

대표적 4개 오염지역의 수리지질 특성과 미생물학적 연구

고경석, 김재곤, 조경숙*, 이상돈*, 염병우

한국지질자원연구원, *이화여자대학교 환경학과 (ybw@kigam.re.kr)

<요약문>

To investigate the chemical and microbiological characteristics of groundwater and surface waters in contaminated sites, hydrochemical and microbial community analysis were executed. Different indigenous bacteria were observed at 4 contaminated sites and this is considered to decompose the contaminants of groundwater. The research results showed the close relationship between hydrochemistry and microbial characteristics and those are used for the information of natural attenuation and enhanced bioremediation.

key word : microbial community, hydrochemical, natural attenuation, bioremediation.

1. 서론

지하수의 오염을 유발하는 주요 유형들에는 광산 폐수, 지하저장탱크나 유류오염, 폐기물 매립장 및 생활오수, 경작이나 축산 등에 의한 오염 등을 대표적으로 들 수 있다. 이러한 오염지역에서의 미생물 생태는 오염물질의 분해 및 이동에 영향을 미치는 중요한 인자로 작용된다. 다양한 오염환경에서 미생물을 동정하는 여러 가지 방법중 최근에는 분자생물학적 기법인 rRNA 유전자 분석 방법을 이용한 연구가 활발하게 진행되는 실정이다.¹⁻³⁾ 그러나 수리지화학적 특성과 미생물학적 특성을 접목한 오염지역의 지하수 및 지표수에 대한 연구는 많이 수행되어 오지 못한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 오염된 지역의 수리지질학적 특성과 미생물학적 특성 지하수 조사를 위하여 4개의 주요 오염부지를 선정하고 연구를 수행하였다.

본 연구의 목적은 다양한 오염 특성을 가진 지하수 환경하에서 화학적 특성과 미생물의 동정 사이의 상관관계를 확인하여 지하수계에서의 오염 물질 이동 및 분해 특성을 파악하고자 하였다. 이러한 연구는 오염된 지하수나 지표수 환경에 대한 수리지화학적 정량적 평가와 미생물 군집 사이의 관계를 파악할 수 있기 때문에 향후 토착 미생물을 이용한 자연정화 기법과 증가된 생물학적 복원을 위한 중요한 정보로 이용될 수 있을 것이다.

2. 연구 결과

2.1. 연구지역 및 방법

미생물 동정과 화학적 특성 조사를 위하여 광산폐수, 생활폐수, 유류오염 및 매립장의 4곳의 연구지역을 선정하여 조사를 수행하였다. 연구지역을 구체적으로 살펴보면, 1) 도시지역에 위치한 하수종말처리장 주변의 하천변 지역 조사를 위해 대전시 문지동의 갑천 하천 부지 지역, 2) 유류오염지역, 3) 폐광산 주변 지역, 4) 생활쓰레기 매립지 지역 등이다. 수리지화학 분석 및 미생물 분석을 위한 시료는 하수종말처리장 주변 지하수 5개, 유류오염부지 지하수 8개, 쓰레기 매립장 침출수 및 지하수 5개, 폐광산 주변 지하수 및 하천수 6개를 채취하였다. 유류오염부지에선, 유류 오염과의 상관관계를 밝히기 위하여 휘발성 유기성분의 채취 및 분석도 동시에 이루어졌다. 모든 시료는 오염원으로부터 거리, 지하수 오염 정도, 지하수 흐름을 고려하여 시료를 채취하여 분석을 실시하였다. pH, 전기전도도 및 알카리도는 현장에서 직접 측정되었으며 산화-환원 조건을 제시하는 Fe, Mn, H₂S 등은 현장에서 DR-2010 (Hach Co.)으로 직접 분석되었다.

미생물 동정을 위해서는 분자생물학 기법인 16S rRNA 유전자 분석 방법을 이용하여 연구를 수행하였다. 16S rRNA 유전자 분석은 bacteria와 archaea를 포함한 prokaryotic microorganism의 동정에 가장 많이 쓰이는 방법이다. 최근 들어 미생물 community를 분석하기 위해 분자생물학적 첨단 방법이 도입되고 있는데, 그 중 16S rDNA gene을 증폭시켜 community를 분석하는 방법이 유용한 방법으로 주목받고 있다. 본 연구에서는 여러 가지 방법중 DGGE 방법을 이용하여 지하수 미생물 군집 분석을 수행하기 위한 실험 조건을 최적화하였고, 최적화한 연구 방법을 이용하여 오염 지하수 시료의 미생물 군집 분석을 수행하였다.

2.2. 유류오염지역의 수리지화학 및 미생물 특성

수리지화학적 특성과 미생물분석을 위하여 채취된 시료에 대한 분석결과는 Table 1에 나타나 있다. Fig. 1은 지하수 시료에 대한 파이퍼도를 나타내는데 오염원이 위치한 GW-13은 Ca-SO₄ 유형에 가깝게 도시되어진다. 지하수 하류구배 지역에 위치한 W-01, W-02, W-03은 Ca-HCO₃ 유형으로 분류됨을 알 수 있으며 비교적 배경지하수인 GW-07은 Ca-SO₄ 유형에 가깝게 도시됨을 알 수 있었다. 이는 연구 지역 지하수가 농업활동과 인간활동이 활발한 지역에 위치하여 이들로부터 유입되는 오염원에 의해 영향을 받는 것에 기인하는 것으로 판단된다. 하류부에 있는 관측공이 Ca-HCO₃ 유형이 되는 것은 오염물질의 분해에 따른 NO₃, SO₄의 급격한 감소와 HCO₃의 증가에 기인하는 것으로 판단된다. 지하수 화학분석결과는 오염원 근처의 지하수는 미생물의 분해 작용에 따라 혐기성 환경으로 이루어져 있는 것을 확인할 수 있었다. BTEX는 오염원으로부터 거리가 증가할수록 감소되는 양상을 보여주었으며 미생물에 의해 전자수용체(electron acceptor)로 사용되는 산소(DO), 질산염(NO₃) 및 황산염(SO₄)도 역시 점차적으로 감소되어짐을 확인하였다. 이는 오염물 분해에 따른 산화-환원과정이 순차적으로 이루어짐을 나타내는 결과이다. 이러한 결과는 향후 자연저감 모니터링 기법의 적용시 중요한 자료로 사용되어질 것이다. 반면 환원작용에 의해 증가되는 Fe²⁺는 오염지역에 가까운 곳일수록 높은 농도를 나타냄을 알 수 있었다 (Fig.2).

오염원이 가솔린과 케로젠인 유류 오염 지하수 시료의 경우 부유물질의 양을 조사한 결과, BH-10의 SS 농도는 427 mg/L로 매우 높았고, W-1의 SS 농도도 230 mg/L로 높았다. 이와 같이 유류 오염 지하수에서 SS가 높은 이유는 대부분 점토물질의 양이 큰 요인으로 작용하지만 부분적으로 유류는 생분해가 용이한 화합물로 유류가 미생물 증식을 위한 탄소원으로 제공되어 미생물량이 증가한 것으로 사료된다. 따라서 배경지하에 가까운 GW-7과 GW-8의 SS 농도는 각각 4.14 mg/L, 3.26mg/L로 낮은 값을 보여 주었다. 지하수 시료로부터 회수한 SS로부터 genomic DNA를 추출하여 전기영동한 결과를 Fig.3에 나타내었다. GW-7과 BH-10 시료를 제외한 모든 시료에서 많은 양의 genomic DNA를 추출할

수 있었다. 16S rDNA 일부분을 증폭할 수 있는 eubacterial primer(341fGC-518r)를 이용하여 PCR한 결과를 Fig.4에 나타내었는데, 모든 시료에서 약 180bp의 PCR products를 확인할 수 있었다. 이 PCR product를 DGGE로 분석한 결과를 Fig.5에 도시하였다.

각 시료의 DGGE band의 유사성을 비교함으로써 미생물 군집 유사성을 비교할 수 있는데, 각 DGGE fingerprints의 band 유사성을 Gel ComparII version 3.5 software를 이용하여 분석하고 Jaccard coefficient로 표현한 결과, 오염원인 유류인 W sample의 경우, band position을 기준으로 유사도를 비교해보면, W-1과 W-2가 48.00%, W-1과 W-3은 56.01% 이었고, W-2와 W-3은 58.33%를 나타냈다. 또한, band intensity를 기준으로 유사도를 비교해보면, W-1과 W-2가 62.26%, W-1과 W-3이 79.57%였고, W-2와 W-3은 46.95%를 보였다. W-과 W3이 79.57%로 가장 높았고, W-2과 W-3이 46.95%로 가장 낮았다. GW 시료의 경우, band position를 기준으로 유사도를 비교해보면, GW-3과 GW-7과의 유사도가 59.26%, GW-8과의 유사도는 58.63%, GW-13은 51.73%를 나타냈고, GW-7과 GW-8은 46.43%, GW-13과는 39.29%를 보였다. GW-8과 GW-13은 55.56%으로 나타났다. GW-3과 GW-7이 59.26%으로 가장 높았고, GW-7과 GW-13이 39.29%로 가장 낮은 값을 보였다. 한편, band intensity를 기준으로 유사도를 비교해보면, GW-3과 GW-7이 40.68%, GW-7과는 64.29%, GW-13과는 60.38%를 보였고 GW-7과 GW-8, GW-13은 각각 40.88, 36.23%를 나타냈다. GW-8과 GW-13이 69.39%로 높았고, GW-7과 GW-13이 36.23%으로 가장 낮았다.

3. 요약 및 결론

오염부지에서 수리지화학 특성과 미생물 동정과의 상관관계를 분석한 결과 오염원의 거리, 오염원의 종류에 따라 각각 다른 특징을 보여주었다. 유류오염부지의 분석 결과 유류오염원에 의해 영향을 받는 미생물들은 서로 유사한 band position을 가짐을 알 수 있었으며 이는 수리지화학 분석과 유사한 결과를 보여주었다. 또한 유류오염지역에서 나타나는 특이한 미생물을 확인할 수 있어 향후 토착 미생물을 이용한 생물학적 복원 및 자연정화에 중요한 자료로 이용될 수 있음을 확인하였다.

Table 1. 유류오염부지 시료의 특징 및 분석 결과

| Well | BTEX | T | pH | DO | EC | HCO ₃ | Fe(T) | Fe ²⁺ | H ₂ S (ppb) | Cl | NO ₃ | SO ₄ | Na | K | Ca | Mg | Si |
|-------|-------|------|------|------|------|------------------|-------|------------------|------------------------|-------|-----------------|-----------------|------|------|-------|------|------|
| BH-10 | 2.5 | 12.3 | 6.59 | 1.93 | 662 | 151.9 | 1.36 | 0.28 | 221 | 72.5 | 16.7 | 124.5 | 39.7 | 24.3 | 50.4 | 17.8 | 4.1 |
| GW-03 | 1337 | 12.0 | 7.47 | 4.53 | 520 | 130.4 | 2.61 | 2.31 | 15 | 71.8 | 50.4 | 33.4 | 28.8 | 3.3 | 48.0 | 17.0 | 10.9 |
| GW-07 | ND | 13.0 | 7.63 | 8.76 | 369 | 75.7 | 0.01 | 0.00 | 8 | 28.1 | 71.9 | 11.3 | 11.4 | 1.8 | 47.4 | 11.1 | 11.7 |
| GW-08 | 18.1 | 9.2 | 7.57 | 2.36 | 657 | 163.7 | 0.03 | 0.00 | 2 | 85.3 | 104.2 | 31.2 | 18.4 | 3.0 | 86.4 | 20.2 | 13.4 |
| GW-13 | 13475 | 13.4 | 6.95 | 1.17 | 829 | 215.6 | 13.50 | 12.85 | 22 | 150.0 | 19.7 | 29.1 | 18.2 | 2.8 | 74.4 | 16.1 | 6.7 |
| W-01 | 39.7 | 10.7 | 7.29 | 3.33 | 765 | 300.4 | 1.10 | 0.02 | 32 | 64.7 | 15.0 | 45.5 | 40.9 | 23.0 | 74.4 | 20.5 | 10.6 |
| W-02 | 1680 | 7.8 | 6.87 | 1.96 | 1098 | 592.3 | 4.70 | 3.14 | 22 | 43.0 | | 13.9 | 52.0 | 22.2 | 104.0 | 38.9 | 3.8 |
| W-03 | 707 | 11.0 | 7.50 | 2.24 | 759 | 360.8 | 2.67 | 0.28 | 167 | 50.0 | 0.5 | 47.4 | 31.8 | 20.8 | 93.7 | 23.5 | 7.2 |

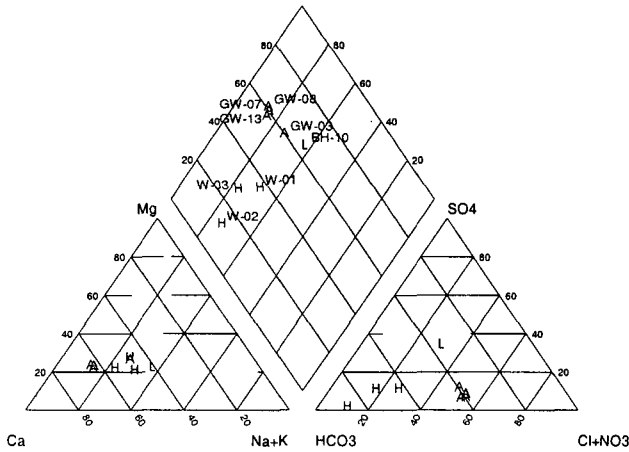


Fig. 1. 유류오염부지내 지하수의 특성을 나타내는 판이퍼도.

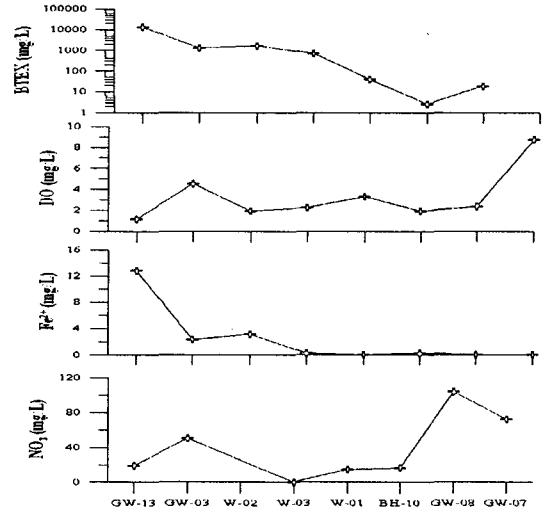


Fig. 2. 유류오염부지내 오염원으로부터 BTEX 및 불안정 성분의 분포 특성

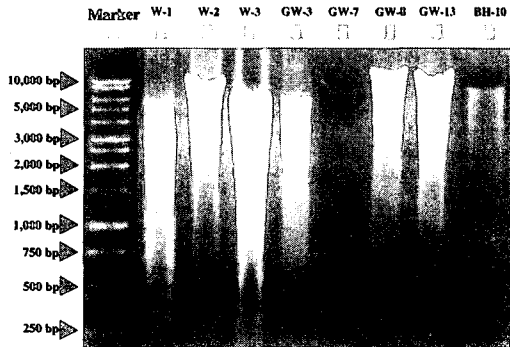


Fig. 3. Genomic DNA extracted from groundwater.

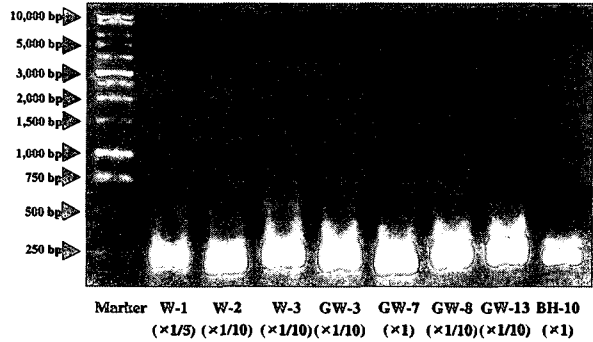


Fig. 4. 16S rDNA PCR products

4. 참고문헌

1. Pickup, R. W., Rhodes, G., Alamillo, M. L., Mallinson, H. E. H., Thornton, S. F., and Lerner, D. N., "Microbiological analysis of multi-level borehole samples from a contaminated groundwater system", *J. Contam. Hydrol.*, **53**, pp. 269-284, (2001).
2. Dussart, L., Dupont, J. -P., Zimmerlin, I., Lacroix, M., Saiter, J. M., Junter, G.-A., and Jouenne, T., "Occurrence of sessile Pseudomonas oryzihabitans from a karstified chalk aquifer", *Water Res.*, **37**, 1593-1600, (2003).
3. Fliermans, C. B., Franck, M. M., Hazen, T. C., and Gordon, R. W., "Ecofunctional enzymes of microbial communities in ground water", *FEMS Microbiol. Rev.*, **20**, pp. 379-389, (1997).

사사

본 연구는 공공기술연구회 연구과제인 "지하수환경개선을 위한 미소생물의 생태학적 응용과 오염물질 이동 예측기법 개발연구"의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.