

Burkholderia cepacia G4를 이용한 기상의 TCE 처리용 2단계 CSTR/TBF 시스템 개발

배현철¹, 설은희², 김현숙¹, 박성훈², 이은열^{1*}
¹경성대학교 응용공학부, ²부산대학교 화학공학과,
 전화 (051) 620-4716, FAX (051) 622-4986

ABSTRACT

One of the most promising TCE treatment systems is trickling biofilter (TBF), in which monooxygenase, the corresponding enzyme for initiating growth substrate oxidation, fortuitously transforms TCE *via* cometabolism. TCE, however, is not easily treated by simple cometabolic biotransformation. This is mainly due to the toxicity of TCE to microbial cell and monooxygenase. In this study, we developed and operated a two-stage CSTR/TBF system for the long-term continuous treatment of TCE. In the two-stage biotransformation system, CSTR with cell recycle from TBF was coupled to the TBF for the reactivation of the cells deactivated during TCE degradation.

서론

대표적 독성 염소화 탄화수소 물질인 TCE는 우수한 휘발성으로 인하여 대기, 지하수 및 토양 등 광범위한 환경오염을 유발시키고 있다(1). 일반적으로 미생물을 이용한 TCE의 생분해에 있어서 TCE 자체가 미생물에 대한 독성이 높으므로 성장 기질로는 사용되지 못하므로 다른 성장 기질의 존재 하에서 주로 oxygenase 계열의 효소에 의해 공대사 (cometabolism) 과정을 통해 분해된다(2). 이러한 공대사 과정에서 성장 기질과 TCE 사이에는 경쟁적 저해관계가 존재하여 반응기 운전 효율을 저하시킬 수 있으며, 성장기질 없이 계속적으로 TCE 분해만 진행하는 경우 효소 및 세포 불활성화로 인한 장기간의 안정된 반응기 운전이 어렵다는 결과를 얻을 수 있으므로 이에 대한 보다 효율적으로 극복 할 수 있는 방법의 개발이 요구된다(3, 4). 본 연구에서는 *Burkholderia cepacia* G4 균주를 생축매로 이용하여 장기간 TCE를 효율적으로 처리할 수 있는 2단계 CSTR/TBF 시스템을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

균주, 배지, 배양조건 및 분석

TCE 분해용 생축매로는 *B. cepacia* G4를 사용하였으며, 배지로는 M9 medium을 사용하였다. TCE 농도분석, TCE 분해속도 측정, Phenol 농도 분석, toluene monooxygenase (TMO) 효소 활성측정은 문헌에 제시되어 있는 표준 방법을 사용하였다.

2단계 CSTR/TBF 시스템 구성 및 운전

TCE 처리를 위한 반응기는 성장기질인 toluene & phenol, 공기 그리고 배지가 연속적으로 공급되어 미생물이 성장할 수 있는 성장반응기와 성장반응기에서 자란 미생물과 기상의 TCE가 공급되어 TCE 분해가 일어나는 분해반응기로 구성한다. 성장반응기로는 5 L 생물반응기(KFC-5L, 코바이오텍, 인천)를 사용하여 온도 30 °C, 교반속도 300 rpm으로 하고 배양액 부피는 3 L로 한다. 분해반응기는 원통형의 pyrex glass로 만들고, 크기는 내경 5 cm, 전체 길이 약 77 cm로 한다. 반응기 내의 충전층으로는 다공성 세라믹 담체를 사용한다. 담체의 크기는 0.5 cm³ 과 1 cm³ 정도인 것을 사용한다. 반응기로 연결되는 모든 재질은 TCE 흡착 및 소실을 최소화하기 위하여 viton tubing과 teflon 테이프를 사용한다. TCE는 syringe pump를 사용하여 일정속도를 유지하면서 반응기 내로 공급한다. 모든 반응기의 연결관은 viton tubing 및 teflon tape을 이용하여 TCE 소실을 최소화한다. CSTR에서 성장한 미생물은 연동펌프를 이용하여 TBF로 공급되고, 세포 배양액은 분해반응기를 거친 후 재순환되며 일부는 bleeding 된다.

결과 및 고찰

2단계 CSTR/TBF 시스템 구성

TCE 처리는 다공성 bead에 미생물을 부착시켜 사용하는 생물막 반응기를 주로 사용하는데, 이는 단위부피당 높은 세포농도를 얻을 수 있어 분해 속도를 높일 수 있으며, 일반적으로 shock loading에 대한 저항성이 우수하다는 장점도 있기 때문이다. 그러나, TCE 및 TCE 분해산물의 독성이 매우 높아 효소 및 세포 불활성화가 일어나서 장기간 운전이 어려울 수 있다. 이러한 현상을 막기 위하여 성장 기질을 공급하는 경우 TCE와의 경쟁적 저해로 인하여 분해 속도 저하가 일어난다. 따라서, 이들 두가지의 문제점을 극복하기 위한 방안으로 TCE 분해단계와 세포 및 효소 재활성화 단계를 구분시킨 2단계 CSTR/TBF 시스템의 개발은 매우 중요하다. 처리 시스템 구성은 탄소원인 phenol과 공기 및 배지가 연속적으로 공급되는 CSTR에서 효소 및 세포 재활성화를 도모하고, TBF 단계에서는 폐가스에 포함된 기상의 TCE를 공기와 함께 공급하여 미생물막에 의해 TCE가 분해되도록 설계하였다.

CSTR 운전

CSTR 운전 조건 결정에 있어서 가장 중요한 점은 CSTR에서 세포 농도도 높이고 TCE 분해효소인 TMO의 활성을 최대화 시키며, 또한 CSTR에서 TBF로 유입되는 배양액에 포함되어 있는 phenol의 양이 TBF에서의 TCE 분해를 최대화시킬 수 있는 최적 농도를 유지하도록 하는 것이다. CSTR 회전속도는 0.02 hr⁻¹, air flow rate는 0.33 vvm, 300 rpm의 교반속도, 30°C의 배양온도, 그리고 3mM의 phenol 공급농도에서 CSTR 운전을 시작하였으며, 공급되는 phenol 농도의 변화에 따른 세포농도, CSTR에서의 phenol 농도 및 TMO 활성을 측정하였다(Fig. 1). Phenol 농도를 3 mM에서 5 mM, 그리고 10 mM로 증가시킨 결과, 세포 농도는 서서히 증가하는 경향을 보였으며, CSTR 배양액에서의 phenol 농도도 3 ppm 미만의 낮은 농도 구간이긴 하지만 증가하는 경향을 보였다. 그러나, phenol 분해 속도 측정을 통해 평가해 본 TMO의 활성은 phenol 농도 변화에도 거의 비슷한 수준을 유지하고 있음을 알 수 있었다. 세포 농도 증가를 통한 전체 TMO 활성 증가를 위하여 Phenol을 20 mM 정도로 높인 경우에는 세포 농도는 높아졌으나, CSTR에서 TBF로 공급되는 배양액에서의 phenol 농도가 TCE 분해 반응을 저해할 수 있는 수준으로 높아지는 문제점이 있었다. 따라서, 성장기

질 공급이 전혀 없는 경우보다 1 ppm 수준의 phenol을 공급하는 경우 최대 TCE 분해 속도를 얻을 수 있었으므로 5 mM에서 10 mM 이하 정도의 phenol을 공급하는 것이 필요함을 알 수 있었다.

2단계 CSTR/TBF 구성 및 반응기 start-up

2단계 CSTR/TBF 시스템을 start-up 시키기 위하여 CSTR에서 나오는 세포배양액을 *B. cepacia* G4의 생물막이 형성되어 있는 TBF에 연결시켜 재순환시켰는데, TBF와의 연결 후 CSTR에서 세포농도의 감소 현상을 관측 할 수 있었다(Fig. 2). CSTR에서 TBF로 재순환되는 세포배양액에서의 세포농도가 높을수록 TBF의 생물막 재형성 및 세포배양액 자체에서의 TCE 분해능 향상에 도움을 줄 수 있으므로 CSTR에서의 세포 농도를 높이기 위하여 phenol 농도를 10 mM 수준으로 향상시킴과 동시에 M9 배지에 포함되어 있는 질소원의 농도도 2배로 증가시켜 공급하였다. 그 결과, CSTR에서의 세포 농도를 다소 향상시킬 수 있는 결과를 얻을 수 있었으나, TBF와의 연결로 인한 세포 농도 저하를 100% 방지하기는 어려웠다. 세포 농도를 높이기 위한 다른 방법으로 phenol 이외의 10 mM 수준의 lactate를 공급해 준 경우에는 세포 농도 증가를 얻을 수 있었으나, TMO 활성이 크게 떨어지는 결과가 유발되어 phenol만을 유일 탄소원으로 계속적으로 공급하기로 하였다.

유입부 TCE 농도에 따른 영향

TCE 분해 반응기인 TBF로 유입되는 폐가스에 포함되어 있는 TCE 농도 변화가 TCE 처리율에 미치는 영향을 분석하기 위하여 유입 TCE농도를 7, 9, 12, 15 ppmv로 변화시키면서 TBF에서 배출되는 TCE 농도 측정을 통해 TCE 전환율을 분석하였다(Fig. 3). CSTR에서 TBF로 유입되는 세포 배양액의 재순환 속도는 20 ml/min, TCE를 포함한 기체의 유속은 10 ml/min, CSTR의 회전속도는 0.02 hr⁻¹, TBF의 온도는 30°C를 유지하였다. 유입부 TCE농도가 증가할수록 TCE 분해속도도 증가되어 TCE 제거율이 유입부의 TCE농도가 15 ppmv까지는 100% 수준으로 처리되고 있음을 보여주고 있다. 그리고, 1개월 정도의 장기간 운전에서도 TCE 처리효율 변화를 관측할 수 없었고, 또한, TCE 처리를 지속적으로 진행하고 있어 본 연구에서 개발한 2단계 CSTR/TBF 시스템이 매우 안정되게 TCE를 처리할 수 있음을 알 수 있다.

감사의 글

본 논문은 한국과학재단 지정 환경기술·산업개발연구센터 (RRC-IETI)의 지원 (과제번호 : 99-10-03-02-A-3)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. J. J. Westrick et al., *J. Am. Water Works Assoc.*, 5, 52-59, 1984.
2. R. Oldenhuis et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 7-14, 1991.
3. J. T. Wilson and B. H. Wilson, *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 242-243, 1985.

4. E. Speitel et al., *J. Environ. Eng.*, 119, 658-678, 1993.

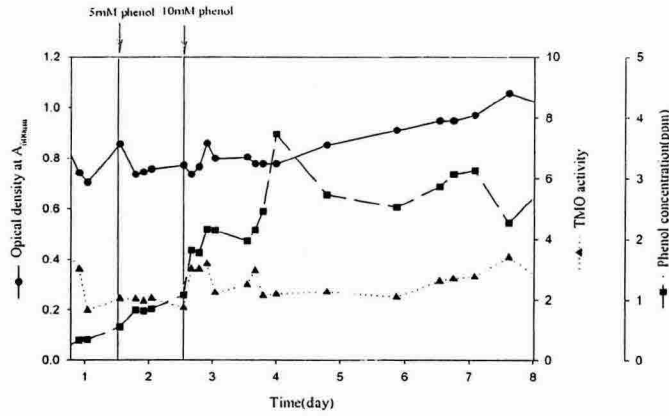


Fig 1. Continuous culture of *B. cepacia* G4 in fermentor.

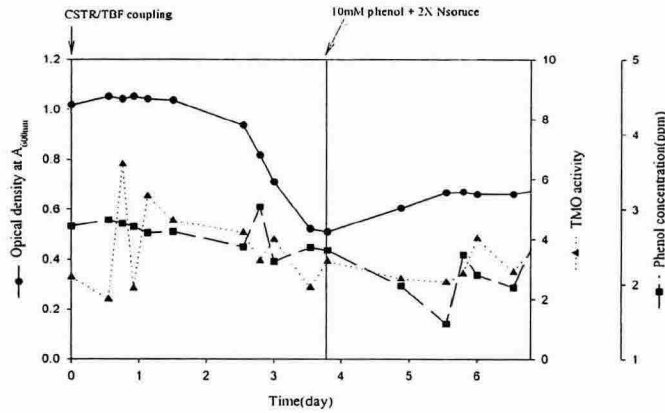


Fig 2. Continuous operation of CSTR/TBF system.

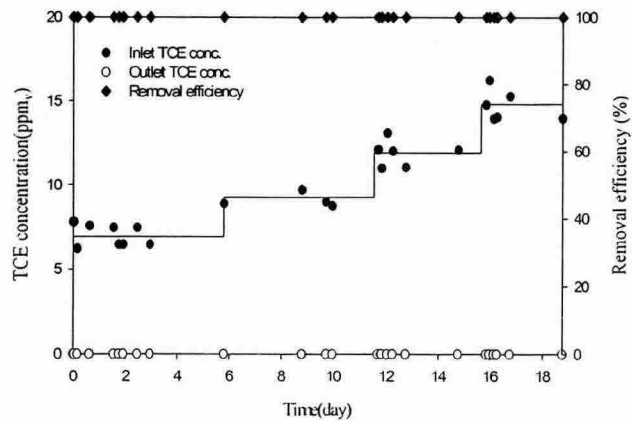


Fig 3. Effects of inlet TCE concentrations on removal efficiency of CSTR/TBF system