

동전기 생물학적 복원에서 전기분해반응이 미생물 활성에 미치는 영향

김상준 · 박지연* · 이유진** · 양지원†**

특허청 · *한국에너지기술연구원 · **한국과학기술원 생명화학공학과 환경복원공학연구실

(2005년 12월 12일 접수, 2006년 8월 3일 채택)

Effect of Electrolysis on Bacterial Activity in Electrokinetic Bioremediation

Sang-Joon Kim · Ji-Yeon Park* · You-Jin Lee** · Ji-Won Yang†**

Korean Intellectual Property Office · *Korea Institute of Energy Research

**Department of Chemical and Biomolecular Engineering, KAIST

ABSTRACT : In the electrokinetic(EK) process, oxygen production by electrolysis was proportional to current density. The dissolved oxygen (DO) concentration in anode tank and bioreactor increased with the circulation rate of electrolyte. The bacterial population in bioreactor rapidly increased by the supplement of current, but the DO concentration decreased by the increased bacterial oxygen consumption. From the results of EK bioremediation for pentadecane-contaminated soil, the bacterial population and removal efficiency at 1.88 mA/cm^2 were lower than those at 0.63 mA/cm^2 . This is because the high oxygen production rate largely increased the production rate of organic acids, which reduced the electrolyte pH and bacterial activity. At 0.63 mA/cm^2 , the highest bacterial population and removal efficiency could be obtained due to the appropriate oxygen production and small decrease in pH.

Key Words : Bacterial Activity, Dissolved Oxygen, Electrolysis, Electrokinetic Bioremediation, Electrolyte pH

요약 : 미생물을 접종하지 않은 동전기 공정에서 전기분해에 의한 양극에서 산소의 발생은 전류밀도에 비례하였으며 전해질을 순환시킴에 따라 생물반응기내 전해질과 함께 용존산소농도가 증가하였다. 전류의 공급과 함께 미생물 농도는 급격히 증가하였으며 이 때 미생물의 산소소비량이 증가되어 용존산소농도가 감소되었다. Pentadecane-오염토양에 대한 동전기 생물학적 복원의 결과에서 높은 전류밀도 1.88 mA/cm^2 에서 비록 산소의 발생량은 많았지만 오히려 증가된 유기산이 전해질 pH와 미생물 활성을 감소시키므로 미생물 농도와 제거효율이 0.63 mA/cm^2 보다 낮게 나타났다. 0.63 mA/cm^2 에서 적절한 산소의 공급과 동시에 전해액 pH의 감소가 작았으므로 최적의 미생물 농도와 제거효율을 얻을 수 있었다.

주제어 : 전기분해, 용존산소농도, 동전기 생물학적 복원, 전해질 pH, 미생물 활성

1. 서 론

지중 생물학적 복원(*in situ* bioremediation)은 토양 속의 오염물질을 제거하기 위해 미생물의 활성을 이용하는 기술로 다양한 유기오염물질에 대해 적용되어 왔다. 이 기술은 오염물의 영구분해, 저렴한 공정비용, 주민 친화성, 부지훼손 최소, 다른 복원기술과 결합과 같은 장점을 가지고 있다.¹⁾ 하지만 다른 복원기술과 마찬가지로 저투수, 불균일 토양에서는 적용하기가 어려운데, 이것은 미생물과 영양원을 토양 내로 원활하고 균일하게 공급 및 이동시킬 수 없기 때문이다. 게다가 지하 환경은 보통 미생물의 적정 생장온도보다 낮으므로 오염물 분해를 위한 활성을 충분히 발휘하기 어렵다. 따라서 동전기 기술과 같은 추가적 조치가 필요하다.^{2,3)}

동전기 현상이란 토양에 전극을 삽입하고 낮은 전류를 공

급하면 다양한 물질이 이동(전기삼투, 전기영동, 전기이동)하는 것을 의미하며 이 기술을 이용하면 저투수 토양에서도 미생물과 영양원을 적절히 공급 및 이동시킬 수 있다. 또한 토양에 전력을 공급하므로 토양 온도를 상승시킬 수 있다.^{4~7)} 이와 같이 동전기 현상을 생물학적 복원(electrokinetic bioremediation)이라고 한다. 전극을 통하여 전류를 공급하면 물이 전기분해 되는데 양극에서는 산화반응으로 수소이온과 산소가스가, 음극에서는 환원반응을 통해 수산화이온과 수소가스가 발생한다.⁸⁾ 이 때 양극과 음극의 전해조에서는 각각 2 이하, 12 이상으로 빠르게 변화하여 미생물 활성을 감소시킬 수 있으므로 보조 장치가 필요하다. 특히 양극에서 생성되는 산소는 일반적으로 호기성 혹은 준협기성 미생물의 생장 및 활성을 향상시키므로 오염물을 제거효율을 증가시킬 수 있다.⁹⁾

따라서 본 연구에서는 동전기 생물학적 복원에서 전해질의 pH 변화 및 산소의 발생이 미생물의 이동과 활성 그리고 오염물 제거효율에 어떤 영향을 주는지 알아보고자 하였다.

† Corresponding author

E-mail: jwyang@kaist.ac.kr

Tel: 042-869-3964

Fax: 042-869-3910

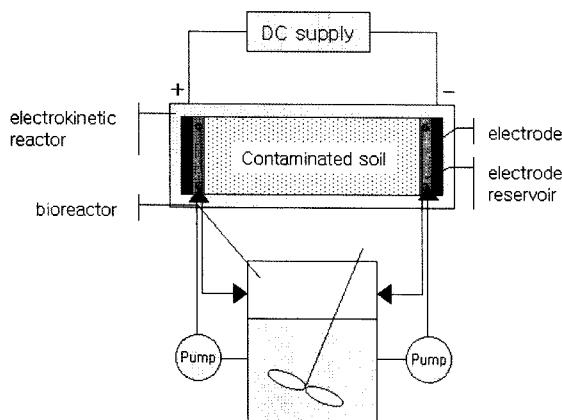


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental EK process.

2. 재료 및 방법

2.1. 토양시료 및 동전기장치

모델 토양은 카울린(산청, 한국)이며 건조 후 체로 걸러서 입경 300 μm 이하의 것을 사용하였다. 입자분포는 양토(loam)에 속하였다. 450 g 카울린에 3차 중류수 150 mL를 혼합하여 초기함수율을 25%로 조절하였고 동전기 반응기의 가운데 구역(4 cm 가로 \times 4 cm 세로 \times 20 cm 길이)에 충진하였다(Fig. 1). 전극재질은 백금도금 스테인리스강으로 전극조(electrode tank, 4 cm 가로 \times 4 cm 세로 \times 2.5 cm 길이)의 바깥쪽에 위치하게 하였다. 전해질을 공급하고 중화조 역할을 하는 생물반응기(bioreactor)는 1 L의 전해액을 포함하며 토양과 전극조에 일정한 이온의 공급과 갑작스런 pH 변화를 방지하기 위해 양극/음극조(anode/cathode tank) 각각을 같은 유량으로 전해액을 순환시켰다. 이때 순환율은 6.7 mL/min이며 생물반응기를 동전기 장치 아래에 두어 수두차에 의한 토양 내 유체의 흐름을 방지하였다.

2.2. 산소발생과 미생물의 생장특성

동전기 공정 중 전류밀도에 따른 용존산소의 발생과 이동을 조사하기 위해 미생물을 참가하지 않고 무기 전해질의 용존산소농도를 측정하였으며 이때 전해질의 조성(g/L)은 4.4 KH₂PO₄, 7.2 Na₂HPO₄, 5.0 KNO₃, 0.4 MgSO₄ · 7H₂O, 0.1 NH₄Cl이었다. Fig. 1의 형태를 구성하여 양극에서 생성된 산소가 생물반응기로 이동되어 미생물 활성에 영향을 미칠 수 있게 하였다. 만일 양극에서 음극으로 곧바로 이동되어 생물반응기로 돌아올 경우 음극조의 높은 pH와 수소가스에 의해 용존산소의 농도가 감소 혹은 제거(gas purging)될 수 있기 때문이다. 용존산소농도의 측정은 전류밀도를 변경한 후 수 리터의 배지가 전해조를 순환하였을 때 5.0 mL의 전해액을 채취하여 용존산소계(Mettler Toledo, 스위스)를 이용하였다.

동전기 공정에서 미생물 활성에 미치는 전류 공급의 영향을 조사하기 위해 L회사에서 제공한 유류분해능이 있는 혼합박테리아(bacterial consortium)를 이용하였으며, 예비실험에서는 중성 pH 영역에서 최적의 성장을 보여주었다. 미생물

을 생물반응기에 접종한 후 미생물을 충분히 생장시키기 위해 10 g/L glucose를 탄소원으로 위의 전해액에 추가하였다. 처음에는 전류 없이 배양하다가 정지기(stationary phase)에 도달했을 때 전류 공급을 시작하였다. 전류 밀도는 0.63과 3.13 mA/cm²의 두 가지로 하여 그 영향을 비교하였고 동전기 생물학적 복원과 마찬가지로 전해질을 순환시켰으며 다만 전기분해 외에 다른 영향을 배제하기 위해 토양시료는 오염되지 않은 것을 사용하였다. 생물반응기는 30°C, 250~300 rpm의 조건으로 운전하였다.

2.3. 동전기 생물학적 복원

동전기 생물학적 복원을 하기 위해 디젤의 주요성분인 긴사슬 알칸류의 하나인 pentadecane을 대표오염물로 선택하여 동일한 토양을 초기 오염농도 5,000 mg/kg soil로 인위적으로 오염시켰다. 오염물을 분해하기 위해 위의 혼합 미생물을 이용하였다. 기초 실험에서 1.88 mA/cm²의 전류밀도를 공급했을 때 미생물이 적정 생장온도인 30°C까지 토양온도가 상승되었으므로 직류전류 공급장치를 이용하여 그 이하의 범위, 0.31, 0.63, 1.88 mA/cm²를 각각 공급하여 2주간 동전기 생물학적 복원을 실시하였다.

기준 실험(control)은 5,000 mg/kg soil에 대하여 0.63 mA/cm²에서 실시하였으며 이때 생물반응기에는 미생물을 접종시키지 않았으므로 오염물 제거는 생물학적분해가 아닌 전기삼투에 의한 물리적 세척효과에 의해 나타나게 하였다.

2.4. 분석

토양 중의 pentadecane의 농도는 C₁₈ symmetry column과 RI detector를 장착한 HPLC (Waters, USA)로 분석하였다. 동전기 생물학적 복원이 끝나면 토양 시료를 동전기 반응기에서 즉시 분리하여 균일한 두께로 10등분 하였다. 각 토양부분을 실내온도에서 4일간 건조한 후 분쇄하여 약 1 g의 시료를 50 mL 혈청병에서 10 mL 노말 헥산과 섞어 밀봉하였다. 추출은 25°C, 180 rpm의 교반기에서 이를간 실시하였다. 추출이 끝나면 상등액의 부유 토양을 6,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 맑은 부분을 HPLC 시스템에 주입하였다. 이때 이동상은 acetonitrile과 에탄올(3 : 2, v/v)로 구성하였으며 유속은 1.0 mL/min이었다.

전해액 중 미생물 농도(colony forming unit, CFU)는 Profile™(New Horizons, 미국)으로 측정한 상대광도단위(relative light unit)로 계산하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. 전기적 산소 발생과 미생물 활성

Fig. 2는 동전기 공정 중 전류밀도, 전해질 순환율에 따른 용존산소농도의 변화를 보여주고 있다. Fig. 2(a)에서 전기분해반응은 전류밀도에 비례하므로 그 증가에 따라 양극전해액의 용존산소농도가 증가되었으며 이와 순환하는 생물반응기 또한 같은 경향으로 증가하였다.⁹⁾ 음극전해액의 경우 비

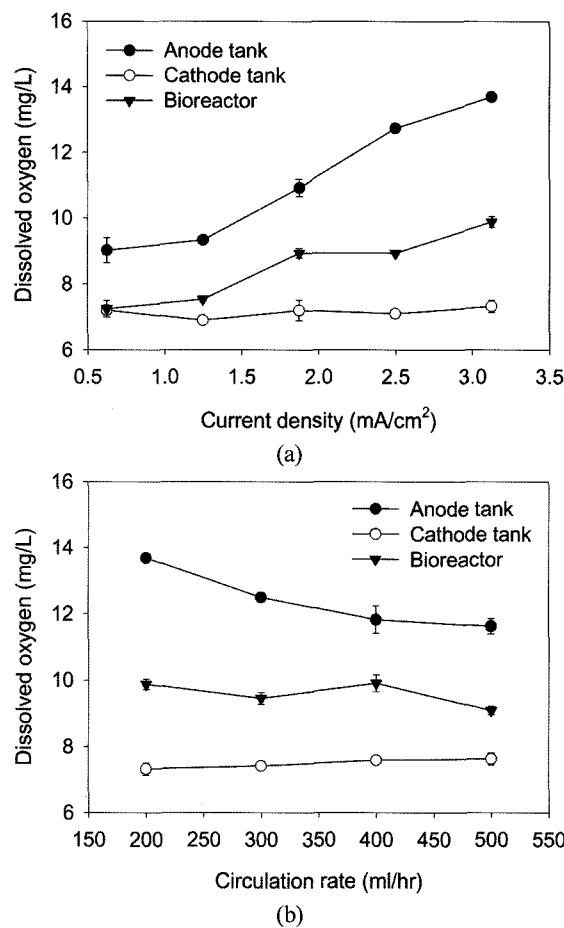


Fig. 2. Change of dissolved oxygen with (a) current density and (b) circulation flowrate in EK process.

록 생물반응기의 용존산소가 유입되더라도 그 농도는 거의 일정하였는데 이것은 수소가스의 발생이 산소의 용해도를 낮추기 때문이다.

Fig. 2(b)에서 순환율이 낮을 경우 구역 사이의 용존산소 농도의 차가 크게 나타났지만 순환율이 증가함에 따라 줄어들었다. 하지만 음극조에서는 마찬가지의 이유로 산소농도의 증가가 상대적으로 미미하였다.

Fig. 3에서 전류를 공급하기 전에는 미생물 농도가 정지기 예 이르러 더 이상 증가하지 않았지만 전류를 공급하면 전기적 산소의 생산으로 급격하게 미생물이 생장하는 것을 관찰할 수 있었다. Fig. 3(a)의 120시간에서는 미생물 농도가 과도하게 증가하여 glucose가 더욱 빨리 산화됨에 따라 용존산소농도가 오히려 감소하였고 다량의 유기산이 생성되어 미생물 농도가 감소되었다.¹⁰⁾ 이때 미생물에 의한 용존산소의 소비가 줄어들므로 양극조에서 공급되는 산소의 양이 많아지므로 다시 용존산소의 농도가 증가하였다. Fig. 3(b)에서 3.13 mA/cm^2 의 전류밀도를 공급했을 때 더 많은 산소의 발생으로 더욱 빠른 미생물의 생장이 관찰되었다. 여기서도 마찬가지로 용존산소농도와 미생물 생장은 서로 반대방향으로 증감하는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 동전기 공정에서는 산소의 발생이 미생물 활성을 크게 향상시켰고 이

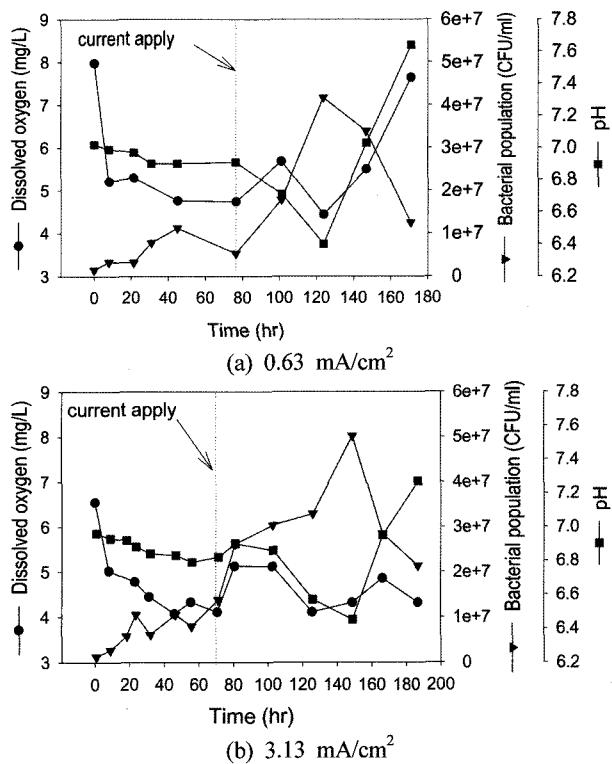


Fig. 3. Effect of current density on microbial growth in EK process.

것은 오염물 분해의 향상에도 영향을 미칠 것이라고 생각하였다.

3.2. Pentadecane-오염토양의 동전기 생물학적 복원

Fig. 4는 실제 pentadecane-오염토양의 동전기 생물학적 복원에서 전압경사의 변화를 보여주고 있다. 이온이 토양내로 전기이동하면서 전압경사가 지속적으로 감소하였다가 이온 농도가 전해질 순환에 의해 정상 상태에 이르러서 일정하게 유지되었다. 정상 상태에서는 전압경사가 전류밀도에 비례하는 경향을 나타내었다.

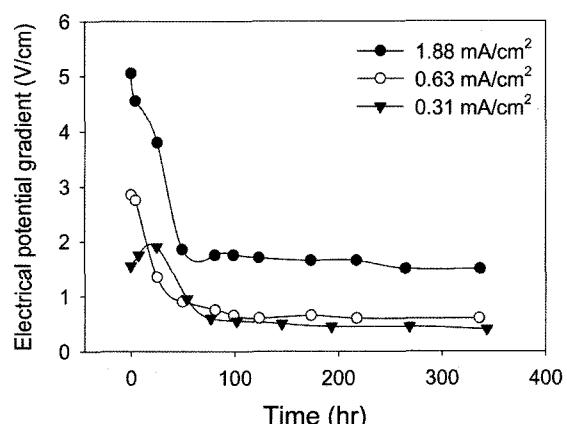


Fig. 4. Change of electrical potential gradient with current density during EK bioremediation.

Fig. 5(a)에서 생물반응기의 미생물 농도는 처음에는 빠르게 증가하였는데 이것은 미생물 생장 속도가 양극에서 생성된 산소에 의해 증가하였기 때문이며 이러한 현상은 토양 중 pentadecane의 분해도 향상시킬 수 있다.¹⁰⁾ 약 50시간 이전에서 전류밀도가 1.88 mA/cm^2 인 경우에는 산소가 비교적 많이 발생하여 비교적 미생물의 생장이 크게 증가할 것으로 예상하였으나, 미생물 농도가 0.63 mA/cm^2 보다 낮게 나타났다. 그 이유는 전류 공급 초기에는 토양에 충분한 이온이 존재하지 않으므로, 1.88 mA/cm^2 에서는 전압이 매우 증가하여, 토양내부온도가 45°C 이상으로 높아지고 미생물 활성이 감소되었기 때문이다(data not shown). 50시간 이후에서는, 미생물 농도가 전체적으로 $0.31 \geq 0.63 \gg 1.88 \text{ mA/cm}^2$ 의 순서로 나타났으며 특히 1.88 mA/cm^2 에서 가장 낮은 미생물 농도를 보인 이유는 미생물은 산소를 이용하여 glucose와 pentadecane을 산화시켜 유기산을 생산하며 산소의 발생량은 총 전류량에 비례하기 때문이다.¹⁰⁾ 따라서 전류밀도의 증가에 따라 pH가 감소되고 중성영역과 같은 미생물 생장의 적정 pH와 더욱 멀어지므로 생물반응기의 미생물 농도가 감소한 것이다(Fig. 5(b)).

또 다른 이유로 전기적 pH변화에 의한 활성 감소를 생각할 수 있다. 일반적으로 동전기 공정에서는 양극과 음극전해

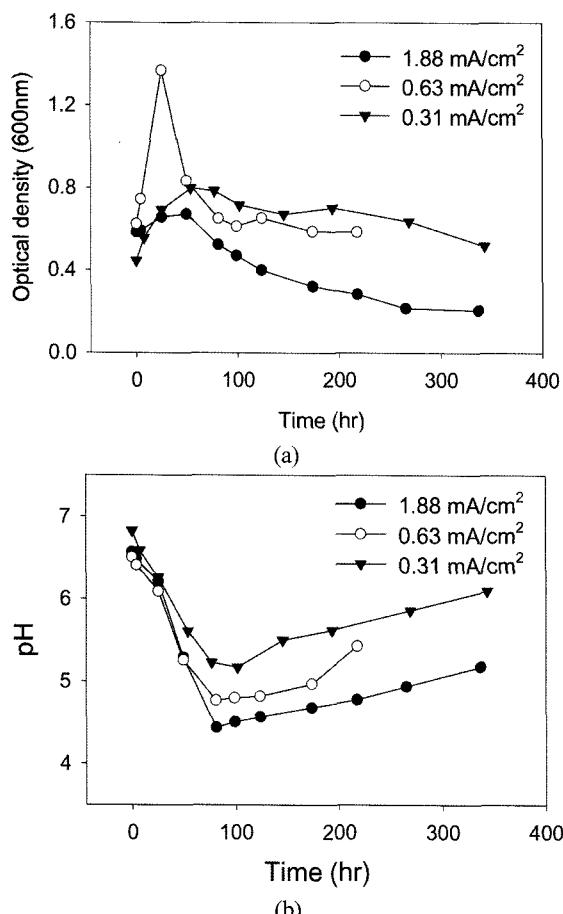


Fig. 5. Change in (a) bacterial growth and (b) pH in bio-reactor with current density during EK bioremediation.

액의 pH가 각각 2 이하, 12 이상으로 변하는데 본 연구에서는 전해액을 순환시켰으므로 생물반응기에서 산(H^+)과 염기(OH^-)가 중화되어 전해액의 pH와 미생물 활성이 전기분해에 의해 영향을 받지 않았다.¹¹⁾ 기초 실험 결과에서 본 공정에서 결정한 전해액 순환율은 1.88 mA/cm^2 까지 각 전해조의 전기적 pH 변화를 충분히 중화할 수 있었다(data not shown).

Fig. 6은 동전기 생물학적 복원 중 전극사이의 토양의 위치에 따라 미생물 농도의 변화를 보여주고 있다. 양극과 미생물 표면 사이에는 전기적 인력이 작용하므로 양극 부분

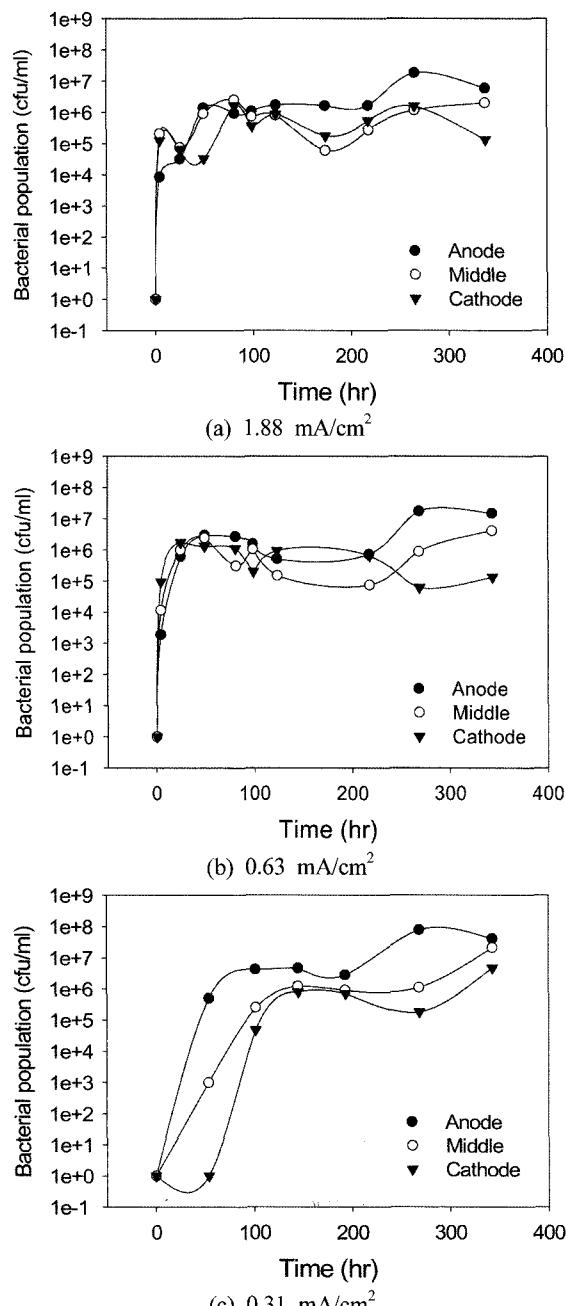


Fig. 6. Change of bacterial population in anode (●), middle (○), and cathode (▼) regions of soil specimen during EK bioremediation.

의 토양에서 가장 높은 CFU를 나타내었다.¹²⁾ 동전기 현상에 의한 미생물의 이동량과 속도는 전기장 세기에 비례하므로 0.31 mA/cm²에서 CFU의 증가 속도는 다른 두 전류밀도보다 낮았다. 하지만 CFU는 높았는데 이것은 느린 이동에 의한 토양 내 체류시간이 길어졌기 때문이다.

일반적으로 직류 전기장 하에서 미생물의 이동은 전기영동에 의한다고 알려져 있으나 본 연구에서는 0.63과 1.88 mA/cm²에서 세 부분 모두의 토양지역의 미생물 농도가 동시에 증가되었는데 이것은 전기영동 뿐 아니라 전기삼투 또한 미생물 이동의 주요 메커니즘이라는 것을 의미한다.¹³⁾ 게다가 전기삼투의 공현은 0.31 mA/cm²에 더욱 두드러지게 나타나 CFU가 토양의 양극, 중간, 음극의 순서로 증가되었다. 한편 1.88 mA/cm²이 가장 높은 전류밀도 이었음에도 토양 내 미생물 농도가 다른 두 경우 보다 낮은 이유는 유기물 분해에 의한 과도한 유기산의 생성이 전해액 pH를 중성영역으로부터 가장 많이 변하게 하였으므로 미생물 활성이 어느 정도 감소한 것으로 판단된다.

2주간의 운전이 끝난 후 pentadecane은 대부분의 토양에서 제거되었다(Fig. 7). 이것은 전기삼투와 전기영동에 의해 미생물이 양방향으로 이동하여 오염물과 끌고루 접촉하였기 때문이다. 게다가 양극과 음극전해액의 pH가 거의 다르지 않으므로 토양 위치에 따라 미생물 활성을 차이가 나타나지 않기 때문이기도 하다(data not shown). Table 1에서 보다시피 1.88, 0.63, 0.31 mA/cm²에서 제거효율은 각각 26.7, 51.7, 31.8%로 나타났으며 이러한 순서는 생물반응기 미생물 농도의 순서와 일치하였다. 이것은 즉 미생물 활성을 얼마나 잘 유지시키는 것에 따라 제거효율이 결정된다는 것을 의미하였다. 0.63 mA/cm²은 가장 높은 제거효율을 보임으로써 적

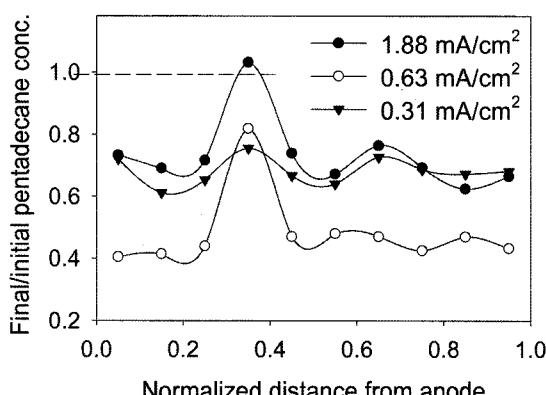


Fig. 7. Final/initial pentadecane concentration with current density after 2 weeks of EK bioremediation.

Table 1. Summary of pentadecane removal after 2 weeks of EK bioremediation

Exp. no	Current density (mA/cm ²)	Removal amount (mg/kg)	Removal efficiency (%)
1	1.88	1,335	26.7
2	0.63	2,585	51.7
3	0.31	1,590	31.8

절하게 산소를 공급하는 동시에 전해액 pH의 변화를 최소하여 미생물 농도를 유지한 것으로 판단된다. 또한 비접종 비교실험에서는 단지 320 mg/kg(6.4%)가 제거되었으므로 위에서 보인 제거효율의 대부분이 미생물 분해임을 알 수 있었다.

Boopathy와 Hess는 초기 오염 550 and 1,100 mg/kg의 디젤-오염토양을 실험실 규모로 하여 기존의 생물학적 복원을 실시한 결과 각각 310, 96일 동안 81(445.5 mg/kg), 31%(341 mg/kg)를 제거하였다고 보고하였다.^{14,15)} 이 결과는 본 연구의 제거속도와 비교하여 매우 느린 것이었다. 결과적으로 본 연구의 동전기 생물학적 복원은 기존의 생물학적 복원과 비교할 때 비슷한 오염물에 대하여 같은 양을 제거한다면 운전기간을 상당히 줄일 수 있음을 알 수 있었다. 공정기간의 단축은 실제 복원 기술을 적용할 때 비용효율의 측면에서 매우 중요하다.

4. 결 론

본 연구에서는 동전기 생물학적 복원에서 전해질의 pH 변화 및 산소의 발생이 미생물의 이동과 활성 그리고 오염물 제거효율에 어떤 영향을 주는지 알아보았다.

- 1) 전기분해에 의한 양극조에서 산소의 발생은 전류밀도에 비례하였으며 전해질을 순환시킴에 따라 생물반응기와 함께 용존산소농도가 증가되었다.
- 2) 동전기 공정에서 전류를 공급했을 때 미생물 농도가 급격히 증가하였으며 이때 미생물의 산소소비량이 증가되어 용존산소농도는 감소되었다. 높은 전류 밀도에서는 미생물 농도의 증가 속도는 더욱 향상되었다.
- 3) Pentadecane-오염토양의 동전기 생물학적 복원에서 1.88 mA/cm²은 비록 산소의 발생량은 많았지만 오히려 유기산 농도가 증가하여 pH가 낮아졌으므로 미생물 농도와 제거효율이 0.63 mA/cm²보다 낮게 나타났다.
- 4) 0.63 mA/cm²에서 적절한 산소의 공급과 작은 전해액 pH 감소가 관찰되었으므로 최적의 미생물 농도와 제거효율을 나타낸 것으로 판단된다.
- 5) 본 연구의 동전기 생물학적 복원은 기존의 생물학적 복원의 단점인 늦은 분해속도와 낮은 제거효율의 단점을 극복할 수 있었다.

사 사

본 연구는 국가지정연구실사업(M1-0203-00-0001)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

1. Cookson, J.T., Bioremediation Engineering, McGraw-Hill Inc., USA(1995).

2. Rabbi, M. F., Clark, B., Gale, R. J., Ozsu-Acar, E., Pardue, J., and Jackson, J., "In situ TCE bioremediation study electrokinetic cometabolite injection," *Waste Management*, **20**, 279~286(2000).
3. DeFlaun, M. F. and Condee, C. W., "Electrokinetic transport of bacteria," *J. Hazard. Mater.*, **55**, 263~277 (1997).
4. Shapiro A. P. and Probstein, R. F., "Removal of contaminants from saturated clay by electroosmosis," *Environ. Sci. Technol.*, **27**(2), 283~291(1993).
5. Acar, Y. B. and Alshawabkeh, A. N., "Electrokinetic remediation. 1. Pilot-scale tests with lead spiked kaolinite," *J. Geotechnical Engineering*, **122**, 173~185(1996).
6. Kim, S. J., Park, J. Y., Lee, Y. J., Lee, J. Y., and Yang, J. W., "Application of a new electrolyte circulation method for ex situ electrokinetic bioremediation of a laboratory-prepared pentadecane contaminated kaolinite," *J. Hazard. Mater.*, **B118**, 171~176(2005).
7. Pamukcu, S., Weeks, A., and Wittle, J. K., "Electrochemical extraction and stabilization of selected inorganic species in porous media," *J. Hazard. Mater.*, **55**(1-3), 305~318(1997).
8. Acar, Y. B. and Alshawabkeh, A. N., "Principles of electrokinetic remediation," *Environmental Science & Technology*, **27**(13), 2638~2647(1993).
9. Millacheruvu, K. and Alshawabkeh, A. N., Emerging Technologies in Hazardous Waste Management, Vol. VIII, Kluwer Academic/Plenum Publishers(1999).
10. Vogel, T. M. and Grbić-Galić, D., "Incorporation of Oxygen from Water into Toluene and Benzene during Anaerobic Fermentative Transformation," *Applied Environmental Microbiology*, **52**(1) 200~202(1986).
11. Clarke, R. L., Lageman, R., Pool, W., and Clarke S. R., "Electrochemically-aided biodigestion of organic materials," US Patent 5,846,393(1998).
12. Saichek, R. E. and Reddy, K. R., "Effect of pH control at the anode for the electrokinetic removal of phenanthrene from kaolin soil," *Chemosphere*, **51**(4), 273~287(2003).
13. Wick, L. Y., Mattle, P. A., Wattiau, P., and Harms, H., "Electrokinetic transport of PAH-degrading bacteria in model aquifers and soil," *Environmental Science & Technology*, **38**(17), 4596~4602(2004).
14. Boopathy, R., "Anaerobic biodegradation of no. 2 diesel fuel in soil: a soil column study," *Bioresource Technology*, **94**(2), 143~151(2004).
15. Hess, A., Hohener, P., Hunkeler, D., and Zeyer, J., "Bioremediation of a diesel fuel contaminated aquifer: Simulation studies in laboratory aquifer columns," *J. Contaminant Hydrology*, **23**(4), 329~345(1996).