

Methylosinus trichosporium OB3b를 이용한 2단계 CSTR/살수층 생물막 반응기에서 기상의 trichloroethylene(TCE) 분해

최영범·¹이은열·[†]박성훈

부산대학교 공과대학 화학공학과, ¹경성대학교 공과대학 식품공학과

(접수 : 1999. 6. 1., 게재승인 : 1999. 8. 9.)

Gas-phase TCE Degradation in a Two-stage CSTR/TBR System Using Methylosinus trichosporium OB3b

Young Bum Choi, Eun Yeol Lee¹, and Sung-Hoon Park[†]

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

¹Department of Food Science and Technology, College of Engineering, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

(Received : 1999. 6. 1., Accepted : 1999. 8. 9.)

A two-stage continuous stirred tank reactor (CSTR)/trickling biofilter reactor (TBR) system was developed for the degradation of gas-phase trichloroethylene (TCE) using *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Methylosinus trichosporium* OB3b was immobilized on activated carbons in TBR and the microbial growth reactor of a CSTR was coupled for the reactivation of the deactivated cells during TCE degradation. The effect of operation variables on TCE conversion and degradation rate were studied. At inlet TCE concentrations ranging from 10 to 80 $\mu\text{mol/L}$, TCE degradation rate was increased up to 525 mg TCE/L · day with 75% conversion. The TCE degradation rates were also increased with increase in broth recycle flow rate, gas flow rate and dilution rate. When the temperature of TBR was changed from 30°C to 15°C, TCE degradation rate and TCE conversion were increased due to the enhanced TCE transfer from gas-phase to liquid-phase. The two-stage reactor system was found to be stable and has been operated for more than 270 days.

Key Words : trichloroethylene, *Methylosinus trichosporium* OB3b, trickling biofilter reactor, SMMO

서론

Trichloroethylene(TCE)를 포함한 chloroform, vinyl chloride, dichloroethane, 1,1-dichloroethylene(DCE) 등은 대표적인 염화화합물이다. 이들 염화화합물은 유기용매, 드라이클리닝제, 그리스제거제 등과 같은 용도로 산업현장에서 널리 사용되고 있다(1,2). 그러나, 부적절한 처리과정으로 인해 상당량이 유출되어 지하수, 식수, 토양을 오염시키는 대표적인 오염물질로 알려져 있다(3,4). 이들 중에서도 TCE는 chloroform과 함께 가장 난분해성물질이고, 유전자변이 및 암을 유발하는 등 인체에 강한 독성을 주는 것으로 알려져 있다(5).

현재 이들 염화화합물을 고온에서 연소시키거나 활성탄에 흡착시키는 방법으로 처리하고 있는데, 이 경우는 초기 설비비와 운전비가 과도하다는 단점이 있으며 활성탄 흡착의 경

우 흡착 후 여전히 그 자체는 남아있기 때문에 일련의 2차처리가 요구된다(6). 따라서 효율적이고 완전분해를 할 수 있는 새로운 처리방법이 요구되어지고 있다. 이런 관점에서 미생물을 이용한 생물학적 처리가 많은 주목을 받고 있으며, 기존의 처리방법에 비해 경제적이고 처리 후 최종산물이 무해한 물질이 되는 완전광물화가 일어나기 때문에 2차적인 오염문제도 해결할 수 있다(7).

Wilson 등은 1985년 최초로 TCE 등이 호기적으로 미생물에 의해 무해한 물질로 완전 분해된다고 보고 된 이후에 많은 연구자들에 의해 여러 종류의 미생물들에 의해 TCE와 클로로포름의 분해가 가능함이 밝혀졌다(8). 메탄산화균, 프로판 산화 미생물, 암모니아 산화 미생물, 에틸렌 산화 미생물, 톨루엔, 페놀, 혹은 크레졸 산화 미생물 등이 이러한 예들로 밝혀졌고(9), 이들 대부분의 미생물들은 기질 선택성이 비교적 느슨한 산화효소를 이용하여 TCE를 생분해시키며 효소의 활성은 대개 미생물의 성장에 필요한 기질의 공급에 의해 유도되었다. 이들 미생물을 이용하여 염화화합물을 효과적으로 처리하기 위해서는 미생물 대량배양의 용이성, 효소활성 안정성, 온도나 pH의 영향, 경쟁 저해제의 영향, 오염물질의 성상 등 여러 요인을 검토하여 적절한 균주를 선택하여 반응기를 설계하고 운전하는 것이 요구된다.

[†] Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Tel : 051-510-2395, Fax : 051-512-8563

e-mail : shpark0@hyowon.cc.pusan.ac.kr

메탄산화균(metanotroph)이 호기적 조건하에서 TCE를 공대사과정을 통해서 분해할 수 있으며, 높은 TCE 분해능으로 인하여 많은 주목을 받아왔다(10,11). TCE를 포함한 염화화합물은 미생물에 탄소원과 에너지원으로 쓰이지 않고 다만 공대사과정에 의해 분해되며(12,13) 또한 분해중간산물이 미생물에 미치는 강한 독성으로 인해 안정된 반응기 운전, 어려움이 많았다. 메탄산화균을 이용한 TCE 분해를 위한 생물반응기는 다공성 bead에 미생물을 부착시켜 사용하는 생물막 반응기가 있으며, 현탁 생물반응기에 비해 단위부피당 높은 세포농도를 얻을 수 있어 결과적으로 단위 부피당 촉매량의 증가로 인해 높은 분해 속도를 기대할 수 있다. 또한 유기용매를 분해할 때 발생하는 세포사멸이 생물막의 외부 부분에서만 일어나므로 내부에 존재하는 미생물들이 다시 성장하여 생물막을 재형성하므로 일반적으로 순간적인 과부하에 대한 저항성이 우수하다는 장점도 있다(14-18). 그러나, 1단 생물막 반응기의 단점으로는 TCE 및 TCE 분해산물의 독성이 매우 높아 미생물의 분해능에 치명적인 영향을 주어 결과적으로 장기간 운전이 불가능해질 수도 있다. 이러한 현상을 막기 위하여 간헐적으로 성장 기질인 메탄 등을 공급해주기도 하나, 이 경우 메탄에 의한 경쟁적 저해 효과로 인하여 분해 속도 저하가 일어날 수도 있다(19,20). 그러므로 trickling biofilter reactor (TBR)내에서 일어나는 세포 및 분해효소 활성저하를 막아주고 장기간 운전을 위해서는 미생물 성장반응기를 포함하는 2단 생물막 반응기의 개발이 필요하다(21-24). 따라서 본 연구에서는 높은 TCE 분해속도 및 장기간 안정된 운전을 위하여 2단 continuous stirred tank reactor(CSTR)/TBR를 개발하고자 하였고, 개발된 반응기의 유용성을 평가측면에서 다른 연구자들의 결과와 비교하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양조건

본 실험에 사용된 *Methylosinus trichosporium* OB3b는 미국 Lawrence Livermore 국립연구소 생물의학연구부(Biomedical Sciences Division)의 R. T. Taylor 박사로부터 제공받았으며, 균체 배양에 사용된 배지는 Higgins nitrate minimal salt medium(Higgins 무기 질산염 최소배지, 이하 HNM배지라 칭함)으로 질소원의 조성을 조정하고 구리 이온의 농도를 조정하여 사용하였다. 플라스크 배양은 진탕배양기(Model KMC-8480sf, Vision과학, 서울)를 이용하여 교반속도 250 rpm, 온도 30°C에서 행하였다. 플라스크는 300 mL 용량의 마개 달린 플라스크를 사용하였고 배양액 부피는 30 mL, 균체의 접종량은 2 mL이었다. 기체 기질(메탄과 공기)은 gas proportioner(II 60648, Cole-Parmer, USA)를 통해 3:7의 비율로 섞은 후 플라스크의 시료 채취용 가지를 통해 주입하였다.

세포 농도의 측정

세포농도는 분광광도계(Spectronic 20, Milton Roy Inc., USA)를 이용, 파장 660 nm에서 흡광도(Absorbance, A660)를 측정하고 미리 구한 검량선으로 보정하여 결정하였다. 세포농도가 낮을 때는 시료의 채취없이 바로 흡광도를 측정하

였고, 고농도에서는 sampling port로부터 배양액을 취한 후 회석하여 10 mm cuvette으로 측정하였다.

MMO(Methane monooxygenase) 효소의 활성 측정

균체내 MMO활성은 propylene을 기질로 propylene oxide의 생성속도로 결정하였다. MMO활성은 메탄의 소비속도나 메탄올의 생성속도로 나타내는 것이 정상이나 메탄의 소비속도는 측정시 오차가 크고, 메탄올의 생성속도는 생성된 메탄올이 계속적으로 산화되므로 정밀한 측정이 어렵다. 따라서 일단 생성되면 더 이상 산화되지 않는 안정된 propylene을 기질로 선택하여 propylene oxide의 생성속도를 측정함으로써 MMO활성을 구하였다(25,26).

TCE의 분석

주입부와 유출부에서 1000 μ l gas syringe로 rubber septum을 통하여 200~400 μ l의 gas sample을 채취하여 불꽃이온검출기(FID)가 장착된 가스크로마토그래프(Hewlett Packard 5890, U.S.A.)로 분석하였다. TCE 분석에 사용된 컬럼은 직경 1/8 inch에 길이가 6 ft인 stainless steel 컬럼으로 0.1% AT 1000을 담지한 80/100 mesh의 graphac C 분말(Alltech Inc., U.S.A.)로 충전시켰다. 오븐과 검출기, 주입부의 온도는 150, 190, 170°C였으며 운반기체로는 질소 30 mL/min을 사용하였다.

기체 시료의 분석

메탄과 CO₂, 공기 등의 기체농도는 porapak Q (Alltech, USA)를 담지한 6ft stainless steel 컬럼을 이용하여 영인 가스크로마토그래피(영인과학, 서울)의 열전도도 검출기(TCD)로 분석하였다. 이때 오븐과 검출기, 주입부의 온도는 각각 40, 80, 80°C였으며 운반기체로는 30 mL/min의 헬륨을 사용하였다.

생물반응기 접종 및 배양조건

생물반응기 접종을 위한 플라스크 배양은 진탕배양기(Model KMC-8480sf, Vision 과학, 서울)를 이용하여 교반속도 250 rpm, 온도 30°C에서 행하였다. 플라스크는 1 L 용량의 삼각 플라스크를 사용하였고 배양액 부피는 70 mL였다. 기체기질(메탄과 공기)은 gas proportioner(II 60648, Cole-Parmer, USA)를 통해 3:7의 비율로 섞은 후 플라스크의 시료 채취용 가지를 통해 주입하였다. 플라스크에서 24시간 배양 후 생물반응기에 접종하였고, 메탄과 이산화탄소를 포함한 공기를 각각 200, 450 mL/min의 유속으로 0.22 μ m 필터를 거쳐 연속적으로 공급하였다. HNM배지는 1 mL/min의 유속으로 연속적으로 공급하여 희석속도가 0.017 hr⁻¹가 되게 하였다. 성장반응기에서 균체량을 형성한 세포는 활성탄이 충전되어있는 분해반응기를 거쳐 재순환하고 일부는 배출되었다.

반응기 디자인

반응기는 두 부분으로 이루어졌다. 가스기질인 메탄과 공기, 그리고 배지가 연속적으로 공급되어 미생물이 성장할 수 있는 성장반응기와 성장반응기에서 자란 미생물과 기상의 TCE가 공급되어 TCE 분해가 일어나는 분해반응기로 구성

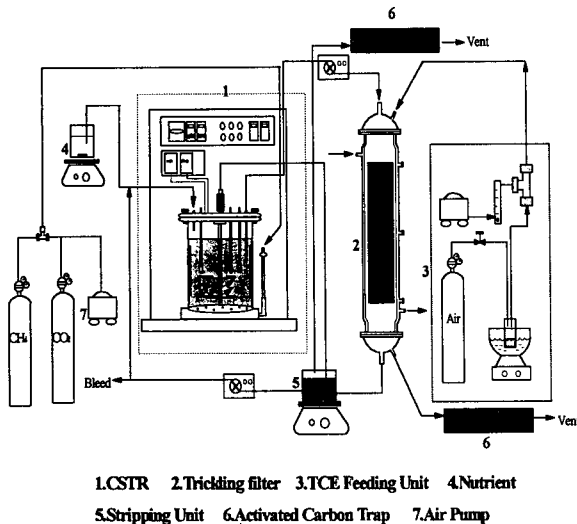


Figure 1. Schematic diagram of two-stage CSTR/TBR system for gas-phase TCE degradation.

되어 있다(Figure 1). 성장반응기로는 5 L 생물반응기(KFC-5L, 한국 발효기 주식회사, 인천)가 사용되었고 온도 30°C, 배양액 부피 3.5 L였다. 교반속도는 전 실험에 걸쳐 500 rpm으로 유지하였다. 가스기질인 메탄과 10% 이산화탄소를 함유한 공기의 비율은 3:7로 유지하였다. 모든 가스는 반응기에 공급되기전 각각 0.45 μm 필터와 0.22 μm sterilized filter를 통과 시켰고, 각 가스의 유량은 mass flow meter(GEM17, GEM37, AALBORG, New York)와 gas proportioner(Cole-Parmer, USA)를 통하여 각각 조절하였다.

분해반응기는 원통형의 유리로 만들었고, 내경 7 cm, 전체 길이 55 cm, 부피 2.1 L였다. 반응기 중간에 20 cm 높이로 활성탄(야자계 활성탄; 외경, 0.85~3.18 mm; 부정형)을 충전시켜서 미생물막을 형성시키도록 설계하였다. 활성탄은 stainless steel 망으로 받쳐졌고, 반응기아래에 15 cm의 여백을 두어 물이 활성탄에 차지 않도록 하였다. CSTR에서 들어온 배양액은 distributor를 통해 활성탄 표면에 골고루 분산되게 하였다. 온도제어를 위해 water jacket을 설치하고 항온조와 연결시켰다. CSTR과 TBR의 연결관은 모두 viton tubing과 teflon 테이프를 사용하여 TCE 흡착 및 소실을 최소화하였다. CSTR에서 자란 균체는 연동펌프를 통하여 TBR로 공급되며 TBR에서 기상으로 주입된 TCE를 분해하게 된다. TBR을 통과한 액체는 잔여 TCE를 없애기 위하여 stripping unit에서 CSTR로부터 나온 기체를 이용하여 stripping 시킨 후 다시 CSTR로 들어가게 하였다.

결과 및 고찰

2단 생물막 반응기 운전

미생물성장반응기(CSTR)에서는 TCE 분해효소인 sMMO를 최대로 발현할 수 있는 배양 조건을 유지하는 것이 필요하다. 따라서, 본 연구에서도 문헌 및 회분배양에서 구한 최적조건을 토대로 CSTR을 운전하였다. 회석속도는 0.017 hr^{-1} , 메탄과 공기의 유속은 각각 0.2와 0.45 L/min를 유지시

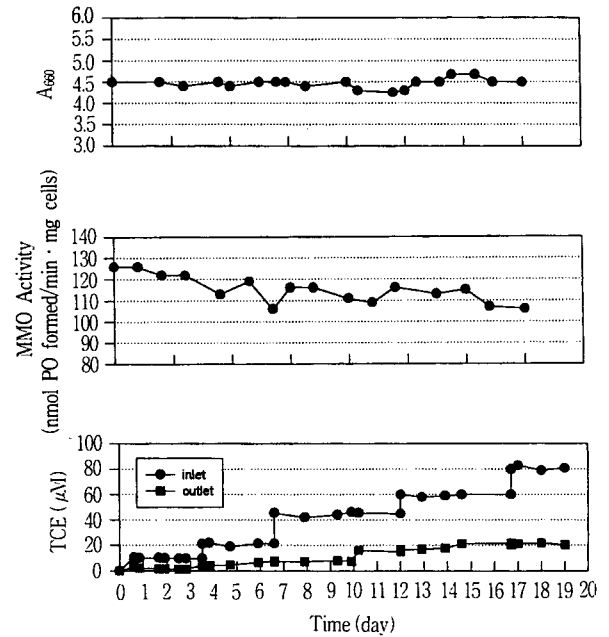


Figure 2. Time course of cell density of CSTR, sMMO activities and TCE concentrations in inlet and outlet of TBR at various inlet TCE concentrations.

켰고, 이 때 CSTR에서의 균체량은 2.1~2.2 mg/mL로 유지되었다. 생물반응기는 메탄화착균 순수배양액으로 접종하고 운전하였고, 장기운전에 따른 약간의 오염이 있었으나 plate counting시 5% 미만의 오염이 일어났으며 TCE분해에는 큰 영향을 미치지 않았다.

유입부 TCE 농도에 따른 영향

TBR 반응기에서 유입부 TCE농도의 TCE 전화율과 분해 속도에 대한 영향을 살펴보기 위하여 TCE농도를 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol/L}$ 로 변화시키면서 유출부에서의 TCE 농도를 조사하였다. TBR로 유입되는 배양액 순환(broth recycle) 속도는 100 mL/min, TCE를 포함한 기체의 유속은 100 mL/min, CSTR에서의 회석속도는 0.017 hr^{-1} , TBR의 온도는 30°C를 각각 유지하였다.

유입부 TCE농도 증가에 따른 CSTR에서의 세포농도 변화 및 sMMO활성 변화와 TBR에서의 유입부 및 유출부에서의 TCE 농도 변화가 Figure 2에 제시되어 있다. CSTR에서의 균체량은 유입TCE 농도가 증가되어도 일정하게 유지된 반면, sMMO의 활성은 유입부의 TCE농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 80 $\mu\text{mol/L}$ 의 TCE농도에서는 TCE를 공급하지 않았을 때와 비교시 약 18% 정도의 sMMO 활성 감소를 보여, TCE분해가 많이 일어날 수록 sMMO의 활성이 떨어짐을 알 수 있었다. 유입 TCE농도를 80 $\mu\text{mol/L}$ 이상으로 증가시키면 2~3일 이후에 CSTR에서 세출(washout) 현상이 발생되어 안정한 반응기 운전이 불가능하였으며, 이는 CSTR에서 세포를 활성시키는 속도보다 TBR에서 독성으로 인한 세포 사멸속도가 더 크기 때문이다. 따라서 본 연구에 제작된 2단 생물막반응기는 80 $\mu\text{mol/L}$ 정도의 고농도까지 반응기 운전이 가능함을 알 수 있었으며, 그

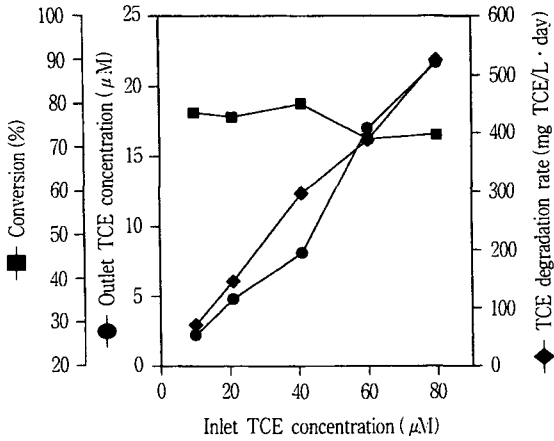


Figure 3. Effect of inlet TCE concentration on TCE conversion and removal rate.

이상의 농도에서는 TCE 및 분해산물의 극심한 독성으로 인해 반응기 운전이 불가능하다는 것을 확인하였다.

유입부 TCE 농도변화에 따른 TCE 전화율 및 분해속도가 Figure 3에 제시되어 있다. 유입부 TCE농도가 10 μmol/L에서 80 μmol/L로 증가되면 TCE 분해속도는 85에서 525 mg TCE/L · day로 증가하였다. 전화율은 유입부의 TCE농도와 관계없이 약 70~80% 정도로 일정한 효율을 나타내었다.

배양액 순환속도 영향

유입부 TCE농도는 40 μmol/L, 기체유속은 100 mL/min, TBR의 온도는 30°C, CSTR에서의 회석속도는 0.017 hr⁻¹로 고정된 상태에서 CSTR에서 TBR로 가는 배양액 순환속도를 변화시키면서 반응기를 운전하였다. 배양액 순환속도를 5, 10, 25, 50, 100 mL/min로 변화시키면서 2단계 반응기 시스템을 운전한 결과, 운전 기간동안 CSTR에서의 균체량과 TBR의 유입부에서 sMMO 활성은 일정하게 유지되었다 (Figure 4). 그러나, TBR의 유출부에서의 sMMO 활성은 25, 50, 100 mL/min 배양액 순환속도에서는 일정하게 유지된 반면 5, 10 mL/min 유속에서는 활성이 감소하는 결과를 보였다. 5, 10 mL/min에서의 유입부 세포의 sMMO 활성 대비 유출부에서의 sMMO 활성은 각각 40, 15% 정도 감소하였으나, TCE 전화율은 동일하였다(Figure 4). 배양액 순환 속도가 25 mL/min에서 5 mL/min로 감소시키면 TCE 전화율은 같은 반면 TBR 유출부에서 sMMO 활성이 감소하였는데, 이는 배양액 순환 속도가 작을수록 동일한 양의 TCE를 처리할 때 세포당 받은 TCE에 의한 상대적인 독성이 증가되어 sMMO 활성의 감소가 일어난 것으로 해석할 수 있다. 그리고, TBR에서 감소된 sMMO 활성이 CSTR 통과 후에 다시 동일한 값으로 유지되었다는 것은 TBR에서의 sMMO 활성 감소가 회복이 불가능할 정도로 치명적이지 않아서 CSTR에서 세포가 그만큼 쉽게 재활성되었다는 것을 의미한다.

배양액 순환 속도 변화에 따른 TCE 전화율 및 분해속도가 Figure 5에 제시되어 있다. 배양액 순환 속도가 5, 10, 25, 50, 100 mL/min으로 증가함에 따라 TCE분해속도는 낮은 유속(5, 10, 25 mL/min)에서는 TCE 전화율 및 분해속도

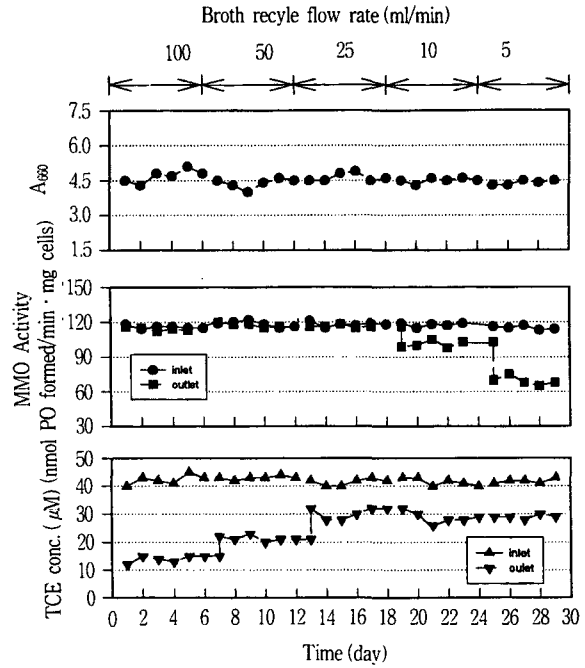


Figure 4. Time course of cell density of CSTR, sMMO activities and TCE concentrations in inlet and outlet of TBR at various broth circulation rates.

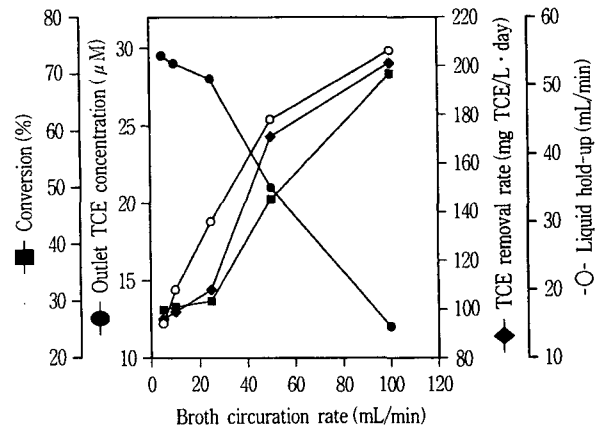


Figure 5. Effect of broth circulation rate on TCE conversion and removal rate.

가 일정하다가 높은 유속(50, 100 mL/min)에서는 95 mg TCE/L · day에서 205 mg TCE/L · day까지 직선적으로 증가하였다. 이는 배양액 순환 속도 증가로 인하여 TBR내의 배양액 hold-up이 증가하였고, 이에 따라 TCE 전화율 및 분해속도가 증가한 것으로 해석할 수 있다.

기체유속의 영향

유입부 TCE 농도는 40 μmol/L, 배양액 순환속도는 50 mL/min, TBR 온도는 30°C, CSTR에서의 회석속도를 0.017 hr⁻¹로 유지한 상태에서 기체유속을 50, 100, 200, 400, 600 mL/min으로 변화시키면서 TCE 전화율 및 분해속도를 살펴

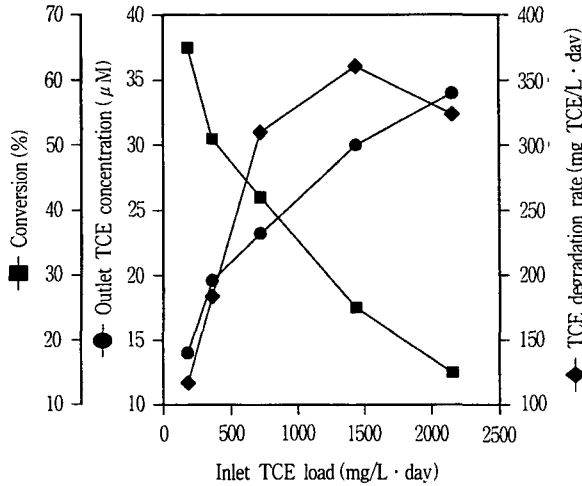


Figure 6. Effect of gas flow rate containing TCE on TCE conversion and removal rate.

보았다. 반응기 운전동안 CSTR에서 균체량은 일정하게 유지되었으며, CSTR 및 TBR 유입부 및 유출부에서 sMMO 활성도 일정하게 유지되어 이 운전조건에서는 TCE를 안정적으로 분해할 수 있었다(data not shown).

TCE 분해속도는 기체 유속 증가에 따라 낮은 유속에서는 분해속도가 직선적으로 증가하다가 200 mL/min(718.6 mg/L·day) 이상의 높은 유속에서는 일정하게 나타났으며, 최고 TCE 분해속도는 350 mg/L·day이었다(Figure 6). 이는 기체 공급 유속증가와 함께 TCE 분해속도가 증가된 것은 기체유속이 증가됨에 따라 단위시간당 공급되는 TCE 양이 증가되었기 때문이다. 전화율은 낮은 유속 (50, 100 mL/min)에서는 50% 이상으로 높은 편이었으며, 높은 유속에서는 전화율이 감소하였다. 기체유속이 높은 경우 TCE 분해속도는 상대적으로 높지만 전화율이 낮으므로 효율적이지 못하며, 유속이 너무 작으면 분해속도가 낮아 효율적이지 못하므로, 적절한 TCE 분해속도와 전화율을 줄 수 있는 조건에서 반응기의 운전이 필요하다. 본 연구에서 개발된 2단계 반응기 시스템의 경우 50(179.7) 및 100 mL/min(359.3 mg/L·day)의 유속에서는 전화율은 높았으나 TCE 분해 속도는 다소 낮은 편이며, 200 mL/min(781.6 mg/L·day) 이상의 유속에서는 TCE 분해속도는 거의 동일하지만 전화율이 떨어지므로 200 mL/min(781.6 mg/L·day) 정도의 유속이 가장 적절하다고 판단된다.

TBR 온도 영향

유입부 TCE 농도는 40 μmol/L, 배양액 순환 속도는 50 mL/min, 기체 유속은 100 mL/min, CSTR의 회석속도는 0.017 hr⁻¹으로 유지한 상태에서 TBR에서의 온도 변화가 TCE 전화를 및 분해속도에 미치는 영향을 살펴보았다. 우선 TBR에서의 온도를 15, 20, 23, 25, 30°C로 변화시킬 때 CSTR에서의 균체량 변화, CSTR 및 TBR 유입부 및 유출부에서의 sMMO 활성에 미치는 영향을 살펴보면, 여러 온도 조건에서 균체량 및 sMMO 활성을 유지하고 있어 넓은 범위의 온도 조건에서 TCE를 안정적으로 처리할 수 있음을

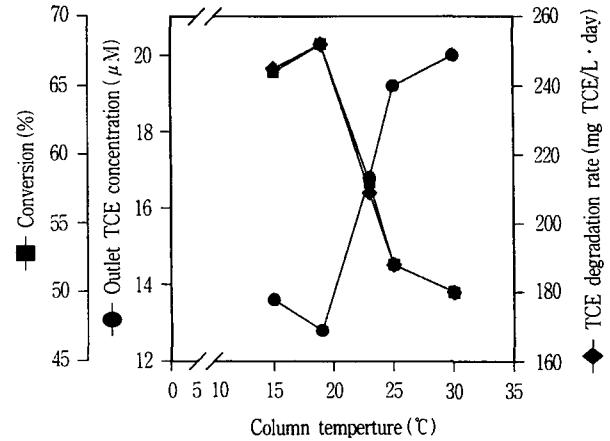


Figure 7. Effect of TBR temperature on TCE conversion and removal rate.

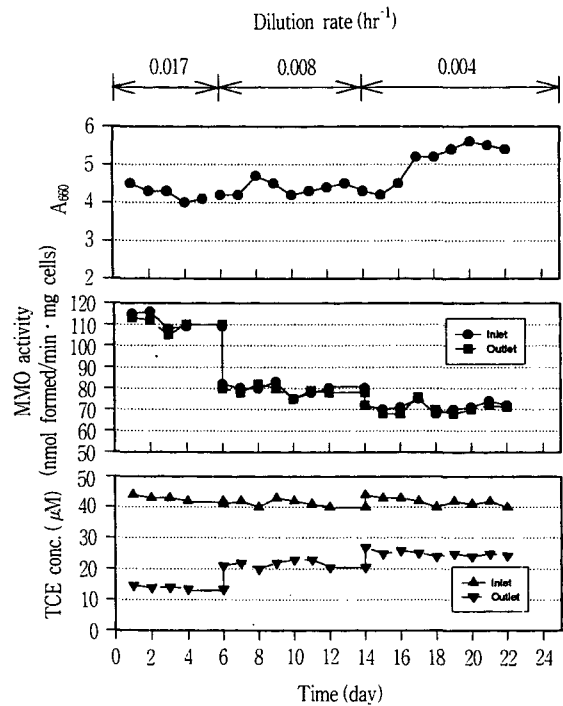


Figure 8. Time course of cell density of CSTR, sMMO activities and TCE concentrations in inlet and outlet of TBR at various dilution rates of CSTR.

알 수 있었다 (data not shown).

TCE 분해속도는 30°C에서 178 mg TCE/L·day로부터 TBR의 온도를 20°C로 감소시켰을 때는 255 mg TCE/L·day로 증가하였다. TCE 전화율의 경우도 온도가 감소할수록 전화율은 직선적으로 증가하다가 20°C 이하에서는 일정하였는데, 30°C에서 전화율이 50% 정도인데 비해 20°C에서는 68%정도로 약 18%의 증가를 보이고 있다(Figure 7). 이와 같이 낮은 온도에서 전화율이 높아진 것은 기상으로 공급되고 있는 TCE의 용해도가 온도가 낮아질수록 증가되었기 때문이다. CSTR에서 TBR로 유입되는 배양액의 순환 속도와 세포 농도가 일정한 상태에서, 낮은 온도에서의 기체 용해도 증가로 인한 TCE 전달량 증가가 TCE 전화율 증가로 연결

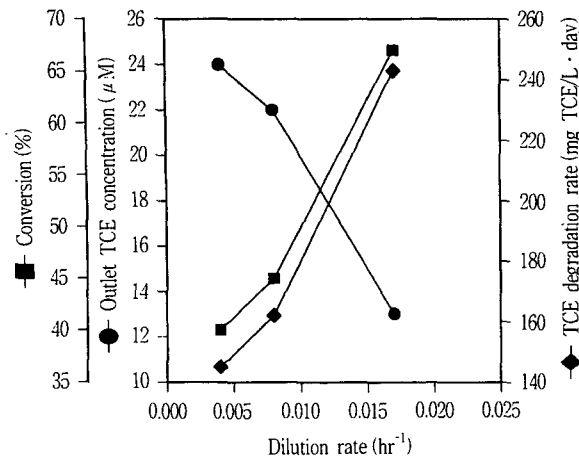


Figure 9. Effect of dilution rate of CSTR on TCE conversion and removal rate.

된 결과로부터 TBR에서의 TCE 분해반응이 물질전달저항의 영향을 받고 있음을 예상할 수 있다. 이러한 결과들은 개발된 2단계 반응기 시스템의 TBR이 물질전달저항 영역에서 운전되고 있음을 보여주고 있으며 반응기 운전의 효율을 높이기 위해서는 물질전달저항을 막고 충분한 TCE를 공급해 줄 수 있는 반응기 설계가 필요하다.

CSTR 희석속도의 영향

유입부 TCE 농도는 40 μmol/L, 배양액 순환 속도는 50

mL/min, 기체유속은 100 mL/min, TBR 온도는 20°C의 조건에서 CSTR에서의 희석 속도를 0.004, 0.008, 0.017 hr⁻¹로 변화시키면서 그 영향을 살펴보았다. sMMO 활성의 경우 TBR 유입부 및 유출부에서는 감소가 일어나지 않았지만, 전체적인 활성은 희석속도가 감소함에 따라 급격히 감소하였다. 이 결과는 TBR에서 TCE를 분해하는 동안 불활성화된 sMMO가 CSTR에서 효율적으로 재활성화 되기 위해서는 CSTR의 희석속도를 높여줄 필요가 있음을 나타내 준다.

희석속도 변화에 따른 TCE 전화율 및 분해속도 변화가 Figure 9에 제시되어 있다. 희석속도가 감소함에 따라 전화율 및 TCE분해속도가 감소하였고, TBR의 유출부에서 TCE 농도가 증가하였다. 희석속도의 감소는 CSTR에서 sMMO 및 세포의 재활성 효율의 감소를 의미하므로 전체적인 TCE 분해속도 및 전화율이 감소된 것으로 판단할 수 있다.

2단계 CSTR/TBR 시스템 성능 평가

본 연구에서 개발된 2단계 CSTR/TBR 시스템의 성능을 최대분해속도 및 운전 안정성 측면에서 기존 연구 결과와 비교하였다(Table 1). 우선, 처리 가능한 유입부 TCE의 농도는 약 80 μmol/L 정도로 기존의 처리 시스템에 비해 고농도의 기상 TCE를 처리할 수 있었으며, 그 이상의 농도에서는 TCE 및 분해산물의 강한 독성으로 인하여 세출현상이 발생하여 반응기 운전이 불가능하였다. 또한 약 270일 이상의 장기간에 걸친 운전기간 동안 다양하게 변경된 운전조건에서도 처리 시스템이 매우 안정하게 유지됨을 알 수 있어, 장시간

Table 1. Performance comparison of various bioreactors designed for TCE degradation.

Stain	Carbon source	TCE (μM)	Duration (day)	TCE deg. rate (mgTCE/L of reactor/day)	Reference
<i>B. cepacia</i> G4 PR123 (fixed-film)	Glucose	0.3~18.3 (gas)	1~22 4~40	8.6~392.3 7~10	Sun <i>et al.</i> (1997)
<i>B. cepacia</i> G4 PR123 (fixed-film)	Yeast extract, peptone, glucose	1.01.0~10.0 (gas)	4	0.7~2.1	Shields <i>et al.</i> (1994)
<i>B. cepacia</i> G4 (suspended)	phenol	10~327 (liquid)	-14	28~78	Folsom and Chapman(1991)
<i>B. cepacia</i> G4 (suspended)	Phenol	2.3~30.4 (gas)	-14	10~156	Ensley and Kurisko (1992r3)
<i>B. cepacia</i> G4 (suspended)	Toluene	1.9~87.7 (gas)	-	22~126	Landa <i>et al.</i> (1994)
<i>P. putida</i> F1 and mixed culture	Phenol	-1.2 (liquid)	< 1	1.7~3.0	Coyle <i>et al.</i> (1993)
<i>Alcaligenes Eutrophus</i> JMP13	Phenol	-40 (liquid)	7~14	6.7~9.5	Mckay <i>et al.</i> (1994)
Methanotrophs (fixed film)	Methane	3.5~320.4 (liquid)	7~21	2.8~90.7	Fennell <i>et al.</i> (1993)
Methanotrophs (fixed film)	Methane	6.8~8.4 (liquid)	-	2.4~13.8	Strandberg <i>et al.</i> (1989)
Methane / propane oxidizers(packd)	Methane, propane	3.4~13.2 (liquid)	-	0.2~0.9	Lackey <i>et al.</i> (1993)
<i>M.trichosporium</i> OB3b(pp358)	Methane	1.5~7.6 (liquid)	18	0.2~3.0	Tschantz <i>et al.</i> (1996)
Methanotrophs (suspended)	Methane	114~222 (liquid)	-3	33.8~41.4 (20 mM formate)	McFarland <i>et al.</i> (1992)
Methanotrophs	Methane	0.1~38.8	170	0.5~15.4	Strand <i>et al.</i> (1991)
<i>M. trichosporium</i> OB3b	Metnane	10~80 (gas)	270	85~525	This study

운전이 어려운 1단 생물막 반응기의 단점을 극복할 수 있었다. TBR로의 유입 TCE 농도가 증가할수록 TCE 분해속도가 증가하였고, 최고분해속도는 525 mg TCE/L · day로 기존 연구 결과와 비교시 운전조건에 따라 약 100배 정도 높은 수준으로 2단계 CSTR/TBR 시스템의 우수성을 알 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 난분해성 물질인 기상의 TCE를 효과적으로 처리하기 위하여 CSTR과 TBR을 연결한 2단계 생물막 반응기를 제작·운전하였다. TBR에는 TCE 분해능이 탁월한 메탄자화균인 *Methylosinus trichosporium* OB3b를 활성탄에 고정화시켰고, 기상의 TCE를 유입부에 연속적으로 공급하여 분해시켰다. 개발된 반응기 시스템의 효율을 조사하기 위해 다양한 운전조건에서 TCE 분해속도, TCE 전화를 및 sMMO 활성변화 등을 조사하였다. 여러 가지의 유입부 TCE 농도에서 운전한 결과 80 $\mu\text{mol/L}$ 의 고농도까지 처리가 가능함을 알 수 있었고, TCE를 포함한 기체의 유속을 변화시켰을 때 유속이 증가함에 따라 낮은 유속(50~200 mL/min)에서는 직선적으로 TCE 분해속도 및 전화율이 증가하다가 높은 유속(200~600 mL/min)에서는 일정하게 유지되었다. TBR의 온도를 달리하였을 때, 20°C의 낮은 온도에서 30°C의 높은 온도보다 TCE 전화율 및 분해속도가 증가되어 TBR에서의 TCE 분해반응이 물질전달 저해를 받음을 알 수 있었다. CSTR에서의 회석속도가 낮으면 TCE 분해속도와 전화율의 감소 및 sMMO 활성 저하 현상이 일어남을 관측할 수 있었고, TBR에서 TCE 분해 과정에서 불활성화된 sMMO 및 세포 활성을 효과적으로 재활성화시키기 위해서는 CSTR의 회석속도를 높이 유지해야함을 알 수 있었다. 약 270일 이상의 운전기간 동안 운전조건을 다양하게 변경시켜도 매우 안정되게 시스템이 유지됨을 알 수 있었고, 최고분해속도는 525 mg TCE/L · day 정도로 높아 개발된 2단계 CSTR/TBR 시스템의 우수성을 알 수 있었다.

감 사

본 논문은 한국과학재단 특정기초 연구과제(과제번호: 95-0502-10-01-3)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Ensley, B. D. (1991), Biochemical diversity of trichloroethylene metabolism, *Annu. Rev. Microbiol.*, **45**, 283-299.
2. Westrick, J. J., J. W. Mello, and R. F. Thomas (1984), The groundwater supply survey. *J. Am. Water Works Assoc.*, **5**, 52-59.
3. Wackett, L. P., G. A. Brusseau, S. R. Householder, and R. S. Hanson (1989), Survey of microbial oxygenases: Trichloroethylene degradation by propane-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2960-2964.
4. Oldenhuis, R., J. Y. Oedzes, J. J. van der Waarde, and D. B. Janssen (1991), Kinetics of chlorinated hydrocarbon degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b and toxicity of trichloroethylene. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 7-14.
5. Fan, A. M. (1988), Trichloroethylene: Water contamination and health risk assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 101. G. W. Ware, ed., Springer-Verlag, New York, NY.
6. Love, Jr., O. T. and R. G. Eilers (1982), Treatment of drinking water containing trichloroethylene and related industrial solvents. *J. Am. Water Works Assoc.*, **74**, 413-425.
7. Alvarez-Cohen, L. and P. L. McCarty (1991), Effects of toxicity, aeration, and reductant supply on trichloroethylene transformation by a mixed methanotrophic culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 228-235.
8. Wilson, J. T. and B. H. Wilson (1985), Biotransformation of trichloroethylene in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, **29**, 242-243.
9. Sun, A. K. and T. K. Wood (1997) Trichloroethylene mineralization in a fixed film bioreactor using a pure culture expressing constitutively toluene *ortho*-monooxygenase. *Biotechnol. Bioeng.*, **55**, 674-685.
10. Park, S., M. L. Hanna, R. T. Taylor, and M. W. Droege (1991), Batch cultivation of *Methylosinus trichosporium* OB3b. I: Production of soluble methane monooxygenase, *Biotechnol. Bioeng.*, **38**, 423-433.
11. Tsien, H. C., G. A. Brusseau, R. S. Hanson, and L. P. Wackett (1989), Biodegradation of trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 3155-3161.
12. Chang, H.-L., and L. Alvarez-Cohen (1995), Model for the cometabolic biodegradation of chlorinated organics, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2357-2367.
13. Wackett, L. P., and S. R. Householder (1989), Toxicity of trichloroethylene to *Pseudomonas putida* F1 is mediated by toluene dioxygenase, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2723-2725.
14. Fennel, D. E., Y. M. Nelson, S. E. Underhill, T. E. White, and W. J. Jewell (1993), TCE degradation in a methanotrophic attached-film bioreactor, *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 859-872.
15. Livingston, A. G. (1991), Biodegradation of 3,4-dichloroaniline in a fluidized bed bioreactor and a steady-state biofilm kinetic model, *Biotechnol. Bioeng.*, **38**, 260-272.
16. Shin, H.S., and J. L. Lim (1996), Performance of a packed-bed bioreactors for the cometabolic degradation of trichloroethylene by phenol-oxidizing microorganism, *Environ. Technol.*, **17**, 1351-1359.

17. Fitch, M. W., D. Weissman, P. Phelps, G. Georgiou, and G. Speitel (1996), Trichloroethylene degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b mutants in a sequencing biofilm reactor, *Wat. Res.*, **30**, 2655-2664.
18. Tschantz, M. F., J. P. Bowman, T. L. Donaldson, J. M. Strong-Gunderson, A. V. Palumbo, S. E. Herbes, and G. S. Sayler (1995), Methanotrophic TCE biodegradation in a multi-stage bioreactor, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2073-2082.
19. Leahy, J. G., A. M. Byrne, and R. H. Olsen (1996), Comparison of factors influencing trichloroethylene degradation by toluene-oxidizing bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 825-833.
20. Strandberg, G. W., T. L. Donaldson, L. L. Farr (1989), Degradation of trichloroethylene and trans-1,2 dichloroethylene by a methanotrophic consortium in a fixed-film packed-bed bioreactor, *Environ. Sci. Technol.*, **23**, 1422-1425.
21. Alvarez-Cohen, L. and P. L. McCarty (1991), Two-stage dispersed growth treatment of halogenated aliphatic compounds by cometabolism, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 1387-1393.
22. Folsom, B. R. and P. J. Chapman (1991), Performance characterization of a model bioreactor for the biodegradation of trichloroethylene by *Pseudomonas cepacia* G4, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1602-1608.
23. McFarland, M. J., C. M. Vogel, and J. C. Spain (1992), Methanotrophic cometabolism of trichloroethylene (TCE) in a two-stage bioreactor system, *Wat. Res.*, **26**, 259-265.
24. Chang, H.-L. and L. Alvarez-Cohen (1997), Two-stage methanotrophic bioreactor for the treatment of chlorinated organic wastewater, *Wat. Res.*, **31**, 2026-2036.
25. 박성훈, 추석열 (1993), *Methylosinus trichosporium* OB3b를 이용한 메탄올의 생산, *한국생물공학회지*, **8**(4), 341-350.
26. 강문선, 황재웅, 박성훈 (1995), 메탄산화균 *Methylosinus trichosporium* OB3b의 메탄올 기질에서의 성장, *한국생물공학회지*, **10**(2), 212-220.