

Dichlorophenol의 혐기성 분해에 관한 연구

A study on Anaerobic Biodegradation of Dichlorophenol

박 주 석* · 전 연 호**

Park Ju Seuk, Jeon Yeon Ho

Abstract

The purpose of this study was to more fully evaluate the potential for chlorophenol degradation in anaerobic sludge. The pH effects on the ring cleavage of phenol and dechlorination of monochlorophenol isomers and dichlorophenol isomers. This study results are as follows ;

Each of the monochlorophenol isomers were degraded in anaerobic sludge. The relative rates were 2-Chlorophenol > 3-Chlorophenol > 4-Chlorophenol.

Biodegradation results for the dichlorophenol isomers in anaerobic sludge are such as 2,3-dichlorophenol and 2,5-dichlorophenol was reductively dechlorinated to 3-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol to 4-chlorophenol, 2,6-dichlorophenol to 2-chlorophenol. The two dichlorophenol isomers which did not contain an ortho Cl substituent 3,4-dichlorophenol and 3,5-dichlorophenol were persistent during the 6-week incubation.

The rate of dechlorination was enhanced by the presence of a Cl group ortho, rather than para, to the site of dechlorination.

1. 序 論

난분해성 유기화합물은 주로 합성물로서 자연적으로 존재하는 유기물과는 달리 미생물에 의해 쉽게 분해되지 않는데, 이는 기존의 생태계 내에 존재하는 미생물이 난분해성 유기화합물을 분해하여 대사에 이용할 수 있는 효소를 쉽게 생성하지 못하기 때문이다. 국내의 경우

폐놀을 비롯한 난분해성 유기화합물의 질과 양적인 증가로 인한 위협이 증가하고, 산업폐수의 적정처리가 어려운 점에도 불구하고 난분해성 유기화합물의 생물학적 분해에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 또한 생물학적 처리 방법 중 혐기성 처리 공정은 현재 많이 사용되고 있는 호기성 처리 공법의 좋은 대안이 될 수 있기 때문에 이들 난분해성 유기화합물이 혐기성 조건에서의 분해 거동을 이해하는 것이 필요하다. 이와 같은 실질적인 중요성에도 불구하고 혐기성 조건에서의 거동에 관한 과거의 연구는 매우 제한적이었으나, 최근에 와서는 난분해성

*國立서울産業大學校 工科大學 環境工學科 副教授

**삼성건설 (주) 환경팀

유기화합물중에서 잠재적인 오염도가 높은 방향족 유기화합물에 대한 혐기성 분해 연구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 방향족 유기화합물인 Phenol, Monochlorophenol의 Isomers, 그리고 Dichlorophenol의 Isomers를 실험대상 화합물로 하여 혐기성 생분해를 조사하였고, 최적 분해 조건을 규명하기 위하여 단상회분식 실험과 상분리 이론을 이용한 이상회분식 실험을 수행하였다.

2. 실험장치 및 방법

2.1 연구대상 화합물의 선정

본 연구의 실험대상 화합물은 분해 경로에 따른 중간 생성물의 분석과 확인이 용이하고, 환경공학적 중요성을 고려하여 Phenol, Monochlorophenol Isomers, Dichlorophenol Isomers를 실험 대상 화합물로 선정하였다.

2.1 장치

Phenol, Monochlorophenol Isomers, Dichlorophenol Isomers의 혐기성 분해에 관한 연구를 위해 유효용량이 100mL인 Serum bottle을 사용하였으며, 재질이 butylrubber인 마개로 막은 다음 aluminium clamp로 밀봉하였다.

연구 대상 화합물은 각각 1,000mg/L의 Stock Solution으로 제조하여 사용하였으며, 식종슬러지의 양은 총 유효용량의 10%인 10mL를 첨가하였다. 한편, 식종슬러지로부터 발생되는 Background 가스량과 흡차이나 휘발에 의한 손실을 보정하기 위하여 각각 연구대상 화합물을 첨가하지 않은 공시체(blank)와 멸균 공시체(sterile control)를 sample과 동일한 조건에서 배양하였다. 모든 장치와 영양용액은 질소가스로 충분히 flushing 시킨 후 실험에 사용하였으며, Serum bottle은 35°C의 shaking incubater에서 배양하였다.

fig. 1은 Serum bottle의 전체적인 제조 순서를 도식화 한 것이다.

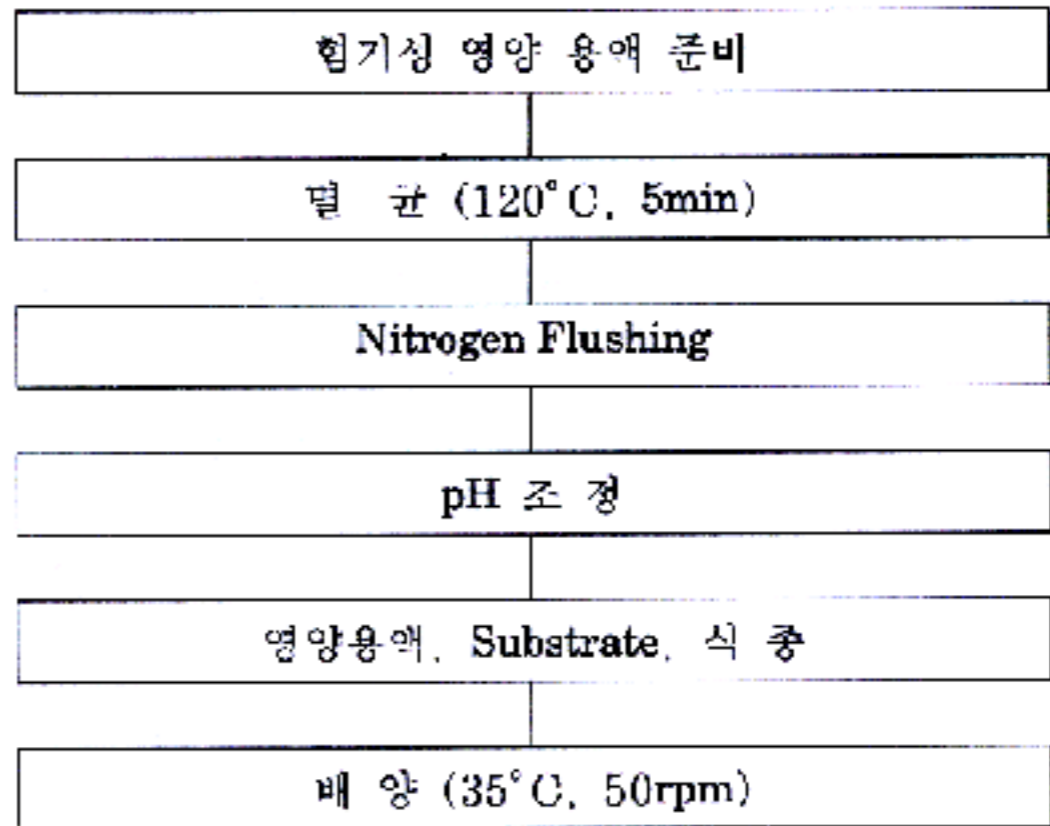


Fig. 1. Serum Bottle 제조순서

2.3 영양 용액

연구대상 화합물의 조제와 식종슬러지의 세척에 사용된 영양용액은 Table 1과 같이 Shelton과 Tiedje(1984)의 방법에 따라 제조하였으며, 영양용액은 1L당 미량원소(trace elements)용액 1mL를 첨가하였다. 영양용액은 약 5분간 멸균시키고 질소가스로 충분히 flushing 시킨 후 사용하였으며, pH는 NaOH와 H₃PO₄

Table 1. 영양용액 및 미량원소의 성분

종류 및 농도(per liter)	
phosphate buffer(adjusted pH 7.0)	
	0.27g of KH ₂ PO ₄
	0.35g of K ₂ HPO ₄
mineral salts	
	0.53g of NH ₄ Cl
	0.075g of CaCl ₂ 2H ₂ O
	0.1g of MgCl ₂ 6H ₂ O
	0.02g of FeCl ₂ 4H ₂ O
trace metals	
	0.5 mg of MnCl ₂ 4H ₂ O
	0.05 mg of H ₃ BO ₃
	0.05 mg of ZnCl ₂
	0.03 mg of CuCl ₂
	0.01 mg of NaMo ₄ 4H ₂ O
	0.5 mg of CoCl ₂ 6H ₂ O
	0.05 mg of NiCl ₂ 6H ₂ O
	0.05 mg of Na ₂ SeO ₃

로 조절하였다.

2.4 분석

발생가스량은 주사기로 측정하였으며, 마찰에 의한 저항을 줄이기 위하여 증류수로 주사기 내부를 세척한 후 측정하였다. 발생가스의 성분은 GC(TCD, model DS 6200, 6m X 2mmID., stainless steel column, Porapak Q, 80/100 mesh, col. 60°C, inj. 80°C, det. 100°C)로 분석하였으며, Phenol, Monochlorophenol Isomers, Dichlorophenol Isomers는 Capillary column(SP8 608, 30m, 0.25mm)을 장착한 GC(FID, model HP-5890A, inj. 150°C, col. 250°C, det. 250°C)로 분석하였다. 기타 분석은 Standard Method에 따랐다.

2.5 링분해 및 탈염소 반응에 대한 pH의 영향

Phenol의 분해와, monochlorophenol Isomers, Dichlorophenol Isomers의 탈염소화 반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 중앙하수처리장에서 채취한 소화슬러지를 2주간 배양한 후 식중슬러지로 사용하여, Table 2와 같은 조건에서 Serum bottle 시험을 실시하였다. 조사된 pH의 범위는 5, 6, 7 및 8이며, 각 pH별로 3개씩 동일한 Serum bottle을 제조하여 일정한 배양기간 후 가스발생량, pH 그리고 농도의 변화를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

페놀의 분해와 Chlorophenol, dichlorophenol의 탈염소화 반응에 대한 실험에 결과는 다음과 같다.

Table 2. pH 영향 실험 조건

	Test Compound	Concentration	pH Range
링분해	Phenol	200mg/L	5, 6, 7, 8
탈염소	Monochlorophenol	50mg/L	5, 6, 7, 8
	Dichlorophenol	50mg/L	5, 6, 7, 8

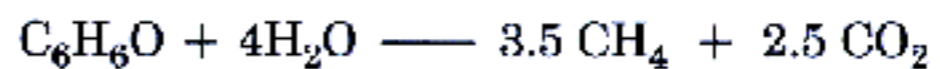
3.1 페놀의 분해에 대한 pH의 영향

Fig. 2는 Serum bottle 내의 초기 pH에 따른 페놀농도의 변화를 나타낸 그림으로서 산성 조건에서의 페놀 분해율이 중성이나 약알칼리성 조건 보다 우수하였다.

이러한 결과는 산성조건이 페놀의 탄산기첨가(carboxylation)반응이나 수소첨가(hydrogenation)에 더 효과적인 것을 의미하며, 초기 페놀농도가 200mg/L일 때 pH 5와 6의 조건에서는 배양기간 5주후 페놀의 분해가 거의 완료되었으나, pH 7과 8의 조건에서는 분해가 이루어지지 않고 있다.

실험에 사용된 식중 슬러지는 2주간 pre-incubation시킨 하수소화슬러지이며, 초기 pH의 조절에는 H₃PO₄와 NaOH를 사용하였다. Fig 3은 pH에 따른 가스발생량을 나타낸 결과로서 산성조건에서의 가스발생량이 더 많았으며, 이는 Fig 2의 잔류 페놀 농도 결과와 잘 일치한다. 한편 Fig 4는 Serum bottle은 배양기간이 길어짐에 따라 증가하는 경향을 보였는데, 이는 bottle 내의 수소이온 농도나 CO₂ 농도가 감소하기 때문인 것으로 보인다.

페놀이 혐기성 분해 과정에서 발생하는 가스량은 Buswell의 식에 의해 예상할 수 있고, 그 반응식은 다음과 같다.



CH₄와 CO₂의 용해도를 보정하면 (Shelton &

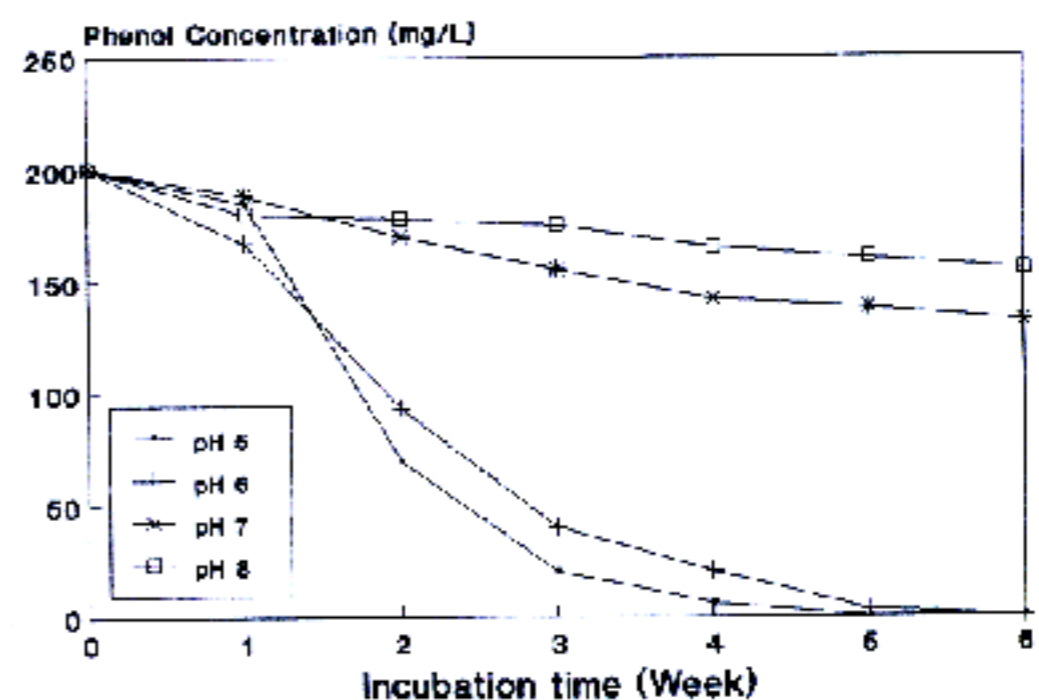


Fig. 2. pH에 따른 페놀의 농도변화

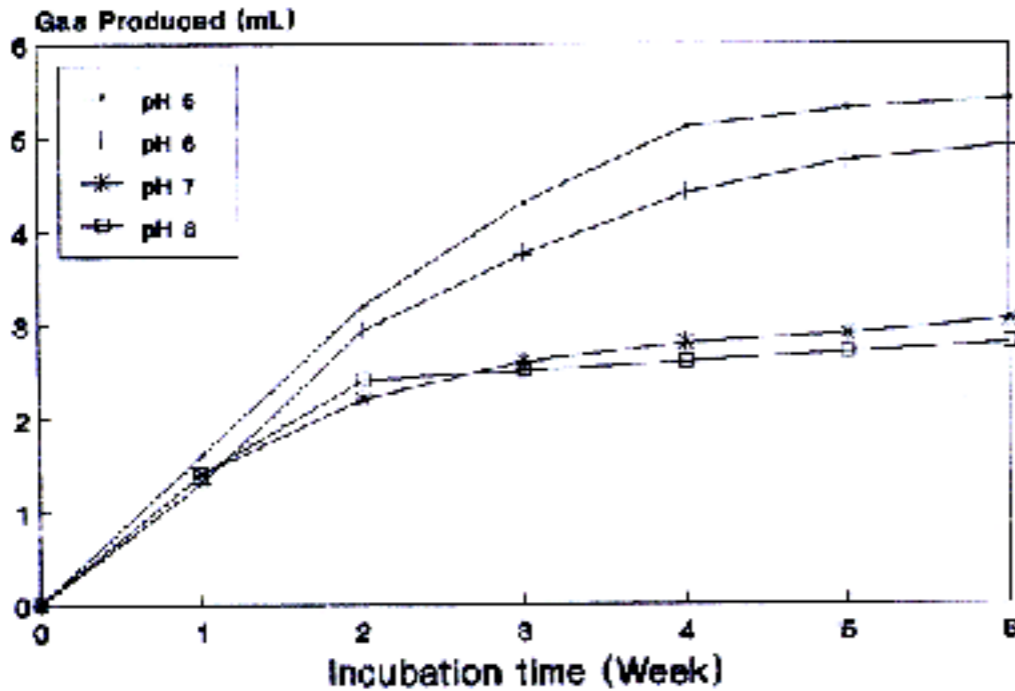


Fig. 3. pH에 따른 가스생성량의 변화

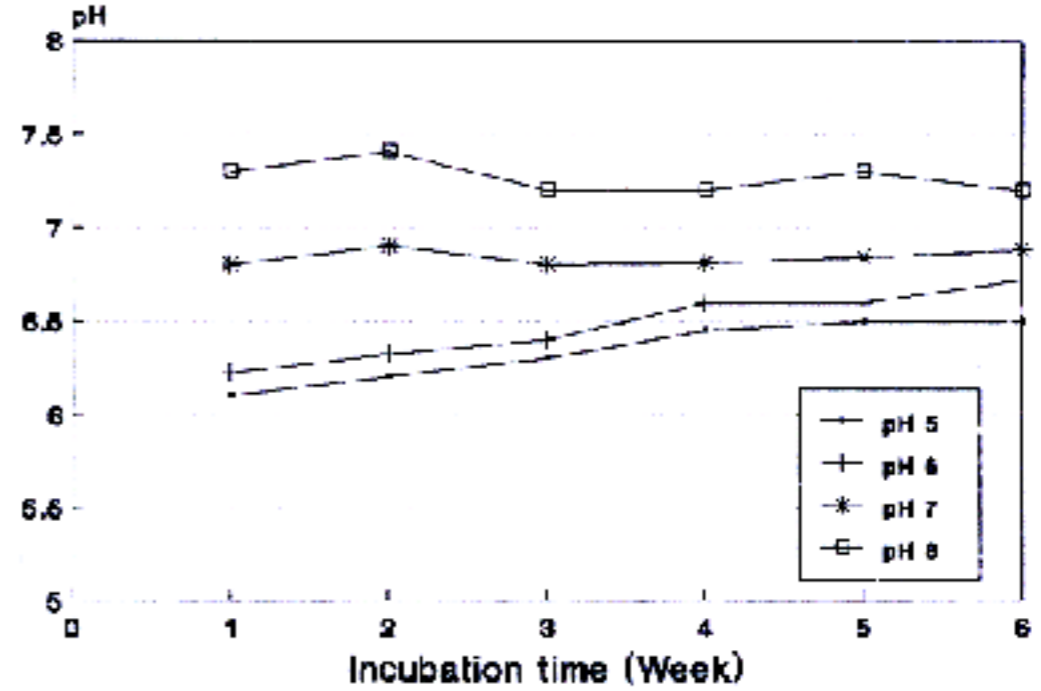
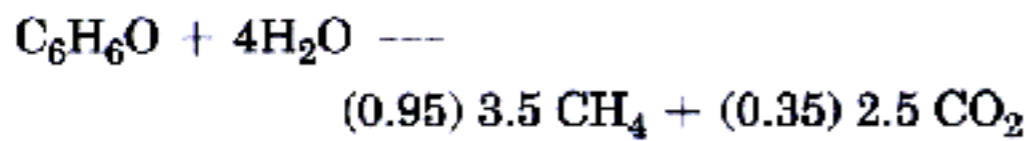


Fig. 4. 배양기간에 pH변화

Tieje, 1984).



여기서, 0.95 = CH₄의 용해도 보정상수(35°C)
0.35 = CO₂의 용해도 보정상수(35°C)
이다.

따라서 초기 페놀농도 200mg/L의 Serum bottle (유효용량 100mL)로부터 생성 가능한 예상 가스 발생량은 약 200mL임을 알 수 있다. 따라서 methanogenic condition에서 수행한 본 실험에서는 약 96%의 페놀이 가스로 전환되었음을 알 수 있으며, 배양 36일만에 페놀이 100% 제거되었다.

3.2 탈염소화(dechlorination)반응에 대한 pH의 영향

3.2.1 Monochlorophenol의 탈염소화 반응

Fig 5, 6, 7, 8은 탈염소화 반응에 대한 pH의 영향을 잔류 Chlorophenol 농도를 측정하여 나타내었다. Chlorophenol 초기 농도는 각각 50mg/L이고, 초기 pH는 각각 5, 6, 7, 8로 조절하여 실험하였다. 다음 결과에 의하면 탈염소화 반응에 대한 pH의 영향은 페놀의 경우와 같이 많은 차이가 나타나지 않았다. 이는 Chlorophenol이 페놀의 경우와 같이 바로 링분해 반응이 일어나지 않고 탈염소화 반응이 먼저 일어나기 때문인 것으로 보인다. 문헌에 보

고된 2-Chloro phenol의 혐기성 분해 기작은 다음과 같은 일련의 연속반응으로 결합된 염소가스가 환원성 탈염소반응(reductive dechlorination)에 의해 수소로 치환되면서 Phenol로 전환된 다음 계속적인 링 분해반응과 산 형성반응에 의해 지방산으로 분해되고, 최종적으로 메탄형성균에 의해 메탄과 이산화탄소로 가스화된다. 그러나 일반적으로 Cl과 NO₂ 등이 페놀에 치환기로 존재하면 이들은 메탄형성 반응을 저해하며, 이들 치환기의 제거나 전환이 전체 분해 반응에서 가장 먼저 진행된다.

결과에 의하면 2-Chlorophenol의 혐기성 생분해 속도는 pH의 영향을 가장 직계 받고 있는 것으로 나타났다. 그러나 3-Chlorophenol과 4-Chlorophenol의 경우에는 pH의 영향을 상대적으로 많이 있는 것으로 나타내고 있다. 3-Chlorophenol의 경우에는 약산성 조건에서는 6주내에 분해가 완료되었으나, 약 알칼리성 조건에서는 6주내에 분해가 다 이루어지지 않고 잔류하였다. 그러나 4-Chlorophenol의 경우에는 pH에 관계없이 분해가 잘 이루어지지 않고 있다. 이는 Chlorophenol의 혐기성 분해는 Cl의 위치와 pH에 따라 분해속도가 다르게 나타났다. Chlorophenol의 혐기성 분해는 Cl의 위치와 pH에 따라 분해속도가 다르게 나타났다. Chlorophenol의 분해속도는 ortho, meta, para의 순으로 결합되는 Cl의 위치에 따라 다르게 나타났다.

Fig 9는 pH에 따른 2-Chlorophenol이 혐기성

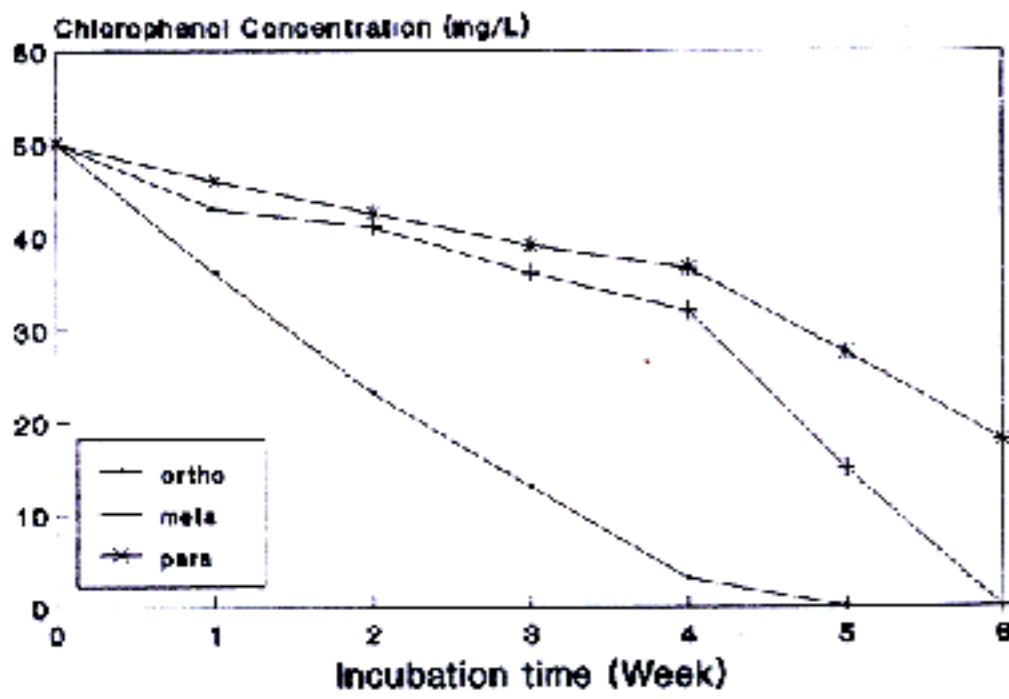


Fig. 5. pH 5일 때 CP 농도 변화

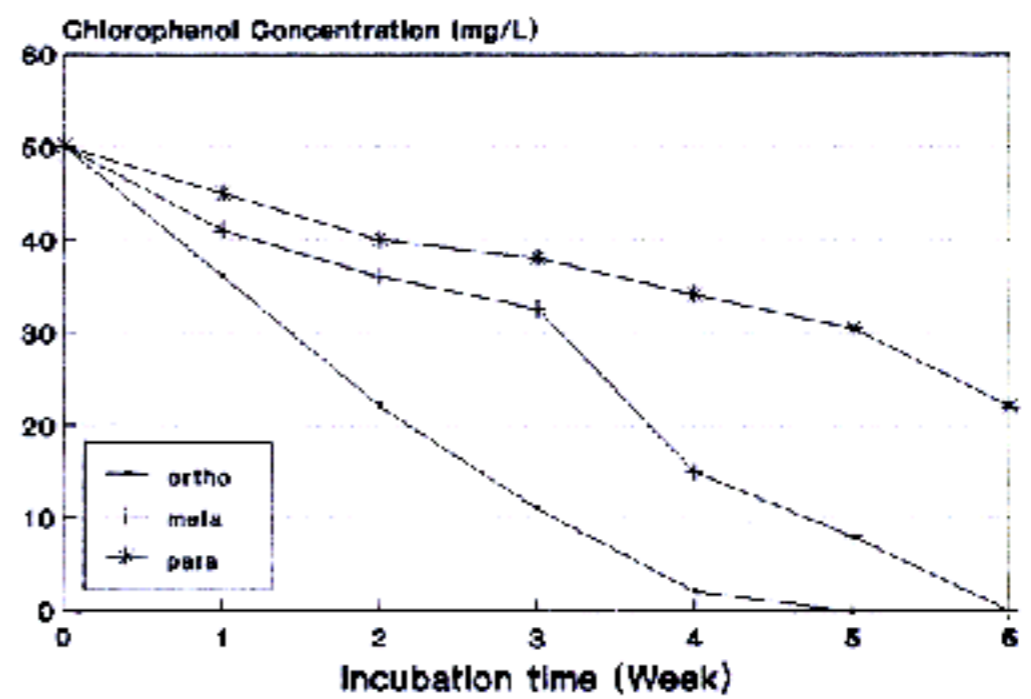


Fig. 6. pH 6일 때 CP 농도 변화

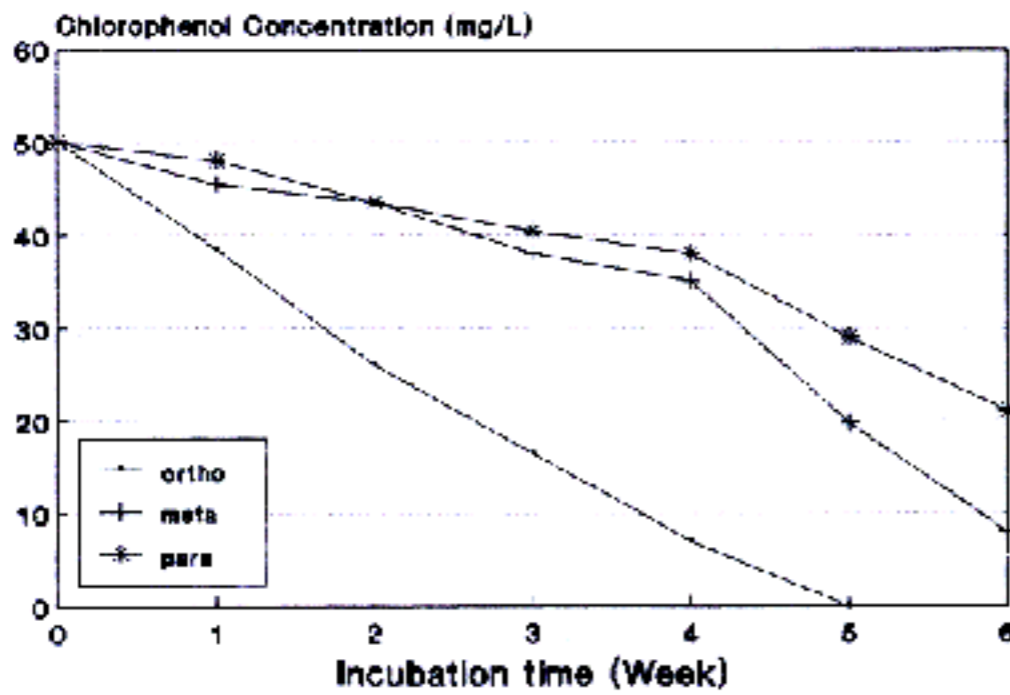


Fig. 7. pH 7일 때 CP 농도 변화

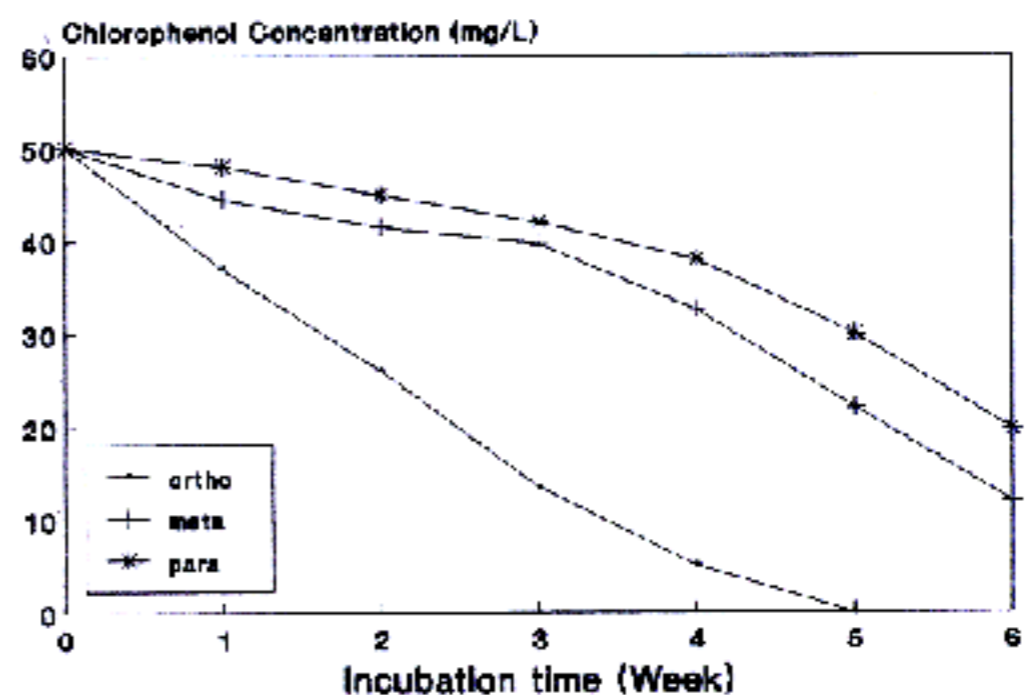


Fig. 8. pH 8일 때 CP 농도 변화

분해과정에서 발생하는 가스량을 나타낸 그림으로서 산성조건의 경우가 약알카리성 조건보다 많은 가스를 발생하고 있었다. 이는 초기 탈염소화 반응 및 벤젠링 분해 반응이 산성조

건에서 더 우수하게 나타내는 것과 잘 일치하고 있다.

Fig 10은 2-Chlorophenol의 혐기성 분해시 pH의 변화를 나타낸 그림으로서 pH 5, 6, 7의 경우에는 중성으로 증가하는 경향을 나타내

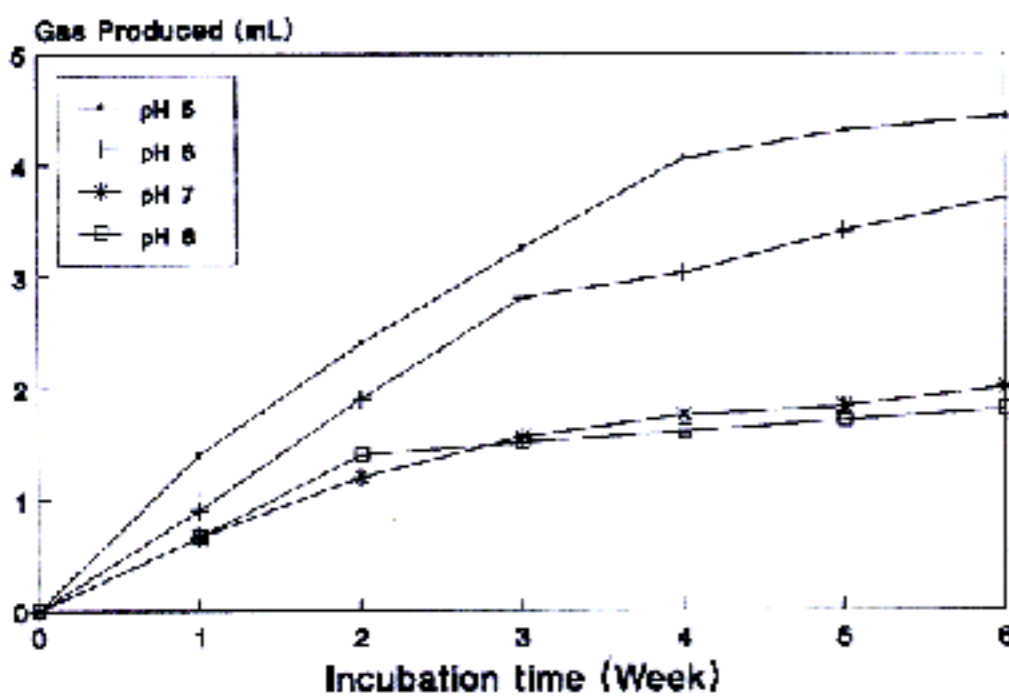


Fig. 9. pH에 따른 CP 혐기성 분해시 평균 가스량의 변화

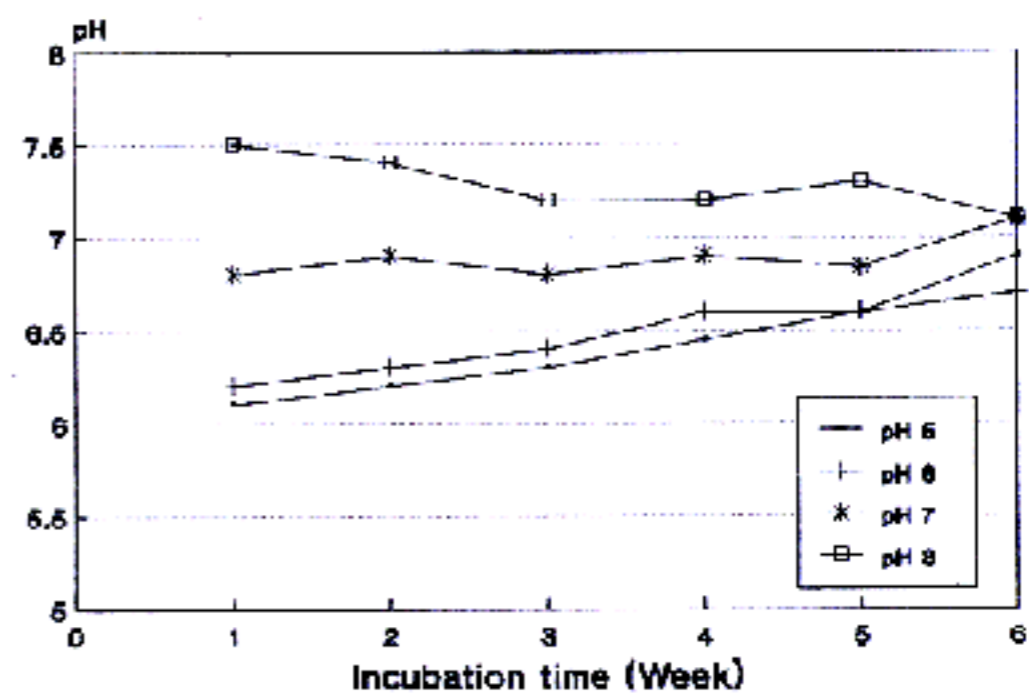


Fig. 10. CP 혐기성 분해시 pH 변화

고 있었다. 그러나 초기 pH의 농도가 8인 경우에는 중성부근으로 감소하는 경향을 나타내었다.

Chlorophenol의 혐기성 분해 기작은 결합된 염소기가 환원성 탈염소화 반응에 의해 수소로 치환되어 페놀로 전환이 이루어진 후 분해반응이 이루어지므로, 페놀의 경우와 같이 많은 차이를 나타내지 않았지만, 페놀의 경우처럼 약산성 조건이 탄산기 첨가 반응이나 수소첨가 반응에 더 효과적인 것을 의미하고 있다.

이와 같이 약산성 조건에서 Chlorophenol의 탈염소화 반응이 알칼리성 조건보다 더 효과적으로 보인다. 한편 배양기간이 길어짐에 따라 pH가 증가하는 경향을 나타내었는데, 이는 bottle내에 수소이온 농도나 이산화탄소 농도가 감소하였기 때문인 것으로 보인다. pH 8의 경우 초기에 감소현상이 나타나고 있었는데 이는 탈염소화 반응이 산성조건보다 늦게 진행되고 있음을 의미하는 것으로 보인다.

3. 2. 2 Dichlorophenol의 탈염소화 반응

Dichlorophenol의 탈염소화 반응의 실험 결과는 다음 Fig 11, 12, 13에 나타내었다. Dichlorophenol의 탈염소화 반응에 대한 pH의 영향은 2,4-Dichlorophenol 한 종류를 대상으로 Monochlorophenol과 동일한 방법으로 실험한 결과로서, Chlorophenol의 탈염소화 반응에

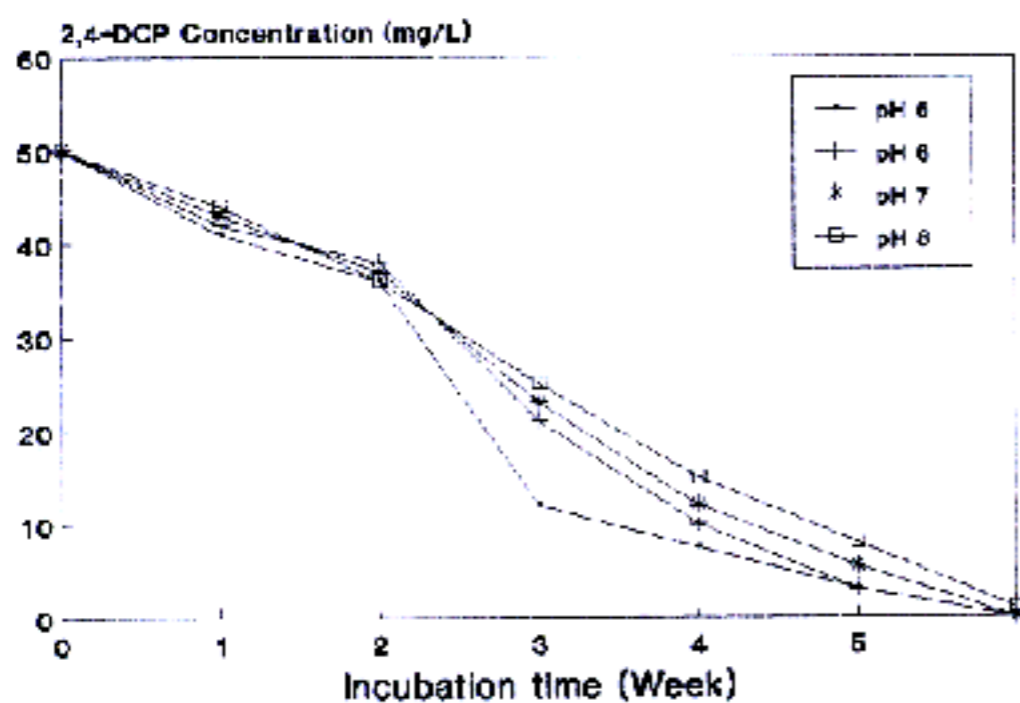


Fig. 11. pH에 따른 2,4-DCP 농도변화

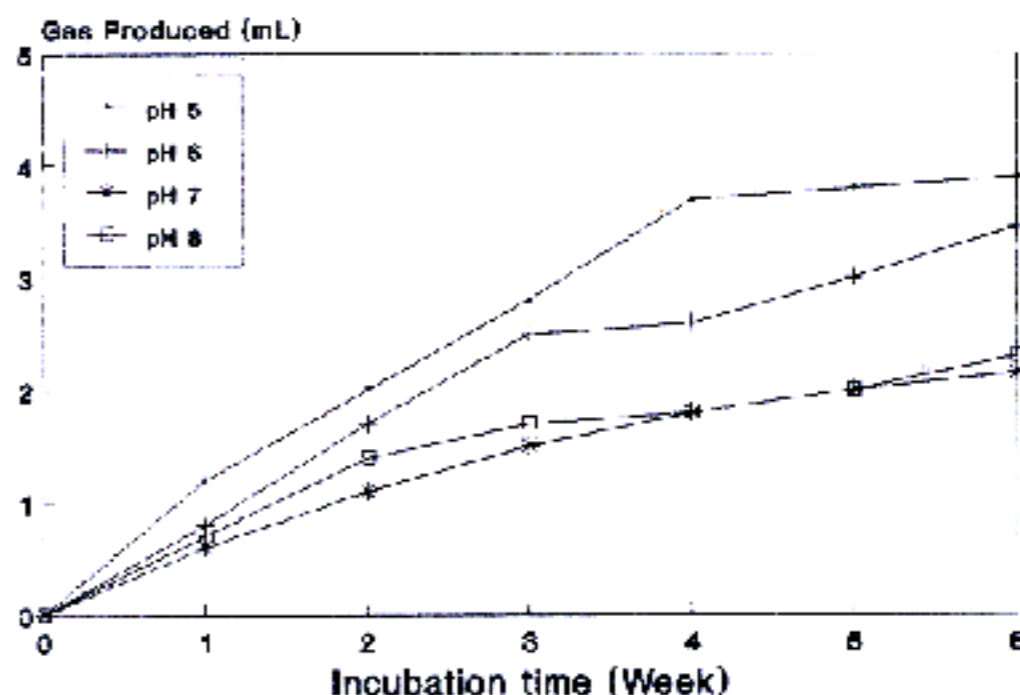


Fig. 12. pH에 따른 2,4-DCP 분해시 가스 생성량 변화

서와 같이 비슷한 결과를 나타내고 있다.

Dichlorophenol의 혐기성 분해가 일어나기 위해서는 문헌에 보고된 바와 같이 탈염소화 반응이 이루어져 Phenol로 전환된 후, Phenol이 일련의 링분해 및 탄산기첨가 반응 과정을 거치면서 최종적으로 메탄과 이산화탄소로 분해가 이루어진다. 따라서 2,4-Dichlorophenol의 경우에도 탈염소화 반응이 선행되어야 혐기성 분해 반응이 시작됨을 알 수 있었다. 2,4-Dichlorophenol의 경우에는 페놀과 Chlorophenol의 경우처럼 pH의 영향을 거의 받지 않고 탈염소화 반응이 이루어지고 있었다. pH 5의 경우에는 다른 경우와 달리 분해속도가 빠르게 나타났다. 그러나 배양 기간중의 pH의 변화는

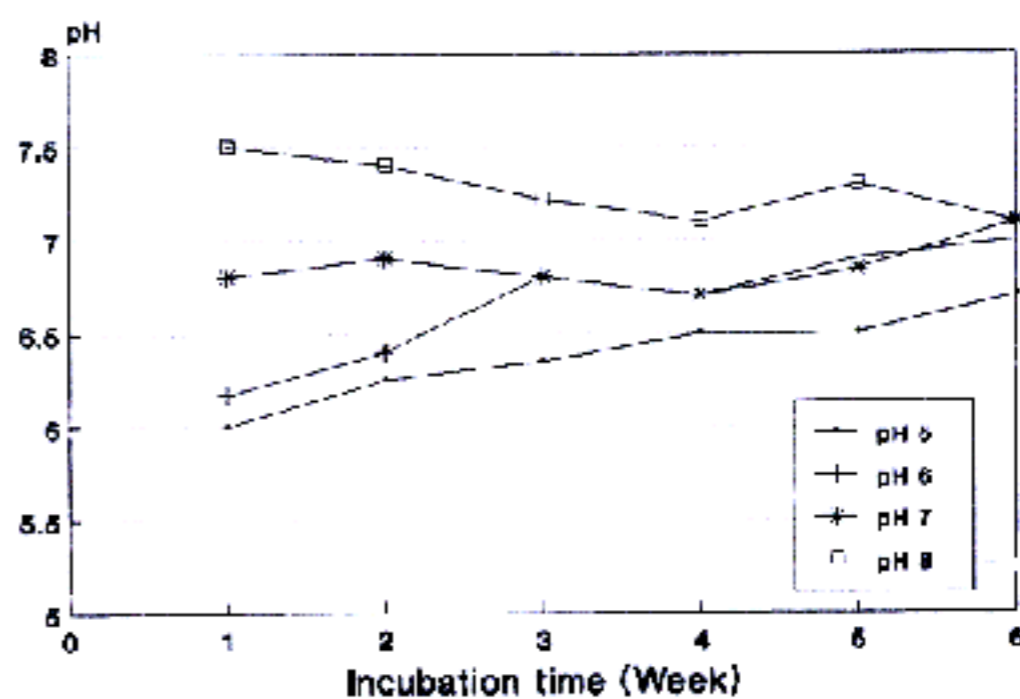


Fig. 13. 2,4-DCP 분해시 pH 변화

Chlorophenol의 경우처럼 동일한 현상을 나타내고, 가스의 발생량은 약산성인 경우에 더 많은 양을 발생하였다. 2,4-Dichlorophenol의 혐기성 분해는 문헌에 보고된 바와 같이 먼저 환원성 탈염소화 반응을 시작으로 4-Chlorophenol로 전환되고 다시 4-Chlorophenol은 환원성 탈염소화 반응에 의해 페놀로 전환된다.

페놀은 탄산기 첨가 반응에 의해 Benzoate로 분해되어 최종적으로 메탄과 이산화탄소로 분해된다.

3.3 Dichlorophenol의 혐기성 분해

Dichlorophenol의 혐기성 분해 반응을 요약하면 치환된 할로젠 원소가 제거되는 생물학적 축매 반응인 환원성 탈염소화 반응, 벤젠링 분

해 반응, 그리고 메탄형성 반응 등의 연속적인 과정으로 이루어지며, 혐기성 조건에서 수행되는 탈염소화 단계는 메탄형성 단계에 의존한다. 또한 염소기의 존재위치가 생분해 과정에서 매우 중요한 인자로 나타났다.

Dichlorophenol Isomers의 혐기성 생분해 결과는 Fig 14에서 Fig 18까지 나타내었다.

상기 실험에서 중요한 사항은 염소기의 위치가 ortho의 위치에 존재하지 않은 3,4- 와 3,5-Dichlorophenol은 혐기성 생분해 반응이 일어나지 않았다. 그리고 나머지 Dichlorophenol Isomers는 분해가 되었다.

분해과정에서 2,3- 과 2,5-Dichlorophenol은 3-Chlorophenol로, 2,4-Dichlorophenol은 4-Chlorophenol로, 2,6-Dichlorophenol은 2-

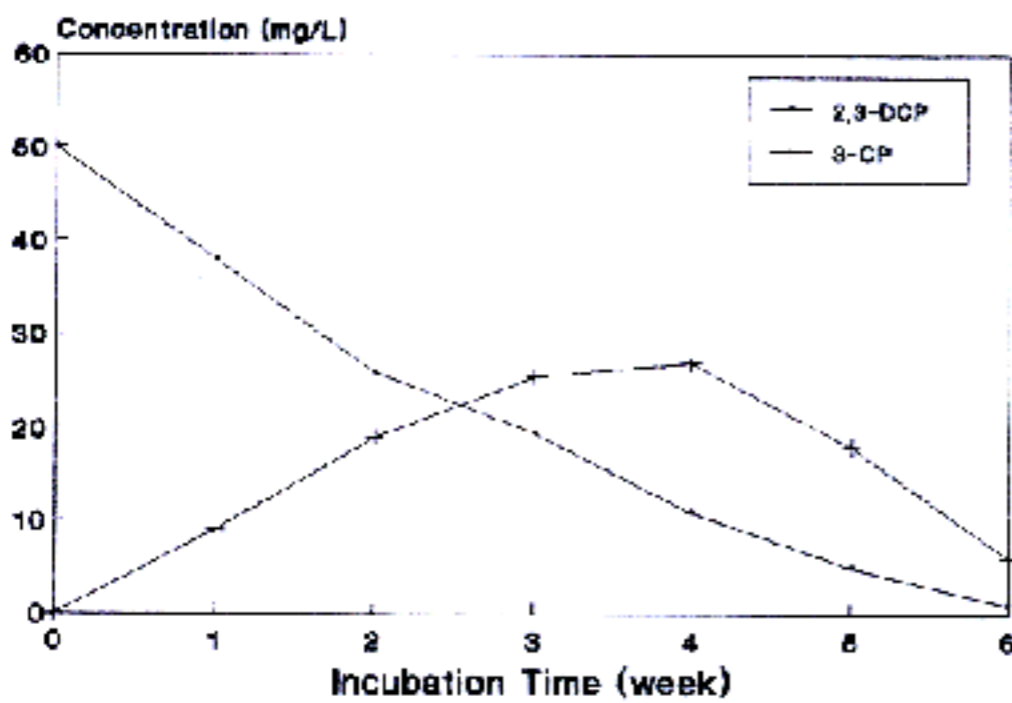


Fig. 14. 2,3-DCP 분해거동

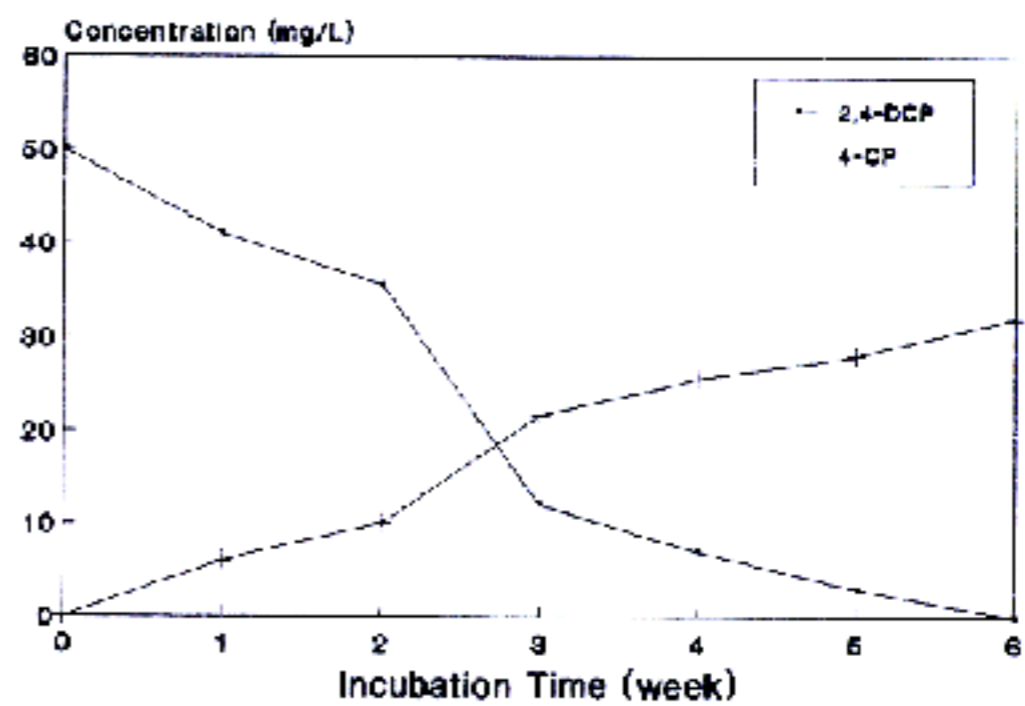


Fig. 15. 2,4-DCP 분해거동

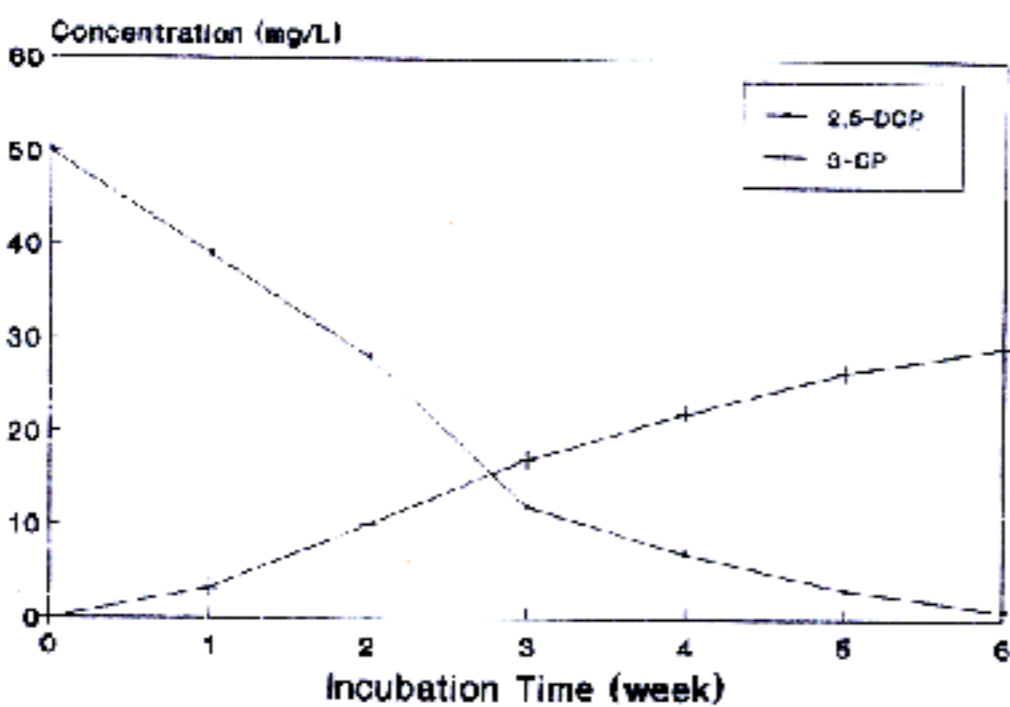


Fig. 16. 2,5-DCP 분해거동

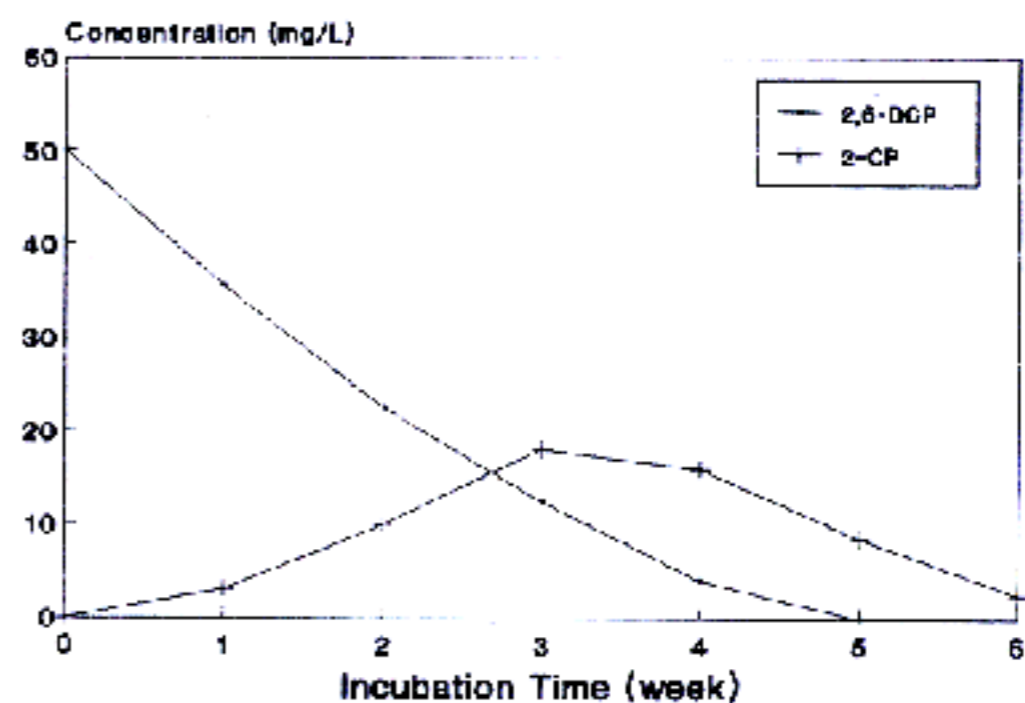


Fig. 17. 2,6-DCP 분해거동

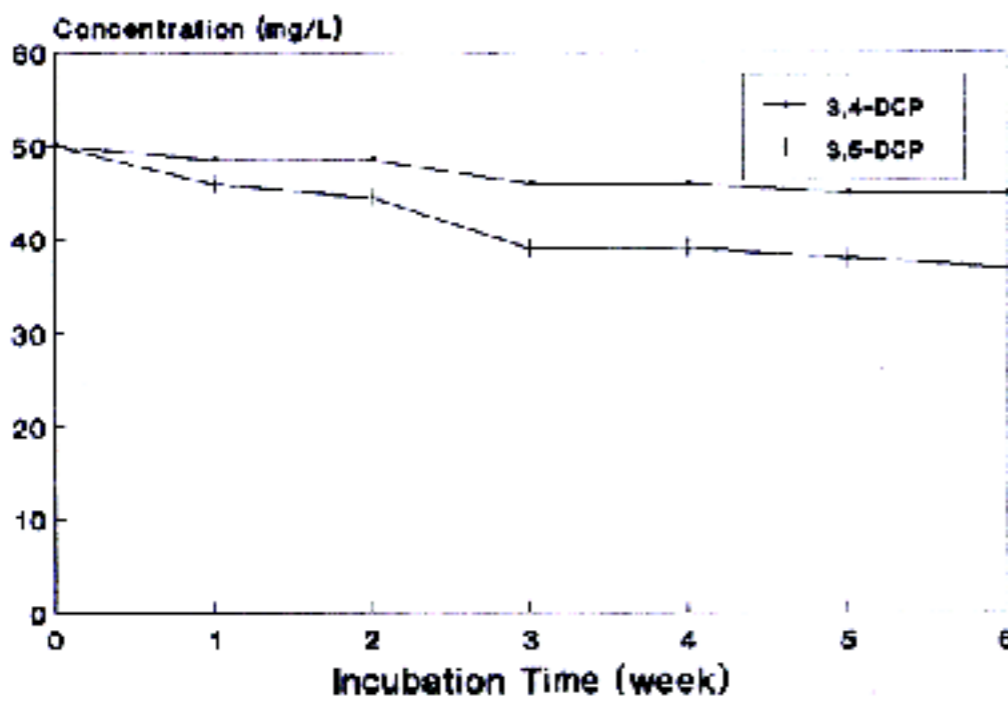


Fig. 18 3,4-DCP와 3,5-DCP 분해거동

Chlorophenol로 각각 전환되었는데, 특이한 사실은 ortho 위치의 염소기가 가장 먼저 치환되어 환원성 탈염소화 반응이 이루어졌다. 따라서 Dichlorophenol의 탈염소화 속도는 ortho 위치의 염소기가 para 위치의 염소기보다 선행함을 나타내고 있다.

4. 결론

페놀의 분해와 Chlorophenol, Dichlorophenol의 탈염소화 반응에 대한 실험에 결과는 다음과 같다.

1. 페놀의 분해에 대한 pH의 영향: 배양 6주까지의 결과에 의하면 중성이나 알칼리성 조건 보다 산성 조건에서의 페놀 분해율이 우수하였다. 초기 페놀 농도가 200mg/L일 때 pH 5와 6의 조건에서는 배양기간 5주후 페놀의 분해가 거의 완료되었으나, pH 7과 8의 조건에서는 분해가 이루어지지 않고 있다.

2. 탈염소화(dechlorination) 반응에 대한 pH의 영향: 탈염소화 반응에 대한 pH의 영향은 페놀과 같이 많은 차이를 보이지는 못했다. 이는 Chlorophenol이 페놀의 경우와 같이 바로 링분해 반응이 일어나지 않고 탈염소화 반응이 먼저 일어나기 때문인 것으로 보인다.

3. Dichlorophenol의 혐기성 분해: 염소기의 위치에 따라 분해 속도가 다르게 나타났으며, Dichlorophenol Isomers 중에서 염소기가 ortho의 위치에 존재하지 않은 3,4- 와 3,5-

Dichlorophenol은 혐기성 생분해 반응이 일어나지는 않는다. 그리고 나머지 Dichlorophenol Isomers는 생분해가 되었다. 분해 과정에서 2,3-Dichlorophenol과 2,5-Dichlorophenol은 3-Chlorophenol로, 2,4-Dichlorophenol은 4-Chlorophenol로, 2,6-Dichlorophenol은 2-Chlorophenol로 각각 전환되었다.

ortho 위치의 염소기가 먼저 치환되어 환원성 탈염소화 반응이 이루어졌다. 따라서 Dichlorophenol의 탈염소화 속도는 ortho 위치의 염소기가 para 위치의 염소기보다 선행함을 나타내고 있다.

참고문헌

1. Tabak, H.H., Quave, S.A., Mashni, C.I., and Barth, E.F. "Biodegradability Studies with Organic Priority Pollutant Compounds", J.WPCF, Vol. 53, No. 10, 1503-1518, 1981.
2. Kobayashi, H., and Rittmann, B.E., "Microbial Removal of Hazardous Organic Compounds", Environ. Sci. Technol., Vol. 16, No. 3, 170A-180A, 1982.
3. Evans, W.C., "Biochemistry of the Bacterial Catabolism of Aromatic Compounds in Anaerobic Environments", Nature, Vol. 270, 1722, 1977.
4. Ghosh, S., and Klass, D., L., "Two-phase Anaerobic Digestion", Process Biochemistry, Vol. 13, 15-24, 1978.
5. Ghosh, S., and Pohland, F.G., "Kinetics of Substrate Assimilation and Product Formation in Anaerobic Digestion", J.WPCF, Vol. 46, 748-759, 1974.
6. McCarty, P.L., "Anaerobic waste Treatment Fundamental-Part one: Chemistry and Microbiology", Public Works, Vol. 95, No. 9, 107-112, 1964.
7. Eckenfelder, W.W. Jr., "Mechanisms of Sludge Digestion", Water & Sewage-Works, June, 207, 1967.
8. Theory and Practice of Biological Waste Treatment. by Curi, K., and Eckenfelder, W.W. Jr., Sijhoff & Noordhoff International Pub. Alphen ann den Rijn, 1980.
9. Grady, C.P.L. Jr., and Lim, H.C., "Biological

- Waste Treatment Theory and Applications", Macel Dekker Inc. New York, 1980.
10. Atlas, R.M., and Bartha, R., "Microbial Ecology : Fundamentals Applications", Addison-Wesley Pub.Co., phillipines, 1984.
 11. Toeren, D.F., Siebert, M.L., and Hattingh, W.H.J., "The Bacterial Nature of the Acid-Forming Phase of Anaerobic Digestion", Water Research, Vol. 1, 497-507, 1967.
 12. Thiel, P.G., Tonericen, D.F., Hattingh, W.H.J., Kotze, J.P., and Sibert, M.L., "Interrelations between Biological and Chemical Characteristics in Anaerobic digestion", Water Research, Vol. 2, 391-408, 1968.
 13. Kirsch, E.J., "Studies on the Enumeration and Isolation of Obligate Anaerobic Bacteria From Digestion Sewage Sludge"; Develop. Ind. Microbiol., Vol. 10, 170-176, 1969.
 14. Mah, R.A., and Susan, C., "Microbiology of Anaerobic Sludge Fermentation-1-Enumerati on of the Nomnethanogenic Anaerobic Bacteria", Appl. Microbilo., Vol. 16, 358-361, 1969.
 15. Kirsch, E.J., and Sukes, R.M., "Anaerobic Digestion in Biological Waste Treatment", Prog. Ind. Microbio., Vol. 9, 155-237, 1971.
 16. Andrews, J.F., and Pearson, E.A., "Kinetics and Characteristics of Volatile Acid Production in Anaerobic Fermentation Process", Internat.Jour.Air & Water Pollut., Vol. 9, 439-461, 1965.
 17. Mckinney, R.E., "Microbiology for Sanitary Engineers", McGrawHill Book Co., New Youk, 1972.
 18. Bergey's "Manual of Determinative Bacteriology", 8th ed. by Breed, R.S., Murray, E.G.D., and Smith, N.R., the Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1974.
 19. Sharak Genthner, B.R., Allen Price 2., and Pritchard, P.H., "Anaerobic Degradation of Chloroaromatic compounds in Aquatic Sediments under a variety of enrichment Conditions" Applied and Enviro. Microbiology, Vol. 55. 1466-1471, 1989.
 20. Krumme, M.L., and Boyd, S.A., "Reductive Dechlorination of Chlorinated Phenols in Anaerobic Upflow Bioreactors" Wat. Res., Vol. 22, No.2, 171-177, 1988.