

### 혐기성 미생물에 의한 독성유기화합물의 분해

김 종 설

울산대학교 생명과학부

미생물은 생태계에서 물질순환에 중요한 역할을 하며, 유기화합물을 분해 혹은 변환시킨다. 어떤 미생물은 환경에 유입된 다양한 종류의 합성화합물에 적응하여, 이러한 물질을 탄소 혹은 에너지원으로 이용하기도 한다. 또 다른 미생물은 폭넓은 기질특이성을 갖는 효소를 발현하여 탄소 혹은 에너지대사와 관련없이 합성화합물을 분해하기도 한다. 이러한 미생물의 활성을 이용하여 오염을 줄이고 환경에의 손상을 최소화하기 위한 기술개발에 많은 관심이 모아지고 있다.

혐기성 세균에 의한 합성유기화합물의 변환은 그동안 광범위한 연구의 대상이었다. 하지만 최근 전체 탄소 순환에 있어서 혐기성 미생물에 의한 물질변환의 보충적인 역할이 인식되면서, 여기에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 여러 합성유기화합물중 환경에서의 분해가 혐기성 미생물의 활성에 크게 영향을 받는 것이 polychlorinated biphenyls(PCBs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins(PCDDs), chlorinated benzenes, chlorinated phenols, chlorobenzoates 등과 같은 할로겐치환 방향족 화합물이다. 여기에 속하는 많은 화합물이 자연에서 잘 분해가 되지 않으며 발암성을 포함한 여러 인체독성을 나타낸다. 또한 이들 화합물은 대체로 물에 잘 녹지 않고 지질친화성이 높아서 생물 혹은 무생물의 입자에 대한 높은 분배계수를 지니며, 환경에서 혐기성 서식처로 분배되어 들어가기 쉽다. 즉, PCBs와 같은 할로겐치환 방향족화합물로 오염된 환경의 많은 곳이 혐기성 상태로 존재한다.

혐기성 환경에서 미생물의 성장을 제한하는 주된 요소는, 혐기성 미생물로 하여금 비교적 풍부하게 존재하는 환원된 기질의 산화를 가능하게 하는 전자수용체이다. 혐기성 퇴적도에서 흔히 알려진 전자수용체는 bicarbonate와 sulfate이며, 이들은 각각 서로 다른 미생물군집의 발달을 북돋운다. 여러 연구자들이, 탈염소 반응에 관여하는 미생물이 PCBs와 같은 할로겐치환 방향족화합물을 혐기성 호흡에서의 또다른 전자수용체로 사용할 수 있다고 제안하였다(9, 11, 19). 열역학적인 계산도 할로겐치환 화합물의 환원형 탈할로겐 반응에서 이용가능한 에너지가 미생물의 성장에 필요한 양을 충족시킴을 보여준다(11, 14). 탈할로겐 반응은 전자를 필요로 하며, 이러한 전자를 할로겐 치환 화합물에 전달할 수 있는 효소적인 능력을 보유한 미생물에게는 이러한 화합물이 자원이 된다.

미생물 생태계는 환경적인 스트레스에 다양한 방법으로 적응이 가능하며, 합성유기화합물이 또다른 스트레스의 발생원이라고 할 수 있다. 미생물 생태계가 합성화합물에 의해 초래된 스트레스를 극복할 수 있는 가장 타당한 방법은 탈할로겐화 효소와 같은 적절한 효소기구를 발달시켜 이러한 화합물을 단순히 제거하는 것이다. 이 글에서는 혐기성 미생물에 의한 합성유기화합물의 분해과정을 할로겐치환 방향족화합물을 중심으로 살펴보고자 한다. 비할로겐 방향족화합물의 혐기성 분해과정은 지면상 다루지 않았다.

#### 환원형 탈할로겐 반응

환원형 탈할로겐 반응은 할로겐치환 화합물의 할로겐이 분자로부터 떨어지면서 두 개의 전자가 들어가는 과정으로 정의되며, 할로겐치환 방향족화합물의 경우는 보통 할로겐이 수소 원자로 치환되는 hydrogenolysis를 이야기한다(11, 19). 이 환원형 탈할로겐 반응에서 할로겐원자는 할로겐음이온으로 떨어져 나가며, 따라서 환원형 탈할로겐화는 proton을 생성하는 반응이 된다. 또한 이 반응은 열역학적으로 발열반응이며 전자공여체를 필요로 한다.

할로겐치환 방향족화합물의 환원형 탈할로겐 반응은 일반적으로 혐기성 조건에서 일어나며, 혐기성 분해의 첫 단계이다. 환원형 탈할로겐 반응이 혐기성 미생물에 의해서 촉매된다고 알려진 할로겐치환 방향족화합물에는 halobenzoates, halophenols, halobenzenes, haloanilins, PCBs, polybrominated biphenyls, PCDDs 등이 있다(2-3, 19). 또한 chlorinated pyridines, bromacil, 5-bromouracil 등의 할로겐치환 heterocyclic 화합물도 미생물에 의해 환원형 탈할로겐화 된다고 알려지고 있다(11, 19). 호기성분해와는 달리, 혐기성 조건에서의 탈할로겐 반응은 치환된 할로겐의 수에 제한을 받지 않으며 이론적으로는 할로겐이 많이 치환된 분자일수록 환원형 탈할로겐화가 쉽게 일어난다.

환원형 탈할로겐 반응의 결과 만들어지는 할로겐수가 줄어든 혹은 비할로겐 화합물은 원래의 화합물과 비교하여 일반적으로 생체축적성이 줄어들고, 독성이 감소되며, 또한 호기성조건에서의 무기물화가 보다 용이한 기질로 작용하게 된다. 이

러한 점은 미생물에 의한 탈할로겐화의 환경적으로 유익한 측면이 된다. 반면, 치환된 할로겐의 수가 줄어들수록 물에의 용해성은 대체로 증가하기 때문에 탈할로겐반응이 토양이나 퇴적토에서 쉽게 이동하는 대사산물을 생성할 가능성도 있다.

다양한 할로겐치환 방향족화합물이 혐기성 조건에서 환원 형태로 탈할로겐화되어진다고 알려져 있지만(11, 19), 현재까지 분리된 탈염소화세균은 몇 개 되지 않는다(11). 처음으로 분리된 탈염소화세균은 황산환원세균인 *Desulfomonile tiedjei*로, 3-chlorobenzoate를 분해하는 메탄생성조건의 enrichment culture에서 얻어졌으며, 이 세균에 대한 연구결과는 탈할로겐화가 co-metabolic과정이 아니라 에너지를 생성하는 혐기성 호흡과정임을 제안한다(12, 22). 보다 최근에 분리된 DCB-2(17), 2CP-1(10), *Desulfobacterium dehalogenans*(23) 등은 chlorophenols를 탈염소화하는 세균들로, 이들이 탈염소반응으로 부터 에너지를 얻는지는 좀더 연구가 필요하다. DCB-2는 그람 양성 of 포자생성균으로 황산을 전자수용체로 사용할 수 없어서, *Desulfotomaculum*과 유사한 세균으로 추측되어 진다(11, 17). 2CP-1의 16S rRNA서열은, 이 세균이 *D. tiedjei*와 같이 proteobacteria의  $\delta$ -subdivision에는 속하지만, 황산환원세균이 아니라 myxobacteria에서 갈라져 나왔음을 보여준다(11). *D. dehalogenans*는 황산보다는 아황산과 thiosulfite를 전자수용체로 사용한다(23). chlorobenzoates와 chlorophenols를 제외한 다른 할로겐치환 방향족화합물의 미생물에 의한 환원형 탈염소화의 증거는 대개 enrichment cultures로 부터 얻어진 것이다.

황산환원세균에 속하는 *Desulfovibrio*의 여러 종들을 시험한 결과, 탈할로겐화의 활성을 가진 균주는 현재까지 찾아지지 않고 있다. 하지만, 시험대상의 실험실균주에서 탈할로겐 반응을 유도하기 위한 적절한 조건은 다분히 추측에 의존한 것이어서 아직 어떤 결론을 내리기는 어렵다. 분리된 여러 미생물의 경우에서 잠재적인 탈할로겐 활성은 proteobacteria의  $\delta$ -subdivision에 널리 존재하는 듯하다(11).

## 할로겐치환 방향족화합물

### Polychlorinated biphenyls

미생물에 의한 변환이 자연환경에서 PCBs를 파괴하는 주된 경로이다. 일반적으로 호기성 산화형 분해는 biphenyl고리에 치환된 염소의 수에 의해 제약되며, 분해에 biphenyl과 같은 또다른 기질을 필요로 한다(1). 반면, 혐기성 조건에서의 환원형 탈염소 반응은 염소수가 보다 많은 PCBs의 분자로 부터 주로 meta 및 para 위치에 치환된 염소를 제거하면서 염소수가 줄어든 분자를 만든다(1, 4). PCBs의 환원형 탈염소 반응은 여러 환경에서 잘 알려져 있다. 하지만, 이반응의 환경적, 생물공학 적 중요성에도 불구하고 현재까지 PCBs의 탈염소 반응에 관여하는 미생물을 분리하려는 노력들은 성공하지 못하였고,

생물산업

관여하는 미생물의 생리도 잘 이해되지 못하고 있다(4). 이러한 분리의 어려움은 PCBs의 탈염소에 관여하는 미생물의 영양조건에 대한 이해부족에서 일부 기인한다. 실험실 배양에서 PCBs의 탈염소 반응의 활성이 토양성분의 존재를 필요로 하기 때문에, 이러한 토양의존성이 영양조건을 결정하는 어렵게 만든다. 따라서 PCBs의 탈염소 반응에 대한 실험실에서의 연구는 대부분 토양이나 퇴적토에 존재하는 미생물들의 혼합 개체군들을 이용하여 행해지고 있다.

PCBs는 염소의 수 및 위치에 따라 이론적으로 209가지의 서로 다른 분자가 존재할 수 있으며, 상업적으로는 60에서 90가지의 분자를 포함하는 혼합물의 형태로 생산되었다. 이러한 PCBs의 혼합물에서 일어나는 환원형 탈염소 반응의 결과로 각 분자의 상대적인 농도는 변하게 된다. 즉, 탈염소 반응이 진행되면서 상대적으로 염소의 수가 많은 분자의 농도는 감소되면서 염소의 수가 줄어든 분자의 농도가 증가하게 되어 어떤 특징적인 형태를 나타내게 된다. PCBs로 오염된 토양 및 퇴적토 그리고 실험실 배양에서는 여러 형태의 탈염소화가 관찰되어지며 이러한 탈염소화 활성의 다양성은 서로 다른 탈염소화 미생물의 개체군에 기인하는 것으로 생각된다. 결과적으로 혐기성 미생물에 의한 PCBs의 탈염소화는 분자구조에 따른 그리고 오염지역에 의존한 특이성을 지니게 된다.

PCBs와 같은 할로겐치환 방향족화합물이 혐기성 환경에서 전자수용체로 사용될 수 있다는 가설은 널리 받아들여지고 있다(9, 11, 16, 20). PCBs의 분자들 중에서 decachlorobiphenyl의 탄소가 가장 산화된 전자가를 가지며, biphenyl은 반대로 가장 환원된 분자이다. 따라서 이론적으로 염소의 수가 많을수록 혐기성 상태에서 전자를 받아서 환원되기 쉬우며, 염소의 수가 줄어들수록 호기성 환경에서 산화되기 쉽다. 열역학적인 계산의 결과도 PCBs의 환원형 탈염소 반응이 이를 매개하는 미생물의 성장에 충분한 에너지를 제공할 수 있음을 보여준다(12). 오염된 퇴적토에서 탈염소화 미생물의 성장은 PCBs의 탈염소 반응의 진행과정과 밀접한 관련이 있었으며, 탈염소 반응의 수율도 *D. tiedjei*에 의한 3-chlorobenzoate의 탈염소 반응에서의 수율과 유사하였다(16). 또한 같은 실험의 결과는 PCBs의 탈염소 반응을 위한 역치농도가 존재함을 제안하고 있다.

### Polychlorinated dibenzo-p-dioxins

PCDDs의 탈염소 반응이 메탄생성조건하의 환원된 담수의 퇴적토에서 일어남이 실험적으로 보여지고 있다(2-3, 5). 퇴적토의 미생물, humic acid의 성분들, 생물유래의 고분자물, 그리고 중금속들이 탈염소 활성을 촉매하는 것으로 알려졌다(2-3, 5). 하지만 PCDDs의 비생물적인 요소에 의한 탈염소 반응은 tetraCDDs에서 중단되는 반면, 이러한 tetraCDDs는 미생물에 의해 탈염소화가 더 진행되어 tri-, di-, 그리고 monoCDDs로 변환한다(2-3, 5). 미생물에 의한 PCDDs의 환원형 탈염소화

는 2,3,7,8 위치에 염소를 갖는 분자들에서 찾아지는 *peri-dechlorination*과 2,3,7,8 위치가 치환되지 않은 분자들에서의 *peri/lateral-dechlorination*의 두 가지 경로를 보여준다. 전자의 탈염소 경로에서 일시적으로 2,3,7,8-tetraCDD가 축적될 수 있으며, 1,2,3,4-tetraCDD를 사용한 배양에서 2,3 위치에 염소를 지닌 PCDDs의 분자가 만들어지기도 하였다(5). 오염된 자연 환경에서 PCDDs는 매우 낮은 농도로 존재하기 때문에 이런 환경에서 혐기성 미생물이 PCDDs를 co-metabolism의 형태로 변환시키는지 혹은 에너지생성을 위한 혐기성 호흡에서 사용하는지는 분명하지 않다.

**Chlorinated benzenes**

Chlorinated benzenes는 유기용매, 살충제, 농약 혹은 다른 호합물생산의 중간체로 널리 사용되고 있다. 호기성 조건에서 미생물은 chlorobenzenes를 탄소 및 에너지원으로 사용하여 완전히 무기물화할 수 있으며 여러 세균들도 분리되고 있다. 하지만, 많은 경우 chlorobenzenes는 산소가 없는 퇴적토나 깊은 지하수에 존재하며, 이런 혐기성 환경에서는 미생물에 의한 환원형 탈염소화가 분해의 첫 단계로 일어난다. 대부분의 연구에서 chlorobenzenes의 환원형 탈염소 반응은 메탄생성조건에서 관찰되었으며, 또한 해양의 퇴적토시료의 배양에서는 황산환원조건에서도 환원형 탈염소화가 일어났다(6, 18). Hexachlorobenzene에 적응된 혐기성의 enrichment cultures에서는 다양한 경로의 탈염소 활성이 찾아진다. 이러한 탈염소화의 경로, 즉 개개의 chlorobenzenes의 분자들에 대한 탈염소 반응의 선택성과 각 탈염소화 단계에서 생성가능한 열역학적인 에너지사이에 상관관계가 있음이 관찰되었다(6). 이 연구에서 사용한 enrichment culture에서는, 치환된 염소가 두 개 이상인 chlorobenzenes에서 가능한 19개의 탈염소 반응중, 열역학적으로 가장 높은 에너지를 발생할 수 있는 7개의 반응만이 일어났다. 또한 최근의 연구에서는 chlorobenzenes를 탈염소화하는 메탄생성의 미생물군집이 PCBs와 PCDDs를 탈염소화하는 활성도 가진 것이 알려졌다(18). 아직 chlorobenzenes을 환원형 탈염소화하는 미생물은 순수분리되지 못하였다.

**Chlorinated phenols**

호기성 분해와 비교하여 혐기성 미생물에 의한 chlorinated phenols의 분해에 대해서는 훨씬 덜 알려져 있다. Chlorinated phenols의 환원형 탈염소 반응은 Ide 등에 의해 처음 제안되었으며(15), 혐기성 분해에서의 주된 반응이다. 메탄생성조건에서 chlorinated phenols의 분해는 환원형 탈염소 반응으로 시작되며, 주로 *ortho* 위치의 염소가 먼저 제거되거나 enrichment cultures의 미생물군집에 따라 탈염소화의 경로는 달라지기도 한다(11). 종종 탈염소 반응이 완결되지 못하여 di-, tri-, tetrachlorophenols가 축적되기도 하나, 혐기성조건에서 monochlo-

rophenols 및 pentachlorophenol의 완전한 무기물화도 보고되었다. 황산의 존재하에서도 chlorophenols의 탈염소화는 관찰되며, monochlorophenols는 메탄생성, sulfide 생성, 철환원등의 다양한 환원조건에서 분해된다(11). 3-Chlorobenzoate를 탈염소화하는 *D. tiedjei*가 또한 여러 chlorophenols로부터 *meta* 위치의 염소를 제거함이 밝혀졌으며, chlorophenols에 대한 탈염소 활성을 유도시키기 위해서는 3-chlorobenzoate를 필요로 한다(19). DCB-2는 2,4,6-trichlorophenol로부터 *ortho* 위치의 염소를 떼어내며, *meta* 위치의 탈염소화는 3,5-dichlorophenol에서만 관찰되었다(17). *D. dehalogenans*는 2,4-dichlorophenol로부터 *ortho* 위치의 염소를 제거한다(23).

**할로겐치환 지방족화합물의 혐기성 분해**

할로겐치환 지방족화합물은 산업폐수, 매립지의 침출수, 옹니, 그리고 지하수 등에서 주로 찾아지는 오염물질로, chloroform, carbon tetrachloride, tetrachloroethylene(PCE), trichloroethylene(TCE), 1,1,1-trichloroethane, methylene chloride등과 같이 유기용매로 사용되는 것들이 많다. 혐기성 조건에서 할로겐치환 지방족화합물의 미생물에 의한 변환은 Bouwer 등에 의해 1981년 처음으로 제시되었으며(7), 곧이어 메탄생성조건을 포함한 혐기성 상태의 다양한 환경조건에서 관찰되었다(8). 혐기성 미생물에 의한 변환은 주로 hydrogenolysis나 dihaloelimination을 통한 환원과정으로, 분류학적으로 다양한 많은 세균들이 순수배양에서 이 반응을 수행한다(19). 이들에 의한 할로겐치환 지방족화합물의 탈할로겐 반응은 대부분 co-metabolism의 형태로 일어나는 것으로 보인다. 하지만, 최근에 분리된 *Dehalobacter restrictus*(PER-K23)의 경우 PCE를 탈염소화하여 TCE를 거쳐 *cis*-1,2-dichloroethylene을 만들며, 환원형 탈염소화를 통하여 성장에 필요한 에너지를 얻는다(13). 이 세균은 H<sub>2</sub>와 formate를 전자공여체로, 그리고 PCE 혹은 TCE를 전자수용체로 사용할 수 있다(13). H<sub>2</sub>를 전자공여체로 하여 열역학적인 계산을 하여보면, chlorinated ethylenes의 환원형 탈염소화로 부터 이용가능한 에너지의 양이 bicarbonate나 sulfate를 전자수용체로 사용할 때 이용가능한 것보다 크다는 것을 알 수 있다(11). 또 다른 탈염소화 세균인(*Dehalospirillum multivorans*)의 경우 PCE를 탈염소화하며 다양한 화합물을 에너지생산의 기질로 사용할 수 있다(21).

**참고문헌**

1. Abramowicz, D. A. 1990. Aerobic and anaerobic biodegradation of PCBs: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* **10**, 241-251.
2. Adriaens, P. and D. Grbic-Galic. 1994. Reductive dechlorination of PCDD/F by anaerobic cultures and sediments. *Chemosphere* **29**, 2253-2259.

3. Barkovskii, A. and P. Adriaens. 1995. Biological and abiotic dechlorination of highly chlorinated dioxins in a bi-phasic microcosm system, p.73-82. In R. E. Hinchee, R. E. Hoepfel, and D. B. Anderson (ed.), *Bioremediation of recalcitrant organics*. Batelle Press, Columbus, Ohio.
4. Bedard, D. L. and J. F. Quensen III. 1995. Microbial reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls, p.127-216. In L. Y. Young and C. E. Cerniglia (ed.), *Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals*. Wiley-Liss, New York, N.Y.
5. Beurskens, J. E. M., M. Toussaint, J. De Wolf, J. M. D. Van der Steen, P. C. Slot, L. C. M. Commandeur, and J. R. Parsons. 1995. Dehalogenation of chlorinated dioxins by an anaerobic microbial consortium from sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* **14**, 939-943.
6. Beurskens, J. E. M., C. G. C. Dekker, H. Van den Heuvel, M. Swart, and J. De Wolf. 1994. Dechlorination of chlorinated benzenes by an anaerobic microbial consortium that selectively mediates the thermodynamic most favorable reactions. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 701-706.
7. Bouwer, E. J., B. E. Rittmann, and P. L. McCarty. 1981. Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2-carbon organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* **15**, 596-599.
8. Bouwer, E. J. and P. L. McCarty. 1981. Transformations of 1- and 2-carbon halogenated aliphatic organic compounds under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1286-1294.
9. Brown, J. F. Jr., R. E. Wagner, H. Feng, D. L. Bedard, M. J. Brennan, J. C. Carnahan, and J. C. May. 1987. Environmental dechlorination of PCBs. *Environ. Toxicol. Chem.* **6**, 579-593.
10. Cole, J. R., A. L. Cascarelli, W. W. Mohn, and J. M. Tiedje. 1994. Isolation and characterization of a novel bacterium growing via reductive dehalogenation of 2-chlorophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 3536-3542.
11. Dolfing, J. and J. E. M. Beurskens. 1995. The microbial logic and environmental significance of reductive dehalogenation. *Adv. Microb. Ecol.* **14**, 143-206.
12. Dolfing, J. 1990. Reductive dechlorination of 3-chlorobenzoate is coupled to ATP production and growth in an anaerobic bacterium, strain DCB-1. *Arch. Microbiol.* **153**, 264-266.
13. Holliger, C., G. Schraa, A. J. M. Stams, and A. J. B. Zehnder. 1993. A highly purified enrichment culture couples the reductive dechlorination of tetrachloroethene to growth. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 2991-2997.
14. Holmes, D. A., B. K. Harrison and J. Dolfing. 1993. Estimation of Gibbs free energies of formation for polychlorinated biphenyls. *Environ. Sci. Technol.* **27**, 725-731.
15. Ide, A., Y. Niki, F. Sakamoto, I. Watanabe, and H. Watanabe. 1972. Decomposition of pentachlorophenol in paddy soil. *Agric. Biol. Chem.* **36**, 1937-1944.
16. Kim, J. and G-Y. Rhee. 1997. Population dynamics of polychlorinated biphenyl-dechlorinating microorganisms in contaminated sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 1771-1776.
17. Madsen, T., and D. Licht. 1992. Isolation and characterization of an anaerobic chlorophenol-transforming bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2874-2878.
18. Middeldorp, P. J. M., J. DeWorf, A. J. B. Zehnder, and G. Schraa. 1997. Enrichment and properties of 1,2,4-trichlorobenzene-dechlorinating methanogenic microbial consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 1225-1229.
19. Mohn, W. W. and J. M. Tiedje. 1992. Microbial reductive dehalogenation. *Microbiol. Rev.* **56**, 482-507.
20. Quensen, J. F., III, J. M. Tiedje, and S. A. Boyd. 1988. Reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls by anaerobic microorganisms from sediments. *Science* **242**, 752-754.
21. Scholz-Muramatsu, H., A. Neumann, M. Messmer, E. Moore, and G. Diekert. 1995. Isolation and characterization of *Dehalospirillum multivorans* gen. nov., sp. nov., a tetrachloroethene utilizing, strict anaerobic bacterium. *Arch. Microbiol.* **163**, 48-56.
22. Shelton, D. R. and J. M. Tiedje. 1984. Isolation and partial characterization of bacteria in an anaerobic consortium that mineralizes 3-chlorobenzoic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 850-857.
23. Utkin, I., C. Woese, and J. Wiegel. 1994. Isolation and characterization of *Desulfitobacterium dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium which reductively dechlorinates chlorophenolic compounds. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **44**, 612-619.