

## PCE, TCE로 오염된 지하수내 미생물 특성 및 분포

권수열, 김진욱\*, 박후원\*\*, 이진우\*\*\*, 김 영\*

한국방송통신대학교 환경보건학과, \*고려대학교 환경공학과

\*\* (주)그린텍환경컨설팅, \*\*\* (주)도화종합기술공사

(sykwon@knou.ac.kr)

### <요약문>

Chlorinated aliphatic hydrocarbons (CAHs) especially perchlorethylene (PCE) and trichloethylene (TCE) are common groundwater contaminants in Korea. PCE and TCE were often reductively dechlorinated in an aquifer. Several isolates dechlorinate PCE to TCE or cis-1,2 dichloroethylene (c-DCE) were obtained from contaminated and pristine sites in USA and Europe. However in Korea, no information on indigenous microorganism being involved in reductive dechlorination of PCE and TCE is available and different dechlorinating microorganisms might be reside in Korea, since geochemical, and hydrogeological conditions are different, compared to those in the other sites. So we evaluate that: 1) if reductive dechlorinating microorganisms are present in PCE-contaminated site in Korea, 2) if so, what kinds of microorganisms are present; 3) to what extent PCE is reductively dechlorinated. As a results in some PCE-contaminated aquifers in Korea other dechlorinating microorganisms but *Dehalococcoides ethenogenes* may be responsible for PCE dechlorination. More detailed molecular works are required to evaluate that different dechlorinating microorganisms would reside in Korea.

**Key words** : anaerobic reductive dechlorination (ARD), Chlorinated aliphatic hydrocarbons (CAHs), dechlorinating microorganisms, microbial community structures

### 1. 서론

자연상태에서 존재하지 않는 난분해성 유해폐기물로 알려진 PCE, TCE등으로 대표되는 염소계 지방족 탄화수소물(Chlorinated aliphatic hydrocarbons; CAHs)들은 대표적인 지하수 오염물질들이다.(US EPA, 1990; 지하수관리보고서 1998). 이러한 CAHs의 처리과정중 생물학적 처리방법은 비용측면이나 부수적인 오염원의 문제가 상대적으로 적은 환경친화적인 방법으로 실제 오염된 지하수 현장에 적용되고 있으나, 오염 지역의 미생물분포와 특성의 영향을 크게 받는다(Semprini, 1997; McCarty 등, 1993). 특히 PCE, TCE는 혐기성 탈염소화 (Anaerobic reductive dechlorination, ARD) 미생물이 존재하는 경우에만 c-DCE, VC 또는 에틸렌등으로 전환되는 것으로 알려져 있으며, 미국등 외국에서는 여러 종류

의 탈염소화 미생물종들(*Dehalospirillum multivorans*, *Dehalobacter restrictus*, *Desulfotobacterium* sp. Strain PCE-S, *Clostridium bifermentans*, *Dehalococcoides ethenogene*)이 밝혀진 바 있다. 그러나 우리나라에서는 아직 탈염소화 미생물에 대한 연구가 전무할 뿐 아니라 다양한 환경적인 특성(지질화학적, 수리지질학적 특성)등의 영향으로 외국과는 다른 종들이 존재할 가능성도 있다. 따라서 본 연구에서는 우리나라의 PCE, TCE등으로 오염된 지하수에 탈염소화 미생물이 존재하는지 여부, 있다면 어떤 종들이 존재하며, 어느 정도 탈염소화 능력이 있는지 등을 살펴보기위한 기초실험을 수행하였다.

## 2. 본 론

본 연구에서는 PCE, TCE등으로 오염된 지역(P, F, I, L sites)의 지하수내 CAHs 성분분석 및 anaerobic microcosm 실험을 통해 PCE, TCE 제거 미생물의 존재여부 및 제거특성을 연구하였으며 각 지역별 지하수내 미생물분포특성을 분자미생물학적 방법을 통해 조사 분석하였다. 표 1은 대상지역의 CAHs의 농도특성인데 대부분이 PCE와 TCE로 오염된 지역으로 c-DCE는 발견되었으나, VC와 Ethylene은 검출되지 않았다. 염소계화합물의 분설결과를 바탕으로 이 지역은 PCE와 TCE를 탈염소화 할 수 있는 미생물이 존재 할 가능성이 높을 것으로 보이나, VC나 ethylene이 검출되지 않은 것으로 보아 현장에서는 더 이상의 혐기성 탈염소는 진행되지 않은 것으로 판단된다.

표 1. 은 염소계화합물로 오염된 지역의 CAHs의 농도

Site	PCE	TCE	c-DCE	VC	Ethylene
P	ND	0.84	0.04	ND	ND
F	0.04	0.78	0.07	ND	ND
I	0.06	0.24	0.10	ND	ND
L	ND	0.25	0.06	ND	ND

\*ND: not detected.

ARD의 활성도를 파악하고자 현장에서 채취된 지하수를 이용하여 microcosm test를 실시하였는데 그 결과는 아래 표 2와 같다. microcosm은 혐기성상태가 유지되는 anaerobic chamber(혼합 gas 비율: N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>=90:5:5 v/v) 에서 anaerobic low salt media(Löffler 등, 2000)를 준비하였으며 최종적으로는 head space에 H<sub>2</sub>를 제거하기 위하여 head space의 5배 되는 양의 N<sub>2</sub>gas를 주입하여 혐기조건으로 만들어 빛 등의 유입에 의한 조류의 번식이 될 수 없는 20℃ 배양기에 혼합없이 배양하였다. 대상 시료의 microcosm의 결과는 60일 배양한 이후에는 F와 I 지역에서는 PCE가 ARD의 최종산물인 ethylene이 검출되었으나 중간산물인 c-DCE와 VC는 검출되지 않았다. 90일 배양후에도 P와 L 지역에서는 c-DCE는 검출되었으나 VC와 ethylene은 전혀 검출되지 않았다.

이러한 결과를 바탕으로 현장조건에 관련된 ARD의 가능성을 다음과 같이 제시 할 수 있는데 첫 번째는 대상시료 지역의 모두가 PCE를 TCE로 분해 할 수 있는 능력이 있다. 두 번째는 ethylene이 검출된 F와 I 지역은 완전한 분해가 가능한 미생물이 작용 할 수 있다. 세 번째는 P와 L 지역은 TCE에서 더 이상 c-DCE, VC 및 ethylene으로 분해 할 수 없는 지역이거나 최소한 90일 이상에서도 분해가 되지 않았기 때문에 분해가 된다고 하여도 분해속도가 매우 느려서 다른 제거 방법이 도입되어야 할 것으로 판단된다.

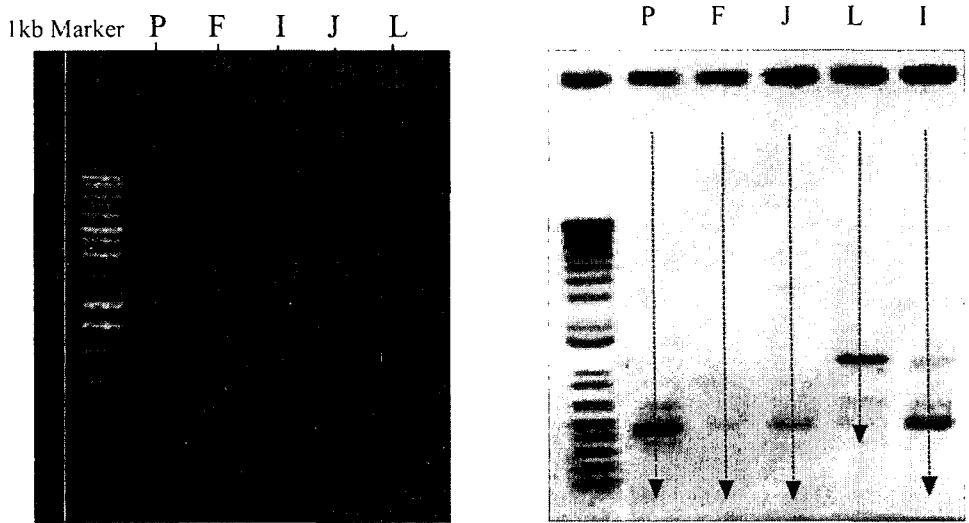
표 2. 90일 이후에 microcosm 배양 후에 ARD 중간산물의 검출유무

Site	PCE degradation	TCE detection	c-DCE detection	VC detection	Ethylene detection
P	Y	Y	Y	N	N
F	Y	Y	N	N	Y
I	Y	Y	N	N	Y
L	Y	Y	Y	N	N

\*Y indicated degraded or detected; N indicated not degraded or not detected

이를 보다 객관적인 자료로 활용하기 위하여 대상시료의 DNA를 추출하였으며 1, 2차 중합연쇄 반응 (Polymerase chain reaction; PCR)을 실시하였다. 추출된 DNA를 1차 PCR의 경우에는 universal primer(27F, 1492R)를 이용하였으며 2차 PCR의 경우에는 1차 PCR의 산물을 주형으로 specific primer인 *Dehalococcoides ethenogene* targeted primer(728~750F, 1172~1155R)을 이용하였다. 각각의 PCR 결과를 확인하고자 아래 그림1에 전기영동결과를 나타내었다.

2차 PCR을 실시한 PCR product를 cloning을 통해 sequencing을 실시하고 NCBI의 blast 결과, PCE를 에틸렌으로 완전 탈염소화 시키는 *Dehalococcoides ethenogene*는 발견되지 않았으며 대신 *clostridium* sp.라는 미생물이 확인되었다. 이는 미생물의 대사과정에서 H<sup>+</sup>를 발생시키는 미생물로 알려져 있다. 그러나 염소이온이 수소로 치환되는 가수분해 현상에 의해 분해되는 ARD 공정의 특성으로 보아 관련이 있을 것으로 판단된다.



(a) 각 site별로 추출된 DNA의 1차 PCR 결과  
그림 1. PCR 결과

(b) 각 site별로 추출된 PCR을 주형으로 한 2차 PCR 결과

현재 각 site에 관련한 미생물의 DNA 추출과 PCR, transformation, cloning, RFLP에 의한 grouping 및 sequencing등이 수행되고 있는데 L site의 초기지하수에서 추출된 DNA의 결과로는 현재 미생물의 분포의 대부분이 지역의 특성을 나타낸다고 할 수 있다. L site에서는 60개 이상의 plasmid를 RFLP에 의해서 grouping 하였을 때 2개 이상의 group이 8개로 분류 할 수 있었는데 이중 약 44%이상이 L site 특성(이곳은 제조업종이 중금속류 등을 폐수로 배출시킬수 있는지역임)을 나타내어 유기물질이 없는 빈 영양상태(oligotrophic state)에서 중금속을 제거에 관여하는 미생물(*Comamonas* sp.)이 우점(Wauter 등, 2003) 하는 것으로 나타났으며 microcosm test의 미생물 분석을 통해 우점화되는 미생물의 특성은 분석 중에 있다.

microcosm에 대한 지속적인 모니터링과 함께 각 site에 존재하는 미생물의 우점현상을 위한 미생물의 분석이 이루어지면 보다 정확한 판단을 내릴 수 있을 것으로 판단된다.

### 3. 결 론

PCE 및 TCE로 오염된 지하수의 염소계화합물의 ARD분해 특성 연구에서 도출된 결론은 다음과 같다.

- 지하수내 염소계화합물의 ARD 분해특성은 지역마다 차이가 있는데 이는 지하수내 존재하는 미생물의 다양한 분포에서 기인하며 염소계 화합물의 제거방법을 위해서는 지역적 미생물의 특성을 우선적으로 파악하여야 할 것이다.

- PCE를 최종산물인 ethylene으로 분해시키는 *Dehalococcoides ethenogene*은 현재 본 대상지역에서는 존재하지 않는 것으로 파악되지만 2차 PCR의 결과와 같이 유사한 sequence를 가지는 유사한 미생물의 존재가능성이 확인되었다. 이에 대한 연구가 실행되어야 할 것으로 판단된다.

### 참고문헌

- US EPA (1990) National Water Quality Inventory, 1988 Report to Congress., 행정자치부 (1996, 1997, 1998) 지하수 조사연보.
- Semprini, L. 1997. Strategies for the aerobic co-metabolism of chlorinated solvents. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 296-308.
- McCarty, P. L. and L. Semprini. 1993. Ground-water treatment of chlorinated solvents. In *Handbook of Bioremediation*, Lewis Publisher Inc., Chelsea, MI, pp87-116.
- Loffler FE, Sun Q, Li J and Tiedje JM, 2000, 16S rRNA Gene-based detection of tetrachloroethene-dechlorinating *Desulfurnomas* and *Dehalococcoides* species. *AEM.* 66(4),1369-1374
- Wauters G, De Baere T, Willems A, Falsen E and Vaneechoutte M (2003) Description of *Comamonas aquatica* comb. nov. and *Comamonas* emended description of *Comamonas terrigena*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53(3), 859-862