

나노영가철과 *Geobacter lovleyi*를 이용한 TCE 탈염소에 관한 동역학적 연구

김영주 · 안상우 · 장준원 · 여인환 · 김한석 · 박재우*

한양대학교 건설환경공학과

Kinetic Studies of Nanoscale Zero-Valent Iron and *Geobacter lovleyi* for Trichloroethylene Dechlorination

Young-Ju Kim · Sang-Woo An · Jun-Won Jang · In-Hwan Yeo · Han-Suk Kim · Jae-Woo Park*

Department of Civil and Environmental Engineering, Hanyang University

ABSTRACT

Nanoscale zero-valent iron (nZVI) has recently received much attention for remediation of soil and groundwater contaminated with trichloroethylene (TCE). But there have been many debates on the toxic or inhibitory effects of nZVI on the environment. The objective of this study was to investigate the effects of nZVI on the activity of *Geobacter lovleyi* and to determine the potent effect of combination of abiotic and biotic treatment of TCE dechlorination. TCE degradation efficiencies of *Geobacter lovleyi* along with nZVI were more increased than those when nZVI was solely used. The amount of total microbial protein was increased in the presence of nZVI and hydrogen evolved from nZVI was consumed as electron donor by *Geobacter lovleyi*. In addition, dechlorination of TCE to *cis*-DCE by *Geobacter lovleyi* along with nZVI in respiking of exogenous of TCE shows that the reactivity of *Geobacter lovleyi* was also maintained. These results suggest that the application of *Geobacter lovleyi* along with nZVI for the dehalorination is beneficial for the enhancement of TCE degradation rate and reactivity of *Geobacter lovleyi*.

Key words : Nanoscale Zero-Valent Iron, *Geobacter lovleyi*, Trichloroethylene, Anaerobic, Dechlorination

1. 서 론

산업의 고도화로 인한 다량의 염소계 유기화합물의 사용 증가로 인해 환경오염에 대한 심각성이 제기되고 있으며, 그 사용량이 매년 증가함에 따라 토양 및 지하수 오염이 가속화 되고 있다. 염소계 유기화합물 중 tetrachloroethylene(PCE)와 trichloroethylene(TCE)는 오염토양 및 지하수에서 흔히 검출되는 오염물질로, 우수한 탈지능력과 세정력을 가지고 있어, 드라이클리닝, 금속 산업의 세정용 매 등으로 널리 사용되어 왔다(김병혁 외, 2008). 환경부의 지하수 수질측정망 운영결과에 따르면 최근 5년간 ('05~'09) 공단 및 주거지역 등 전체 오염우려지역의 TCE와 PCE의 초과비율이 20.8%와 8.2%로 각각 2위와 5위를 차지하며 염소계 유기화합물로 인한 지하수 오염이

심각함을 보여주었다(환경부, 2010). 이 물질들은 물보다 비중이 큰 고밀도비수상액체(dense non-aqueous phase liquids; DNAPLs)로 지하로 유출되면 토양공극이나 불투수층 상부에 농축되어 천천히 용해되는 난분해성 물질이기 때문에 장기적으로 토양 및 지하수 오염원으로 존재한다(한국환경산업기술원, 2009). PCE와 TCE는 발암성 물질로 체내에 흡수되면 혈액을 따라 중추신경계에 작용하여 두통, 현기증, 진전, 구토, 졸음 등의 증상을 보이거나 폐부종, 간 괴사, 심장, 신장에 영향을 줄 수 있어 매우 엄격한 관리가 필요한 물질이다(환경부, 2009; 식품의약품안전청, 2010)

염소계 유기화합물을 처리하기 위하여 물리·화학적, 생물학적 처리에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 탈기, 고형화, 소각, 열처리, 용매에 의한 세척, 활성탄흡착,

*Corresponding author : jaewoopark@hanyang.ac.kr

원고접수일 : 2011. 10. 17 심사일 : 2012. 1. 4 게재승인일 : 2012. 1. 9
질의 및 토의 : 2012. 4. 30 까지

펜톤 산화 처리, 영가철(Zeoro-Valent Iron; ZVI)을 매질로 이용한 투수성 반응벽체와 같은 물리·화학적인 방법이 주로 사용되어 왔으나, 경제적 부담과 함께 하나의 매질에서 다른 매질로 오염물을 이동·축적시켜 처리하는 방법이므로 2차 오염을 유발할 수 있는 단점을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(환경부, 2009). 그에 반하여 혐기성 및 호기성 미생물을 이용한 생물학적 방법은 경제적이고, 친환경적인 장점이 있는 반면, 물리·화학적인 방법에 비해 처리속도가 낮고, 오염물질을 분해하기 위해 별도의 기질이 공급 되어야 하며, 고농도의 오염물질에서는 분해가 어렵다. 그리고 균주의 차이에 따라 독성이 강한 중간 생성물을 생성하는 단점이 있다(Xiu et al., 2010). 최근에는 TCE를 ethylene으로 완벽하게 탈염소화시키는 능력을 가지고 있는 *Dehalococcoides* sp가 발견되어 연구가 진행 중에 있으나, 미생물의 성장 요인에 대한 명확한 규명이 현재까지 밝혀지지 않아 일반적인 분리 및 배양이 매우 어렵기 때문에, 미생물 단독에 대한 연구가 힘든 상황이다(김병혁 외, 2008).

이런 단점들을 보완하기 위해서 나노 기술을 환경 분야에 적용하는 연구가 큰 관심을 받고 있으며, TCE로 오염된 지하수 및 토양을 처리하기 위해 나노영가철(nanoscale zero-valent iron; nZVI)을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다(Wang et al., 1997; Schrick et al., 2002; Liu et al., 2005). nZVI는 매우 작은 입자크기 및 큰 비표면적으로 인하여 반응성이 매우 우수하며, 포화 대수층을 통한 지중 원처리(in-situ) 적용이 가능하다는 장점이 있다. Phenrat et al.(2009)의 연구에 의하면 TCE의 반감기가 nZVI(2 g/L)의 경우 1.2~89시간에 나타났고 동량의 벌크 크기인 ZVI의 경우 200~2000시간 정도로, nZVI가 TCE의 탈염소화에 매우 효과적임을 알 수 있다. 최근에는 nZVI와 미생물을 함께 융합하여 환경에 적용하고 있으며, 이는 nZVI가 산화하면서 발생하는 수소를 미생물이 전자 공여체로 이용하여 미생물의 활성화에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다(신화영과 박재우, 2005; 배연옥 외, 2008; An et al., 2010; Park et al., 2010; Xiu et al., 2010).

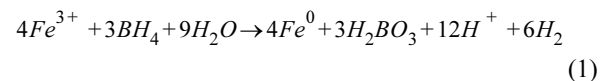
하지만 nZVI 입자의 미세 크기와 높은 반응성으로 인한 미생물의 세포막 침투는 세포막의 손상, DNA 손상, 지질의 과산화화, 산화적 스트레스(Oxidative Stress) 등 독성을 유발할 수 있어 환경 및 생태계 적용에 논란이 되고 있어 nZVI와 생물을 융합한 탈염소화 공정의 적용 가능성에 관한 연구가 필요한 시점이다(Auffan et al., 2008; Lee et al., 2008; Li et al., 2009; Grieger et

al., 2010). 또한, nZVI 기술에 대한 장기적 연구의 부족과 일부 대장균 및 미생물에만 적용되어 nZVI가 탈염소화 미생물에 미치는 영향에 대한 연구는 국내외 적으로 미흡한 실정이다. 염소계 유기화합물로 오염된 곳에 흔히 존재하는 혐기성 탈염균인 *Geobacter* spp. 중 *Geobacter lovleyi*는 수소와 acetate를 전자공여체로 이용하며, TCE를 cis-DCE로 탈염소화 한다. 비록 *Geobacter lovleyi*는 cis-DCE의 중간부산물 생성하지만 염소계 유기화합물로 오염된 곳에 흔히 존재하며 순수 분리 및 배양이 가능하다. 따라서 본 연구는 nZVI와 *Geobacter lovleyi*를 함께 적용하였을 경우, nZVI의 산화에 의해 발생하는 수소의 이용 가능성과 미생물에 미치는 영향을 관찰하고 궁극적으로 TCE 탈염소화에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 실험방법

2.1. nZVI의 합성

본 실험에서 사용한 nZVI는 NaBH₄를 이용한 환원법을 통해 실험실에서 합성하였다. nZVI의 제조에 이용되는 초순수는 실험 전 100°C로 가열 후 상온으로 식힐 때까지 미리 질소가스로 순환하여 수용액내의 산소를 제거한 후 이용하였다. nZVI는 400 rpm로 빠르게 교반을 한 상태에서 0.045 M FeCl₃용액에 0.25 M의 NaBH₄를 1:1(v/v)로 천천히 혼합하여 제조하였다. 두 용액의 혼합에 의해 일어나는 반응은 다음 식 (1)과 같다.



생성된 nZVI는 0.2 μm 멤브레인 필터에 진공펌프를 이용하여 걸러준 후 질소가스로 산소를 탈기한 증류수와 100% ethanol을 이용하여 2~3회 세척하였다. 50°C의 진공오븐에서 24시간 동안 건조하고 70 mesh(212 μm)의 체에 거른 후 갈색 병에 넣어 혐기성 챔버에 보관하였다. nZVI의 크기 및 형상을 측정하기 위해 투과전자현미경(JEOL, JEM-2010)을 사용하였고, 화학 구성 및 결정구조를 확인하기 위해 X-선 회절분석기(Rigaku, MAX-2500)를 40 kV, 100 mA 출력으로 발생된 Cu Kα(λ = 1.54178) 선을 이용하여 2θ(20~80°) 범위에서 측정하였다.

2.2. 미생물의 배양

본 연구에서 사용된 균주는 혐기성 탈염균인 *Geobacter lovleyi*이며 연세대학교 환경생명공학연구소에서 분양 받았다. 배지의 조성은 무기염 배지(DCB-1 medium)를 이

용하였다. 무기염 배지의 조성은 배지 L당 NaCl, 0.1 g; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.5 g; KH_2PO_4 , 0.2 g; NH_4Cl , 0.3 g; KCl, 0.3 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.015 g; trace element solution, 1 mL; Se/Wo solution, 1 mL; L-cysteine, 0.031 g; $Na_2S \cdot 9H_2O$ 0.048 g; $NaHCO_3$, 2.52 g; Wolfe's vitamin solution, 10 mL이었으며, 균주의 배양을 위해 전자공여체로 10 mM의 sodium acetate를 사용하였다.

혐기성 배양을 위해 30분 이상 질소 가스로 치환 하고 heating mantle에서 100°C로 가열하였다. 가열 후 얼음물에 급속으로 냉각하고 상온으로 맞춰주고, 핑크색의 resazurin 지시색이 무색이 될 때 까지 용존산소를 제거한 후 serum bottle에 혼합가스(질소 80%, 이산화탄소 20%)로 치환하여 초기 pH를 7.0로 맞춰주었다. 121°C, 15 min으로 고온 멸균 후 25°C, 암소에서 주기적으로 계대배양 하였다.

2.3. TCE의 회분식 분해실험

nZVI를 이용한 화학적 처리, *Geobacter lovleyi*의 생분해 특성, nZVI와 *Geobacter lovleyi*가 동시에 존재하였을 때에 TCE의 탈염소화에 미치는 영향을 알아보기 위해 회분식 실험을 수행하였다. *Geobacter lovleyi*의 TCE 생분해 특성을 알아보기 위해 TCE 초기농도(0.038 mM, 0.19 mM, 0.38 mM, 0.76 mM) 변화에 따른 TCE 탈염소화 영향을 실험하고 SigmaPlot(ver. 11, SPSS Inc., U.S.A.)을 이용하여 분석하였다. *Geobacter lovleyi*의 기질 친화성과 최대 TCE 이용 농도를 살펴보기 위하여 경험적 모델인 Chapman-Richards 모델(Richard, 1959)을 이용하였으며, enzyme kinetics을 알아보기 위해 Michaelis-Menten의 속도식을 사용하였다.

총 용량 160 mL의 bottle에 무기염 배지를 첨가하고 teflon-silicon septa와 aluminum crimp cap으로 막은 후, 혐기성 조건을 유지해주기 위해 혼합가스(질소 80%, 이산화탄소 20%)를 주입하였다. 0.02 g의 nZVI와 배양된 균체 1 mL를 주입하여 총 부피 100 mL의 샘플을 만들고, TCE의 농도는 실험조건에 따라 조절하였다. 미생물 배양은 암조건의 25°C, 200 rpm인 진탕배양기에 보관하였다. 시간 경과에 따라 headspace 분석을 통해 TCE의 분해 특성을 조사하였다. 모든 실험은 공실험(control)과 더불어 총 3회 실시하였다.

2.4. TCE 및 부산물 농도 분석

회분식 실험 시, 반응기 내 TCE와 분해되면서 생성되는 부산물 *cis*-dichloroethylene(*cis*-DCE)의 농도를 Flame

Ionization Detector(FID)가 장착된 가스 크로마토그래피(GC 6890N, Agilent)를 이용하여 측정하였다.

nZVI와 생물학적 탈염소화 반응으로 생성되는 부산물을 측정을 위해 핵산추출법 대신 전처리가 필요없는 headspace법을 이용하여 정량화하였다(안상우 외, 2010). 진탕배양기에서 기체상과 시료상이 평형상태에 도달하도록 한 뒤 headspace에서 직접 100 μ l의 기체상의 샘플을 채취하여 GC분석을 하였다. 이 때 휘발에 의한 손실을 최대한 막아주기 위해 Gas-tight Sample Lock Syringe(Hamilton 81056)를 사용하였다. TCE와 *cis*-DCE는 HP-5 capillary column이 장착된 Agilent 6890로 측정하였다. 분석 조건은 40°C에서 1분간 머문 후 5°C/min으로 승온시켜 최종온도 250°C에서 2분간 정지하였다. 이때, 주입기와 검출기의 온도는 각각 225°C와 250°C로 설정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. nZVI의 합성 및 TCE 탈염소화

합성된 nZVI의 형태, 크기 및 구조는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 투과전자현미경과 X-선 회절분석기를 이용하여 확인하였다. Fig. 1(a)는 입자의 자성작용으로 인하여 체인 형태로 응집이 이루어졌음을 확인할 수 있었으며, Fig. 1(b)는 nZVI의 형태는 구형으로 표면에 산화막이 형성된 core-shell 구조를 보이고 있다. 또한, XRD 패턴에서는 45°와 65°(2 θ degree)의 nZVI 주요 피크 위치가 나타났으며(Fig. 1(c)), 이는 이전 연구 결과와 일치하는 결과로써 본 연구에서 합성한 nZVI가 Fe⁰로만 합성됨을 확인할 수 있었다(Giasuddin et al., 2007). 입자의 크기는 투과전자현미경 분석 결과 10~100 nm로 다양하였으며, 히스토그램 결과 평균 입자크기는 약 50 nm임을 확인할 수 있었다(Fig. 1(d)).

Fig. 2는 합성된 nZVI를 이용한 TCE의 탈염소화와 그에 따른 부산물의 생성을 살펴보았다. 초기 약 0.2 mM의 TCE가 7일 후 0.02 mM로 90%가 분해되었으며, 1차 분해반응 속도상수 k_{obs} 가 0.3 day⁻¹로 조사되었다. 본 연구에서 합성된 nZVI의 TCE 탈염소화에서 주요 부산물로 acetylene이 검출됨으로써, β -elimination의 분해경로와 유사한 것으로 판단된다(Fig. 3). Arnold and Roberts (2000)는 nZVI에 의한 TCE의 분해 경로는 약 97%가 β -elimination과, 약 3%는 hydrogenolysis에 의해 탈염소화 된다고 보고하였다.

다른 부산물로는 0.008mM의 vinyl chloride(VC)가 검출되었다. Liu et al.(2005)의 연구에 의하면 과량의

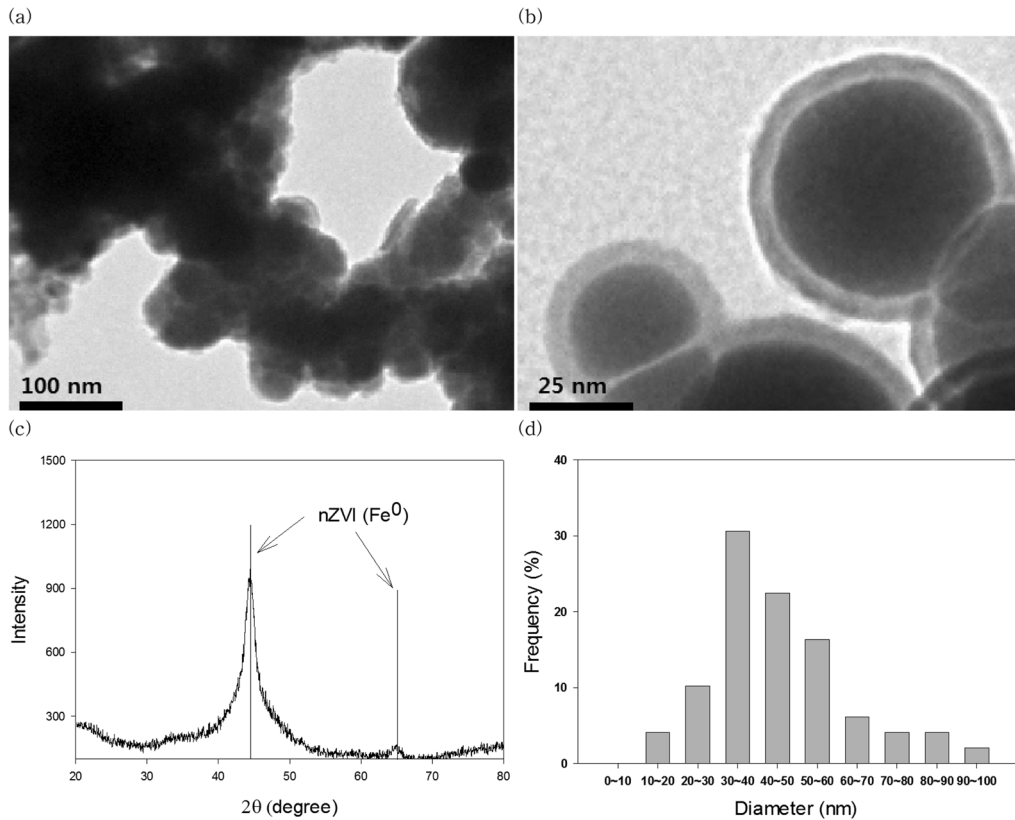


Fig. 1. TEM image of (a) nZVI, (b) core-shell structure, (c) X-ray diffraction pattern and (d) size distribution histogram.

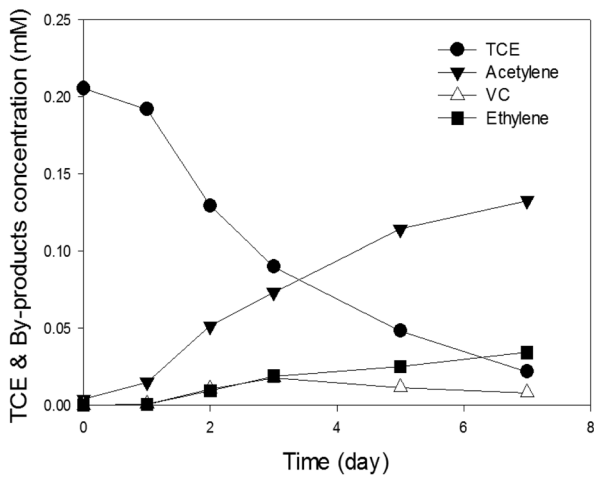


Fig. 2. TCE dechlorination and by-products formation by nZVI.

nZVI(1.9 g/L)를 사용 할 때에는 VC가 생성되지 않았지만 TCE에 비해 한정된 nZVI(0.36 g/L)를 사용하였을 때에는 소량이지만 VC가 부산물로 검출되는 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구에서도 소량의 nZVI 사용으로 인하여 TCE가 최종산물인 ethylene으로 완전 탈염소화 되지

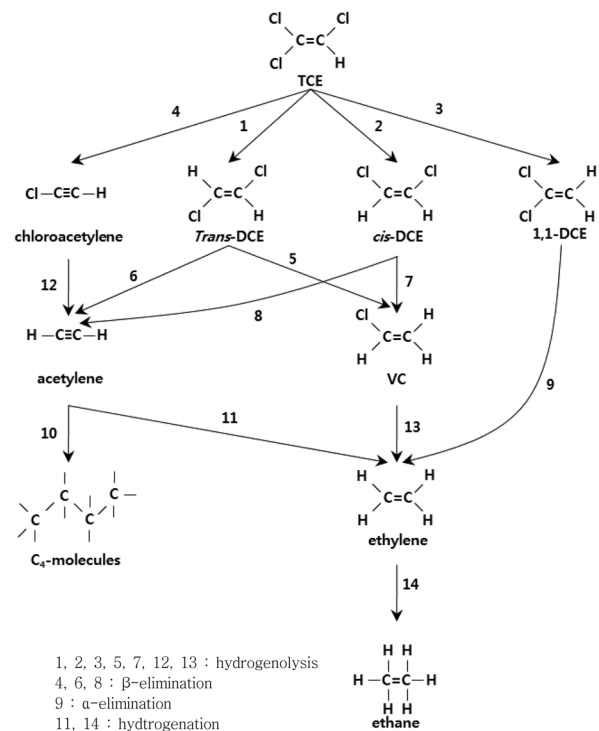


Fig. 3. Pathway of TCE dechlorination (Arnold and Roberts, 2000).

Table 1. TCE reaction rate constant and half reaction time

Item	Kinetic constant (day ⁻¹)	Half reaction time (1/2t, day)	R ²
Initial TCE concentration (mM)	0.038	1.373	0.950
	0.19	0.897	0.918
	0.38	0.637	0.944
	0.76	0.116	0.963

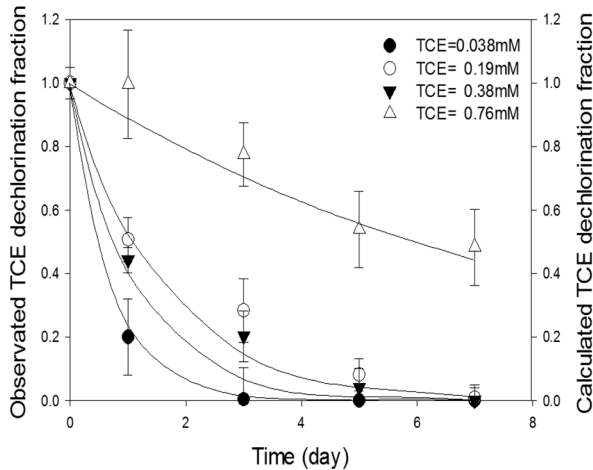


Fig. 4. Dechlorination TCE to *cis*-DCE by *Geobacter lovleyi* at various TCE concentration.

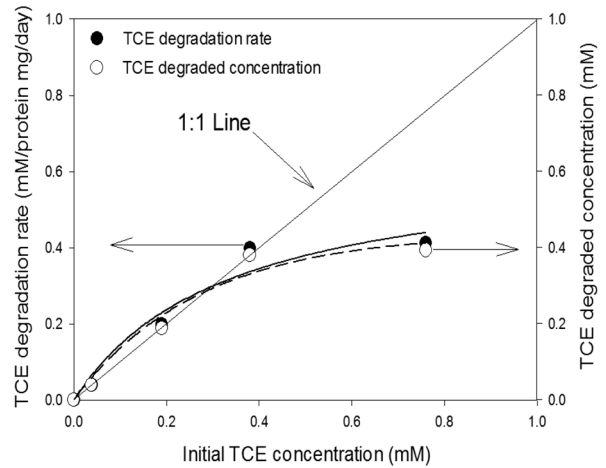


Fig. 5. Maximum TCE utilizing concentration & Michaelis-Menten plot of *Geobacter lovleyi*. (Solid line: Michaelis-Menten plot, dash line: Maximum TCE utilizing concentration plot).

못한 것으로 추정된다.

3.2. *Geobacter lovleyi*의 TCE 탈염소화 특성

*Geobacter lovleyi*의 TCE 생분해 특성을 알아보기 위해 TCE 초기농도 변화에 따른 TCE 탈염소화 반응에 미치는 영향을 조사하였다. 초기 균주 접종 농도는 protein 기준으로 0.136 protein μg/mL를 주입하였으며, pH 7 및 온도 25°C로 7일간 실험을 진행하였다. TCE의 초기 농도는 0.038 mM, 0.19 mM, 0.38 mM, 0.76 mM로 변화를 주었다.

Fig. 4는 TCE 농도변화에 따른 *Geobacter lovleyi*의 TCE 탈염소화를 나타내며, TCE 초기 주입량이 증가할수록 TCE의 생분해는 감소하는 것으로 나타났다. TCE 농도별 기질 이용율을 1차 반응속도 상수식을 이용하여 1차 분해계수를 계산하였을 때, 0.038 mM, 0.19 mM, 0.38 mM, 0.76 mM 순으로 각각 1.373 day⁻¹, 0.897 day⁻¹, 0.637 day⁻¹, 0.116 day⁻¹로 확인되었다(Table 1).

*Geobacter lovleyi*의 기질 친화성과 최대 TCE 이용 농도를 살펴보기 위하여 본 연구에서는 최대 증가량을 산출하는 경험적 모델인 Chapman-Richards 모델인 식 (2)을 이용하여 최대 TCE 이용 농도를 도출하였다. 식 (2)에서

a는 최대 증가량이며 b는 변화율이다.

$$y = a(1 - e^{-bx}) \tag{2}$$

Chapman-Richards 모델을 이용한 *Geobacter lovleyi*의 최대 TCE 이용 농도는 Fig. 5에 나타내었다. TCE 초기 주입량이 증가하면 할수록 TCE 생분해는 감소하는 것으로 나타났으며, TCE 농도가 0.44 mM 이상으로 증가하면 기질의 저해반응이 나타나는 것으로 확인되었으며, 이는 TCE 농도 증가로 인한 1차 분해계수의 감소하는 결과와 일치하는 것으로 판단된다.

또한, TCE 분해 속도에 생화학적 특성에 대한 enzyme kinetics model과 그에 따른 인자값을 산출하기 위한 회분식 실험을 수행하였다. TCE 분해속도는 저농도에서 선형적으로 증가하지만 농도가 높아짐에 따라 점차 최대치에 도달하는 경향을 보였으며, 이를 정량화하기 위하여 enzyme kinetics에서 잘 알려진 속도식인 Michaelis-Menten의 식 (3)을 적용하였다.

$$v = \frac{v_{Max} \cdot S}{k_m + S} \tag{3}$$

Table 2. Comparison of TCE biodegradation by *Geobacter* spp.

Strain	Organism	Type of metabolism	TCE degradation rate	Reference
Strain SZ	Type of <i>Geobacter</i>	Anaerobic heterotrophic	PCE 0.81 mM/protein mg/day	Sung et al. (2006)
KB-1 culture	Mixed culture	Anaerobic heterotrophic	0.3 ± 0.2 mM/day	Haest et al. (2011)
KB-1 culture	Mixed culture	Anaerobic heterotrophic	1.56×10^{-10} mM/cell/day	Haest et al. (2010)
PM	Mixed culture	Anaerobic heterotrophic	0.125 mM/protein mg/day	Yu et al. (2005)
HU culture	<i>Geobacter lovleyi</i>	Anaerobic heterotrophic	0.63 mM/protein mg/day	This study

여기서 v_{Max} 는 TCE 최대분해속도이고 k_m 은 $v = 1 / 2v_{Max}$ 일 때의 TCE 농도인 기질친화도이며, S는 TCE 농도이다. v_{Max} 와 k_m 을 구하기 위하여 SigmaPlot을 이용하였으며 결과는 Fig 5와 Table 2에 나타내었다. v_{Max} 는 0.63 mM/protein mg/day로 조사되었으며, k_m 은 0.33 mM이었다. SigmaPlot으로 산출된 Michaelis-Menten식의 결정계수는 0.969로 매우 유의한 것으로 조사되었다.

또한, 본 연구에서 이용한 *Geobacter lovleyi*의 TCE 분해속도를 기존 연구들과 비교하기 위하여 단위변환 및 분해율을 각각 비교하였다(Table 2). Sung et al.(2006)이 분리한 Strain SZ의 PCE 분해속도는 0.81 mM/protein mg/day으로 본 연구의 HU culture의 TCE 분해속도인 0.63 mM/protein mg/day과 유사한 분해속도를 갖는 것으로 조사되었으나, *Geobacter* 혼합균주로 이뤄진 Yu et al.(2005)의 PM 혼합균주와 비교하였을 때 약 5배 빠른 분해속도를 갖는 것으로 확인되었다.

3.3. nZVI와 *Geobacter lovleyi*를 이용한 TCE 탈염소화

nZVI가 미생물에 미치는 영향을 알아보기 위해 nZVI만 이용한 TCE의 화학적 분해와 미생물이 nZVI에 같이 주입되었을 때의 분해율을 비교하기 위해 회분식 실험을 하였다. 0.19 mM의 TCE에 0.2 g/L의 nZVI만 주입된 경우와 1 mL(0.136 protein μ g)의 *Geobacter lovleyi*를 함께 주입한 경우를 비교하였으며, 처음 TCE주입 후 7일과 11일에 2회 더 동량의 TCE를 주입하였다. 그 결과 nZVI를 단독으로 사용했을 때 보다 *Geobacter lovleyi*를 같이 주입했을 경우 TCE 분해가 빠르게 진행됨을 알 수 있었다. TCE를 3회 주입 후 nZVI의 경우 산화반응에 의해 반응성이 줄어들어 TCE 분해 속도가 점점 줄어드는 것을 볼 수 있었다. 반응개시 후 15일 동안 nZVI만 사용한 경우 약 42.3%에 해당하는 0.08 mM의 TCE가 잔존하는 반면, *Geobacter lovleyi*를 첨가한 경우 총 TCE 농도의 96% 이상이 분해되었다(Fig. 6).

Fig. 7은 TCE 분해에 따른 cis-DCE의 생성을 보여준다. nZVI만 사용한 경우 cis-DCE의 발생이 발견되지 않

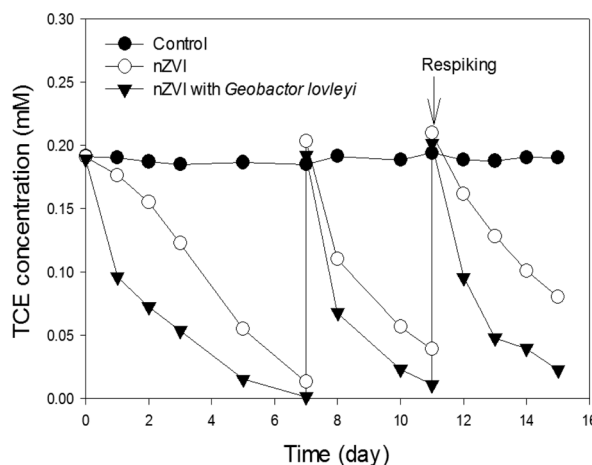


Fig. 6. Dechlorination of TCE by nZVI and nZVI with *Geobacter lovleyi*.

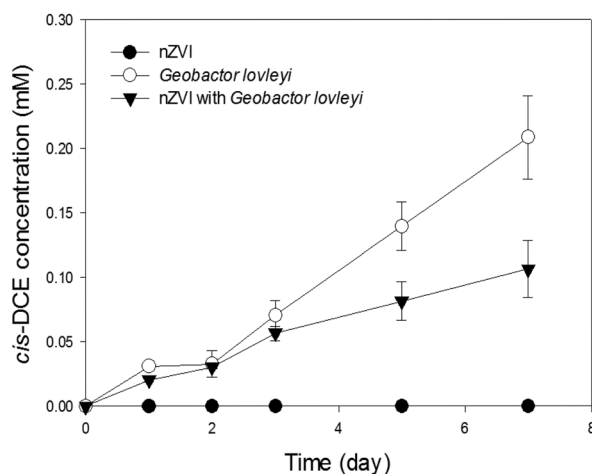


Fig. 7. cis-DCE production during TCE dechlorination.

았지만 TCE를 cis-DCE로 밖에 분해하지 못하는 *Geobacter lovleyi*의 경우 7일만에 약 0.2 mM의 cis-DCE가 급격히 증가하였다. 하지만 nZVI를 미생물과 같이 넣어 준 경우 *Geobacter lovleyi*에 의해 cis-DCE가 생성되었지만 nZVI에 의한 TCE의 β -elimination로 인한 분해와 cis-DCE의 직접적 분해 때문에 *Geobacter lovleyi*만 단독

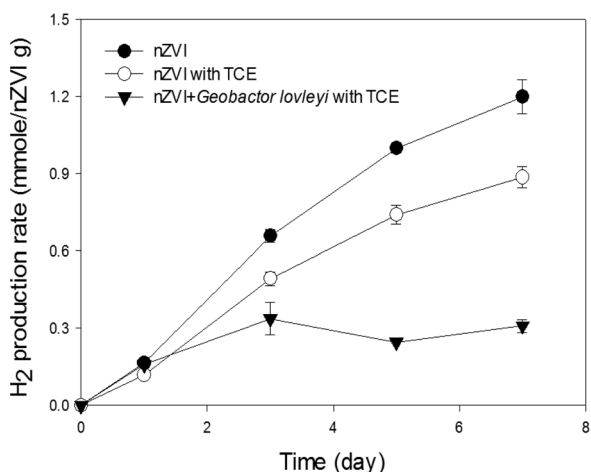


Fig. 8. Hydrogen evolution and consumption.

으로 사용한 경우보다 49%가 적은 0.12 mM의 *cis*-DCE가 7일 후 측정되었다. 이를 통해 *Geobacter lovleyi*가 nZVI와 함께 있어도 *cis*-DCE의 발생이 계속되는 것을 볼 때 nZVI가 *Geobacter lovleyi*에 독성을 작용하지 않는 것을 간접적으로 알 수 있으며, 오히려 독성이 강한 *cis*-DCE의 중간 부산물을 줄여주는 효과를 볼 수 있었다.

수소는 혐기성 탈염균에 중요한 전자공여체로 미생물의 활성을 촉진시킨다고 알려져있다(Fennell et al., 1997). 그러나 다른 미생물들과의 경쟁에 의해 그 이용은 종종 제한적 일수 있다. 본 실험에서는 nZVI가 산화되면서 발생하는 수소를 *Geobacter lovleyi*의 전자공여체로의 이용 가능성을 알아보기 위하여 TCE가 없는 nZVI, 0.19 mM의 TCE가 주입된 nZVI, nZVI와 TCE 그리고 *Geobacter lovleyi*가 모두 주입된 조건에서 최종 발생된 수소의 농도를 비교하였다. Fig. 8의 결과 nZVI만 단독으로 있을 때 7일 후 약 1.2 mM의 수소가 가장 많이 발생하였으며, TCE를 주입한 경우 탈염소화 환원에 의해 염소이온이 수소이온과 치환된 결과로 0.89 mM의 수소만 발생되었다. 하지만 *Geobacter lovleyi*가 주입된 샘플은 수소 발생량이 0.3 mM로 급격히 줄어들었으며, 이는 발생된 수소가 *Geobacter lovleyi*에 의해 이용된 것으로 사료된다(Fig. 8).

수소 공급의 효과 외에도 nZVI가 *Geobacter lovleyi*의 생장에 미치는 영향을 좀 더 직접적으로 알아보기 위하여 nZVI와 함께 15일 동안 반응한 *Geobacter lovleyi*의 protein 정량을 측정하였다. Protein의 정량을 위하여, Thermo사의 소 혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA)을 이용하여 검량선을 측정하였고, 실험 결과 *Geobacter lovleyi*만 단독으로 존재할 때는 총 protein 양

이 0.136 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 분석되었으나, nZVI와 *Geobacter lovleyi*가 공존하였을 경우에는 0.318 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 약 2.3배 증가한 것으로 조사되었다. 따라서 Fig. 7과 Fig. 8의 연구결과와 *Geobacter lovleyi*의 protein의 증가를 토대로, nZVI에 의하여 생성된 수소를 *Geobacter lovleyi*가 세포 합성 및 기질로 활용함으로써 미생물에 의한 탈염소화 반응의 촉진과 nZVI에 의한 TCE의 탈염소화 반응이 모두 향상된 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구는 TCE의 탈염소화에서 nZVI만 이용한 화학적 처리와 탈염소화 미생물인 *Geobacter lovleyi*의 생물학적 처리 각각의 특징을 분석하고, 이 두 시스템이 함께 적용되었을 때 TCE의 탈염소화 효율 및 nZVI가 미생물에 미치는 영향을 알아보는 목적으로 실험을 수행하였다. 그 결과, 합성된 nZVI는 1차 분해반응 속도상수 k_{obs} 가 0.3 day^{-1} 로 7일 후 TCE의 90%가 분해되었으며, 주요 부산물이 acetylene으로 β -elimination에 의한 분해 경로를 나타냈다. *Geobacter lovleyi*의 TCE 생분해 특성에서는 TCE 초기 주입량이 증가할수록 TCE의 생분해는 감소하는 것으로 나타났다. SigmaPlot을 이용한 Chapman-Richards 모델식을 적용한 결과 TCE 농도가 0.44 mM 이상으로 증가하면 기질의 저해반응이 나타났으며, Michaelis-Menten의 효소반응식 결과 TCE 초기 주입량이 증가할수록 기질 이용량 및 초기반응속도가 저감되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 *Geobacter lovleyi*의 불안정한 TCE 분해에 따른 *cis*-DCE의 축적에 의해서 저해작용이 적용된 것으로 사료된다.

nZVI와 *Geobacter lovleyi*를 이용한 TCE 탈염소화 비교 실험에서는 nZVI 단독으로 사용했을 때 보다 *Geobacter lovleyi*를 같이 주입했을 경우 TCE 분해가 빠르게 진행되었으며 그 효과도 보다 지속적으로 유지되었다. TCE 3회 주입 후인 15일 동안 nZVI는 반응성이 줄어들어 TCE 분해 속도가 점점 줄어든 반면, *Geobacter lovleyi*를 첨가한 경우 총 TCE 농도의 96% 이상이 분해되었다. nZVI와의 반응 후에도 *Geobacter lovleyi*의 *cis*-DCE의 생성, 수소의 전자공여체 이용, 단백질 정량의 증가 분석 결과를 통해 nZVI가 *Geobacter lovleyi*에게 독성을 미치지 않는 것으로 판단되며 TCE를 보다 효과적으로 처리할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 향후 본 연구결과를 바탕으로 nZVI와 좀 더 다양한 혼합균주의 상호작용을 연구하고 column실험 등을 실시하여 nZVI와 탈

염소화 미생물의 현장 적용 가능성을 연구할 예정이다.

사 사

본 연구는 환경부 “토양·지하수오염방지기술개발사업”으로 지원받은 과제임.

참 고 문 헌

- 김병혁, 조대현, 성열봉, 안치용, 윤병대, 고성철, 오희목, 김희식, 2010, DGGE를 이용한 PCE 및 TCE의 혐기적 탈염소화 군집의 미생물 군집분석, 한국미생물생명공학회, **38**(4), 448-454.
- 식품의약품안전청, 2010, 트리클로로에틸렌 RISK PROFILE.
- 배연옥, 김두일, 박재우, 2008, 영가철 및 철환원균을 이용한 2가 산화철 매질에 의한 TCE 제거 연구-모델수립, 대한환경공학회, **30**(11), 1146-1153.
- 신화영, 박재우, 2005, 철 환원 박테리아에 의한 산화철의 환원과 환원된 철을 이용한 TCE 제거에 관한 연구, 대한환경공학회, **27**(2), 23-129.
- 안상우, 김영주, 천석영, 이시진, 박재우, 장순웅, 2010, Headspace SPME GC/FID를 이용한 Chlorinated Solvents의 경쟁적 추출효과에 관한 연구, 한국지반환경공학회, **11**(5), 61-67.
- 한국환경산업기술원, 2009, 지하수 DNAPL 오염원 정화기술 기술동향 분석보고서.
- 환경부, 2009, 메타게놈을 이용한 탈염소화 생촉매 개발.
- 환경부, 2010, 2009년 지하수 수질측정망 운영결과.
- An, Y., Li, T., Jin, Z., Dong, M., and Li, Q., 2010, Nitrate degradation and kinetic analysis of the denitrification system composed of iron nanoparticles and hydrogenotrophic bacteria, *Desalination*, **252**(1-3), 71-74.
- Arnold, W.A. and Roberts, A.L., 2000, Pathways and kinetics of chlorinated ethylene and chlorinated acetylene reaction with Fe(0) particles, *Environmental Science & Technology*, **34**(9), 1794-1805.
- Auffan, M.L., Achouak, W., Rose, J., Roncato, M.A., Chanec, C., Waite, D.T., Mason, A., Woicik, J.C., Wiesner, M.R., and Bottero, J.Y., 2008, Relation between the redox state of iron-based nanoparticles and their cytotoxicity toward Escherichia coli, *Environmental Science & Technology*, **42**(17), 6730-6735.
- Fennell, D.E., Gossett, J.M., and Zinder, S.G., 1997, Comparison of butyric acid, ethanol, lactic acid, and propionic acid as hydrogen donors for the reductive dechlorination of tetrachloroethene, *Environmental Science & Technology*, **31**(3), 918-926.
- Giasuddin, A.B.M., Kanel, S.R., and Choi, H., 2007, Adsorption of humic acid onto nanoscale zerovalent iron and its effect on arsenic removal, *Environmental Science & Technology*, **41**(6), 2022-2027.
- Grieger, K.D., Fjordboge, A., Hartmann, N.B., Eriksson, E., Bjerg, P.L., and Baun, A., 2010, Environmental benefits and risks of zero-valent iron nanoparticles (nZVI) for in situ remediation: Risk mitigation or trade-off?, *Journal of Contaminant Hydrology*, **118**(3-4), 165-183.
- Haest, P.J., Philips, J., Springael, D., and Smolders, E., 2011, The reactive transport of trichloroethene is influenced by residence time and microbial numbers, *Journal of Contaminant Hydrology*, **119**(1-4), 89-98.
- Haest, P.J., Springael, D., and Smolders, E., 2010, Dechlorination kinetics of TCE at toxic TCE concentrations: Assessment of different models, *Water Research*, **44**(1), 331-339.
- Lee, C., Kim, J.Y., Lee, W.I., Nelson, K.L., Yoon, J., and Sedlak, D.L., 2008, Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on Escherichia coli, *Environmental Science & Technology*, **42**(13), 4927-4933.
- Li, H., Zhou, Q., Wu, Y., Fu, J., Wang, T., and Jiang, G., 2009, Effects of waterborne nano-iron on medaka (*Oryzias latipes*): Antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**(3), 684-692.
- Liu, Y., Majetich, S.A., Tilton, R.D., Sholl, D.S., and Lowry, G.V., 2005, TCE dechlorination rates, pathways, and efficiency of nanoscale iron particles with different properties, *Environmental Science & Technology*, **39**(5), 1338-1345.
- Martin, J.E., Herzing, A.A., Yan, W., Li, X.-q., Koel, B.E., Kiely, C.J., and Zhang, W.-x., 2008, Determination of the oxide layer thickness in core-shell zerovalent iron nanoparticles, *Langmuir*, **24**(8), 4329-4334.
- Park, Y.D., Park, C.S., and Park, J.W., Interaction between iron reducing bacteria and nano-scale zero valent iron, 2010, *Sustain Environmental Research*, **20**(4), 233-238.
- Phenrat, T., Schoenfelder, D., Losi, M., Yi, J., Peck Steven, A., and Lowry Gregory, V., 2009, Treatability study for a TCE contaminated area using nanoscale- and microscale-zerovalent iron particles: reactivity and reactive life time. In Environmental Applications of Nanoscale and Microscale Reactive Metal Particles: American Chemical Society.
- Richards, F.J., 1959, A flexible growth function for empirical use, *Journal of Experimental Botany*, **10**(2), 290-301.
- Schrick, B., Blough, J.L., Jones, A.D., and Mallouk, T.E., 2002, Hydrodechlorination of trichloroethylene to hydrocarbons using bimetallic nickel-iron nanoparticles, *Chemistry of Materials*, **14**(12), 5140-5147.
- Sung, Y., Fletcher, K.E., Ritalahti, K.M., Apkarian, R.P., Ramos-Hernandez, N., Sanford, R.A., Mesbah, N.M., and Loffler, F.E., 2006, Geobacter lovleyi sp. nov. Strain SZ, a novel metal-reduc-

ing and tetrachloroethene-dechlorinating bacterium, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**(4), 2775-2782.

Wang, C.-B. and Zhang, W.-x., 1997, Synthesizing nanoscale iron particles for rapid and complete dechlorination of TCE and PCBs, *Environmental Science & Technology*, **31**(7), 2154-2156.

Xiu, Z.-m., Jin, Z.-h., Li, T.-l., Mahendra, S., Lowry, G.V., and Alvarez, P.J.J., 2010, Effects of nano-scale zero-valent iron par-

ticles on a mixed culture dechlorinating trichloroethylene, *Biore-source Technology*, **101**(4), 1141-1146.

Yu, S., Dolan, M.E., and Semprini, L., 2005, Kinetics and inhibition of reductive dechlorination of chlorinated ethylenes by two different mixed cultures, *Environmental Science & Technology*, **39**(1), 195-205.