

혼합 메탄자화균 생물막 반응기에 의한 Trichloroethylene 분해의 영향 인자

이무열 · 조현정* · 양지원*

동경공업대학 대학원 이공학연구과 국제개발공학전공
*한국과학기술원 화학공학과

(1999년 7월 29일 접수, 1999년 11월 12일 채택)

Factors of Trichloroethylene Degradation by Methanotrophic Consortium Biofilm Reactor(MCBR)

Moo-Yeal Lee · Hyun-Jeong Cho* · Ji-Won Yang*

Dept. of International Development Engineering, Tokyo Institute of Technology
**Dept. of Chemical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology*

ABSTRACT

Methanotrophic consortium utilizing methane as the primary carbon source and secreting soluble methane monooxygenase (sMMO) was immobilized on celite R-635 to continuously treat a wastewater containing trichloroethylene (TCE). With influent 2 ppm of TCE, 80.4 and 84.5% of TCE was degraded in 6 and 20 hour of hydraulic retention time (HRT), respectively, and the removal efficiency of TCE was increased with an increase in HRT in methanotrophic consortium biofilm reactor (MCBR). With influent 5 ppm of TCE and 10 hour of HRT, average efficiency of TCE removal was decreased in initial stage, but gradually increased to 81%. TCE was degraded to 88.5 and 96.5% with 10 and 15 hour of HRT, respectively, when methane was supplied alternately with continuous oxygen supply at influent 5 ppm of TCE. The efficiency of TCE degradation was decreased probably because oxidation reaction of methane was proceeded slowly on MMO, when high concentration of methane was supplied with depletion of oxygen. As results of the pilot-scale study, biodegradation of TCE by MCBR system might be feasible at full-scale operation.

Key Words : Trichloroethylene, Mixed Methanotrophs, Biodegradation, Soluble Methane Monooxygenase, Continuous Operation

요 약 문

메탄을 주요 탄소원으로 사용하며 가용성 메탄산화효소(soluble methane monooxygenase, sMMO)를 분비하는 혼합 메탄자화균을 celite R-635에 고정화시켜 TCE를 함유한 폐수를 연속적으로 처리하였다. 2 ppm의 TCE를 공급했을 때 각각 6, 20시간의 체류시간에서 약 80.4, 84.5%의 처리 효율을 얻었으며, 체류시간이 증가함에 따라서 제거율도 서서히 증가하였다. 5 ppm의 TCE를 공급하고 10시간 동안 체류시켰을 때, 초기에는 TCE의 제거능이 낮았으나 점차 81%까지 증가하였다. 또한 산소를 공급하면서 메탄을 주기적으로 공급할 때 5 ppm의 TCE가 체류시간 10, 15시간에서 각각 88.5, 96.5%까지 제거되었다. 반응기 내에 산소가 고갈된 상태에서 메탄을 고농도로 공급하면 MMO에 흡착된 메탄의 산화반응이 쉽게 진행되지 않아 TCE 분해능이 떨어졌다. 파일롯트 플랜트 규모의 생물막 반응기에서의 TCE 분해 실험 결과, 실제 크기 규모의 공장에도 충분히 적용 가능할 것으로 사료되었다.

주제어 : TCE, 혼합 메탄자화균, 생분해, sMMO, 연속 조업

1. 서 론

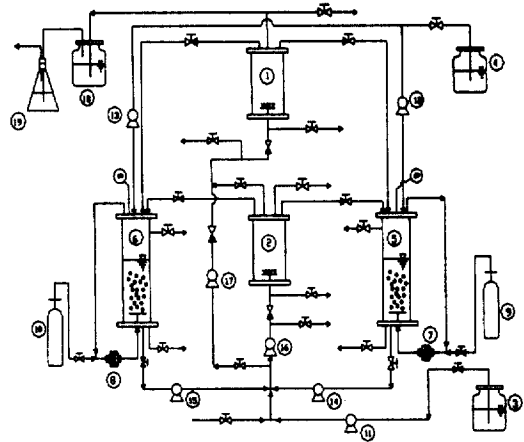
난분해성인 TCE로 오염된 지하수는 air stripping으로 오염물질을 대기 중으로 휘발시킨 후 다시 활성탄에 흡착시켜서 제거하는 on-site remediation이 고려되고 있다.^{1,2)} 그러나 저농도의 TCE는 휘발시켜 제거하기 어렵고 광범위한 지하수 층에 구멍(well)을 뚫어 고압의 공기를 불어넣어야 하기 때문에 비경제적이며, TCE가 흡착된 활성탄을 2차적으로 처리해야만 한다. 그러므로 저농도의 TCE로 오염된 지하수나 토양의 경우에는 *in-situ*로 처리할 수 있고 2차적인 처리가 필요없는, 미생물을 이용한 bioremediation이 고려되고 있다.¹⁻³⁾ 지금까지 TCE로 오염된 지하수나 토양을 생물학적으로 처리하는데 있어서 폐놀이나 톨루엔, 메탄 등을 탄소원으로 이용하는 미생물들이 알려져 있다.⁴⁻⁶⁾ 그러나 폐놀이나 톨루엔의 경우에는 지하수나 토양이 이러한 오염물질로 오염된 경우를 제외하고는 적용할 가능성이 적다. 그에 비해 메탄자화균의 경우에는 메탄이 폭발성이 있기 때문에 위험하기는 하지만 탄소원 자체가 다른 오염물질로 작용하지 않으므로 적용이 용이하고 광범위한 종류의 오염물질을 제거할 수 있다.^{7,8)} 따라서 혼합 메탄자화균총을 담체에 고정시켜 연속적으로 TCE를 처리하는 on-site bioremediation 공정을 고려하였다.⁹⁾

먼저, 혼합 메탄자화균총을 이용하여 TCE를 효율적으로 처리하기 위해서 여러 가지 형태의 반응기를 고려하였다. 일반적으로 널리 사용되고 있는 활성오니 공정은 TCE가 난분해성이기 때문에 보통의 미생물들은 분해하지 못하며 휘발성이 강해서 대부분 그대로 대기 중으로 휘발될 것으로 사료되었다. 그리고 기존에 유동층(fluidized bed) 반응기,^{10,11)} 살수여상법(trickling filter)¹²⁾ 등도 문제를 일으킬 수 있을 것으로 판단되었다. 특히 기체로 유동시키는 반응기는 활성오니 공정과 마찬가지로 짧은 시간 내에 TCE가 분해되지 못하고 대기 중으로 휘발되므로 2차 오염을 유발할 위험이 있었다. 액체로 유동시킬 경우에도 층 bed)을 유동시키기 위해서 많은 에너지가 필요하며 미생물에 의해서 생성되는 점착성 고분자 물질 때문에 입자 간의 응집이 일어날 수 있다. 살수여상법의 경우에는 메탄이나 산소가 메탄자화균에 쉽게 접근할 수 있으나 TCE가 액체막을 통해서 쉽게 대기 중으로 휘발되므로 역시 2차 오염을 유발할 가능성이 있었다. 그 외에도 Mafarland 등¹³⁾은 TCE의 갑작스런 공급이나 기타의 요인에 의해 사멸되는 메탄자화균과 탄소원을 공급하기 위해서 발효조에서 메탄자화균을 배양하여 접종액을 연속적으로 생물막 반응기로 공급하는 2단 반응시스템을 채택하여 우수한 생물막의 형성과 TCE 분해능을 얻었다. 그러나 2단 반응시스템에서는 메

탄 농도가 비교적 낮을 때 sMMO의 활성과 성장능이 좋기 때문에 실제 공정에서처럼 TCE 폐수가 월등히 많을 경우에는 메탄이 너무 희석되어 탄소원의 고갈에 의해서 생물막의 성장에 문제가 생길 것으로 사료되었다. 그러므로 메탄의 포화도를 떨어뜨리지 않기 위해서 메탄과 공기는 각각 순메탄과 순산소로 과포화시킨 다음 공급하는 것이 좋을 것으로 생각되었다. 따라서 이러한 점들을 고려하여 가압 산기식의 메탄자화균 생물막 반응 시스템을 설계하였으며,⁹⁾ 이를 이용하여 여러 가지 TCE 분해 특성을 살펴보았다.

2. 실험장치 및 방법

앞의 연구 결과에서¹⁴⁾ 분리된 흰색 메탄자화균주가 붉은색 계통의 균주보다도 TCE 분해능이 뛰어나지만 외분비 고분자로 인한 고정화의 용이성 때문에 붉은색 균주를 제외시키지 않았다. 더욱이 혼합 배양할 때 단독일 경우 보다 TCE의 분해능이 더 좋았기 때문에 혼합 배양된 메탄자화균을 선택하였다. 따라서 생물막 반응기에 사용된 메탄자화균은 이전 연구에서 분리된 혼합 메탄자화균총 MM이며,¹⁴⁾ 고정화 담체로는 celite R-635가 사용되었다. 그리고 celite R-635는 산소 및 메탄을 고농도로 공급할 수 있는 가압 산기식의 혼합 메탄자화균 고정층 생물막 반응 시스템에 증진하였다 (Fig. 1). 반응기 I과 II의 전체 부피는 각각 40.7 L, celite를 충전한 부피는 각각 32.4 L, 총 공급의 부피는 25 L씩이었으며, 초기 접종한 후 130일 후 생물막이 완전히 성장하였다. TCE를 연속적으로 분해하기 위해서 먼저 메탄자화균 고정층 생물막 반응기의 TCE 공급 펌프, nitrate mineral salt (NMS) 배지의^{14,15)} 메탄 및 산소 폭기조 공급 펌프, 메탄 및 산소 포화 NMS 배지 공급 펌프는 작동시켰으며, 고정층 반응기 I과 II의 유입 펌프는 작동시키지 않았다. 메탄 및 산소 폭기조는 반응조건에 따라 약 간씩 틀리지만 대체로 하루에 두번, 1시간씩 메탄과 산소의 게이지압 0.2기압 하에서 폭기시킨 다음 각각의 반응기로 유입시켰다. 앞의 연구 결과에서¹⁶⁾ 메탄은 탄소원으로 성장에 필수적이지만 TCE 분해



- | | |
|---|--|
| ① methanotrophic consortium biofilm reactor I | ⑫ NMS feed pump to methane sparger |
| ② biofilm reactor II | ⑬ NMS feed pump to oxygen sparger |
| ③ wastewater contaminated by TCE | ⑭ feed pump of NMS medium with methane |
| ④ NMS medium | ⑮ feed pump of NMS medium with oxygen |
| ⑤ methane sparger | ⑯ input feed pump to reactor I |
| ⑥ oxygen sparger | ⑰ input feed pump to reactor II |
| ⑦ methane blower | ⑱ waste tank |
| ⑧ oxygen blower | ⑲ activated carbon bed |
| ⑨ methane cylinder | |
| ⑩ oxygen cylinder | |
| ⑪ TCE feed pump | |

Fig. 1. Diagram of MCBR system.

에 대한 기질 저해 작용이 상당히 크게 나타났기 때문에 과잉으로 공급하는 것은 피했으며, 기질 저해를 일으키지 않는 범위 내에서 일정하게 공급하였다. TCE의 연속 분해능을 측정하기 위해서 사용된 폐수는 수도물에 TCE를 희석한 것으로 멸균하지 않았으며, 관리 중에 TCE가 휘발되어 양이 너무 적을 때에는 TCE를 다시 spiking하여 사용하였다. TCE 폐수는 희석되는 비율을 고려하여 전체 유량의 약 8/10, 나머지 산소 및 메탄 폭기조의 유량을 각각 1/10으로 하여 운전하였다. 또한 메탄자화균을 TCE에 적응시키기 위해서 연속적으로 TCE를 공급하기 전에 2주일 이상 2 ppm 정도의 TCE를 반응기 내에 공급한 후 펌프를 끄고 반응기 내에서 분해시켰다.

잔류 TCE의 양을 보다 정확하게 측정하기 위해서 반응기로부터 시료를 200 mL 정도 뽑아서 버린 후 새로 동일한 양 만큼을 샘플로 취하였다. 그리고 PIFE/silicone septa를 가진 8 mL bial 속에 head

space가 없이 TCE가 들어 있는 시료 용액을 넣고 주사기로 3 mL 정도 뽑아낸 다음, 내부 표준물질로 1 ppm의 1,3-dibromopropane (DBP)가 포함된 2 mL hexane을 주입하여 TCE를 역추출하여 electron captured detector (ECD)가 장착된 GC (HP 5890II)로 분해된 TCE의 양을 분석하였다. 내경 0.53 mm인 VOCOL capillary column이 사용되었으며, 오븐, injector, detector의 온도는 각각 80 → 160°C (10°C/min), 180°C, 200°C가 되도록 설정하였다. 시료 중의 용존 산소 농도는 DO meter (YSI model 55)로 측정하였으며, 용존 메탄 농도는 시료 용액의 head space를 GC-TCDD로 측정하고 Henry's law를 써서 간접적으로 구했다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 반응기 내 체류시간에 따른 TCE의 분해능

메탄자화균의 기질로 사용되는 용존 메탄과 산소의 농도를 구하기 위해, 먼저 "Lange's Handbook of Chemistry"에 의해 이론적으로 구한 수증의 최대 용존량은 주된 실험 온도인 20~25°C에서 CH₄ 22 ppm, O₂ 41 ppm이었다.¹⁷⁾ 그런데 메탄 및 산소 폭기조에서처럼 압력이 가해져 있는 경우에는 기체의 부분압(partial pressure)을 고려하여 용존된 기체의 양을 계산해야한다. "Perry's Chemical Engineers Handbook"으로부터 Henry 상수를 찾아보면,¹⁸⁾ 게이지 압력 0.2 기압, 20°C에서 CH₄ 3.76×10⁴, O₂ 4.01×10⁴이므로 계산에 의해 산소 및 메탄 폭기조에서 CH₄ 28.4 ppm, O₂ 53.2 ppm이 최대로 포화될 수 있음을 알 수 있었다. 그러므로 산소 및 메탄으로 폭기된 각각의 NMS 배지가 TCE 폐수와 합쳐져 약 10배 희석되는 것을 고려하면 반응기 내로 들어가는 산소와 메탄의 농도를 유추할 수 있었다. 측정 결과에 의하면 반응기로 들어가는 액체 중의 용존 메탄과 산소의 양은 대략 2.5~4 ppm과 8~10 ppm이었다. 산소의 경우는 메탄과 마찬가지로 희석되지만 TCE 폐수 속에 원래 들어있던 산소 때문에 약간 높은 값이 나왔다. 하지만

celite R-635로 메탄자화균을 고정한 TCE 분해 반응기를 약 하루 정도 체류하고 나오면 각각 0.5~1 ppm과 1~2 ppm 정도로 메탄과 산소의 농도가 낮아졌다.

생물막 반응기 내에서의 유체의 체류시간에 따른 TCE의 분해능은 연속실험에서 시스템의 전반적인 성능 평가를 할 수 있는 가장 기초 실험이었다. 먼저 동일한 초기 조건에서 메탄자화균 생물막 반응기의 체류시간만 달리하여 TCE 분해능을 확인하였다. 처음에 너무 높은 농도의 TCE를 공급하는 것은 독성으로 인해 위험하기 때문에 앞의 분해 실험 결과를 바탕으로 유입 TCE의 농도를 2 ppm으로 결정하였다.¹⁶⁾ 결과에 의하면 생물막 반응기를 6시간 동안 체류하고 나온 경우에는 10일 동안 운전한 평균 TCE 제거능이 80.4%이었다 (Fig. 2). 이론적으로 TCE 1mol을 완전 산화시키기 위해서 필요한 산소가 3/2mol이므로 산소 요구량(O₂/TCE)이 0.365이지만, 균주의 성장을 위해 메탄이 1mol 공급되면 추가로 1mol의 산소가 더 필요하므로 메탄에 대해서도 2.0의 O₂/CH₄가 필요하였다.⁹⁾ 따라서 반응기 내에 메탄자화균의 성장을 위해 최대 3 ppm의 메탄

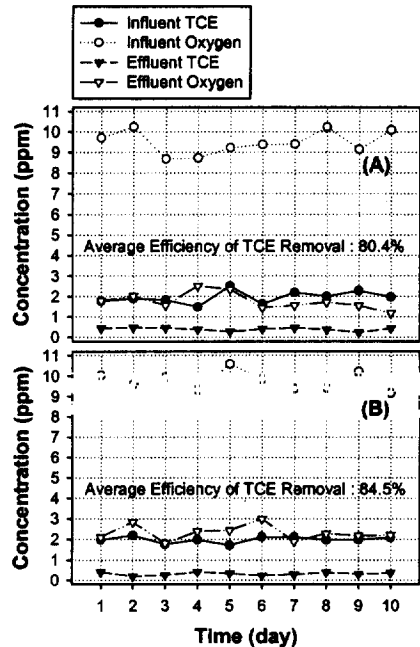


Fig. 2. TCE degradation in MCBR fed with influent 2 ppm of TCE at (A) 6 hour and (B) 20 hour of HRT.

이 완전히 산화된다고 생각해볼 때 이론적인 산소 요구량은 6 ppm이고, 분해시켜야 할 TCE의 농도가 2 ppm이라면 추가로 0.73 ppm의 산소가 더 필요함을 알 수 있었다. 그러므로 메탄자화균의 성장과 TCE 분해를 위해서 최소한 6.73 ppm의 용존 산소가 필요함을 알 수 있었다. 하지만 실제의 경우에는 TCE 분해 반응의 초기에 반응기 내에서 생길 수 있는 여러 가지 변동에 의한 시스템의 불안정성을 막기 위해서 이론값 보다도 높은 9~10 ppm의 산소를 공급하였다. 실험 결과에 의하면 잔존 TCE의 농도는 대부분 0.3 ppm 정도이었으며, 반응기 내의 체류시간이 20시간일 때는 84.5%의 TCE 제거 효율을 보였다 (Fig. 2). 결과적으로 2 ppm의 유입 TCE를 생물막 반응기 내에서 분해했을 경우, 6시간 정도에서 80%의 제거율을 보이며 체류시간이 증가함에 따라서 제거율이 약간씩 증가함을 알 수 있었다 (Fig. 3). 연속적으로 메탄과 산소를 공급할때 물속의 용존산소, 메탄, TCE는 하루 정도 이내에 거의 대부분 없어졌으며, 그 이후로는 시간을 더 늘려도 TCE의 분해가 더 진행되지 않았다. 위의 결과는 이전의 다른 연구자들이 보고한 평균 20%,¹⁹⁾ 50%,¹²⁾ 60%의¹¹⁾ TCE 제거능 보다도 우수한 것으로 사료되었다.

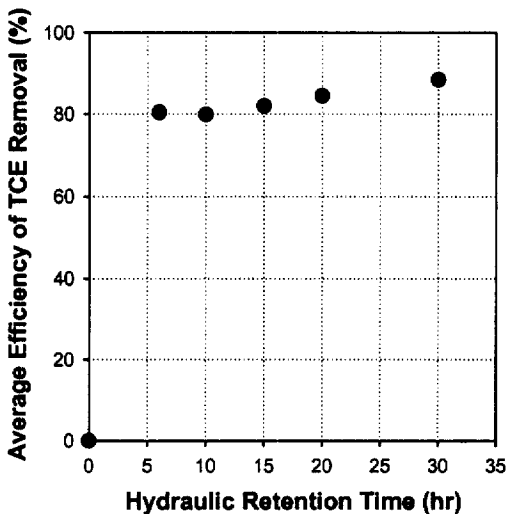


Fig. 3. Average efficiency of TCE degradation in MCBR fed with influent 2 ppm of TCE at different HRT.

3.2. 유입 TCE 농도가 5 ppm일 때의 분해능

이전의 batch 실험 결과에 의하면 혼합 메탄자화균으로 TCE를 분해했을 때 5 ppm까지는 완전분해가 가능하였다.¹⁶⁾ 그러나 그 이상의 농도에서는 TCE의 독성으로 인하여 더이상 분해가 진행되지 않았다. 일반적으로 TCE의 메탄자화균에 대한 독성은 TCE의 농도와 미생물의 무게(cell mass)의 비에 의존하지만 대체로 완전히 성장한 상태에서 TCE 20 ppm 이상에서는 완전분해가 이루어지지 않았었다.^{6,16)} 앞의 실험결과에서 2 ppm의 TCE를 연속적으로 유입할 때 대부분 6시간 이내에 분해되었지만 완전분해는 되지 않았다 (Fig. 3). 따라서 농도에 따른 TCE 분해능의 변화를 살펴보기 위해서 평균 유입 TCE의 농도를 2 ppm에서 5 ppm으로 상승시켜 보았다. 그 외의 산소의 농도는 초기에는 전과 마찬가지로 10 ppm 정도를 유지하다가 다음 단계에서는 12 ppm으로, 끝부분에서는 약 8 ppm 정도로 약간씩 변화를 주었다. 그리고 메탄의 농도는 전과 동일하게 약 3 ppm으로 유지했기 때문에 이론적으로 필요한 산소의 양인 약 7.83 ppm의 이내에서 실험을 진행하였다. 실험 결과에 의하면 처음에 2 ppm의 TCE를 공급하다가 5 ppm으로 과량이 들어갔기 때문에 TCE의 분해능이 일시적으로 낮아졌다 (Fig. 4). 그러나 수일이 지나자 점점 시스템이 안정을 되찾아 분해능이 서서히 증가되기 시작하였다. 여기서 호기성인 메탄자화균을 더욱 빨리 고농도의 TCE에 적용시키기 위해서 산소의 농도를 좀더 높여서 12 ppm 정도 공급하였다. 조건을 변경한 후 약 10일이 경과하자 메탄자화균은 TCE 농도 변화에 적응하기 시작하였으며 TCE의 잔존량도 약 1 ppm으로 안정을 되찾기 시작하였다. 그래서 반응기로 들어가는 유체 중의 산소의 양을 이론적 산소 요구량을 기준으로 하여 8 ppm 정도로 더욱 낮추었다. 그러나 우려하였던 제거능의 하락은 관찰되지 않았으며 매우 안정적으로 TCE가 분해되었다. 안정화 단계에서의 TCE 제거능이 약 81%이었지만 마찬가지로 TCE를 완전히 분해하지는 못했다. 이것은 여러 연구자들이 앞서 밝힌 MMO의 불활성화^{20,21)}에 의한 영향으로도 볼 수 있겠지만 고농도의 메탄에 의한 MMO의 포화로 인한 영향, 산소의 고갈, 저농도의 TCE의

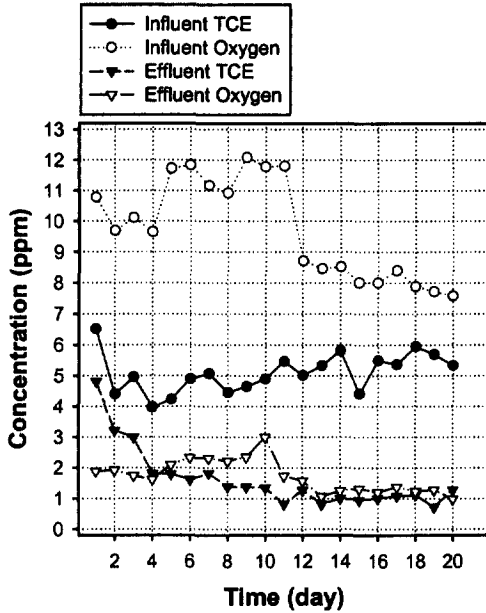


Fig. 4. TCE degradation in MCBR fed with influent 5 ppm of TCE at 10 hour of HRT.

물질전달 속도 한계 등의 복합적인 요인에 의한 것으로 추정되었다. 문헌에 의하면 TCE에 의한 효소의 불활성화는 MMO의 한 성분인 hydroxylase 중의 Fe가 반응 중에 유실되어 일어난다는 것과²⁰⁾ TCE epoxide의 hydrolysis 산물이 MMO와 반응하여 일어난다는 견해가²¹⁾ 지배적이다. 그리고 TCE의 독성 또는 TCE 분해의 최종 산물로 생성된 염소 이온의 영향으로 메탄자화균이 사멸되는 것을 막기 위해서 1주일에 한번씩 신선한 NMS 배지만으로 반응기 안을 세척하기로 하였다.

3.3. 메탄을 일시적으로 공급하지 않았을 때의 영향

문헌에 의하면 TCE의 분해에 있어서 메탄 저해 작용을 보이는 것은 메탄의 MMO에 대한 친화도 (affinity)가 TCE 보다 100배 이상 크기 때문에 물속에 메탄이 고농도로 존재하면 TCE가 MMO와 결합할 수 없게 되는 것으로 해석되었다.⁸⁾ 그러므로 TCE의 분해에 대한 메탄의 영향을 살펴보기 위해서 메탄이 포화된 NMS 배지를 일시적으로 공급하지 않고 실험을 수행해 보았다. 여기서 TCE 함유

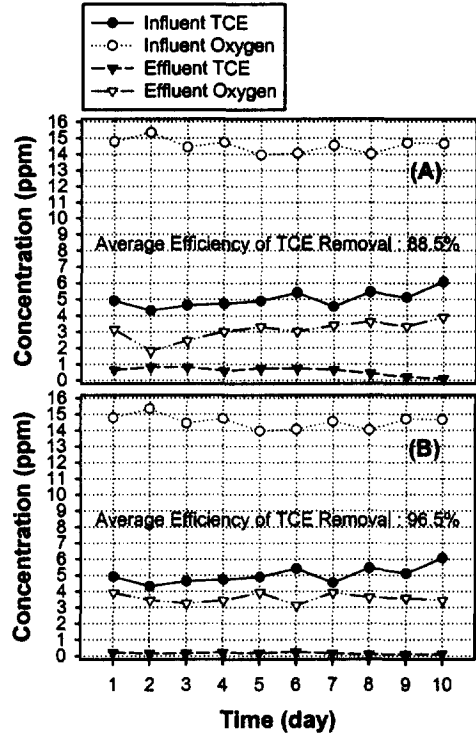


Fig. 5. TCE degradation in MCBR fed with influent 5 ppm of TCE and without methane supply at (A) 10 hour and (B) 15 hour of HRT.

폐수 중의 용존 산소는 약 5 ppm이었으며, 산소로 폭기된 NMS 배지와 약 8 : 2의 비율로 병렬로 반응기에 공급하였다. 들어가는 TCE의 농도는 전과 마찬가지로 5 ppm이었으나 들어가는 산소의 농도는 약 14.5 ppm이었다. 실험 결과에 의하면 반응기 I로부터 유출되는 처리수 속의 용존 산소는 약 3 ppm이었으며 들어가는 TCE의 약 88.5%가 제거되었다 (Fig. 5(A)). 이것은 지금까지의 결과 중 가장 우수한 것으로 TCE의 분해에 있어서 메탄에 의한 MMO의 저해가 있음을 보여 주었다. 더욱이 시간이 경과할수록 TCE의 분해능이 더욱 좋아짐을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 앞의 2단 반응 시스템에서 메탄에 대한 저해 작용을 보기 위해 일시적으로 발효조에 메탄의 공급을 중단하면 TCE의 분해능이 증가한 결과와 동일하였다.¹³⁾ Lanzarone 등도 주기적인 메탄의 공급이나 낮은 메탄 농도가 메탄자화균에 의한 TCE의 분해에 더욱 효과적임을 밝혔다.¹⁹⁾ 그러나 유출수 중의 산소 농도가 점점 증가하

고 있는 것으로 보아 장시간 메탄을 공급하지 않으면 메탄산화균의 활성이 떨어짐을 알 수 있었다. TCE의 분해능을 높이기 위해서 오랫동안 메탄을 전혀 공급하지 않는다면 균주들은 모두 사멸되고 말 것이다. 따라서 생물막이 완전히 형성된 이후에는 반응기 내의 메탄을 적절한 농도(약 1.5 ppm)¹⁹⁾ 일정하게 유지하거나 고농도의 메탄을 주기적으로 공급하는 것이 TCE의 분해에 더욱 유리할 것으로 사료되었다. 반응기 II의 경우에는 I과는 달리 반응기 내 체류시간을 10시간에서 15시간으로 늘려보았다 (Fig. 5(B)). 그 결과 평균 제거율은 약 96.5%로 반응기 I의 경우보다도 뛰어났으며, 체류시간이 길어지면 TCE의 분해능이 증가한다는 것을 보여 주었다. 이러한 메탄의 TCE에 대한 경쟁 저해를 없애기 위해서 메탄을 성장기질로 고려하기도 하였지만 메탄의 독성때문에 분리된 메탄산화균이 잘 성장하지 못했다.¹⁴⁾ 특히 메탄을 *Methylomonas*종을 제외한 대부분의 메탄산화균에 대해 독성을 나타내는 것으로 알려졌었다.¹⁵⁾ 예외적으로 몇몇 메탄산화균이 메탄과 메탄올을 동시에 대사하여 성장하고 TCE를 분해할 수 있는 것으로 보고되고 있지만, 아직까지는 대부분의 메탄산화균들이 배지 중에 1 mM 정도의 메탄올만 포함되어도 잘 자라지 못하였다.^{15,22)} 또한 *Methylosinus trichosporium*과 같은 몇몇 종만은 특이하게도 메탄에 비해 절반 정도의 TCE 분해능을 보였으나 나머지 균주들은 메탄을 메탄올로 산화시키는데 작용하는 MMO의 기능이 저하되어서 전혀 분해능을 보이지 못했다.²²⁾

3.4. 유입 TCE 농도가 7 ppm일 때의 분해능

TCE 농도에 대한 분해능을 좀 더 살펴보기 위해서 TCE의 농도를 7 ppm까지 다시 증가시켰다. 순간적인 TCE 공급에 의한 시스템의 불안정을 막기 위해서 5 ppm부터 천천히 7 ppm까지 증가시켰으며, 이론적인 산소의 양을 기준으로 약 8 ppm의 산소를 공급하였다. 실험의 결과에 의하면 처음에 대략 5 ppm 정도의 TCE를 공급했을 때는 잔존 TCE의 양이 모두 1 ppm 이하로 앞의 결과보다도 우수하였다 (Fig. 6). TCE의 유입 농도를 서서히 높여 약 6.5 부근일 때도 TCE의 제거율이 1 ppm을 약간 상회하는 정도였다. 그러나 여기서 TCE의 농도

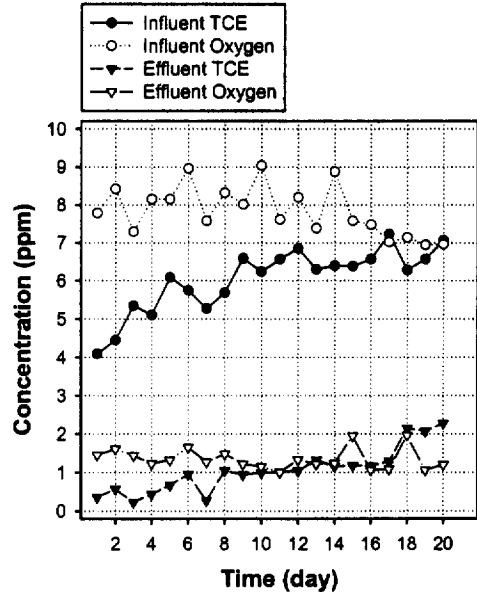


Fig. 6. TCE degradation in MCBR fed with influent 7 ppm of TCE at 10 hour of HRT.

가 약간 더 높아져 약 7 ppm까지 도달하면서 잔존 TCE의 양이 2 ppm 정도로 급격히 증가하였다. 7 ppm의 TCE를 분해하기 위해서 이론적으로 필요한 산소의 양은 8.55 ppm이었으며, 반응기로부터 유출되는 산소의 농도는 전체적으로 볼 때 TCE의 농도가 높아짐에 따라 서서히 떨어지고 있음을 알 수 있었다. 결국, 분리된 메탄산화균종으로 TCE를 연속적으로 분해하기 위해서는 5 ppm 이하로 공급하는 것이 좋을 것으로 사료되었다.

3.5. 일시적으로 산소를 공급하지 않았을 때의 영향

비록 지금까지 여러 가지 이견이 있었지만 현재까지는 메탄에 대한 K_m 이 TCE의 경우 보다 작기 때문에 MMO에 대한 메탄 친화도가 더욱 크며, 메탄의 농도가 비교적 높아 메탄산화균이 잘 자라는 조건에서는 TCE가 잘 분해되지 않는다고 보고되고 있다.^{8,13)} 이것은 물속에 다량으로 존재하는 메탄이 MMO의 활성점을 포화시켜서 TCE의 분해에 사용되지 못하게 하기 때문에 나타나는 현상으로 알려져 있다. 여기서는 산소로 폭기된 NMS 배지는 공급하

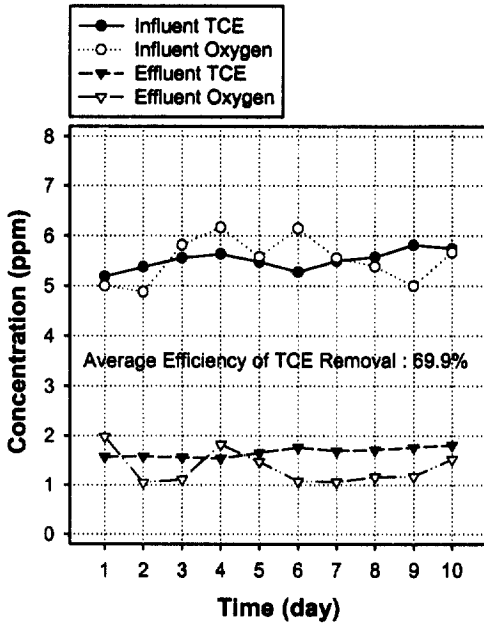


Fig. 7. TCE degradation in MCBR fed with influent 5 ppm of TCE and without oxygen supply at 10 hour of HRT.

지 않고 고농도의 메탄을 공급하여 일시적으로 MMO의 활성점을 메탄으로 포화시켜 보았다. 메탄으로 폭기된 NMS 배지와 TCE 함유 폐수의 비율은 약 2 : 8이었으며, TCE의 농도는 약 5 ppm으로 하였다. 따라서 실험시 들어가는 메탄 농도는 약 5.5 ppm, 산소의 농도는 TCE 폐수에 포함된 산소 때문에 약 5 ppm 내외로 유지되었다. 실험 결과에 의하면 TCE의 잔류량은 1.5 ppm 이상이며 제거율은 약 70%로 저하됨을 알 수 있었다 (Fig. 7). 이것은 산소의 부족에서 오는 것과 메탄에 의한 영향으로 사료되었다. 문헌에 의하면 메탄의 농도가 5 ppm 이상일 때는 TCE가 조금 또는 거의 분해되지 않으며 메탄의 농도가 1 ppm 이하에서 분해가 잘 되는 것으로 보고하였다.¹⁹⁾ 특히 1주일을 기준으로 주기적으로 메탄을 공급했을 때, 연속적으로 공급했을 때보다 TCE가 더 잘 분해된다고 하였다.¹⁹⁾ 그러나 이 결과는 용존 산소가 매우 낮은 경우로서, 본 실험에서처럼 산소가 약 5.5 ppm 정도로 포함되어 있는 경우와는 약간 다른 것으로 사료되었다. 반응기 속에 산소가 부족한 상태에서 메탄이 고농도로 공급되면 MMO에 흡착된 메탄의 산화반응이 느리게 진행

되어서 메탄으로 전환되기 어렵다.¹³⁾ 따라서 MMO에 더 오랫동안 흡착되어 있으므로 좀 더 TCE 분해에 저해 작용을 할 것으로 사료되었다. 그러나 반응기 내에 어느 정도 이상의 산소가 존재한다면 전보다는 빠르게 메탄이 산화되므로 저해 작용이 덜 할 것이다. 일반적으로 메탄산화균의 농도가 높을수록 sMMO의 양이 많으므로 TCE의 분해능이 좋아지고, 반응기 내의 체류시간이 길어지면 TCE의 분해능이 좋아진다.¹⁶⁾ 또한 TCE의 농도가 높아지면 독성으로 인하여 TCE의 제거율이 낮아진다. TCE의 분해는 균체의 농도에 비례하고 1차 속도식을 따르기 때문에 반응시간을 길게 하거나 메탄산화균을 고농도로 고정화하지 못하면 TCE를 완전히 분해하기가 어려울 것으로 사료된다.^{8,12)} 그 외에도 보통의 메탄산화균은 구리 농도가 0.25 μM 이상일 때 전혀 sMMO를 발현하지 못하기 때문에 구리의 영향의 영향도 매우 중요한 인자 중의 하나이다.^{8,23)} 그러나 구리는 자칫하면 반응기 내의 모든 메탄산화균의 sMMO를 변화시킬 우려가 있었기 때문에 본 실험에서는 수행하지 않았다.

4. 결 론

TCE를 연속적으로 분해하기 위하여 메탄산화균을 celite R-635에 고정화한 가압 산기식 혼합 메탄산화균 생물막 반응기를 제작한 후 여러 가지 실험 인자들에 대하여 연구를 진행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

평균 2 ppm의 TCE를 생물막 반응기로 공급할 때 체류시간이 증가함에 따라서 제거 효율도 서서히 증가함을 알 수 있었다. 유입되는 TCE 농도를 5 ppm으로 상승시켰을 때 초기에는 메탄산화균이 TCE에 적응되지 않아 분해능이 낮았지만 점차 성능이 향상되어 비교적 높은 제거율을 보였다. 메탄이 포화된 NMS 배지를 일시적으로 공급하지 않고 5 ppm의 TCE 폐수를 유입할 때 가장 높은 분해능을 보인 것으로 보아, TCE의 분해에 있어서 메탄에 의한 MMO의 저해가 상당히 크다는 것을 알 수 있었다. 메탄을 너무 많이 공급하면 기질에 의한 MMO의 저해로 TCE 분해능이 떨어지고 너무 적으면 탄

소원 고갈에 의해서 10일 정도 후부터 메탄자화균의 사멸이 발생하였다. 유입 TCE의 농도를 7 ppm으로 서서히 상승했을 때 유출 TCE 농도가 더욱 증가하는 것으로 보아 5 ppm 이하에서 반응기를 운전하는 것이 좋을 것으로 보였다. 또한 반응기 내에 산소가 부족한 상태에서 메탄을 고농도로 공급하면 MMO에 흡착된 메탄의 산화반응이 쉽게 진행되지 않아서 MMO에 더 오랫동안 흡착되어 있으므로 TCE의 분해에 좋지 않은 것으로 사료되었다.

사 사

본 논문은 93~95년도 환경부 "G-7 환경공학기술 개발사업"의 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다. 이에 감사드립니다. 또한 실험에 많은 도움을 주신 송선옥 연구원께 진심으로 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Bradford, M. L. and Krishnamoorthy, R., "Consider bioremediation for waste site cleanup," *Chem. Eng. Prog.*, **87**, 80~85 (1991).
- 이무열, 양지원, "난분해성 유기화합물로 오염된 지하수에 대한 bioremediation," *미생물과 산업*, **21**(4), 409~417 (1995).
- 양지원, "수계 환경오염정화를 위한 bioremediation," *생물공정 연구의 최근동향 논문집*, **3**, 167~178(1995).
- Shin, H. J., Lee, M. Y. and Yang, J. W., "Biodegradation of trichloroethylene by phenol-degrading *Pseudomonas putida*," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **8**(2), 185~187 (1998).
- Nelson, M. J., Montgomery, S. O., Mahaffey, W. R. and Pritchard, P. H., "Biodegradation of trichloroethylene and involvement of an aromatic biodegradative pathway," *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 949~954(1987).
- Oldenhuis, R., Oedzes, J. Y., van der Waarde, J. J. and Janssen, D. B., "Kinetics of chlorinated hydrocarbon degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b and toxicity of trichloroethylene," *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**(1), 7~14(1991).
- Colby, J., Stirling, D. I. and Dalton, H., "The soluble methane monooxygenase of *Methylococcus capsulatus* (Bath). Its ability to oxygenate n-alkanes, n-alkenes, ethers, alicyclic, aromatic and heterocyclic compounds," *Biochem. J.*, **165**, 395~403 (1977).
- Oldenhuis, R., Vink, L. J. M. R., Janssen, D. B. and Witholt, B., "Degradation of chlorinated aliphatic hydrocarbons by *Methylosinus trichosporium* OB3b expressing soluble methane monooxygenase," *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**(11), 2819~2826(1989).
- 이무열, 양지원, "혼합 메탄자화균 생물막 반응기에 의한 Trichloroethylene의 연속분해," *대한환경공학회지*, **22**(5), 971~980(2000).
- Fennell, D. E., Nelson, Y. M., Underhill, S. E. and Jewell, W. J., "Methanotrophic attached-film reactor development and biofilm characteristics," *Biotech. Bioeng.*, **40**, 1218~1232(1992).
- Fennell, D. E., Nelson, Y. M., Underhill, S. E., White, T. E. and Jewell, W. J., "TCE degradation in a methanotrophic attached-film bioreactor," *Biotech. Bioeng.*, **42**, 859~872(1993).
- Strandberg, G. W., Donaldson, T. L. and Farr, L. L., "Degradation of trichloroethylene and trans-1,2-dichloroethylene by a methanotrophic consortium in a fixed-film, packed-bed bioreactor," *Environ. Sci. Technol.*, **23**(11), 1422~1425(1989).
- Mafarland, M., Vogel, C. M. and Spain, J. C., "Methanotrophic cometabolism of

- trichloroethylene in a two stage bioreactor system." *Wat. Res.*, **26**(2), 259~265(1992).
14. 이무열, 신현재, 염상필, 양지원, "Trichloroethylene의 분해를 위한 메탄자화균총의 분리 및 배양." *한국생물공학회지*, **13**(5), 483~490 (1998).
 15. Whittenbury, R., Philips, K. C. and Wilkinson, J. F., "Enrichment, isolation and some properties of methane-utilizing bacteria." *J. Gen. Microbiol.*, **61**, 205~218 (1970).
 16. 이무열, 신현재, 염상필, 양지원, "혼합 메탄자화균에 의한 Trichloroethylene의 분해," *대한 환경공학회지*, **20**(9), 1207~1217(1998).
 17. Dean, J. A., *Lange's handbook of chemistry*, 13th, McGraw-Hill, Chapter 10-5 (1985).
 18. Perry, R. H. and Chilton, C. H., *Chemical engineer's handbook*, 15th, McGraw-Hill, pp. 3~98(1973).
 19. Lanzarone, N. A. and McCarty, P. L., "Column studies on methanotrophic degradation of trichloroethene and 1,2-dichloroethane," *Ground Water*, **28**(6), 910~919(1990).
 20. Green, J. and Dalton, H., "Substrate specificity of soluble methane monooxygenase." *J. Biol. Chem.*, **264**, 17698~17703 (1989).
 21. Fox, B. G., Borneman, J. G., Wackett, L. P. and Lipscomb, J. D., "Haloalkene oxidation by the soluble methane monooxygenase from *Methylosinus trichosporium* OB3b: Mechanistic and environmental implications", *Biochemistry*, **29**, 6419~6427(1990).
 22. Little, C. D., Palumbo, A. V., Herbes, S. E., Lidstrom, M. E., Tyndall, R. L. and Gilmer P. J., "Trichloroethylene biodegradation by a methane-oxidizing bacterium," *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(4), 951~956(1988).
 23. Tsien, H. C., Brusseau, G. A., Hanson, R. S. and Wackett, L. P., "Biodegradation of trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b," *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**(12), 3155~3161(1989).