


Fig. 4. Group contribution in chemical structure of phenanthrene and 1-hydroxy-2-naphthoate.

Table 1. Electron donor reactions and electron flows

Case	Half reaction	H'	R'	T'	O'	$\Delta G_d^{o'}$
A	$C_6H_{12}O_6 + 12H_2O = 6H_2CO_3 + 24H^+ + 24e^-$ $\frac{6}{24}H_2CO_3 + H^+ + e^- = \frac{1}{24}C_6H_{12}O_6 + \frac{12}{24}H_2O (r)$	0	24	24	0	39.29
B	$C_{16}H_{34} + 46H_2O + O_2 = 16H_2CO_3 + 94H^+ + 94e^-$ $\frac{16}{94}H_2CO_3 + H^+ + e^- = \frac{1}{94}C_{16}H_{34} + \frac{46}{94}H_2O + \frac{1}{94}O_2 (r)$	0	98	94	4	30.81
C	$C_{14}H_{10} + 30H_2O + 6O_2 = 14H_2CO_3 + 42H^+ + 42e^-$ $\frac{14}{42}H_2CO_3 + H^+ + e^- = \frac{1}{24}C_{14}H_{10} + \frac{30}{42}H_2O + \frac{6}{42}O_2 (r)$	0	66	42	24	85.52
C1	$C_{14}H_{10} + 2O_2 + 8H_2O = C_{11}H_7O_3^- + 3H_2CO_3 + 13H^+ + 12e^-$ $\frac{1}{12}C_{11}H_7O_3^- + \frac{3}{12}H_2CO_3 + \frac{13}{12}H^+ + e^- = \frac{1}{12}C_{14}H_{10} + \frac{2}{12}O_2 + \frac{8}{12}H_2O (r)$	46	20	12	8	90.83
C2	$C_{11}H_7O_3^- + 4O_2 + 22H_2O = 7H_2CO_3 + 29H^+ + 30e^-$ $\frac{7}{30}H_2CO_3 + \frac{29}{30}H^+ + e^- = \frac{1}{30}C_{11}H_7O_3^- + \frac{4}{30}O_2 + \frac{22}{30}H_2O (r)$	0	46	30	16	83.51

(r) represents a standard half reaction as a reduction form with one electron equivalent. The prime (') in H, R, T, and O represents the number of each electron equivalent based one mole donor substrate. All free energies are in kJ/electron equivalent.

Table 2. Estimation of the free energy of formation for phenanthrene and 1-hydroxy-2-naphthoate from contribution of groups

Compound	Group or correction	Number of occurrences	Contribution (kJ/mol)	Total contribution (kJ/mol)
$C_{14}H_{10}$	Origin <sup>a</sup>	1	-98.65	-98.65
	Correction for hydrocarbon	1	16.72	16.72
	-CH= <sup>b</sup>	10	35.11	35.11
	>C= <sup>c</sup>	4	10.45	41.8
	Total			310.99
$C_{11}H_7O_3^-$	Origin <sup>a</sup>	1	-98.65	-98.65
	-CH= <sup>b</sup>	6	35.11	210.67
	>C= <sup>c</sup>	2	10.45	20.9
	>C= <sup>d</sup>	2	6.27	12.54
	-OH <sup>e</sup>	1	-132.92	-132.92
	-COO-	1	-300.96	-300.96
	Total			-288.42

<sup>a</sup>A contribution that must be added to every compound.  
<sup>b</sup>Participating in a benzene ring.  
<sup>c</sup>Participating in two fused benzene rings.  
<sup>d</sup>The formal double bond and a formal single bond participating in a benzene ring.  
<sup>e</sup>Attached to benzene ring.

위의 표준 생성자유에너지들을 이용하여 Table 1의 Case C1 반응에 대해 적용한 실례를 나타내면 다음과 같다.

$$\Delta G_d^{o'}(reaction) = \sum \Delta G_f^{o'}(products) - \sum G_d^{o'}(reaction)$$

$$= \left( \frac{310.99}{12} + \frac{2 \times 0}{12} + \frac{8 \times (-237)}{12} \right) - \left( \frac{-288.42}{12} + \frac{3 \times (-622.4)}{12} + \frac{13 \times (-39.96)}{12} + 0 \right)$$

$$= 90.83 \text{ kJ/e-eq} \quad (16)$$

이와 같이 각 반응의 경우에 대해 예측한 표준 반응자유 에너지 값은 Table 1에 나타낸 바와 같다.

2.3.4 총괄반응식

Table 1에 나타낸 5가지 전자공여체 반쪽반응 각각에 대해 전자수용체 반쪽반응(식 13)과 세포합성 반쪽반응(식 14)을 이용하여 전지수지식과 에너지수지식을 적용하면 전지분율값들을 구할 수 있다. 이 때, 사용된 각 상수들의

**Table 3.** Key parameters and calculated values for glucose, hexadecane, and phenanthrene biodegradation

Parameter	Case A	Case B	Case C	Case C1	Case C2
$\Delta G_d^{o'}$	39.29	30.81	85.52	90.83	83.51
$\Delta G_{cs}^{o'}$	39.29	26.35	35.75	35.75	35.75
$\Delta G_r^{o'}$	-117.92	-109.35	-164.22	-169.54	-162.26
$\Delta G_{syn}^{o'}$	29.25	46.97	31.38	31.38	31.38
m	-1	1	1	1	1
K	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
A	0.413	0.716	0.318	0.308	0.323
O	0	4/98=0.041	24/66=0.364	8/66=0.121	16/46=0.348
T	24/24=1.0	94/98=0.959	42/66=0.636	12/66=0.182	30/46=0.652
H	0	0	0	46/66=0.697	0
$f_s^o$	0.707	0.559	0.483	0.139	0.493
$f_e^o$	0.293	0.400	0.154	0.043	0.159

**Table 4.** Overall stoichiometry for glucose, hexadecane, and phenanthrene biodegradation

Case	Overall Stoichiometry
A	$C_6H_{12}O_6 + 0.849NH_4^+ + 1.755O_2 = 0.849C_3H_7O_2N + 2.55H_2O + 1.755H_2CO_3 + 0.849H^+$
B	$C_{16}H_{34} + 2.739NH_4^+ + 10.8O_2 = 2.739C_3H_7O_2N + 9.22H_2O + 2.304H_2CO_3 + 2.739H^+$
C	$C_{14}H_{10} + 1.593NH_4^+ + 8.536O_2 + 4.222H_2O = 1.593C_3H_7O_2N + 6.036H_2CO_3 + 1.593H^+$
C1	$C_{14}H_{10} + 0.459NH_4^+ + 2.707O_2 + 0.62H_2O = 0.459C_3H_7O_2N + 0.707H_2CO_3 + 1.459H^+ + C_{11}H_7O_3^-$
C2	$C_{11}H_7O_3^- + 1.134NH_4^+ + 5.829O_2 + 3.598H_2O = 1.134C_3H_7O_2N + 5.329H_2CO_3 + 0.134H^+$

값과 그 결과를 Table 3에 정리하였다. 여기서 구한  $f_s^o$ 와  $f_e^o$ 를 식 (12)에 대입하면 Table 4와 같은 총괄반응식을 얻을 수 있다.

Table 4에서 보는 바와 같이 중간체 생성을 고려한 Case C1과 Case C2를 더하면 Case C와 동일한 식을 얻을 수 있다. 이와 같이 단계 반응에 대한 총괄반응식과 수율에 대한 정보는 각 단계를 고려하여 미생물 반응을 모델링하는데 중요한 도구가 될 수 있다. Table 5에는 총괄반응식의 각 반응물의 계수로부터 여러 가지 수율값을 정리하였다. 이러한 데이터로부터 산소요구량, 질소원 요구량, 미생물 개체수 증가량, 무기화물 등의 정보를 얻을 수 있다. 3종류의 기질에 대해 미생물 수율을 비교하면 glucose, hexadecane, phenanthrene에 대해 각각 0.53,

**Table 5.** True yield values for glucose, hexadecane, and phenanthrene biodegradation

Parameter	Case A	Case B	Case C	Case C1	Case C2
$Y_{xs}$	0.53	1.37	1.01	0.29	0.69
$Y_{os}$	0.31	1.53	1.54	0.49	1.00
$Y_{CO_2s}$	0.43	0.45	1.49	0.17	1.25
$f_{min}$	0.29	0.14	0.43	0.24	0.48

The units are  $Y_{xs}$  in g cells/g substrate,  $Y_{os}$  in g  $O_2$ /g substrate,  $Y_{CO_2s}$  in g  $CO_2$ -C/g substrate, and  $f_{min}$  (mineralization ratio) in g  $CO_2$ -C/g substrate-C.

1.37, 1.01로서 상당한 차이가 나는 것을 확인할 수 있다. 따라서, 오염도양 복원을 위한 설계시 오염물질의 종류, 필요한 경우 첨가하는 탄소원의 종류에 대해 적절한 예측치가 없을 경우 예상보다 큰 오차를 범할 수 있음을 시사한다 하겠다.

한편, oxygenation 반응은 에너지를 얻을 수 있는 유효전자의 수를 감소시키는 역할을 한다. Table 3에서 본 것처럼 phenanthrene의 경우 64%만이 유효하다. 따라서, 세포 수율도 낮아지고 산소 요구량은 증가한다. Case C의 총괄반응식을 보면 phenanthrene 1몰이 분해될 때 1.593 몰의 세포가 합성되고 이는 수율 1.01 g cells/g phenanthrene에 해당된다. Phenanthrene에 대해 oxygenation반응을 고려하지 않고 전통적인 반쪽반응방법으로 총괄반응식을 구하면 세포 수율이 1.39가 되어 약 40% 초과하는 수치를 보인다. 실제로 방향족 탄화수소는 oxygenation반응을 많이 포함하고 있지 않는 유사한 분자량의 지방족 탄화수소에 비해 더 낮은 세포 수율들이 보고되고 있다.

이상에서 살펴본 바와 같이 반쪽반응법을 이용하여 미생물 분해 총괄반응식을 수립해가는 과정에서 전자분배, 효율, 분해반응, 수율 등 미생물 반응에 대한 이해를 증진시킬 수 있다. 뿐만 아니라, 실용적으로도 총괄반응식으로부터 각종 수율을 계산해낼 수 있어, 질소원 요구량, 산소

요구량, 미생물 수율 등 중요한 정보들은 실제 시스템의 설계에 유용하게 사용될 수 있다. 나아가서는 이러한 이론을 이용하여 혐기성 조건이나 복합기질 조건에서의 미생물 반응식도 구할 수 있다.

### 3. 결 론

본고에서는 특정 유해 물질의 미생물 분해반응을 열역학적인 이론을 바탕으로 하는 반쪽반응방법을 이용하여 구하는 방법을 살펴보았다. 또한 주요물질의 표준 생성자 유에너지를 그룹이론을 이용하여 구하는 방법을 제시하였다. 이를 이용하여 phenanthrene mineralization에 의한 미생물 수율을 구하는 문제에 실제 적용해 보았으며, 그로부터 몇몇 유익한 정보들을 예측할 수 있었다. 반쪽반응식은 1960년대 후반에 처음으로 제안되었으며, 간단하면서도 정확한 이론으로 환경공학 및 미생물학자들에게 널리 이용되어 왔다. 최근의 몇몇 이론들(중간체 생성, oxygenation 반응, 유해물질의 그룹이론을 적용한 표준 생성자유에너지의 예측 등)이 새롭게 도입됨에 따라 그 응용성은 더욱 광범위해졌다고 할 수 있다. 환경오염문제에 있어서 BTEX, PAH, PCB, 다이옥신과 같은 특정 유해물질의 오염문제가 날로 심각해지고 있는 오늘날 이들 물질의 생분해에 대한 이해에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

### 참고문헌

1. Erickson, L. E. "Energetic efficiency of biomass and product formation", *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, pp. 725-743 (1979).
2. Roels, J. A. "Application of macroscopic principles to microbial metabolism", *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, pp. 2457-2514 (1980).
3. Stouthamer, A. H. and van Verseveld, H. W. "Stoichiometry of microbial growth", In: Moo-Young M. ed., *Comprehensive Biotechnology*, Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, 1, pp. 215-238 (1985).
4. McCarty, P. L. "Energetics and Bacterial Growth", The Fifth Rudolf Research Conference; 1969 Jul 2; Rutgers. The

- State University, New Brunswick, New Jersey (1969).
5. McCarty, P. L. "Stoichiometry of biological reactions", Paper presented at the International Conference toward a Unified Concept of Biological Waste Treatment Design, Atlanta, Georgia (1972).
6. Heijnen, J. J., van Loosdrecht, M. C. M., and Tjihuis, L. "A black box mathematical model to calculate auto- and heterotrophic biomass yields based on Gibbs energy dissipation", *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, pp. 1139-1154 (1992).
7. VanBriesen, J. M. and Rittmann, B. E. "Mathematical description of microbiological reactions involving intermediates", *Biotechnol. Bioeng.*, **67**(1), pp. 35-52 (2000).
8. Heijnen, J. J. and van Dijken, J. P. "In search of a thermodynamic description of biomass yields for the chemotrophic growth of microorganisms", *Biotechnol. Bioeng.*, **39**, pp. 833-858 (1992).
9. Woo, S. H. and Rittmann, B. E. "Microbial energetics and stoichiometry for biodegradation of aromatic compounds involving oxygenation reactions", *Biodegradation*, **11**, pp. 213-227 (2000).
10. Rittmann, B. E. and McCarty, P. L. "Environmental Biotechnology: Principles and Applications", McGraw-Hill Inc, New York (2001).
11. Mavrovouniotis, M. L. "Group contributions for estimating standard Gibbs energies of formation of biochemical compounds in aqueous solution", *Biotechnol. Bioeng.*, **36**, pp. 1070-1082 (1990).
12. Mavrovouniotis, M. L. "Estimation of standard Gibbs energy changes of biotransformations", *J. Biol. Chem.*, **266**(22), pp. 14440-14445 (1991).
13. Cerniglia, C. E. "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Biodegradation*, **3**, pp. 351-368 (1992).
14. Keith, L. H. and Telliard, W. A. "Priority pollutants: I-a perspective view", *Environ. Sci. Technol.*, **13**, pp. 416-423 (1979).
15. Gibson, D. T. and Subramanian, V. "Microbial degradation of aromatic hydrocarbons", In: Gibson, D. T., ed., *Microbial degradation of organic compounds*, Marcel Dekker, New York, pp. 181-252 (1984).
16. Hoover, S. R. and Porges, N. "Assimilation of dairy wastes by activated sludge", *Sewage and Industrial Wastes*, **24**, pp. 306-312 (1952).