

Phenanthrene 분해 생성물의 세포막 투과 양상에 관한 모델링 연구

안치규, 임경희, 우승한¹, 박종문^{*2}
 포항공과대학교 환경공학부, ¹한밭대학교 화학공학과, ²포항공과대학교 화학공학과
 (jmpark@postech.ac.kr^{*})

A modeling study on membrane transport of intermediates during phenanthrene biodegradation

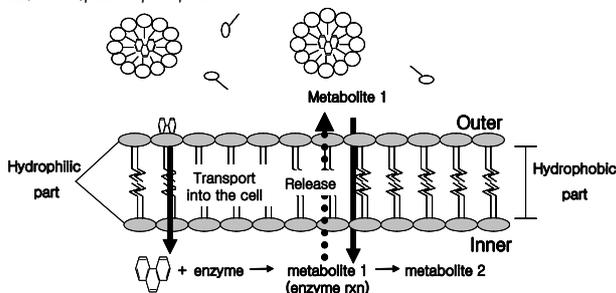
Chi Kyu Ahn, Kyung Hee Yim, Seung Han Woo¹, Jong Moon Park^{*2}
 School of Environmental Science and Engineering, POSTECH,
¹Department of Chemical Engineering, Hanbat National University,
²Department of Chemical Engineering, POSTECH
 (jmpark@postech.ac.kr^{*})

1. 서론

다환방향족 탄화수소 (PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)는 두 개 또는 세 개 그 이상의 벤젠 링 구조를 하고 있으며, 주로 발전, 자동차, 석유화학공업 등의 산업공정에서 발생한다. 특히, PAHs는 강한 소수성을 띠고 있어 토양 등에 흡착되면 오랜 시간동안 잔류하게 되며, 그 자체의 급성 독성과 돌연변이, 기형 그리고 암을 유발할 수 있는 물질로 알려져 US. EPA에서는 특정 유해물질로 분류하고 있다. 이중 세 개의 벤젠링 구조를 가지고 있는 phenanthrene에 관한 연구가 많이 이루어지고 있으며 그 결과 미생물에 의해 phenanthrene의 분해가 가능성이 밝혀졌고, 그 분해 경로 또한 비교적 잘 알려져 있다. Phenanthrene의 완전분해를 위해서는 최소 14단계 이상의 효소반응 단계가 필요하다. 그러나 현재까지 연구결과에 의하면 1-hydroxy-2-naphthoic acid와 salicylic acid 등과 같은 대표적인 몇몇 물질들만 중간생성물로 세포 밖 용액에서 발견되고 있다. 이에 본 연구에서는 phenanthrene의 분해 시 발생하는 중간생성물이 세포막 밖으로 나오는 현상에 대한 수학적 모델을 수립하고 특정 중간생성물만 발견되는 현상을 이론적으로 설명하고자 한다.

2. 이론

2.1 세포막 구조



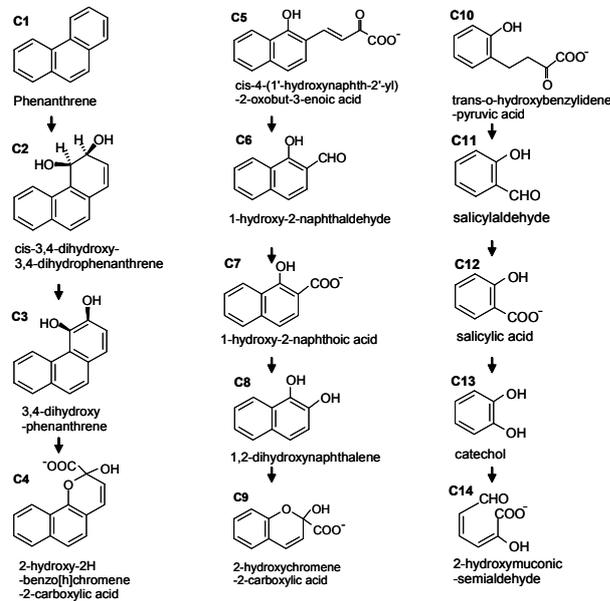
세포막은 단백질과 지질로 이루어진 2중층 구조를 하고 있다. 이러한 세포막의 투과 기작은 크게 능동수송과 수동수송으로 나뉘게 되는데, 소수성이 강한 물질의 경우 농도구배에 의한 일종의 확산의 형태로 이동하는 능동수송의 기작을 가진다. Fig. 1은 세포막의 안과 밖의 농도 구

Fig. 1 A schematic illustration of two parts within a lipid bilayer

배에 의해 phenanthrene이 세포막 안쪽으로 들어가는 과정에 대한 개념도이다.

2.2 Phenanthrene 생분해 경로

Phenanthrene의 분해에는 박테리아, 곰팡이 등을 비롯한 다양한 미생물종이 관련되어 있다. 이중 특히 박테리아에 의한 phenanthrene의 분해는 호기성 분해를 비롯한 혐기성 분해에 까지 많은 연구들이 이루어졌다. 이러한 연구들의 결과 phenanthrene의 분해 경로 또한 상당부분 밝혀져 있다. Fig. 2는 pseudomonas 속에 의해 phenanthrene이 분해되는 경로 중



naphthalene pathway를 나타낸 것이다. 호기성 조건에서 phenanthrene의 분해는 oxygenation 과정을 통해 벤젠링 구조에 산소가 들어가게 되면서 분해가 시작된다(C1~C2). 일반적인 phenanthrene의 분해는 대표적인 중간생성물 1-hydroxy-2-naphthoic acid (C7)를 형성하는 상위경로 (upper pathway : C1~C7)와 이후 어떠한 중간 생성물을 만드느냐에 따라 salicylic acid(C12)를 만드는 (naphthalene pathway) 경로 또는 phthalic acid를 만드는 (protocatechuate pathway) 경로로 나누어지게 된다.

본 연구에서는 phenanthrene 이 1-hydroxy-2-naphthoic acid를 거쳐 salicylic acid로 분해되는 naphthalene pathway 만을 고려하기로 한다.

Fig. 2 Biodegradation pathway of phenanthrene via the naphthalene pathway.

2.3 세포막 투과 모델

세포막을 통한 물질의 투과는 Fick's Law로 정의되는 확산식으로 설명될 수 있다.

$$\frac{dM_{out}}{dt} = \frac{DAK}{\Delta L} (C_{in} - C_{out}) = PA (C_{in} - C_{out}) \dots \dots \dots \text{Eq. 1}$$

여기서, M_{out} 은 phenanthrene의 분해 생성물이 세포막을 통과해서 나오는 량, t 는 일정기간, D 는 유효확산도 A 는 세포막의 면적, K 는 세포막과 세포 밖에 존재하는 용액과의 분배계수, ΔL 은 세포막의 두께(10nm)이고, P 는 투과 상수, C_{in} 과 C_{out} 은 분해생성물의 세포안과 밖의 농도를 각각 나타낸다. 위의 Eq.1을 적분하여 간단하게 표현하면 Eq.2 와 같이 표현된다. 이때, 세포 밖에 존재하는 분해 생성물의 농도는 '0 mg/L'으로 가정할 수 있다.

$$M_{out} = PA C_{in} t \dots \dots \dots \text{Eq. 2}$$

여기서 투과상수(P)는 Henry 등 (2001)에 의해 제시된 식(Eq. 3)으로 다시 표현가능하다. 이 식은 분해 생성물의 확산도(D^0)와 분해 생성물의 옥탄올/물 분배계수와 세포막과 세포 밖 용액의 분배계수인 멤브레인/물 분배계수의 차이를 보정하기 위한 상수(f), 분자량(M_r)에 투과정도의 차이를 보정하기 위한 상수(β)를 사용하여 정리할 수 있다

$$\log P = \log \left(\frac{D^0}{\Delta L} \right) + f \log K_{OW} + \beta M_r \dots \dots \dots \text{Eq. 3}$$

또한 각각의 보정상수들은 Xing 등(1994)과 Gian Camenisch 등 (1998)에 의해 다음의 Eq.4 식으로 정리된다.

$$\log P = \log\left(\frac{D^0}{\Delta L}\right) + 2.4 \log K_{ow} \quad \text{또는, } P = \frac{D^0 K_{ow}^{2.4}}{\Delta L} \quad \text{Eq. 4}$$

2.4 확산계수와 분배계수의 계산

특정 액상 상태에서의 유기 분자의 확산도는 Othmer and Thakar (1953)에 의해 제안되고 Hayduk and Laudie (1974)에 의해 보완된 다음의 Eq. 5로 표현된다.

$$D_w = \frac{13.26 \times 10^{-5}}{\mu^{1.14} \times (\bar{V})^{0.589}} \text{ (cm}^2/\text{s)} \quad \text{Eq. 5}$$

여기서, μ 는 물의 점성(centipoise), \bar{V} 는 특정 물질의 몰부피($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)이다. 그러나 \bar{V} 의 값은 phenanthrene의 중간 생성물과 같은 물질에 대해서는 그 값이 명확하지 않다. 따라서 Fuller 등 (1996)에 의해 발표된 그룹이론을 이용하여 계산된 값을 사용하였다.

옥탄올/물 분배계수의 경우에도 그룹이론 (Meylan 과 Howard (1995))을 통하여 계산된 값을 사용하였다.

3. 결과 및 토론

3.1 확산계수와 분배계수

그룹 이론을 통해 계산된 확산도와 옥탄올/물 분배계수를 Table. 1에 나타내었다. Phenanthrene의 분해가 진행됨에 따라 몰부피는 줄어들게 되며 이에 따라 확산도가 증가하는 추세를 보이고 있다. 분배계수의 측면에서는 다른 중간생성물에 비해 3,4-dihydroxyphenanthrene, 1-hydroxy-2-naphthoic acid, 1-hydroxy-2-naphthaldehyde의 경우에는 상대적으로 높은 분배계수의 값 ($\log K_{ow} > 3.0$)을 가지고 있어 강한 소수성을 띤다. 이는 높은 지질 친화성(lipophilic)을 나타내어 세포막을 용이하게 투과할 수 있을 것으로 예상된다. 그러나 2-hydroxy muconic semialdehyde의 경우에는 낮은 분배계수 값($\log K_{ow} < 0.0$)을 가지게 되어 상대적으로 낮은 투과도를 나타낼 것으로 예상된다.

Table 1. Estimation of the relative permeability of the intermediates in the degradation pathway of phenanthrene from partitioning coefficient and diffusivity.

Compounds	\bar{V} (cm^3/mol)	$\log D^0$	$\log K_{ow}$	$\log P$
C1	190.4	-5.16	4.35	11.28
C2	205.4	-5.18	2.25	6.22
C3	201.4	-5.18	3.38	8.93
C4	214.4	-5.19	2.66	7.19
C5	232.6	-5.21	2.22	6.11
C6	168.1	-5.13	3.18	8.50
C7	173.6	-5.14	3.42	9.07
C8	151.6	-5.10	2.21	6.20
C9	162.6	-5.12	1.48	4.43
C10	182.8	-5.15	1.04	3.34
C11	118.3	-5.04	2.01	5.78
C12	123.8	-5.05	2.24	6.32
C13	101.8	-5.00	1.03	3.47
C14	133.0	-5.07	-0.44	-0.13

3.2 투과도

아래의 Table.1에서의 확산도 값과 분배계수를 Eq. 4 에 대입하여 투과상수를 구할 수 있다. 투과상수가 높은 순서대로 본다면, 1-hydroxy-2-naphthoic acid, 3,4-dihydroxyphenanthrene, 1-hydroxy-2-naphthaldehyde 2-hydroxy-2H-benzo[h]chromene-2-carboxylic acid, salicylic acid, *cis*-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrophenanthrene, 1,2-dihydroxynaphthalene, 순으로 나타나고 있다. 이들 물질들은 상대적으로 높은 투과상수를 가짐으로 인해 다른 중간생성물에 비해 세포막을 잘 투과할 수 있음을 나타낸다. Y. Prabhu 와 P.S. Phale (2003) (C7, C8, C12), Joanna D. Moody 등 (2001) (C2, C7), 그리고 Balashova NV 등 (2001)을 비롯한 다양한 연구를 통해 알려진 중간생성물과 본 연구에서 투과상수(P)가 높은 물질은 서로 일치함을 알 수 있다. 따라서 본 연구에서 제시한 모델이 phenanthrene의 분해 시 생성되는 중간생성물의 투과 특성을 설명하는데 적합하리라 판단된다.

4. 참고문헌

- 1) Henry Y. Wang, Kittinan Komolpis, Peter B. Kaufman, Pomthong Malakul, and Artiwan Shotipruk. Permeabilization of metabolites from biologically viable soybeans (*Glycine max*). *Biotechnol. Prog.*, 17, 424-430 (2001).
- 2) T.-X. Xiang, B.D. Anderson. The relationship between permeant size and permeability in lipid bilayer membrane. *J. Membrane biology.*, 140, 111-122 (1994).
- 3) Gian Camennish, Jochen Alsenz, Han van de Waterbeemd, Gred Folkers. Estimation of permeability by passive diffusion through Caco-2 cell monolayers using the drugs' lipophilicity and molecular weight. *European J. Pharm. Sci.*, 6, 313-319 (1998).
- 4) Othmer, D. F. and M. S. Thakar, Correlating diffusion coefficients in liquids, *Ind. Eng. Chem.*, 45, 589-593 (1953).
- 5) Hayduk, W. and H. Laudie, Prediction of diffusion coefficients for non-electrolytes in dilute aqueous solutions, *AIChE, J.*, 20, 611-615 (1974).
- 6) Fuller, E. N., Schettler, P. D., and Giddings, J. C., A new method for prediction of binary gas-phase diffusion coefficient, *Ind. Eng. Chem.*, 58, 19-27 (1966).
- 7) W.M. Meylan and P.H. Howard, Atom/Fragment Contribution Method for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients, *J. Pharm. Sci.* 84:1, 83-92 (1995).
- 8) Y. Prabhu, P.S. Phale, Biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas* sp. strain PP2: novel metabolic pathway, role of biosurfactant and cell surface hydrophobicity in hydrocarbon assimilation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61, 342-351 (2003).
- 9) Joanna D. Moody, James P. Freeman, Daniel R. Doerge, Carl E. Cerniglia. Degradation of Phenanthrene and Anthracene by cell suspension of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 4, 1476-1483(2001).
- 10) N.V. Balashova, A. Stolz, H-J. Knackmuss, I.A. Kosheleva., A.V. Naumov & A.M. Boronin, Purification and characterization of a salicylate hydroxylase involved in 1-hydroxy-2-naphthoic acid hydroxylation from the naphthalene and phenanthrene-degrading bacterial strain *Pseudomonas putida* BS202-P1. *Biodegradation.*, 12, 179-188 (2001).