

수질 독성 모니터링을 위한 자동화된 멀티 채널 연속 모니터링 시스템

김병찬, 이진형, 구만복*
 광주과학기술원 환경공학과, 환경 모니터링 신기술 연구센터

Automation of Multi-channel continuous monitoring system for water toxicity monitoring

Byoung Chan Kim, Jin Hyung Lee, Man Bock Gu*

Department of Environmental Science and Engineering, K-JIST, Advanced Environmental
 Monitoring Research Center (ADEMRC)

* mbgu@kjist.ac.kr

서론

수질 내에 존재 가능한 다양한 화학종의 독성을 판정하기 위한 방법으로 물리, 화학적 방법과 이에 병행하여 생물학적 방법이 이용되고 있다. 물리, 화학적 방법은 독성 물질의 농도 결정과 종류를 판단할 수 있지만 다양한 화학 혼합물의 상호작용에 의한 독성 정도와 영향을 예측하기는 어렵다. 따라서 수질의 독성을 판정하기 위해서는 생물학적 방법이 반드시 병행되어야 한다. 생물학적 방법은 물벼룩, 물고기, 발광 미생물을 이용한 MICROTOX 시스템 등이 주로 이용되고 있다. 이들 방법은 오래 전부터 물리, 화학적 방법과 병행하여 수질 내 화학종의 독성 정도를 판별하는 중요한 도구로 자리잡았다. 실시간으로 변화하는 유출 수의 성상과 화학 종을 고려 할 때 연속 모니터링 방법은 필수적이다. 연속 모니터링이라는 관점에서 기존의 생물학적 방법은 한계를 드러낸다. 기존의 생물학적 모니터링 방법은 연속 모니터링 방법을 표방하고 있으나 급성 독성 사고에 의한 시스템 중단 문제가 있으며, 따라서 엄밀한 연속 모니터링 기법이라고 말하기는 힘들다 하겠다. 또한 단순히 독성의 유무 정도만을 판별 할 수 있으며 화학종의 독성이 어떠한 종류의 독성을 일으키는지에 대한 정보는 얻을 수 없다. 따라서 생물학적 수질 독성 판정 방법은 이들 문제점을 해결하는 방향으로 진일보 해야한다.

이런 관점에서 본 연구에서는 새로운 생물학적 수질 독성 판별 시스템인 유전자 재조합 발광박테리아를 이용한 멀티 채널 연속 독성 모니터링 시스템의 개발 과정과 시스템의 독성 물질의 탐지능 및 현장 적용을 위한 자동화 연구를 소개하고자 한다.

실험방법

1. 균주

멀티 채널 연속 독성 모니터링 시스템에서는 유전자 재조합된 발광 박테리아를 사용한다. 유전자 재조합된 균주는 DPD2540, DPD2794, TV1061, GC2 등이다. 각각의 균주는 차례대로 *fabA::luxCDABE*, *recA::luxCDABE*, *grpE::luxCDABE*, *katG::luxCDABE* 와 *lac::luxCDABE* 영역을 가지고 있는 플라스미드를 포함하고 있다. 따라서 각각의 균주는 발광 유전자 앞에 융합된 프로모터의 작용에 따라 화학 물질에 의한 세포의 생물막 손상, DNA 손상, 단백질 손상에 의해서 빛이 증가하게 되며 GC2 균주의 경우는 세포 대사 저

해를 일으키는 독성 물질에 의해서 빛이 감소하게 된다. 각 균주는 ampicillin이 포함된 Lulia-Bertani medium을 이용하여 반응기에 주입하여 배양하기 전 15 ml 튜브에서 10시간 배양 후 멸균된 주사기를 이용하여 첫 번째 반응기에 3ml 주입하여 연속 배양을 실시한다.

2. 멀티채널 연속 독성 모니터링 시스템

2 단계로 구성되어 있는 소형 반응기를 병렬 형태로 4 채널을 연결하였다. 각 채널에는 서로 다른 종류의 균주가 배양된다. 첫 번째 반응기에는 항생제가 포함된 Luria-bertani medium을 dilution rate이 0.8/h 가 되도록 흘려주며, 배양된 균주를 3ml 주입한 후 균주의 농도와 발광 정도가 정상상태가 되도록 운전한다. 정상상태 도달 후 증류수를 두 번째 반응기에 dilution rate 이 3.0/h가 되도록 연속 주입하고 다시 정상상태가 될 때까지 운전한다. 이때 첫 번째 반응기와 두 번째 반응기에는 각각 10 cc/min 와 20 cc/min 의 공기를 지속적으로 주입한다. 온도는 DPD 와 TV 균주에 대해서는 30°C, GC 균주에 대해서는 37°C로 유지 시켜준다. 첫 번째 반응기에서 성장하는 균주는 pumping을 통하여 지속적으로 두 번째 반응기에 주입이 된다. 테스트하고자 하는 수질 시료는 두 번째 반응기로 증류수 대신 동일 한 dilution rate을 유지하도록 하며 주입된다. 시료 주입 전후 각 채널의 발광량 변화는 반응기와 루미노미터간의 광섬유를 이용하여 실시간으로 측정한다. 모든 데이터는 RBL (Relative bioluminescent Level)로 나타내었다. RBL은 샘플 주입후의 발광량을 샘플 주입하기전의 발광량으로 나누어준 값으로 표현된다.

3. 자동화 시스템 구성

데이터 획득의 자동화를 위해 멀티 광섬유 프루브와 DAQ 시스템을 제작하였다. 멀티 광섬유 프루브는 전반부에 4개의 광섬유 라인이 나와 있으며 이는 각 반응기와 일대일로 연결된다. 본체에서는 컴퓨터 제어에 의한 시간차로 발광 정도를 루미노미터로 순차적으로 보내게 된다. 루미노미터에서 받아들인 데이터는 다시 RS232 케이블을 통해 PC로 전송되며 DAQ 프로그램으로 발광 정보를 실시간으로 표시하고 저장하게 된다.

(가)



(나)



그림 1. (가) 멀티 채널 연속 독성 모니터링 시스템, (나) 멀티 프루브 시스템

결과 및 토의

유전자 재조합 발광성 미생물을 이용한 수질 연속 독성 모니터링 시스템은 1996년 1단계 연속 모니터링 시스템 개발을 필두로 현재 멀티 채널 시스템으로 확장되었다. 특정 화학종의 스트레스에 반응하는 유전자 재조합 발광 박테리아의 종류는 다양하므로 각 채널을 동시에 운전하고 컨트롤함으로써 수질의 독성 정도를 생물체에 주는 스트레스 별로 탐지 할 수 있다. GC2 균주가 자라는 채널의 경우 독성의 유무와 정도를 판단하는 채널로, 기존의 생물학적 수질 독성 탐지 시스템과 그 원리가 동일하다. GC2 채널을 동시에 운전함으로써 수질 내에 존재 가능한 독성 물질의 독성 정도를 분류하고 독성 정도 또한 동시에 판단이 가능하다. 이 시스템을 이용하여 우리는 여러 종류의 독성 물질 탐지 가능성을 제시하였으며 정수처리장, 강가 등에서의 현장 실험을 통해 현장 적용 가능성을 확인하였다. 그림 2.에 페놀 200 ppm 과 mitomycin C 50 ppb를 섞은 수질의 독성을 모니터링한 결과를 제시하였다. Mitomycin C는 세포의 DNA 손상에 관여하는 물질이며 적은 양에도 세포에 큰 스트레스를 미친다. 페놀의 경우 대표적인 생물 막 손상 물질로 알려져 있다. 이 두 물질을 동시에 섞어 탐지한 결과 유전자 손상에 의해 빛이 증가하는 채널과 생물막 손상에 의해 빛이 증가하는 채널에서의 빛 증가 현상이 탐지되었으며 독성 물질 유무에 따라 빛이 감소하게 되는 채널에서는 최대 30% 정도의 빛 감소 현상을 보였다.

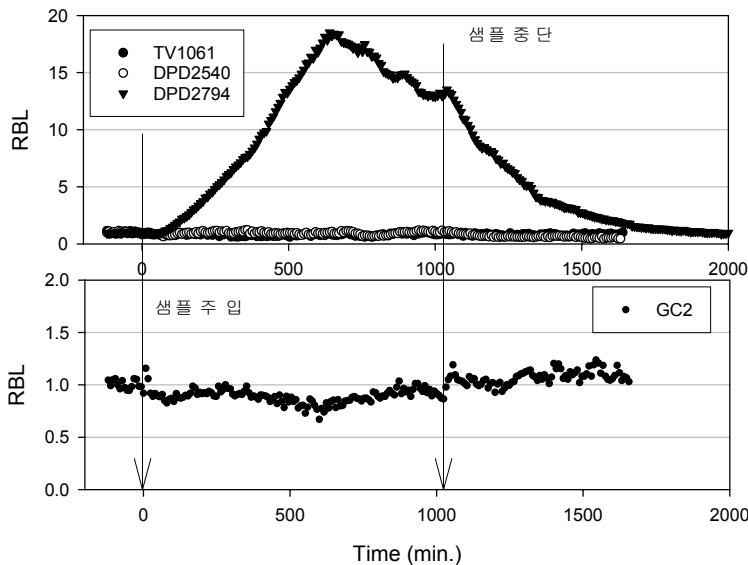


그림 2. 페놀 200 ppm + mitomycin C 50ppb 탐지 결과

따라서 본 시스템을 이용하여 수질 내의 독성 오염원을 탐지 할 수 있으며, 사용되는 균주에 따라 그 채널 수를 늘릴 수 있어 탐지 가능한 스트레스의 종류를 늘릴 수 있다. 이 시스템을 이용하여 현재 창원 반송정수처리장의 원수 테스트를 진행 중이다.

이 시스템은 궁극적으로 현장 적용을 목적으로 개발 진행 중이다. 현장 적용을 위해서는 데이터의 자동 획득, 데이터의 원거리 송신, 독성 감지 시 알람 기능 등이 필수적이다. 또한 멀티 채널 시스템을 위해서는 각 채널마다 한 대씩의 루미노미터가 부착되어야 한다.

한 대의 루미노미터로는 모든 채널의 데이터를 시간 별로 측정 할 수 없으며, 가능하다 하더라도 운전자가 항시 상주하여 시간마다 광섬유 프루브를 교체해주어야 하는 번거로움이 따른다. 데이터의 원거리 송신과 자동획득, 알람기능을 위하여 'Lumitrend' 라는 데이터 획득 프로그램을 개발하여 사용하고 있다. 이 프로그램은 루미노미터로부터 얻어진 데이터의 실시간 표지기능을 갖고 있으며 알람 기능과 인터넷을 통한 데이터 송신 기능을 갖고 있다. 따라서 원거리에서 독성 모니터링 과정을 지켜 볼 수 있으며 알람에 의한 적절한 조치를 취할 수 있다. 또한 데이터의 자동 측정과 설치비용을 고려할 때 한 대의 루미노미터로도 데이터 획득이 가능하도록 멀티 프루브를 개발하였다. 이 장치는 채널의 수 만큼 광섬유 라인을 장착하고 시간차를 두어 각 채널의 발광 값이 순차적으로 루미노미터로 전송되도록 하는 역할을 한다. 멀티 프루브의 개발은 단 한 대의 루미노미터를 이용하여 모든 채널의 데이터를 자동적으로 획득 가능하게 하는 시스템이며, 현장 적용 시 루미노미터로 인한 설치비용과 인건비를 절감케 하는 필수 장치이다.

본 시스템은 생물학적 발광을 이용하여 독성의 유무를 판단하게 된다. 독성 정보의 표식으로 생물학적 발광을 이용하는 것은 실시간 원격 모니터링의 기술을 가능하게 한다. 생물학적 발광 신호는 실시간으로 광섬유를 통하여 루미노미터로 전송이 되며 루미노미터의 아날로그 신호는 다시 DAQ시스템을 통해 디지털 타입으로 전송이 된다. 이는 원거리에서 생물학적 발광 정도의 변화를 파악할 수 있게 하며 자동적으로 발광 정도가 어느 이상 수준 증가하거나 감소하게 되는 경우 경보를 내릴 수 있는 시스템을 가능하게 한다. 따라서 본 자동화된 멀티 채널 연속 독성 모니터링 시스템을 사용하여 상수원 등으로 유입되는 수질의 독성을 조기경보 할 수 있는 시스템(Toxicity early warning system) 구현이 가능하며 상수원의 수질관리에도 응용이 될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학재단에서 지원하는 광주과학기술원 환경모니터링 신기술 연구센터(ERC)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Man Bock Gu, Geun-Cheol Gil, and Joong Hyun Kim. (1999) A two-stage minibioreactor system for continuous toxicity monitoring. *Biosensors & Bioelectronics* 14, 355-361.
2. Man Bock Gu, Byoung Chan Kim, Jaewon Cho and P.D. Hansen (2001) The continuous monitoring of field water samples with a novel multi-channel two-stage minibioreactor system. *Environmental Monitoring and Assessment*. 70(1,2), 71-81
3. Man Bock Gu and Geun Chul Gil (2001) A multi-channel continuous toxicity monitoring system using recombinant bioluminescent bacteria for classification of toxicity. *Biosensors & Bioelectronics*. 16(9), 661-666