

전극을 전자공여체로 이용한 생물전기화학공정에서의 염소화페놀의 탈염소화

전 현 희 · † 박 대 원
서울산업대학교 에너지 환경 대학원
(접수 : 2006. 9. 28., 게재승인 : 2007. 4. 30.)

Reductive Dechlorination of Chlorinated Phenols in Bio-electrochemical Process using an Electrode as Electron Donor

Hyunhee Jeon and Daewon Pak†
Graduate School of Energy and Environment, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea
(Received : 2006. 9. 28., Accepted : 2007. 4. 30.)

It was investigated whether an electrode could serve as an electron donor for biological reductive dechlorination of chlorinated phenols in the bio-electrochemical process. There was no dechlorination in the absence of current and scanning electron microscope image showed that the electrode surface was covered with microorganisms. As a result, the electrode attached cells was responsible for reductive dechlorination. Also, initial high chlorinated phenol concentration such as 437 mg/l was rapidly reduced within 5 hours. The maximum dechlorination rate using Monod equation was 5.95 mg/l-h(cm² (electrode surface area)) in the bio-electrochemical reactor.

Key Words : Electrode, electron donor, reductive dechlorination, bio-electrochemical process

서 론

염소화페놀 (CPs, chlorinated phenols)은 독성과 악취 그리고 발암물질 및 돌연변이 유발요인으로서, 산업과 농업 등에서 살충제, 살균제, 제초제 등으로 널리 이용되고 있을 뿐만 아니라 제지 공장의 염색 표백과정 및 도시폐기물의 소각과 염소처리 과정에서도 형성 되어 토양이나 강으로 유출되고 있다(1). 이러한 염소화 페놀은 가수분해 (hydrolysis) 및 광분해 (photolysis)를 통해서 자연발생적으로 분해될 수 있지만(2) 물질들의 광범위한 사용과 대수층 (aquifer) 속으로의 이동 때문에 쉽게 분해되지 못하고 축적되어 있다(3, 4).

염소화 페놀을 처리하기 위해서 물리·화학적 방법으로 공기 탈기 (air stripping), 화학적 산화 (chemical oxidation), 용매 추출 (solvent extraction) 등이 사용되고 있으나 부산물 처리의 필요 및 경제적 문제 등이 발생하는 것으로 보

고되고 있다(5). 이를 극복하기 위해 사용된 생물학적 처리 방법은 염소화페놀의 독성으로 인해 염소화페놀을 분해할 수 있는 균주가 극히 적으며(6-9) 이 미생물들은 긴 반응 체류시간을 요구하며 고농도에서는 적용이 어렵다고 보고되고 있다.

이에, 본 연구에서는 생물전기화학적 방법을 적용하고자 하였는데, 이는 환경에 무해한 전자 (electron)를 주된 reagent로 이용하고 있어서 염소화페놀의 탈할로겐화 (dehalogenation) 방법으로 새롭게 제안되는 처리방법 (10-13)의 하나로서, 생물학적 방법과 융합되어진 형태인 이 방법은 미생물이 환경오염 물질을 분해하는 과정에서 어떠한 경우라도 일어나는 산화·환원반응, 즉 일련의 전자와 수소이온의 흐름을 통해서 일어나는 반응을 인위적으로 조정할 수 있다. 따라서 이 방법을 이용하여 전자가 원활히 이동할 수 있도록 한다면 염소화페놀 분해에 있어서, 미생물 반응의 효율을 극대화시켜 높은 분해효율을 기대할 수 있으면서도 생물학적 환경정화를 가능하게 하는 장점을 가질 수 있다.

전극과 미생물간의 전자를 주고받을 수 있는냐에 대한 연구는 최근에 일부 연구자들에 의해 보고되고 있다. 전극이 전자수용체로서 역할 가능성에 대해서는 금속을 환원시키는 혐기성 미생물은 유기물질의 산화 (oxidation)로 발생한 전자를 전극에 직접적으로 전달할 수 있다고 보고되고

† Corresponding Author : Graduate School of Energy and Environment, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea

Tel : +82-2-970-6595, Fax : +82-2-974-8609

E-mail : daewon@snut.ac.kr

있다. Kim *et al.*은 산화환원 효소인, cytochrome이 세포외막 (OM, outer membrane)에 위치한다는 사실에서 미생물이 전자를 전극에 직접적으로 전달할 수 있음을 증명하였다(14). 또한, Lovley *et al.*는 혐기성 호흡에서 *Geobacteraceae* 군이 매개체 (mediators) 없이도 전자를 직접적으로 전극에 전달할 수 있으며, 전극을 전자수용체 (electron acceptor)로 이용할 수 있음을 보고하였다(15-17). 이와 같이 전자 수용체로 이용될 수 있는 전극은, 전자공여체 (electron donor)로서 전자를 미생물에 전달할 가능성도 있다. 이에, 미생물이 환원된 전극을 전자공여체로 이용하며 염소화페놀을 전자수용체로 이용하는 혐기성 호흡을 통해서 탈염소화 시킬 수 있는지를 조사하여 염소화페놀의 경제적이면서도 효율적인 탈할로젠화 방법을 개발하고자 하였다. 또한, 고농도에서도 적용이 가능한지를 조사하고 환원된 전극에서 Monod 식을 사용하여 최대 탈염소화속도를 산정하였다.

재료 및 방법

생물전기화학 반응기

전자공여체로 사용되는 전극을 이용하여 염소화페놀을 탈염소시키기 위하여, 생물전기화학 반응기를 구성하였다. 생물전기화학 반응기는 2개의 chamber가 수소이온교환막 (Nafion 424, 미국)에 의해 나누어져 있다. 각각의 chamber에는 양극과 음극이 포함되어 있으며, 그 부피는 250 mL 이었다. 양극이 포함된 chamber에서는 물의 전기분해로 전자와 수소이온이 발생하며, 발생된 전자와 수소이온은 외부도선과 수소이온교환막을 통해서 미생물이 부착된 음극의 chamber로 이동하게 된다. 외부도선으로 Pt wire를 사용하였으며, 전극과 Pt wire는 저항을 최소화하기 위해 carbon epoxy로 부착하였다. 각각의 전극은 DC 파워 서플라이와 연결하였으며, 전위차를 2 V로 하였다. 이에 대한 전체적인 개념도를 Fig. 1에 나타내었다.

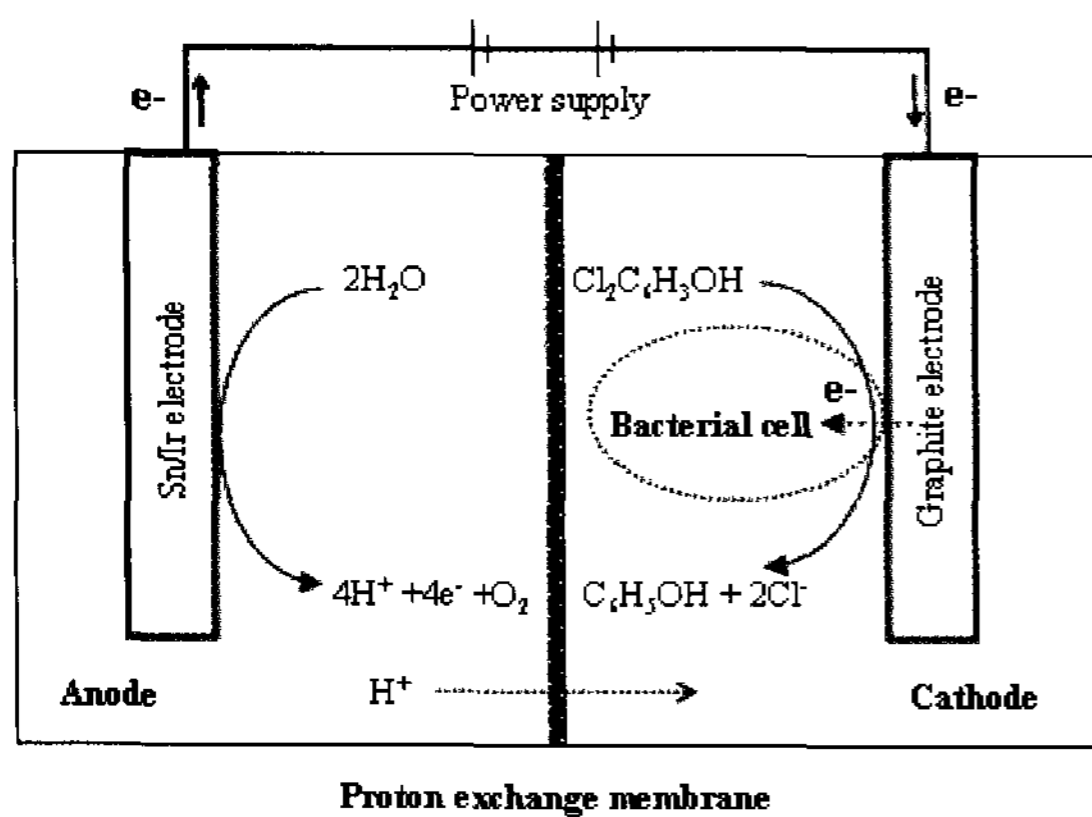


Figure 1. Schematic structure of a bioelectrochemical reactor that performs the coupling reaction between the electrolysis of water in an anode chamber and biological reduction of chlorinated phenols using an electrode as a direct electron donor in a cathode chamber.

전극의 크기는 4 × 7 cm²로 양극과 음극은 Ir/Ti와 carbon felt를 사용하였다. 반응기 내에서 저항을 최소화하기 위하

여 전극과 수소이온교환막에 대한 전처리를 실시하였다. 전극은 95% (v/v) ethanol에 30분 동안 담근 후, 증류수로 3회 세척하여 0.1N HCl에 24시간 동안 교반시키며 담가 두었다가 80°C oven에 건조시켜 desiccator에 보관하였다. 수소이온교환막은 5% (v/v) HCl에 3시간 동안 담근 후, 증류수로 세척하여 85°C가 유지되는 증류수에 30분 동안 담근 다음, 5% (v/v) H₂O₂와 0.5M H₂SO₄에 각각 1시간 동안 끓인 다음 증류수로 세척하여 사용할 때까지 증류수에 보관하였다.

각각의 chamber는 버퍼로 채워져 있으며, 음극이 포함된 chamber에서는 혐기성 상태를 유지하기 위하여 N₂ 가스로 purging하였다. 혐기성 상태의 확인은 oxidation-reduction potential (ORP)를 이용하였으며, 이를 위해 Ag/AgCl 전극과 Pt 전극을 음극 chamber에 삽입하였다. 각 전극 사이의 전류 및 전압 측정은 multimeter를 사용하여 측정하였다.

Enrichment 및 버퍼

본 연구에서는 탈염소화 반응에 필요한 미생물을 선별하기 위해서 음극이 포함되어 있는 chamber에 중량종말하수처리장에서 채취한 혐기성 슬러지 25 mL와 버퍼 225 mL를 혼합하여 전자수용체인 염소화페놀로는 2,6-dichlorophenol (2,6-DCP)을 첨가하여 일정하게 수소가스를 주입하면서 30 일 이상 enrichment시킨 다음 실험을 진행하였다.

버퍼는 KCl 0.1 g, NH₄Cl 0.2 g, NaH₂PO₄ 0.3 g을 증류수 1 L에 녹인 후, 1N Na₂HPO₄를 사용하여 pH가 6.8이 되도록 조정한다. 다음, 2.0 g의 NaHCO₃을 첨가하여 조제하였다 (18). 버퍼는 2,6-DCP이 첨가될 때마다 새로 교체하였다.

주사전자현미경 (SEM, Scanning electron microscopy)

전극 표면을 입체적으로 관찰하기 위하여 주사전자현미경 (XL-30 ESEM-FEG, USA)을 이용하여 형태학적 변화를 분석하였다. 전극 일부를 채취하고 glutaraldehyde에 HEPES 버퍼 100 mmol과 MgCl₂ 2 mmol을 넣어 만든 고정액 (pH 7.0)에 고정하여 24시간 실내에서 건조시킨 후 관찰하였다.

분석방법

2,6-DCP은 불꽃이온화검출기 (FID, flammable ionized detector)와 15 m × 0.32 mm × 0.25 μm DB-17 capillary column (J&W scientific, USA)이 장착되어 있는 가스크로마토그래프 (영린기기, 한국)로 분석하였다.

Injector와 detector의 온도는 각각 250°C와 300°C였으며, oven은 초기 35°C에서 5분, 8°C/min으로 220°C까지 승온시킨 다음 2분간 지속하였다. Carrier gas로는 헬륨을 사용하였으며, 2,6-DCP는 염화메틸렌 (methylene chloride)으로 추출하여 분석하였다.

결과 및 고찰

전극을 전자공여체로 사용하는 생물학적 탈염소화 반응
미생물에 의해 음극이 전자공여체로 이용되며 염소화페놀은 전자수용체로 이용되어 탈염소화가 진행될 수 있는

지를 조사하기 위해서 2,6-DCP를 첨가하여 전류의 유무에 따른 탈염소화 결과를 Fig. 2에 보였다.

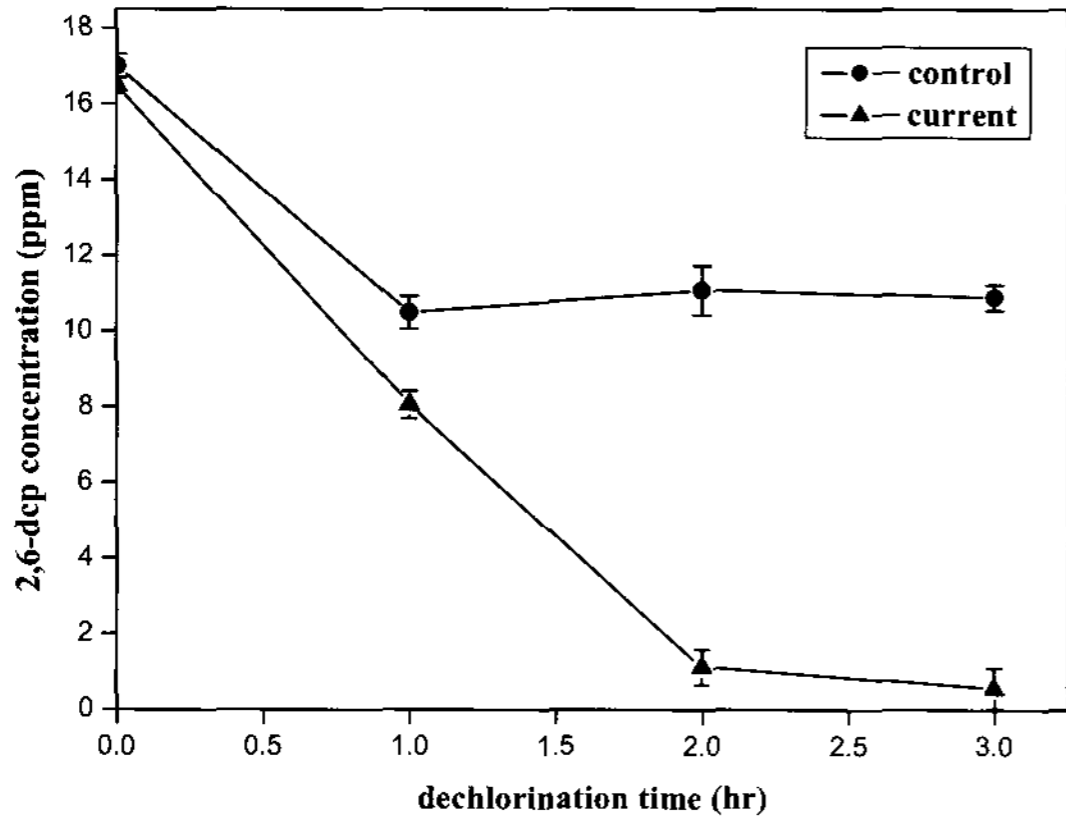


Figure 2. Effect of current on the bio-electrochemical reduction of chlorinated phenols (●: control, ▲: current).

Fig. 2에서 볼 수 있듯이, 2,6-dcp의 농도변이는 전류가 있을 때와 전류가 없는 대조구와는 많은 차이를 보이고 있다. 대조구에서 1시간 경과 후에 2,6-dcp의 농도가 조금 감소하였으나 시간이 경과함에 따라 더 이상의 감소는 진행되지 않았으며, 반면에 전류가 있을 때는 완전히 감소됨을 보였다. 이 결과로써 전류가 일정하게 흐르는 환원된 전극이 염소화페놀의 환원반응에 관여하고 있음을 알 수 있으며, 본 실험에서 사용한 버퍼에는 미생물을 위한 어떠한 탄소원이나 에너지원 및 다른 전자수용체가 첨가되지 않는 것을 고려해 볼 때, 이는 미생물이 전극을 전자공여체로 이용하여 유일한 전자수용체인 염소화페놀에 전달한 것으로 사료된다. Fig. 3은 주사전자현미경으로 전극 표면의 형태학적 변화를 분석한 결과로서, 전극 표면에 미생물이 부착되어 있는 것을 볼 수 있다.

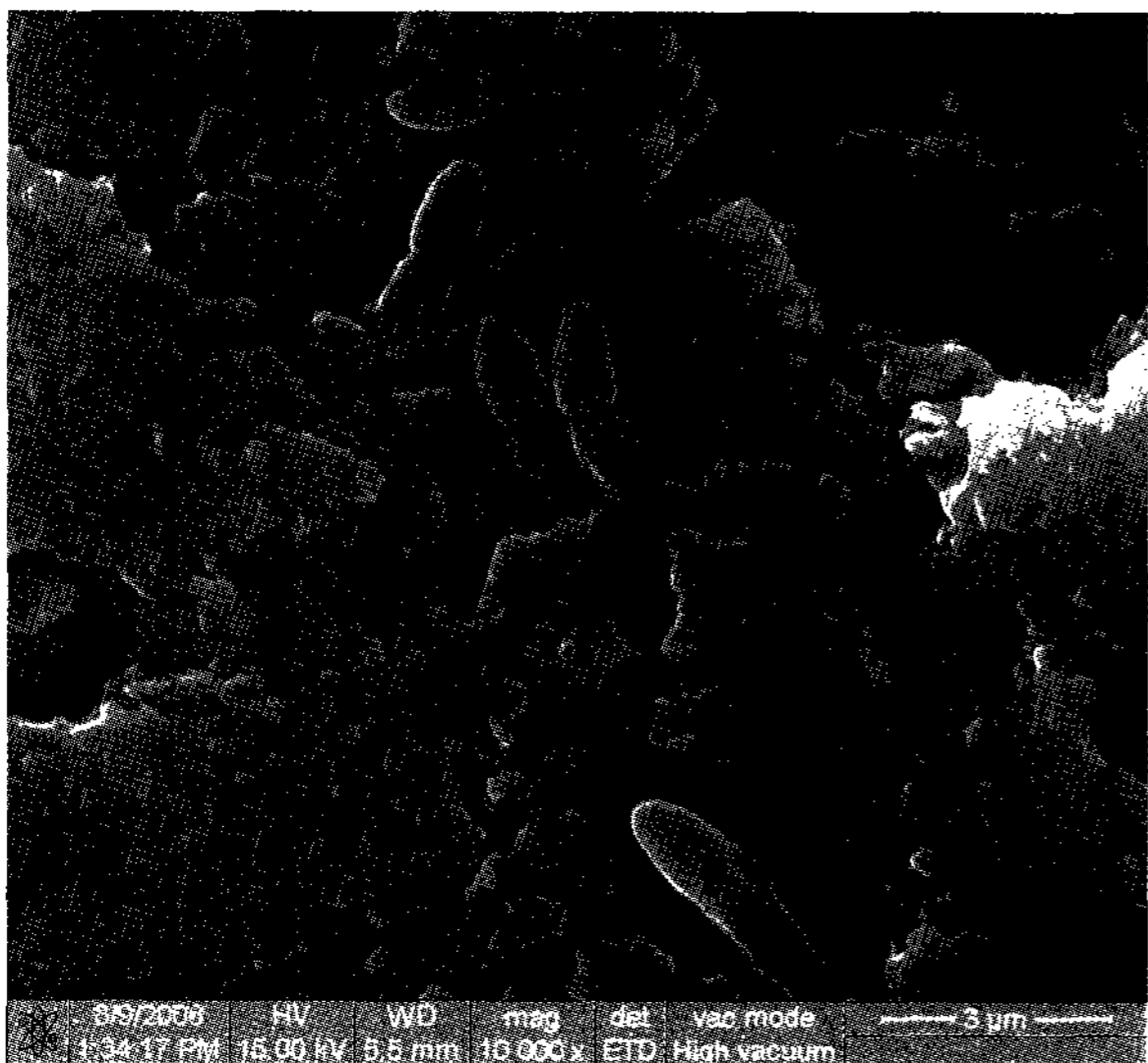


Figure 3. Scanning electron micrograph of working electrode inoculated with anaerobic sludge.

결론적으로 Fig. 2와 Fig. 3을 통해서 전극을 전자공여체로 사용하는 새로운 혐기성 호흡을 통해서 탈염소화시킬 수 있는 것으로 나타났으며, 이 새로운 혐기성 호흡은 지하수 오염물질인 다른 염소계 화합물, 질산염 및 독성 금속 물질 등에도 적용이 가능하며, 미생물연료전지 (MFCs, microbial fuel cells)와 함께 음극에서 이용하는 생물전기화학 시스템을 이용하면, 추가적인 에너지원 없이도 효과적이며, 경제성을 갖춘 탈할로겐화 방법이 될 수 있을 것으로 사료된다.

생물전기화학반응기에서 염소화페놀의 최대탈염소화 속도 산정

전자공여체로 사용하는 전극의 생물전기화학반응기에서 고농도의 염소화페놀도 적용이 가능한지를 조사하기 위하여 전류에 순응시킨 생물막을 이용하여 2,6-DCP의 초기농도를 69 mg/l에서 457 mg/l 까지 다양하게 하여 농도변이에 대한 실험을 진행하여 그 결과를 Fig. 4에 보였다.

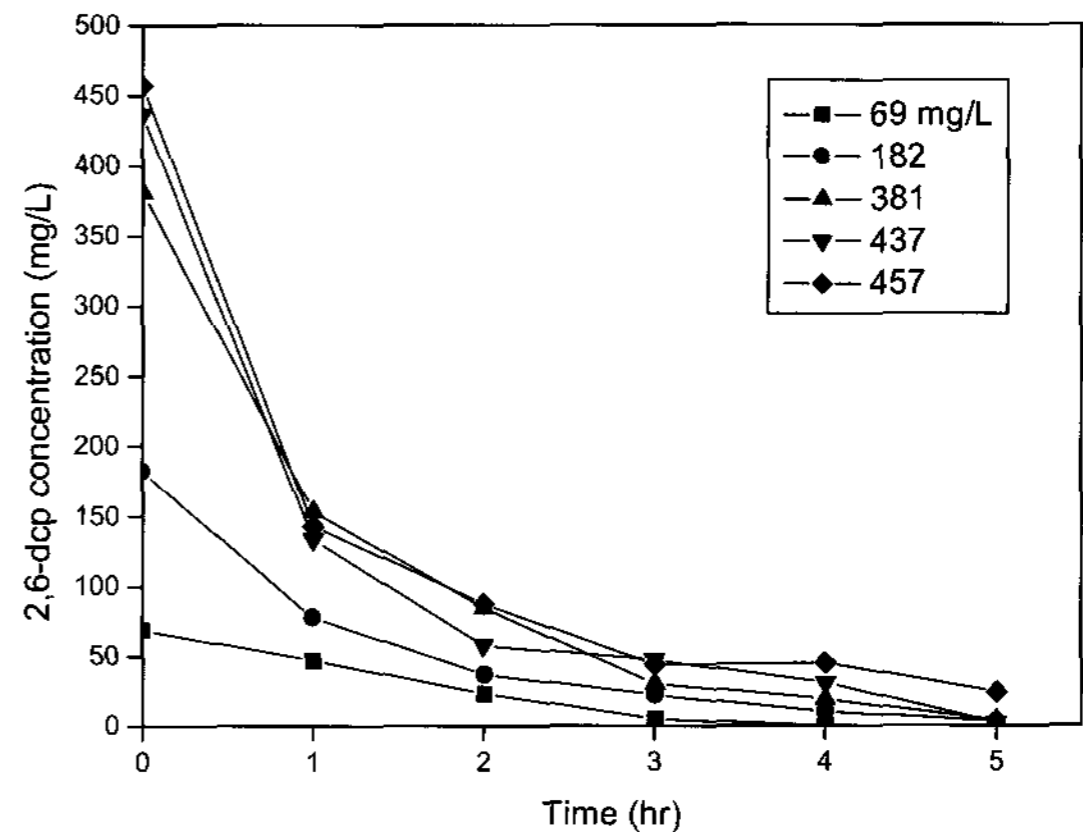


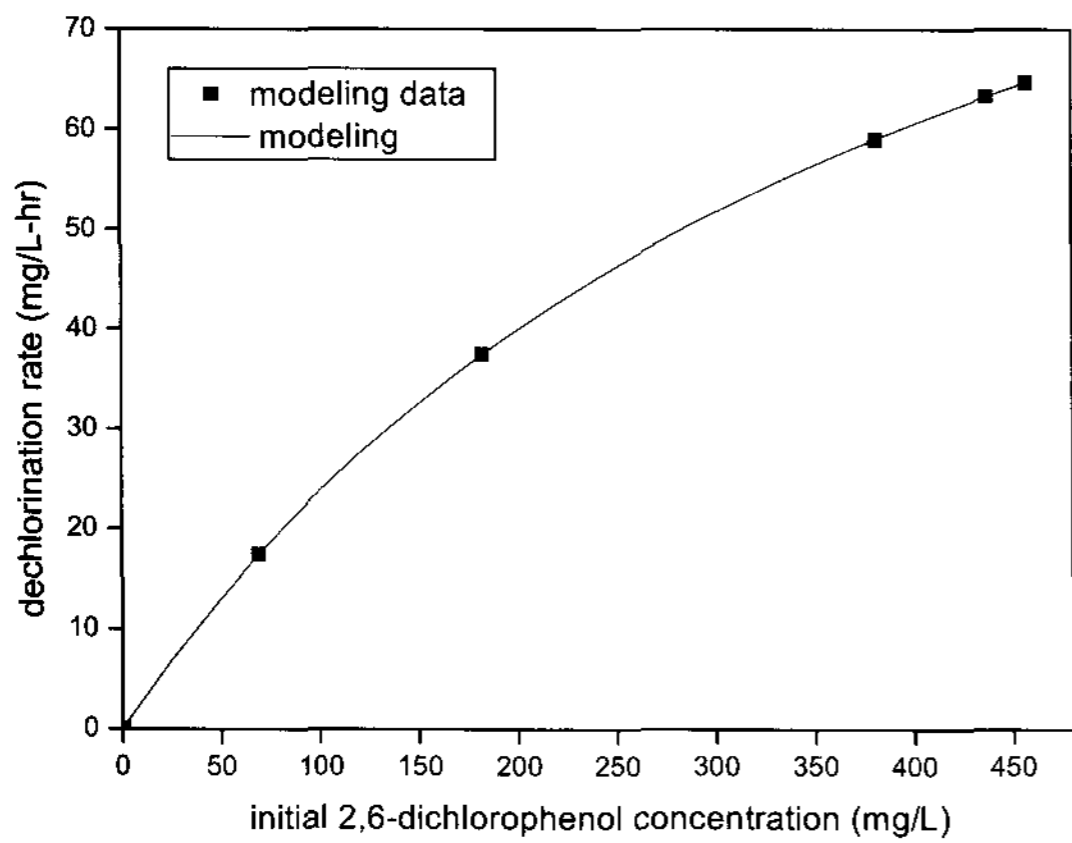
Figure 4. Biological reduction of chlorinated phenol using the electrode as electron donor in the cathode chamber (■: 69 mg/L, ●: 182 mg/L, ▲: 381 mg/L, ▼: 437 mg/L, ◆: 457 mg/L).

Fig. 4에서 볼 수 있듯이, 457 mg/l의 고농도에서도 대부분이 탈염소화 됨을 보였다. 이전의 생물학적 공정에서의 탈염소화에 대한 몇몇 연구결과를 보면, Steinle *et. al.*는 호기성 미생물을 이용할 때 300 μmol (50 mg/l)의 초기농도 이상에서는 2,6-DCP가 미생물에 저해를 일으킨다고 보고하였다(19). 또한, Mohn *et. al.*은 bioreactor를 이용한 탈염소화 연구에서 초기농도 346 mg/l까지만 탈할로겐화가 진행되었다고 보고하였다(20). 이처럼 염소화페놀을 탄소원이나 에너지원으로 이용하는 생물학적 분해메커니즘 공정에서는 염소화페놀이 미생물에 저해를 일으킬 수 있다. 그러나 본 연구의 새로운 혐기성 호흡을 이용한 생물전기화학 공정을 통해서 고농도의 염소화페놀 처리가 가능함을 보였다. Fig. 4에서 보면, 단위시간당 농도변이의 기울기를 통해서 초기농도가 증가할수록, 탈염소화 속도 (dechlorination rate)도 증가됨을 알 수 있다. Fig. 4에서 보인 결과를 토대로 Monod식을 사용하여 탈염소화 속도와 염소화페놀의 초기농도간의 관계를 통하여 본 생물전기화

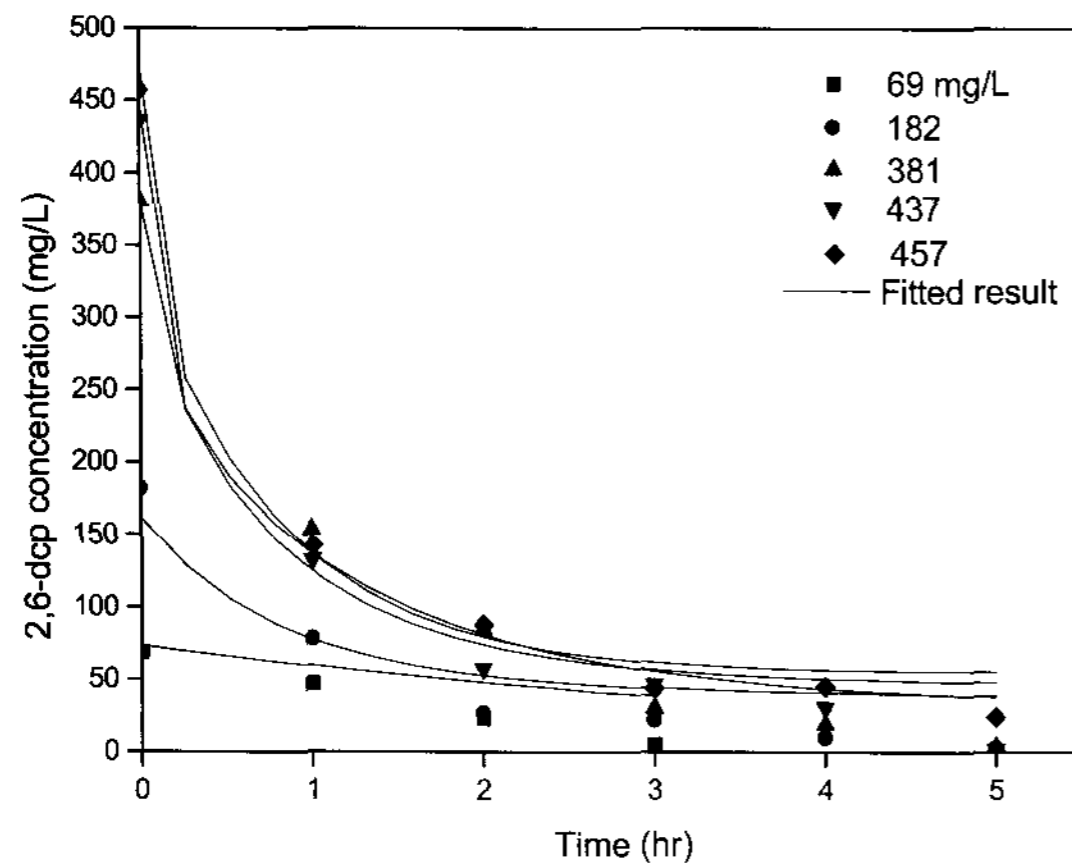
학 공정의 최대 탈염소화 속도를 산정하였으며 탈염소화 모델링을 Fig. 5에 나타내었다.

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{kS}{Ks+S} \quad (1)$$

여기서, dS/dt 는 탈염소화속도, k 최대 탈염소화속도, S 는 초기 염소화페놀 농도, Ks 는 반속도상수이다. 실험 데이터 결과를 바탕으로 Monod식을 이용하여 산정한 최대탈염소화 속도는 $5.95 \text{ mg/l-h}(\text{cm}^2 \text{ (electrode surface area)})$ 이었다.



(a)



(b)

Figure 5. Prediction of the chlorinated phenol reduction rate using Monod equation ((a) Dechlorination rate vs initial chlorinated phenol concentration (b) Fitted result of nitrate reduction by Monod equation) ((a) (■: modeling data, —: modeling) (b) (■: 69 mg/L, ●: 182 mg/L, ▲: 381 mg/L, ▼: 437 mg/L, ◆: 457 mg/L, —: fitted result)).

최대탈염소화 속도 결과 역시, Mohn *et. al*에서 보인 단위미생물 (VSS, volatile suspended solids)에 대한 최대탈염소화속도가 $1.4 \mu\text{mol/h}(20)$ 인 결과보다 높게 나타났다. 따라서 환원된 전극을 전자공여체로 이용하는 생물전기화학적 공정은 미생물처리시스템을 통한 생물적 환경정화가 가능

하고 고농도의 염소화페놀 제거에도 유용하게 작용하여 효과적인 탈염소화 방법이 될 것으로 사료된다.

요 약

미생물이 환원된 전극을 전자공여체로 이용하고, 염소화 페놀을 전자수용체로 이용하는 새로운 혐기성 호흡의 생물전기화학공정을 통해 2,6-DCP을 탈염소시킬 수 있는지를 조사하였다. 이를 위해 전류의 유무에 따른 농도변이와 전극 표면을 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 전류가 흐르는 경우에만 염소화페놀이 완전히 제거됨을 보였으며, 전극표면에 생물막이 형성된 것을 통해서 전극이 전자공여체 역할을 함으로서 탈염소시킬 수 있음을 증명하였다. 또한, 본 연구의 생물전기화학공정을 통해서 고농도의 염소화페놀 적용도 가능한지를 조사하고 Monod식을 이용하여 최대 탈염소화 속도를 산정하였는데 본 실험의 최대초기농도인 457 mg/l 까지 분해가 가능하였으며, 최대탈염소화 속도는 $5.95 \text{ mg/l-h}(\text{cm}^2 \text{ (electrode surface area)})$ 이었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단에서 지원한 기초과학연구지원사업 (과제번호: R01-2003-000-10563-0)의 결과이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Armenante, P. M., D. Kafkewitz, G. A. Lewandowski, and C. J. Jou (1999), Anaerobic-aerobic treatment of halogenated phenolic compounds, *Water Res.* **33**, 681-692.
2. Hwang, H. M., R. E. Hodson, and R. F. Lee (1989), Degradation of phenol and chlorophenols sunlight and microbes in estuarine water, *Environ. Sci. Technol.* **20**, 1002-1007.
3. Gibson, S. A. and J. M. Suflita (1986), Extrapolation of biodegradation results to groundwater aquifers: reductive dehalogenation of aromatic compounds, *Appl. Environ. Microbiol.* **52**, 681-688.
4. ZHANG, X. and J. Wiegel (1990), Sequential anaerobic degradation of 2,4-dichlorophenol in freshwater sediments, *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1119-1127.
5. Lee, H. C., J. H. In, J. H. Kim, K. Y. Hwang, and C. H. Lee (2005), Kinetic analysis for decomposition of 2,4-dichlorophenol by supercritical water oxidation, *Kor. J. Chem. Eng.* **22**, 882-888.
6. Kim, M. H. and O. J. Hao (1999), Cometabolic degradation of chlorophenols by *Acinetobacter* species, *Water Res.* **33**, 562-574.
7. Fava, F., P. M. Armenante, and D. Kafkewitz (1995), Aerobic degradation and dechlorination of 2-chlorophenol, 3-chlorophenol and 4-chlorophenol by a *Pseudomonas pickettii* strain, *Lett. Appl. Microbiol.* **21**, 307-312.
8. Mohn, W. W. and K. J. Kennedy (1992), Reductive dehalogenation of chlorophenols by *Desulfomonile tiedjei* DCB-1, *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 1367-1370
9. Reddy, G. V., M D. Sollewijn Gelpke, and M. H. Gold (1998), Degradation of 2,4,6-trichlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of reductive dechlorination, *J. Bacteriol.* **180**, 5159-5164.

10. Cheng, H., K. Scott, and P. A. Christensen (2004), Engineering aspects of electrochemical hydrodehalogenation of 2,4-dichlorophenol in a solid polymer electrolyte reactor, *Appl. Catalysis* **261**, 1-6.
11. Cong, Y. Q., Z. C. Wu, and T. E. Tan (2005), Dechlorination by combined electrochemical reduction and oxidation, *J. Zhejiang. Univ. Sci* **6B**, 563-568.
12. Cheng, I. F., Q. Fernando, and N. Korte (1997), Electrochemical dechlorination of 4-chlorophenol to phenol, *Environ. Sci. Technol.* **31**, 1074-1078.
13. Weber, E. J. (1996), Iron-mediated reductive transformations: investigation of reaction mechanism, *Environ. Sci. Technol.* **30**, 716-719.
14. Kim, H. J., H. S. Park, M. S. Hyun, I. S. Chang, M. Kim, and B. H. Kim (2002), A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*, *Enzyme microb. Technol.* **30**, 145-152.
15. Bond, D. R. and D. R. Lovley (2003), Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes, *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 1548-1555.
16. Chaudhuri, S. K. and D. R. Lovley (2003), Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells, *Nature Biotechnol.* **21**, 1229-1232.
17. Bond, D. R., D. E. Holmes, L. M. Tender, and D. R. Lovley (2002), Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments, *Science* **295**, 483-485.
18. Gregory, K. B., D. R. Bond, and D. R. Lovley (2004), Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration, *Environ. Microbiol.* **6**, 596-604.
19. Steinle, P., G. Stucki, R. Stettler, and K. W. Hanselmann (1998), Aerobic mineralization of 2,6-dichlorophenol by *Ralstonia sp.* Strain RK1, *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 2566-2571.
20. Mohn, W. W. and K. J. Kennedy (1992), Limited degradation of chlorophenols by anaerobic sludge granules, *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2131-2136.