

혐기성탈염소화 혼합균주에서 산소 노출이 탈염소화 및 수소발생 발효에 미치는 영향

홍의전¹ · 박선화² · 임종환¹ · 안홍일³ · 김남희³ · 이석우³ · 김 영^{1*}

¹고려대학교 대학원 환경공학과, ²고려대학교 환경기술정책연구소, ³SK에너지(주) 환경사업개발부

Effects of Short-Term Oxygen Exposure on Anaerobic Reductive Dechlorination and Formate Fermentation by Evanite Culture

Uijeon Hong¹ · Sunhwa Park² · Jonghwan Lim¹ · Hongil Ahn³ · Namhee Kim³
Sukwoo Lee · Young Kim^{1*}

¹Department of Environmental Engineering, Korea University

²Research Institute for Environ Technology and Sustainable Department, Korea University

³SK Energy CO., LTD., Seoul, Korea

ABSTRACT

Oxygen sensitivity and substrate requirement have been known as possible reasons for the intricate growth of *Dehalococcoides* spp. and limiting factors of for routinely applying bioaugmentation using anaerobic *Dehalococcoides*-containing microbes for remediating chlorinated organic compounds. To explore the effect of the short-term exposure of oxygen on *Dehalococcoides* capability, dechlorination performance, and hydrogen production fermentation from formate, an anaerobic reductive dechlorination mixed-culture (Evanite culture) including *dehalococcoides* spp. was in this study. In the results, once the mixed-culture were exposed to oxygen, trichloroethylene (TCE) degradation rate decreased and it was not fully recovered even addition of excess formate for 40 days. In contrast, hydrogen was continuously produced by hydrogen-fermentation process even under oxygen presence. The results indicate that although the oxygen-exposed cells cannot completely dechlorinate TCE to ethylene (ETH), hydrogen fermentation process was not affected by oxygen presence. These results suggest that dechlorinating microbes may more sensitive to oxygen than fermenting microbes, and monitoring dechlorinators activity may be critical to achieve an successful remediation of a TCE contaminated-aquifer through bioaugmentation using *Dehalococcoides* spp..

Keywords : *Dehalococcoides* spp., Bioaugmentation, Anaerobic reductive dechlorination, Evanite culture, Trichloroethylene (TCE), Oxygen exposure

서 론

드라이클리닝, 금속세정 공정, 반도체 공정 등에서 장기간 광범위하게 사용된 염소계 유기화합물(e.g. PCE(perchloroethylene) 및 TCE)은 가장 대표적인 환경 오염 물질로서 국내·외 공단지역이나 도시 주거지역 주변의 지하수나 토양에서 기준치를 초과하는 농도의 PCE나 TCE로 오염되었다고 보고된 바 있다. 특히 염소계 유기 화합물질은 지하수 환경에서 DNAPL(Dense Non-Aqueous

Phase Liquid)로 존재하며 장기간에 걸친 지하수 오염원으로 작용하기 때문에, 이들 물질을 효과적으로 제거할 필요가 있다(Lenhard et al., 1989). 고농도 PCE 또는 TCE 로 오염된 지역에서는 양수후 처리(pump & treat) 방법 등 일반적인 복원방법으로 법적 기준을 만족시킬 수 있는 수준까지 효과적으로 처리하기 어렵다(Macdonald and Kavanaugh, 1994).

따라서, 기존의 복원 방법을 대체하기 위한 많은 연구가 진행되었고, 염소계 유기화합물을 무독성화 하는 미생

*Corresponding author : kimyo@korea.ac.kr

원고접수일 : 2010. 11. 9 심사일 : 2010. 11. 18 게재승인일 : 2010. 12. 28
질의 및 토의 : 2011. 2. 28 까지

물을 이용한 생물학적 복원 분야에 관심을 갖게 되었다 (Löffler and Edwards, 2006; Smidt and de Vos, 2004). 혐기성 환원적 탈염소화(Anaerobic Reductive Dechlorination, ARD)를 통해 염소계 유기 화합물을 무독성 물질인 ETH으로 완전 탈염소화가 가능한 *Dehalococcoides* spp. 발견 이후(He et al., 2005; He et al., 2003b; Löffler and Edwards, 2006; Sung et al., 2006), *Dehalococcoides* spp. 포함한 혼합 균주를 이용한 실험실 혹은 현장 규모의 생물학적 환원적 탈염소화에 관한 다양한 연구가 진행되었다(He et al., 2003a; Hendrickson et al., 2002; Major et al., 2002). 연구결과, *Dehalococcoides* spp.은 대부분의 염소계 유기용매로 오염된 지하수 및 토양에 서식하는 것으로 드러났으나, 부족한 미생물 기질 양 및 부적당한 산화/환원 조건 때문에 미생물의 개체수가 매우 적어 토착 *Dehalococcoides* spp.에 의한 생물학적 분해를 기대하기는 매우 어려웠다(Major et al., 2002). 이러한 문제를 해결하기 위해서, 토착 미생물의 생물학적 증진(biostimulation)을 위해 lactate 혹은 formate와 같은 유기물질과 무기물질(e.g. 질소, 인)을 오염현장에 주입하여 미생물 영양분 부족현상을 제한하는 방법과 혹은 고농도로 성장시킨 *Dehalococcoides* spp.을 현장에 직접 주입하는 미생물 주입공정(bioaugmentation)이 개발/연구되었다(Ellis et al., 2000; Lendvay et al., 2003; Major et al., 2002). 생물학적 증진(biostimulation) 혹은 미생물 주입공정(bioaugmentation)에 관한 연구과정 중, 알려지지 않은 영양학적 원인 혹은 산소 민감도 때문에 *Dehalococcoides* spp.의 성장 및 유지는 매우 어렵다는 것을 확인하게 되었다(He et al., 2003b; MaymoGatell et al., 1997).

본 연구에서는 혐기성 환원적 탈염소화 미생물(i.e. *Dehalococcoides* spp.) 및 유기화합물 발효 미생물을 포함하는 혼합균주인 Evanite Culture(EV culture)를 사용하였는데, 현재까지 EV culture를 이용하여 회분식 반응조(Yu et al., 2005), 연속 흐름 혼합형 반응조(Sabalowsky, 2008), 컬럼(Azizian et al., 2008)과 같은 다양한 환경에서 염소계 유기 화합물의 ARD공정에 관한 다양한 연구가 진행되었지만, 산소 민감도 및 유기물 농도변화에 따른 탈염소화를 직접적으로 관찰한 연구는 진행되지 않았다. 물론, 일부 연구사례에서 단기간의 산소 노출도 *Dehalococcoides* spp.의 탈염소화 저해를 일으킨다는 보고가 있지만, 저해에 관한 정확한 원인을 규명하지는 못했기 때문에(Adrian et al., 2007; Amos et al., 2007; He et al., 2003a), 본 연구를 통하여 혐기성 탈염소화

미생물(EV culture)이 산소에 노출될 경우 생물학적 TCE 혐기성 탈염소화 및 수소발생 발효에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 회분식 반응조 실험에서 formate를 유기물 원으로 사용하였는데, 그 이유는 대부분 유기화합물 발효에 의해 생성된 수소는 TCE의 탈염소화 과정에서 소비되는 동시에 H⁺ 형태로 TCE 분해시 생성되는 Cl⁻와 반응하여 염산을 생성하여 pH 저하와 미생물 활성저해를 일으키지만, 주입된 sodium formate는 발효에 의해 수소와 중탄산염으로 분해되며, 이때 수소는 환원적 탈염소화에 사용되고 중탄산염은 생성된 염산과 결합되어 중화된다. 이 과정을 통해 최종적으로 ETH, 염화나트륨, 이산화탄소를 생성하게 된다(Table 1). 위와 같은 이유로 혐기성 환원적 탈염소화시 필요한 수소 공급을 위하여 sodium formate를 사용하였다.

2. 실험방법 및 재료

2.1. 배지 제조

150°C에서 15분 동안 고압 멸균된 3차 증류수에 탈염소화 과정에서 생성되는 염산으로부터 pH를 보정하기 위해서 충분한 양의 알칼리성 탄산수소염(Na₂CO₃) 첨가한 후 K₂HPO₄와 Na₂CO₃ 등을 혼합하여 다시 150°C에서 15분 동안 고압 멸균하였다. 멸균된 용액은 온도를 낮추는 과정에서 혼합가스(CO₂ [20% vol./vol.], N₂ [20% vol./vol.])를 포기하여 용존 산소 제거 및 pH조정을 하였다. 혐기성조건 모니터링을 위하여 산화/환원 지표시약으로 알려진 resazurine(Sigma-Aldrich, Inc. St. Louis, USA)을 배지에 넣고 산소/수소 모니터링 시스템이 장착된 혐기성 glove box(Coy Laboratory Product Inc., Grass Lake, Michigan, USA) 안으로 옮겨졌다. 마지막으로 혐기성 glove box안에서 무수 Na₂S 환원제를 첨가하여 resazurine색 변화를 관찰하였다. 제조된 배지의 최종 pH는 미생물 성장에 이상적인 7.0~7.5이었다.

2.2. 회분식 반응조 구성 및 운전

EV culture탈염소화 측정을 위하여 2개의 162 mL 멸균병(Wheaton, Ringoes, NJ, USA)을 150°C에서 15분 동안 고압 멸균한 후 하루 동안 혐기성 glove box 안에서 보관하여 남아있는 산소를 제거하여 EV culture 60 mL 과 혐기성 배지 70 mL을 혼합하였다. 또한 가스시료 채취용(gas tight) 주사기(Hamilton, Reno, Nevada, USA)로 가스 상태의 수소를 멸균병에 주입하였으며, 오염 현장 오염 지하수 조건을 만들기 위하여 일정량의 TCE를

주입하였다. EV culture가 산소에 노출 될 경우 미생물의 활성에 영향을 미치므로 모든 작업은 glove box내 혐기성 조건에서 시행하였다. 멸균병에 EV culture, 배지, TCE, sodium formate를 주입 하고 고무마개와 알루미늄 캡을 이용하여 밀봉하였다. 밀봉된 멸균병은 20°C, 150 rpm으로 운전되는 교반기에서 배양되었으며, 일정 시간 간격으로 멸균병의 head space에서 100 μ L를 추출하여 유기염소계 용매를 분석하였다. 유기화합물(formate, acetate) 분석을 위하여 채취한 1mL의 액체시료를 0.2 μ m 주사기용 필터를 통과하여 여과한 후 -20°C에서 분석 시까지 냉동 보관 하였다. 또한 산소 노출 시 EV culture의 탈염소화 및 발효 여부 확인을 위하여 150°C에서 15분 동안 고압 멸균된 162 mL 멸균병(Wheaton, Ringoes, NJ, USA)에 EV culture와 혐기성 미생물 배지를 각각 70 mL 주입한 후 위와 동일한 방법으로 회분식 반응조를 구성하였다. 구성이 끝난 후 대기 중 산소에 약 5초간 노출시켜 resazurine의 분홍색을 확인한 즉시, 산소 노출을 차단하여 초 단위의 산소노출을 시행하였다. 산소가 차단된 후 분홍색의 resazurine은 환원제(Na_2S)에 의해 제거 되었다. 이 때 TCE, formate, acetate 주입 농도는 Table 2와 같다.

2.3. 분석방법

배양병의 head space상에 있는 기체 시료를 가스시료 채취용 주사기(Hamilton, Reno, Nevada, USA)를 이용하여 가스 시료 100 μ L를 채취한 후, Flame Ionization Detector(FID)가 장착된 GC-17A(SHIMADZU, Kyoto, Japan)에 주입하여 분석하였다. 이때, 칼럼은 30 m \times 0.53 mm의 GS-Q capillary(J&W Scientific, Santa Clara, California, USA)을 사용하였다.

Sodium formate와 sodium acetate를 포함하는 액체시료는 산 처리를 위해 5% 인산용액과 1:1로 혼합하여, 이

중 10 μ L를 photodiode array detector(PAD, Waters 996)가 장착된 Waters HPLC(510 HPLC pump, 717 automatic sampler)을 사용하여 분석하였다. 분석용 컬럼은 Microsorb-MV C8(4.6 \times 250 mm, Rainin Instrument Company, Inc., USA)이었으며, 이동상은 0.01 N H_2SO_4 를 사용하였다. 이동상의 흐름은 1 mL/min으로 유지하고 formate와 acetate는 각각 230 nm와 205 nm의 파장에서 분석하였다.

회분식 반응조에서 생성되는 액체상 20 μ mol/L 이하의 저농도 수소는 reduction gas detector(RGD)가 장착된 Trace Analytical TA3000R(Menlo Park, California, USA)에 25 μ L를 주입하여 분석하였다.

3. 연구결과 및 토의

3.1. 전자 공여체로서 수소 공급시 TCE탈염소화 측정

두 개의 회분식 반응조에 각각 0.8 mM(104 μ mol), 1 mM(126 μ mol) TCE와 200 μ mol/day 수소가스를 전자 공여체로서 주입 하였을 때, TCE 분해 및 c-DCE, VC, ETH의 생성을 관찰하였다. 그 결과, Fig. 1(a)와 같이 두 개의 회분식 반응조에서 주입된 TCE의 70% 이상이 4일 안에 분해되었다. Fig. 1(b)에서 200 μ mol/day 수소가 일정하게 공급되며 1.0 mM TCE(126 μ mol)가 주입된 회분식 반응조에서는 주입된 TCE와 생성된 ETH의 총 양(90 μ mol)이 유사하였다. 즉, TCE가 완전 탈염화 분해 되어 ETH를 생성하였다. 반면에 수소 공급을 중단하고, 0.8 mM TCE를 주입한 병에서는 미량의 ETH만 생성되어 전자공여체인 수소가 부족한 경우 TCE가 불완전 탈염소화 되었다. Table 1에서와 같이 주입된 TCE농도의 3배 이상의 수소가 전자 공여체로서 공급 될 때 TCE는

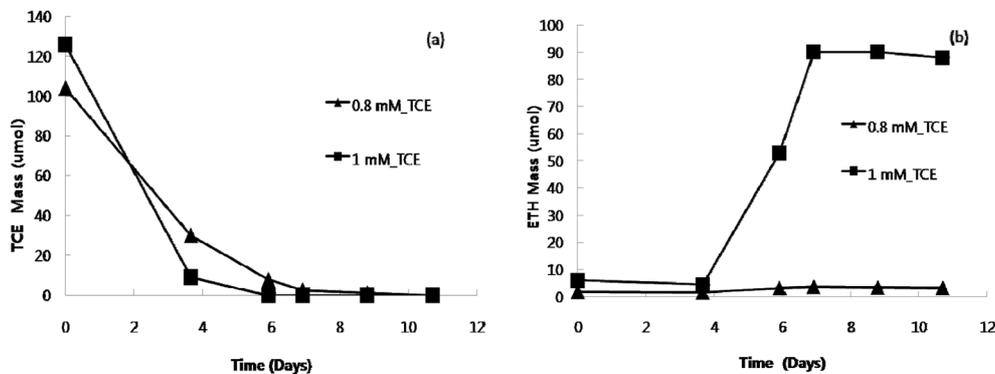


Fig. 1. Monitoring of TCE degradation (a) and ETH production (b) in two batch reactors containing 0.8 mM (104 μ mol) and 1 mM (126 μ mol) TCE with the addition of hydrogen gas as electron donor.

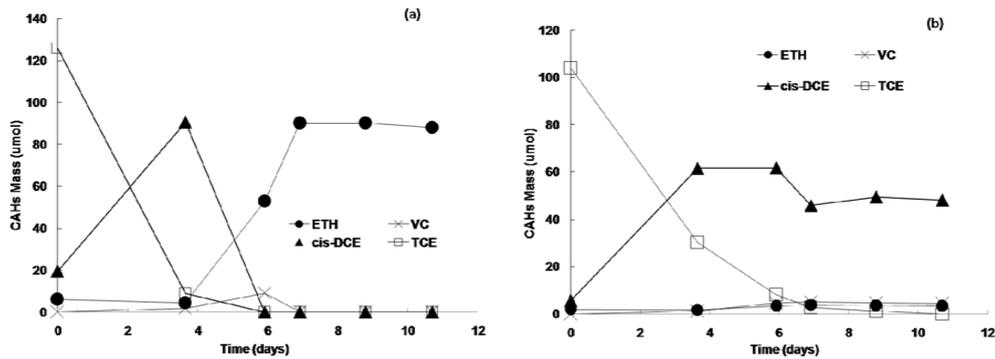


Fig. 2. Determination of importance of hydrogen as an electron donor comparing complete dechlorination of TCE with continuous hydrogen supply (a) and incomplete TCE dechlorination with limited addition of hydrogen (b).

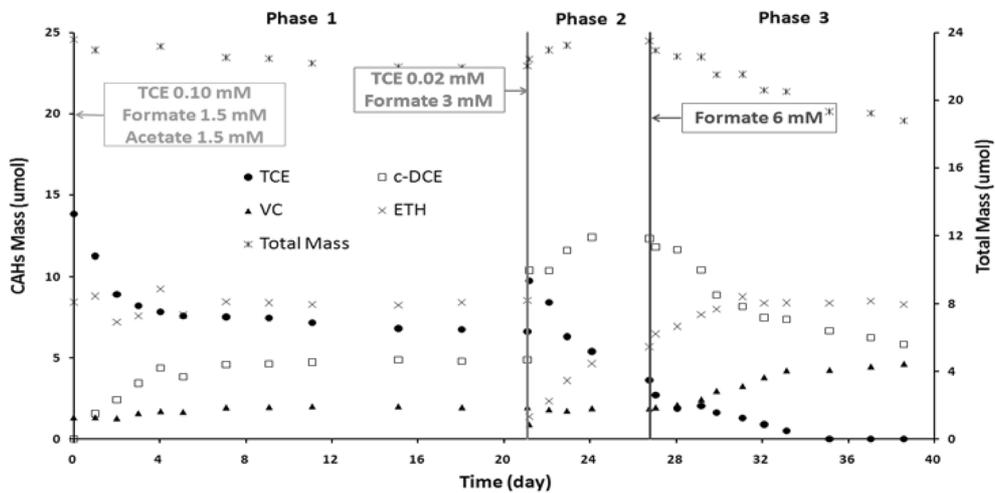


Fig. 3. Monitoring of anaerobic reductive dechlorination of TCE by EV culture exposed to oxygen.

ETH로의 완전 탈염소화된다는 것을 확인할 수 있는 결과이다.

Fig. 2(a)와 같이 c-DCE와 VC가 약 8일 후 ETH으로 완전 탈염소화 되었다. 하지만 Fig. 2(b)와 같이 액상 TCE 농도가 0.8 mM(104 μmol)인 회분식 반응조에서는 TCE가 4일안에 90% 이상 제거 되었음에도 불구하고, 4일 이후 전자공여체인 수소의 공급을 중단한 결과 c-DCE와 VC의 축적이 관찰되어 최종 무독성 분해 생성물인 ETH으로 완전 탈염소화 하지 못하였다. 이러한 결과는 탈염소화에 과정에서 VC를 ETH으로 전환하는 효소(VC reductase)(Muller et al., 2004)와 TCE를 c-DCE로 전환하는 효소(TCE reductase)(Magnuson et al., 2000)간에 전자 공여체로 사용되는 수소 경쟁관계에 의한 결과로 판단된다. 따라서, 본 실험결과는 생물학적 탈염소화 과정에서는 TCE분해율만을 측정하여 100% 유기염소계 오염물질을 제거 했다고 판단할 수 없다는 것을 제시한다. 만약

TCE 분해 정도에 의해 수소공급이 중단될 경우 c-DCE, VC와 같은 중간생성물이 축적되기 때문이다. 또한, 본 실험을 통해 유기물 전자 공여체를 사용하는 경우 TCE 분해에 필요한 수소양보다 많은 수소가 발생되게 주입해야 함을 확인할 수 있었다.

3.2. 산소 노출에 따른 EV culture 탈염소화 변화

충분한 양의 수소가 연속적으로 공급되며 EV culture가 산소와 접촉하기 전에는 Fig. 2(a)와 같이 10일 동안 TCE, c-DCE, VC가 완전히 분해되며 최종적으로 ETH 생성되었다. 그러나 산소 노출 후에는 Fig. 3-phase 1과 같이 약 5일 동안 초기 TCE의 45%가 분해되었으며, 5일 이후 TCE의 분해는 매우 저조했다. TCE 분해에 따라 c-DCE는 급격히 증가하였지만 TCE 분해가 저조한 5일 이후에는 증가 속도가 현저히 감소했다. 또한 실험 초반부터 VC와 ETH의 농도 변화는 매우 적었다(Fig. 3-

phase 1). 이러한 현상이 실험시작 5일 이후부터 지속되는 원인으로써 산소 노출에 따른 EV culture 활성 저해 또는 전자공여체인 수소를 공급하는 formate 발효 미생물 활성 저해로 판단하였다.

위에 제시한 두 가지 가능성을 확인하기 위해 formate 주입농도를 증가 시키면서 산소 노출된 EV culture의 탈염소화를 관찰하였다. 즉, 실험시작 21일 혐기성 glove box에서 회분식 반응조를 열고 2시간 동안 방치하여 head space에 존재하는 TCE, c-DCE, VC, ETH 제거 과정을 거친 후 0.02 mM TCE(3 μ mol)와 1차 실험에서 주입한 formate농도의 2배인 3 mM formate(420 μ mol)를 주입하였다. 그 결과, TCE는 5.6일 동안 62%가 분해되었으며 c-DCE는 지속적으로 증가하였다(Fig. 3- Phase 2).

Fig. 3-phase 3에서 보여지는 것과 같이 실험시작 27일 후(2차 실험 시작 5일 후) 2차 실험에서 주입한 formate의 2배인 6mM formate(832 μ mol)을 주입하였다. 그 결과, 회분식 반응조 내에 잔류하고 있는 TCE가 완전 분해되며 c-DCE가 점차 감소하고 순차적으로 VC가 증가하였다. 하지만 실험시작 32일 후 VC 생성이 감소됨에 따라 ETH 생성율이 현저히 감소되었다. 이러한 결과는 Fig. 3-phase 1 시작 후 TCE 분해가 거의 중단되고 VC와 ETH의 양이 변하지 않는 현상과 유사함을 알 수 있다. Fig. 3-phase 1, 2, 3를 통해서, 증가된 formate 농도에 의해(전자 공여체인 수소농도 증가) TCE 탈염소화는 증가하였지만 초기 TCE가 11일 안에 완전 ETH으로 분해되었던 산소 노출 전(Fig. 2(a))과 비교해서 탈염소화율은 크게 감소하였다는 것을 알 수 있었다. 즉, 산소와 접촉하기 전 충분한 수소기스가 지속적으로 공급되는 조건에서

의 탈염소화 실험결과(Fig. 2(a))와 비교했을 때 산소 접촉 후 TCE의 완전 분해에도 불구하고 지속적인 VC 축적 및 ETH 생성이 거의 이루어지지 못한 실험 결과는 EV culture의 활성이 산소와의 접촉으로 인해 저하되었음을 보여준다. 이는 기존의 연구 사례(Amos et al., 2008)에서 30일간 *Dehalococcoides* spp.을 산소에 노출시킨 경우 VC를 ETH로 탈염소화 시키는 과정에 관여하는 효소인 VC reductase가 산소노출에 의한 저해에 가장 민감하다고 밝혀진 비와 일치하는 결과이다. 이러한 연구결과로 미루어 볼 때, 본 실험 초기에 실시한 산소와 EV culture의 접촉은 혐기성 환원적 탈염소화에 관여하는 *Dehalococcoides* spp. 및 VC분해효소(VC reductase)에 영향을 줌으로써 TCE가 ETH으로 완전 탈염소화가 되지 않고, 중간 생성물로서 독성이 강한 VC가 축적이 된다는 결론을 내릴 수 있다.

3.3. 산소 노출 후 수소 발생 유기물 발효 모니터링

산소가 EV culture의 수소생성 유기물 발효에 미치는 영향을 평가한 결과는 아래 Fig. 4에 나타났다. 1.5 mM formate(205 μ mol)와 1.5 mM acetate(212 μ mol)를 주입한 Fig. 4-phase 1 결과 TCE 분해속도가 급격히 느려진 5일 후 formate는 완전히 분해된 것으로 관찰되었으며 수소발생은 약 3일 후 중단되었다(Fig. 5). 즉, 5일 이후 수소(formate 존재량) 부족의 원인으로 TCE탈염소화가 진행되지 못하는 가능성이 있다고 판단하여, Fig. 4-Phase 1에서 주입한 formate의 약 2배(3 mM, 420 μ mol)를 주입한 결과 TCE 탈염소화가 다시 진행되었다. Formate의 경우 Fig. 4-Phase 1과 비슷한 시점에서 완전 분해가 되

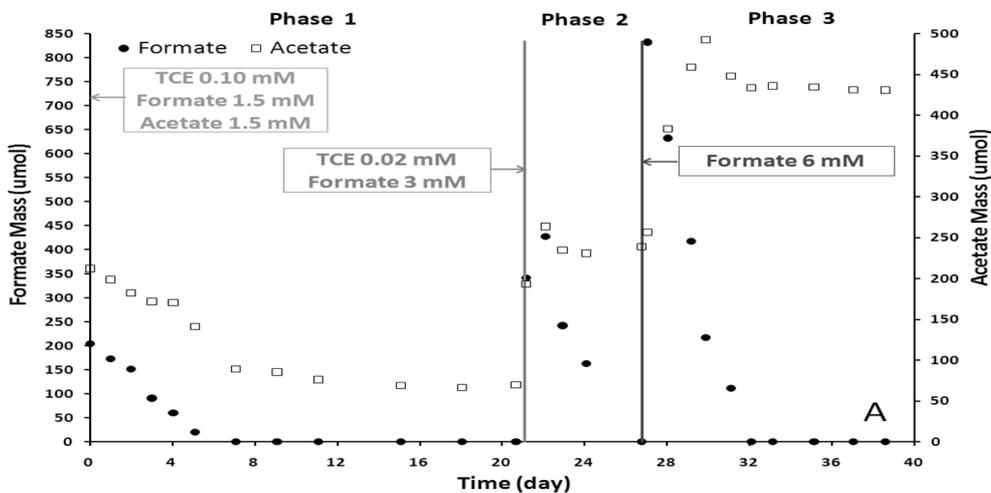


Fig. 4. Monitoring of formate consumption and acetate production by EV culture exposed to oxygen.

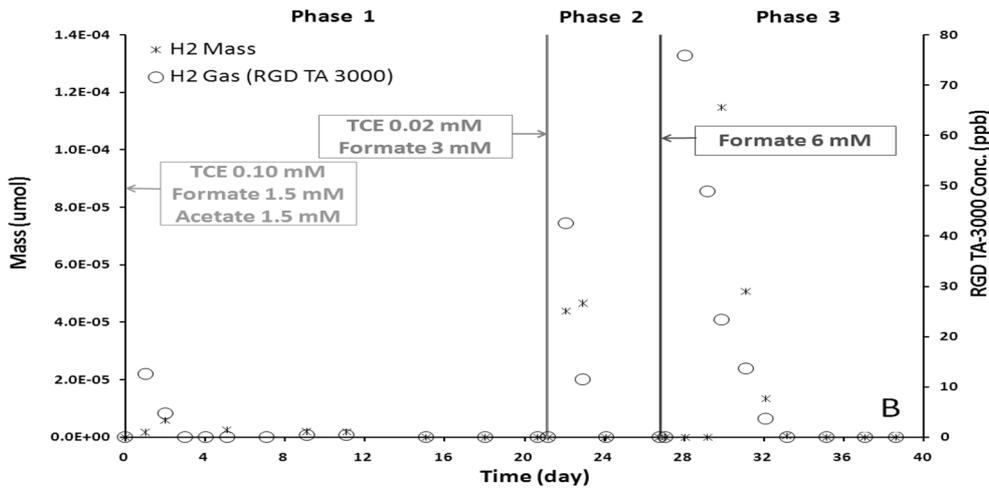
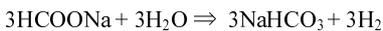


Fig. 5. Monitoring of hydrogen production fermentation from organic compounds by EV culture exposed to oxygen.

Table 1. Self-neutralizing of hydrochloric acid produced from TCE dechlorination by using formate as an electron donor (McCarty et al., 2007)

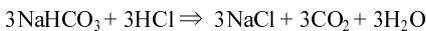
Formate fermentation:



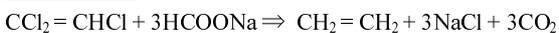
Anaerobic reductive dechlorination of TCE:



Acid neutralization:



Net reaction:



었다. 실험기간 동안 반응조에서 acetate농도가 증가 되었는데, 이는 기존의 연구결과(Behrens et al., 2008)에서 보고된 바와 같이 EV culture 내에 존재하는 homoacetogenesis의 영향으로 예상된다. 즉 유기물 발효에 의해 생성된 수소의 일부는 염소계 유기화합물의 탈염소화뿐만 아니라 acetogenesis에 전자 공여체로서 사용된 것으로 보여진다. Fig. 4-Phase 2에서 formate가 완전 분해된 직후 (5일 후) Fig. 4-Phase 1에서 주입한 formate의 약 4배 (6 mM, 832 µmol)를 주입한 결과 formate는 5일 안에 완전 분해되었으며, acetate는 formate 주입 후 급격히 증가하였지만 4일 후 감소하여 남은 phase-2기간 동안 일정

농도를 유지하였다. Formate 주입 후 acetate농도의 급격한 증가는 실험기간 동안 일정하게 발생하였다. Fig. 5에서와 같이 formate 분해, 수소발생, homoacetogenesis에 의한 acetate 생성은 산소노출과 관계 없이 지속적으로 유지한다는 것을 확인하였고, 이 결과를 통해 EV culture가 저농도 DO와 접촉하더라도 수소 발생 유기물 발효미생물 및 homoacetogenesis 활성화에는 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있다.

3.4. 산소 노출후 수소 공급량 변화에 따른 염소계 유기화합물 탈염소화 비교

1몰 TCE를 ETH으로 혐기성 환원적 탈염소화 시킬 경우 이론적으로 3 몰의 수소가 필요하며(Table 1), 혐기성 환원적 탈염소화에 필요한 수소 공급을 위하여 3몰의 sodium formate가 필요하다. 이때 주입한 sodium formate가 완전히 발효 되었을 경우 수소 발생량과의 비율은 1 : 1로 동일하다. 즉, formate 주입량은 수소 발생량과 동일하다고 가정하고 산소 노출 후 염소계 유기화합물이 탈염소화(TCE → c-DCE → VC → ETH)된 양을 비교하였다 (Table 3). 그 결과 formate 주입량이 증가(1.5 mM → 3 mM → 6 mM)함에도 불구하고 염소계 유기화합물의 변화량이 거의 일정(12.8~13.3 µmol)하였다. 즉, formate 주입

Table 2. Concentration of TCE, formate, and acetate injected into the batch bottles

Days of operation	TCE		Formate		Acetate	
	mM	mmol	mM	mmol	mM	mmol
0	0.10	14	1.5	205	1.5	212
21.2	0.02	3	3	420	-	-
27.0	-	-	6	832	-	-

Table 3. Hydrogen production and change of chlorinated compounds with formate fermentation

Formate		ETH (μmol)	VC (μmol)	c-DCE (μmol)	TCE (μmol)	Change of chlorinated compounds (μmol)	Change of chlorinated compounds (%)
mM	μmol						
1.5	205	0.11	0.64	4.88	7.19	12.8	6.3
3	420	4.30	0.99	1.91	6.13	13.3	2.6
6	832	1.81	2.70	5.96	2.72	13.2	1.7

량이 증가하더라도 EV culture가 염소계 유기화합물을 혐기성 환원적 탈염소화시 사용하는 수소의 양은 일정하므로, 산소 노출시 탈염소화 반응 촉진을 위해 formate 주입량을 증가시키기 보다는 지속적인 formate 주입을 통한 수소 공급이 필요하다고 판단된다.

4. 결 론

혐기성 환원적 탈염소화 미생물인 *Dehalococcoides* spp.를 포함한 혼합 미생물 균주를 이용한 염소계 유기화합물(e.g. PCE, TCE)의 대표적인 생물학적 처리공정인 생물학적 증진(biostimulation) 혹은 미생물 주입공정(bioaugmentation) 적용에 있어서, 알려지지 않은 영양학적 원인 혹은 산소 민감도 때문에 탈염소화 주 미생물인 *Dehalococcoides* spp.의 성장 및 유지는 매우 어렵다고 알려져 있다. 본 논문에서는 *Dehalococcoides* spp.가 포함된 혐기성 혼합균주(Evanite culture)를 이용한 bioaugmentation 공정 적용 시 오염 지하수에 포함된 용존산소에 노출될 경우 EV culture에 의한 혐기성 환원적 탈염소화 및 전자공여체로서 중요한 역할을 하는 수소 발생 발효에 어떠한 영향을 주는지에 대한 연구를 진행하였다. 연구 결과, 전자공여체인 수소가스를 지속적으로 주입할 경우 약 10일 이내에 TCE로부터 ETH까지 완전 탈염소화가 진행되었으나, 수소 공급이 중단된 경우 ETH 까지 완전 탈염소화가 일어나지 않는 것을 확인하였다.

산소 노출된 EV culture의 활성을 증가시키기 위해, 지속적으로 formate를 주입하여 환원적 조건을 유도하고 고농도 수소를 공급함에도 불구하고 TCE와 c-DCE의 분해는 진행되었지만 VC의 축적이 관찰됨으로써 ETH까지 완전 탈염소화를 확인할 수 없었다. 즉, EV culture에 의한 bioaugmentation 적용시, 지하수내 용존 산소에 미생물이 노출될 경우 탈염소화 활성도 저해로 인해 TCE가 ETH으로 완전 탈염소화 되지 않을 것으로 예상된다. 따라서 용존산소가 존재하여 EV culture의 활성 저해를 일으키는 현장 지하수 정화를 위한 bioaugmentation 공정 적용 시 효과적인 혐기성 완전 탈염소화(ARD)를 위하여 우선적으로

로 formate를 TCE 오염 대수층에 주입하여 용존산소 농도를 맞추고, 대수층을 환원상태로 만들어 탈염소화 미생물이 높은 활성도를 유지하게 한 후, 탈염소화 미생물과 formate를 동시에 주입하여 TCE오염 대수층을 정화하는 공정이 필요하다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Adrian, L., Hansen, S.K., Fung, J.M., Gorisch, H., and Zinder, S.H., 2007, Growth of *Dehalococcoides* strains with chlorophenols as electron acceptors. *Environmental Science & Technology*, **41**, 2318-2323.
- Amos, B.K., Daprato, R.C., Hughes, J.B., Pennell, K.D., and Löffler, F.E., 2007, Effects of the nonionic surfactant tween 80 on microbial reductive dechlorination of chlorinated ethenes. *Environmental Science & Technology*, **41**, 1710-1716.
- Amos, B.K., Ritalahti, K.M., Cruz-Garcia, C., Padilla-Crespo, E., and Löffler, F.E., 2008, Oxygen effect on *Dehalococcoides* viability and biomarker quantification. *Environmental Science & Technology*, **42**, 5718-5726.
- Azizian, M.F., Behrens, S., Sabalowsky, A., Dolan, M.E., Spormann, A.M., and Semprini, L., 2008, Continuous-flow column study of reductive dehalogenation of PCE upon bioaugmentation with the Evanite enrichment culture. *Journal of Contaminant Hydrology*, **100**, 11-21.
- Behrens, S., Azizian, M.F., McMurdie, P.J., Sabalowsky, A., Dolan, M.E., Semprini, L., and Spormann, A.M., 2008, Monitoring abundance and expression of "*Dehalococcoides*" species chloroethene-reductive dehalogenases in a tetrachloroethene-dechlorinating flow column. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**, 5695-5703.
- Ellis, D.E., Lutz, E.J., Odom, J.M., Buchanan, R.J., Bartlett, C.L., Lee, M.D., Harkness, M.R., and Dewerd, K.A., 2000, Bioaugmentation for accelerated in situ anaerobic bioremediation. *Environmental Science & Technology*, **34**, 2254-2260.
- He, J., Sung, Y., Krajmalnik-Brown, R., Ritalahti, K.M., and Löffler, F.E., 2005, Isolation and characterization of *Dehalococcoides* sp strain FL2, a trichloroethene (TCE)- and 1,2-dichloroethene-respiring anaerobe. *Environmental Microbiology*, **7**, 1442-1450.

- He, J.Z., Ritalahti, K.M., Aiello, M.R., and Loffler, F.E., 2003a, Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a Dehalococcoides species. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 996-1003.
- He, J.Z., Ritalahti, K.M., Yang, K.L., Koenigsberg, S.S., and Loffler, F.E., 2003b, Detoxification of vinyl chloride to ethene coupled to growth of an anaerobic bacterium. *Nature*, **424**, 62-65.
- Hendrickson, E.R., Payne, J.A., Young, R.M., Starr, M.G., Perry, M.P., Fahnestock, S., Ellis, D.E., and Ebersole, R.C., 2002, Molecular analysis of Dehalococcoides 16S ribosomal DNA from chloroethene-contaminated sites throughout north America and Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 485-495.
- Lendvay, J.M., Loffler, F.E., Dollhopf, M., Aiello, M.R., Daniels, G., Fathepure, B.Z., Gebhard, M., Heine, R., Helton, R., Shi, J., Krajmalnik-Brown, R., Major, C.L., Barcelona, M.J., Petrovskis, E., Hickey, R., Tiedje, J.M., and Adriaens, P., 2003, Bioreactive barriers: A comparison of bioaugmentation and biostimulation for chlorinated solvent remediation. *Environmental Science & Technology*, **37**, 1422-1431.
- Lenhard, R.J., Parker, J.C., and Kaluarachchi, J.J., 1989, A Model for Hysteretic Constitutive Relations Governing Multiphase Flow .3. Refinements and Numerical Simulations. *Water Resources Research*, **25**, 1727-1736.
- Loffler, F.E., and Edwards, E.A., 2006, Harnessing microbial activities for environmental cleanup. *Current Opinion in Biotechnology*, **17**, 274-284.
- Macdonald, J.A., and Kavanaugh, M.C., 1994, Restoring Contaminated Groundwater - an Achievable Goal. *Environmental Science & Technology*, **28**, A362-&.
- Major, D.W., McMaster, M.L., Cox, E.E., Edwards, E.A., Dworzak, S.M., Hendrickson, E.R., Starr, M.G., Payne, J.A., and Buonamici, L.W., 2002, Field demonstration of successful bioaugmentation to achieve dechlorination of tetrachloroethene to ethene. *Environmental Science & Technology*, **36**, 5106-5116.
- Maymo-Gatell, X., Chien, Y.T., Gossett, J.M., and Zinder, S.H., 1997, Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. *Science*, **276**, 1568-1571.
- McCarty, P.L., Chu, M.Y., and Kitanidis, P.K., 2007, Electron donor and pH relationships for biologically enhanced dissolution of chlorinated solvent DNAPL in groundwater. *European Journal of Soil Biology*, **43**, 276-282.
- Muller, J.A., Rosner, B.M., von Abendroth, G., Meshulam-Simon, G., McCarty, P.L., and Spormann, A.M., 2004, Molecular identification of the catabolic vinyl chloride reductase from Dehalococcoides sp strain VS and its environmental distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 4880-4888.
- Sabalowsky, A., 2008, Electron donor and chlorinated ethene effects on activity and community composition in anaerobic reductively dechlorinating consortia. Oregon State University.
- Smidt, H., and de Vos, W.M., 2004, Anaerobic microbial dehalogenation. *Annual Review of Microbiology*, **58**, 43-73.
- Sung, Y., Ritalahti, K.M., Apkarian, R.P., and Loffler, F.E., 2006, Quantitative PCR confirms purity of strain GT, a novel trichloroethene-to-ethene-respiring Dehalococcoides isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 1980-1987.
- Yu, S.H., 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**, 195-205.