

## Development of Parallel TBR system for the treatment of Trichloroethylene by *Burkholderia cepacia* G4

이은열\*, 예병대, 박성훈

부산대학교 화학공학과, 경성대학교 응용공학부\*

전화: (051) 620-4716, 팩스: (051) 622-4986

### ABSTRACT

A parallel reactor system which is consisted of two trickle bed reactors (TBR) was developed for the biodegradation of trichloroethylene (TCE) in waste gas stream. The reactor were packed with porous ceramic materials and *Burkholderia cepacia* G4 was inoculated to form biofilms. Each reactor was operated alternatively in TCE degradation or reactivation mode, and the effect of switching time on TBR performance was investigated. The MO (monooxygenase) activity during the TCE transformation decreased below 10 % within 24 hr, but could be recovered to the initial high level within 10 hr after supplying the reactivation medium supplemented with phenol as a carbon source. This shows that the parallel TBR system has a great potential for the long-term stable treatment of TCE.

### Introduction

공업용 유기용제로써 산업현장에서 널리 사용되어온 trichloroethylene (TCE)는 폐가스와 함께 배출될 때 부적절한 처리로 인하여 대기 오염뿐만 아니라 토양, 지표수 및 지하수 등 매우 넓은 영역에서 환경오염을 유발시키고 있으며, 또한 유전자변이 및 암을 유발하는 등 인체에 강한 독성을 주는 것으로도 알려져 있다.<sup>1)</sup> 이를 처리하기 위한 반응기 시스템으로는 biofilter, trickling biofilm reactor (TBR), bioscrubber 등이 사용되어왔다.<sup>2)</sup> TCE의 경우 물에 대한 용해도가 낮으므로 bioscrubber에서는 효과적인 물질전달을 기대하기가 어려우며, 또한 TCE 및 TCE 분해 산물의 독성으로 인한 생물막의 불활성화가 일어나므로 biofilter보다는 영양분 공급을 통한 재활성화가 가능한 TBR 시스템이 적합하다고 할 수 있다. TBR은 반응기 충전층 전체에 생물막을 형성시킨 후 최적 영양분을 포함한 수분을 충전층 상단에서 뿌려주면서, 그곳에 형성되어 있는 생물막을 통해 TCE를 분해시킨다. 그리고, 생물막의 clogging 및 compaction 현상을 방지하기 위해 다공성(porosity)이 큰 물질을 담체로 많이 사용하고 있다. *Burkholderia cepacia* G4는 cometabolism에 의해 TCE를 분해한다. 또 세포재활성화에는 phenol 또는 toluene 등의 성장기질 공급이 반드시 요구된다. 그러나 이를 지속적으로 공급한 경우 경쟁방해기작에 의해 TCE 분해가 저해를 받으며, 세포과성장으로 인해 반응기내의 clogging & compaction 현상이 일어나므로 이를 피하면서 TCE 분해를 촉진시킬 수 있는 방법이 필요하다. 본 연구에서는 이를 위해 두 개의 TBR 단위체를 병렬로 연결하여 TCE 분해와 생물막 재활성화를 교대로 실시함으로써 TCE를 장기간 안정적

으로 분해하고자 하였다.

## Materials and Methods

### TBR construction

생물막 반응기의 크기가 내경 5 cm, 전체길이 약 77 cm이며, 충전물로는 다공성 세라믹 담체를 사용하였다. 충전층의 높이는 약 50 cm 정도이며 부피는 약 0.981 L, 사용된 담체의 부피는 대략 0.5 cm<sup>3</sup> 및 1 cm<sup>3</sup> 정도였다. 반응기로 연결되는 모든 재질은 TCE 흡착 및 소실을 최소화하기 위하여 viton 과 telfon 재질을 사용하였다. TCE는 syringe pump를 사용하여 일정농도로 반응기내로 공급하였다.

### 세포배양 및 biofilm 형성

*B. cepacia* G4 세포는 5 mM phenol을 포함한 M9 배지를 사용하여 5-L bioreactor (working volume : 3L)에서 30 °C, 250 rpm에서 4~5일 동안 최종 optical density가 약 3.0 이 될 때까지 배양하였다. 배양된 세포는 12000 rpm에서 3분간 원심분리한 후 20 mM 인산완충용액으로 재현탁하여 TBR에 접종하였다. Trickle biofilm reactor (TBR)내에 생물막을 형성시키는 동안, 0.83 g/L of bed · day 의 phenol을 공급하였으며, 이 때 배지의 유량은 2.88 L/day, 공기 체류시간은 약 10분으로 하였다. 접종 후 초기에는 담체에 붙지 못하고 탈착되어 나오는 세포들이 많이 있었지만, 시간이 지나면서 세포 탈착량은 줄어들었고 생물막은 배지가 들어가는 반응기의 상단부터 형성되기 시작하였다.

### TCE 및 phenol 분석 assay

TCE농도는 100  $\mu$ l gas-tight syringe로 30  $\mu$ l의 gas sample 을 채취하여 전자포 집검출기(ECD)가 장착된 가스 크로마토그래피 (Hewlett Packard 5890 II plus, USA)로 분석하였다. Phenol 농도는 modified colorimetric assay을 이용하여 결정하였다.<sup>3)</sup>

### Toluene monooxygenase (TMO) 활성분석

TMO 활성은 modified naphthalene oxidation assay을 사용하여 측정하였다.<sup>4)</sup> TMO 의 activity는 nmol naphthalene/min · mg protein으로 표현하였다.

## Results and Discussion

### Development and operation of parallel TBR system

Figure 1은 연속식으로 TCE 처리를 위하여 고안한 parallel TBR system의 구성도를 보여주고 있다. 그림에서처럼 두 개의 TBR 반응기를 병렬로 연결하여 한 쪽 반응기에서는 TCE를 처리하고 또 다른 쪽 반응기에서는 TCE 분해과정에서 deactivation 된 세포들을 재활성하는 시스템으로 구성되어있다. 이러한 반응기 시스템의 장점은, TCE 분해 반응기에

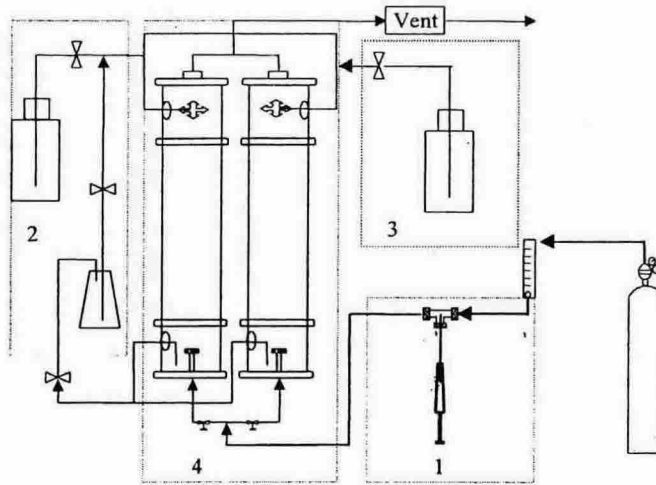


Figure 1. Parallel TBR reactor system  
for the treatment of TCE

- ( 1. TCE supply unit    2. Reactivation unit  
3. Medium supply unit    4. Tricking biofilm reactor )

서는 성장기질(phenol 혹은 toluene)에 의한 경쟁적 저해(competitive inhibition)를 피할 수 있는 정도의 최소량 phenol만 공급하여 최대의 TCE 분해능을 기대할 수 있으며, 또 재활성화 반응기에서는 TCE 공급없이 적절한 양의 phenol 및 M9 배지를 공급해줌으로써 효과적인 재활성화를 기대할 수 있다는 데 있다. 또한 일정시간 간격을 두고 분해 반응기 및 재활성화 반응기를 번갈아 각 반응기의 운전조건을 바꿀 수 있으므로 안정적인 연속처리 시스템을 구현할 수 있다. TCE 분해 실험에 있어서 TCE는 반응기 아래쪽으로 공급하였으며, 처리된 폐가스는 반응기 상단으로 배출되며 buffer 또는 M9 배지는 상단에서 하단으로 공급하였다.

#### TCE biodegradation in parallel TBR system

앞서 구성한 parallel system의 효율적인 운영을 위해서 가장 중요한 점은 분해 반응기와 재활성 반응기 사이의 적절한 switching time을 결정하는 것이다. 즉, 분해 반응기에서의 분해효소 활성이 저하되어 폐가스에서의 TCE 농도가 제한치를 넘어가기 전에 재활성화된 반응기로 switching 해주어야 하며, 이 switching period 동안 다른 반응기에서는 불활성화된 세포가 다시 활성을 회복하도록 해 주어야 한다. Figure 2는 TCE 분해시와 TCE 분해가 끝난 후 세포의 활성을 비교한 것이다. TCE 분해동안의 activity는 약 10시간 이후 점점 감소되다가 TCE 분해가 거의 둔화된 시점인 24시간째에 10%이하까지 떨어졌다. 재활성 동안에는 TCE 공급을 중단하고 medium과 phenol을 넣어주었는데, 약 10시간 이후에 원래의 activity까지 도달하였다.

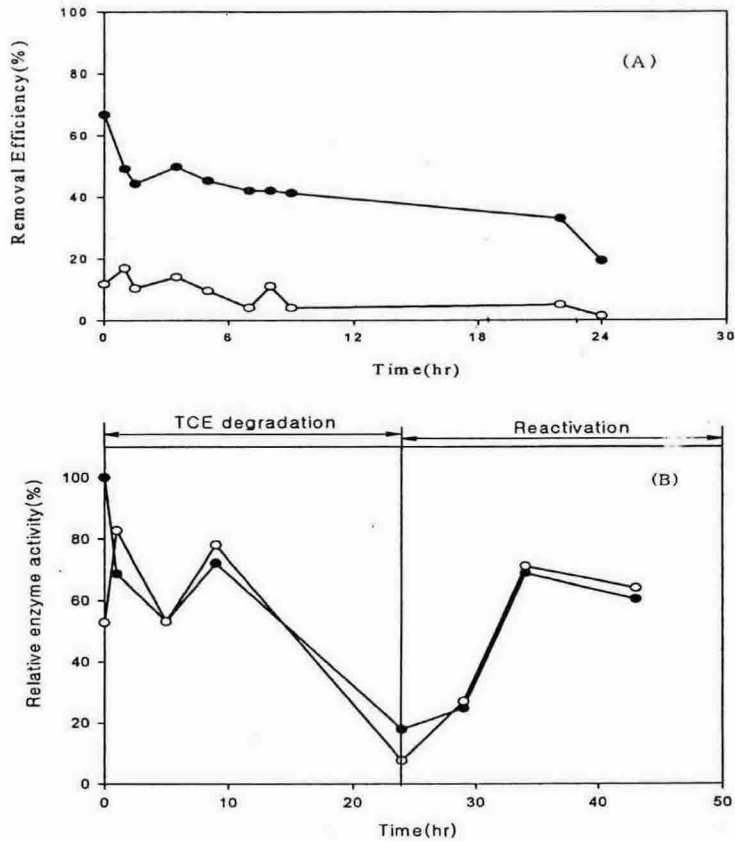


Figure 2. (A) TCE biodegradation, (B) performance of enzyme activity during TCE degradation & reactivation (●: top, ○: center)

또한 reactivation period에 따른 TCE 분해거동을 살펴보았다(data not shown). Reactivation period을 각 24시간, 60시간으로 달리 한 경우 모두 24시간 경과 후부터 반응기 효율이 점점 떨어졌으나 60시간의 경우가 효율감소속도가 다소 늦었다.

이상의 결과들은 parallel TBR system에 의한 TCE분해를 장기간 안정적으로 할 수 있다는 가능성을 입증해 주었다. 향후 공급되는 TCE의 양, gas flow rate, 배지 조성 및 공급속도 등의 운전 조건을 기준으로 최적 기간을 결정하는 것이 무엇보다 중요하다.

## Reference

- 1) Alvarez-Cohen, L and P. L. McCarty (1991) *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 228-235.
- 2) Folsom, B. R. and P. J. Chapman (1991) *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1602-1608.
- 3) Folsom, B. R., P. J. Chapman, and P. H. Pritchard (1990) *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1279-1285.
- 4) John, P. B. and G. S. Saylor (1994) *Biodegradation*, 2, 1-11.