

이학박사 학위논문

황화수소 분해능을 가진 *Enterobacter*
hormerchei JH의 분리 및 특성



미생물학과

김성현

이학박사 학위논문

황화수소 분해능을 가진 *Enterobacter*
hormerchei JH의 분리 및 특성

지도교수 이원재

이 논문을 이학박사 학위논문으로 제출함.

2009년 2월

부경대학교 대학원

미생물학과

김성현

김성현의 이학박사 학위논문을 인준함

2009년 02월 일

주 심 : 이 학 박 사 이 명 숙 ①

위 원 : 이 학 박 사 최 태 진 ①

위 원 : 공 학 박 사 이 재 화 ①

위 원 : 이 학 박 사 김 군 도 ①

위 원 : 농 학 박 사 이 원 재 ①

목 차

표 목차	iii
그림 목차	iv
Abstract	vi

I. 서 론	1
1. 악취물질의 분류	2
2. 악취물질의 특성	4
1) 악취물질의 농도와 자극량	5
2) 악취물질의 최소감지농도	5
3) 최소감지농도와 관련된 악취물질의 특성	8
3. 악취 처리기술	12
1) 물리, 화학적 처리법	12
2) 생물학적 처리법	16
3) 효과적인 처리기술 선택	19
4) 황화수소 분해에 이용되는 미생물	22
4. 연구목표	29
II. 재료 및 방법	31
1. 시료 채취	31
2. 황산화능을 가진 균주의 분리	31
1) 사용 균주 및 배지	31
2) 황산화능을 가진 균주의 분리	32
3) 황산화능 실험	32
3. 분리 균주의 동정	32

1) 형태학적, 생화학적 특성	32
2) 16S rRNA gene sequencing 분석	34
4. 분리 균주의 증식 특성 조사	38
1) 온도, pH에 대한 최적 증식 조건	38
2) 탄소원과 질소원의 영향	38
5. 분리 균주의 황 산화능 조사	38
1) 기질 농도 변화에 따른 황 산화능	38
2) Batch reactor test	39
3) Bench scale biotrickling filter system	42
III. 결과 및 고찰	47
1. 악취 분해 세균의 분리	47
2. 분리 균주의 동정	47
3. 분리 균주의 증식 특성	56
1) 온도, pH에 대한 최적 증식 조건	56
2) 탄소원과 질소원의 영향	60
4. <i>E. hormaechei</i> JH의 황 산화능 조사	62
1) Thiosulfate 농도에 따른 황 산화능	62
2) Batch reactor test	65
5. Bench scale biotrickling filter system	70
1) 제거효율	70
2) 제거용량	70
IV. 요약	75
V. 참고문헌	77

표 목차

Table 1. The physicochemical properties of odorous compounds	3
Table 2. Relationship between odor intensity and concentration	7
Table 3. Typical biofilter operating conditions for waste air treatment	18
Table 4. Emission control technologies for VOCs and odors	23
Table 5. Comparison of waste gas control technologies	24
Table 6. Applications of biofiltration	27
Table 7. The composition of thiosulfate-oxidizing medium	33
Table 8. Operating conditions of GC-FPD	41
Table 9. Screening of thiosulfate oxidizing bacterium from barnyard manure	48
Table 10. Morphological, physiological and biochemical characteristics of the <i>Enterobacter hormaechei</i> JH strain	52
Table 11. Biochemical characteristics of the <i>Enterobacter hormaechei</i> JH and <i>Enterobacter hormaechei</i> (ATCC 49162; CIP 103441) strain	55
Table 12. Reduction of hydrogen sulfide concentration by oxidation in incubation bottles	69
Table 13. Comparisons of elimination capacity	74

그림 목차

Fig. 1. Weber-Fechner's law	6
Fig. 2. Distribution of thresholds for odor compounds	9
Fig. 3. Thresholds of aliphatic alcohols	10
Fig. 4. Relation between threshold and molecular weight	11
Fig. 5. Schematic diagram of above-ground closed biofilter and below-ground open biofilter	17
Fig. 6. Schematic diagram of biological trickling filter	20
Fig. 7. Schematic diagram of bioscrubber	21
Fig. 8. Applicability of various air pollution control technologies based on air flow rates and concentrations to be treated	25
Fig. 9. Comparison of relative costs of several waste gas purification technologies	26
Fig. 10. Schematic diagram of screw septum bottle for measuring the biodegradation activity	40
Fig. 11. GC-FPD chart of standard gas	43
Fig. 12. Calibration curve of hydrogen sulfide from GC-FPD	44
Fig. 13. Schematic diagram of biotrickling filter	45
Fig. 14. Bright field microscopy images of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH on the Gram stains	49
Fig. 15. SEM microphotograph of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH	50
Fig. 16. The 16S rRNA gene sequence of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH	53
Fig. 17. Neighbour-joining tree showing the phylogenetic positions of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH	54
Fig. 18. Effect of initial pH on <i>Enterobacter hormaechei</i> JH cell growth	57

Fig. 19. Effect of various temperature on <i>Enterobacter hormaechei</i> JH cell growth	58
Fig. 20. Effect of various temperature on <i>Enterobacter hormaechei</i> JH cell growth in 24 hr and 48 hr	59
Fig. 21. Growth characterization of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH in thiosulfate medium supplemented with 0.2% carbone-sources and 0.2 nitrogen-sources	61
Fig. 22. Effect of thiosulfate concentrations on <i>Enterobacter hormaechei</i> JH cell growth	63
Fig. 23. Effect of thiosulfate concentrations on <i>Thiobacillus delicates</i> (KCT2851) cell growth	64
Fig. 24. Effect of thiosulfate concentration on the sulfur oxidation of <i>Enterobacter hormaechei</i> JH	66
Fig. 25. Effect of thiosulfate concentration on the sulfur oxidation of <i>Thiobacillus delicates</i> (KCTC2851)	67
Fig. 26. Effect of empty bed residence time on the H ₂ S removal efficiency	71
Fig. 27. Elimination capacity with regard to H ₂ S loading rate	73

Isolation and Characterization of *Enterobacter hormaechei* JH removing hydrogen sulfide

Sung-Hyun Kim

Department of Microbiology, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

In an effort to discover sulphur-oxidizing microorganisms, a new bacterium was screened from barnyard manure. The conventional biochemical tests were performed using the Vitek. And its 16S rRNA gene sequence analyzed. This strain had highest similarity to *Enterobacter hormaechei*, 99%. The selected strain was named *Enterobacter hormaechei* JH. The selected strain was an aerobic gram negative rod-shaped bacterium. The pH range for *E. hormaechei* JH growth was 2.0-9.0, and the optimal pH was determined as pH 7.0. The optimal temperature for growth was 30°C.

I compared the growth of this strain with *Thiobacillus delicatus*(KCTC 2851), which is a well known thiosulfate oxidizing microorganism. *E. hormaechei* JH presented greater growth than *T. delicatus*(KCTC 2851). The strain converted from thiosulfate to sulfate at 0.16 M. highest. This strain very well utilized galactose and yeast extract for carbon and nitrogen source individually. *E.*

hormaechei JH shown more effective growth compared with *T. delicatus*(KCTC 2851).

In a batch test, *E. hormaechei* JH , *Enterobacter hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441) and *T. delicatus*(KCTC 2851) represented their H₂S removing properties after 20hrs. *E. hormaechei* JH reduced H₂S 36.5 ppm, 25.7 ppm, 8.5 ppm and 3.0 ppm in 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 ml incubation volumes. *E. hormaechei* (ATCC 49162; CIP 103441) detected H₂S 108.4 ppm, 102.3 ppm, 98.7 ppm and 98.5 ppm in 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 ml incubation volumes. and *T. delicatus*(KCTC 2851) have 33.2 ppm, 22.4 ppm, 18.0 ppm and 3.1 ppm in 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 ml incubation volumes. In a bench-scale biotrickling filter, *E. hormaechei* JH remove over 95% of H₂S under EBRT(Empty Bed Retention Time) 1min, at a H₂S concentration 500 ppmv. Various tests have been conducted to evaluate the effect of H₂S inlet concentration and EBRT on H₂S elimination. On EBRT 1 min, removal efficiency decreased from 95% to 60% at H₂S concentration 500 to 2000 ppmv. After that removal efficiency increased as increasing EBRT. On EBRT 3 min, it showed almost 100% removal of H₂S. Maximum elimination capacity represented 118 g/m³·hr.

From this study, the biotrickling filter have a excellent ability to removal efficiency of H₂S and would be successfully useful in a commercial plant process. I suggest that this strain will be a good candidate for maintaining high H₂S removability in biological deodorizing systems.

I. 서론

황화수소, 메르캅탄류, 아민류 등 기체상태의 물질이 사람의 후각을 자극하여 불쾌감과 혐오감을 주는 냄새를 악취라 하며 암모니아 등 지정악취물질만 22종이나 된다(악취방지법 제2조 제1호). 악취의 대표적인 발생원으로는 퇴비화 시설, 돈·축사, 오·폐수 처리장, 식료품 가공공장, 석유정제소, 화학공장 등의 농업 및 공업단지가 있다(Both, 2001). 이러한 악취는 불쾌감, 혐오감, 눈과 호흡기계 점막 자극, 혈압이나 맥박 변화, 식욕감퇴, 구토, 두통, 불면, 알리지 증상 등의 생리적 영향과 정서생활의 방해, 작업능률 저하 등의 심리적 영향은 물론이고 거시적으로 지역발전을 저해하는 원인이 되므로 악취의 규제와 처리가 필요하다. 그러나 악취는 개인적인 특성과 생활수준 등에 따라 달리 인식되며 적시의 시료채취와 정량화가 매우 어렵다. 뿐만 아니라 원인물질이 다양하고 복잡적이며 국지 및 순간적으로 발생·소멸되기 때문에 악취물질의 규제 기준의 설정 및 그 처리가 매우 어렵다.

최근, 우리나라를 포함한 여러 국가에서는 악취로 인한 민원이 매년 증가하고 있는 실정이다. 우리나라의 경우 악취로 인한 민원건수가 2001년에는 2,760 건이었고 2002년에는 2,878 건, 2003년에는 2,381 건으로 약간의 감소 추세를 보였으나 2004년에 3,910 건으로 다시 증가하였으며 2005년에는 전년도 대비 10% 증가하여 4,302건에 이르게 되었다(환경부 대기보전국 대기관리과, 2006). 이렇듯 악취관련 문제가 대두되는 가장 큰 이유는 주거단지가 확장되면서 기존에 있던 공업단지와 농업단지가 가까워졌기 때문이다(Mahin, 2001). 이에 여러 국가에서는 적합한 악취규제를 두어 그 문제를 해결하고자 하고 있으며, 우리나라도 2005년 2월 ‘악취방지법’을 전면 실시하고 있다. 이에 따라, 악취배출시설을 설치한 사업자는 그 배출허용기준을 준수하도록 하여야하며(악취방지법안 제6조, 제7조) 만약 이 기준을 준수할 수 없다면 다른 부지로 옮겨야

한다(박 등, 2005). 하지만 이미 설립된 시설을 옮기는 데에는 많은 시간과 자본이 소요되는 등 현실적으로 어렵기 때문에 악취배출허용기준을 준수하기 위한 악취 제거기술이 더욱 중요시되고 있는 실정이다. 다양한 악취물질 중에서 황화수소는 특히 퇴비화 시설, 돈·축사, 오·폐수 처리장에서 많이 배출되며, 그 최소감지농도가 낮아서 적은 양으로도 불쾌감을 야기하며, 악취에 대한 허용치는 0.005 ppm으로 매우 낮은 유독가스이다. 황화수소는 이런 독성과 높은 불쾌지수로 인하여 법적으로 배출이 규제되고 있고 따라서 황화수소 가스를 배출하는 사업장에서는 배출허용 농도 이하로 황화수소를 제거하기 위한 경제적인 기술 개발이 필요한 실정이다. 그러나 황화수소의 경우 그 독성으로 인하여 처리장치를 부식시키거나 이용미생물이 희박하여 그 처리에 있어서 많은 어려움이 있다. 현재 황화수소 처리는 주로 생물학적 방법을 이용하고 있으나 이용 가능한 미생물이 제한적이라 새로운 대체 미생물 개발이 시급한 실정이다.

1. 악취물질의 분류

현재 알려진 유기화합물은 약 200만 종으로 그 중 1/5에 해당하는 약 40만 종에는 냄새를 가지고 있다고 추정하고 있고, 그 중 악취의 원인이 될 수 있는 물질은 그 종류가 대단히 많을 뿐만 아니라 악취물질 상호간의 복합적인 작용이나 후각의 개인적인 차이 등으로 인하여 느끼는 정도나 피해정도를 일률적으로 나타내기가 어렵기 때문에 대기오염 중에서도 가장 까다롭고 해결하기 어려운 공해문제 중의 하나로 취급되고 있다(Mao *et al.*, 2006). 악취물질의 물리화학적 특성을 살펴보면 대부분 물의 녹는점보다 낮고, 끓는점이 낮으며, 분자량이 17 ~ 105 g/mole 정도 수준으로 물에 대한 용해도가 다양하다 (Table 1) (Weast, 1976; Ramel and Nomine, 2000).

Table 1. The physicochemical properties of odorous compounds
(Weast, 1976; Ramel and Nomine, 2000)

compound	Formula	M-W	Specific gravity	M-P (°C)	B-P (°C)	Solubility*
Ammonia	NH ₃	17.03	—	−77.7	−33.4	89.9g
Methyl mercaptan	CH ₃ SH	48.11	0.896	−121	6	sl.s
Hydrogen sulfide	H ₂ S	34.08	—	−82.9	−60.4	437cc
Dimethyl sulfide	(CH ₃) ₂ S	62.14	0.845	−83.2	37.5	i.
Dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	92.14	1.057	Liquid	116	i.
Trimethylamine	(CH ₃) ₃ N	59.11	0.662	−124	3	v.sl.s
Acetaldehyde	CH ₃ CHO	44.05	0.784	−123.3	20.8	∞
Propionaldehyde	CH ₃ CH ₂ CHO	58.08	0.8058	−80.05	47.93	16.5g
n-butyraldehyde	CH ₃ (CH ₂) ₂ CHO	72.11	0.8049	−99	75.7	3.7g
i-butyraldehyde	(CH ₃) ₂ CHCHO	72.11	0.7904	−65.9	64.2	8.8g
n-valeraldehyde	CH ₃ (CH ₂) ₃ CHO	86.14	0.8105	−91.5	102.5	sl.s
i-valeraldehyde	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CHO	86.14	0.8004	Liquid	92.5	sl.s
Iosbutanol	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ OH	74.12	0.8018	−108	108	9.5g
Ethyl acetate	CH ₃ CO ₂ C ₂ H ₅	88.11	0.9005	−83.6	76.82	7.87g
Methyl isobutyl ketone	CH ₃ COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	100.16	0.7960	−84.7	115.9	1.7g
Toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	92.14	0.8716	−95	110.8	i.
styrene	C ₆ H ₅ CH=CH ₂	104.15	0.907	−31	145.8	v.sl.s
Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	106.17	0.861	−47.4	138.4	i.
Propanoic acid	CH ₃ CH ₂ COOH	74.08	0.999	−22	141	∞
n-butyric acid	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	88.11	0.959	−5.7	163.5	∞
n-valeric acid	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	102.14	0.939	−34.5	187.0	3.7g
i-valeric acid	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ COOH	102.14	0.928	−37.6	176.5	4.2g

* Solubility is given in parts by weight per 100parts by weight of the water.

(v. sl. v: very slightly soluble, sl. s: slightly soluble, i.: insoluble)

악취물질은 크게 무기성 악취가스와 유기성 악취가스로 분류할 수 있다. 그러나 각종 산업현장에서는 유기성 가스에 의한 악취물질이 대부분을 차지하고 있기 때문에 일반적으로 관능기에 따라 다시 분류될 수 있다. 악취분자를 구성하는 관능기는 대부분 헤테로 고리의 화합물로, -OH (alcohol), -CHO (aldehyde), -NH₂ (amine), -COOR (ester), -CO (ketone), -SH (thiol), -COOH (carboxyl) 등으로 구별되어진다. 따라서 악취물질은 관능기 종류에 따라 알콜류, 알데히드류, 아민류, 에스테르류, 케톤류, 황화합물류, 지방산류 등으로 구분할 수 있으며, 이들은 일반적인 탄화 수소류에 비하여 최소 감지농도 값이 매우 낮다(Hong, 2005; Weast, 1976; Ramel and Nomine, 2000). 이러한 각종 산업현장에서 발생하는 악취물질은 휘발성 유기화합물(VOCs)과 그 특성이 다르며, 대기 중에서 일반적인 휘발성 유기화합물에 비하여 반응성이 빠르고 대기 중의 체류시간이 짧은 것이 특징이다. 황화수소 등 황화계 악취물질은 분뇨처리장 등의 환경기초시설에서 대표적으로 발생하는 악취물질로 황화물은 pptv 수준에서 최소감지농도를 보이며 저농도로 장기간 존재할 경우 동·식물에 여러 가지 생리적 장애를 일으킬 수 있다. 또한 금속의 부식, 고무의 열화, 구조물의 손상 등의 광범위한 영향이 일어날 수 있다.

2. 악취물질의 특성

악취물질들을 Triangle odor bag method(Ishikawa and Nishida, 2000; Iwasaki and Ishiguro, 1978; Nagata and Takeuchi, 1990, 1996; Leonardos *et al.*, 1969; Hellman and Small, 1974)로 측정해 보면 각각의 악취물질들은 최소감지 농도와 관련하여 다양한 특성을 가진다.

1) 악취물질의 농도와 자극량

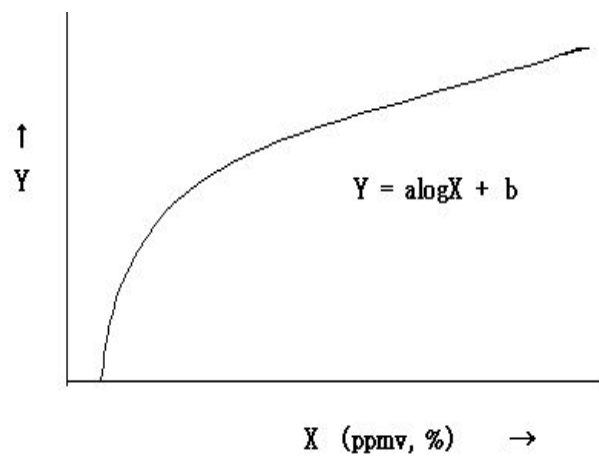
물리화학적 자극량과 인간의 자극의 세기와의 관계는 Weber-Fechner의 법칙과 일치하는 것으로 알려져 있으며, 이 법칙은 $Y = a \log X + b$ 로 표현되고 X 는 자극량, Y 는 감각 세기, 그리고 a 와 b 는 자극 고유의 상수를 나타낸다. 후각에 있어서도 Weber-Fechner의 법칙이 많이 이용되며, 특히 악취 분야에서 많은 연구가 진행되고 있다. 냄새물질이 인간의 후각기관에서 감지되었을 때 냄새 세기는 냄새물질의 자극량(물질량)과 후각에서의 수용 감각량과의 관계로 나타내어지며 냄새물질 농도와 인간의 후각으로 느끼는 감각량 사이에는 Weber-Fechner에 의한 관계식으로 나타낼 수 있다(Fig. 1). 이 법칙은 인간의 감각량을 물질농도의 대수에 비례하도록 하는 것으로 물질농도가 10배일지라도 인간의 감각으로는 약 2배 정도밖에 느낄 수 없음을 나타낸다. 반대로 90%의 취기를 제거해도 인간의 감각으로는 겨우 원래 냄새의 반 정도만 제거한 것처럼 느끼게 된다. 이것은 몸을 지키기 위한 신체가 가진 적응인 것으로 보고되고 있다.

악취물질의 영역에서도 Weber-Fechner의 법칙이 많이 연구되어 많은 악취물질 종류에 있어서 물질 농도와 악취 세기의 관계식이 밝혀졌고, Nagata and Takeuchi(1990)의 연구에 의하여 보고된 악취물질의 농도와 악취세기에 대한 관계식을 Table 2에 나타내었다. 이 관계는 어디까지나 단일 물질의 관계로 일반적으로 구성하는 복합냄새에 대해서 단순한 관계식으로 표현되지 않는 것으로 보고되었다.

2) 악취물질의 최소감지농도

매우 낮은 농도는 아무 냄새를 느낄 수 없지만, 농도를 서서히 진하게 하면 무엇인지는 모르지만 냄새의 존재를 느끼는 농도가 되며, 이 농도를 최소감지농도(TLV, Threshold limit value)로 정의하고 있다. 또한 농도를 더 짙게 하면, 냄새의 질이나 어떤 느낌의 냄새인지 표현할 수 있는 시점이 되는 최저농도를 인지농도(Recognition Threshold)라고 한다.

(A)



(B)

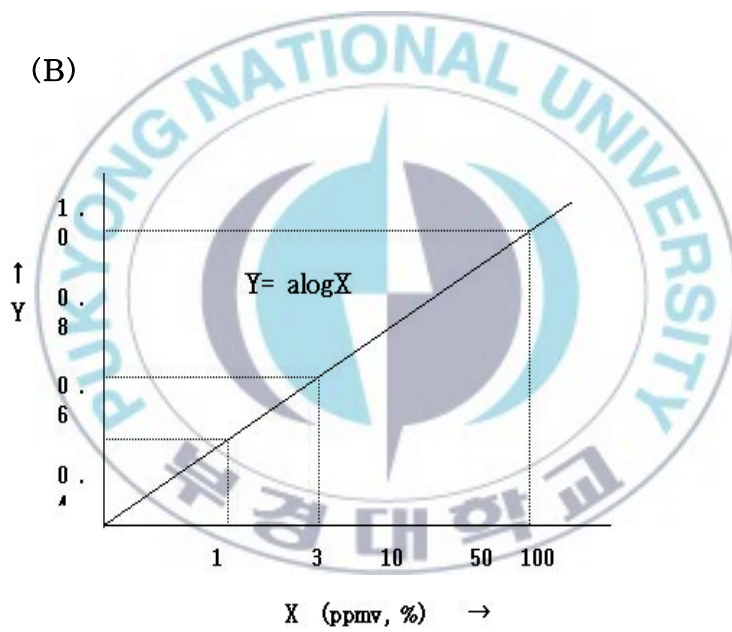


Fig. 1. Weber-Fechner's law (A) and (B).

Table 2. Relationship between odor intensity and concentration
(Nagata and Takeuchi, 1990)

Materials	formula*	Odor Intensity (-) and concentration (ppmv)				
		1	2	3	4	5
		Threshold	Moderate	Strong	Very strong	Over strong
Hydrogen sulfide	$y=0.950\log x+4.14$	5.0×10^{-4}	5.6×10^{-3}	6.3×10^{-2}	7.2×10^{-1}	8.1
Methyl mercaptane	$y=1.25\log x+5.99$	1.2×10^{-4}	6.5×10^{-4}	4.1×10^{-3}	2.6×10^{-2}	1.6×10^{-1}
ethyl mercaptane	$y=0.808\log x+4.86$	1.7×10^{-5}	2.9×10^{-4}	5.0×10^{-3}	8.6×10^{-2}	1.5
Dimethyl sulfide	$y=0.784\log x+4.06$	1.2×10^{-4}	2.3×10^{-3}	4.4×10^{-2}	8.3×10^{-1}	16
Diethyl sulfide	$y=1.08\log x+4.69$	3.9×10^{-4}	3.3×10^{-3}	2.8×10^{-2}	2.3×10^{-1}	2
Dimethyl disulfide(1)	$y=1.05\log x+4.45$	5.2×10^{-4}	4.6×10^{-3}	4.2×10^{-2}	3.7×10^{-1}	3.4
Dimethyl disulfide(2)	$y=0.985\log x+4.51$	2.8×10^{-4}	2.9×10^{-3}	3.0×10^{-2}	3.1×10^{-1}	3.2
Formaldehyde	$y=1.53\log x+1.59$	4.1×10^{-1}	1.9	8.4	38	170
Acetaldehyde	$y=1.01\log x+3.85$	1.5×10^{-3}	1.5×10^{-2}	1.5×10^{-1}	1.4	14
Acrolein	$y=1.51\log x+3.30$	3×10^{-2}	1.4×10^{-1}	3.3×10^{-1}	2.9	13
Propionaldehyde	$y=1.01\log x+3.86$	1.5×10^{-3}	1.5×10^{-2}	1.4×10^{-1}	1.4	13
n-Butylaldehyde(1)	$y=0.900\log x+4.18$	2.9×10^{-4}	3.8×10^{-3}	4.9×10^{-2}	6.3×10^{-1}	8.1
n-Butylaldehyde(2)	$y=1.03\log x+4.61$	3.2×10^{-4}	2.9×10^{-3}	2.7×10^{-2}	2.5×10^{-1}	2.3
i-Butylaldehyde	$y=1.06\log x+4.23$	9×10^{-4}	7.9×10^{-3}	6.9×10^{-2}	6.1×10^{-1}	5.3
n-ValerButylaldehyde	$y=1.36\log x+5.28$	7.1×10^{-4}	3.8×10^{-3}	21×10^{-2}	1.1×10^{-1}	6.2×10^{-1}
i-ValerButylaldehyde	$y=1.35\log x+6.01$	1.9×10^{-4}	1.1×10^{-3}	5.9×10^{-3}	3.2×10^{-2}	1.8×10^{-1}
Acetone	$y=1.79\log x-1.64$	30	110	400	1400	5200
Methyl ethyl ketone	$y=1.85\log x+0.149$	2.9	10	35	120	410
Methyl isobutyl ketone	$y=1.65\log x+2.27$	1.7×10^{-1}	6.8×10^{-1}	2.8	11	45
Methyl acetate	$y=2.17\log x-0.864$	7.3	21	61	180	510
ethyl acetate	$y=1.36\log x+1.82$	2.5×10^{-1}	1.4	7.4	40	220
Methyl acrylate	$y=1.30\log x+4.30$	2.9×10^{-3}	1.7×10^{-2}	1.0×10^{-1}	5.9×10^{-1}	3.5
ethyl acrylate	$y=1.26\log x+5.65$	2×10^{-4}	1.3×10^{-3}	8.0×10^{-3}	5.0×10^{-2}	3.1×10^{-1}
Methyl methacrylate	$y=2.05\log x+2.68$	1.5×10^{-1}	4.7×10^{-1}	1.4	4.4	14
n-Butyl acetate	$y=1.14\log x+2.34$	6.6×10^{-2}	5.0×10^{-1}	3.8	2.9	220
n-Butyl acrylate	$y=1.00\log x+4.56$	2.8×10^{-4}	2.7×10^{-3}	2.7×10^{-2}	2.7×10^{-1}	2.7
Propionic acid(1)	$y=1.46\log x+5.03$	1.7×10^{-3}	8.4×10^{-3}	4.1×10^{-2}	2.0×10^{-1}	9.7×10^{-1}
Propionic acid(2)	$y=1.38\log x+4.60$	2.4×10^{-3}	1.3×10^{-2}	6.9×10^{-2}	3.7×10^{-1}	1.9
n-Butyric acid(1)	$y=1.16\log x+5.66$	9.6×10^{-5}	7.0×10^{-4}	5.1×10^{-3}	3.7×10^{-2}	2.7×10^{-1}
n-Butyric acid(2)	$y=1.29\log x+6.37$	6.8×10^{-5}	4.1×10^{-4}	2.4×10^{-3}	1.5×10^{-2}	8.7×10^{-2}
I-Butyric acid	$y=1.43\log x+5.08$	1.4×10^{-3}	7.0×10^{-3}	3.5×10^{-2}	1.8×10^{-1}	8.8×10^{-1}
n-Valeric acid	$y=1.58\log x+7.29$	1×10^{-4}	4.5×10^{-4}	1.9×10^{-3}	8.2×10^{-3}	3.5×10^{-2}
i-Valeric acid	$y=1.09\log x+5.65$	5.3×10^{-5}	4.4×10^{-4}	3.7×10^{-3}	3.0×10^{-2}	2.5×10^{-1}
Methanol	$y=1.84\log x-2.23$	57	200	700	2500	8600
ethanol	$y=0.318\log x+1.36$	3.6×10^{-1}	6.1	100	1700	28000
i-Butanol	$y=0.790\log x+2.53$	1.2×10^{-2}	2.2×10^{-1}	4	74	1400
Phenol	$y=1.42\log x+3.74$	1.2×10^{-2}	5.9×10^{-2}	3.0×10^{-1}	1.5	7.7
O-Cresol	$y=0.826\log x+3.83$	3.8×10^{-4}	6.1×10^{-3}	9.9×10^{-2}	1.6	26
m-Cresol	$y=0.792\log x+4.08$	1.3×10^{-4}	2.4×10^{-3}	4.4×10^{-2}	8.1×10^{-1}	15
p-Cresol	$y=0.604\log x+3.64$	4.2×10^{-5}	1.9×10^{-3}	8.6×10^{-2}	3.9	180
Ammonia	$y=1.67\log x+2.38$	1.5×10^{-1}	5.9×10^{-1}	2.3	9.2	37
Methylamine	$y=1.03\log x+4.10$	9.5×10^{-4}	8.9×10^{-3}	8.4×10^{-2}	7.9×10^{-1}	7.4
Ethylamine	$y=0.811\log x+3.52$	7.7×10^{-4}	1.3×10^{-2}	2.3×10^{-1}	3.9	66
Trimethylamine	$y=0.901\log x+4.56$	1.1×10^{-4}	1.4×10^{-3}	1.9×10^{-2}	2.4×10^{-1}	3
Diethylamine	$y=1.00\log x+2.52$	3×10^{-2}	3.0×10^{-1}	3	30	300
Toluene	$y=1.40\log x+1.05$	9.2×10^{-1}	4.8	25	130	660
Styrene	$y=1.42\log x+3.10$	3.3×10^{-2}	1.7×10^{-1}	8.4×10^{-1}	4.3	22
Xylene(o:m:p=1:2:1)	$y=1.53\log x+2.44$	1.1×10^{-2}	5.2×10^{-1}	2.3	10	47
i-Propylbenzene	$y=1.16\log x+3.12$	1.5×10^{-1}	1.1×10^{-1}	7.9×10^{-1}	5.7	42
1,2,4-Trimethylbenze	$y=1.13\log x+2.75$	2.8×10^{-2}	2.2×10^{-1}	1.7	13	98
1,3,5-Trimethylbenze	$y=1.11\log x+2.60$	3.6×10^{-2}	2.9×10^{-1}	2.3	18	150

* y=odor intensity, x=concentration

최소 감지 농도는 측정 방법이나 측정기관에 따라 약간씩 차이를 보이며 한국 사람에 의해 측정된 예는 없다. 각 물질별 최소감지농도 값은 지역별, 성별, 생활습관 등에 의해 사람마다 차이를 보이고, 인종이 다른 국가간에도 차이가 있다. 특히 다른 물질에 비하여 암모니아나 지방산 등이 많은 차이를 보이는 것으로 보고되고 있다(Ishikawa and Nishida, 2000; Nagata and Takeuchi, 1990).

3) 최소감지농도와 관련된 악취물질의 특성

Triangle odor bag method 에 의해 측정된 최소 감지 농도 값을 살펴보면, pptv 수준에서는 황화합물이 분포하고 있으며, 황산소 화합물과 질소계 화합물류, 알콜류, 에스테르류 등이 이에 해당된다. 그 외 탄화 수소류와 염소계 화합물은 대부분 ppmv 수준의 최소 감지 농도 값을 가진다(Fig. 2). 각종 산업현장에서는 최소감지농도가 낮은 황화합물, 알데히드류, 에스테르류에 의해 악취의 영향을 받으며, 특히 황산소 화합물은 각종 현장의 여러 공정에서 유기물질의 산화에 의하여 생성되어지는 것으로 보고되고 있다(Heath and Reineccius, 1986; Karahadian and Lindsay, 1989; Rappert and Müller, 2005; Fross, D. A., 1969, Gardner, H. W., 1975). 각종 알콜류는 OH기가 부착된 위치에 따라 최소 감지 농도 값이 10배에서 1000배까지 차이가 나타나며, 분자량이 낮은 알콜($C_3 \sim C_5$)은 그 차이가 더욱 뚜렷하게 나타난다(Fig. 3). 따라서 악취원인물질을 규명하기 위해서는 이성질체(isomer) 물질도 각각 분리 정량할 수 있어야 하며 현장에서 배출되는 악취물질의 농도가 수 ppbv에서 수십 ppmv임을 고려할 때, 이들 악취원인물질의 농도수준은 pptv 혹은 ppbv 수준으로 낮기 때문에 악취영향에 있어 악취강도가 가장 큰 원인으로 작용한다. 악취물질은 분자량 50 g ~ 150 g 사이에 대부분 존재하고 있으며, 분자량 크기에 따른 최소 감지 농도 값의 변화는 거의 없으나, 분자량이 클수록 최소 감지 농도 값은 낮아지는 미세한 경향을 보인다(Fig. 4).

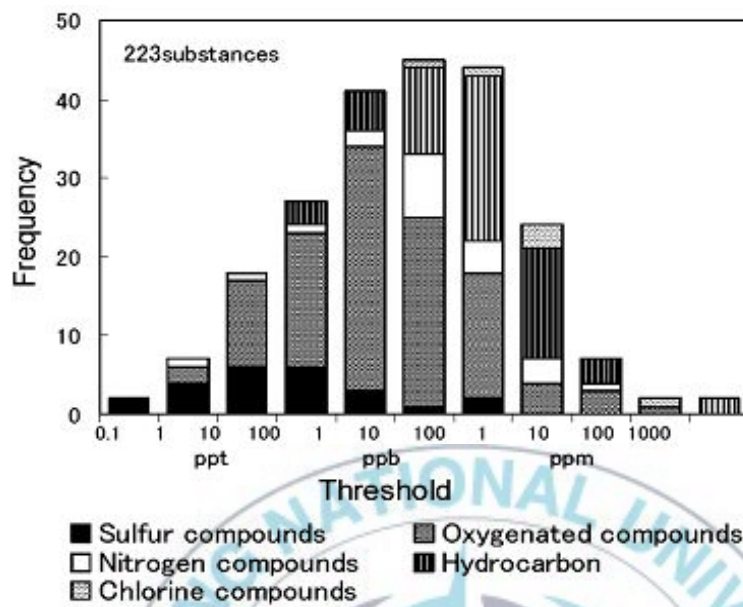


Fig. 2. Distribution of thresholds for odor compounds (Ishikawa and ishida, 2000).

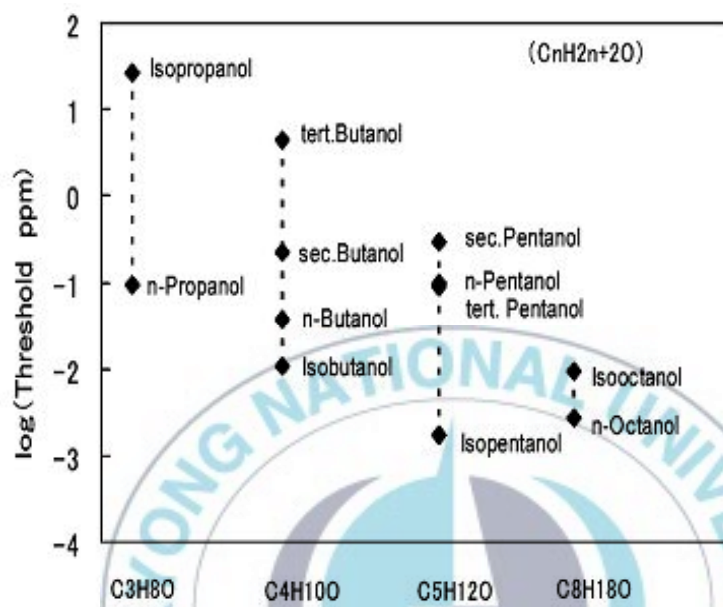


Fig. 3. Thresholds of aliphatic alcohols between isomers
(Leonardos *et al.*, 1969).

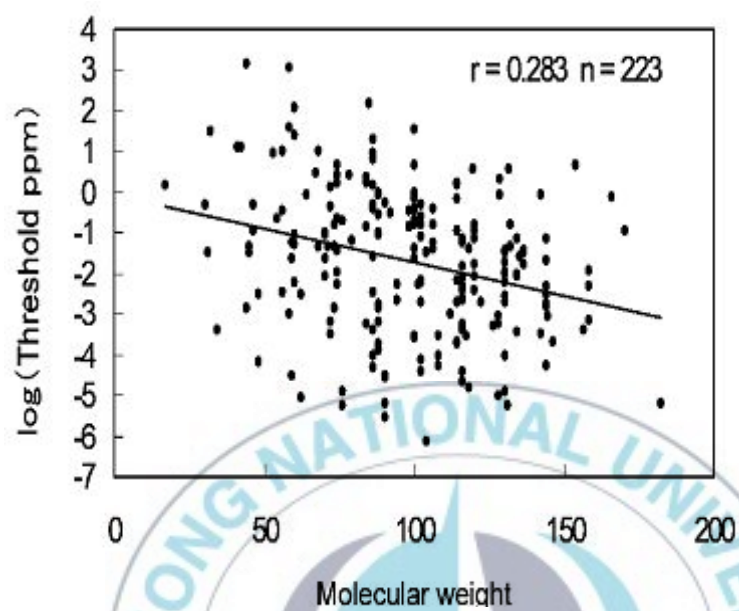


Fig. 4. Relation between threshold and molecular weight
(Nagata and Takeuchi, 1990, 1996).

악취물질 중에서 황화물의 경우 다른 알콜이나 알데하이드, 에스테르, 아민 등의 물질에 비해 낮은 최소감지농도값을 가지며, 이는 낮은 농도에서도 악취를 느끼게하여 불쾌감을 야기하게 된다. 이런 황화물들 중에서도 황화수소와 dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, methyl mercaptane은 한국과 일본에서 악취제어 대상으로 규정되어 있다. 그 중 황화수소의 경우 0.00041 ppmv의 아주 낮은 최소감지농도값을 가지며 분자량이 작아서 물리·화학적 방법으로 규정수치이하로 제거하기가 어렵다.

3. 악취 처리기술

악취의 처리공정은 크게 물리·화학적 방법, 생물학적 방법으로 나눌 수 있다. 물리적 방법의 제거는 유지관리가 쉽고 어느 정도까지는 악취성분 제거가 가능하지만, 유지관리비가 많이 들고 경제성이 떨어진다는 단점을 가지고 있고, 화학적 방법은 유지관리가 복잡하고 에너지 소모가 많이 들고 화학약품을 사용하므로 약품 소모비가 많이 들며 2차 오염 물질을 유발시킨다는 문제점이 있다. 그래서 최근에는 장비의 설치비가 저렴하고 유지관리가 쉽고, 약품비나 2차 오염물질을 유발시키지 않는 생물학적 방법이 각광을 받고 있다 (Ottengraf and van den Oever, 1983; Ottengraf, 1986; Shareefdeen *et al.*, 1993; Zilli *et al.*, 1993; Mpanias and Baltzis, 1998; Zilli and Converti, 1999).

1) 물리, 화학적 처리법

① 응축

이 방법은 제거효율이 다른 방법에 비해 그다지 높지는 않지만, 악취 및 휘발성유기오염물질 성분의 농도가 매우 높을 때에는 유효하며, 악취 및 휘발성유기오염물질을 본래의 형태로 회수할 수 있다. 응축기는 응축되어

야 할 기체와 냉매가 직접 접촉·혼합하여 응축되는 형태의 분무탑형과 단탑형이 있고, 열교환기와 같이 관내로 냉매를 통과시켜 관 외부를 지나 는 가스를 응축시키는 형태가 있다. 냉매로는 CFC(Chlorofluorocarbons)나 Chilled water, 저온유체 등이 사용된다. 이 기술은 연속적인 냉각, 가압에 의한 오염물질 회수가 가능한 장점이 있으며, 유류저장탱크 및 이송터미널 에서 발생하는 휘발성유기오염물의 제거에 많이 사용된다. 회수는 90 ~ 99%가 가능하나 일반적으로 다른 처리기술과 조합하여 사용되며 휘발성 유기오염물질의 농도가 고농도인 경우에만 경제성이 있어 적용분야에 제한이 있는 문제점이 있다.

② 흡착

흡착은 악취 및 휘발성유기오염물질이 흡착제와 접촉해서 약한 분자간의 인력에 의해 결합하여 분리되는 공정이다. 일반적으로 활성탄이 가장 널리 사용되고 있으며 실리카겔, 제올라이트 등도 사용된다. 활성탄의 경우 넓은 비표면적과 낮은 압력강하 그리고 흡착된 악취 및 휘발성유기오염물질을 비교적 쉽게 회수할 수 있어 가장 널리 사용되고 있다. 제올라이트는 흡착된 용제간에 있을 수 있는 발열반응에 강하고 흡착력이 높아 저 농도와 높은 유속에서도 성능이 우수한 특징을 가지고 있으나 흡착능력을 향상시키기 위해서는 친수성에서 소수성으로 변형시켜 주어야 하는 문제점이 있다. 흡착법의 경우 높은 제거효율로 인하여 많은 시설에서 사용되고 있으나 흡착제의 교체 및 교체된 흡착제의 최종처리로 인한 비용 증가의 문제점이 있다(Lillo-Rodenas *et al.*, 2005; Debasish Das *et al.*, 2004; Chiang *et al.*, 2001; Hamdi *et al.*, 2004).

③ 열적처리 방법

열적처리방법에는 크게 직접 연소법과 촉매연소법이 적용되고 있다. 직

접 연소법은 악취 및 휘발성 유기오염 물질을 고온에서 연소시켜 제거하는 방법으로 보통 800 ~ 900℃의 고온에서 연소를 시키므로 연소온도의 유지를 위해서 천연가스나 경유 등과 같은 보조연료를 필요로 한다. 특히 저농도의 배가스를 처리하는 경우 높은 연소온도 유지를 위해 많은 양의 보조연료가 소모된다(Cheng *et al.*, 2002; Ruddy and Carrol, 1993). 촉매 연소법은 Pt, Pb, Rh, CuO₂/MnO₂ 등의 촉매를 사용하여 악취 및 휘발성 유기오염물질을 제거하는 공정이다. 보통 촉매연소법의 경우 산화온도는 직접 연소법보다 낮은 온도인 300~500℃에서 운전이 되어 에너지 사용량이 적게 소요되는 장점을 가지며 설비의 소형화가 가능하다. 하지만 납, 비소, 황, 안티몬, 수은, 철산화물, 아연 및 먼지 등에 의해 촉매의 활성이 쉽게 저하되며 촉매 교환비용이 비싼 점 등의 문제점은 해결해야 할 과제로 남아있다. 또한 대부분의 악취 및 휘발성유기오염물질에 적용이 가능하나 높은 시설비 및 운영비, 2차 오염물질의 생성 및 안전성 문제가 남아있다(Chu *et al.*, 2001; Padilla *et al.*, 1999; Chu and Horng, 1998; Everaert and Baeyens, 2004).

④ 기타

기타 악취 및 휘발성유기오염물질을 처리하는 공정으로는 오존 산화법, 산·알카리 세정법, 중화법, 증기 재생법, 막 분리법, 고에너지 코로나 방전법 등이 있다.

오존 산화법은 주로 악취제거에 적용되는 공정으로 오존의 산화작용을 이용하여 악취가스를 분해하는 방법이다. 처리 가능한 물질은 불포화 유기화합물, 황화수소, 메틸메르캅탄류, 알데히드류 등의 악취성분이다. 이 방법은 적절한 오존첨가량이 필요하며 관리가 용이하다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

산·알카리 세정법은 산성의 악취가스의 경우 가성소화, 소다회 등의 수

용액에 흡수시키고, 알칼리성 악취 가스는 묽은 황산에 흡수시켜 치환하는 방법이다. 지방산이나 아민류 등의 악취가스 처리에 이용가능하며, 제거 장치의 관리가 용이하다는 장점을 가지고 있으나, 2차 오염물질인 산·알칼리 용액 처리수를 처리해야 하는 단점을 가지고 있다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

중화법은 악취성분을 특정 화학물질과 혼합하여 냄새를 중화시키는 방법으로, 이러한 화학물질을 중화제라 한다. 이 방법은 실내나 소규모의 발생원에 사용하며 중화제에 의한 화학반응이 가능한 악취가스 처리에 적당하다. 이 방법은 약품비가 비싸고 용도에 한계가 있다는 단점을 가지고 있다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

증기 재생법은 주로 휘발성 유기오염물질을 처리하기 위한 방법으로 할로젠 계를 제외한 휘발성 유기오염물질을 다른 부산물의 생성 없이 제거할 수 있고, 설치비가 적게 소요되는 장점이 있는 반면 운영비가 많이 소요되고 회수된 용매를 재이용할 수 없다는 단점이 있다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

막 분리법은 연소나 분해공정에서 발생될 수 있는 부산물의 생성이 전혀 없다가 때문에 화합물을 재이용할 수 있는 형태로 회수할 수 있다. 또한 고농도의 휘발성유기오염물질을 포함한 배가스의 경우에도 경제적으로 제어할 수 있다. 반면 진공펌프와 냉각장치를 이용하기 때문에 자본비와 운영비가 많이 소요되고 고농도의 휘발성유기오염물질을 얻기 위해 다른 공정이 필요하며 그에 따른 자본비가 소요된다는 단점이 있다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

고에너지 코로나 방전법은 저농도의 휘발성유기오염물질을 효과적으로 제어할 수 있는 이상적인 처리법으로 전기만을 연료로 사용한다. 고농도의 휘발성유기오염물질 처리에도 효과적이며 상온에서 작동되어 배가스를 예

열하기 위한 장치가 필요 없다는 장점이 있다. 반면 배가스의 일부만이 전극 부근의 고온 플라즈마와 접촉하기 때문에 오염물질의 완전제거가 불가능하고 용매를 재이용할 수 없으며 생성되는 플라즈마의 에너지가 낮기 때문에 규모 확대의 문제가 발생할 수 있다(Bloemen and Burn, 1993; Khan and Ghoshal, 2000; Ruddy and Carrol, 1993).

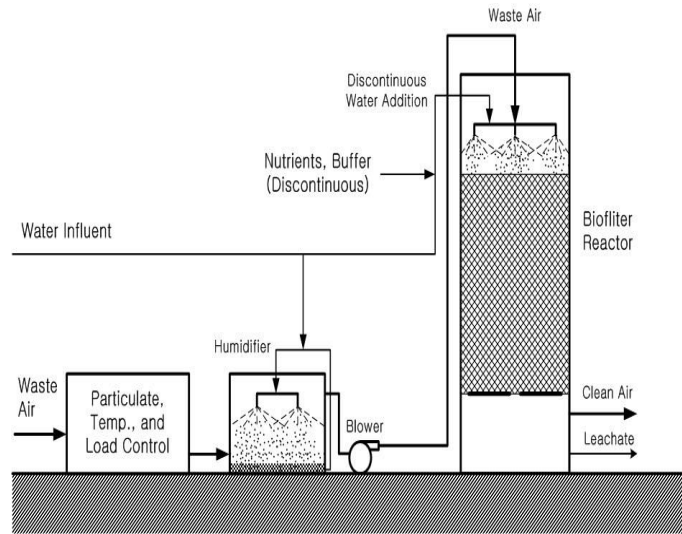
2) 생물학적 처리법

생물학적 처리는 미생물을 이용하여 공기 중에 함유되어 있는 각종 유해물질을 이산화탄소와 물 등의 무해한 물질로 전환시키는 방법이다(Pomeroy, 1963; Pomeroy, 1982; Leson and Winer, 1991). 생물학적 처리는 반응기내의 미생물 부착 유무와 살수 방식에 따라 biofilter, biotrickling filter 그리고 bioscrubber 등으로 크게 나누어진다.

① Biofilter

Biofilter는 생물학적 처리 방법 중 가장 오래되었으며 오염가스를 제거하기 위하여 개발되었다(van Groenestijn and Hesselink, 1995). 이 공정은 오염가스가 compost, peat 등의 매디아(media) 층을 통과하면서 매디아 내의 미생물의 산화반응에 의해 처리된다. 장치의 구성은 크게 load equalizer, 분진 제거장치, humidifier, biofilter 본체, 영양분 공급장치 등으로 구성되며(Swanson *et al.*, 1997) 형태에 따라서 개방형(open biofilter)과 폐쇄형(closed bilfilter)으로 나누어지며 처리공정의 모식도를 Fig. 5에 나타내었다. 폐쇄형의 경우는 적은 설치면적, 성능과 운전의 편리성으로 인하여 최근에 많이 이용되고 있으며(Devinny *et al.*, 1999) 매디아는 soil, peat, compost, wood chip, bark 등과 같은 유기성 매디아가 주로 사용된다. biofilter의 전형적인 운전 조건 Table 3과 같다.

(A)



(B)

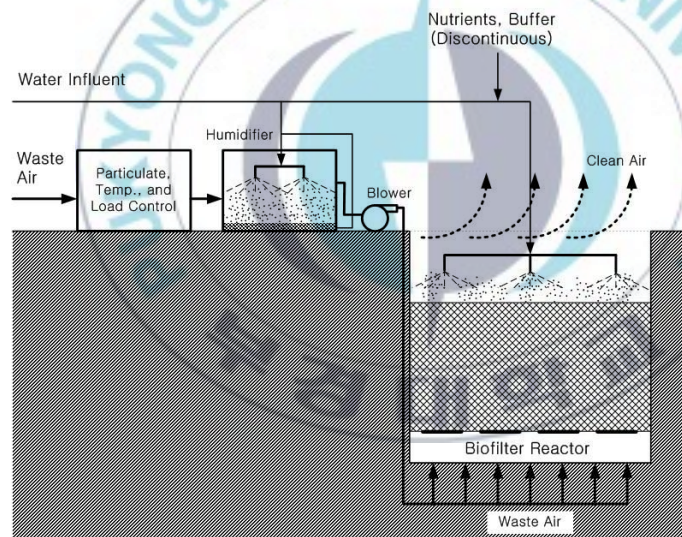


Fig. 5. Schematic diagram of above-ground closed biofilter (A) and below-ground open biofilter (B)(Swanson *et al*, 1999).

Table 3. Typical biofilter operating conditions for waste air treatment(Devinny et al, 1999)

Parameter	Typical value
Biofilter layer height	1–1.5 m
Biofilter area	1–3000m ²
Waste air flow	50–300,000 m ³ h ⁻¹
Biofilter surface loading	5–500m ³ m ⁻² h ⁻¹
Biofilter volumetric loading	5–500m ³ m ⁻³ h ⁻¹
Bed void volume	50%
Mean effective gas residence time	15–60sec
Pressure drop per meter of bed height	0.2–1.0 cm water gauge (max. 10 cm)
Inlet pollutant and/or odor concentration	0.01–5 gm ⁻³ , 500–50,000OUm ⁻³
Operating temperature	15–30°C
Inlet air relative humidity	>98 %
Water content of the support material	60 % by mass
pH of the support material	pH 6–8
Typical removal efficiencies	60–100 %

② Biotrickling filter

Biotrickling filter는 biofilter와 유사하나 질소, 인, 무기염류 등 미생물 성장에 요구되는 영양분을 살수시켜 매디아 표면에 적절한 생물막을 유지하게 하여 휘발성유기오염물질을 처리한다. Biofilter에서와 같이 휘발성유기오염물질은 생물막에서 분해되지만 계속적으로 순환되는 액을 이용하여 영양분 농도나 반응 조건들을 제어할 수 있다(van Groenstijin and Hesselink 1995). Biotrickling filter의 모식도는 Fig. 6과 같으며 매디아로는 clay, stoneware ring, sintered glass raschig ring, activated carbon pellets 등이 많이 사용되며, 최근에는 플라스틱, 페타이어, 합성담체 등 다양한 형태의 매디아가 시도되고 있다. 그 외에 충분한 영양분 공급에 따른 미생물의 과잉성장의 결과로 나타나는 clogging 현상을 막기 위해 최근에는 역세척 공정 도입에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.

③ Bioscrubber

Bioscrubber의 모식도는 Fig. 7과 같으며 bioscrubber 장치의 구성은 크게 scrubbin 반응기와 bioreactor의 두 부분으로 나누어져 있다. Scrubbin 반응기에서는 미생물이 포함되어 있거나 포함되어 있지 않은 액체를 내부 충전층에 분사하여 휘발성유기오염물질과 액체를 접촉시켜 휘발성유기오염물질을 흡수시킨다. 그 후 액체에 흡수된 휘발성유기오염물질은 활성 슬러지나 생물막이 고정된 bioreactor로 이동하여 분해가 일어나고, 액체는 다시 재순환되어 분사된다(van Groenestijin and Hesselink., 1995). 그러나 낮은 용해도를 가지는 휘발성유기오염물질의 경우 큰 접촉면적을 요구하게 되므로 scrubbing 반응기의 크기가 커지게 된다. 또한 많은 물이 필요하게 되어 bioreactor의 규모도 커지게 된다. 따라서 일부 휘발성유기오염물질에 대해 제한적으로 사용된다.

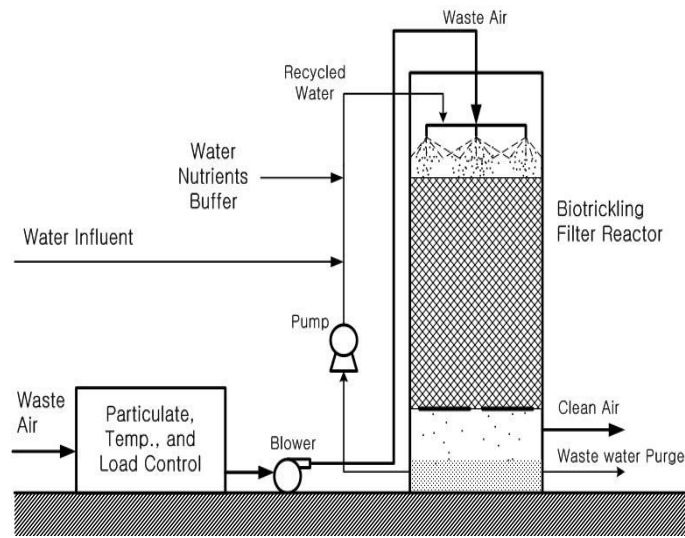
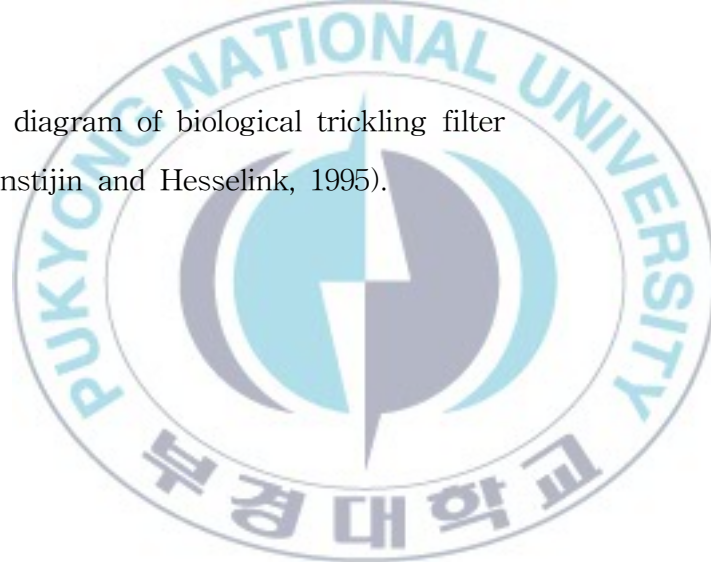


Fig. 6. Schematic diagram of biological trickling filter
(van Groenstijin and Hesselink, 1995).



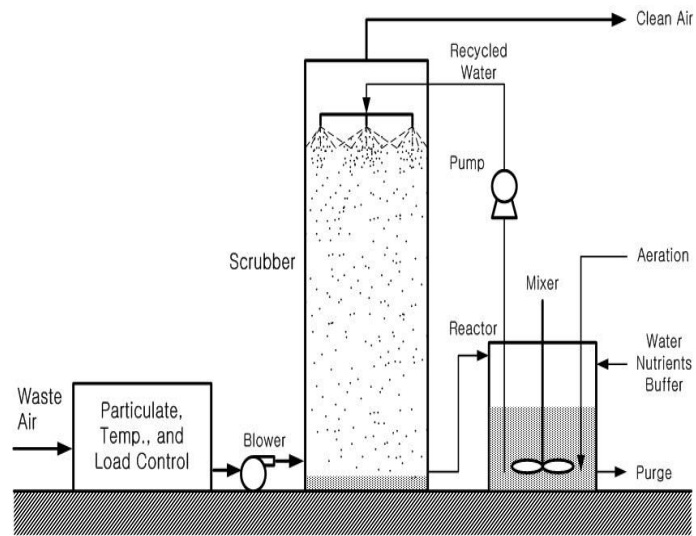
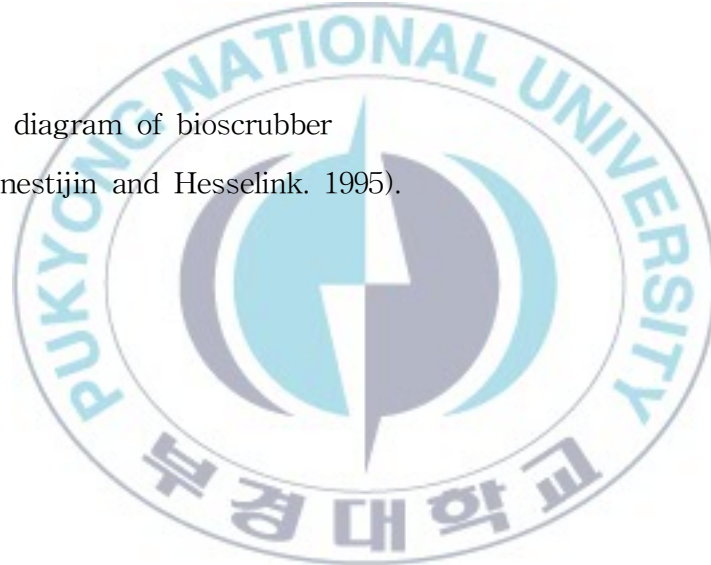


Fig. 7. Schematic diagram of bioscrubber
(van Groenestijin and Hesselink. 1995).



3) 효과적인 처리기술 선택

악취 및 휘발성유기오염물질을 처리하는 기술 중에서, 모든 산업현장에서 효과적이고 경제적으로 적용되는 기술은 없다. 즉, 다양한 기술들 중에서 특정 현장의 풍량 및 오염물질 농도, 오염물질 성분에 따라서 적합한 처리기술이 결정되어 진다(Lim, 2000). 각 처리기술에 대한 소요비용은 처리기술이 적용되는 현장이 각각 다르기 때문에 매우 다양할 수 밖에 없다. 일반적으로 biofilter가 가장 경제적으로 적용되는 현장은 풍량 1,000 ~ 50,000 m³/hr, 오염물질 농도 1 g/m³ 이하이다(Kok, 1992). 악취물질별 탈취방법을 Table 4에 나타내었으며, 각 휘발성유기오염물질 처리장치의 장·단점 및 적용범위와 각 장치에 대한 상대적인 비용의 비교를 Table 5와 Fig. 8 그리고 Fig. 9에 나타내었다.

생물학적 처리는 최근 가장 각광을 받고 있는 탈취 방법 중 하나로서 현재 각종 악취 및 휘발성유기오염물질 제거에 많은 용도로 사용되고 있으며 그 응용의 폭도 점점 넓어지고 있다(Table 6). 황화수소의 경우 wet scrubber, ozone, adsorption, combustion과 biofiltration 방법 등을 통해 제거되고 있고, 현재 biofiltration 방법이 가장 많이 이용되고 있다. 이 biofiltration 방법은 이용되는 균의 종류가 다양하지 못하고 그 균의 배양에 있어서 어려움이 많은 단점이 있다. 따라서 황화수소를 분해할 수 있고 현재 많이 이용되고 있는 *Thiobacillus* sp. 보다 취급이 용이한 새로운 미생물 개발이 필요한 실정이다.

4) 황화수소 분해에 이용되는 미생물

황화수소는 자극성 있는 기체상 물질로 2,800 ~ 5,000 ppm에서 20분 정도 노출될 경우 사망에 이를 정도로 유독한 가스일 뿐만 아니라 각종 장치의 부식을 유발하고 불쾌감을 주는 악취 물질이며 연소시 아황산 가스를 발생시키는 대기 오염원이기 때문에 이에 대한 대책 마련이 필요하다(Kelly and

Table 4. Emission control technologies for VOCs and odors

Compounds	Formula	Wet scrubber	Ozone	Absorption	combustion	Biofiltration
Ammonia	NH_3	○	○	○	○	○
Mercaptan, methyl	CH_3SH	○	○	○	○	○
Hydrogen sulfide	H_2S	○	○	○	○	○
Sulfide, methyl	$(\text{CH}_3)_2\text{S}$	○	○	○	○	○
Disulfide, methyl	CH_3SSCH_3	○	○	○	○	○
Trimethylamine	$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	○	○	○	○	○
Acetaldehyde	CH_3CHO	○	○	○	○	○
Propionaldehyde	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$	×	△	○	○	○
n-Butylaldehyde	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$	×	△	○	○	○
Iso-Butylaldehyde	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCHO}$	×	△	○	○	○
n-Valeraldehyde	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CHO}$	×	△	○	○	○
iso-Valeraldehyde	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CHO}$	×	△	○	○	○
iso-Butanol	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OH}$	×	△	○	○	○
Acetic acid, ethyl	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$	×	△	○	○	○
Ketone, iso-butyl methyl	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	×	△	○	○	△
Toluene	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	×	○	○	○	△
Styrene	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CH}_2$	×	○	○	○	△
Xylene	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$	×	○	○	○	△
Propionic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	○	○	○	○	○
n-Butyl acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	○	○	○	○	○
n-Valeric acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	○	○	○	○	○
Iso-valeric acid	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COOH}$	○	○	○	○	○

Table 5. Comparison of waste gas control technologies(Lim, 2000)

Control technologies	Advantage	Disadvantage
Biofilter	▪ Low operating and capital costs ▪ Effective removal of compounds ▪ No further waste streams produced	▪ Large footprint requirement ▪ Medium deterioration will occur ▪ Less suitable for high concentrations ▪ Moisture and pH difficult to control
Biotrickling filter	▪ Medium operating and capital costs ▪ Effective removal of compounds ▪ Treats acid-producing contaminants	▪ Clogging by biomass ▪ More complex to construct and operate ▪ Further waste streams produced
Bioscrubber	▪ Low capital costs ▪ Effective removal of odors ▪ No medium disposal required ▪ Can handle high flow rates ▪ Can operate with a moist gas stream ▪ Ability to handle variable loads	▪ High operating costs ▪ Need for complex chemical feed system ▪ Does not remove all VOCs ▪ Nozzle maintenance often required
Carbon adsorption	▪ Effective removal of compounds ▪ Short retention time/small unit ▪ Suitable for low/moderate loads ▪ Consistent, reliable operation	▪ High operating costs ▪ Moderate capital costs ▪ Carbon life reduced by moist gas stream
Incineration	▪ Effective removal of compounds ▪ System is simple ▪ Small area required ▪ Suitable for very high loads ▪ Performance is uniform and reliable	▪ High operating and capital costs ▪ High flow/low concentrations not cost effective ▪ Creates a secondary waste stream

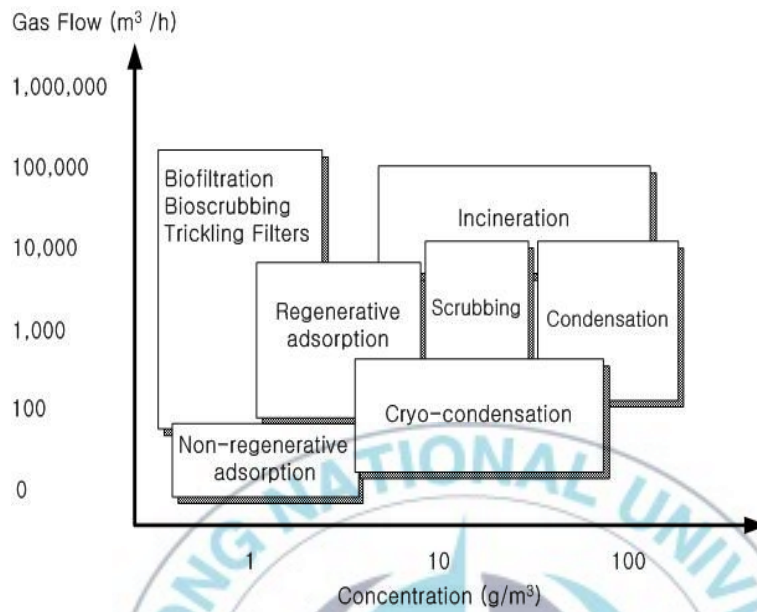


Fig. 8. Applicability of various air pollution control technologies based on air flow rates and concentrations to be treated (Devinny *et al.*, 1999).

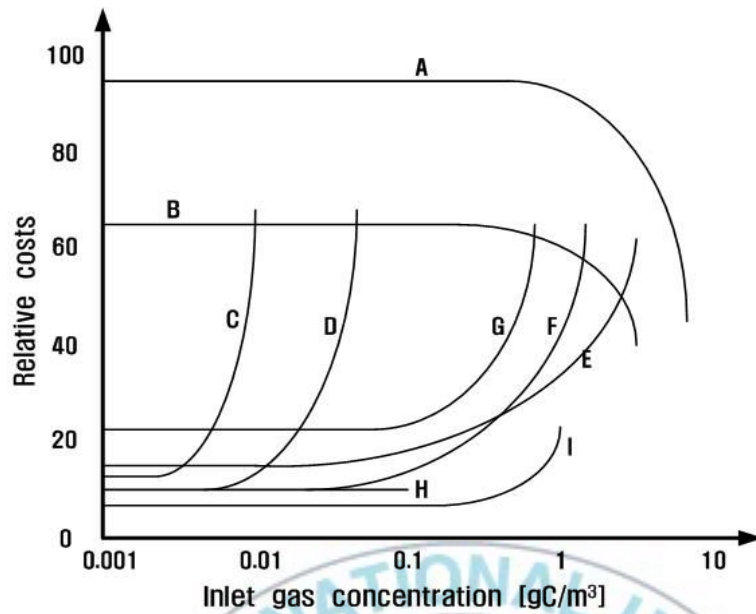


Fig. 9. Comparison of relative costs of several waste gas purification technologies: gas flow 40,000 m³/hr. A) thermal incineration (incl. heat recovery); B) catalytic incineration (incl. heat recovery); C) activated carbon adsorption (no regeneration); D) activated carbon adsorption (incl. regeneration); E) adsorption with thermal carbon incineration; F) adsorption in water; G) chemical oxidation; H) bioscrubber; I) compost biofilter (Don and Feenstra, 1984).

Table 6. Applications of biofiltration

Industry	VOC and HAP control	Odor control
Chemical manufacturing	○	○
Coating operations	○	
Film coating	○	
Adhesive production	○	
Waste oil recycling	○	
Investment Foundries	○	
Iron Foundries	○	
Printing operations	○	
Wastewater Treatment plants	○	○
Composting facilities	○	
Landfill gas extraction	○	○
Soil venting extraction	○	
Coffee and cocoa roasting	○	
Fish drying and rendering	○	
Flavors and fragrances industry	○	
Food industry	○	
Flour mills	○	
Cattle feeding and fish meal factories	○	
Yeast and alcohol factories	○	○
Breweries and gin distilleries	○	○
Cocoa and chocolate factories	○	
Pet food manufacturing	○	
Slaughter houses	○	
Tobacco processing	○	
Textile industry	○	

Smith, 1990; Seo *et al.*, 2003; Shukla, 1991; Smet *et al.*, 1998). 황화수소에 대한 국내 환경 규제치는 배출허용 기준이 5 ~ 6 ppm이며, 악취에 대한 허용치는 0.005 ppm으로 매우 낮다. 따라서 배출 허용 농도 이하로 황화수소를 제거할 수 있는 경제적인 기술 개발이 매우 중요하며, 근래에는 미생물의 활성을 이용하는 생물학적 연구가 새롭게 각광 받고 있으며 앞서 언급했듯이 이용이 용이한 새로운 대체미생물 개발이 시급한 실정이다.

대부분의 미생물은 황화수소의 독성 때문에 황화물(sulfide)의 형태로 직접적으로 이용하는 것이 불가능하지만, 일부의 호산성 *Thiobacillus* sp. 는 황화수소를 산화시킨다. 이런 황 산화세균을 이용한 생물학적 탈취(biodeodorization)에 대해 활발한 연구가 진행되고 있다(Sublette and Sylvester, 1987; Kanagawa and Mikami, 1989; Zhang, 1991; Shoda, 1991; Cho *et al.*, 1992).

지금까지 연구된 황화 수소를 제거하기 위한 미생물로는 독립 영양균(autotroph)과 종속 영양균(heterotroph)이 이용되어 지고 있다. 이들을 구체적으로 분류하면 먼저 절대화학 합성 독립 영양균(obligate chemolithotroph)으로 황의 산화로 에너지를 얻고 주된 탄소원으로 CO₂를 이용한다. 이 중에는 *Chlorobium* sp., *Chloromatum* sp., *Ectothiorhodospira* sp. 그리고 *Rhodobacter* sp.를 포함한 광 독립영양균(photoautotroph)이 포함되며 혐기적 상태에서 황화수소를 elemental sulfur로 전환한다(Kusai and Yamanaka, 1973; Fukumori and Yamanaka, 1979; Cork *et al.*, 1983; Then and Truper, 1983). 그러나 이 미생물은 실질적으로 이용하기에는 혐기적 조건과 광 에너지가 필요하며, 종속 영양균(heterotroph)보다 성장률이 현저하게 떨어진다는(Cho *et al.*, 1992). 둘째, 통성 화학성 독립 영양균(facultative chemolithoautotroph)으로 환원된 황화합물이나 이산화탄소가 있는 곳에서는 독립영양으로 자라고 유기물이 없는 곳에서는 종속 영양으로 자라며, 적합한 배양 조건에서는 혼성 영양(mixtroph)으로 자랄 수 있는 *Thiobacillus* sp.등이 여기에 속한다. 셋째, 화학 합성 종속 영양균(chemolithoheterotroph)으로 이산

화탄소를 이용하거나 독립영양으로 자랄 수 없으나 환원된 황화합물을 산화하여 유용한 에너지를 제공한다(Cambell, 1978; Cork, 1982; Pfennig and Trüper, 1992). *Thiotrix* sp., *Beggiatoa* sp.(Nishihara, 1982)와 *Hyphomicrobium* sp.가 이에 속하며, 이들은 황화수소를 elemental sulfur로 산화하고, 이것을 세포 속에 저장하여 sulfate(SO_4^{2-})로 더 산화한다. 그 결과 황화수소 농도는 낮아지지만 산성화 되어 미생물 활성화에 역효과를 나타낸다(Nelson, 1990). *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus brevis*, *Streptomyces* sp., *Xanthomonas* sp., *Micrococcus* sp.와 *Arthrobacter* sp. 가 이 종류에 속한다(Waninwright, 1984).

4. 연구목표

국내 하수처리장, 분뇨처리장, 정유공장, 제지공장 등 많은 사업장에서 발생하는 대표적인 악취물질은 황화계로 알려져 있다. 이렇듯 우리 생활 주변에 산재해 있는 각종 사업장에서 발생하는 악취는 소음과 함께 가장 민원이 많은 공해 항목이지만 탈취시설에 대한 기술개발이 미흡한 실정이다. 따라서 악취 발생에 따른 집단민원야기 등으로 인해 경제적 손실은 갈수록 커지고 있다. 현재 황화수소 처리 방법으로는 biofiltration 방법이 이용되고 있으며 주로 이용되는 미생물은 *Thiobacills* sp.이다. Biofiltration 방법은 그 이용미생물이 제한적이고, 그 이용미생물의 증식에 어려움이 있다. 따라서 최근에는 악취 분해 물질 제거능이 뛰어난 새로운 미생물을 순수 분리, 대량 배양하여 처리 효율을 극대화 하려는 방법들이 많이 연구되고 있으며, 이러한 고효율 탈취 미생물 균주의 개발이 중요한 연구 과제로 부각되고 있다. 따라서 퇴비 공장에서 시료를 채취하여 국내 여건에 적합하고 현장적용이 가능한 새로운 미생물 개발이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 퇴비에서 황화수소 분해능을 가진 대체 미생물을 탐색하고 산업적으로 응용 가능성을 타진하였다. 이를 위하여 퇴비 시료등에서 thiosulfate 산화능을 가진 미생물을 분리하여 이 균에 대한 생리, 생화학적 특성과 분자생물학적 방법을 통하여 분리 균주를 동정하였다. 그리고 이 균주가 황화수소의 제거를 위한 기초 응용 측면에서 유용하게 이용될 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 thiosulfate 농도에 따른 균의 황산화 정도를 조사하였고 분리 균주의 pH 및 온도, 유기물 첨가에 따른 세포 성장과 황산화능을 측정하였다. 그리고 분리된 균주를 이용하여 산업적 응용 가능성 여부는 먼저 batch reactor test에서 1차적인 황화수소 제거능을 검증하였다. 이 결과를 토대로 실질적으로 균의 사용가능성을 타진하기위해 보다 큰 규모의 bench scale인 biotrickling filter system에서 분리균의 황화수소 제거효과를 확인하고 현장적용 가능성을 타진하여 얻은 결과를 이에 보고하는 바이다.



II. 재료 및 방법

1. 시료 채취

본 실험에 사용한 토양시료는 경남 양산시에 소재하는 퇴비 공장에서 2종의 퇴비시료(퇴비의 가장자리 1종, 중심부분 1종)와 1종의 슬러지 시료를 2005년 8월에 채취하였으며, 채취한 시료는 180℃ 2시간 건열멸균한 광구병에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 황산화능을 가진 균주의 분리

1) 사용 균주 및 배지

본 실험에 사용한 표준 균주로는 황화합물 악취제거 공시균주인 *Thiobacillus delicatus*(KCTC 2851)와 본 연구에서 분리한 균주의 표준균주로 *Enterobacter hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)를 사용하였다. 이들 균주는 각각 한국생명공학연구소 유전자은행(Korean Collection for Type Cultures; KCTC)과 미국유전자은행(American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 분양받아 각 실험의 대조균으로 사용하였다.

본 실험의 황화합물 악취제거 특성을 조사하기 위한 기본 배지는 thiosulfate 배지를 사용하였으며 그 조성은 Table 7과 같다. 배지 조성 중 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 는 열에 불안정하여 고온에서 파괴되므로, 여과 멸균 후 thiosulfate 배지에 첨가하여 사용하였다.

2) 황산화능을 가진 균주의 분리

균주의 분리는 thiosulfate 액체 배지 100 ml가 들어있는 300 ml 삼각 플라스크에 채취시료를 각각 2.0 g씩 첨가한 후, 잘 혼합하여 30℃, 250 rpm에서 48시간 진탕 배양하였다. 이러한 방법으로 3회 계대 배양을 반복한 후, 이 배양액 20 μ l를 thiosulfate 평판배지에 도말하여 배양후 형성된 colony를 thiosulfate 사면배지에 배양, 보관하였다. 이 균을 thiosulfate broth에 접종하여 30℃에 24시간 배양한 후 thiosulfate가 산화되어 생성된 sulfate 양을 측정하여 황산화능이 우수한 colony를 1종을 선택하여 본 실험에 사용하였다.

3) 황산화능 실험

각 분리 균주의 황산화능 실험은 Kelly 등의 방법으로 분석하였다(Kelly *et al.*, 1971; Cha *et al.*, 1994). 분석법은 시료 1.0 ml에 5% BaCl₂ H₂O. 1.0 ml를 첨가하여 시료중 생성된 sulfate가 BaCl₂와 반응하여 생성된 침전물을 흡광도 460 nm UV/VIS spectrophotometer(Mecasys, Korea)를 사용하여 분석하였다.

3. 분리 균주의 동정

1) 형태학적, 생화학적 특성

분리된 세균의 형태를 관찰하기 위해 분리균을 nutrient agar 사면배지에 접종하여 30℃에서 48시간 동안 배양한 후, 증식한 세균을 thiosulfate broth가 20 ml 포함된 100 ml 삼각 플라스크에 접종하였고, shaking incubator(30℃)에서 200 rpm으로 24시간 배양하였다. 대수증식기의 배양액을 Microbiological Applications(Benson, 1990)의 방법을 이용하여 Gram staining(Zeiss Co. RMS 16)을 하였으며 주사전자현미경(scanning electron microscope; SEM, Hitachi, S-2400)을 이용한 형태관찰을 수행하였다.

Table 7. The composition of thiosulfate-oxidizing medium(Cho *et al.*, 1991)

Contents	Concentrations (g/ℓ)
Yeast extract	2.0
KH ₂ PO ₄	4.0
NH ₄ Cl	0.4
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01
K ₂ HPO ₄	2.0
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.2
Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	8.0
Final pH	7.0

분리균의 생화학적 특성을 알아보기 위한 실험은 Vitek의 Gram-negative identification card(GNI+ software, ver. R09.01)와 API 20E kit를 이용하여 분석하였다.

2) 16S rRNA gene sequencing 분석

분리 균의 보다 정확한 동정을 위하여 선별된 균주의 16S rRNA gene sequencing 분석을 수행하였다(Moyer *et al.*, 1994).

① 시료로부터 total genomic DNA 분리

AccuPrep™ Genomic DNA extraction kit(Bioneer)를 사용하여 total genomic DNA를 추출하였다. 즉, 멸균된 1.5 ml tube에 배양액 1 ml의 시료를 넣고 14,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 침전시킨 다음, pellet을 취하여 200 μ l의 lysis buffer를 첨가하였다. 여기에 20 μ l의 proteinase K를 첨가하여 잘 혼합한 후, 56°C에서 1시간 반응시켰다. Cell이 완전히 lysis되고 나면 짧게 spin-down한 후, 200 μ l의 Binding buffer를 시료에 넣고 60°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 tube에 100 μ l의 isopropanol을 넣고 5초 정도 가볍게 vortex하여 섞어준 다음 10초 정도 spin down하였다. 시료를 2 ml collection tube에 결합시킨 binding column에 옮긴 후, 8,000 rpm에서 1분간 원심 분리하였다. 500 μ l의 Washing buffer 1을 넣고 8,000 rpm에서 1분간 원심분리하고 여기에 500 μ l의 Washing buffer 2를 tube에 넣고 8,000 rpm에서 1분 동안 원심 분리하였다. Binding column을 1.5 ml collection tube에 옮긴 후 70°C water bath에서 미리 데운 elution buffer 200 μ l를 넣고 5분간 상온에 방치한 후 8,000 rpm에서 1분 동안 원심 분리하여 elution하였다. 이를 1% agarose gel에 전기영동하여 genomic DNA를 확인하였고, PCR 반응의 주형으로 사용하였다.

② Primers 합성

16S rRNA 유전자의 증폭을 위하여 사용된 primer쌍은 Moyer 등 (1994)에 의해 고안된 것을 사용하였다. 이들 primer쌍은 eubacteria의 16S rRNA 유전자에서 잘 보존된 부분의 염기들로서 *Escherichia coli* 16S rRNA의 49-68, 1510-1492 위치에 해당되는 degenerate primer들로 만들어졌다. 추가로 forward primer의 5'에는 제한효소 *EcoRI*의 인식부위를 첨가하였고, reverse primer의 5'에는 *Bam*HI의 인식부위를 첨가하였다. 본 연구에서 사용한 oligonucleotide는 아래와 같다.

Forward primer

5' AGAATTCTNANACATGCAAGTCGAICG 3' (27-mer)

Reverse primer

5' GTGGATCCGGYTACCTTGTTACGACTT 3' (27-mer)

N : degenerate including 4 nucleotides,

Y : degenerate including pyrimidines

③ PCR 반응

PCR 반응은 AccuPower PCR Premix(Bioneer)를 사용하여 실시하였다. PCR 반응물의 조성은 10 pmol forward primer 3 μ l, 10 pmol reverse primer 3 μ l, template DNA 3 μ l, 3차 멸균 증류수 41 μ l를 첨가하여 50 μ l의 반응 혼합물을 만들어 잘 혼합하여 반응을 진행시켰다. PCR 운행은 Minicycler(MJ Research, U.S.A)에서 실시하였다. 처음 94℃에서 5분간 변성시킨 후, 94℃에서 30초, 62℃에서 30초, 72℃에서 1분씩 35회 반복하여 DNA를 증폭시키고, 마지막으로 72℃에서 7분간 extention

time을 주어 PCR 반응을 종결시켰다. 이를 1% agarose gel에 전기영동하여 DNA를 확인하였다.

④ DNA 절편 정제 (Elution)

PCR 반응물을 1% agarose gel, 0.5×TBE buffer(0.045 M Tris-borate, 0.001 M EDTA)에서 전기영동하여 band를 확인한 후, 확인된 band를 잘라내어 1.5 ml microcentrifuge tube에 넣었다. 여기에 6 M NaI(6 M sodium Iodine) 600 μ l를 넣고 50℃에서 5분간 gel을 녹였다. gel이 완전히 녹은 것을 확인한 후, glass milk 8 μ l를 넣고 rotator에서 20분간 반응시켰다. 이를 다시 14,000 rpm에서 5초간 centrifuge하고 pellet을 취하였다. Washing solution(1 M NaCl 40 ml, 1 M Tris-Cl 4 ml, 0.5 M EDTA 2 ml, 3차 증류수 54 ml) 500 μ l를 넣고 pipetting으로 씻고, 5초간 centrifuge하여 pellet를 취하였으며 씻어내는 과정을 2회 하였다. 남아있는 alcohol을 날려버리기 위해 vacuum에서 5-10분간 방치하였다. 이를 다시 45℃에서 3분간 방치하고 나서 3차 증류수를 20 μ l를 넣고 섞어준 후, 14,000 rpm에서 1분간 centrifuge하여 상등액을 취하였다. 상등액 1 μ l을 취하여 1% agarose gel에서 전기영동하여 band를 확인하였다.

⑤ Ligation

정제된 16S rDNA의 PCR 반응물을 pGEM-T vector(Promega)에 연결하였다. DNA 3 μ l, T vector 1 μ l, ligase 1 μ l, buffer(2X) 5 μ l를 사용하여 volume을 10 μ l로 맞춘 후에 상온에서 2시간 반응시켰다.

⑥ Competent bacterial cell의 준비

LB agar 배지에 키운 *E. coli* XL-1 Blue를 3 ml의 LB 액체배지에 접종하여 37℃에서 하룻밤 진탕배양하고, 이를 다시 10 ml coning tube에 4

ml의 LB 액체배지에 재접종하여 37℃에서 하룻밤 배양하였다. 배양된 균의 1 ml를 취하고 5,000 rpm에서 5분간 centrifuge하여 상등액을 버리고, 침전된 세포들을 4℃로 냉각된 800 μ l의 CaCl₂(50 mM)를 넣고 ice에서 20분간 resuspension 하였다. 이를 다시 5000 rpm에서 3분간 centrifuge하여 상등액을 버리고, 200 μ l의 CaCl₂(50 mM)를 넣고 resuspension하여 사용하였다.

⑦ Transformation

10 μ l의 ligation 반응물을 미리 준비한 200 μ l의 XL1-blue competent cell과 혼합하여 ice에 30분간 방치한 후, 42℃에서 90초간 heat shock를 주고 재빨리 ice에서 5분간 방치하였다. 이를 LB 배지 800 μ l를 첨가하여 37℃에서 45분 동안 진탕배양 하였다. 이를 다시 5000 rpm에서 3분간 centrifuge하여 상등액을 버리고 LB 배지 200 μ l를 넣어 resuspension 하였다. 이를 Amp가 첨가된 MacConkey agar 배지에 도말하여 37℃ 배양기에 18시간 배양한 다음, 4℃에 두어 색깔이 확실해지면 white colony만을 선택하여 LB(Amp⁺) broth에 접종하여 plasmid를 mini-prep 하였다.

⑧ Plasmid DNA mini-prep

Plasmid DNA는 alkaline lysis mini-prep방법(Sambrook, 1989)으로 분리하고 제한효소로 잘라 삽입된 DNA 절편을 확인하였다. 확인된 plasmid는 RNase를 처리하고 phenol : chloroform 정제과정을 거쳐 OD₂₆₀에서 농도를 측정한 다음 염기서열 분석에 사용하였다. 분석된 16S rRNA sequence는 NCBI Gen-Bank의 data base(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 비교하였으며 K_{nuc} value를 구하여 evolutionary distance를 계산하였다. 이를 바탕으로 the neighbor-joining method로 phylogenetic tree를 구성하였으며, CLUSTAL W program을 이용하였다.

4. 분리 균주의 증식 특성 조사

1) 온도, pH에 대한 최적 증식 조건

배양액의 초기 pH가 분리 균주의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해 멸균된 1-N NaOH 및 5-N HCl을 이용하여 thiosulfate broth에 초기 pH를 각각 2.0, 5.0, 7.0과 9.0으로 조절한 후 분리 균주를 접종하여 30℃, 250 rpm의 배양 조건으로 48 시간 동안의 성장을 관찰하였다(600 nm UV/VIS spectrophotometer, Mecasys, Korea).

또한 온도가 분리된 균주의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해 각각의 배양온도를 달리하여 성장곡선을 비교하였다. 그 온도조건으로는 25℃, 30℃, 35℃ 그리고 60℃로 조절하여 300 ml flask에 working volume 100 ml의 thiosulfate 배지에 분리균을 5%(v/v%)로 접종하여 48 시간동안 배양하면서 균의 증식정도를 600 nm에서의 흡광도로 비교하였다.

2) 탄소원과 질소원의 영향

분리된 균주의 성장에 미치는 유기물의 농도를 알아보기 위해 탄소원으로 glucose, fructose 그리고 galactose를, 질소원으로는 yeast extract, malt extract 그리고 peptone을 thiosulfate 배지에 각각 0.2%(w/v%)로 첨가하여 성장 정도를 관찰하였다(250 rpm, 30℃, pH 7.0).

5. 분리 균주의 황 산화능 조사

1) 기질 농도 변화에 따른 황 산화능

분리된 균주의 황 산화능을 알아보기 위해 무기염 배지에 여과 멸균된 thiosulfate의 농도가 0.016, 0.032, 0.064, 0.080, 0.120 그리고 0.160 M이 되

도록 첨가하고 배지의 pH를 7.0으로 조절한 후, 각 농도별 성장곡선과 pH의 변화를 관찰하였다. 이때 대조균으로 황 산화능을 가진 미생물로 알려진 *T. delicatus*(KCTC 2851)을 사용하여 비교분석하였다.

시험 균주 및 대조 균주의 배양과정에서 세포농도 및 황산염 농도와 pH의 변화를 측정하기 위해 매회 배양액을 5 ml 채취하여 측정에 사용하였다.

2) Batch reactor test

분리 균주를 이용한 bench scale의 biotricking filter system 적용을 위해 batch reactor test에서의 황 화합물 산화능을 먼저 조사해 보았다. 본 실험을 위해 먼저 황 화합물 함유가스를 균주 배양액과 함께 넣고 배양하면서 잔류 황 화합물 양을 Gas Chromatography로 검사하였다. 즉, 분리균주의 황화수소 제거능을 측정하기 위해 각 배양병에는 시험균주 배양액의 양(0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml, 5.0 ml)을 다르게 분주하여 준비하였다. 그리고 미리 준비된 황화수소 가스를 112 ppm이 되도록 주입하였다(Fig. 10). 황 화합물 함유가스는 부산 G구 음식물 쓰레기 처리장의 소화조에서 농축산화방식으로 처리되는 과정에서 발생하는 황화수소를 채취하여 본 실험에 사용하였다. 또한 본 연구에서 사용된 미생물의 산화능을 비교, 평가하기 위하여 분리 균주의 동정 결과 가장 유사한 *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)와 황산화능이 알려진 *T. delicatus*(KCTC 2851)를 대조미생물로 사용하였다.

본 연구에서 황화합물을 분석하기 위한 Gas Chromatography 분석조건은 Table 8와 같다. Table 8에 나타낸 바와 같이 GC-FPD(Frame Photometric Detector, Shimadzu GC-17A)의 컬럼은 packed glass column(2.6 mm ID, 3 m length)로서 on-column으로 되어있으며 운반가스로는 질소순도 99.999%)를 사용하여 분리 정량하였다. GC-FPD의 검출특성은 물질농도와 peak area와의 관계에 있어서 물질농도가 증가할수록 peak area는 지

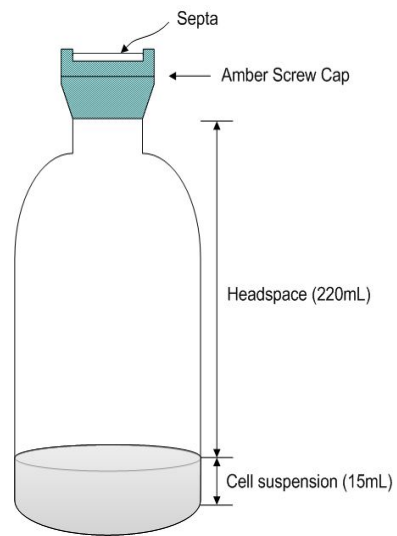


Fig. 10. Schematic diagram of screw-septum bottle for measuring the biodegradation activity.



Table 8. Operating conditions of GC-FPD in this study.

Parameter	Conditions
Column	Packed glass column**: 2.6mm ID, 3m length
Injection type	On-column
Oven Temp.	85°C constant
Column flow	50mL/min
Injector temp.	200°C
Detector temp.	200°C
Column pressure	220Kpa
Carrier gas	N2 (99.999%)



수 함수적(exponential function)으로 증가하는 특성을 가지고 있기 때문에 (ASTM, 2003; 2005) 검량곡선특성 그래프의 작성은 일반적으로 peak area 와 물질농도를 각각 대수화 하여 검량곡선을 작성하였다(Kim *et al*, 2004; Marsia *et al*, 2005; ASTM, 2003; 2005). 또한 GC-FPD를 통해 황화합물이 양호하게 분리되는지를 알아보기 위하여 황화수소, 메틸메르캅탄, 황화메틸, 이황화메틸 4종이 혼합된 표준 가스를 GC-FPD에 도입시켜 검출한 특성을 살펴보았다(Fig. 11).

Fig. 12는 미생물 반응으로 비롯된 황화합물의 감소특성을 파악하기 위하여 GC-FPD로써 정량을 위한 검량곡선을 나타내고 있으며 상관계수의 제곱이 0.9989로써 대수화 검량곡선에서 양호한 직선성을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

3) Bench scale biotrickling filter system

앞선 batch reactor test에서의 결과를 토대로 bench scale의 biotrickling filter system을 적용해 보았다. 본 연구에 적용된 biotrickling filter 설비는 크게 biotrickling filter 장치, 순환수 저장 및 pH를 조절하는 완충장치, VOC 발생장치로 구성되어 있으며, 실험장치의 모식도를 Fig. 13에 나타내었다. biotrickling filter 장치는 원통형 stainless steel($\varnothing 40 \times H120$ cm)로 제작되었으며, 반응기 하부에 유입된 가스가 충전층으로 균일하게 유입될 수 있도록 air chamber(30cm 높이)를 설치하였다. Air chamber위에 분산판을 설치하여 담체를 60cm 높이로 충전하였다. 본 연구에서 사용된 담체로 일반적으로 현장에서 많이 활용되고 있는 폴리우레탄 담체를 이용하였다. 반응기 상부에는 수분과 영양물질이 골고루 분사되도록 노즐장치를 설치하였다. 또한 충전층의 각 20cm지점마다 압력측정 및 시료채취를 위한 측정공을 만들었으며, 마이크로마노미터(Bexbill, FCO12, England)를 이용하여 압력을 측정하였다. 완충조는 원통형 polypropylene($\varnothing 40 \times H50$ cm)으로 제

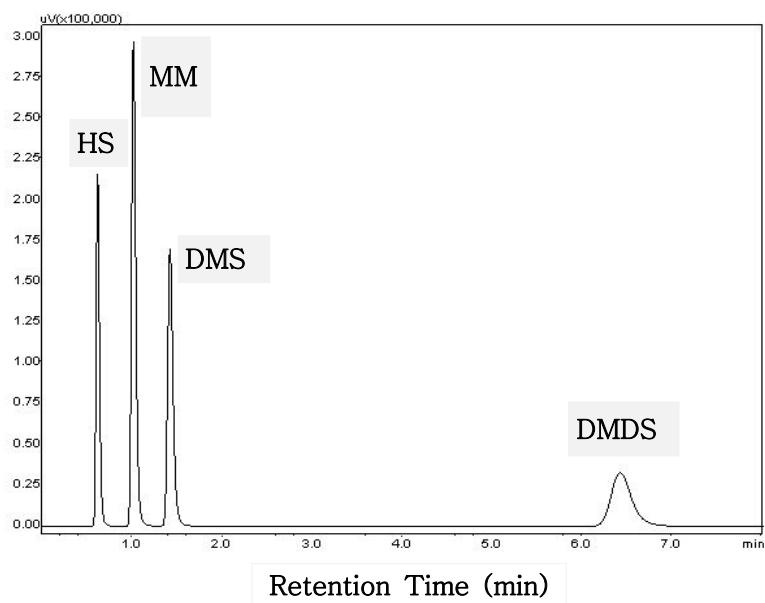


Fig. 11. GC-FPD chart of standard gas (HS : hydrogen sulfide, MM: methyl mercaptan, DMS: dimethyl sulfide, DMDS: dimethyl disulfide).



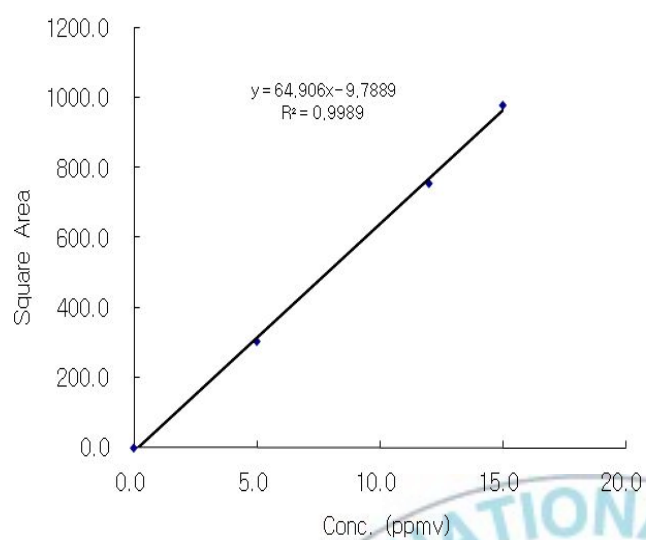


Fig. 12. Calibration curve of hydrogen sulfide from GC-FPD.

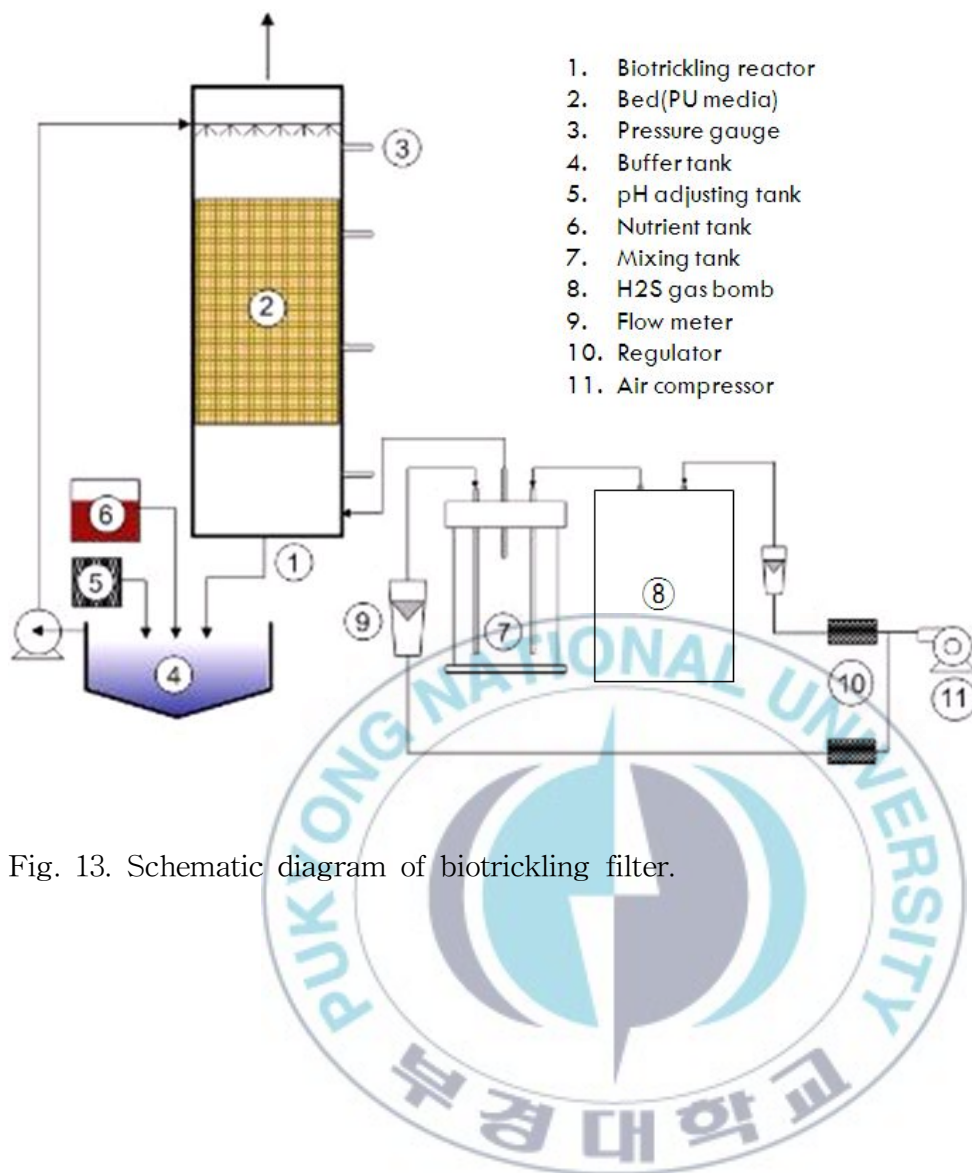


Fig. 13. Schematic diagram of biotrickling filter.

작되었으며, 반응기 하부로부터 배출되는 유출수에 영양분 공급 및 pH를 조절한 후 반응기 상부로 재순환시키는 역할을 한다.

VOC 발생장치에서는 air compressor에서 발생된 공기와 H₂S가스 bomb를 연결, 혼합하고, 이는 다시 혼합탱크(Pyrex glass, Ø30cm × H40 cm)로 유입시켜 공기와 혼합된 후 일정 농도로 희석되어 반응기에 유입된다. 본 반응기에서 H₂S를 주입하기 위한 H₂S는 순도 99%이상의 가스로 이를 희석하여 반응기에 적당량 주입하였다.

Biotrickling filter의 성능을 파악하기 위해 담체를 biotrickling filter 반응기에 충전하고 황화수소 가스를 500 ppmv, EBRT(Empty Bed Retention Time, biofilter안에서의 기체의 체류시간을 의미) 1.5분으로 유지하였으며, *E. hormaechei* JH가 잘 성장할 수 있도록 Table 8에 나타낸 바와 같이 배지를 1000 ml/day로 일정하게 주입하여 초기 운전상태에서 정상상태에 도달할 때까지 적응운전을 실시하였다. 황화수소를 기질로 주입하여 일정기간 배양하였다. Biotrickling filter 반응기를 이용한 황화수소 제거실험에서 유입 황화수소 농도변화(500, 1000, 1500, 2000 ppmv) 및 EBRT (1, 1.5, 2, 3 min)에 따른 제거효율 및 제거 용량을 살펴보았다. 또한 연속운전을 통하여 반응기내 압력변화 및 제거효율 변화를 파악하였으며, 역세척(backwash)을 통하여 압력손실 및 제거효율 변화를 살펴보려고 하였다. 시료채취는 하루에 2회, 2ℓ teflon bag에 포집한 후 GC-FPD로 가스 분석을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 악취 분해세균의 분리

황화물을 분해할 수 있는 미생물을 경상남도 양산시에 위치한 퇴비공장에서 2종의 퇴비시료와 1종의 슬러지 시료를 채취하여 45개의 호기성 균주를 분리하였다(Table 9). 배양 온도별로 살펴보면 먼저 30℃ 배양 조건에서는 시료 1에서 8개의 colony를 분리하였으며, 시료 2에서는 9개의 colony를 분리하였고 악취가 심한 토양 슬러지에서는 7개의 백색의 colony를 분리 하였다. 또한 60℃의 배양 조건에서는 시료 1에서 2개의 colony를, 시료 2에서는 10개의 다소 많은 colony를 선별하였고 슬러지 시료에서는 9개의 colony를 분리하여 선별과정을 진행하였다. 그 이후 황 화합물인 thiosulfate의 산화능을 비교한 결과, 퇴비의 가장자리에서 분리한 1개의 균주가 아주 높은 thiosulfate 산화능을 보였고 나머지는 다소 낮은 thiosulfate 산화능을 나타내었다. 따라서 본 실험에서는 앞선 실험결과 가장 높은 thiosulfate 산화능을 나타내는 균주 1종을 최종적으로 선별하여 본 실험에 사용하였다.

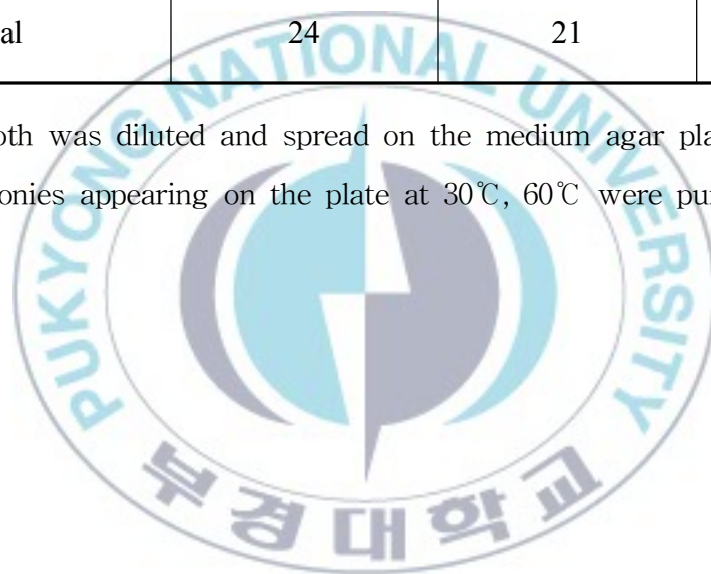
2. 분리 균주의 동정

분리된 균주의 동정을 위해 형태학적 관찰, 생화학적 특성 그리고 16S rRNA gene sequencing 분석을 실시하였다. Gram staining과 SEM을 이용한 형태학적 관찰결과 분리 균주는 Gram-negative bacteria로 spore를 형성하지 않았으며(Fig. 14, Fig. 15) thiosulfate 고체 배지 상에서는 우윳빛의 투명한

Table 9. Screening of thiosulfate oxidizing bacterium from barnyard manure

Sample \ Temperature	30℃ incubation (colony numbers)	60℃ incubation (colony numbers)	Total
Compost 1	8	2	10
Compost 2	9	10	19
Sludge sample	7	9	16
Total	24	21	45

The culture broth was diluted and spread on the medium agar plate and the colonies appearing on the plate at 30℃, 60℃ were purified



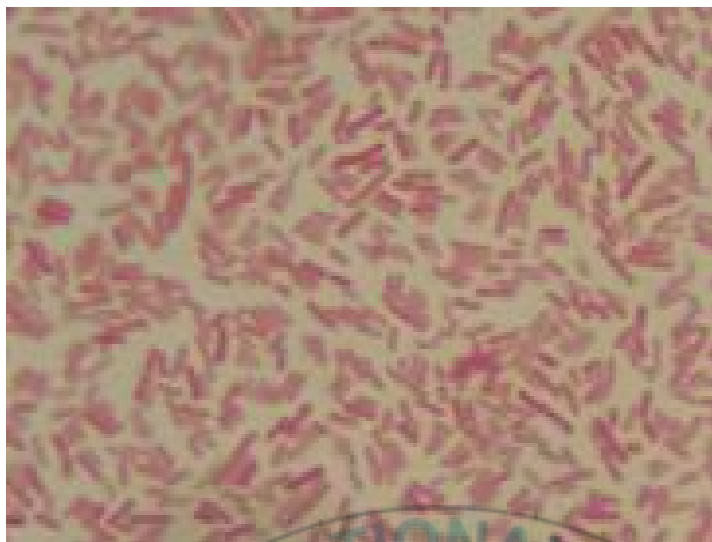


Fig 14. Bright field microscopy images of *Enterobacter hormaechei* JH on the Gram stains. The morphological observations were carried out using a light microscope(Lieca Optical, Japan: $\times 1,000$).

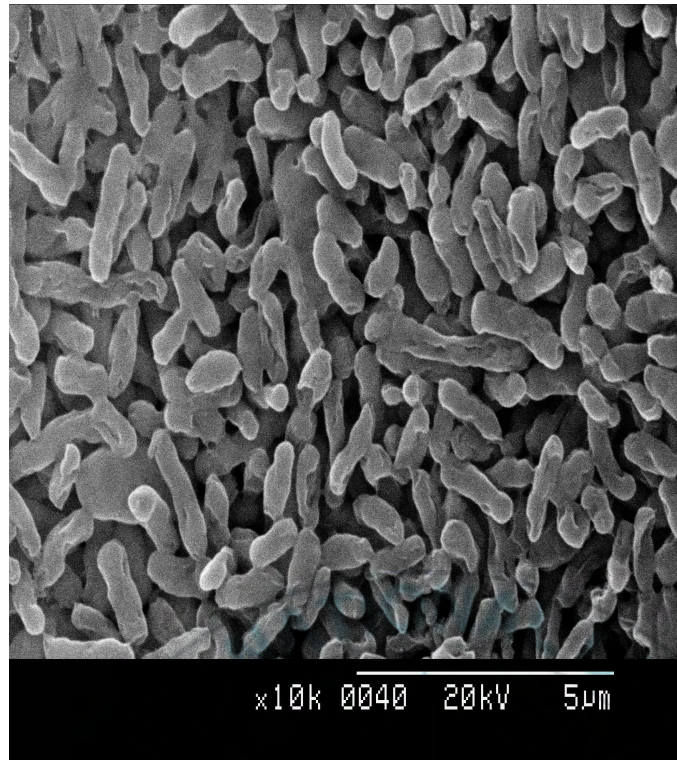


Fig. 15. SEM microphotograph of *Enterobacter hormaechei* JH (Hitachi, S-2400).

colony를 형성하였다. 분리된 균주의 생화학적 테스트를 하기 위하여 Vitek의 Gram-negative identification card(GNI+ software, version R09.01)를 사용하였다. 그 결과를 살펴보면 catalase, nitrate reduction, citrate에 양성반응을 나타내었고, D-glucose, D-xylose, D-mannose, D-Manintol, L-arabinose 그리고 sucrose에 대한 당 이용 테스트에 양성반응을 나타내었다. 그러나 gelatinase, cytochrome oxidase, L-lysine decarboxylase, L-arginine dehydrolase에는 음성반응을 나타내었다(Table 10).

분리 균주의 보다 정확한 동정을 위해 16S rRNA gene sequencing 분석을 통한 분자생물학적 동정을 실시하였다. Moyer 등(1994)에 의해 고안된 degenerate primer를 사용하여 PCR 반응물을 제작하였다. 이를 PCR한 후, 1% agarose gel에서 찾고자하는 16S rRNA의 크기인 약 1.4kb의 band를 확인할 수 있었다. 이들 염기 서열은 Fig. 16과 같았으며 분석한 염기서열을 중심으로 계통도를 조사한 결과 *Enterobacter hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)와 99.4%의 상동성을 가지는 것을 알 수 있었다(Fig. 17). 이상의 결과를 미루어 보아 분리된 균주는 *Enterobacter* sp.에 포함되는 것을 알 수 있었으며 분리 균주를 *E. hormaechei* JH라 명명하였다. *E. hormaechei* JH와 표준 균주 *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)와의 생화학테스트를 비교해 본 결과 *E. hormaechei* JH와 *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441) 사이에 생화학적 테스트 일부가 상이함을 알 수 있었다(Table 11). 이러한 결과는 *E. hormaechei*의 경우 유전적 상동성이 매우 높으나 서로 다른 생화학 테스트 결과가 나타나며 이에 따라 현재 *E. hormaechei*를 아종으로 보다 세부적으로 분류를 하고 있다(Harald *et al*, 2005). 본 균주는 고온인 환경의 퇴비에서 오랜 시간동안 서식하며 그 양상이 변한 것으로 추정되며 분리된 균주 또한 많은 *E. hormaechei*의 한 아종으로 생각되어진다. 기존의 황화수소 분해에 이용되는 균주와는 전혀 다른 장내세균과인 *Enterobacter* sp.가 황화수소 분해에 이용된다는 결과는 상당히 이례적이며 새로운 시도가 될 수 있을 것이다.

Table 10. Morpholglcal, physiological and biochemical characteristics of the

Enterobacter hormaechei JH strain

Characteristics	Results
Morphological	
Shape	Short rod
Gram stain	—
Swollen spore	—
Physiological	
Aerobic growth	+
Optimum temperature	30℃
Optimum pH	pH 7.0
Growth pH range	pH 2.0 ~ 9.0
Biochemical	
Catalase	+
Gelatinase	—
Cytochrome oxidase	—
Nitrate reduction	+
Utilization of citrate	+
Starch hydrolysis	—
D-Glucose	+
D-Xylose	+
D-Mannose	+
L-Arabinose	+
Sucrose	+
Lactose	—
D-Fructose	—
L-Rhamnose	—
Inositol	—
D-Manintol	+
L-Lysine decarboxylase	—
L-Ornithine decarboxylase	+
L-Arginine dehydrolase	—

CAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAACAGGAA
 GCAGCTTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACT
 GCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAANGTCGC
 AAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGA
 TTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGA
 GAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGC
 AGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGT
 ATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAG
 GTTAATAACCTTGTGCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGT
 GCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
 AAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTG
 GGAAGTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCA
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGC
 CCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT
 AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTG
 AGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
 AAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
 GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTA
 CCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
 CAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCT
 TTGTTGCCAGCGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGA
 GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACG
 TGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCA
 TAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAA
 TCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
 ACACCGCCCGTCC

Fig. 16. The 16S rRNA gene sequence of *Enterobacter hormaechei* JH.

The 16S rRNA gene of *E. hormaechei* JH was amplified by polymerase chain reactions (PCR) from the genomic DNA. The PCR products were examined by electrophoresis and then isolated and sequenced. A similarity search was performed using the Genbank databases. To characterize *E. hormaechei* JH, a neighbour-joining phylogentic tree was constructed with the CLUSTAL W program.

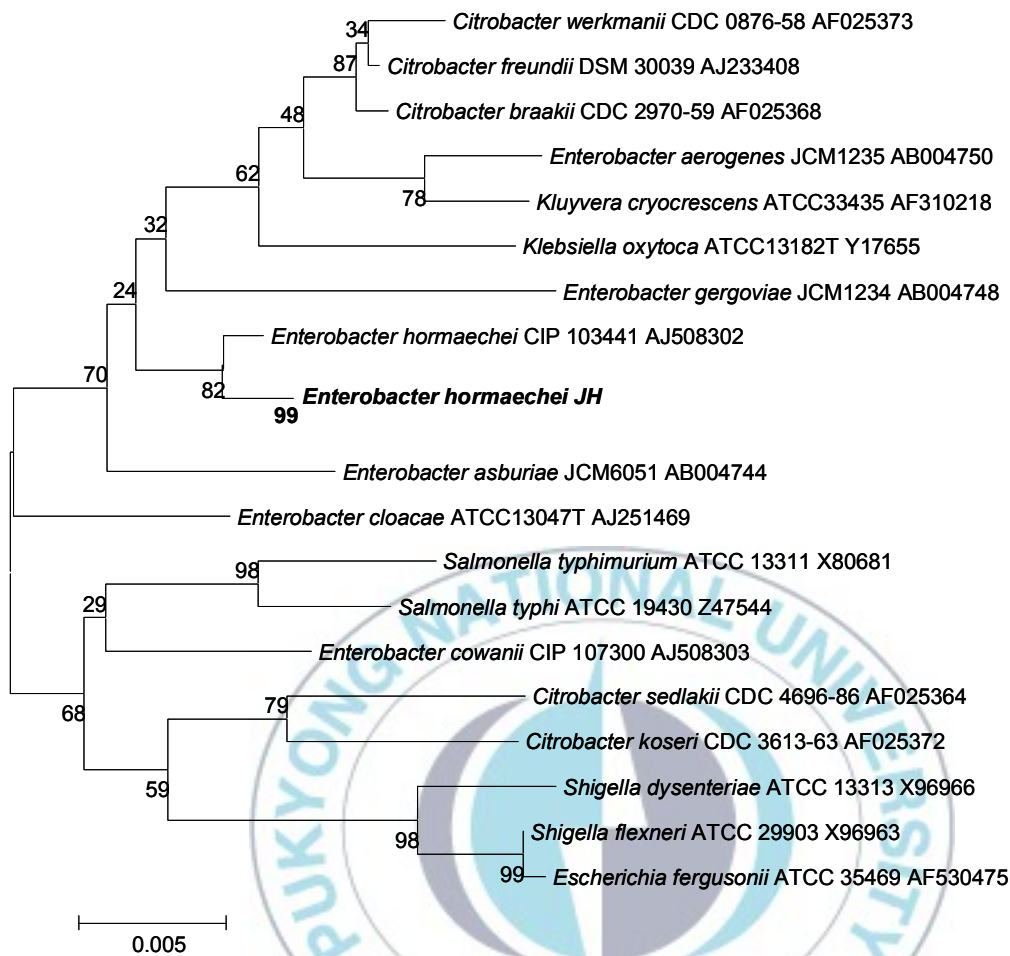


Fig. 17. Neighbour-joining tree showing the phylogenetic positions of *Enterobacter hormaechei* JH and its nearest neighbours based on 16S rRNA gene sequence analysis. To further confirm the strain's identification, its 16S rRNA gene sequence.

Table 11. Biochemical characteristics of the *Enterobacter hormaechei* JH
and *Enterobacter hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441) strain

Tests	Strain Name	<i>Enterobacter hormaechei</i> JH	<i>Enterobacter hormaechei</i> (ATCC 49162; CIP 103441)
β-galactosidase		+	+
Arginine dehydrolase		-	+
Lysine decarboxylase		-	-
Ornithine decarboxylase		+	+
Citrate utilization		+	+
H ₂ S production		-	-
Urease		-	-
Tryptophane desaminase		-	-
Indole production		-	-
Acetoin production		-	+
Gelatinase		-	-
Glucose fermentation/oxidation		+	+
Mannitol fermentation/oxidation		+	+
Inositol fermentation/oxidation		-	-
Sorbitol fermentation/oxidation		-	-
Rhamnose fermentation/oxidation		-	+
Sucrose fermentation/oxidation		+	+
Melibiose fermentation/oxidation		+	+
Amygdalin fermentation/oxidation		-	+
Arabinose fermentation/oxidation		+	+
Cytochrome-oxidase		-	-

3. 분리 균주의 증식 특성

1) 온도, pH에 대한 최적 증식 조건

선별된 *E. hormaechei* JH의 최적 배양조건을 탐색하기 위하여 thiosulfate 배지에 본 균을 접종하여 배양온도와 초기 pH를 변화시키면서 균의 증식양상을 조사하였다. 미생물은 생육에 필요한 적정 pH를 가지고 있기 때문에 생물학적 탈취 장치에서도 pH의 조절은 매우 중요하다. 따라서 pH가 이 균의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 배양 온도를 30℃로 유지하면서 초기 pH를 2.0에서 9.0의 범위로 조절한 thiosulfate 배지에서 *E. hormaechei* JH를 접종하여 배양시간에 따른 성장 정도를 조사하였고 각 pH별로 증식 양상을 Fig. 18에 나타내었다. 분리 균주의 세균성장은 pH 5.0에서 pH 9.0 범위에서 성장이 가능하였고 강산성인 pH 2.0에서는 세균 성장이 거의 이루어지지 않았다. 반면에 강염기성인 pH 9.0에서는 세균의 성장을 관찰할 수 있었으며 24 시간이 경과 한 후, 최대의 세균 성장을 나타내었다. 그 중 최적조건인 pH 7.0에서는 접종후 1-2시간 후 대수기를 나타내었고 배양 약 28시간 후에 정체기에 도달하여 약 OD 3.6을 나타내었다. pH에 따른 성장형태를 살펴보면 pH 7.0 > pH 9.0 > pH 5.0의 순으로 성장이 잘 되는 것을 확인할 수 있었다.

온도에 따른 세균의 성장을 조사해 본 결과 분리된 균주의 최적 온도는 30℃로 판명되었으며, 25℃와 30℃에서는 증식도가 다소 감소되었고 60℃의 조건에서는 세균의 성장이 이루어지지 않았다(Fig. 19). 그리고 25℃의 조건에서는 최적 온도인 30℃의 약 40%의 세균성장을 관찰할 수 있었다. 각 배양온도에서 24시간과 48시간 배양후 증식정도를 비교한 결과(Fig. 20) 30℃가 가장 좋았으며 배양 24시간과 48시간을 비교하면 증식도가 약간 증가하였음을 알 수 있었다. 이는 *Xanthomonas* sp.에 비하여 성장속도가 빠르며 넓은 범위의 pH에 적응력이 뛰어나며 일반적인 *Thiobacillus* sp.보다는 성

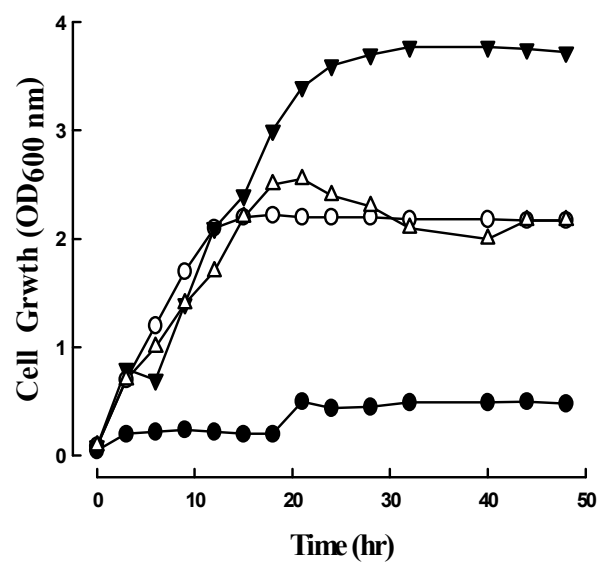


Fig. 18. Effect of initial pH on *Enterobacter hormaechei* JH cell growth. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm for 48 h. Symbols; (●) pH 2, (○) pH 5, (▼) pH 7, (△) pH 9.

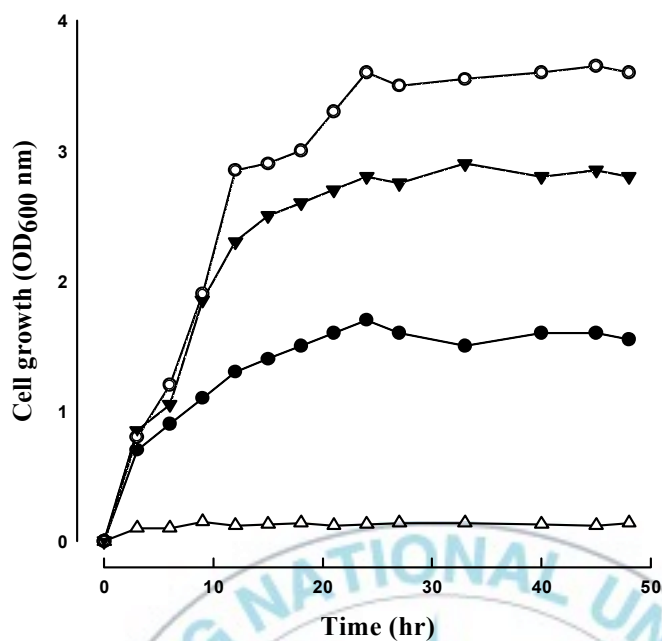


Fig. 19. Effect of various temperature on *Enterobacter hormaechei* JH cell growth. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 250 rpm, pH 7.0 for 48 h. Symbols; (●) 25°C, (○) 30°C, (▼) 35°C (△) 60°C.

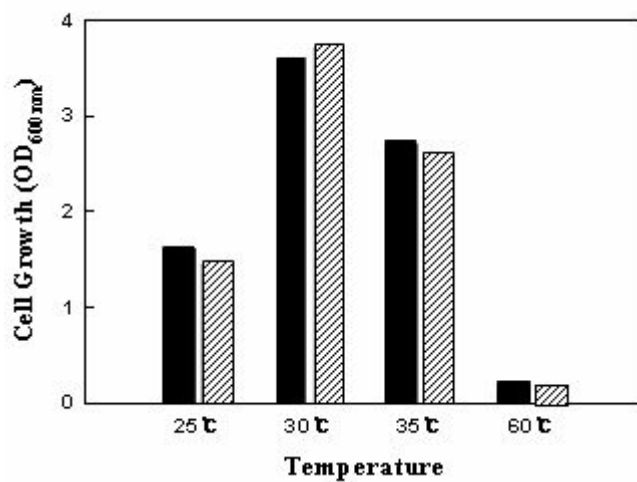


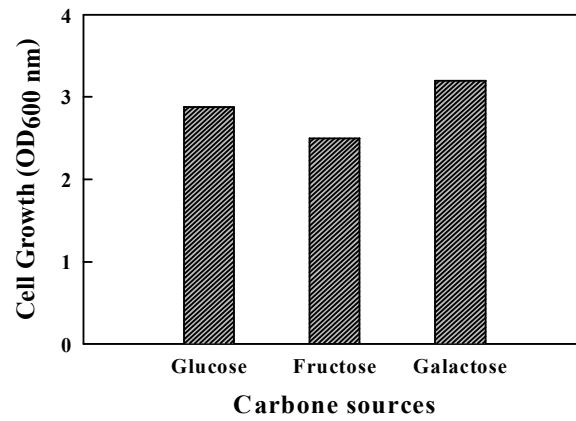
Fig. 20. Effect of various temperature on *Enterobacter hormaechei* JH cell growth in 24 hr and 48 hr. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 250 rpm, pH 7.0 for 24 h (■) and 48 h (▨).

장이 월등히 빠르다(Cha., et al, 1999, 1994). 이러한 결과로 미루어보아 황 함유 악취 가스를 경제적이고 효과적으로 처리하기 위해서는 상온과 중성 pH에서 최적 성장을 보이며, 빠른 성장 속도를 지닌 균주의 선택은 매우 중요한 관건으로 여겨지며 따라서 본 실험에서 분리한 균주는 황 화합물 등의 악취제거 응용에 있어서 pH와 온도에 안정한 균주로 생각되어지며, 그 산업적 응용을 기대할 수 있을 것이다.

2) 탄소원과 질소원의 영향

황산화능이 있는 균주를 산업적 응용 측면에서 황화수소를 대량 산화하기 위해서는 빠른 성장률과 다량의 미생물 군체를 회수하는 것이 중요한 과제이다. 이러한 이유로 인하여 본 실험에서는 분리된 균주를 대상으로 thiosulfate 배지에 탄소원인 glucose, fructose 그리고 galactose를 각각 0.2% 첨가하여 배양하여(30℃, pH 7.0, 250rpm), 그 결과를 Fig. 21A에 나타내었다. *E. hormaechei* JH의 성장은 galactose($OD_{600nm} = 3.2$) > glucose ($OD_{600nm} = 2.8$) > fructose ($OD_{600nm} = 2.5$)의 순으로 나타내었고, 6탄당인 galactose에서 최고의 세균 성장을 보여주었다. 다음으로는 분리된 균주의 질소원에 대한 세균 성장을 관찰한 결과를 Fig. 21B에 나타내었다. 그 결과 yeast extract 0.2%(w/v%)로 첨가한 조건에서 최고의 성장을 나타내었으며 이 역시 24 시간이 경과한 후의 성장 형태는 yeast extract ($OD_{600nm} = 3.4$) > malt extract ($OD_{600nm} = 2.9$) > peptone ($OD_{600nm} = 1.5$)로 나타내었고 yeast extract와 malt extract를 첨가할 시에 우수한 세균 성장을 나타내었는데, 이러한 결과들은 thiosulfate와 yeast extract가 포함된 액상배지에서 자란 세균은 먼저 yeast extract를 이용한 후, 세균의 성장을 한 다음 thiosulfate를 에너지원으로 사용하면서 성장하는 것으로 사료된다. 이는

(A)



(B)

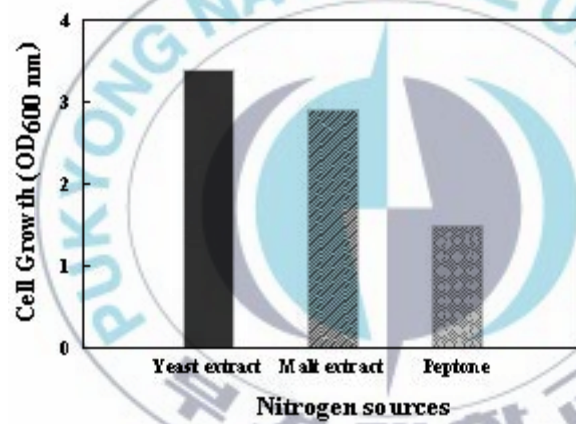


Fig. 21. Growth characterization of *Enterobacter hormaechei* JH in thiosulfate medium supplemented with 0.2% carbone-sources (A) and 0.2% nitrogen-sources (B). The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm for 24 hr.

Xanthomonas sp.의 결과와도 유사한 양상을 보였다(Cha., et al, 1999).

4. *E. hormaechei* JH의 황 산화능 조사

1) Thiosulfate 농도에 따른 황 산화능

Thiosulfate를 기질로 하여 이 농도를 0.016 M, 0.032 M, 0.064 M, 0.08 M, 0.12 M 그리고 0.16 M으로 조절된 배지에 분리된 균주를 접종하여 황 산화능이 있는 균주로 알려진 *T. delicata*(KCTC 2851)의 성장곡선을 조사하였다. 먼저 분리된 균주인 *E. hormaechei* JH의 기질농도에 따른 세균의 성장을 보면, thiosulfate 농도가 증가할수록 세균의 성장이 감소하는 경향을 나타내었고, 이러한 결과들은 thiosulfate가 세균의 성장을 제한하는 기질로 작용하는 것을 확인할 수 있었다. 분리 균주인 *E. hormaechei* JH의 기질농도에 따른 성장 형태를 보면 24 시간을 기준으로 보면 제일 높은 기질 농도인 0.16 M에서 가장 낮은 성장 경향을 보여주었고 이 또한 thiosulfate의 농도가 높을수록 균체의 성장을 제한하는 경향을 나타내었다(Fig. 22).

또한 황화수소 제거 균주인 *T. delicata*(KCTC 2851)의 기질 농도별 세균의 성장 곡선도 역시 thiosulfate 농도가 증가할수록 세균의 성장을 제한하여 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 23). 24 시간이 경과한 후의 세균 성장을 보면 0.016 M ($OD_{600nm} = 1.28$), 0.032 M ($OD_{600nm} = 1.01$), 0.064 M ($OD_{600nm} = 0.79$), 0.08 M ($OD_{600nm} = 0.56$), 0.12 M ($OD_{600nm} = 0.30$), 0.16 M ($OD_{600nm} = 0.40$)으로 세균의 성장이 점차적으로 감소하는 하향 곡선을 나타내었다.

두 균주의 기질농도별 성장곡선을 비교해 볼 때, *E. hormaechei* JH가 *T. delicata*(KCTC 2851)보다 세균의 성장 능력이 매우 우수한 것으로 나타났다으며, 두 균주 모두 thiosulfate 농도가 높을수록 균체의 성장을 제한하는

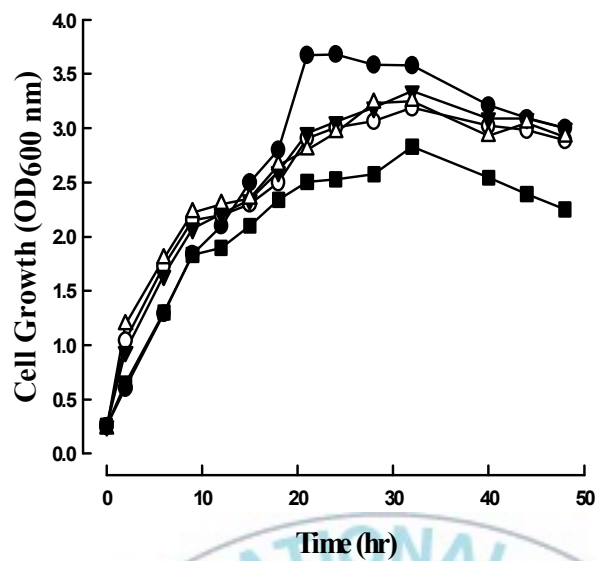


Fig. 22. Effect of thiosulfate concentrations on *Enterobacter hormaechei* JH cell growth. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm for 48 h. Symbols; (●) thiosulfate concentrations of 0.016 M, (○), thiosulfate concentrations of 0.032 M; (▼) thiosulfate concentrations of 0.064 M, (△) thiosulfate concentrations of 0.08 M, (■) thiosulfate concentrations of 0.12 M, (□) thiosulfate concentrations of 0.16 M.

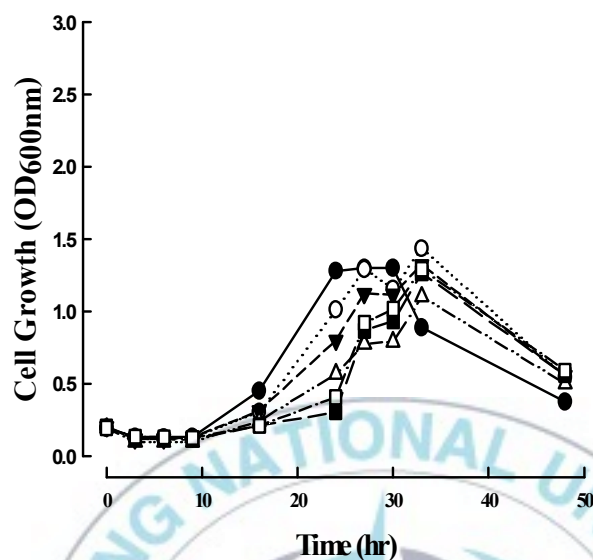


Fig. 23. Effect of thiosulfate concentrations on *Thiobacillus delicatus*(KCTC 2851) cell growth. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm for 48 h. Symbols; (●) thiosulfate concentrations of 0.016 M, (○), thiosulfate concentrations of 0.032 M; (▼) thiosulfate concentrations of 0.064 M, (△) thiosulfate concentrations of 0.08 M, (■) thiosulfate concentrations of 0.12 M, (□) thiosulfate concentrations of 0.16 M.

경향을 나타내었고, 이러한 특징은 본 실험에서 분리 동정한 *E. hormaechei* JH가 악취제거의 산업적 응용에 있어서 빠른 균체 성장으로 높은 이용가치가 있을 것으로 사료된다.

기질 농도별 황 산화 능력을 비교해 본 결과 본 실험에서 분리한 *E. hormaechei* JH의 황산화 능력은 기질인 thiosulfate의 농도가 증가 할수록 생성되는 sulfate 이온의 양이 증가하여 황산화능이 우수함을 알 수 있었다 (Fig. 24). 기질 농도가 0.12 M일때 24 시간이 경과한 후에 황산염을 7.3 g/ℓ를 생성하였다. 그러나 더 높은 농도인 0.16 M 일 경우는 5.9 g/ℓ로 오히려 농도가 너무 높으면 감소하는 경향을 나타내었다. 각 농도별 황산염의 양을 나타내면, 24 시간인 경우를 비교해 보면 기질농도가 0.016 M(0.48 g/ℓ), 0.032 M(0.51 g/ℓ), 0.064 M(0.89 g/ℓ), 0.08 M(3.0 g/ℓ), 0.12 M(7.3 g/ℓ) 그리고 0.16 M(5.9 g/ℓ)으로 나타내었다. 그리고 황화 수소 제거 균주인 *T. delicatus*(KCTC 2851)에서도 기질농도별 황산염 생성을 시간별로 나타내었다(Fig. 25). 그러나 공시 균주인 *T. delicatus*(KCTC 2851)은 본 실험에서 분리한 *E. hormaechei* JH의 황산화능에 비해 낮은 값을 나타내었다. *T. delicatus*(KCTC 2851)은 기질 농도별 황산염 발생량을 보면 2.0 g/ℓ에서 최대 4.7 g/ℓ의 황산염 발생을 보여주었다. 또한 시간별 황산염의 발생량도 크게 변하지 않으며 완만한 곡선의 형태를 유지하였다. 즉 기질이 고농도일때는 미생물에 독성을 미쳐 증식과 황산화 속도에 기질이 억제 인자로서 작용한 것으로 사료된다. 이러한 결과들은 본 실험에서 분리한 *E. hormaechei* JH는 세포 성장과 황 산화능에 있어서 공시 균주인 *T. delicatus*(KCTC 2851)보다 훨씬 우수한 활성을 보유함으로써 그 산업적 응용가치에 좀 더 많은 기대감을 지닐 수 있을 것으로 생각된다.

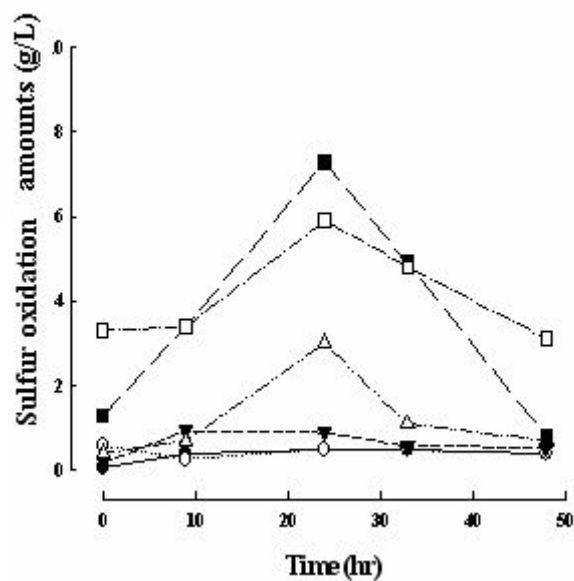


Fig. 24. Effect of thiosulfate concentration on the sulfur oxidation of *Enterobacter hormaechei* JH. The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm. Symbols; (●) thiosulfate concentrations of 0.016 M, (○), thiosulfate concentrations of 0.032 M; (▼) thiosulfate concentrations of 0.064 M, (△) thiosulfate concentrations of 0.08 M, (■) thiosulfate concentrations of 0.12 M, (□) thiosulfate concentrations of 0.16 M.

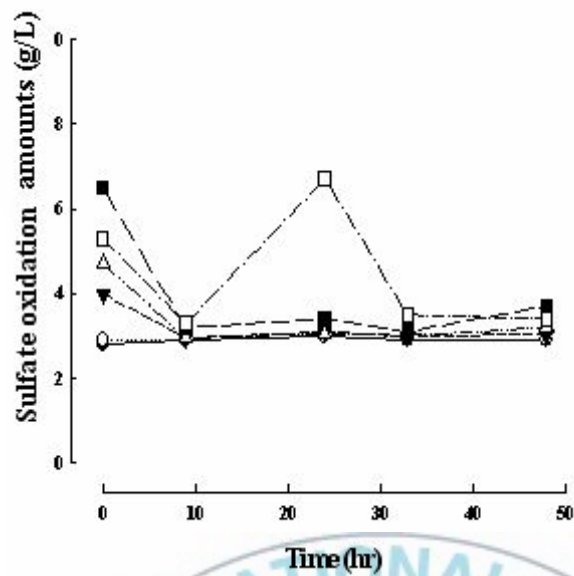


Fig. 25. Effect of thiosulfate concentration on the sulfur oxidation of *Thiobacillus delicatus* (KCTC 2851). The growth condition thiosulfate medium, incubated at 30°C, 250 rpm. Symbols: (●) thiosulfate concentrations of 0.016 M, (○), thiosulfate concentrations of 0.032 M; (▼) thiosulfate concentrations of 0.064 M, (△) thiosulfate concentrations of 0.08 M, (■) thiosulfate concentrations of 0.12 M, (□) thiosulfate concentrations of 0.16 M.

2) Batch reactor test

E. hormaechei JH를 이용한 bench scale의 biotricking filter system 적용을 위한 조건확립을 위해 batch reactor test에서의 황 화합물 산화능을 조사해 보았다. 본 연구에 사용된 황화수소 가스는 부산 G구의 음식물 쓰레기 처리장의 소화조에서 채취한 소화가스를 시험용 가스로 사용 하였다. Table 12은 batch reactor test 결과를 나타낸 것으로, 배양 1시간 후에는 처음의 농도인 112 ppm으로 변화가 없었으나, 배양 20시간 후에는 분리균주인 *E. hormaechei* JH, *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)와 황화수소를 분해하는 것으로 알려진 대조균인 *T. delicatus*(KCTC 2851) 모두 황화수소를 분해시킨 것으로 나타났다. 각 균주의 첨가량(0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml 그리고 5.0 ml)에 따른 각각의 분해능이 *E. hormaechei* JH의 경우 36.7 ppm, 25.7 ppm, 8.5 ppm 그리고 3.0 ppm이며, *T. delicatus*(KCTC 2851)의 경우 각각 33.2 ppm, 22.4 ppm, 18.0 ppm 그리고 3.1 ppm으로 나타났다. 그리고 *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)는 각각 108.4 ppm, 102.3 ppm, 98.7 ppm 그리고 98.5 ppm으로 나타났다(Table 12). 대조구의 경우 반응 20시간 후에 세 균주 모두 황화수소의 농도가 110 ppm으로 나타났는데 이는 증류수에 황화수소가 조금 녹은 것으로 사료된다. 이 농도는 standard인 112 ppm과 비교하여 큰 차이는 아닌 것으로 판단되며 또한 배지 병의 내벽에 부착하여 나타나는 소실현상은 에러의 요인으로 작용할 수 있을 것으로 생각되어 진다.

이런 결과로부터 분리한 균주 *E. hormaechei* JH는 황화수소의 분해능이 우수한 반면 표준균주인 *E. hormaechei*(ATCC 49162; CIP 103441)는 분해능이 거의 없었으며 황화수소 분해능이 우수해 산업화에서 응용되고 있는 *T. delicatus*(KCTC 2851)과 비교해 본 결과 분해능이 보다 높은 것을 알 수 있었다. 따라서 산업적으로 hydrogen sulfide를 분해하고자 할 때 우수한 균주로서 활용가능성이 있으며 탈취산업에 있어서도 유능한 균주로서

Table 12. Reduction of hydrogen sulfide concentration by oxidation in incubation bottles

Incubation time	Incubation solution (ml)	Residue hydrogen sulfide (ppm)		
		<i>E. hormerchei</i> JH	<i>T.delicates</i> (KCTC 2851)	<i>E. hormerchei</i> (ATCC 49162)
After 1 hr	0	112	112	112
	0.5	112	112	112
	1.0	112	112	112
	2.0	112	112	112
	5.0	112	112	112
After 20 hrs	0	110	110	110
	0.5	36.7	33.2	108.4
	1.0	25.7	22.4	102.3
	2.0	8.5	18.0	98.7
	5.0	3.0	3.1	98.5

* concentrations are calculated with calibration curve.

폭넓게 사용되어질 것으로 기대된다.

5. Bench scale biotrickling filter system

1) 제거효율 (removal efficiency)

제거효율이란 유입된 농도가 반응기에 의해 제거 되어진 후 배출되는 가스농도를 측정하여 제거된 물질농도를 유입농도에 대한 백분율로 표시한 것이다.

Biotrickling filter를 이용한 황화수소의 제거 시 유입농도 및 EBRT (Empty Bed Retention Time) 변화에 따른 처리효율을 Fig. 26에 나타내었다. Fig. 26에 나타난 바와 같이 유입농도가 낮을수록 높은 처리효율을 나타내었다. 유입농도가 2000 ppmv로 높을 경우 EBRT 1min의 운전조건에서 약 60%의 효율을 보였으나, 유입농도가 500 ppmv 일 경우에는 95% 이상의 효율을 나타내었다. 또한 EBRT 변화에 따른 처리효율은 EBRT가 증가할수록 제거효율은 증가하는 경향을 보였으며 EBRT가 3min, 유입농도 500 ppmv인 경우 거의 100%의 제거성능을 보였다.

이러한 결과로부터 본 연구에서 사용된 *E. hormaechei* JH는 황화합물 제거에 있어 그 성능이 우수함을 확인하였다.

2) 제거용량 (elimination capacity)

제거용량이란 단위시간당 및 단위 매디아의 단위 용적당 제거된 물질량을 나타내는 것으로써 해당 반응기의 주요한 성능 지표로 주로 활용되는 항목이다. biotrickling filter를 이용한 황화수소 제거시 유입 부하량에 따른 제거량의 변화를 조사해 보았다. 유입 황화수소 부하량은 $37 \sim 220 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 이며, 유입농도를 $500 \sim 2000 \text{ ppmv}$, 가스유입량을 $1.5 \sim 4.5 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 로 조절하여 반응기에 주입하였다. 실험결과 그림에서 보는 바와 같이 황화수소

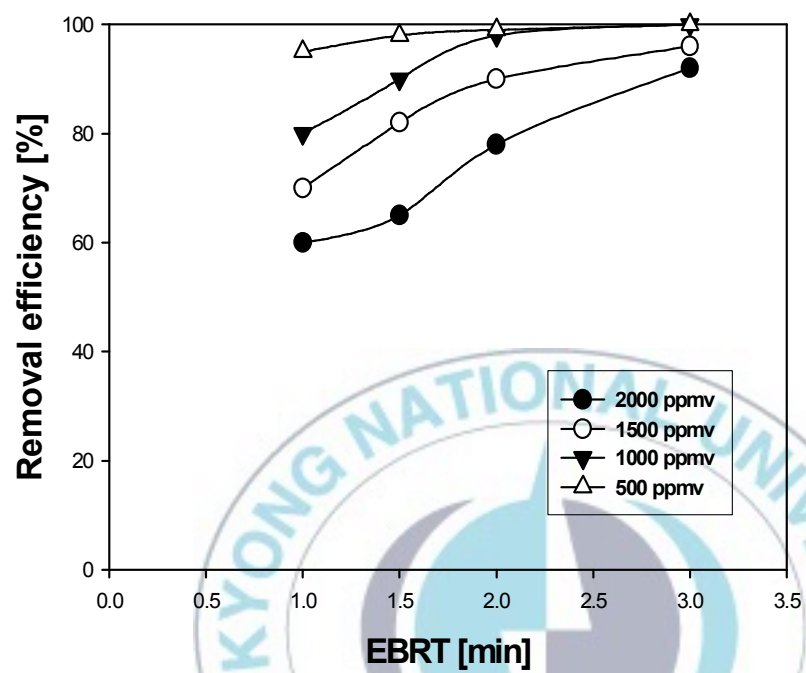


Fig. 26. Effect of empty bed residence time on the hydrogen sulfide removal efficiency.

유입 부하량이 $110 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 이하에서 90% 이상의 높은 제거효율을 보였으며, 그 이상에서는 제거효율이 감소하였으며, $220 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 의 최대 유입부하에서 최대 제거용량은 $118 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 로 나타났다(Fig. 27).

제거용량은 처리가스의 유입량 및 제거효율과 밀접한 관계가 있어 장치설계 시 고려해야 할 중요한 변수 중의 하나로서, 생물학적 처리공정에서 최대 제거량은 매디아 충전층에 존재하는 미생물의 활성도와 부착농도에 의존하는 것으로 알려져 있다.

Table 13는 최근 몇몇 연구자들에 의해 보고된 VOCs 제거용량과 본 연구 결과를 비교하여 나타낸 것으로, 다른 연구 결과에서는 biofilter 공정을 이용하였을 때 황화수소 제거용량은 $49.4 \sim 488.3 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$, biotrickling filter 공정에서 Toluene의 경우 $27 \sim 50 \text{ g/m}^3 \cdot \text{hr}$ 의 제거용량을 나타내었다. 그러나 표에서 볼 수 있듯이 biotrickling filter를 이용한 본 연구결과에서는 기존의 연구결과에 비해 양호한 제거용량으로 나타내었으며, 이와 같은 결과는 본 연구에 사용된 미생물의 부착 및 생물막 형성이 양호하며, 담체에 부착되어 있는 미생물의 농도를 높게 유지할 수 있기 때문으로 판단된다.

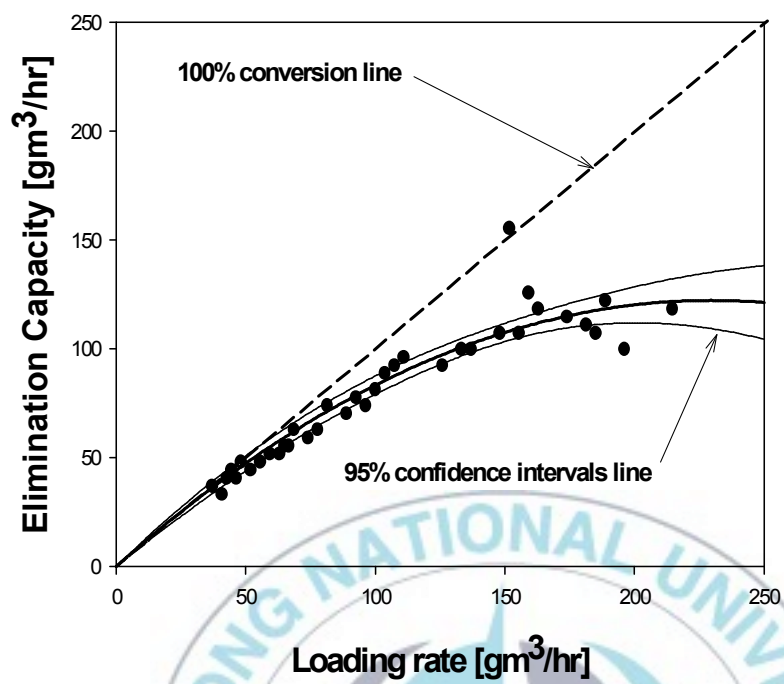


Fig. 27. Elimination capacity with regard to hydrogen sulfide loading rate.

Table 13. Comparisons of elimination capacity

Compounds	Bed materials	Operation	Elimination capacity (g/m ³ ·hr)	References
H ₂ S	JEJU BASALT	Biofilter	269	Bin <i>et al.</i> , (2001)
H ₂ S	PU	Biofilter	488.3	Jeong <i>et al.</i> , (2007)
H ₂ S	AC/PU	Biofilter	157	Kam <i>et al.</i> , (2004)
H ₂ S	rock/wool	Biofilter	49.4	Eun <i>et al.</i> , (2005)
H ₂ S	PU	Biofilter	67.4	Yoo and Lee (2007)
Toluene	Pall ring	Biotrickling filter	27-35	Song and Kinney (2000)
MTBE	Lava rock	Biotrickling filter	41.7±3.9	Diks and Ottengrat (1991)
MTBE	Pall ring	Biotrickling filter	50.0±7.2	Diks and Ottengrat (1991)
Toluene	Pall ring	Biotrickling filter	32.2	Cox and Deshusses (1999)
H ₂ S	PU	Biotrickling filter	118	present study

PU : Poly Urethane

AC : Activated Carbon

Comparisons of elimination capacity with previously reported results

IV. 요약

황화수소 분해능이 우수한 미생물을 분리하여 이를 산업적으로 응용 가능성을 타진하기 위하여 먼저 퇴비에서 thiosulfat 분해능이 우수한 균주를 분리, 동정하였다. 그리고 이 균의 황산화 정도를 조사하였고 분리 균주의 최적 성장 조건을 pH, 온도, 유기물 종류에 따른 성장특성을 확인하였다. 이렇게 확인된 균주의 특성을 이용하여 황화수소의 산업적 처리효과를 확인하기 위하여 먼저 batch reactor test에서 1 차적인 성능검증을 수행하였으며, 또한 bench scale인 biotrickling filter system에서 제거성능을 시험하여 본 연구에 사용된 미생물의 황화수소 제거 효과를 확인하고 현장적용 가능성을 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 퇴비에서 분리된 thiosulfate 분해능이 있는 균주를 분리하여 형태학적, 생화학적, 분자생물학적 특성에 따라 동정한 결과 *Enterobacter hormaechei* 로 확인되었고 이를 *E. hormaechei* JH로 명명하였다.
2. *E. hormaechei* JH의 최적성장 조건은 온도 30℃, 최적 pH 7.0으로 확인되었으며 탄소원으로는 galactose를 질소원으로는 yeast extract를 가장 잘 이용하였다.
3. 본 실험에서 분리한 *E. hormaechei* JH의 경우 thiosulfate 농도가 0.12 M일 때 24시간 경과후 산화된 황산염을 7.3 g/ℓ를 생성하였다. 황산화능이 우수한 균주로 알려진 *Thiobacillus delicatus*(KCTC 2851)의 경우는 같은 조건에서 4.7 g/ℓ를 생성하여 분리한 균주인 *E. hormaechei* JH의 황산화능이 더욱 우수함을 알 수 있었다.
4. Batch reactor test에서 황화수소 가스의 분해능을 알아보기 위하여 초기

황화수소 가스를 112ppm 첨가하고 *E. hormaechei* JH, *E. hormaechei*(ATCC 49162) 그리고 대조미생물인 *T. delicatus*(KCTC 2851)을 각각 첨가량이 0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml 그리고 5.0 ml씩 되도록 주입하여 30℃에서 20시간 반응시켰다. 그 결과 미생물 첨가량(0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml 그리고 5.0 ml)에 따라 각각 잔존 황화수소 가스의 농도가 *E. hormaechei* JH의 경우 36.7 ppm, 25.7 ppm, 8.5 ppm 그리고 3.0 ppm이며, *E. hormaechei*(ATCC 49162)는 108.4 ppm, 102.3 ppm, 98.7 ppm 그리고 98.5 ppm이며, *T. delicatus*(KCTC2851)의 경우 각각 33.2 ppm, 22.4 ppm, 18.0 ppm 그리고 3.1 ppm으로 나타났다.

5. Batch reactor test에서 황화수소가스 제거능이 가장 좋은 것으로 나타난 *E. hormaechei* JH의 산업적 응용 가능성을 타진하기 위하여 bench scale인 biotrickling filter system에서 실험을 수행하였다. *E. hormaechei* JH를 매디아에 접종하여 황화수소 유입농도 500 ppmv, EBRT 1min의 운전조건에서 95%이상의 제거효과를 나타내었다. 운전조건별 제거 특성으로써 EBRT 1min의 조건에서 유입농도가 500 - 2000 ppmv로 증가할수록 95%에서 60%수준까지 감소하는 경향을 나타내었다. EBRT가 증가할수록 제거효율이 높아지는 경향을 나타내었으며, EBRT 3min, 유입농도 500ppmv에서 거의 100%의 제거효율을 나타내었다. 본 미생물에 의한 황화수소 제거용량을 시험한 결과 최대제거용량 118 g/m³·hr로 나타났으며, 다른 연구자들이 수행한 연구결과들과 견주어 볼 때 유사한 성능을 보인 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 본 논문에서 분리한 미생물 *Enterobacter hormaechei* JH의 황화수소 제거 성능은 기존의 사용균주 보다 우수하였고 산업 현장에서 사용 가능한 것으로 나타났다.

V. 참 고 문 헌

- Amirhor P., Kuter G. A., and Andrade M. D., "Biofilters and biosolids," *Water Environ. Technol.*, 3, 44~48, 1995.
- ASTM D 5504, "Standard Test Method for Determination of Sulfur Compounds in Natural Gas and Gaseous Fuels by Gas Chromatography and Chemiluminescence", *ASTM International, West Conshohocken*, PA, US, 2006.
- ASTM D 6228-98, "Standard Test Method for Determination of Sulfur Compounds in Natural Gas and Gaseous Fuels by Gas Chromatography and Flame Photometric Detection", *ASTM International, West Conshohocken*, PA, US, 2003.
- ASTM E 840-95, "Standard Practice for Using Flame Photometric Detectors in Gas Chromatography", *ASTM International, West Conshohocken*, PA, US, 2005.
- Atlas, R. M. and Bartha, R. Microbial ecology-fundamentals and application-third edition. The benjamin/cummings publishing company. 323~345, 1993
- Bauld, J. Transformation of sulfur species by phototrophic and chemotrophic microbes In : The importance of Chemical speculation, In Environmental Processes, Dahlem Konferenzen, Springer Verlag Berlin, Heidelberg 255~287, 1986.
- Bin, J., I., Lee, B., H., Kim, J., K., Kwon, S., H., Kam, S., K., and Lee, M., G., "A Study on Biofilter for Hydrogen Sulfide Removal" *J. of the Korean Environmental Sciences Society*, 10(4),287~292, 2001.
- Bloemen H.J., and Burn J., , "Chemistry and analysis of volatile organic compounds in the Environment," *Blackie Academic & Professional*. 1993.
- Bohn H. L., "Soil and compost filters of malodorant gases," *J. Air Pollut. Control Assoc.*, 25, 953~955, 1975.
- Bonnin C., Laborie A., and Paillard H., "Odor nuisances created by sludge treatment: problems and solutions," *Water Sci. Technol.*, 22, 65~74, 1990.
- Both, R., "Directive on odour in ambient air : an established system of odour

- measurement and odour Regulation in Germany", *Water Sci. Technol.*, 44, 119~126, 2001.
- Buisman C., Dijkman H., Prins W., Verbraak P., and den Hartog H., "Biological (flue) gas desulphurization," *Lucht*, 4, 135~137, 1994.
- Cambell, J.M. Gas conditioning and processing Vol. 2, Campbell Petroleum Senes, Norman, 1978.
- Cha, J.-M., Y. Park and I.-W. Lee Effects of cultivation condition on growth of the hydrogen sulfide degradation *Thiobacillus* sp., IW. isolated from waste coal mine water. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, 9, 187~293, 1994.
- Chen, Y. C. and Lo, J. G., "Gas chromatographic analysis of atmospheric sulfur compounds using sryogenic sampling and a modified thermal desorber", *Anal. Sci.*, 13, 199~204, 1997.
- Cheng W. H., Chou M. S., Lee W.S., and Huang B.J., "Applications of Low-Temperature Regenerative Thermal Oxidizers to Treat Volatile Organic Compounds," *J. Envir. Eng.*, 128, 313~319, 2002.
- Chiang Y. C., Chiang P. C., and Huang C.P., "Effects of pore structure and temperature on VOC adsorption on activated carbon," *Carbon*, 39, 523~534, 2001.
- Cho, k. S., M. Hirai and M. Shoda Removal of dimethyl disulfide by the peat seeded with night soil sludge, *J. Ferment. Bioeng.* 71, 384~389, 1994
- Cho, K. S., Hirai, M., and Shoda, M. Degradation of hydrogen sulfide by *Xanthomonas* sp. Strain DY44 isolated from peat. *Appl. Environ. Microbial.*, 58, 1183~1189, 1992
- Choi, G. H., Kim, K. H., Choi, Y. J. and Song, H. N., "Comparison of sampling materials Used in the collection of odorous sulfur compounds", *Kor. J. Odor Res. Engi.*, 4, 112~119, 2005.
- Chu H. and Horng K., "The kinetics of the catalytic incineration of CH_3SH and $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ over a $\text{Pt}/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalyst," *The Science of the Total Environment*, 209,

- 149~156, 1998.
- Chu H., Lee W. T., Horng, K. H., and Tseng, T. K., "The catalytic incineration of $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ and its mixture with CH_3SH over a $\text{Pt}/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalyst," *Journal of Hazardous Materials*, B82, 43~53, 2001.
- Chung, Y. C., Huang, C. and Tseng, C. T., "Operation optimization of *Thiobacillus thioautotrophicus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal," *J. Biotechnol.*, 52, 31~38, 1996.
- Cork, D. J. and Ma, S. *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 12, 285, 1982.
- Cork, D. J., Garunas, R. and Sajjad. A. *Chlorobium limicola* forma *hiosulfatophilum*: biocatalyst in the production of sulfur and organic carbon from a gas stream containing H_2S and CO_2 . *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 913~918, 1983.
- Cox H. H. J. and Deshusses M. A. "Biomass control in waste air biotrickling filters by protozoan predation," *Biotechnol. Bioeng.*, in press, 1999.
- Debasish Das, Vivekanand Gaur, and Nishith Verma, "Removal of volatile organic compound by activated carbon fiber," *Carbon*, 42, 2949~2962, 2004.
- Devinny, J. S., Deshusses, M. A. and Webster, T. S., *Biofiltration of Air Pollution Control*, CRC Press, 1999.
- Diks, R. M.M., and Ottengrath, S.P.P., "Verification studies of a simplified model for the removal of dichloromethane from waste gases using a biological trickling filter (part II), " *Bioprocess Engineering*, 6, 131~140, 1991.
- Dubray A., Vanderschuren J., "Mass transfer phenomena during sorption of hydrophilic volatile organic compounds into aqueous suspensions of activated carbon," *Separation and Purification Technology*, 38, 215~223, 2004.
- Everaert K. and Baeyens J., "Catalytic combustion of volatile organic compounds," *Journal of Hazardous Materials*, 109, 113~139, 2004.
- Eun, N., Lam, D. V., Galera, M. M., Nisola, G. M., Son, S., Kim, S. H., Song, J. H. and Chung, W.J., "Hydrogen Sulfide Removal in Biofilters Using Rock Wool

- and Organic Media", *J. Ind. Eng. Chem.*, 11(5), 666~670, 2005.
- Fross, D. A., "Role of lipids in flavors", *J. Agric. Food Chem.*, 17 681~685, 1969.
- Fukumori, Y. and Yamanaka, T. Flavocytochrome c of *Chromatium vinosum*, Some Enzymatic Properties and Subunit Structure. *J. Biochem.*, 85, 1405~1414, 1979.
- Furusawa N., Togashi I., Hirai M., Shoda M. and Kubota H., "Removal of hydrogen sulfide by a biofilter with fibrous peat," *Int. J. Ferment. Technol.*, 62, 589~594, 1984.
- Gardner, H. W., "Decomposition of linoleic acid hydroperoxides.-Enzymic reactions compared with nonenzymic", *J. Agric. Food. Chem.*, 23, 129~136, 1975.
- Hoffmann, H., Stindle, S., Ludwig, W., Stumpf, A., Mehlen, A., Monget, D., Pierard, D., Ziesing, S., Heesemann, J., Roggenkamp, A., and Schleifer, K., H., "*Enterobacter hormaechei* subsp. *oharae* subsp. nov., *E. hormaechei* subsp. *hormaechei* comb. nov., and *E. hormaechei* subsp. *steigerwaltii* subsp. nov., Three New Subspecies of Clinical Importance" *J. Clinical Microbiology*, 43, 3297~3303, 2005.
- Hamdi B., Houari M., Hamoudi S. A., and Kessa'issia Z., "Adsorption of some volatile organic compounds on geomaterials," *Desalination*, 166, 449~455, 2004.
- Heath, H. B. and Reineccius, G., "Off-flavors in foods, ch.4-Flavors chemistry and Technology", Macmillian Publishers LTD, Basingstoke, England, 121~235, 1986.
- Hellman, T. M. and F. H. Small, "Characterization of the odor properties of 101 petrochemicals using sensory method", *J. of APCA.*, 24, 979~982, 1974.
- Heo, G. S., You, Y. M. and Kim, Y. D., "Evaluation of Measurement Uncertainties in Analysis of Trace Sulfur Compounds", *Kor. J. Odor Res. Eng.*, 3, 31~40, 2004.
- Heo, G. S., You, Y. M., Shin, S. M. and Lee, J. H., "Development of a measurement method for organic acids in air by SPME-GC-MS", *Kor. J. odor Res. Eng.*, 3, 88~98, 2004.

- Hiroomi, S., T. Mika, Y. Ikuko, and K. Shigeki Efficient removal of sulfide following intergration of multiple copies of the sulfide quinone oxidoreductase gene(*Sqr*) into the *Escherichia coli* chromosome. *J Biosci. Bioeng.*, 91, 493~499, 2001.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P.H.A. Sneath, J. T., Staley and S. T. Williams Bergey's Mannul of determinative bacteriology. 9th ed Williams & Wilkins, 427~456, 1994.
- Harold, J. R., "Odor and VOC Control Hand Book", Mc Graw Hill, 1998.
- Hugler W, Benavente J. L. and Acosta C. M., "BIOCYDR technology demonstration project for carbon disulfide bioremediation in waste gas," In: Proceeding of Emerging Technologies in Hazardous Waste Management IX, September, 15~17, 1997, Pittsburgh, PA, 1997.
- Ishikawa, Y. and Nishida, K. (translation) "A Review of 20 years of standardization of odor concentration measurement by dynamic olfactometry in europe", *Journal of odor research and engineering*, 31, 6~13, 2000.
- Iwasaki, Y. and Ishiguro, T. "Measurement of odor by triangle odor bag method (I)", *Japan Society Atmospheric Environment*, 13, 34~39, 1978.
- Jeon, S. J. and Heo, G. S., "Measurement of Volatile Organic Sulfur Compounds in Ambient Air by Canister and Tedlar-bag Sampling Method", *Journal of Korean Society for Atmospheric Environment*, 15, 417~428, 1999.
- Jeong, G. T. et al " Removal of Hydrogen Sulfide using Reticulated Polyurethan Carrier in Biofilter" *Korean Chem. Eng. Res.*, Vol. 45, 4, 372~377, 2007.
- Jørgensen, B.B. Ecology of the sulphur cycle : Oxidative pathways in sediments, The nitrogen and sulphur cycles, SGM Symp., Vol. 42, Cambridge University press. 31~63, 1987.
- Joshi, M. M. and Hollis, J. P. *J. Appl . Bacteriol.*, 40, 223~224, 1976.
- Yoo, S., K., and Lee, E., Y., "Application of Earthworm Casting-derived Biofilter Media for Hydrogen Sulfide Removal" *J., of KSEE*, Vol. 29, 7, July, 2007.
- Kam, S. K., Kang, K. H., Lim, J. L. and Lee, M. G., "Removal Characteristics of

- H₂S in the Biofilter Packed with Activated Carbon/polyurethane Composite Media", *J. Environmetal Sciences*, 13(1), 47~53, 2004.
- Kanagawa, T. and Mikami, E. . Removal of methanethiol, demethyl sulfide, and hydrogen sulfide from contaminated air by *Thiobacillus thioparus* TK-m. *Appl. Environ. Microbial.*, 55, 555~558, 1989.
- Karahadian, C. and Lindsay, R. C., "Role of oxidation in the formation and stability of fish falvors, ch.6-In flavor chemistry", 60, 1989.
- Kelly, D. P. and Smith N. A., "Organic Sulfur Compounds in the Environment", *Advances in microbial Ecology*, 243~385, 1990.
- Kennes C. and Thalasso F., "Waste gas biotreatment technology," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 72, 303~319, 1998.
- Khan F. I. and Ghoshal A. K., "Removal of volatile organic compounds from polluted air," *J. Loss Prev. Process Ind.*, 13, 527~545, 2000.
- Kim, H. O., Nochetto, C. and McConnell, L. L., "Gas-Phase Analysis of Trimethylamine, Propionic and Butyric Acids, and Sulfur Compounds Using Solid-Phase Microextraction", *Anal. Chem.*, 74, 1054~1060, 2002.
- Kim, J. S. and Chung, H. Y., "GC-MS Analysis of Volatile Components in a Fermenting Chaw-tofu Model Broth", *Food Sic. Biotechnol.*, 11 (4), 417~420, 2002.
- Kim, K. H., Hilton Swan, Yang, G. S., Kim, J. Y., Shon, Z. H., Lee, G. W. and Kang, C. H., "Analysis of Atmospheric Sulfur Compounds in Cheju", *Jour. Korean Earth Science Society*, 23, 416~423, 2002.
- Krishnamoorthy S., Rivas J.A. and Amiridis M.D., "Catalytic oxidation of 1,2-dichlorobenzene over supported transition metal oxides," *J. Catal.*, 193, 264~272, 2000.
- Kuauf S. A., "Biofilter Application with high concentration of hydrogen sulfide in a waste water treatment plant and an oil mill," Proc. 88th Annual Meeting & Exhibition of the Air & Waste Management Assoc., Air & Waste Manage. Assoc., Pittsburgh, Penna, paper 95-MP9A. 03, 1995.
- Kusai, K., and Yamanaka, T. The Oxidation Mechanisms of Thiosulphate and

- Sulphide in *Chlorobium thiosulphatophilum*. *Biochim. Biophys. Acta*. 325: 304~314, 1973.
- Leonardos, G., D., Kendall and N. Barnard "Odor threshold determination of 53 odorant chemicals", *J APCA.*, 19, 91~95, 1969.
- Leson G. and Winer A.M., "Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emissions," *J. Air Waste Manage. Assoc.*, 41(8), 1045~1054, 1991.
- Lillo-Ródenas M.A., Cazorla-Amorós D. and Linares-Solano A., "Behaviour of activated carbons with different pore size distributions and surface oxygen groups for benzene and toluene adsorption at low concentrations," *Carbon*, 43, 1758~1767, 2005.
- Loy J., Heinrich K. and Egerer B., "Influence of filter material on the elimination rate in a biotrickling filter, Paper 97-RA71C. 01. In: Proceedings of the 1997 Annual Meeting and Exhibition of the Air and Waste Management Association, June 9~13, Nashville, TN, 1997.
- Mahin, T.D., "Comparison of different approaches used to regulate odours around the world", *Water Sci. Technol.*, 44, 87~102, 2001.
- Mao, I. F., Tsai, C. J., Shen, S. H., Lin, T. F., Chen, W. K. and Chen, M. L., "Critical components of odors in evaluating the performance of food waste composting plants", *Science of the Total Environment*, 2006.
- Martin G., Lemasle M., and Taha S., "The control of gaseous nitrogen pollutant removal in a fixed peat bed reactor," *J. Biotechnol.*, 46, 15~21, 1995.
- Mpanias C. J. and Baltzis B.C., "An experimental and modeling study on the removal of mono-chlorobenzene vapor in biotrickling filters," *Biotechnol Bioeng.*, 59, 328~43, 1998.
- Nagata, Y. and Takeuchi, N., "A report on sensory measurement of odor in exercise at National Environmental Training Institute", *Bulletin of Japan Environmental Sanitation Center*, 23, 67~79, 1996.
- Nagata, Y. and Takeuchi, N., "Measurement of odor threshold by triangle odor bag

- method", *Bulletin of Japan Environmental Sanitation Center*, 17, 77~89, 1990.
- Nelson, D.C. Physiology and Biochemistry of Filamentous Sulfur Bacteria. In *Autotrophic Bacteria* Schegel, H.G., Bowien, B., Eds.; Springer-Verlag: Berlin. 219~238, 1990.
- Nishihara. Environmental Sanitation Research Corp. October Japanese patent 57, 170~181, 1982.
- Oliveira T.A.C., Scarpello J.T., and Livingston A.G., "Pervaporation-biological oxidation hybrid process for removal of volatile organic compounds from wastewaters," *Journal of Membrane Science*, 195, 75~88, 2002.
- Ottengraf S. P. P. and van den Oever A.H.C., "Kinetics of organic compound removal from waste gases with a biological filter, *Biotechnol Bioeng.*, 25, 3089~3102, 1983.
- Ottengraf S. P. P., Exhaust gas purification, In: Rehm H. J., Reed G., editors, *Biotechnology*, Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 425~452, 1986.
- Padilla A.M., Corella J., and Toledo, J.M., "Total oxidation of some chlorinated hydrocarbons with commercial chromia based catalysts," *Applied Catalysis B: Environmental*, 22, 107~121, 1999.
- Peterson, B. V., Hummerisk, M., Roberts, M. S., Krumins, V., Kish, A. L., Garland, J. L., Maxwell, S. and Milles, A., "Characterization of microbial and chemical composition of shuttle wet waste with permanent gas and volatile organic compound analyses", *Advances in Space Research.*, 34, 1470~1476, 2004.
- Pfennig, N., and Truper, H.G. "Anoxygenic phototrophic bacteria", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3, Williams and Wilkins baltimore, 635~1709, 1992.
- Pomeroy R. D., "Controlling sewage plant odors," *Consulting Engineer*, 20, 101~104, 1963.
- Pomeroy R.D., "Biological treatment of odorous air", *J. Water Pollut.*, 54, 154, 1982.

- Ramel and Nomine, "Physicochemical characterisation of odours", *Analysis* 28 (3), 171~179, 2000.
- Rands M.B., Cooper D.E., Woo C., Fletcher G.C., and Rolfe K.A., "Compost filters for hydrogen sulfide removal from anaerobic digestion and rendering exhausts," *J. Water Pollut. Control Feder.*, 53, 185~189, 1981.
- Rappert, S. and Müller, R., "Odor compounds in waste gas emissions from agricultural operations and food industries", *Waste Management*, 25, 887~907, 2005.
- Ruddy E.N., and Carrol L.A., "Select the best VOC control strategy," *Chem. Eng. Prog.*, 28~35, 1993.
- Seo, G. S., Jung, K. H. and Jeon, J. M. "Characteristics of Sulfur Compounds in Yeosu Industrial Complex", *Kor. J. Odor Res. Eng.*, 2, 109~116, 2003.
- Shareefdeen Z., Baltzis B.C., and Oh Y.S., "Biofiltration of methanol vapor," *Biotechnol Bioeng.*, 41, 512~524, 1993.
- Shukla, N. P., "Air pollution by odour-sources, identification and control", *Rev. Environ. Health*, 9, 239~244, 1991.
- Smet E. and van Langenhove H., "Abatement of volatile organic sulfur compounds in odorous emissions from the bioindustry," *Biodegradation*, 9, 273~284, 1998.
- Smet E., Lens P., and Langenhove H., "Treatment of waste gases contaminated with odorous sulfur compounds," *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.*, 28, 89~117, 1998.
- Sublette, K. L. and Sylvester, N. D. Oxidation of hydrogen sulfide by continuous cultures of *Thiobacillus denitrificans*. *Biotechnol. eng.*, 29, 753~758, 1987.
- Song, J., and Kinney, K. A., "Effect of vapor-phase bioreactor operation on biomass accumulation, distribution, and activity: linking biofilm properties to bioreactor performance," *Biotechnology and Bioengineering*, 68(5), 508~516, 2000.
- Swanson, W. J. and Loehr, R. C., "Biofiltration: fundamentals, design and operations, principles, and applications," *J. Enviro. Eng.*, 123, 538~546, 1997.
- Tabita, R. and D. G. Lundgren *J. Bacteriology* 108, 328~332, 1971.

- Then, J., and Truper, H.G. Sulfide Oxidation in *Ectothiorhodospira abdelmalekii* Evidence for the Catalytic Role of Cytochrome c-551. *Arch. Microbiol.*, 135, 254~258, 1983.
- Togashi I., Suzuki M., Skodu M., and Kuboku H., "Removal of ammonia by a peat biofilter without and with nitrifier," *J. Ferment. Technol.*, 64, 425~432, 1986.
- Van Groenestijn J.W., and Hesselink P.G.M., "Biotechniques for air pollution control," *Biodegradation*, 4, 283~301, 1995.
- Wainwright, M. Sulfur oxidation in soils *Adv in Agron.* 37: 350~396, 1984.
- Weast, R., "Handbook of chemistry and physic", CRC Press, Boca Raton, FL, 1976.
- Webster T.S., Deshusses M.A., 1997, "Optimization of a full-scale biotrickling filter reactor in the treatment of industrial styrene off-gas emission, Presented at the 1997 Annual Meeting of the American Institute of Chemical Engineers, November, 18, Los Angeles, CA, 1997
- Yang Y., and Allen E.R. Biofiltration control of hydrogen sulfide. I. Design and operational parameters. *J. Air & Waste Manage Assoc.*, 44, 863~868, 1994.
- Yang, S. B. and Kim, S. M., "A Comparative Study for Odor Control Regulations", *J. KOSAE*, 16, 79~87, 2000.
- Yang, S. B., "The Offensive Odor Regulation in Korea", *Kor. J. Odor Res. Eng.*, 1, 6~15, 2002.
- Yang, Y., and Allen, E. R., "Biofiltration control of hydrogen sulfide. 1. Design and operation parameter," *J. Air & Waste Manage., Assoc.*, 44, 863~868, 1994.
- Yu, B. T., Choi, J. W., Cho, G. C., Lee, C. E. and Park, H. K., "Application of Instrument Method for Determining Level of Malodorous Sulfur Compounds", *Report of SIHE.*, 35, 187~192, 1999.
- Zhang, L., Research on practical application of peat biofilter in fields and microbial analysis inhabiting peat. Ph. D. Thesis, *Tokyo Institute of Technology*, Tokyo, 1991.

Zilli M, Converti A., Biofilters, In: Flickinger M.C., Drew S.W., editors, The Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation, New York: wiley, 305~319, 1999.

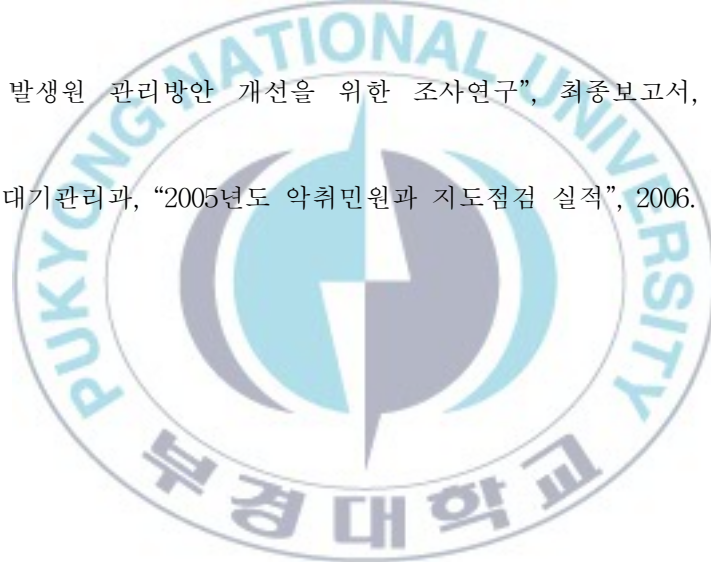
Zilli M., Converti A., Lodi A, Del Borghi M, Ferraiolo G., "Phenol removal from waste gases with a biological filter by *Pseudomonas Putida*, *Biotechnol Bioeng.*, 41, 693~699, 1993.

Zuber L., Dunn I. J. and Deshusses M. A. "Comparative scale-up and cost estimation of a biological trickling filter and a three-phase airlift bioreactor for the removal of methylene chloride from polluted air," *J. Air Waste Manage Assoc.*, 47, 969~975, 1997.

박철우, 변정훈, 윤기영, 박재홍, 이종오, 정준오, "음식물 쓰레기 퇴비화 공정에서의 악취 및 바이오에어로졸 발생 특성", 한국냄새환경학회 추계학술대회, 120~123, 2005.

환경부, "악취물질 발생원 관리방안 개선을 위한 조사연구", 최종보고서, 97~402, 2001.

환경부 대기보전국 대기관리과, "2005년도 악취민원과 지도점검 실적", 2006.



감사의 글

이제 기나긴 학교 생활을 접으며 진정한 사회인으로 다시 태어나려 합니다. 그 동안 작은 결실을 맺을 수 있도록 지도와 격려를 아끼지 않은 주위의 많은 분들께 진심으로 감사드립니다.

먼저 변함없는 따스함과 인자함으로 어른이 된다는 것이 무엇인지를 행동으로 보여주신 이원재 교수님께 감사드립니다. 그리고 세심하게 논문 수정을 해주신 이명숙 교수님께도 감사드리고 이 논문의 아이디어를 제공해주신 이재화 교수님께도 감사드립니다. 그리고 바쁘신 중에도 심사를 도와주신 최태진 교수님과 논문심사를 맡아주시고 따스한 격려를 해주신 김군도 교수님께도 감사드립니다. 묵묵히 제자의 성장과정을 지원해주신 김진상 교수님, 이훈구 교수님, 송영환 교수님, 김영태 교수님께도 감사드립니다.

학위과정중에 자주 회사를 비움에도 잔소리 한번 없이 오히려 격려해주신 조억제 소장님과 이흥희 실장님께도 감사의 말씀드립니다. 힘든 고비고비마다 많은 분들의 격려와 관심이 아니었다면 오늘의 작은 결실을 이루지는 못했을지도 모릅니다. 늘 격려와 희망을 주신 김인혜 박사님, 응용실험을 도와주신 서용수 박사님, 전자현미경 사진을 찍어주신 강순배 박사님, 많은 조언을 해주신 박성민 박사님께도 감사드립니다.

함께가 아니었다면 힘들었을 학교생활을 가능하게 해준 사랑하는 후배 대성, 윤숙에게도 감사를 전합니다. 회사를 비울때마다 나의 빈자리를 늘 든든하게 지켜준 후배 경석에게도 감사를 전합니다. 무엇보다 오늘의 저를 만들어주신 부모님께 사랑한다는 말을 전하며 이 논문을 바칩니다.