

Geotrichum sp.를 이용한 biofiltration에서의 methyl ethyl ketone 제거

최재현, 박경란, 오영숙*, 최성찬

한림대학교 환경학과, *명지대학교 환경생물공학과

전화 (033) 240-1534, FAX (033) 242-9300

Abstract

Geotrichum sp. MF01, isolated from oil-contaminated soil, utilized methyl ethyl ketone(MEK) as the sole source of carbon and energy. The strain MF01 showed a Michaelis-Menten kinetics on MEK, and the kinetic parameters determined for MEK degradation were; specific removal rate, $r_{\max} = 0.14 \text{ h}^{-1}$; half-saturation constant, $K_m = 5.88 \text{ mM}$. The adsorption of MEK by heat-killed strain was 0.62 mg at 8.07 mg MEK, indicating that the degradation was the primary removal mechanism over adsorption. Biodegradation of MEK was studied in a biofilter using perlite, vermiculite (1:1, v/v) as supporting material. During 57 days of biofilter operation, maximal removal rate of MEK was $10 \text{ gm}^3 \text{ h}^{-1}$.

서론

Methyl ethyl ketone(MEK)은 산업용 solvent로 폭넓게 사용되어지는 VOC의 일종으로서 페인트, 니스, 잉크 등의 주성분이다. 이러한 MEK는 전 세계적으로 매년 60만 톤 정도의 규모로 생산되고 있으며 그 중 상당량이 주변 환경을 오염시키고 있다.¹⁾ 일반적으로 VOC의 처리에 있어서는 물리·화학적, 생물학적 방법들이 사용되고 있으며, 그 중 생물학적 처리 방법은 오염물질의 농도가 낮을 때 저렴한 비용으로 효과적인 처리가 가능하다는 장점이 있다. 본 연구에서는 MEK를 단일 탄소원 및 에너지원으로 이용하는 균주를 자연계에서 순수 분리하여 분해 동역학을 알아보고, 적절한 균주를 biofilter에 접종하여 운전하면서 제거효율을 분석하였다.

재료 및 방법

MEK를 분해할 수 있는 균주를 탐색하기 위해 춘천시 후평공단에서 채취한 토양을 균 분리용 집종시료로 mineral salts basal(MSB) 배지에 접종하여 30°C에서 진탕 배양하였다. 이 때 유일한 탄소원 및 에너지원으로 MEK를 0.5ml 공급하여 주었고, 수 차례의 계대배양 후 MEK를 vapor상태로 공급해 주는 평판배지에서 순수분리하였다. MEK의 분해 동역학을 알아보기 위해 원심분리하여 회수한 cell을 새로운 배지에 현탁시킨 후, 이 현탁액 10ml을 160ml serum bottle에 분주한 후 Teflon-faced

gray butyl rubber septum과 aluminum seal로 밀봉하였다. 그 후 적절한 농도범위로 MEK를 주입한 후 일정시간 간격으로 headspace에서 $100\mu\text{l}$ 를 채취하여 GC-FID로 분석하였다. 배지 내 MEK 분해량은 specific removal rate r (MEK removed/unit amount of dry biomass/hour)값으로 표현하였다.²⁾ 또한 MEK의 농도 감소과정에서 흡착이 차지하는 비율을 알아보기 위해 원심분리하여 취한 cell을 55°C water bath에서 6시간 동안 사멸시킨 후 위와 같은 방법으로 MEK 분해능을 측정하였다. Biofilter 실험은 $5.5 \times 100\text{cm}$ glass column이 사용되었고(Fig. 1), MEK와 수분이 함유된 공기는 air pump와 flow meter를 통해 조절되도록 설계하였다. Packing material은 perlite와 vermiculite를 1:1(v/v)의 비율로 섞어 균주를 접종한 후 column에 충전하였다. 이 때 미생물의 활성을 유지하기 위해 담체 수분보유능의 50%가 되도록 MSB를 첨가하였다. Filter 내부의 pressure drop은 manometer를 이용하여 이틀마다 측정하였다. MEK 분해율은 filter로 들어가기 전의 유입농도와 미생물에 의해 분해되어 filter 밖으로 나오는 유출 농도를 GC-FID로 측정하여 단위 시간당 packing material의 부피당 제거된 MEK의 양으로 나타내었다.

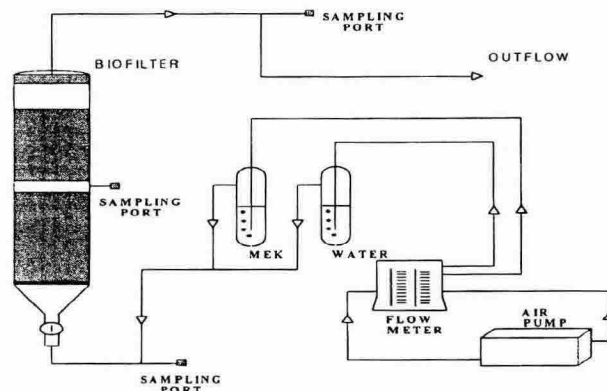


Fig. 1. Schematic diagram of biofilter used for the removal of MEK

결과 및 고찰

춘천 공단지역으로부터 채취한 토양을 6~8주 동안 농후배양 하여 안정된 consortium을 얻었으며, 이 consortium으로부터 *Geotrichum* sp. MF01 균주를 분리하였다. MEK kinetics 실험결과 Michaelis-Menten kinetics를 따르는 것으로 나타났으며, 이 때 K_m 과 r_{max} 값은 각각 5.88 mM 과 0.14 h^{-1} 이었다. 흡착실험에서는 MEK의 농도가 증가하면서 흡착되는 양이 늘어나 전체적인 adsorption isotherm이 linear하게 증가하였다. 이러한 결과는 MEK의 분해에 물리적인 흡착이 관여함을 보여주었다. 그러나 흡착은 분해가 배제된 상태에서도 균사체의 평균건조중량 76.6 mg 당 실험 최대농도인 11.2 mM 에서 주어진 MEK 8.07 mg 중 극히 일부인 0.62 mg MEK 뿐이어

서 대부분이 미생물 대사에 의한 제거임을 확인할 수 있었다. 단일균주로서 MF01 균주를 이용한 biofilter실험은 surface loading을 $2.16 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ 로 유지시키고 MEK 농도를 $1.3 \sim 2.6 \text{ gm}^{-3}$ 로 변화시키면서 57일 동안 운전한 결과, 유입되는 MEK의 100%가 제거되었으며 최대 $10 \text{ gm}^{-3} \text{ h}^{-1}$ 의 제거율을 얻었다. Filter의 하단부에서는 25일부터 제거율이 급속히 떨어졌는데, 과도한 loading에 의한 중간 대사산물의 축적, pH의 변화, 또는 수분함량의 변화에 기인하는 것으로 판단된다.

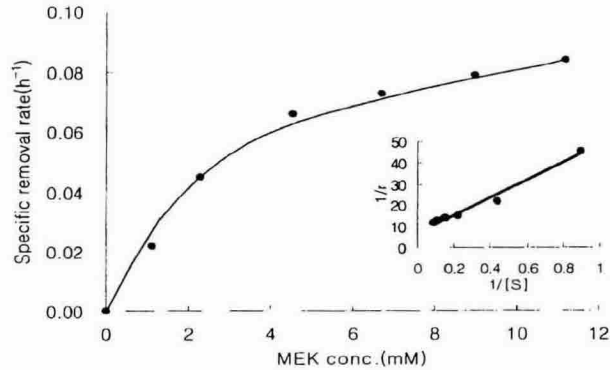


Fig 2. Degradation kinetic parameters of the MEK-degrading strain MF01. MEK utilization followed Michaelis-Menten kinetics, and K_m of 5.88 mM and maximum specific removal rate of 0.14 h^{-1} were estimated from the Lineweaver-Burk plot (inset).

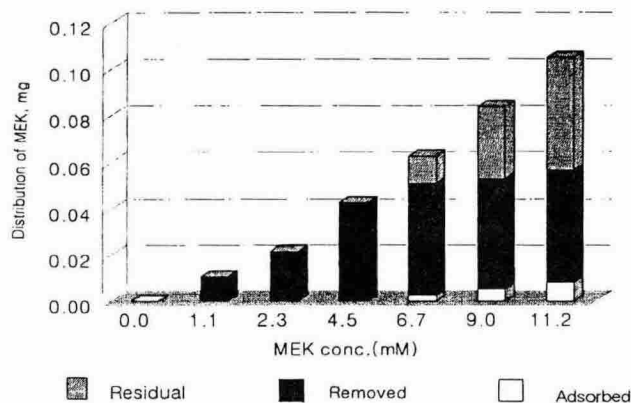


Fig 3. An examination of MEK adsorption during MEK removal. Measurements were made 1 hours after MEK addition to heat-killed MF01 cultures.

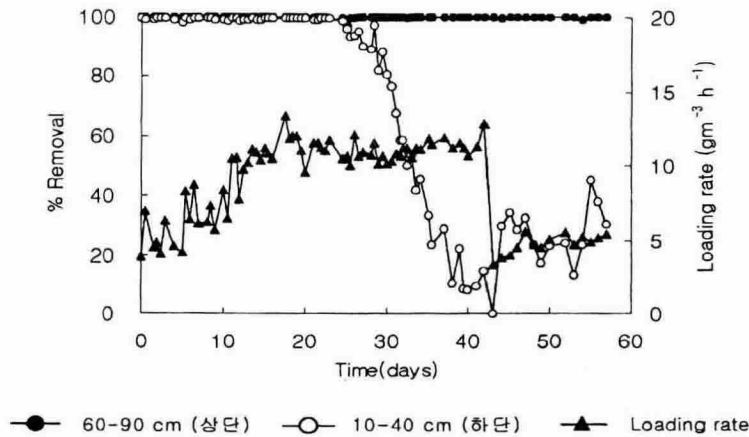


Fig 4. MEK removal efficiency by the individual segments of the biofilter during the operation for 57 days. Data are shown for the segments from 10 to 40 cm and 60 to 90 cm.

요약

MEK를 단일 탄소원 및 에너지원으로 하는 균주를 춘천시 공단지역 토양으로부터 분리하였고 그 중 *Geotrichum* sp. MF01 균주는 MEK 분해 시 Michaelis-Menten kinetics를 따랐으며, K_m 과 r_{max} 는 각각 5.88 mM, 0.14 h^{-1} 로 가장 좋은 분해능을 보여 주었다. 또 MEK 분해 시 물리적인 흡착이 관여했으나, 대부분은 미생물 대사에 의한 제거였다. 순수 분리된 미생물을 이용한 biofilter 실험에서는 57일 동안 최대 $10 \text{ gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ 의 제거율을 얻었다.

참고문헌

1. Geoghengan, D.P. 1997. Effects of unsteady state conditions on the biooxidation of methyl ethyl and methyl isobutyl ketone in continuous flow liquid phase cultures. *Bioproc. Eng.* 16. 315-322.
2. Oh, Y.-S. and S.-C. Choi. 1997. Characterization of BTX-degrading bacteria and identification of substrate interactions during their degradation. *J. Microbiol.* 35. 193-199.