

## 산업단지지역 하천 미생물에 의한 퍼클로레이트 제거

조강익\*\*\* · 인영희\*†

\*동아대학교 환경공학과  
604-714 부산광역시 사하구 낙동대로 550번길 37  
\*\*포항바이오파크  
790-824 경상북도 포항시 남구 대도동 338-1  
(2013년 9월 3일 접수, 2013년 10월 3일 수정본 접수, 2013년 10월 10일 채택)

## Perchlorate Removal by River Microorganisms in Industrial Complexes

Kang-Ick Jo\*\*\* and Yeonghee Ahn\*†

\*Department of Environmental Engineering, Dong-A University, 37 Nakdong-Daero 550 beon-gil, saha-gu, Busan 604-714, Korea  
\*\*Pohang Biopark, 338-1 Daedo-dong, Nam-gu, Pohang, Gyeongbuk 790-824, Korea  
(Received 3 September 2013; Received in revised form 3 October 2013; accepted 10 October 2013)

### 요 약

퍼클로레이트( $\text{ClO}_4^-$ )는 지표수는 물론이고 토양지하수의 신규 오염물이다.  $\text{ClO}_4^-$ 는 요오드가 갑상선에 흡수되는 것을 방해하므로 갑상선 호르몬 생성을 저하시킨다.  $\text{ClO}_4^-$ 는 물에서 매우 용해도가 높고 안정적이라는 특징으로 인해  $\text{ClO}_4^-$ 를 환원하는 세균(PRB)에 의한 생분해가 자연저감의 가장 중요한 요인으로 여겨지고 있다. 산업단지 내 하천은 점 또는 비점오염원으로부터 배출된  $\text{ClO}_4^-$ 에 오염될 잠재성이 있다. 그래서 본 연구에서는 구미지역 산업단지 내 하천에서 물 시료를 채취하여 하천미생물의  $\text{ClO}_4^-$  분해 잠재능을 회분배양으로 조사하였다. 외부 전자공여체를 첨가하지 않고 83 시간 동안 배양한 결과 모든 시료는  $\text{ClO}_4^-$  제거효율이 0.77% 이하로 매우 낮은 것으로 나타났다. 그러나 외부 전자공여체(acetate, thiosulfate,  $\text{S}^0$ , 또는  $\text{F}^0$ )를 첨가한 경우는 제거효율이 최고 100%로 나타났고, 첨가된 전자공여체의 종류와 시료채취지점에 따라 제거효율은 다양한 것으로 나타났다. 본 연구에서 사용한 전자공여체 중에서는 acetate를 사용했을 때  $\text{ClO}_4^-$  분해효율이 가장 우수한 것으로 나타나 종속영양방식 PRB의 활성이 우세함을 알 수 있었다. 본 연구의 결과는 산업단지 내 하천 미생물에 의한  $\text{ClO}_4^-$  자연저감에 대한 기초정보를 제공하여 원위치 생물복원처리에서  $\text{ClO}_4^-$  생분해를 증진하기 위한 전략마련에 유용하게 사용될 것이다.

**Abstract** – Perchlorate ( $\text{ClO}_4^-$ ) is an emerging contaminant of soil/groundwater and surface water.  $\text{ClO}_4^-$  has been shown to inhibit iodide uptake into the thyroid gland and cause a reduction in thyroid hormone production.  $\text{ClO}_4^-$  is highly soluble and very stable in water. Biodegradation by  $\text{ClO}_4^-$ -reducing bacteria (PRB) is considered the most important factor in natural attenuation of  $\text{ClO}_4^-$ . Rivers in an industrial complex have potential to be contaminated with  $\text{ClO}_4^-$  discharged from point or non-point sources. In this study, water samples were taken from the rivers running through the Gumi industrial complexes and used for batch test to analyze  $\text{ClO}_4^-$ -degradation potential of river microorganisms. The results of 83-h batch culture showed that  $\text{ClO}_4^-$ -removal efficiency of all samples was 0.77% or less without addition of an external electron ( $e^-$ ) donor. However  $\text{ClO}_4^-$ -removal efficiency was higher when an  $e^-$  donor (acetate, thiosulfate,  $\text{S}^0$ , or  $\text{F}^0$ ) was added into the batch culture, showing up to 100% removal efficiency. The removal efficiency was various depending on type of  $e^-$  donor and site of sampling. When acetate was used as an  $e^-$  donor, the highest  $\text{ClO}_4^-$ -removal efficiency was observed among the  $e^-$  donors used in this study, suggesting that activity of heterotrophic PRB was dominant. The results of this study provide basic information on natural attenuation of  $\text{ClO}_4^-$  by river microorganisms. The information can be useful to prepare a strategy to enhance efficiency of  $\text{ClO}_4^-$  biodegradation for in situ bioremediation.

Key words: Biodegradation, Electron Donor, Indigenous Microorganisms, Perchlorate, Reduction

†To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: yahn@dau.ac.kr

‡이 논문은 KAIST 양지원 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.  
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

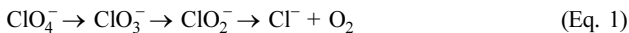
### 1. 서론

퍼클로레이트(perchlorate,  $\text{ClO}_4^-$ )는 지표수, 지하수 및 토양의 신규 오염물이다.  $\text{ClO}_4^-$ 은 비휘발성이고 물에서 매우 잘 용해될 뿐만 아니라 화학적으로 안정되어 쉽게 분해되지 않으므로 광범위한 오염을 초래할 수 있다: 20 °C에서  $\text{NaClO}_4$ 와  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$ 의 용해도는 각각 2,010 g/L와 209 g/L이다[1].  $\text{ClO}_4^-$ 는 인체에 흡수되면 갑상선에 요오드가 흡수되는 것을 막아 갑상선호르몬 생성을 방해하므로 결국 성장과 물질대사가 저해되어 인체에 전반적인 영향을 미친다[2].

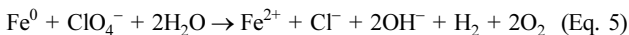
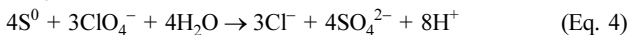
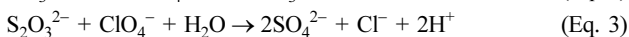
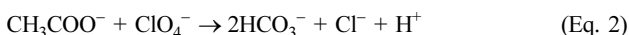
우리나라에서는 2006년에 낙동강 수계와 부산시 수돗물에  $\text{ClO}_4^-$ 가 고농도로 검출되면서 이 화합물에 대한 환경문제가 이슈화되었다[3]. 그 이후 2008년에는  $\text{ClO}_4^-$ 가 수질오염물질로 신규 지정되었고, 2010년에는  $\text{ClO}_4^-$ 가 먹는물 수질감시항목으로 지정됨에 따라 권고 기준 15  $\mu\text{g ClO}_4^-/\text{L}$ 이 설정되었다[4]. 그러나  $\text{ClO}_4^-$ 에 대한 수질오염물질 배출허용기준은 아직 설정 안 된 상태이다.

$\text{ClO}_4^-$ 는 대부분 일상생활에 사용되는 제품(예, 성냥, 건전지, 자동차 에어백, 페인트, 배터리, 의약품, 비료 제조 등)이나 화학류 제조 공정에서 생성된다[5]. 국내의  $\text{ClO}_4^-$  배출 실태와 배출원의 파악 및 다양한 환경에서  $\text{ClO}_4^-$  농도를 조사한 연구는 최근 보고되었으며[6-9], 우리나라에서  $\text{ClO}_4^-$ 의 오염원으로서 주로 LCD 제조공정의 세정제나 이연제련 공정에서 배출되는 폐수가 알려졌으며[6]. 이러한 연구와 더불어  $\text{ClO}_4^-$  제거연구도 보고되었다[10-13].

미생물은  $\text{ClO}_4^-$ 를 무해한 최종산물로 분해하므로 미생물에 의한 생분해가 환경의 복원기법으로 가장 타당하다고 보고[14]되었으며, 또한 실제 환경에서  $\text{ClO}_4^-$ 의 거동을 예측해 볼 때 환경 미생물에 의한 생분해가  $\text{ClO}_4^-$ 의 제거에 가장 큰 기여를 할 것으로 여겨진다.  $\text{ClO}_4^-$ 를 환원하는 세균(perchlorate-reducing bacteria, PRB)은  $\text{ClO}_4^-$ 를 순차적으로 환원시킨다(1).



PRB는 자연환경에서 흔히 존재하고 다양한 유기물(예, acetate, ethanol등) 또는 무기물(예,  $\text{H}_2$ , thiosulfate,  $\text{S}^0$ )을 전자 공여체로 이용하여  $\text{ClO}_4^-$ 를 환원하는 것으로 알려졌다[15]. 최근에는 영가철( $\text{Fe}^0$ )이 부식되어 발생하는  $\text{H}_2$ 를 이용한  $\text{ClO}_4^-$  생분해도 보고되었다[15,16]. 이러한 전자공여체를 사용하는 미생물이  $\text{ClO}_4^-$ 를 전자수용체로 사용할 경우 다음 반응이 일어난다: acetate (2); thiosulfate (3); 원소황 (4);  $\text{Fe}^0$  (5).



낙동강 유역에는 부산을 비롯한 3개의 광역시와 5도 및 54개 시, 군, 구가 위치하고 있어 낙동강은 상수원으로 이용되고 있다. 그러나 낙동강 유역에는 92개소의 공단뿐만 아니라 군부대 등이 존재하므로  $\text{ClO}_4^-$  오염의 잠재성을 항상 내포하고 있다. 낙동강수계의 공단은 대부분 본류보다는 본류와 연결된 지류에 위치하고 있다.  $\text{ClO}_4^-$  배출원과 가까운 지류의 PRB는  $\text{ClO}_4^-$ 로 오염된 물이 본류로 유입되기 전에  $\text{ClO}_4^-$ 를 제거 또는  $\text{ClO}_4^-$  농도를 감소시키는 역할을 하므로 그들의  $\text{ClO}_4^-$  분해능이 본류의 오염정도에 미치는 영향이 크다. 그러나  $\text{ClO}_4^-$  오염의 잠재성이 있는 산업지역의 하천에 존재하는 미생

물의  $\text{ClO}_4^-$  분해능에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다. 그래서 본 연구는 구미시의 산업단지 지역에 위치한 하천수에 존재하는 미생물의  $\text{ClO}_4^-$  생분해능을 조사하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 2-1. 시료채취

구미시의 산업단지 내의 하천 4곳(Fig. 1)에서 물 시료를 각각 채취하였다. 이들 하천은 모두 낙동강 본류와 결국 합류하였다. 시료 W-15와 W-16은 제1 산업단지 내의 하천에서 채취하였고, 시료 W-14와 W-17은 제3 산업단지 내의 하천에서 채취하였다. 각 시료의 구체적인 채취지점은 다음과 같다: W-14, 남구미대교 근처 하수처리장 방류 하천과 낙동강 본류의 합류지점; W-15, 오테교 근처 광평천; W-16, 광평천과 지류의 합류지점; W-17, 우담교 근처 이계천. 채취한 시료는 ice box에 담아 당일 동아대학교 토양환경연구실로 운반하였다. 물 시료는 하천 및 강의 가장자리에서 약 1 m 떨어진 지점의 수면에서 약 10 cm 깊이에서 채취하였다. 한편 물 시료의 채취는 2 L 멸균 채수병을 사용하였다. 물 시료를 채취한 현장의 온도, pH, 그리고 용존 산소(DO)는 portable meter(PD-70N, Istec, Inc; 한국)를 사용하여 측정하였다. 시료의 미생물학적 특성(총생균수 조사 및  $\text{ClO}_4^-$  생분해능 조사)분석은 시료채취 당일 실험실에서 실시하였다.

#### 2-2. 시료의 물리화학적 특징분석

채취한 시료의 온도, DO, pH는 현장에서 즉시 측정하였고, 전기전도도(conductivity)와 염도 및 생물학적 산소요구량(BOD)은 시료 채취 당일 실험실에서 Multimeter(915PDC, Istec, Inc)를 사용하여 측정하였다. 물 시료의 BOD는 수질오염공정시험기준[17]에 따라 실시하여 BOD<sub>5</sub> 값을 구하였다.

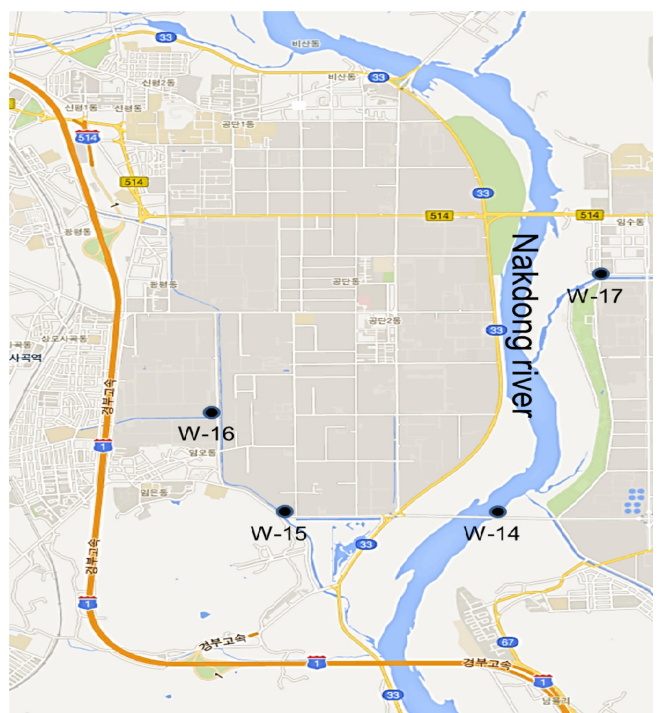


Fig. 1. Sampling sites in Gumi industrial complexes.

**Table 1. Constituents of the microcosms used in the batch test**

Microcosms	Constituents
Experiment	Medium, perchlorate, e <sup>-</sup> donor*, sample**
Abiotic control	Medium, perchlorate, e <sup>-</sup> donor, autoclaved sample
Medium control	Medium, perchlorate

\*One of e<sup>-</sup> donors in Table 2.

\*\*Environmental sample (water).

### 2-3. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 생분해능 조사

환경시료 내의 PRB의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 생분해 특성 분석을 위해 실시한 회분 배양의 구성은 Table 1과 같다. 회분배양을 위해 멸균된 serum bottles(100 ml 용량)에 물 시료 10 ml와 멸균된 40 ml의 최소배지(minimal medium; pH 6.7)를 첨가하였다. 그래서 최종 용량은 50 ml 이었고 head space는 50 ml로 하였다. 최소배지의 성분(L 당은 다음과 같다: 2 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 47 mg K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 27 mg NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 16 mg NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.04 mg NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.04 mg Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1 g NaHCO<sub>3</sub>로 구성되었다. 본 연구에 사용된 sodium perchlorate(NaClO<sub>4</sub>, 순도 ≥ 99%; ACROS Organics, New Jersey, USA)는 최종 농도가 20 mg ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>/L 되게 공급하였다. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>는 autoclave한 배지에 filter(pore size 0.2 μm) 여과한 후 첨가하였다. 배지는 초순수(ultrapure water)를 사용하여 제조하였다. 그 외 시약들은 모두 Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며 가장 순도(순도 ≥ 99%)가 높은 것이었다. Serum bottles는 butyl rubbers와 aluminum crimp로 봉한 다음 N<sub>2</sub> gas(순도, 99.99%)로 2분간 purge 하여 25 °C, 어두운 곳에서 83 h 동안 진탕배양(150 rpm)하였다. 모든 작업은 clean bench에서 멸균된 상태에서 진행되었으며 모든 실험은 duplicate으로 실시하였다.

대조군 실험으로 하천미생물을 포함한 시료를 serum bottle에 넣지 않은 medium control과 autoclave한 시료를 serum bottle에 넣은 abiotic control도 함께 실험하였다. Abiotic control은 접종된 미생물의 활성이 없는 경우에 배양 기간 동안 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 농도를 조사하기 위한 것이었고, 한편 medium control은 본 연구에 사용된 배지성분이 배양기간 동안 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 농도변화에 영향을 주는지를 조사하기 위한 것이었다.

회분배양 시 외부 전자공여체를 첨가하여 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해효율의 변화도 조사하였다(Table 2). 시료 자체 내의 전자공여체를 이용한 하천미생물의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해능을 알아보기 위해 외부 전자공여체를 첨가하지 않은 것은 N으로 표시하였다. 한편 외부 전자공여체로서 acetate, S<sup>0</sup>, thiosulfate, 그리고 Fe<sup>0</sup>을 각각 첨가한 것을 A, T, S 그리고 F라고 표시하였다. Acetate는 종속영양 PRB의 전자 공여체로 사용될 것이고, 나머지 3종류의 전자공여체는 독립영양 PRB에 의해 사용될 수 있다.

외부 전자공여체는 다음과 같은 농도로 사용되었다. Acetate는 sodium acetate(KATAYAMA CHEMICAL, 일본; 순도, ≥98.5%) 형

**Table 2. e<sup>-</sup> donors added in the medium used for batch test**

Label	Added e <sup>-</sup> donor
N	None
A	Acetate
T	Thiosulfate
S	S <sup>0</sup> particles
F	Fe <sup>0</sup> particles

태로 최종 0.041 g acetate/L 그리고 thiosulfate는 sodium thiosulfate (SHINYO PURE CHEMICAL, 일본; 순도, ≥99%) 형태로 최종 0.15 g thiosulfate/L를 공급하였다. 한편 입자상 원소 황(S<sup>0</sup>, 순도, ≥99.98%; (주)미원상사, 한국)은 20 g/L, 영가철 입자(Fe<sup>0</sup>, 순도, ≥99.98%; ACROS, Belgium)은 20 g/L를 각각 첨가하였다. 사용한 S<sup>0</sup> 입자의 지름은 2~3 mm이었으며 Fe<sup>0</sup> 입자의 mesh size는 -70이었다.

ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 환원에 필요한 전자 공여체의 molar ratio는 다음과 같다: ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:acetate = 1:1 (2); ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> = 1:1 (3); ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:S<sup>0</sup> = 1:1.33 (4); 그리고 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:Fe<sup>0</sup> = 1:1 (5). 이 molar ratio에 근거하여 외부 전자 공여체는 충분하게 공급하였다. 즉 첨가한 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>와 외부 전자 공여체의 molar ratio는 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:acetate = 2:3, ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> = 1:3이었고, S<sup>0</sup> 입자와 Fe<sup>0</sup> 입자는 위에 기술한 충분한 양을 넣어주었다.

Batch test에 사용된 serum bottle 내의 배양액의 시료는 주사기로 채취한 후 필터(pore size, 0.45 μm)로 여과 후 필요에 따라서는 적당히 희석하여 ion chromatography(IC) 분석에 사용하였다. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거효율은 식 6에 의해 계산하였다. 식 6에서 C<sub>0</sub>는 배양초기의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 농도이고, 한편 C<sub>t</sub>는 t 시간 후의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 농도이다.

$$\text{ClO}_4^- \text{ 제거효율}(\%) = \frac{(C_0 - C_t) \times 100}{C_0} \quad (\text{Eq. 6})$$

### 2-4. 화학분석

ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 농도는 IC(Dionex ICS-3000; Dionex, Sunnyvale, CA)를 사용하여 한국기초과학연구원에서 분석하였다. 본 연구에 사용된 IC는 analytical column AS16과 guard column AG16이 장착되었으며, 분석 조건은 문헌[16]에서와 같이 EPA METHOD 314.0[18]을 수정한 방법을 사용하였다. 본 연구에서 사용한 조건에서 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 검출한계는 0.5 μg/L이었다. IC 분석에 사용한 표준시약은 AccuStandard Inc.(New Haven, CT, USA)에서 구매하였다.

### 2-5. 총생균수 조사

시료에 존재하는 배양이 가능한 종속영양형태의 총 생균수(total heterotrophic bacteria)를 조사하기 위해 문헌[19]에 기술된 대로 평판배양법을 실시하였다. 진균류의 성장을 억제하기 위해 50 mg/L(w/v)의 Cycloheximide(Sigma-Aldrich)를 첨가한 1/4 strength의 YPEG 고체배지에 연속 희석한 시료를 도말하였다. 도말된 배지는 25 °C에서 72 h 배양 후 집락수를 계수하였다. 한 plate 당 30~300개의 집락이 형성된 고체 배지의 집락을 계수한 후 희석배수를 환산하여 물 시료 1 ml당 존재하는 생균수를 계산하였다. YPEG 배지(pH 7.0) 성분(L 당)은 다음과 같다: 0.2 g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.2 g yeast extract, 1 g glucose, 2 g polypeptone, 15 g agar.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 시료의 특징 분석

시료를 채취한 환경의 다양한 조건에 따라 우점을 이루는 PRB 개체군이 다를 것이고, 그에 따라 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해능도 달라지리라 여겨진다. 본 연구에 사용된 시료의 특징은 Table 3과 같다. 시료채취 당시 현장의 수온은 23.4~27.9 °C이었다. 시료채취지점의 pH는 4개 지점 모두 중성에서 약 알칼리성을 나타내었다: pH 7.49~8.91. 한편 BOD는 0.45~0.81 mg BOD/L의 범위를 나타내어 미생물이 이용할 수 있는 유기물의 농도는 낮은 것으로 판단되었다. 구미 제3 산업단지에 인

**Table 3. Physicochemical characteristics of water samples**

Sample	Temp. (°C)	pH	DO (mg/L)	Salinity (g/L)	Conductivity (µS/cm)	Turbidity (NTU)	SS (mg/L)	BOD <sub>5</sub> (mg/L)
w-14	27.9	7.49	8.20	0	291	0.55	0	0.45 ± 0.07
w-15	23.4	8.63	8.10	0	316	0.70	0.14 ± 0.03	0.65 ± 0.07
w-16	24.0	8.91	8.40	0.8	1,100	0.65	0.06 ± 0.03	0.70 ± 0.14
w-17	26.7	7.75	2.90	0	471	2.24	0.26 ± 0.03	0.81 ± 1.00

접한 이계천에서 채취한 W-17은 다른 시료에 비해 낮은 용존산소 값(2.90 mg DO/L)과 높은 탁도(2.24 NTU) 및 부유물질 농도(0.26 mg/L)를 나타내었다. 구미 제1 산업단지의 두 하천 합류지점에서 채취한 W-16은 0.8 g/L의 염도를 보였고, 전기전도도가 1100 µS/cm로 다른 시료보다 높게 나타나 이온성 물질을 비교적 많이 포함하는 것으로 여겨진다. 전기전도도는 수용액이 전류를 통과시키는 능력을 나타낸 값으로 이온들의 총 농도와 온도에 영향을 받는다. 전기전도도의 크기는 이온농도에 비례하므로 도시하천에서 오염의 정도를 대략적으로 비교하는데 이용될 수 있다.

염도와 PRB의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해능에 관한 문헌에 의하면 염도가 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 그러나 그 영향은 PRB 균주에 따라 다른 것으로 보인다. 보고[20]에 의하면 PRB는 NaCl 농도가 0%일 때 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해능이 최적인 것으로 확인되었다. 한편 다른 보고[21]에 의하면 PRB는 염농도 5%에서 가장 높은 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 분해능을 보이고 더 높은 염농도에서는 분해능이 감소하였다.

**3-2. 퍼클로레이트의 생분해능 분석 및 생분해 특징조사**

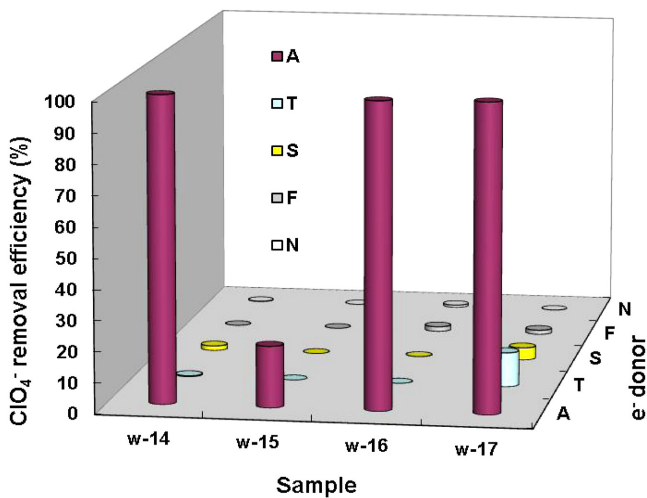
시료 내 존재하는 하천미생물의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 생분해능을 조사하기 위해 회분배양을 실시하였다. 시료 내에 PRB가 존재한다면 그들의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거방식(중속영양형태 또는 독립영양형태)에 따라 본 연구에서 실시한 회분배양조건하에서 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>를 분해할 것이다. 그래서 4가지 다른 외부전자공여체를 회분배양에 첨가하여 생분해 효율을 조사하였다. 그 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 본 연구에서 사용한 2종류의 대

조균(abiotic control과 medium control)은 본 실험조건 하에서 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 농도에 변화를 보이지 않았다(data 제시 안됨). 그래서 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 제거는 본 실험조건 하에서는 하천 미생물에 의해서만 일어나는 것으로 확인되었다. Abiotic control은 autoclave한 시료를 첨가한 경우이고, 한편 medium control은 시료를 첨가 안 한 경우이다. 이러한 대조군을 사용한 이유는 시료 내의 하천 미생물이 없이 물리화학적인 작용으로 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>의 제거가 일어나는지 보기 위한 것이었다. 한편 abiotic control에서는 영가철과 원소황 자체가 강한 환원제(Fe<sup>0</sup>, E<sup>0</sup> = -0.44 V; S<sup>0</sup>, E<sup>0</sup> = -0.74 V)임에도 불구하고 본 실험조건하에서는 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 농도변화에 거의 영향이 없는 것으로 나타났다.

외부 전자공여체를 주입하지 않은 회분배양의 경우 4시료 모두 0.77% 이하의 미미한 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 생분해 결과를 나타내었다(Fig. 2). 이러한 매우 저조한 생분해 결과는 시료 내에 PRB의 부재, 낮은 농도 또는 낮은 활성에 기인할 수 있다. 그 외에도 PRB가 충분한 농도로 존재할지라도 이용할 수 있는 전자공여체가 충분하지 않지 때문일 수 있다.

한편 외부 전자공여체를 첨가한 경우 생분해 효율이 증가된 것을 관찰할 수 있었다. 첨가된 전자공여체에 따라서 각 시료는 다른 정도의 생분해효율 증가를 나타내었다. 그러나 acetate를 전자공여체로 첨가한 경우 4시료 모두 매우 증가된 제거효율을 보였다: W-14, 100.00±0.00%; W-15, 20.01±14.07%; W-16, 99.60±0.57%; W-17, 100.00±0.00%. 그래서 이들 시료에는 acetate를 전자 공여체로 이용하는 중속영양 PRB들의 활성이 우점을 이루는 것으로 여겨진다. Thiosulfate를 첨가한 경우 W-17의 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거효율은 11.24±2.77%를 나타내었고, 원소황 입자를 첨가한 경우는 W-14와 W-17이 각각 1.55±0.52%와 4.08±3.36% 제거효율을 나타내었으며, 영가철을 첨가한 경우는 W-16과 W-17이 각각 1.63±0.25%와 1.46±0.17% 제거효율을 보였다. 전자공여체로서 황을 사용할 때는 원소황보다는 thiosulfate가 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>를 생분해하는데 효과적인 것으로 나타났다. 그 이유는 원소황이 물에 거의 용해되지 않으므로 용해된 thiosulfate가 미생물이 용도 측면에서 우수한 것으로 여겨진다[22].

본 생분해 test 결과를 통해 외부 전자공여체 첨가로 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거효율을 증가시킬 수 있다는 것을 알았으며, 첨가되는 외부 전자공여체 종류에 따라서 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거효율을 항상 정도가 다르고, 또한 동일한 전자공여체를 첨가하더라도 시료를 채취한 지점에 따라 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 제거효율 증가 정도가 다르다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 원위치 생물복원(in situ bioremediation)에 의한 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 처리의 경우 오염장소에 존재하는 PRB에 대한 정보는 중요하다. 오염장소에 PRB가 존재하는지를 먼저 조사해야 하고, 존재한다면 분해 활성이 있는지 또는 활성이 있다면 활성증진에 필요한 요인들을 분석 및 도출해야 한다. 그러므로 오염현장에 존재하는 PRB의 생분해 효율을 증가하기 위한 일환으로 투여할 외부전자공여체를 결정하기 위해 PRB의 전자공여체 선호도를 미리 조사할 필요가 있다.



**Fig. 2. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>-removal efficiency of water samples after 83 h batch culture. Data are given as mean of 2 samples. Electron donors added in the medium: N, none; A, acetate; T, thiosulfate; S, elemental S particles; F, Fe<sup>0</sup> particles. All controls showed no ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>-removal (data not shown).**

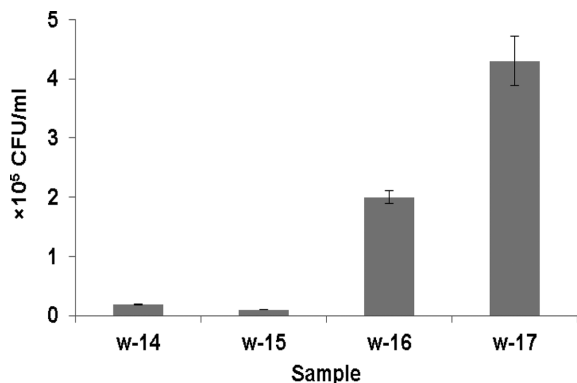


Fig. 3. Total viable heterotrophic bacteria detected in water samples. Data are given as mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

### 3-3. 평판배양법에 의한 총균수 분석

채취한 시료 내에 존재하는 중속영양형태의 총생균수를 평판배양법으로 계수하였다. 시료의 총균수 농도는  $1.0E+04$  -  $4.3E+05$  CFU/ml의 범위로 나타났다(Fig. 3). 우담교 근처 이계천에서 채취한 W-17이 중속영양형태의 총생균수( $4.3E+05 \pm 4.2E+04$  CFU/ml)가 가장 높게 나타났고, 오탈교 근처 광평천에서 채취한 W-15가 가장 낮은 수( $1.0E+04 \pm 1.4E+02$  CFU/ml)를 나타냈다. Fig. 2와 3에 나타난 결과에 의하면 시료 W-17는 중속영양 방식의 PRB가 활성면이나 수적으로 우세한 것으로 여겨진다. 본 연구에서 사용한 시료 중에서 비교적 높은 농도의 총균수가 관찰된 W-17은 시료의 물리화학적 성상 분석결과(Table 3) 나타난 비교적 낮은 용존산소농도와 비교적 높은 탁도 및 부유물질 농도와 상관관계를 나타내었다.

PRB는 보통 통성 호기성이고 다양한 환경에서 분리가 되었으므로 환경에서 흔히 존재한다고 알려졌다[15,23,24]. 그러나 환경에서의 그들의 농도와 환경변화에 따른 이 개체군들의 동적변화는 거의 알려지지 않았다. 환경에 따른 PRB 농도를 알면  $ClO_4^-$ 의 생물학적 처리를 최적화하여  $ClO_4^-$ 로 오염된 환경을 정화하는데 이용될 수 있다.

PRB는 다양한 유기물 또는 무기물을 전자공여체로 이용하는 것으로 알려졌다[5,15,24]. 즉 PRB는 중속영양형태 또는 독립영양형태로  $ClO_4^-$ 를 환원시킴으로써 생분해를 한다. 그러나 환경에 따라 존재하는 토착 PRB의 농도도 다르고, 그리고 그들의 영양방식에 따라 전자공여체 종류에 대한 선호도도 다를 것이다. 후자는 본 연구의 다양한 외부 전자공여체에 따른 하천 PRB의  $ClO_4^-$  생분해 조사결과(Fig. 2)에 의해 증명되었다. 향후 환경에 존재하는 PRB의 정량화와 더불어 PRB 군집구조를 분석함으로써 얻은 정보는 in situ bioremediation을 보다 더 잘 예측하고 효율을 증진하는데 활용될 수 있을 것이다.

## 감 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업(No. 2010-0006089)에서 지원을 받아 수행되었습니다.

## References

1. Motzer, W. E., "Perchlorate: Problems, Detection, and Solutions," *Environ. Forensics*, **2**, 301-311(2001).

2. National Research Council, "Health Implications of Perchlorate Ingestion. National Academy of Sciences," Washington, D.C., USA(2005).

3. Shin, K.-H., Son, A., Cha, D. K. and Kim, K.-W., "Review on Risks of Perchlorate and Treatment Technologies," *J. Kor. Soc. Environ. Eng.*, **29**, 1060-1068(2007).

4. Republic of Korea Ministry of Environment, "Guideline for the management of Drinking Water Quality Monitoring Items," Korea (2010).

5. Coates, J. D. and Achenbach, L. A., "Microbial Perchlorate Reduction: Rocket-fuelled Metabolism," *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 569-580(2004).

6. Kim, H., Kim, J. and Lee, Y., "Occurrence of Perchlorate in Drinking Water in Korea," *J. Kor. Soc. Water Quality*, **23**, 822-828(2007).

7. Kim, H. B., Oh, J. E., Lee, S. Y. and Cho, J. W., "The Analysis of Perchlorate in Nakdong River and Tap Water," *J. KSEE*, **27**(8), 776-781(2008).

8. Her, N., Jeong, H., Kim, J. and Yoon, Y., "Occurrence of Perchlorate in Drinking Water and Seawater in South Korea," *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **61**, 166-172(2011).

9. Lee, J. W., Oh, S.-H. and Oh, J.-E., "Monitoring of Perchlorate in Diverse Foods and Its Estimated Dietary Exposure for Korea Populations," *J. Hazard. Mater.*, **243**, 52-58(2012).

10. Son, H. J. and Jung, C. W., "Detection of Perchlorate in Nakdong River and Removal Characteristics of Perchlorate by Granular Activated Carbon Process," *J. KSEE*, **29**(4), 438-443(2007).

11. Kim, H. K., Kim, J. H., Lee, F. H., Lee, J. H. and Kim, S., "Perchlorate in Advanced Drinking Water Treatment Process," *J. Korean Soc. Water Qual.*, **24**(2), 164-168(2008).

12. Han, K.-R. and Ahn, Y., "Characterization of Perchlorate-removal Using Elemental Sulfur Granules and Activated Sludge," *J. Life Sci.*, **23**(5), 676-681(2013).

13. Lee, B., Lee, S. D. and Choo, K.-H., "The Removal of Perchlorate Using Amine-functionalized Mesoporous Anion-exchange Resins with Different Number of Ligands," *Korean J. Chem. Eng.*, **30**(4), 898-905(2013).

14. Cost & Performance report ESTCP Project (ER-0219), "Comparative Demonstration of Active and Semi-Passive In Situ Bioremediation Approaches for Perchlorate-Impacted Groundwater at Longhorn Army Ammunitions Plant," Environmental Security Technology Certification Program, U.S. Department of Defense(2010).

15. Bardiya, N. and Bae, J. H., "Dissimilatory Perchlorate Reduction: A Review," *Microbiol Res.*, **166**(4), 237-254(2011).

16. Ahn, Y. and Ha, M. G., "Autotrophic Perchlorate Removal Using Zero-valent Iron and Activated Sludge: Batch Test," *J. Life Sci.*, **21**, 444-450(2011).

17. Republic of Korea Ministry of Environment, "Standard method for water," Korea(2008).

18. U.S. EPA., "EPA Method 314.0: Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography," U.S.(1999).

19. Ahn, Y., Jung, H., Tatavarty, R., Choi, H., Yang, J. W. and Kim, I. S., "Monitoring of Petroleum Hydrocarbon Degradative Potential of Indigenous Microorganisms in Ozonated Soil," *Biodegradation*, **16**, 45-56(2005).

20. Okeke, B. C., Giblin, T. and Frankenberger Jr., W. T., "Reduction of Perchlorate and Nitrate by Salt Tolerant Bacteria," *Environ. Poll.*,

- 118, 357-363(2002).
21. Logan, B. E., Wu, J. and Unz, R. F., "Biological Perchlorate Reduction in High-salinity Solutions," *Wat. Res.*, **35**, 3034-3038 (2001).
  22. Greenwood, N. N. and Earnshaw, A., *Chemistry of the Elements*, 2nd Ed., Butterworth-Heinemann, Oxford, U.K.(1997).
  23. Coates, J. D., Michaelidou, U., Bruce, R. A., O'Connor, S. M., Crespi, J. N. and Achenbach, L. A., "Ubiquity and Diversity of Dissimilatory (per)chlorate-reducing Bacteria," *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 5234-5241(1999).
  24. Shrouf, J. D., Scheetz, T. E., Casavant, T. L. and Parkin, G. F., "Isolation and Characterization of Autotrophic, Hydrogen-utilizing, Perchlorate-reducing Bacteria," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67**, 261-268(2005).