

Autotrophic Perchlorate-Removal Using Zero-Valent Iron and Activated Sludge: Batch Test

Yeonghee Ahn^{1*} and Myoung Gyu Ha²¹Department of Environmental Engineering, Dong-A University, Busan 604-714, Korea²Busan Center, Korea Basic Science Institute, Busan 609-735, Korea

Received February 15, 2011 / Accepted March 15, 2011

Perchlorate (ClO_4^-) is a contaminant found in surface water and soil/ground water. Autotrophic perchlorate-reducing bacteria (PRB) use hydrogen gas (H_2) as an electron donor to remove perchlorate. Since iron corrosion can produce H_2 , feasibility of autotrophic perchlorate-removal using zero-valent iron (ZVI) was examined in this study using activated sludge that is easily available from a wastewater treatment plant. Batch test showed that activated sludge microorganisms could successfully degrade perchlorate in the presence of ZVI. The perchlorate biodegradation was confirmed by molar yield of Cl^- as perchlorate was degraded. Scanning electron microscope revealed that rod-shaped microorganisms on the surface of iron particles used for the autotrophic perchlorate-removal, suggesting that iron particles could serve as supporting media for the formation of biofilm as well. DGGE analyses revealed that microbial profile of the inoculum (activated sludge) was different from that of biofilm sample obtained from the ZVI-added enrichment culture used for ClO_4^- -degradation. A major band of the biofilm sample was most closely related to the class *Clostridia*.

Key words : Autotroph, biodegradation, perchlorate, zero-valent iron (ZVI)

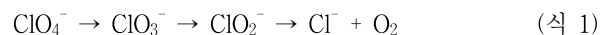
서 론

퍼클로레이트(perchlorate, ClO_4^-)는 지표수, 지하수 및 토양의 주요 오염물이다. ClO_4^- 는 대부분 일상생활에 사용되는 제품(예, 성냥, 건전지, 자동차 에어백, 페인트, 의약품, 비료 제조 등)의 제조과정에서 생성된다. 우리나라에서는 ClO_4^- 의 오염원으로서 주로 LCD 제조공정의 세정제나 아연제련 공정에서 배출되는 폐수가 보고되었다[5,8].

우리나라에서는 2006년에 낙동강 수계와 부산시 수돗물에 ClO_4^- 가 고농도로 검출되면서 이 화합물에 대한 환경문제가 이슈화되었다[16]. 그 이후 2007년 12월에 입법 예고된 '수질 및 수생태계 보전에 관한 법률 시행규칙 일부 개정령안'[15]에 따라, 수질오염물질로 ClO_4^- 가 2008년부터 신규로 지정되었고, ClO_4^- 의 배출허용기준은 검토 중에 있는 실정이다. 최근 연구[6]에 따르면, 입상활성탄을 사용하는 기존 고도처리시설을 갖춘 정수장에서는 활성탄의 사용시간 증가에 따른 흡착능의 초과로 인해 원수보다 오히려 처리수에 ClO_4^- 농도가 높게 검출되었다. 또한 하수처리장에서 기존 생물학적 처리공정만으로는 ClO_4^- 제거가 거의 되지 않는 것으로 나타나 하수처리장에서의 제거보다는 하수처리장으로 유입되기 전 단계에서의 처리 즉, 배출원인 개별업체에서의 저감 대책이 필요한 것으로 나타났다[7].

ClO_4^- 은 물에서 화학적으로 안정되어 쉽게 분해되지 않을 뿐만 아니라 용해도가 높아 광범위 오염을 초래할 수 있다. NaClO_4 와 NH_3ClO_4 의 용해도는 각각 2,010 g/l와 220 g/l이다 [13]. ClO_4^- 는 인체에 흡수되면 갑상선에 요오드가 흡수되는 것을 막아 갑상선호르몬 생성을 방해하고 성장과 물질대사를 저해하므로 인체에 전반적인 영향을 미친다[14].

ClO_4^- 는 물리화학적 또는 생물학적 방법에 의해 제거될 수 있다. 물리화학적 처리에 비해 미생물을 이용한 생물학적 처리는 ClO_4^- 를 무해한 산물로 완전히 전환하므로 친환경적이며 경제적이다. 생물학적 방법에 의한 ClO_4^- 제거는 ClO_4^- 을 환원하는 세균(perchlorate-reducing bacteria, PRB)을 이용한다[9]. ClO_4^- 은 PRB에 의해 chlorate (ClO_3^-)와 chlorite (ClO_2^-)로 순차적으로 환원되고 최종적으로 chloride (Cl^-)로 전환 된다: 식 1.



중속영양 PRB에 의한 ClO_4^- 제거는 이들 미생물에게 유기물(예, 초산, 에탄올 등)을 지속적으로 공급해주어야 하므로 비용이 높을뿐더러 미생물의 과다성장에 따른 biomass에 의한 반응기의 막힘 현상이 심하여 연속 공정상에 문제를 초래하는 것으로 알려졌다[3,9]. 중속영양 PRB를 사용함에 따른 문제점을 해결하기 위해 수소기체(H_2)를 전자 공여체로 사용하고 CO_2 를 탄소원으로 사용하는 독립영양 PRB를 이용하는 실험실 규모의 연구가 보고 되었다[10,11]. 이 연구결과에서는 biomass에 의한 막힘 현상이 덜하고 유기물을 지속적으로 공

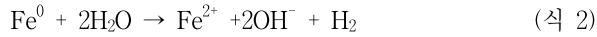
*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7677, Fax : +82-51-200-7683

E-mail : yahn@dau.ac.kr

급해줄 필요성이 없으므로 처리 비용도 비교적 저렴한 것으로 보고되었다. 그러나 H₂의 취급과 저장에 폭발의 위험성이 있어 대규모로 적용하는 것은 제한되었다. 그러므로 안전하고 더 경제적인 전자 공여체를 사용한 ClO₄⁻ 제거법이 개발될 필요가 있다.

영가철(zero-valent iron, ZVI)은 부식(산화)되면 다음과 같은 반응이 일어난다: 식 2.



식 2에서 발생된 H₂는 수소기체를 전자 공여체로 이용하는 미생물이 사용할 수 있음이 보고되었다[4]. 영가철의 부식으로 발생된 수소기체를 독립영양 PRB가 전자 공여체로 사용하여 ClO₄⁻를 제거하는데 사용할 수 있다면, H₂를 따로 공급할 필요가 없기 때문에 비교적 저렴하고 폭발의 위험이 없이 안전하게 수소기체를 제공할 수 있다는 장점이 있다. 또한 철은 저렴하고 다루기 용이할 뿐만 아니라 처리된 토양이나 지하수에 유기성 잔재물을 남기지 않은 장점이 있다.

따라서 본 연구에서는 경제적이고 효율적인 ClO₄⁻ 제거공정개발을 향후 목표로 하여 영가 철을 이용한 독립영양방식의 ClO₄⁻ 제거에 대한 타당성을 검토하기 위해 하수처리에서 발생하는 활성슬러지와 영가철을 이용하여 독립영양방식의 ClO₄⁻ 제거를 회분배양으로 실시하였으며 그 공정에 관련된 미생물을 DGGE로 분석하였다.

재료 및 방법

접종균과 시약

회분반응 실험에 식중 미생물로서 사용한 활성슬러지(activated sludge, AS)는 부산시 수영하수처리장(부산시 환경시설공단 수영사업소)에서 채취한 잉여슬러지를 사용하였다. 채취한 슬러지는 식중하기 전에 동일 부피의 mineral medium을 사용하여 3번 세척하여 슬러지액에 잔존하는 용해된 유기물이나 Cl⁻를 제거한 후 실험에 사용하였다.

최종 식중된 biomass 농도는 0.04g VSS/l이었다. VSS 측정은 Standard method [1]에 따라 실시하였다. Mineral medium의 조성(1 당)은 다음과 같다: 2 mg MgSO₄·7H₂O, 47 mg K₂HPO₄, 27 mg NaH₂PO₄·H₂O, 16 mg NH₄H₂PO₄, 1 g NaHCO₃, 40 µg NiCl₂·6H₂O, 40 µg Na₂SeO₃·5H₂O. 언급이 없는 한 mineral medium의 초기 pH는 8.0이었다. 본 연구에 사용된 sodium perchlorate (순도 99% 이상)와 ZVI (mesh -70)는 ACROS Organics (New Jersey, USA)에서 구입하였다. 그 외 시약들은 모두 Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며 가장 순도(순도 99% 이상)가 높은 것이었다.

회분반응

회분반응 실험에 사용된 반응기들의 조성은 Table 1과 같

다. Table 1에서 사용한 abiotic control은 접종균이 없을 경우에 배양 기간 동안 ClO₄⁻의 농도를 조사하기 위한 것이었고, biotic control은 외부에서 첨가한 전자공여체가 없을 때 접종된 미생물이 ClO₄⁻를 분해할 수 있는지를 조사하기 위한 것이었다. 한편 medium control은 본 연구에 사용된 배지성분이 배양기간 동안 ClO₄⁻의 농도에 영향을 주는지를 조사하기 위한 것이었다.

반응기는 butyl rubber가 장착된 screw cap으로 봉할 수 있는 250 ml Wheaton bottles을 사용하였다. 초기 ClO₄⁻ 농도가 16 mg/l가 되도록 조절하여 배지 200 ml를 반응기에 넣고 이에 4 g의 ZVI를 첨가하였다. 반응기 내부는 질소기체(99.99%)로 2분간 purge하여 봉한 후 25°C에서 진탕(150 rpm) 배양하였다. ClO₄⁻ 제거효율은 식 3에 의해 계산하였다. 식 3에서 C₀는 배양초기의 ClO₄⁻ 농도이고, 한편 C_t는 t 시간 후의 ClO₄⁻ 농도이다.

$$\text{ClO}_4^- \text{ 제거효율}(\%) = \frac{(C_0 - C_t) \times 100}{C_0} \quad (\text{식 } 3)$$

농화배양(enrichment culture)

PRB 농화배양은 1 l Wheaton bottle로 된 반응기를 사용하여 Table 1의 AS-ZVI 반응기와 같은 조성으로 구성하였으며, 반응기내의 반응액의 부피는 500 ml이었다. 식중균은 활성슬러지를 사용하였다. 회분반응 실험과는 달리 농화배양의 경우는 3 또는 4일 마다 ClO₄⁻를 respiking 해서 반응액이 15-20 mg ClO₄⁻/l가 되도록 하였다. 2주일에 한 번씩 반응기로부터 액 100 ml를 제거하고 새 mineral medium 100 ml로 대체하였다. 이 때 반응기로부터 취한 100 ml은 원심 분리하여 상등액은 버리고 침전된 미생물을 새 배지로 현탁하여 반응기에 공급하였다. 반응기를 봉하기 전에는 회분반응실험에 기술된 것과 같이 질소기체로 purge 하였다.

화학분석

회분반응의 시료는 반응기로부터 주기적으로 채취하여 ClO₄⁻ 농도 감소와 더불어 생성된 Cl⁻의 농도와 pH를 분석하였다. 시료는 1회용 주사기로 채취하여 syringe filter (pore size, 0.22 µm)로 여과 후 필요에 따라서는 적당히 희석하여 ion chromatograph (IC)로 분석하는데 사용하였다. IC 분석은 한

Table 1. Constituents of the reactors used in the batch experiment

Batch reactors	Constituents
AS-ZVI	Mineral medium, perchlorate, Fe ⁰ , activated sludge
Abiotic control	Mineral medium, perchlorate, Fe ⁰
Biotic control	Mineral medium, perchlorate, activated sludge
Medium control	Mineral medium, perchlorate

Table 2. IC analysis conditions used in this study

		Analysis condition
IC model		Dionex ICS-3000
Sample loop		1,000 μ l
Eluent		35 mM KOH
Eluent flow		1.0 ml/min
Columns		Dionex AG16, 4 mm / AS16, 4 mm
Back pressure		1850 psi
Suppressor		ASRS ULTRA II
Detectors		Suppressed conductivity detector, Dionex CD20
Current		87 mA
Temperature		30 $^{\circ}$ C
Detection time	ClO_4^-	16 min
	Cl^-	4.5 min
Detection limit	ClO_4^-	0.5 $\mu\text{g/l}$
	Cl^-	5 $\mu\text{g/l}$

국기초과학연구원에서 실시하였으며 EPA METHOD 314.0 [17]을 수정한 방법(Table 2)을 사용하였다. Analytical column AS16과 guard column AG16이 장착된 IC (Dionex ICS-3000)을 사용하여 ClO_4^- 과 Cl^- 농도를 분석하였다. ClO_4^- 과 Cl^- 의 검출한계는 각각 0.5 $\mu\text{g/l}$ 와 5 $\mu\text{g/l}$ 이었다. IC 분석에 사용한 표준시약(ClO_4^- 과 Cl^-)은 AccuStandard Inc. (New Haven, CT, USA)에서 구매하였다. 한편 시료의 pH는 pH meter (Isteck, 한국)로 측정하였다.

주사전자현미경(scanning electron microscope, SEM)을 이용한 ZVI 표면 관찰

ZVI를 이용한 독립영양방식의 ClO_4^- 제거공정에 사용된 철 입자의 표면을 관찰하기 위해 SEM (model JSM-6700F, JEOL, Japan)을 사용하였다. SEM 관찰에 사용된 시료는 농화배양 반응기에서 채취한 철 입자이었다. 대조군으로는 사용하지 않은 ZVI 입자와 abiotic control 반응기에서 채취한 철 입자를 사용하였다. 농화배양 반응기와 abiotic control 반응기에서 채취한 시료는 각 반응기에서 2달간 반응된 것들이었다.

철 입자는 SEM으로 관찰하기 전에 전처리를 하였다. 전처리 과정은 다음과 같다. 철 입자를 phosphate buffer (pH 7.2)로 3번 세척 한 후 ethanol 50, 60, 70, 95, 그리고 100% (v/v)에 순차적으로 넣어 탈수시켰다. 그 후 ethanol 100%를 2번 더 반복 처리하여 탈수시켰다. 그 후 30 $^{\circ}$ C의 온도에서 1시간 동안 풍건시켰다. 그리고 대조군으로 사용된 철 입자도 동일한 전처리를 실시하였다. 전처리가 끝난 철입자는 동아대학교 공동기기센터에서 sputter coater (model Cressington 108 AUTO; Ted Pella Inc., CA, USA)를 이용하여 Au/Pd 타겟으로 90초간 코팅처리하여 SEM을 사용하여 관찰하였다.

PCR (Polymerase Chain Reaction) - DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 분석

ZVI를 이용한 독립영양방식의 ClO_4^- 제거공정에 존재하는 미생물 군집을 조사하기 위해 DGGE기법을 사용하였다. 사용한 시료는 2달 농화배양된 반응기에서 채취한 철입자의 생물막미생물이었다. 접종군으로 사용된 활성슬러지도 동일한 실험과정을 거쳐 미생물군집을 비교하였다.

채취한 철입자 시료에 phosphate buffered saline (PBS; 0.13 M NaCl, 10 mM sodium phosphate buffer, pH 7.2)을 넣어 강하게 5분간 vortex하여 생물막 미생물을 철 입자로부터 유리시켰다. 유리된 미생물은 회수하여 Mobio (Carlsbad, CA USA)사의 UltracleanTM을 사용하여 total genomic DNA를 추출하는데 사용하였다. 추출된 DNA는 0.8% agarose gel을 이용하여 0.5% TAE buffer에서 전기영동하여 확인하였으며 UV spectrophotometer를 사용하여 농도를 측정하였다.

추출된 DNA를 주형으로 사용하여 문헌[2]에 기술된 것과 같이 PCR로 16S rRNA 유전자의 일부(*Escherichia coli* numbering 기준으로 341에서 534에 해당)를 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물(약 200 bp)은 agarose gel 전기영동으로 확인한 후 문헌[2]에 기술된 것과 같이 DGGE분석에 사용하였다. DGGE는 DCode System (Bio-Rad, Hercules, CA)을 사용하여 200 V, 60 $^{\circ}$ C에서 4 시간 진행하였다. 시료로 사용된 PCR 산물은 10% (w/v) polyacrylamide gel (acrylamide: N,N'-methylenebisacrylamide, 37.5:1, Bio-Rad)에서 1 \times TAE buffer (2 M Tris base, 1 M glacial acetic acid, 50 mM EDTA, pH 8.0)를 사용하여 분리하였다. Gel에 denaturing gradient를 형성하기 위해 40%와 60% denaturant를 각각 포함하는 10% polyacrylamide의 2 stock solutions을 혼합 하였으며, denaturing gradient는 전기영동방향으로 증가하였다. 100% denaturant

는 7 M urea와 40% (w/v) formamide로 구성된 것을 말한다.

결과 및 고찰

퍼클로레이트의 생분해 효율

회분반응실험에서 ZVI와 활성슬러지가 주입된 AS-ZVI 반응기의 배양시간에 따른 ClO_4^- 농도변화를 조사하였다. 한편 그 결과는 서로 다른 구성성분을 가진 control들(Table 1)과 비교하였다. AS-ZVI 반응기는 시간이 경과함에 따라 초기농도 15.4 mg ClO_4^-/l 가 152 hr 후에 검출한계 이하를 나타내었다(Fig. 1). ClO_4^- 제거효율은 배양 38 hr까지는 5.2%를 나타냈으나 68 hr에는 40.7%를 나타내다가 125 hr 이후는 100%를 나타내었다.

한편 control 반응기들은 본 실험을 실시한 기간 동안에 거의 ClO_4^- 농도변화가 거의 일어나지 않은 것으로 나타났다. 본 연구에서 사용한 medium control을 통해 본 실험조건하에서는 사용된 medium 자체가 ClO_4^- 농도변화에 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 한편 abiotic control에서는 ZVI자체가 강한 환원제($E^0 = -0.44 \text{ V}$)임에도 불구하고 본 실험조건하에서는 ClO_4^- 농도변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 문헌에 의하면 ZVI에 의한 ClO_4^- 의 환원반응은 실온에서는 매우 느린 것으로 보고되었다[12]. 한편 외부에서 전자 공여체를 주입하지 않는 한 활성슬러지를 구성하는 미생물자체는 ClO_4^- 를 환원 제거할 수 없음을 biotic control을 통해 알 수 있었다.

본 회분반응실험에서는 하수처리장에서 채취한 활성슬러지를 식중균으로 사용하였다. 채취된 슬러지를 mineral medium으로 세척 않고 식중균 경우에는 슬러지액에 잔존하는 용해된 유기물(soluble organics)로 인해 회분배양기간 동안 약간의 ClO_4^- 제거가 관찰되었다(data 제시하지 않았음). 즉 용해된 유기물이 전자공여체로 사용된 것으로 추측된다.

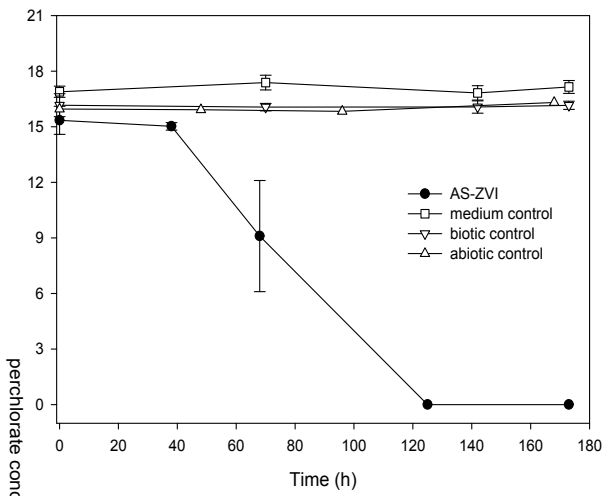


Fig. 1. ClO_4^- removal by activated sludge in the presence of ZVI. Data are given as mean±standard deviation (n=3).

퍼클로레이트 생분해의 화학양론적 수지분석

제거된 ClO_4^- 가 Cl^- 로 완전 전환되었는지를 조사하기 위해 화학양론적 수지(chemical stoichiometric balance)를 검토함으로써 ClO_4^- 분해를 검정하였다. 식 1에 의해 1 mol의 ClO_4^- 이 환원되면 1 mol의 Cl^- 가 생성된다. 회분배양기간 동안 제거된 ClO_4^- 에 대한 생성된 Cl^- 의 molar yield는 이론치(식 1)와 근사하게 나타났다(Fig. 2). 그래서 Fig. 2에 나타난 것처럼 ClO_4^- 의 몰 농도가 감소하는 만큼 Cl^- 의 몰 농도가 증가하는 대칭되는 곡선을 나타내었다. 따라서 ClO_4^- 가 환원되어 Cl^- 로 완전히 전환되었다는 것을 알 수 있었다. 본 연구의 회분배양실험결과는 쉽게 구할 수 있는 식중균인 활성슬러지와 ZVI를 이용하여 ClO_4^- 를 제거할 수 있다는 것을 실험적으로 증명하였다.

퍼클로레이트 생분해 동안의 pH 변화

배양시간에 따른 각 반응기의 pH 변화를 조사하였다. Abiotic control은 배양시간이 지남에 따라 pH가 점차 증가하여 배양 168 hr에는 배양액의 초기 pH 8.06 보다 pH 1.15가 증가된 pH 9.21을 나타내었다(Fig. 3). 이것은 ZVI가 산화하면서 생성된 OH^- 에 의해 pH가 증가하는 것을 여겨진다(식 2). 한편 biotic control의 경우는 약간의 pH 감소가 관찰되었다. 그러나 medium control과 AS-ZVI의 경우는 배양기간 동안 큰 pH 변화가 관찰되지 않았다.

철 가루 입자표면의 미생물 관찰

SEM으로 비교 관찰한 결과, 200× 확대한 이미지에서 철 입자들은 표면에 굴곡이 많은 다양한 형태의 입자상을 나타내었다(Fig. 4). 사용하지 않은 철(Fig. 4A)과 abiotic control에서 채취한 철(Fig. 4B)은 거의 비슷한 표면구조를 나타내었다. 그러나 AS-ZVI 반응기에서 취한 철 입자는 굴곡의 골이 거의 매워진 형태를 나타내었으며 일부는 거친 표면이 관찰되었다(Fig. 4C).

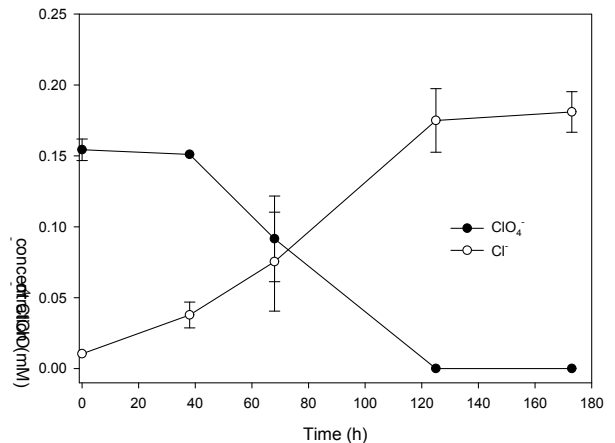


Fig. 2. Chloride balance in the AS-ZVI reactor. Data are given as mean±standard deviation (n=3).

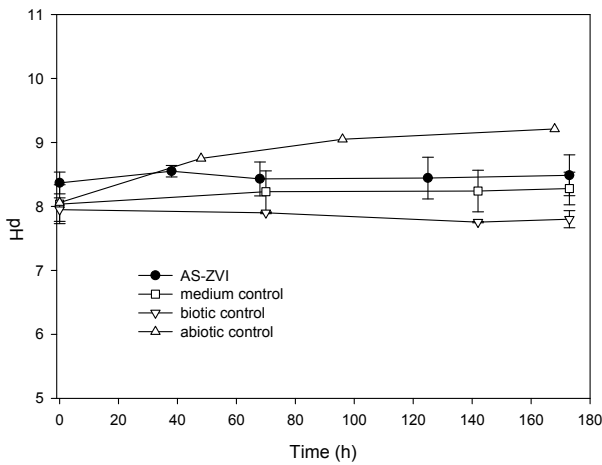


Fig. 3. pH change with time in the batch experiment.

철 입자의 표면을 더 잘 비교분석하기 위해 2,000배로 확대해서 관찰한 이미지를 통해 3 시료의 차이점이 더 잘 나타났다. 즉 사용하지 않은 철 입자의 표면은 비교적 매끈하였으며 (Fig. 4D), abiotic control에서 채취한 철 (Fig. 4E)은 표면이 비교적 거칠어 보였고 표면의 일부가 떨어져 생긴 것과 같은 판상의 조각들도 관찰되었다. 한편 AS-ZVI 반응기에서 채취한 철 입자에서는 표면이 비교적 가장 거칠게 보였고 판상의 조각들도 많이 관찰되었다 (Fig. 4F). 게다가 이 시료에서는 세균

형태의 것으로 구성된 생물막 (biofilm)이나 미세집락 (microcolony)들로 보이는 것이 표면의 움푹 팬 골, 판상구조 위 등에서 관찰되었다 (Fig. 4F, Fig. 5). 생물막이나 미세집락에는 존재하는 미생물들은 주로 간균의 형태를 나타내었다.

SEM을 통한 철 입자의 표면 관찰을 통해 AS-ZVI 반응기 내의 철 입자가 부식이 가장 심하다는 것을 알 수 있었다. 철 입자 표면에서 관찰된 세균형태는 PRB로 여겨지며 이들은 철 입자에 부착하여 서식함으로써 철의 부식으로 생성되는 H_2 를 쉽게 얻을 수 있으므로 물질전달 면에서 이점이 있는 것으로 여겨진다. 즉 현탁된 PRB 보다는 생물막을 형성하는 PRB가 전자공여체를 쉽게 이용할 수 있는 이점이 있어 생물막을 형성하는 것으로 여겨진다.

Fig. 5는 2달 배양된 AS-ZVI에서 취한 철 입자 표면에 형성된 생물막 또는 미세집락을 보여줌과 더불어 철의 부식에 미생물이 적극 관여됨을 암시하는 SEM 이미지들이다. Fig. 5에서 관찰되는 철 입자 표면의 판상구조에 있는 세균 주위에 난 구멍 (Fig. 5B와 5C, →표시)과 홈 (Fig. 5B, ○표시)은 철 입자 표면의 세균들이 철 표면의 부식에 적극적으로 관여하여 생긴 것으로 여겨진다. Fig. 5B의 화살표(○)는 간형의 세균이 존재했던 흔적으로 추측된다.

본 연구의 회분반응실험과 SEM관찰을 통해 철 입자는 PRB가 ClO_4^- 를 환원하는데 필요한 전자 공여체로 사용할 수소기체의 발생원으로 작용할 뿐만 아니라 PRB들이 정착하여 생물

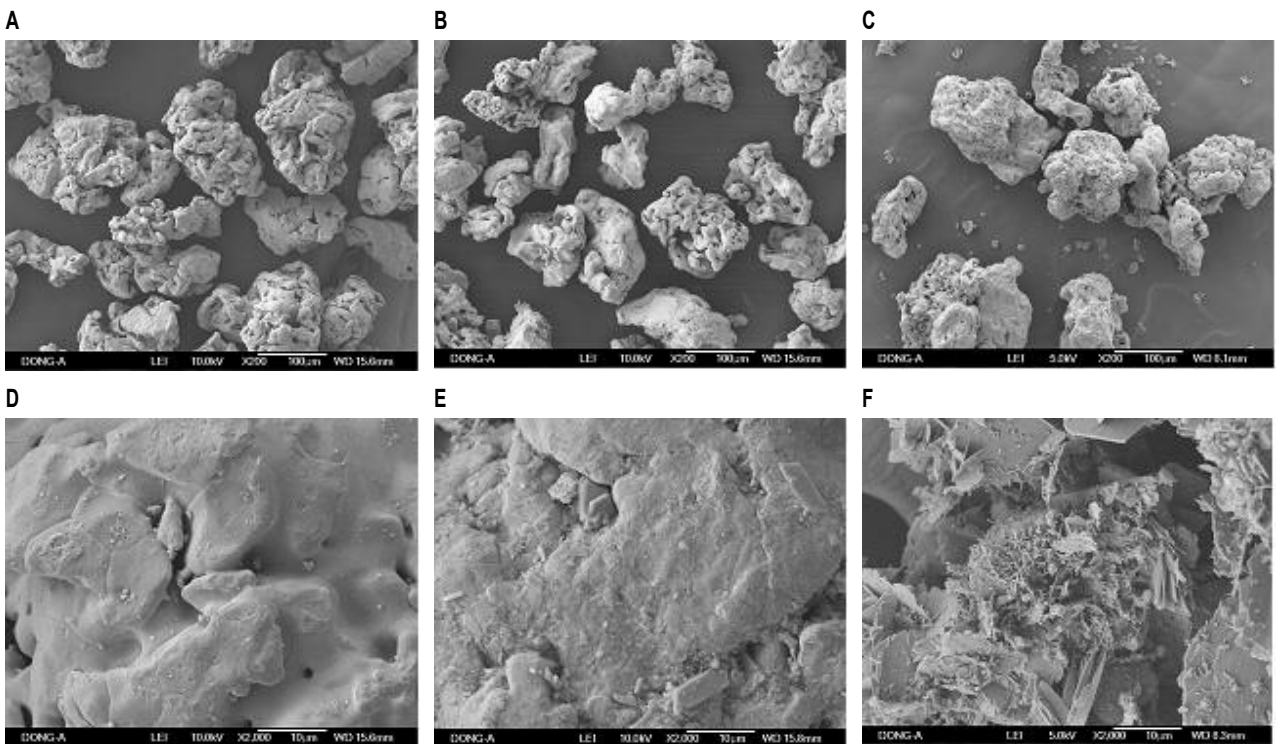


Fig. 4. SEM pictures of iron particles. A, Unused ZVI; B, iron particles taken from abiotic control reactor that was incubated for 2 months; C, iron particles taken from AS-ZVI reactor that was incubated for 2 months. Bottom pictures, C, D, and F, are more magnified images of top pictures, A, B, and C, respectively. Magnification: top pictures, 200×; bottom pictures, 2,000×.

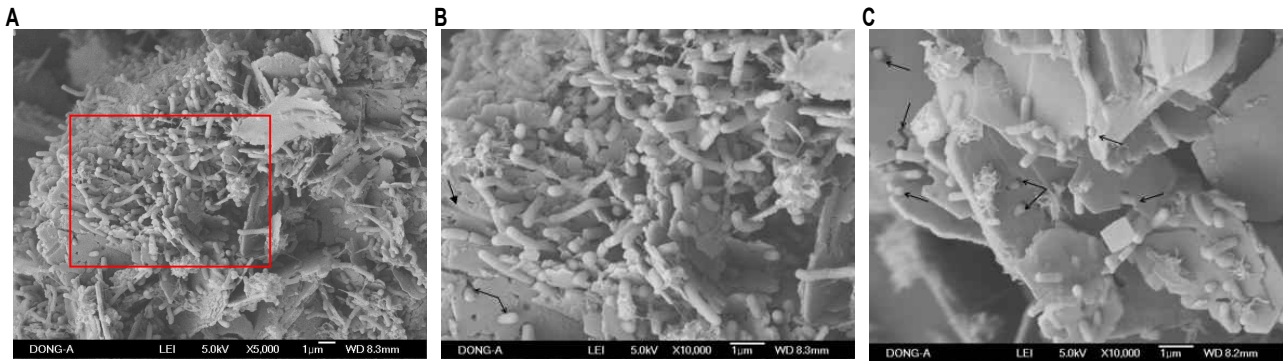


Fig. 5. Microorganisms observed by SEM. The observation used iron particles taken from AS-ZVI reactor that was incubated for 2 months. Magnification: A, 5,000 \times ; B and C, 10,000 \times . B is more magnified image of the rectangular region in A.

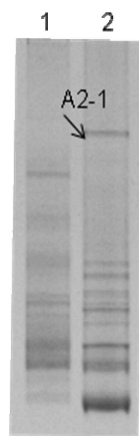


Fig. 6. DGGE profile of 16S rRNA gene fragments. The fragments were PCR-amplified from the total DNA of samples. Lanes: 1, activated sludge used as inoculum; 2, biofilm of iron particles taken from enrichment culture.

막을 형성하기 위한 담체로도 작용할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 철입자 자체가 담체로 사용될 수 있다는 것은 ClO_4^- 로 오염된 폐수나 지하수를 처리할 때 영가철 입자를 이용할 경우 반응기내에 따로 담체를 넣어주지 않아도 biomass를 확보 또는 유지할 수 있다는 장점이 있다.

PCR-DGGE에 의한 미생물 군집 비교분석

DGGE 결과 나타난 band pattern에 근거하여 농화배양된 미생물군집은 식중에 사용된 활성슬러지의 미생물군집과 그 조성이 다른 것으로 나타났다(Fig. 6). 이는 식중된 미생물군집이 2달 동안 농화배양 되는 동안 그 환경조건에 잘 성장하는 미생물들로 군집이 바뀐 것으로 여겨진다. 두 달 AS를 식중하여 농화배양된 시료에서 나타난 가장 진한 band인 A2-1는 GenBank 검색 결과 *Clostridia* 강에 속하며, PCB를 분해하는 배양액에 존재하는 배양이 되지 않은 세균의 16S rRNA 유전자(등록번호 AB259669)와 계통발생학적으로 가장 관련(염기 서열 유사성 100%)이 있는 것으로 나타났다.

감사의 말씀

이 연구는 2007년도 교육인적자원부 학술연구조성사업비로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2007-331-D00235).

References

1. APHA. 1995. Standard methods for examination of water and wastewater. 19th eds. American Public Health Association, Washington, D. C., USA.
2. Ahn, Y., E. J. Park, Y. K. Oh, S. Park, and G. Webster, and A. J. Weightman. 2005. Biofilm microbial community of a thermophilic trickling biofilter used for continuous biohydrogen production. *FEMS Microbiol. Lett.* **249**, 31-38.
3. Coates, J. D. and L. A. Achenbach. 2004. Microbial perchlorate reduction: Rocket-fuelled metabolism. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 569-580.
4. Daniels, L., N. Belay, B. S. Rajagopal, and P. J. Weimer. 1987. Bacterial methanogenesis and growth from CO_2 with elemental iron as the sole source of electrons. *Science* **237**, 509-511.
5. Kim, H., J. Kim, and Y. Lee. 2007. Occurrence of perchlorate in drinking water in Korea. *J. Korean Soc. Water Quality* **23**, 822-828.
6. Kim, H., J. Kim, Y. Lee, J. Lee, and S. Kim. 2008. Perchlorate in advanced drinking water treatment process. *J. Korean Soc. Water Quality* **24**, 164-168.
7. Lee, C. 2009. Optimum treatment of sewage and wastewater discharged in Gumi industrial complex. Final report 09-2-10-16-5. Gyeongbuk regional environment technology development center. Gyeongbuk, Korea.
8. Lee, K., S. Kim, K. Lee, and O. Kwon. 2010. Biological treatment of perchlorate in inorganic wastewater from primary zinc smelting industry. *Proceedings of Korean Soc. on Water Quality* April 16. Taejon, Korea. 103-104.
9. Logan, B. E. 1998. A review of chlorate- and perchlorate-respiring microorganisms. *Bioremediation J.* **2**, 69-79.
10. Miller, J. P. and Logan, B. E. 2000. Sustained perchlorate

- degradation in an autographic, gas-phase, packed-bed bioreactor. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 3018-3022.
11. Min, B., P. J. Evans, A. K. Chiu, and B. E. Logan. 2004. Perchlorate removal in sand and plastic media bioreactors. *Water Res.* **38**, 47-60.
 12. Moore, A. M., C. H. De Leon, and T. M. Young. 2003. Rate and extent of aqueous perchlorate removal by iron surfaces. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 3189-3198.
 13. Motzer, W. E. 2001. Perchlorate: problems, detection, and solutions. *Environ. Forensics* **2**, 301-311.
 14. National Research Council. 2005. Health Implications of Perchlorate Ingestion. National Academy of Sciences. Washington, D. C., USA.
 15. Republic of Korea Ministry of Environment. 2007. Notice on amendment of law relating to conservation of water quality and water ecosystem. Notice No. 2007-419. http://me.go.kr/kor/notice/notice_02_01.jsp?id=notice_02&mode=view&idx=166060.
 16. Shin, K. H., A. Son, D. K. Cha, and K. W. Kim. 2007. Review on risks of perchlorate and treatment technologies. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **29**, 1060-1068.
 17. US EPA. 1999. EPA METHOD 314.0: Determination of perchlorate in drinking water using ion chromatography.

초록 : 영가철과 활성슬러지를 이용한 독립영양방식의 퍼클로레이트 제거: 회분배양연구

안영희^{1*} · 하명규²

(¹부산광역시 사하구 하단동 동아대학교 환경공학과, ²기초과학지원연구원 부산센터)

퍼클로레이트(ClO_4^-)는 지표수 및 토양/지하수에서 검출되는 오염물이다. 독립영양방식의 퍼클로레이트-환원 세균(PRB)은 기체 수소(H_2)를 전자공여체로 사용하여 ClO_4^- 를 제거한다. 철이 부식되면 H_2 를 생성할 수 있음에 착안하여 본 연구에서는 하수처리장에서 쉽게 구할 수 있는 활성슬러지를 식종하여 영가철(ZVI)을 이용한 독립영양방식의 ClO_4^- 제거 가능성을 조사하였다. 회분반응실험을 통해 활성슬러지미생물이 ZVI가 존재할 때 ClO_4^- 를 분해할 수 있음을 알 수 있었으며, 또한 이러한 ClO_4^- 의 생분해는 ClO_4^- 가 분해됨에 따라 생성되는 Cl^- 의 몰 농도를 통해 확인 할 수 있었다. 독립영양방식의 ClO_4^- 제거공정에 사용된 철 입자의 표면에 간균형태의 미생물들이 존재한다는 것을 주사전자현미경을 통해 관찰하였다. 그래서 철 입자가 생물막을 형성하기 위한 담체로서도 작용할 수 있다는 것을 알 수 있었다. ZVI가 첨가된 ClO_4^- 분해성 농화배양으로부터 채취한 생물막의 미생물군집 조성은 접종균으로 사용된 활성슬러지의 그것과는 다름이 DGGE 분석 결과 나타났다. DGGE band 중에서 생물막의 주요밴드는 *Clostridia* 강과 가장 관련이 있는 것으로 나타났다.