

## Development of Tricking Bioreactor(TBR) for Trichloroethylene biodegradation by *Pseudomonas cepacia* G4

이은열\*, 예병대, 박성훈

경성대학교 식품공학과\*, 부산대학교 화학공학과,

전화 (051) 620-4716, FAX (051) 622-4986

### ABSTRACT

Lab-scale trickling bioreactor(TBR) containing the biofilm of *Pseudomonas cepacia* G4 was developed for the treatment of trichloroethylene(TCE) in a waste gas stream. The effect of phenol feeding on the efficiency of TCE biodegradation in TBR was investigated with the change of inlet phenol concentration from 0 to 4.71 ppm. When 0.94 ppm of phenol was supplied, the best performance of TBR was maintained with the TCE removal efficiency of 58.1%. These results showed that the appropriate supply of phenol could stimulate TCE removal efficiency in TBR.

### Instruction

TCE는 유기용매, 드라이클리닝제제, 그리스제거제 등으로 유용하게 사용되어져 왔으나, 부적절한 처리로 인하여 광범위한 범위에서 환경오염을 유발하여 많은 해로움을 주고 있다<sup>1),2)</sup>. 기존의 TCE 처리 기술로는 물리적인 방법인 활성탄에 흡착 제거시키는 방법이 있으나, 이것은 단순히 물리적으로 오염물질을 흡착시켜 이동시키는 것에 불과하다. 따라서 보다 환경 친화적 기술인 생물학적 처리법의 개발이 연구되고 있으며, 이 방법은 분해 최종산물이 무해한 물질이 되는 완전무기화가 일어나기 때문에 2차 오염문제도 해결할 수 있다. 일반적으로 TCE는 미생물에 대한 독성이 높아서 성장 기질로는 사용되지 않으므로, phenol과 같은 성장 기질의 존재 하에서 monooxygenase 계열의 효소를 이용하여 공대사과정을 통해서 분해된다<sup>3)</sup>. 이 과정에서 성장 기질과 TCE 사이에 경쟁적 저해관계가 존재하여 TCE 분해 효율을 저하시킬 수 있다. 반면에, TCE 분해과정에서 불활성화된 효소 및 세포의 재활성화를 위해서는 적절한 양의 성장기질 공급은 필수적이다. 따라서, 본 연구에서는 연속 처리 시스템인 trickling bioreactor상에서 성장기질 공급이 TCE 처리 효율에 어떠한 영향을 주는 지를 살펴보고 최대 TCE 제거 효율을 줄 수 있는 반응기 운전 조건을 결정하고자 하였다.

### Materials & Methods

#### *Microorganisms and Culture condition*

Phenol을 성장기질로 공급시 발현되는 toluene monooxygenase을 이용하여 공대사 과정을 통해 TCE를 분해시킬 수 있는 *P. cepacia* G4(이하 G4)를 사용하였다. Seed culture는 M9 medium + 5mM phenol을 배지로 사용하여 5-L bioreactor(w.v. 3L)에서 30°C, 250rpm에서

3~4일 동안 최종 optical density가 약 3.0 정도 될 때까지 배양하였다. 배양된 세포는 20 mM phosphate buffer로 1000 rpm에서 5분간 원심분리하여 harvesting 한 후 biofilm 형성을 위해 TBR에 접종하였다.

### Trickling bioreactor(TBR)

TBR(Fig.1)은 내경 9 cm, 전체길이 60 cm이며, 충전물질로는 1 cm<sup>3</sup> 정도의 다공성 세라믹 담체를 사용하였다. 충전층의 높이는 약 20 cm, 부피는 약 1.27 L이었다. 반응기와 연결되는 관은 TCE 흡착 및 소실을 최소화시키기 위하여 viton tubing과 teflon 테잎을 사용하였다. 반응기 내에 M9 medium + 3mM phenol을 공기와 더불어 일정한 속도로 공급하여 biofilm을 형성시켰다.

### Analytical Methods

TCE 정량을 위한 calibration curve는 기-액 평형상태에서의 액상 기질농도를 결정하는 방법을 이용하여 구하였다.<sup>4)</sup> TCE 분석은 전자포집검출기(ECD)가 장착된 가스크로마토그래피(Hewlett Packard 5890 II plus, USA)로 분석하였다. Phenol 농도는 colorimetric assay<sup>5)</sup>를 사용하여 결정하였다.

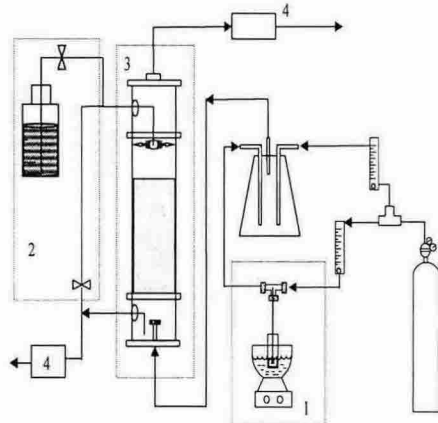


Fig 1. TBR System for the Treatment of TCE

- 1. TCE supply unit
- 2. Liquid recycle & M9 medium supply unit
- 3. Trickling Biofilm reactor
- 4. Effluent liquid & gas

## Result and Discussion

### Biofilm Development

Biofilm 형성을 시키기 위해 0.87 g/L of bed · day 정도의 phenol을 공급하였으며, 이 때 배지의 유량은 4 L/day, 공기 체류시간은 약 7분으로 하였다. Biofilm은 반응기의 상단부터 형성되기 시작하여 약 7일 정도 지난 후 반응기 전반부에 걸쳐 형성됨을 확인하였다. 충분한 biofilm 형성 후에는 clogging 현상을 방지하기 위하여 N-source가 없는 배지를 공급하였다.

### TCE Breakthrough

Biofilm 형성을 위해 사용되는 다공성 세라믹 담체 자체의 TCE 흡착능력을 살펴보기 위하여, TCE breakthrough curve를 살펴보았다(Fig. 2). Inlet에서의 TCE 농도는 평균 300 ppmv로 공급되었으며, TCE가 반응기내로 공급된 지 약 40분 후부터 공급된 만큼 TCE가 유출부에서 검출된 것으로 보아 담체 자체의 TCE 흡착 능력은 크지 않음을 알 수 있었다.

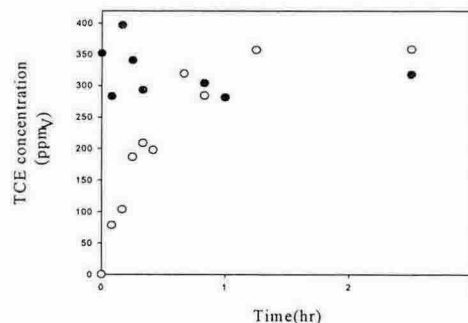


Fig. 2 TCE breakthrough curve (●:inlet, ○:outlet)

### TCE biodegradation in the TBR

TCE 분해시 성장기질인 phenol이 공급되는 경우 일반적으로 경쟁적 저해가 일어나므로, 우선 phenol 공급 없이 반응기를 운전한 경우에서의 TCE 분해 효율을 살펴보았다. Fig. 3

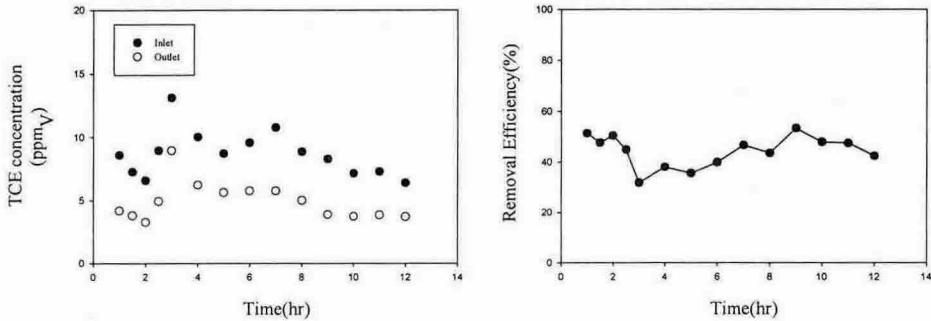


Fig. 3 TCE biodegradation in the TBR without phenol

에서와 같이 평균 TCE 제거효율은 42.8 %정도 유지됨을 알 수가 있었다. Fig. 4는 TCE에

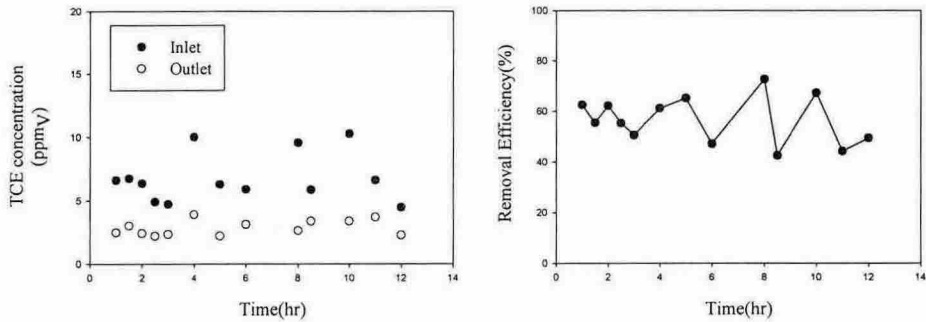


Fig. 4 TCE biodegradation in the TBR in the presence of 0.94ppm phenol

대해 counter current로 phenol을 0.94 ppm 정도로 공급해준 경우에서의 TCE 처리 효율을 살펴 본 것이다. TCE 분해효율은 평균 58.1% 정도로 유지되었고, phenol이 전혀 공급되지 않은 경우보다 약 15% 정도 TCE 분해 효율이 증가되고 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 batch 실험에서도 유사하게 관측되었다. 따라서 독성이 높은 TCE 및 TCE 분해산물에 의해 불활성화된 효소 및 세포 활성을 알맞은 양의 phenol을 공급해줌으로써 재활성화시켜 결과적으로 TCE 분해 효율이 증가된 것으로 판단할 수 있다. 보다 높은 phenol을 공급시킨 경우에서의 TCE 분해 효율에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 phenol 농도를 4.7 ppm로 하여 TBR을 운전하였다(Fig. 5). TCE 제거효율은 평균 49% 정도로 이 결과 역시 phenol이 존재하지 않을 때 보다 약 7%정도 증가된 결과로 phenol에 의한 TCE 분해 촉진 효과를 볼

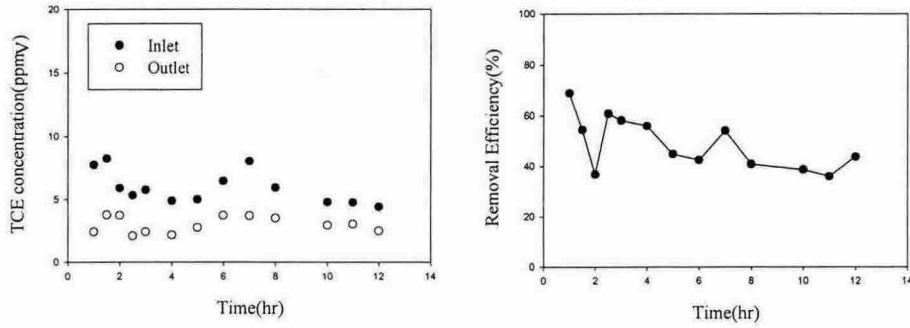


Fig. 5 TCE biodegradation in the TBR in the presence of 4.71 ppm phenol

수 있었다. 그러나, 47.1ppm의 phenol 농도에서는 TCE 분해효율이 평균 30% 정도로 나타났는데(data not shown), 위의 결과와 달리 상당히 경쟁적 저해를 받았다.

### Summary

TBR에 공급되는 성장기질인 phenol의 농도에 따른 TCE 분해 효율 변화를 살펴보았다. Phenol 공급이 없는 경우에서의 TCE 제거효율은 평균 42.8%로 유지된 반면, phenol을 0.94 ppm 농도로 공급해줌으로써 TCE 분해 효율을 16% 정도 증가시킬 수 있었다. 따라서 TBR에 알맞은 양의 성장기질을 공급하면, TCE 분해 과정에서 불활성화되는 효소 및 세포의 재활성화를 통해 TCE 분해 효율이 증가시킬 수 있었다.

### Reference

1. Ensley, B. D., "Biochemical diversity of trichloroethylene metabolism"(1991), *Annu. Rev. Microbiol.*, **45**, 283-299
2. Westrick, J. J., J. W. Mello, and R. F. Thomas, "The groundwater supply survey"(1984). *J. Am. Water Works Assoc.*, **5**, 52-59
3. Chang, H.-L., and L. Alvarez-Cohen, "Model for the cometabolic biodegradation of chlorinated organics"(1995), *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2357-2367
4. 김경태, "Methylosinus trichosporium PP358을 이용한 에틸렌 염화물의 분해" (1998), 부산대학교 석사학위논문, 28-30
5. Folsom, B.R., Chapman, P. J., "Performance Characterization of a Model Bioreactor for the Biodegradation of Trichloroethylene by *Pseudomonas cepacia* G4"(1991), *Appl. Environ. Microbiol.* **57**, 1602-1608.