

황환원균과 3가철을 이용한 Trichloroethylene의 제거에 관한 연구

황기철¹ · 민지은² · 박인선² · 박재우^{2*}

¹(주) 도화종합기술공사 환경부, ²한양대학교 공과대학 토목공학과

Trichloroethylene Removal Using Sulfate Reducing Bacteria and Ferric Iron

Ki-Chul Hwang¹ · Jeeun Min² · Insun Park² · Jae-Woo Park^{2*}

¹DOWHA CONSULTING ENGINEERS Co. Ltd

²Department of Civil Engineering, Hanyang University

ABSTRACT

Sulfate reducing bacteria (SRB) is universally distributed in the sediment, especially in marine environment. SRB reduce sulfate as electron acceptor to hydrogen sulfide in anaerobic condition. Hydrogen sulfide is reducing agent enhancing the reduction of the organic and inorganic compounds. With SRB, therefore, the degradability of organic contaminants is expected to be enhanced. Ferrous iron reduced from the ferric iron which is mainly present in sediment also renders chlorinated organic compounds to be reduced state. The objectives of this study are: 1) to investigate the reduction of TCE by hydrogen sulfide generated by the growth of SRB, 2) to estimate the reduction of TCE by ferrous iron generated due to oxidation of hydrogen sulfide, and 3) to illuminate the interaction between SRB and ferrous iron. Mixed bacteria was cultivated from the sludge of the sewage treatment plant. Increasing hydrogen sulfide and decreasing sulfate confirmed the existence of SRB in mixed culture. Although hydrogen sulfide lonely could reduce TCE, the concentration of hydrogen sulfide produced by SRB was not sufficient to reduce TCE directly. With hematite as ferric iron, hydrogen sulfide produced by SRB was consumed to reduce ferric ion to ferrous ion and ferrous iron produced by hydrogen sulfide oxidation decreased the concentration of TCE. Tests with seawater confirmed that the activity of SRB was dependent on the carbon source concentration.

Key words : TCE, Sulfate reducing bacteria, Ferric iron, Reduction, Hydrogen sulfide

요 약 문

혼합균에서 분리 배양한 황환원균에 의해 발생하는 황화수소가 염소계유기오염물질인 트리클로로에틸렌의 환원에 어떠한 영향을 미치는지, 또한 염소계유기오염물질에 대한 환원력이 있다고 알려진 2가철은 황화수소가 존재할 경우 트리클로로에틸렌의 환원과 어떠한 관계에 있는지를 알아보기 위하여 본 실험을 수행하였다. 황환원균에 독성을 나타내지 않는 수준의 트리클로로에틸렌의 농도에서 황화수소 발생 및 트리클로로에틸렌의 분해 실험을 수행한 결과 황산염의 환원으로 발생한 황화수소의 농도는 4.38 mM, 트리클로로에틸렌의 농도는 큰 변화가 없는 것으로 관찰되었으며 이를 통하여 황환원균에 의해 발생하는 황화수소의 농도가 트리클로로에틸렌을 환원시키기에는 부족하다는 것을 알 수 있었다. 그러나 황화수소의 농도가 위 실험에서 발생된 농도보다 100배 정도 높은 경우(438 mM)에는 트리클로로에틸렌에 대한 환원력이 있음을 확인하였다. 대표적인 산화철인 Fe₂O₃(3가철)를 첨가하였을 경우, 황환원균의 생장에 따라 황화수소, 2가철 및 트리클로로에틸렌의 농도변화를 관찰하였으며 이를 통하여 황환원균에 의해서 발생된 황화수소가 산화되면서 3가의 산화철을 2가철로 환원시키고 황화수소에 의하여 환원된 2가철이 트리클로로에틸렌을 분해하여 농도를 감소시키는 것을 확인하였다. 위의 실험결과를 바탕으로 낮은 농도의 황화수소는 트리클로로에틸렌의 환원에 영향을 미치지 못하며 다만, 황화수소에 의해 환원된 2가철이 트리클로로에틸렌을 분해시키는

*Corresponding author : jaewoopark@hanyang.ac.kr

원고접수일 : 2007. 9. 4 게재승인일 : 2007. 11. 19

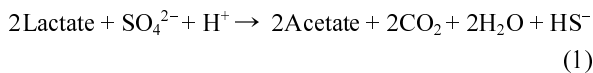
질의 및 토의 : 2008. 4. 30 까지

주요한 요인임을 알 수 있었다. 또한 실제 해수중에서 황환원균과 Fe₂O₃가 공존할 경우의 트리클로로에틸렌의 제거 효과를 살펴보기 위한 실험을 한 결과 황환원균이 황화수소를 생성하여 트리클로로에틸렌의 제거에 영향을 줄 수 있는 반응들은 황환원균 생장에 필수적인 탄소원의 농도가 확보될 때 가능하다는 결론을 얻을 수 있었다.

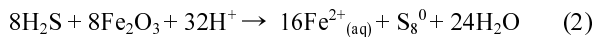
주제어 : 트리클로로에틸렌, 황환원균, 2가철, 환원, 황화수소

1. 서 론

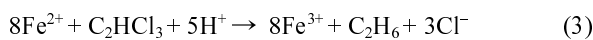
황환원균(Sulfate reducing bacteria, SRB)은 혐기적인 상태를 보이는 퇴적토에서 많이 분포하고 있는 것으로 알려져 있으며 특히 해양성 퇴적물에 집중적으로 분포하고 있다. 황환원균은 절대 혐기 상태에서 살아가며 황산염(sulfate, SO₄²⁻)을 전자수용체로 사용하고 당류, 아미노산, 용존 유기물들을 전자 공여체로 사용하여 호흡한다. 이 과정에서 생성되는 황화수소(HS⁻)의 반응식은 다음과 같다(Menert et al., 2004).



이때 발생한 황화수소는 높은 환원력을 가지고 있어 유기물질이나 중금속뿐만 아니라 3가철의 환원에도 기여한다(Neal et al., 2000).



이렇게 생성된 2가철 역시 높은 환원력으로 트리클로로에틸렌(Trichloroethylene, TCE)과 같은 유기오염물질 뿐만 아니라 중금속도 제거할 수 있다는 연구가 많이 진행되어 있다(Shin et al., 2007; 조세이 외, 2005). 그 중 TCE의 환원에 대한 반응식은 다음과 같다(Matheson and Tratnyek, 1994).



TCE는 지하수 및 토양에서 흔히 발견되는 염소계 유기오염물질로 1940년대 이후 드라이클리닝 공정이나 반도체 제조 공정 등에서 유기용제로 다양하게 사용되어 유출이 지속되었으며, 이것이 인체에 축적되면 돌연변이 및 기형을 유발하고 중추 신경계를 억제하는 물질이다.

이러한 TCE를 제거하기 위해 황환원균을 이용한 연구도 진행되어 왔다(Drzyzga and Gottschal, 2002). 황환원균을 이용한 TCE의 제거는 친환경적으로 평가되어지나 시간이 많이 걸린다는 단점이 있다.

따라서 본 연구에서는 TCE로 오염된 퇴적토를 정화하기 위한 방법으로 퇴적토에 많이 서식하고 있는 황환원균과 퇴적토에 분포하고 있는 3가철산화물을 이용하여 보다

효율적인 자연정화가 가능한 지를 알아보기 위한 실험을 진행하였다. 우선적으로 TCE에 대한 미생물의 독성영향을 평가하고, 황환원균의 대사로 발생하는 황화수소의 농도를 철산화물의 유무에 따라 관찰하고 이에 따른 TCE의 농도변화, 용액상과 고체상의 2가철의 농도변화를 비교하여 종합적으로 철산화물이 존재하는 자연환경에서 황환원균에 의해 TCE가 제거되는지 그리고 제거과정의 특징을 살펴보았다. 마지막으로 채취한 해수를 이용하여 위와 같은 실험을 진행함으로써 실제 해양환경에서의 TCE의 자연정화가능성도 평가하였다.

2. 실험방법

2.1. 실험재료

실험에 사용한 황환원균은 토양미생물 실험법의 황산염 환원균 배지에 중량하수처리장의 혐기성 슬러지를 배양하여 사용하였다. 배지의 구성 성분은 Table 1에 나타내었고 조제한 배지는 121°C에서 15분간 가압멸균하고 pH 7.2~7.4로 조절한 후에 사용하였으며, 황환원균은 30°C의 암소에서 주기적으로 계대배양 하였다. 실험에 사용한 TCE은 순도 99.5+% a.c.s급 시약으로 Aldrich사에서 구입하였으며, 3가철산화물은 역시 Aldrich사에서 구입한 Fe₂O₃ powder(< 5micron, 99+%)를 사용하였다.

2.2. TCE가 황환원균의 생장에 미치는 영향

TCE의 독성으로 황환원균의 생장에 영향을 미쳐 이에 의한 황화수소의 생성이 저해되는지를 확인하기 위하여

Table 1. Composition of SRB medium

Ingredients	Concentration (g/L)
NH ₄ Cl	1
Na ₂ SO ₄	1
CaCl ₂ · 7H ₂ O	0.1
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.05
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2
Sodium lactate (70%)	3.5
yeast extract	1
K ₂ HPO ₄	0.5
Na-ascorbate	0.45

실험을 수행하였다. 500 mL의 배양용기에 배지 500 mL를 주입하고 황환원균을 접종한 후, 각각의 시료에 TCE의 농도가 0, 30 mg/L가 되도록 TCE를 주입하였다. 준비된 시료는 밀봉한 후에 30°C의 차광된 교반배양기에서 배양하며 시간에 따른 TCE의 농도와 생균수의 변화를 관찰하였다.

2.3. 황환원균의 생장에 따른 황화수소의 발생과 TCE의 제거 실험

황환원균의 생장에 따라 황산염을 환원시켜 황화수소를 생성하는 경향을 파악하고 생성된 황화수소로 TCE가 제거 될 수 있는지를 알아보기 위한 실험을 수행하였다. 30 mL의 vial에 실험에 사용된 배지는 질소가스로 치환하고 기압 멸균한 배지를 주입하고 위의 결과 동일한 조건으로 TCE를 첨가하였다. 비교군으로써 황환원균의 생장을 막기 위해 sodium-azide(NaN_3)를 200 mg/L의 농도로 주입하였다. 외부로부터의 오염을 방지하기 위해 실험에 사용된 초저류 등은 모두 기압멸균 후 사용하였으며 혐기성을 유지하고 휘발에 의한 손실을 최소화 하고 상온에서 회전과 동시에 교반하여 시간에 따라 3개씩의 vial을 소모하며 환원되어 발생한 황화수소와 CFU, 그리고 TCE의 농도를 측정하였다.

2.4. Sulfide에 의한 TCE의 제거 실험

황화수소의 농도에 따라 황환원균의 작용이 없이도 TCE의 분해가 가능한 지를 확인하기 위해 30 mL의 vial에 황화수소의 농도를 2.3절의 실험에서 황환원균에 의해서 발생한 농도인 4.38 mM로 주입한 것과 43.8 mM, 438 mM로 증가시킨 것을 비교하여 시간에 따른 TCE의 농도 변화를 측정했다.

2.5. Fe_2O_3 의 주입 시 황환원균의 생장에 의한 TCE의 제거 실험

황환원균의 생장에 의해서 황화수소가 생성되었을 때, 황화수소에 의해서 3가철이 2가철로 환원이 되는지, 또한 환원이 된다면 환원된 2가철에 의해서 TCE가 제거가 되는지를 알아보기 위한 실험을 진행하였다. 30 mL vial에 Fe_2O_3 를 3 g씩 넣은 뒤에 위의 실험과 같은 방식으로 배지를 채우고 황환원균과 NaN_3 를 접종한 뒤 TCE를 30 mg/L를 주입하였다. 또한 3가철과 TCE의 존재에 따른 황환원균의 생장의 변화를 보기 위해 배지와 황환원균만을 주입한 실험도 진행하였다. 시간에 따라 각 샘플에서 TCE, 황화수소, 황산염, CFU, 액상 및 고체상의 2가철(Fe^{2+})을 분석하였다.

2.6. 해수에서 황환원균의 생장과 TCE의 농도 저감 실험

위와 같은 반응이 실제 해수에서도 발생하는지를 확인하기 위하여 인천광역시 을왕리에서 채취한 해수를 실험에 사용하였으며 분석결과 해수의 황산염의 농도는 배지와 비슷했다. 하지만 해수의 TOC값은 1.14 mg/L로 배지의 628 mg/L에 비해 매우 낮았다. 실험은 해수에 Fe_2O_3 를 첨가한 것과 첨가하지 않은 것, 그리고 TOC와 관계하여 해수에 배지와 같은 농도로 젖산(lactate)을 넣은 것을 비교하였다.

2.7. 분석 방법

2.7.1. SRB의 생균수 분석

황환원균이 포함된 샘플 50 μL 를 여과지가 장착된 filtravette에 주입하고 somatic cell releasing agent(SRA) 3 방울을 주입한 후 압력을 가하여 비생물학적 ATP (adenosine triphosphate)를 분리배출 하였다. 이후 filtravette의 시료를 microluminometer로 옮겨 bacterial releasing agent(BRA) 2방울과 Luciferin/Luciferase agent (L/L) 50 μL 를 주입하여 ATP를 측정하였다(Profile-1 bioluminometer Model3550ib, New Horizons Dianostics Co. USA). 해당 ATP값을 profile version 1.1으로 CFU(colony forming unit, cell/mL)로 환산하였다(Shin et al., 2007).

2.7.2. TCE 농도 분석

TCE 농도는 헥산으로 추출하여 GC-ECD(GC-17A, shimadzu Co, Japan)을 이용하여 측정하였다. 컬럼은 capillary column(30×0.25 mm i.d., Alltech)을 사용하였으며, 오븐의 내부온도는 100°C, 주입부는 260°C, 검출부는 280°C의 조건으로 측정하였다.

2.7.3. 2가철(Fe^{2+}), 황산염(SO_4^{2-}), 황화수소(HS^-)의 측정
상등액 중의 2가철은 0.2 μm 의 필터를 통과시킨 후 액상 시료와 동량의 0.7 M HNO_3 를 혼합한 후 ammonia acetate buffer(10% ammonium acetate)와 ferrozine reagent를 일정량 첨가하여 3분간 정치 후 발색시켜 파장 562 nm에서 UV-vis spectrometer(Shimadzu UV mini 1240, Japan)으로 측정하였다. 고체상에 흡착된 2가철 이온은 시료를 원심분리후 혐기성조건에서 상등액을 제거한 시료에 0.35 M의 HNO_3 를 첨가하여 실온에서 24시간 추출 후 위와 동일한 방법으로 발색시켜 측정하였다.

Sulfate의 농도는 Ion chromatography(9100 system, Younglin Co., Korea)로 측정하였으며, 검출기와 컬럼은 각각 Waters 432 conductivity detector, Waters IC-Pak

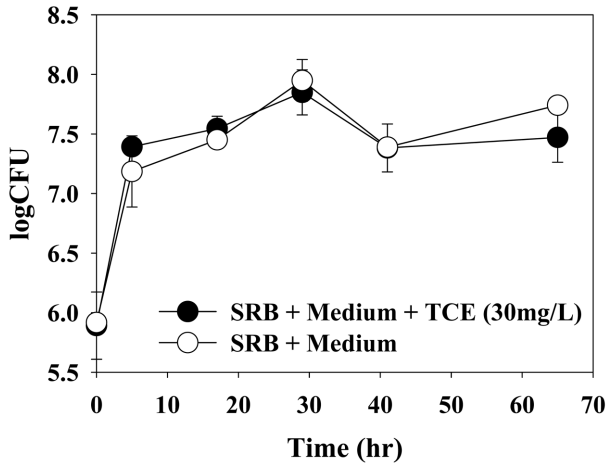


Fig. 1. Changes of log scaled CFU with and without TCE.

Anion column(4.6 mM × 75 mM, Younglin Co., Korea)을 사용하였으며, pH와 ORP의 측정은 Orion사의 685 model을 사용하였다(Bak et al., 1991). Sulfide의 농도는 spectrophotometer(HACH DR-2010 Portable Datalogging, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. TCE가 황환원균의 성장에 미치는 영향

황환원균의 성장에 미치는 TCE의 영향을 알아보기 위한 실험결과를 Fig. 1에 나타내었다. TCE를 30 mg/L로 주입한 결과와 주입하지 않은 것의 시간에 따른 생균수를 관찰한 결과, Fig. 1에 나타난 바와 같이 TCE를 주입한 것과 주입하지 않은 것의 황환원균의 성장 경향이 유사하게 나타났다. 성장 경향은 초기 20시간까지 급속하게 증가하였다가 약 70시간까지 일정하게 유지되는 것으로 나타났으며 이러한 결과를 바탕으로 TCE의 농도 30 mg/L까지는 황환원균의 성장에 독성 영향을 미치지 않아 황환원균은 황산염을 황화수소로 환원할 수 있는 것으로 보인다.

3.2. 황환원균의 성장에 따른 황화수소의 발생과 TCE의 제거 실험

황환원균의 성장에 따라 황산염을 환원시켜 황화수소를 생성하는 경향을 파악하고 생성된 황화수소에 의해 TCE가 환원제거 될 수 있는지를 알아보기 위한 실험을 수행하였고 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 약 500시간 동안의 실험기간 동안 CFU는 100시간까지 빠르게 성장을 하다가 이후 일정한 10^7 cell/L의 농도를 일정하게 유지하는 것을 확인하였다. 황환원균이 성장하는 동안 황화수소는

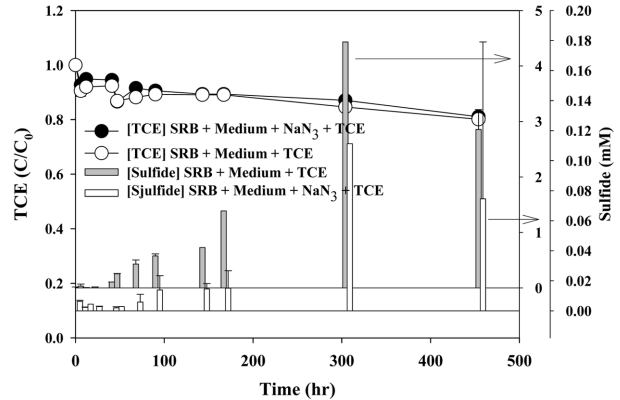


Fig. 2. Changes of TCE and sulfide concentration during the growth of SRB compared to the sodium-azide treatment.

4.38 mM까지 증가하는 것을 관찰할 수 있었고 대조군 실험을 진행한 황환원균의 성장을 방지한 대조군 반응기에서는 뚜렷한 황화수소의 증가를 볼 수 없었다. 동시에 TCE의 농도변화도 나타내었다. 이러한 반응은 Traore et al.(1981)와 Lens et al.(2000)의 연구에서 제시한 반응식, 즉 황환원균에 의해서 황산염이 환원이 되어 황화수소의 농도가 증가되는 반응으로 사료되고 그 반응식은 다음과 같다.

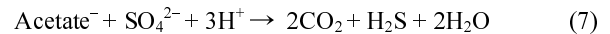
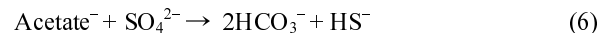
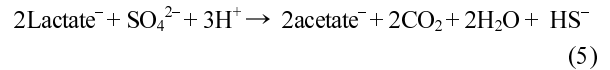
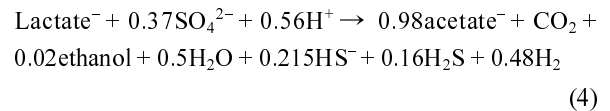


Fig. 2는 황환원균의 성장으로 인하여 강한 환원력을 지닌 황화수소가 생성이 되지만 이에 따른 TCE의 농도변화는 뚜렷하지 않았다. 이것으로 본 실험에 사용된 황환원균으로부터 발생한 농도의 황화수소만으로는 TCE의 제거가 되지 않는 것으로 판단된다.

3.3. 황화수소에 의한 TCE의 제거 실험

Fig. 2에 따르면 황환원균의 성장에 의해 황산염이 환원되어 황화수소가 생성되긴 하지만, 생성된 황화수소에 의해서는 TCE가 환원되지 않는 것을 확인했다. 황환원균을 접종하지 않은 상태에서 황화수소에 의한 TCE의 환원 가능성을 알아보기 위하여 이의 농도를 변화하면서 실험을 진행하였다. 이를 위해 황화수소를 4.38 mM, 43.8 mM,

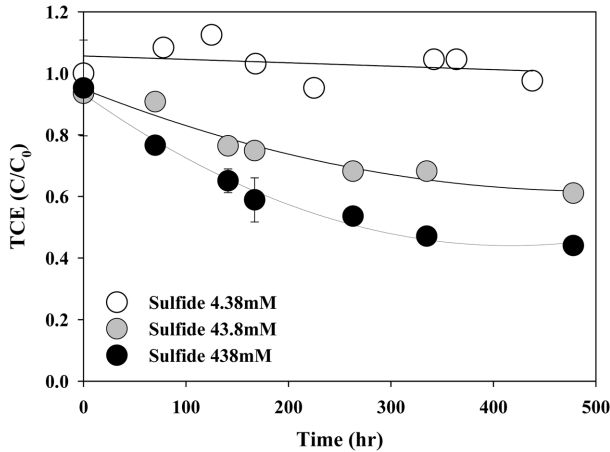


Fig. 3. Reduction of TCE with the concentration of sulfide.

438 mM이 되도록 주입하고 시간에 따른 TCE의 농도변화를 측정하였다.

이전 실험과 마찬가지로 4.38 mM의 황화수소의 농도에서는 뚜렷한 TCE의 농도 변화가 보이지 않는 반면에 43.8 mM과 438 mM의 농도에서는 뚜렷하게 감소하는 것을 볼 수 있다(Fig. 3). 황화수소에 의한 TCE의 반응은 일반적으로 pseudo-first-order kinetic model로 설명할 수 있으며 그 관계를 나타낸 식은 다음과 같다(Butler and Hayes, 1999).

$$[TCE]_{aq} = [TCE]_{aq,0} e^{-k_{obs,TCE}t} \quad (8)$$

[TCE]_{aq}: 시간 t에서 TCE의 농도(mg/L)

[TCE]_{aq,0}: 초기 TCE의 농도(mg/L)

k_{obs}: pseudo-first-order 반응 상수(h⁻¹)

Table 2는 황화수소의 농도에 따른 TCE의 제거율을 비교한 실험 결과이다. 약 500여 시간 동안의 반응 결과 438 mM의 황화수소는 30 mg/L로 주입된 TCE에 대하여 56%의 제거율을 보였고 반응속도 상수가 2 × 10⁻³ h⁻¹인 반면에 농도가 43.8 mM일때는 제거율 39%와 반응속도 상수는 2 × 10⁻³ h⁻¹였다. 이전 실험과 같은 농도인 4.38 mM에서는 2%의 제거율로 거의 제거가 되지 않는 것을 볼 수 있는데 이는 본 실험에 사용된 조건에서 황환원균에 의해 생성되는 황화수소에 의해서는 TCE가 제거 되지 않는다는 것을 보여주는 결과이다.

3.4. Fe₂O₃의 주입 시 황환원균의 성장에 의한 TCE의 제거 실험

황환원균의 성장에 의해서 황화수소가 생성되었을 때,

Table 2. TCE removal rate at various sulfide concentrations

Sulfide concentration (mM)	Removal rate (%)	Reaction rate constant (10 ⁻³ h ⁻¹)	r ²
438	56	2	0.88
43.8	39	1	0.90
4.38	2	-	-

황화수소에 의해서 3가철이 2가철로 환원되는지, 또한 환원된다면 환원된 2가철에 의해서 TCE가 제거가 되는지를 알아보기 위한 실험을 수행하였고 그 결과를 Fig. 4(a)-(c)에서 보여주고 있다. 우선 3가철이 황환원균의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Fe₂O₃의 투입여부에 따른 CFU를 비교하고 그 때 TCE의 농도를 Fig. 4(a)에 나타냈다. 그림과 같이 Fe₂O₃의 존재는 황환원균의 성장에 영향을 미치지 않았다. 성장경향은 초기 50여 시간까지 급속도로 성장하다가 이후에 일정한 농도를 유지하는 것을 볼 수 있다.

Fig. 4(b)에 따르면 Fe₂O₃의 유무에 따른 황산염의 감소경향도 유사한 것으로 관찰되었다. 이는 3가철의 존재가 황환원균의 성장뿐만이 아니라 황산염을 환원시키는 능력에도 영향을 미치지 않는다는 것을 보여준다. 또한 Fe₂O₃의 주입유무에 따른 황화수소의 농도 변화를 살펴보면(Fig. 4(b)) Fe₂O₃를 주입하지 않은 반응기에서는 시간에 따라 황화수소의 농도가 4.38 mM까지 증가하는 것을 볼 수 있으나 Fe₂O₃가 존재하는 경우는 상대적으로 그 농도가 1 mM 이하로 낮은 상태가 유지되었다. 이것은 황환원균에 의해 생성된 황화수소가 반응기 속에 있는 3가철을 환원시키면서 자신은 황산염으로 산화가 되는 것으로 판단된다. 이는 Fe₂O₃가 존재하는 반응기에서 황환원균에 의해 생성된 황화수소가 3가철을 환원시켜 2가철을 생성한다는 것을 재확인시켜준다(Pyzyk and Sommer, 1981).

위의 반응에 의해 2가철이 생성되는 동안의 TCE의 농도는 Fig. 4(a)와 같다. 시간이 지남에 따라 TCE의 농도는 점차 감소하였으며 450여 시간동안 C/C₀가 약 0.2까지 이르렀다. 이것은 황화수소에 의해 환원된 2가철이 다시 3가철로 산화되면서 내놓은 전자에 의해 TCE가 환원 제거 되는 반응으로 사료된다.

Fig. 3에서 4.38 mM의 황화수소에 의해서는 TCE가 제거 되지 않는 것으로 밝혀졌고, 본 실험에서 Fe₂O₃가 존재하는 반응기의 황화수소의 농도는 약 1 mM로 TCE의 제거에 영향을 미치지 않을 것이라고 가정하였을 때, TCE의 제거는 결국 황화수소에 의해 환원된 2가철에 의한 것으로 보인다. 철에 의한 TCE의 반응은 앞선 황화수

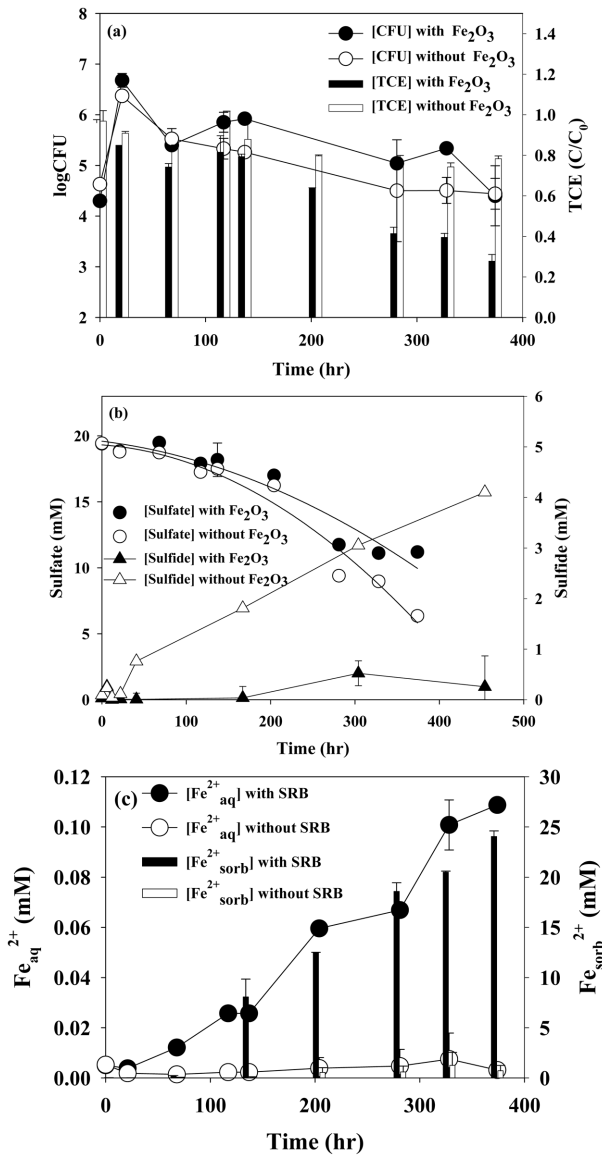


Fig. 4. (a) Change of log scaled CFU and TCE concentration during the growth of SRB with and without Fe₂O₃, (b) Change of sulfate and sulfide concentration during the growth of SRB with and without Fe₂O₃, (c) Change of aqueous and sorbed ferrous ion concentration with and without SRB.

Table 3. Effect of Fe₂O₃ on TCE removal rate

Ingredients	Removal rate (%)	Reaction rate constant (10 ⁻³ h ⁻¹)	r ²
SRB + Fe ₂ O ₃	78	3.1	0.93
Fe ₂ O ₃	21	0.7	0.41
438 mM of sulfide	56	2	0.88

소에 의한 결과와 같이 pseudo-first-order kinetic model로 설명할 수 있고 그 결과를 Table 3에 비교정리하였다.

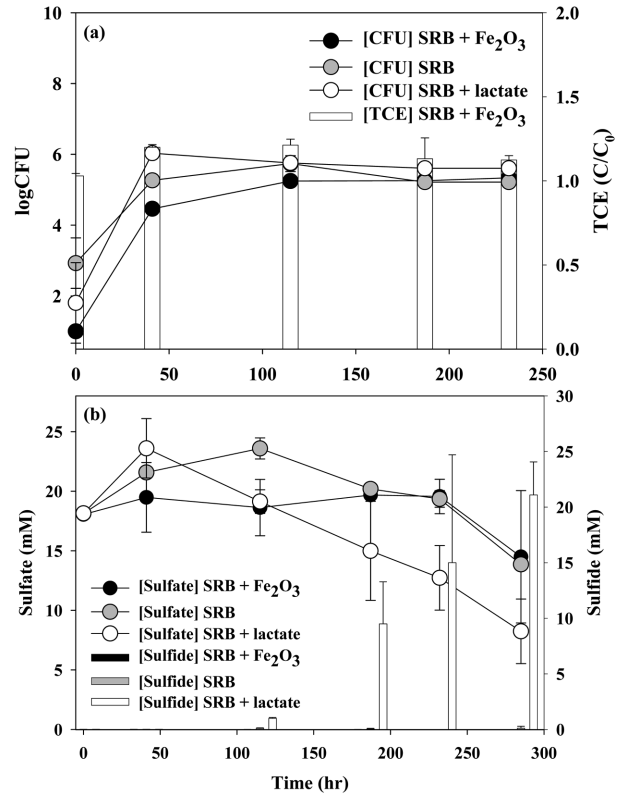


Fig. 5. Effect of Fe₂O₃ and lactate in seawater test. (a) Change of CFU and TCE concentration. (b) Change of sulfate and sulfide concentration.

이에 따르면 Fe₂O₃를 주입하고 황환원균을 접종한 반응기에서의 제거효율과 반응속도상수는 각각 78%와 0.31로 이것은 438 mM의 황화수소를 주입하여 TCE를 환원한 경우(Table 2)보다 환원된 상태의 철이 관여할 경우 훨씬 많은 양의 TCE를 빠르게 환원시킬 수 있다는 것을 의미한다.

3.5. 해수에서 황환원균의 성장과 TCE의 농도 저감 실험

황환원균이 Fe₂O₃와 공존할 때, 실제 해수환경에서도 TCE가 제거됨을 확인하기 위한 실험을 진행하였다. 해수는 인천 국제공항 인근의 을왕리 해변에서 채취하였고, 사전 분석결과 황산염의 농도는 실험에 사용한 배지의 농도인 1800 mg/L로 나타났지만 황환원균의 탄소원으로 사용될 수 있는 총유기탄소(TOC)는 배지의 농도인 628 mg/L보다 적은 1.14 mg/L로 나타나 미생물 배지를 사용한 실험조건은 특히 총 유기탄소가 매우 높았음을 확인하였다.

해수를 이용한 실험에서도 앞의 실험과 동일한 크기의 30 mL vial에 배지에서 배양한 미생물 및 TCE의 주입방법은 동일하게 진행하였다. 하지만 해수를 이용한 TCE의 환원실험에서도 약 250시간을 진행한 결과 황환원균의 농

도는 모든 반응기에서 10^6 cell/L까지 상승하여 유지되므로 이전 실험과 상이한 점은 보이지 않았다(Fig. 5(a)). TCE의 농도 역시 Table 2에 나타난 결과와 유사하게 본 실험조건에서 잘 제거되지 않았다.

하지만 황화수소의 농도변화를 살펴보면(Fig. 5(b)), 해수만 이용한 것과 해수에 Fe_2O_3 를 주입한 반응기에서는 황화수소가 거의 생성되지 않았고, 여기에 탄소원으로 젓산을 주입한 반응기에서는 황화수소가 약 20 mM까지 증가하는 것을 볼 수 있다. 또한 황산염의 농도변화에 따르면, 다른 반응기에서는 황산염의 뚜렷한 변화가 관찰되지 않으나 젓산을 주입한 반응기에서는 황산염의 농도가 황화수소가 생성되는 약 100시간 이후로 빠르게 감소하는 것을 볼 수 있다. 이는 황환원균이 황산염을 환원할 때 탄소원이 요구됨을 의미한다.

4. 결 론

본 연구는 퇴적토에 서식하고 있는 황환원균과 토양의 일반적인 철산화물인 Fe_2O_3 를 이용하여 대표적인 유기오염물질인 TCE를 환원제거하기 위한 연구이다. 황환원균이 환원시켜 발생하는 황화수소가 직접적으로 TCE에 작용을 하여 TCE를 제거하고 또한 황화수소에 의해 환원된 2가철에 의해서도 TCE를 제거할 수 있다는 것을 증명하기 위한 실험을 수행하였고 그 효과를 확인하였다.

TCE가 황환원균에 독성여부에 대한 실험결과, 본 연구에서는 30 mg/L 이하의 TCE는 황환원균의 성장에 영향이 없어, TCE 농도를 30 mg/L로 하여 연구를 진행하였다. 500여 시간동안의 황환원균의 성장과 그로 인해 발생하는 황화수소와 TCE의 농도변화를 살펴본 결과, 황환원균의 성장은 4.38 mM에 해당하는 황화수소를 발생하지만, 이 농도는 TCE의 농도 변화에는 영향을 미치지 못하는 것으로 보인다.

하지만 위의 실험결과를 토대로 황화수소에 의한 TCE의 환원력을 확인하고자 황화수소의 농도를 황환원균에 의해 생성된 4.38 mM 및 더 높은 43.8 mM과 438 mM로 적용하였다. 이전의 결과와 동일하게 황환원균이 존하지 않은 상태에서의 4.38 mM에 해당하는 황화수소는 TCE를 환원하지 못했고 43.8 mM과 438 mM로 황화수소의 농도가 증가할수록 TCE 제거의 반응속도와 제거효율이 동시에 상승하는 것을 확인할 수 있었고 이로써 황화수소로 TCE의 환원이 가능하다는 부가적인 사실을 확인할 수 있었다.

Fe_2O_3 첨가 시 황환원균의 성장으로 이 3가철이 2가철

로 환원되며 이 환원된 2가철에 의해 TCE가 제거되는 것을 실험하였다. 황환원균의 성장기간 동안 수용액상 및 고체상 2가철의 농도가 황환원균을 접종하지 않은 반응기에 비해 농도가 지속적으로 증가하는 것을 보였다. 황환원균에 의한 황화수소생성에 의해 3가철이 2가철로 환원되어서 발생하는 것으로 Fe_2O_3 가 없는 상태에서는 황환원균에 의해 황화수소가 4.38 mM 발생한 반면 Fe_2O_3 가 있는 반응기에서는 약 1 mM만이 측정된 사실은 발생한 황화수소가 3가철을 2가철로 환원하는 데 소모되었다고 설명할 수 있다.

마지막으로 이러한 기작이 해수환경에서 발생할 수 있는지의 가능성을 실험하였다. 하지만 해수는 황산염의 농도를 제외하고 황환원균이 황산염을 환원하는데 필수적인 탄소원의 농도가 배지보다 낮아, 황환원균에 의한 황화수소의 생성이나 황산염의 감소가 뚜렷하게 보이지 않았고 이로 인하여 Fe_2O_3 의 환원에 의한 2가철의 발생 및 TCE의 제거도 관찰되지 않았다. 하지만 해수내의 젓산의 농도를 증가시키면 황화수소가 배지를 이용한 이전 실험과 유사한 수준으로 발생하고 황산염이 감소하는 것이 관찰되므로, 실제 해수에서도 탄소원만 충분하다면 본 연구에서 제안한 방식으로 TCE 및 기타 환원성의 유해 유기오염물질의 자연정화가 가능할 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

- 조세이, 박재우, 2005, 황화철에 의한 6-크롬의 환원에 관한 연구, *대한환경공학회지*, **27**(6), 657-662.
- Bak, F., Scheff, G., and Jansen, K.H., 1991, A rapid and sensitive ion chromatographic technique for the determination of sulfate and sulfate reduction rates in freshwater lake sediments, *FEMS Microbiology Ecology*, **85**(1), 23-30.
- Butler, E.C. and Hayes, K.F., 1999, Kinetics of the transformation of trichloroethylene and tetrachloroethylene by iron sulfide, *Environ. Sci. Technol.* **33**(12), 2021-2027.
- Drzyzga, O. and Gottschal, J.C., 2002, Tetrachloroethene dehalorespiration and growth of *Desulfobacterium frappieri* TCE in strict dependence on the activity of *Desulfovibrio fructosivorans*, *Applied and Environmental Microbiology*, **68**(2), 642-649.
- Lens, P.N.L., Simpa, J., Hulshoff Pol, L.W., and Lettinga, G., 2000, Effect of nitrate on acetate degradation in a sulfidogenic staged reactor, *Water Research*, **34**(1), 31-42.
- Matheson, L.J. and Tratnyek, P.G., 1994, Reductive dehalogenation of chlorinated methanes by iron metal, *Environ. Sci. Technol.*, **28**(12), 2045-2053.

- Menert, A., Paalme, V., Juhkam, J., and Vilu, R., 2004, Characterization of sulfate-reducing bacteria in yeast industry waste by microcalorimetry and PCR amplification, *Thermochimica Acta*, **420**(1-2), 89-98.
- Neal, A.L., Techamjanaruk, S., Dohnalkova, A., McCreedy, D., Peyton, B.M., and Geese, G.G., 2000, Iron sulfides and sulfur species produced at hematite surfaces in the presence of sulfate reducing bacteria, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **65**(2), 223-235.
- Pyzik, A.J. and Sommer, S.E., 1981, Sedimentary iron monosulfides: kinetics and mechanism of formation, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**(5), 687-698.
- Shin, H.-Y., Singhal, N., and Park, J.-W., 2007, Regeneration of iron by *Shewanella* alga BrY for trichloroethylene reduction, *Chemosphere*, **68**(6), 1129-1134.
- Traore, A.S., Hatchikian, C.E., Belaich, J.P., and Le Gall, J., 1981, Microcalorimetric studies of the growth of sulfate-reducing bacteria: energetics of *Desulfovibrio vulgaris* growth, *J. Bacteriol.*, **145**(1), 191-199.