

*Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*의 황 산화 특성 및 황화 수소 제거

정성제·이은관·전역한·¹윤인길·¹박창호·*박승국
경희대학교 생명과학부 식품공학과, 생명자원과학연구원, ¹경희대학교 환경응용화학부, 산학협력기술연구원
(접수 : 2001. 8. 25., 게재승인 : 2001. 10. 25.)

Characteristics of Sulfur oxidation and the Removal of Hydrogen sulfide by *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*

Sung-Je Jung, Eun-Kwan Lee, Uck-Han Chun, In-Kil Yoon¹, Chang-Ho Park¹, and Seung-Kook Park*
Department of Food Sciences and Technology, Institute of Life and Natural Resource Sciences
¹Industrial Liaison Research Institute, Department of Chemical Engineering, Kyung Hee University,
Yongin- Si, Kyungki-Do 449-701, Rep. of Korea
(Received : 2001. 8. 25., Accepted : 2001. 10. 25.)

A bacterium was isolated from soils in Suwon, Korea for the purpose of H₂S removal using a biofilter system. The isolate was gram-negative, rod-shaped, catalase-positive, motile, and the isolated bacterium showed a positive in utilizing energy sources including citrate, mannitol, sucrose, fructose, and trehalose. Based on its biochemical characteristics it was identified as *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*. The growth rate of the bacterium in thiosulfate medium with yeast extract was 0.15 hr⁻¹ and generation time was 4.6 hr. The cell productivity was 8.05 mg/L · h and the isolate grew logarithmically up to 21 hr. The maximum rate of sulfur oxidation was 0.18 g-S/L · h. The optimum pH and temperature for the growth of the bacterium were 7.0 and 30°C, respectively. The pH range for the growth of *B. cepacia* was 5.0-8.0. The oxidation rate of thiosulfate was lowered by a substrate thiosulfate when the concentration was higher than 0.12 M. Both growth rate and sulfur oxidation rate of *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia* was enhanced about 1.5 times with the addition of 0.2% yeast extract. The removal of hydrogen sulfide was investigated by immobilized *B. cepacia* with Ca-alginate. The maximum rate removal for H₂S was 6.25 g · cm⁻³ · h⁻¹ when 12 L/h of flow rate was supplied. From this study suggest the immobilized *B. cepacia* could have a potential for H₂S removal.

Key Words : heterotrophic bacterium, *Burkholderia cepacia*, sulfur oxidation rate, biolig test

서론

황화 수소(H₂S)는 매우 유독하며 낮은 농도에서도 중추 신경계에 위해한 가스로서 자연계에서 다양하게 발생되며 특히, 석유 정제 공정, 폐수 처리장, 식품 가공 공장, 제지 공장 등의 공정에서 많이 발생된다.

현재까지 활성탄, 흡착, 오존 산화, 소각 등의 물리적, 화학적 공정 방법을 폐기 가스나 폐수로부터 발생하는 황화 수소 정제에 주로 사용하여 왔다(1-3). 그러나 생물학적 약취 제거 공정은 물리·화학적 처리 기술보다 경제성이 높은 기술로 알려져 있으며 에너지의 소모가 적고 이차적인 처리나 폐기

와 같은 부수적인 문제점을 발생하지 않는 장점과 공정이 복잡하지 않으며 물리·화학적 산화가 아닌 미생물의 산화 반응을 이용하기 때문에 관심이 증가되고 있다(4).

최근에 고정화된 세포 기술은 고농도 미생물과 미생물적 손실 방지, 공정 상의 안정성 그리고 극한 환경 내성 등을 포함한 여러 가지 장점 때문에 폐수 처리 시설 등에 이용되어 지고 있다. 이러한 폐가스 처리 연구는 Chung(5,6) 등에 의하여 높은 제거 효율과 제거 잠재성 그리고 높은 안정성 등의 이유로 고정화 된 세포의 가치가 입증되고 있으며 대표적인 유황계 약취 물질인 황화 수소 제거를 위하여 고정화 된 미생물을 이용한 몇 편의 연구 보고가 발표되고 있다.

Cha(7) 등은 폐수에서 발생하는 유황계 약취물질 제거를 위해 *Thiobacillus novellus* SRM을 poly-4-vinylpyridine(PVP) 담체에 고정화하여 탈취 효율을 평가하였고, Chung(8) 등은 황화 수소와 암모니아의 혼합취를 Ca-alginate에 고정화하여 제거 효율을 높이는 보고가 많이 진행되고 있다. 폐가스 처리를 위해서는 먼저 미생물 선택이 무엇보다도 중요하다. 황

*Corresponding Author : Department of Food science and Technology, Kyung Hee University, Yongin-Si 449-701, South of Korea
Tel : +82-31-201-2655, Fax : +82-31-204-8116
E-mail : skpark@khu.ac.kr

화수소 제거를 위한 생물학적 반응기에 적용되는 미생물에는 그들의 영양 요구성과 특히 반응을 촉매하는 능력의 고유 차이에 따라 독립 영양미생물과 종속 영양미생물이 이용되어 지고 있다(9-12). 이러한 생물 반응기에 주로 이용되는 독립 영양 미생물은 *Thiobacillus thio-parus*, *Thiobacillus concretivorus*, *Thiobacillus denitrificans* 등과 같은 무색 황 세균이 있고 종속 영양 미생물로는 *Xanthomonas sp.*, *Hyphomicrobium sp.* 그리고 *Pseudomonas putida*가 있다. 그러나 이 두 미생물군은 황화 수소를 이용하는 작용이 서로 다르고 관련된 정보가 적은 편이다. 본 실험에서는 황화 수소를 효율적으로 처리하기 위하여 토양에서 분리한 종속 영양 미생물인 *Burkholderia cepacia*를 이용하여 균주의 최적 성장 조건과 황 산화적 특성과 분리 균주를 고정화한 column형 반응기를 통해 연속적인 황화 수소 제거 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

균주의 분리동정 및 배양 조건

본 실험에 사용된 균주는 2000년 9월 수원 근교의 악취가 많이 나는 하천 토양 시료에서 분리하여 사용하였다. 분리 균주의 특성을 조사하기 위한 기본 배지는 thiosulfate 배지로 (9) 그 조성은 증류수 1 L에 2.0 g KH_2PO_4 , 2.0 g K_2HPO_4 , 0.4 g NH_4Cl , 0.2 g $MgCl_2$, 0.01 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 8.0 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, 2 g yeast extract를 포함하며 2N NaOH로 pH 7.0을 조정하였고, 침전을 방지하기 위하여 glucose, $Na_2S_2O_3$, yeast extract는 따로 분리하여 멸균 후 기본 배지에 첨가하였다. 배양은 150 mL 액체 배지를 함유한 250 mL 삼각 플라스크를 이용하여 30°C, 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 분리된 균주의 동정은 Biolog Test(Biolog Inc., Hayward, CA, U.S.A.)를 통하여 수행하였다. 즉 균주의 세포액을 30°C에서 24시간 배양하여 Microplate™을 590 nm 파장에서 읽고 그 결과를 Microplate™ software를 사용하여 분석하였다.

초기 pH 및 온도가 분리 균주 성장에 미치는 영향

배양액의 초기 pH가 분리 균주의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 멸균된 2N NaOH와 2N HCl을 이용하여 thiosulfate 배지에서 초기 pH를 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 조절 한 후 실험하였고 온도도 미치는 영향에 대한 실험은 배양 온도를 10°C, 20°C, 30°C, 그리고 35°C로 조절하여 수행하였다.

분리된 균주의 성장과 황 산화능에 미치는 유기물 첨가의 영향

분리된 균주의 증식과 황 산화 속도에 미치는 유기물의 영향을 조사하기 위하여 glucose와 yeast extract를 각각 thiosulfate 배지에 0.2% 첨가하여 실험하였다. 첨가되는 glucose와 yeast extract는 0.45- μ m membrane filter(Millipore Bedford, MA, U.S.A.)를 사용하여 멸균하였으며 이를 미리 가압 증기 멸균 후 상온까지 방냉한 무기염 배지와 혼합하여 사용하였다.

기질 농도 변화에 따른 분리 균주의 황 산화능에 미치는 영향

무기염 배지에 여과 멸균된 thiosulfate의 농도를 0.016,

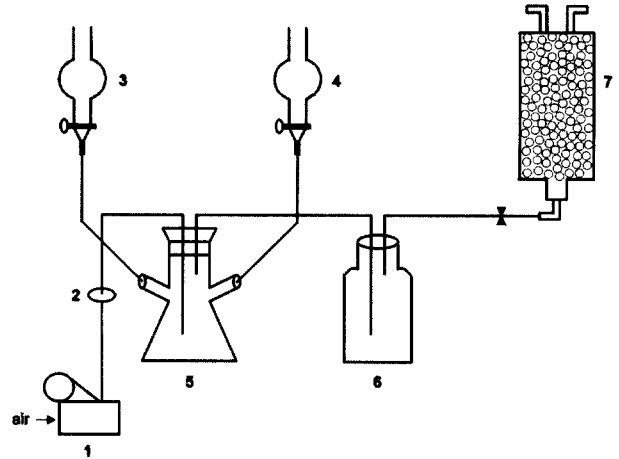


Figure 1. Laboratory-scale experimental biofilter system (1 : air compressor, 2 : air filter, 3 : Na_2S solution, 4 : HCl solution, 5 : H_2S generator, 6 : gas chamber, 7 : column).

0.032, 0.064, 0.08, 0.12, 0.16 M로 첨가하고 배지의 pH를 7.0으로 조정하여 각 농도별 성장 곡선 및 pH 변화 그리고 황산화 속도를 실험하였다.

분석 방법

분리 균주의 배양 과정에서 세포 농도, 황산염 농도 및 배지의 pH 등을 측정하기 위하여 매회 배양액을 5 mL 채취하여 사용하였다. 그리고 배양액 중 thiosulfate의 산화 산물인 황산염의 농도를 측정하기 위하여 배양액 1.0 mL를 취하여 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리 후 상등액을 분석에 사용하였다. 황산염은 Ion-Pak As 12 anion 칼럼을 이용하여 이온 크로마토그래피(DX-500 system, Dionex U.S.A.)로 분석하였다. 이동상으로는 0.3 mM $NaHCO_3$ / 2.7 mM Na_2CO_3 용액을 사용하여 유속 1.5 mL/min, 시료 주입량은 10 μ L로 하였다.

고정화 장치

고정화 미생물을 이용한 고정화 반응기는 Figure 1에 나타내었다. 반응기는 지름이 34 mm이고 높이가 30 cm인 원통으로 재질은 아크릴이다. 황화 수소 가스의 공급은 발생장치의 상단으로부터 공기를 주입하여 포집관을 거쳐 유속 12, 15, 27 L/h로 주입하였다. 황화 수소 발생 장치는 발생관에 주입하는 HCl과 Na_2S 용액의 농도를 조절하여 필요한 황화 수소 농도를 발생시켜 공기 압축 장치에서 발생된 공기를 주입하면 황화 수소가 발생된다. 본 실험에 사용한 HCl 과 Na_2S 용액의 농도는 각각 20-100 mM HCl과 10-50mM Na_2S 로 설정하였다(13).

충진 부피와 bead의 무게 그리고 초기 세포 수는 각각 0.27 L, 143 g 그리고 10^4 CFU/g-bead이며 24시간 간격으로 무기염 배지를 100ml 공급하였다.

고정화 세포

*B.cepacia*를 150 mL 액체 배지에서 24시간 배양 후 7,500 g, 15 min 원심 분리하여 멸균수로 2회 세척 한 다음 고정화 균체로 사용하였다. 고정화 비드를 제조하기 위하여 멸균된 4% Na-alginate 300 mL와 동량의 4% $CaCl_2$ 를 사용하여 고

정화 재료로 사용하였다. 즉, 원심 분리한 균체를 Na-alginate에 혼합하여 주사바늘을 통하여 멸균된 CaCl₂ 용액 내에 30 cm 높이에서 적하 시켜 지름 3.5 mm의 구형으로 제작하였다.

황화 수소 농도 측정

반응에 사용된 황화 수소 농도를 측정하기 위하여 생물 반응기 입·출구에 가스 측정 부위를 설치하였다. 측정은 Gastec 사(Japan)의 검지관을 이용하여 검지관법으로 측정하였다. 황화 수소 검지관의 측정 범위는 2.5-60 ppm과 10-120 ppm 농도 범위에서 측정하였다.

황화 수소 제거 반응 속도론

반응기에 의한 황화 수소 제거 속도는 반응을 연속 흐름이라 가정하고 반응기에 유입되는 가스의 유속을 Michaelis-Menten식을 적용하면 다음과 같은 방정식으로 유도 할 수 있다(14).

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{V_m \cdot C}{K_s + C} \cdot \frac{S_a}{F} \cdot \alpha \tag{1}$$

$$= \frac{V_m \cdot C}{K_s + C} \cdot \frac{1}{L \cdot SV} \cdot \alpha \tag{2}$$

C : 악취 가스의 농도(ppm), V_m : 최대 제거 속도(g-S · g-bead · h⁻¹), K_s : 포화 상수(ppm), S_a : 반응기의 단면적(m²), F : 가스의 유속(l/h⁻¹), L : 담체의 총전 높이(m), SV는 공간 속도(h⁻¹), α : 환산 계수(g-bead · g-S⁻¹)이다. α는 다음(3)의 식을 이용하여 농도의 단위를 ppm으로 전환하는데 이용하였다.

$$\alpha = \frac{\left[22.4 \cdot \frac{273 + T}{273} \cdot 10^6 \right]}{MW \cdot 1000} \cdot \frac{W}{V} \tag{3}$$

여기에서 T(°C)는 온도, V(m³)는 담체의 총전 부피, W(Kg)는 총전 담체의 질량, MW는 악취 물질의 분자량이다. L=0일 때 C=C₀이고, L=L일 때 C=C_e인 경계 조건으로부터 식(2)을 적분하여 식(4)을 얻을 수 있다.

$$\frac{\alpha}{(C_o - C_e) \cdot SV} = \frac{K_s}{V_m} \cdot \frac{1}{\ln \frac{C_o}{C_e}} + \frac{1}{V_m} \tag{4}$$

여기에서 C₀(ppm)와 C_e(ppm)는 각각 biofilter의 입구와 출구에서의 악취 가스의 농도이다.

식 (4)을 간결하게 정리하여 최종적으로 식 (5)을 얻을 수 있다(15).

$$\frac{C \ln R}{R} = \frac{C \ln}{V_m} + \frac{K_s}{V_m} \tag{5}$$

여기에서 $R = \frac{SV(C_o - C_e)}{\alpha}$ 이고, $C \ln = \frac{(C_o - C_e)}{\ln \frac{C_o}{C_e}}$ 이다.

식(5)을 $\frac{C \ln}{R}$ 과 Cln의 Hanes-Wolf plot으로부터 V_m과 K_s를 각각 구하였다.

결과 및 고찰

균주의 동정 및 생리·생화학적 특성

회발성 황 화합물을 분해 할 수 있는 미생물을 수원 근교의 악취가 심하게 발생하는 하천 토양에서 분리하였다. 분리 균주는 그람 음성균으로서 운동성을 갖는 간균이며, thiosulfate 고체 배지 상에서는 우유빛 색의 투명한 colony를 형성하였고 24시간이 경과 한 후 colony의 지름은 0.5-1 mm로서 작았으며 catalase 양성 반응을 보였고, citrate, mannitol, sucrose, fructose, trehalose 등을 이용하였다. Biolog test를 통한 생화학적 특성(Table 1)에 따른 분리 균주는 85.5%의 유사성을 보인 *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*로 동정이 되었다. 그리고 형태적 특성은 주사 전자 현미경을 이용하여 관찰하였다(Figure 2).

균주의 성장 특성

미생물은 생육에 필요한 적정 pH를 가지고 있기 때문에 생물학적 탈취 장치에서도 pH의 조절은 매우 중요한 인자이다. 따라서 pH가 세포 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 액상 배지의 배양 온도를 30°C로 유지하며 초기 pH를 2.0에서 9.0의 범위로 설정한 thiosulfate 배지에서 분리균의 성장 정도를 조사하여 각 pH에서의 비증식 속도를 Figure 3(a)에 나타내었다. 분리 균주의 세포 성장은 pH 4.0에서 8.0 사이에서 성장이 가능하였고 최적 pH는 7.0이었다. 강산성인 pH 2.0과 3.0 그리고 강염기성인 9.0 이상에서는 세포 성장이 거의 이루어지지 않았다. Chung(16) 등에 의한 *Pseudomonas putida* CH11을 이용한 Biofilter 실험에서도 pH 4-9 사이에서 80% 이상의 황화 수소 제거율을 보였고 최적 pH는 7.0으로 본 실험과 유사한 양상을 보였다. 온도에 따른 세포 성장은 Figure 3(b)에 나타내었다. 10°C에서 배양한 균은 약 72시간의 정체기(lag phase)를 가진 뒤 성장하였다. 균주의 최적 증식 온도는 30°C이고 20-35°C에서도 균의 증식이 우수한 균으로 나타났다. 이는 Cho(17) 등에 의한 *Xanthomonas* sp.에 비하여 성장 속도가 빠르며 넓은 범위의 pH에 적응력이 뛰어나며 일반적인 *Thiobacillus* sp.(18)보다는 성장이 월등히 빠르다. 황 함유 악취 가스를 경제적이고 효과적으로 처리하기 위해서는 상온과 중성 pH에서 최적 성장을 보이며, 빠른 성장 속도를 가진 균의 선택이 무엇보다 중요하다. 따라서 본 실험에 사용된 균주는 황 화합물 등의 악취 제거 응용에 있어 pH와 온도에 안정된 균주로 사료되어진다.

첨가되는 유기물이 성장과 황 산화능에 미치는 영향

미생물을 이용한 산업적 응용 측면에서 황화 수소를 산화하기 위해서는 짧은 성장 시간에 다량의 미생물 균체를 회수하는 것이 중요한 과제이다. 분리 균주를 무기염 배지에 성장 요소로 yeast extract와 glucose를 첨가하여 세포 성장을 조사하였다. Thiosulfate와 yeast extract가 포함된 액상 배지에서 자란 세포는 먼저 yeast extract를 이용하여 자란 후 thiosulfate를 에너지원으로 사용하면서 세포 성장을 수행한다.

Table 1. Biochemical characteristics of *Burkholderia cepacia* examined by the Biolog assay.

Characteristics	Reaction	Characteristics	Reaction	Characteristics	Reaction
α -Cyclo-dextrin	V	Acetic acid	+	L-leucine	+
Dextrin	+	Cis-aconitic acid	+	L-ornithine	+
Glycogen	+	Citric acid	+	L-phenylalanine	+
Tween 40	+	Formic acid	+	L-proline	+
Tween 80	+	D-Galactonic acid	+	L-pyroglutamic acid	-
N-Acetyl-D-galactosamine	+	D-Galacturonic acid	+	D-serine	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	D-Gluconic acid	+	L-serine	+
Adonitol	+	D-Glucosaminic acid	+	L-threonine	+
L-Arabinose	-	D-Glucuronic acid	+	D,L-carnitine	+
D-Arabitol	-	α -Hydroxybutyric acid	+	γ -amino butyric acid	+
Cellobiose	+	β -Hydroxybutyric acid	+	Urocanic acid	+
i-erythritol	+	γ -Hydroxybutyric acid	+	Inosine	+
D-Fructose	+	p-Hydroxyphenylacetic acid	+	Uridine	+
L-fucose	+	Itaconic acid	-	Thymidine	+
D-Galactose	+	α -Ketobutyric acid	+	Phenyl ethylamine	+
Gentiobiose	+	α -Ketoglutaric acid	-	Putrescine	-
α -D-glucose	+	α -Ketovaleric acid	+	2-amino ethanol	+
m-inositol	+	D,L-lactic acid	+	2,3-butanediol	+
α -D- Lactose	-	Malonic acid	+	Glycerol	+
Lactulose	-	Propionic acid	+	D,L- α -glycerol phosphate	+
Maltose	+	Quinic acid	+	Glucose-1-phosphate	+
D-Mannitol	+	D-saccharic acid	+	Glucose-6-phosphate	+
D-Mannose	+	Sebacic acid	V		
D-Melibiose	-	succinic acid	+		
β -Methyl-D-glucoside	V	Bromo succinic acid	+		
D- Psicose	+	Succinamic acid	+		
D-Raffinose	-	Glucuronamide	+		
L-Rhamnose	-	Alaninamide	+		
D-sorbitol	+	D-alanine	+		
Sucrose	+	L-alanine	+		
D-trehalose	+	L-alanyl-glycine	+		
Turanose	-	L-asparagine	+		
Xylitol	-	L-aspartic acid	+		
Methyl pyruvate	+	L-glutamic acid	+		
Mono-methyl-succinate	+	Glycyl-L-aspartic acid	-		
		Glycyl-L-glutamic acid	+		
		L-histidine	-		
		Hydroxy L-proline	+		



Figure 2. A SEM photograph of *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*.

즉, thiosulfate만 포함된 배지보다는 두 기질이 포함된 배지에서 thiosulfate 산화 능력이 더 크게 나타났다. Thiosulfate 배지에 glucose를 첨가하였을 때는 thiosulfate 배지에서만 증식했을 때보다는(data not shown) 성장 속도와 황 산화 속도가 빠르게 나타났지만 yeast extract를 첨가했을 때보다는 황 산화 속도가 50% 정도로 떨어졌다. Cho(17)에 의하면 배지에 유기물인 glucose와 acetate, maltose 등과 같은 탄소원을 첨가하여 batch system에서 황화 수소를 공급하여 제거율을 살펴본 결과 황화 수소 제거율에는 크게 영향을 미치지 않았고 glucose가 존재하였을 시 황화수소 제거율은 미세하게 증가하였다. 그러나 기본적 배지에 yeast extract를 첨가하였을 때는 균수는 증가하였고 황화 수소 제거는 오랫동안 지속되고 더 효과적으로 제거가 되었다. 본 실험에서도 유기물로서 glucose보다 yeast extract를 첨가하였을 때 증식 속도(Figure 4-a)와

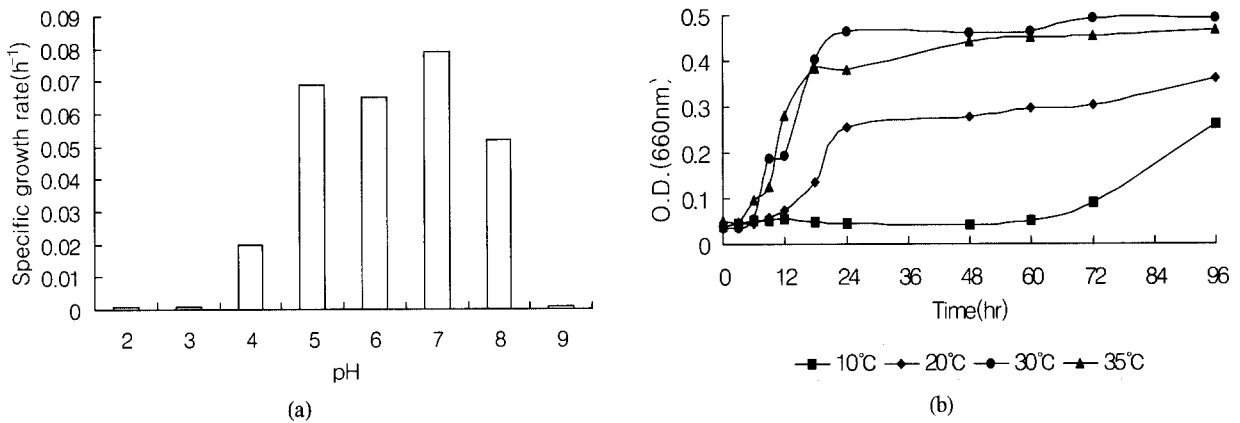


Figure 3. Growth pattern of *B. cepacia* on thiosulfate medium. (a : at different initial pH b : at various temperatures).

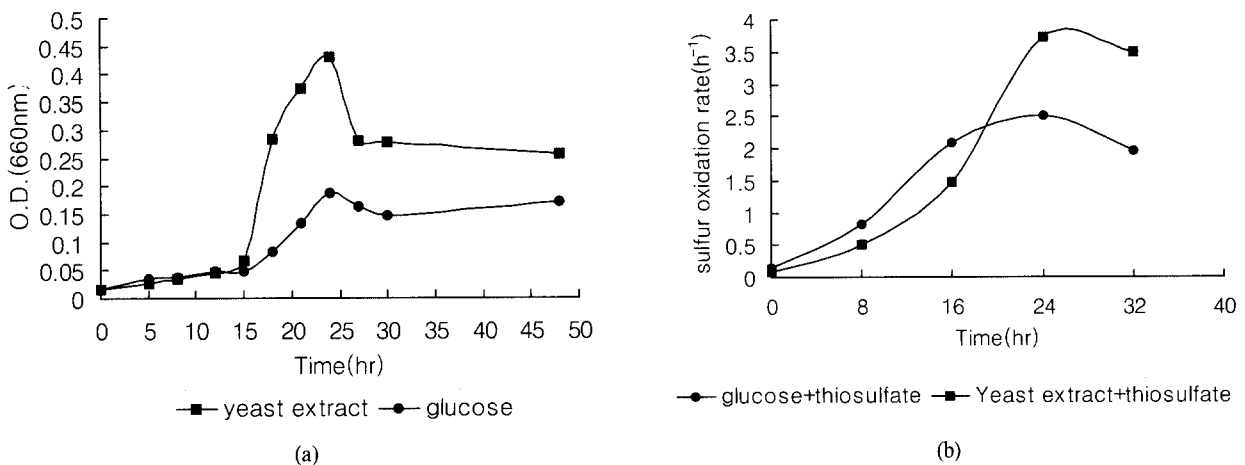


Figure 4. Growth pattern and sulfate concentration by *B. cepacia* in thiosulfate medium supplemented with glucose and yeast extract.

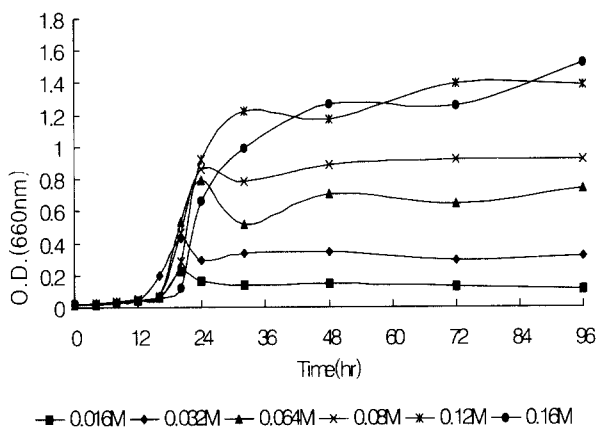


Figure 5. Growth pattern of *B. cepacia* at various thiosulfate concentrations

황 산화 속도(Figure 4-b)가 높게 나타나 종속 영양 미생물인 *Xanthomonas* sp. Strain DY 44와 유사한 양상을 보였다.

기질 농도에 따른 분리 균주의 성장 및 황 산화능

Thiosulfate를 기질로 하여 기질 농도를 0.016, 0.032, 0.064, 0.08, 0.12, 0.16 M으로 달리하여 균의 성장 곡선 Figure 5에

나타내었다. 첨가되는 기질의 농도가 증가할수록 생성되는 황산염의 양이 증가하였고 기질 농도가 0.12 M인 경우 20시간 배양 후에 황산염을 약 3.0 g/L까지 생산하였다. 황 산화 속도는 기질 농도가 증가함에 따라 완만하게 증가하여 0.12 M에서 0.2 g-S/L · h⁻¹에 도달하였고 0.16 M에서는 급격하게 감소되었다. 즉, 0.12 M 이상의 고농도에서는 미생물에 독성을 미쳐 증식과 황 산화 속도에 기질이 억제 인자로서 작용한 것으로 사료된다. Thiosulfate가 증식을 제한하는 기질로 작용한다고 가정하고 분리 균주의 비 증식 속도와 최대 황 산화 속도를 Lineweaver-Burk plot한 결과를 Figure 6에 나타내었다. 최대 비증식 속도는 0.56 h⁻¹이고 최대 황 산화 속도는 0.18 g-S/L · h으로 나타났다.

Ca-alginate 고정화에 의한 황화 수소 제거

Bead에 미생물을 첨가 하지 않고 bead 자체만으로 황화 수소 제거율을 살펴 본 결과 Figure 7에 나타내었다. 황화 수소 유속을 15 L/h로 황화 수소를 주입했을 때 유입 초기에는 65% 정도의 제거율을 보였지만 16시간 이후에는 황화 수소 제거율이 0%로 나타났다. 이것은 초기 제거 양상은 alginate의 흡착에 의한 제거 반응으로 사료된다. Flow rate의 함수로서 시간에 따른 황화 수소 제거율은 Figure 8에 나타내었다. 입구 황화 수소 농도를 2-70 ppm 그리고 flow rate 제거 효

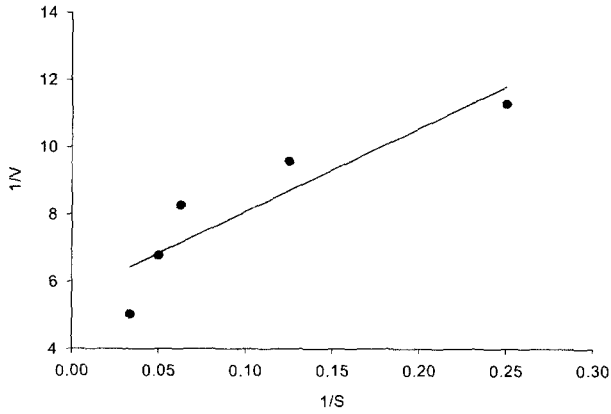


Figure 6. Lineweaver-Burk plot of sulfate oxidation rate on thiosulfate concentration ($Y=24.78X + 5.6010$ $R^2=0.9057$)

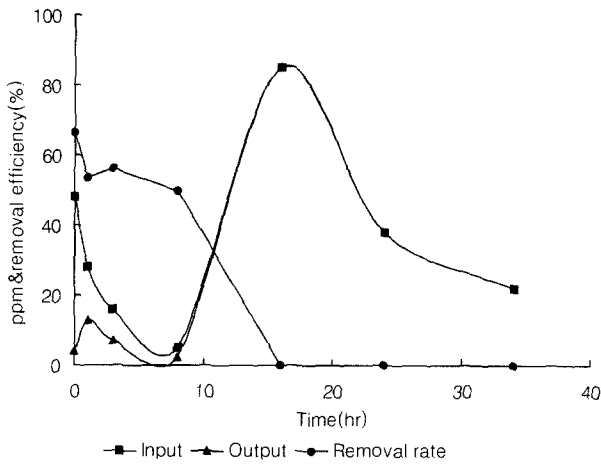


Figure 7. Change of H_2S concentration and removal efficiency without *B. cepacia* in the beads

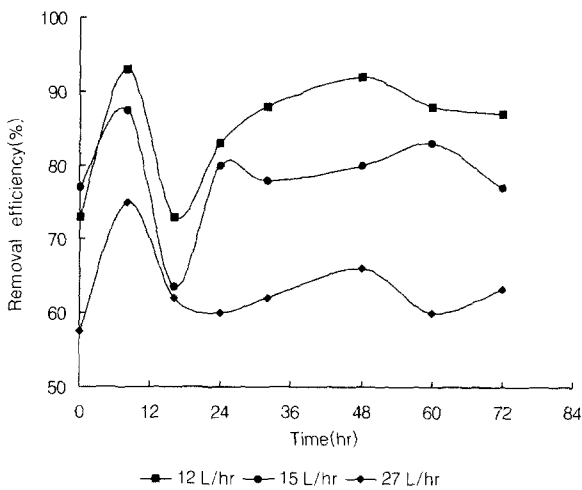


Figure 8. Effect of flow rate on H_2S removal efficiency by *B. cepacia*

율은 입구농도와 출구 농도의 차이로부터 계산하였다. 초기 8시간까지는 alginate의 흡착에 의하여 제거율이 증가되었고 미생물이 적응 시간을 거친 16시간 이후부터는 정상적인 미생물에 의한 황화 수소 제거 양상을 나타내었다. Flow rate이

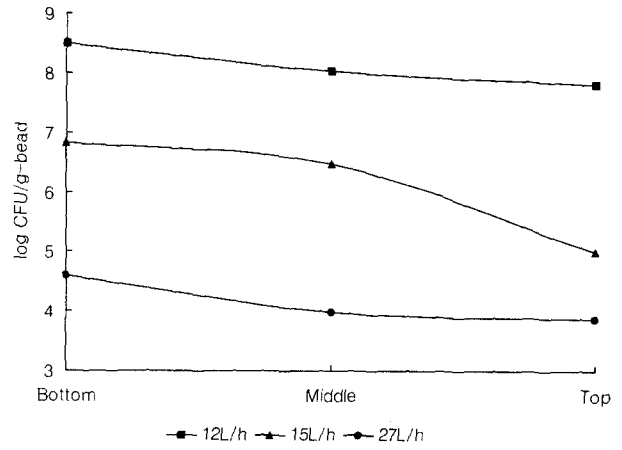


Figure 9. Cell numbers of immobilized with *B. cepacia* at different position of biofilter

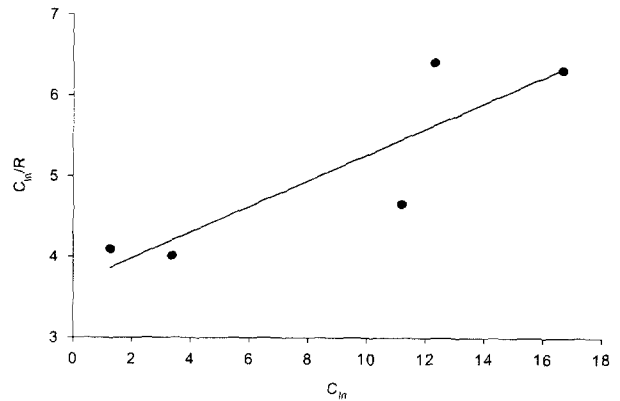


Figure 10. Relationship between C_{In}/R and C_{In} at flow rate 12 L/h. ($Y=0.1601X + 3.6634$ $R^2=0.8728$)

12 L/h인 경우 제거율은 87% 이상의 높은 제거 효율을 나타내었고 flow rate이 증가할수록 제거율은 감소되었다. 그리고 세균수의 측정은 생물 반응기에서 황화 수소 제거 운전이 끝난 후 column의 상층부, 중층, 하층부의 bead를 수거하여 0.1 M sodium citrate 용액에 1 g의 bead를 30 °C, 100 rpm으로 진탕 배양하여 bead를 완전히 용해시킨 후 thiosulfate 고체 배지에 적당히 희석한 후 pour plate count법으로 균수를 측정 한 결과는 Figure 9에 나타내었다. Flow rate별 균수는 12 L/h의 경우 초기 접종 균수의 2배 정도의 증가율을 보였고 15 L/h에서도 초기 균수 보다 1.5배의 증가를 나타내었다. 그러나 27 L/h의 flow rate에서는 균수의 증가가 거의 없었다. 따라서 biofilter에 주입하는 최대 flow rate은 15 L/h이하로 조절할 필요가 있다.

Flow rate별 입구의 황화 수소 농도와 제거 효율은 Figure 10과 같다. 제거 효율은 gas의 flow rate와 황화 수소 농도가 증가함에 따라 줄어들었다. 황화 수소의 flow rate가 12 L/h와 15 L/h에서는 별 차이를 보이지 않았지만 flow rate가 27 L/h로 증가하였을 때는 제거율이 60% 정도로 크게 감소하였다. 그리고 각각 flow rate에 따른 최대 제거 속도는 C_{In}/R 과 C_{In} 의 그래프를 이용한 Hanes-Wolf 식을 통하여 구했다. 즉, 그래프의 기울기와 Y 절편으로부터 계산한 flow rate 12 L/h에서의

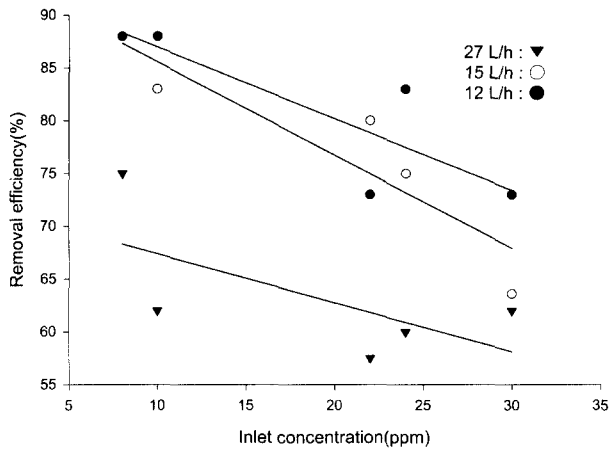


Figure 11. H₂S removal capacity versus inlet H₂S concentration at different flow rates(12, 15, 27 L/h)

황화 수소에 대한 V_m 과 K_s 는 각각 $6.25 \text{ g-S} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ 과 22.88 ppm 이다(Figure 11).

요 약

분리 균주는 운동성을 갖는 그람 음성 간균으로서 catalase 양성 반응을 보였으며, citrate, mannitol, sucrose, fructose, trehalose 등을 이용하였다. Biolog test 결과, 분리 균주는 *Burkholderia(Pseudomonas) cepacia*인 것으로 동정되었으며, 85.5%의 유사성을 나타내었다. 분리 균주의 최적 온도와 pH는 각각 30℃, 7.0이었으며, pH 4.0-8.0의 넓은 범위에서 성장이 가능하였다. 그리고 분리 균주의 유기물의 영향을 알아본 결과는 thiosulfate 배지에 yeast extract를 유일한 탄소원으로 혼합하여 첨가하면 thiosulfate와 yeast extract중 하나가 성장 제한 인자가 될 것이며 제한 인자 중 하나의 농도를 증가시키면 세포 성장에 따른 균체량이 증가하였다. 본 실험에서는 유기물로는 glucose 보다 yeast extract를 첨가했을 때가 증식 속도와 황산화 속도가 높게 나타났다. Thiosulfate 농도에 따른 분리 균주의 황산화 속도를 Limeweaver-Burk로 직선화하여 구한 최대 비증식 속도와 최대 황산화 속도는 각각 0.56 h^{-1} 과 $0.18 \text{ g-S/L} \cdot \text{h}$ 로 나타났다. 결과는 황산화 속도는 기질 농도가 증가함에 따라 완만하게 증가하여 0.12 M에서 0.2 g-S/L · hr에 도달하였으나 0.16 M에서는 급격하게 감소하였다. 분리균의 황화 수소 제거능을 조사하기 위하여 각 flow rate에 따른 최대 제거 속도는 V_m 과 K_{Cln}/R 과 C_{In} 의 그래프를 이용하여 Hanes-Wolf 식을 통하여 구했다. 즉, 그래프의 기울기와 Y절편으로부터 계산한 flow rate 12 L/h에서의 황화 수소에 대한 V_m 과 K_s 는 각각 $6.25 \text{ g-S} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ 과 22.88 ppm 이다. 높은 flow rate에서의 제거 효율과 제거 용량은 역 경향이 나타났다. 이것은 mass transfer 효과 즉, 확산 제한에 기인한 것이지 미생물의 효소 활성의 제한에 의한 것은 아니다(19). 따라서, biofilter내로 고농도의 황화 수소가 유입 될 때 황화 수소 가스의 flow rate를 줄이든지 또는 적절한 제거 용량에 도달하기 위해 충전물의 부피를 증가 할 필요가 있다.

감 사

본 연구는 한국학술진흥재단의 중점연구소지원(과제번호 99-005-E00024)으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

REFERENCES

- Eby, H. J. and Wilson, G. B. (1969), Poultry house dust, odour and their mechanical removal, In agricultural Waste management Proceedings, Cornell University Conference on Agricultural Waste Management, Syracuse, New York, pp 303-308.
- Barth, C. L., Elliott, F. L., and Melvin, S. W. (1984), Using odour control technology to support animal agriculture, T. ASAE, **27**, 859-864.
- Mannebeck, H. (1986), Covering manure storing tanks to control odour. In odour Prevention and control of Organic Sludge and Livestock Farming, eds Neilsen, V. C. Voorburg, J. H., and Hermite, P. L. Elsevier Applied Science Publisher, London. pp 188-192.
- Wani, A. H., R. M. R. Branion, and A. K. Lau (1997), BIOFILTRATION : A Promising and cost effective control technology for odors, VOCs and air toxics, *J. Environ. Sci. Health.*, **32**, 2027-2055.
- Chung, Y. C., Huang, C., and Tseng, C. P. (1996a), Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-Scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 Biofilter, *Biotechnol. prog.*, **12**, 773-778.
- Chung, Y. C., Huang, C., and Tseng, C. P. (1996b), Kinetics of hydrogen sulfide oxidation by immobilized autotrophic and heterotrophic bacteria in bioreactors, *Biotechnol. Tech.*, **10**, 743-748.
- Cha, J. M., Cha, W. S., and Lee, J. H. (1999), Removal of organo-sulphur odor compounds by *Thiobacillus novellus* SRM, sulphur-oxidizing microorganisms, *Process Biochemistry.*, **34**, 659-665.
- Chung, Y. C., Huang, C. C., Tseng, P., and Pan. J. R. (2000), Biotreatment of H₂S- and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells biofilter, *Chemosphere.*, **41**, 329-336.
- Cho, K. S., Hirai, M., and Shoda, M. (1991), Removal of Dimethyl Disulfide by the Peat seeded with Night Soil Sludge, *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 289-291.
- Cho, K. S., Hirai, M., and Shoda, M. (1991), Degradation characteristics of Hydrogen sulfide, Methanethiol, Dimethyl Sulfide and Dimethyl Disulfide by *Thiobacillus thioparus* DW44 Isolated from Peat Biofilter, *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 384-389.
- Sublette, K. L. and Sylvester, N. D. (1987), Oxidation of hydrogen sulfide by continuous cultures of *Thiobacillus denitrificans*, *Biotechnol. Bieng.*, **29**, 753-758.
- Zhang, L., Hirai, M., and Shoda, M. (1991), Removal characteristics of dimethyl sulfide, methanethiol and hydrogen sulfide by *Hyphomicrobium* sp. 155 isolated from peat biofilter, *J. Ferment. Bioeng.*, **72**, 392-396.
- Wada, A., Shoda, M., and Kuraishi, H. (1986), Characteristics of H₂S Oxidizing Bacteria Inhabiting a Peat Biofilter, *J. Ferment. Technol.*, **64**, 161-167.
- Shuler, M. L. and Kargi, F. (1992), Bioprocess engineering Basic concepts- Drentice Hall International series pp 61-67.

15. Hirai, M., Zhang, L. M., and Shoda, M. (1991), Removal characteristics of Dimethyl sulfide, methanethiol and hydrogen sulfide by *Hyphomicrobium* sp. 155 isolated from peat Biofilter, *J. Ferment. Bioeng.*, **72**, 372-396.
16. Chung, Y. C., Huang, C., and Tseng, C. P. (1996), Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-Scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 Biofilter, *Biotechnol Prog.*, **12**, 773-778.
17. Cho, K. S., Hirai, M., and Shoda, M. (1992), Degradation of Hydrogen sulfide by *Xanthomonas* sp. Strain DY 44 Isolated from Peat, *Applied and Environmental Microbiology.*, **58**, 1183-1189.
18. Cho, K. S., Zhang, L., Hirai, M., and Shoda, M. (1991), Removal characteristics of Hydrogen sulfide by *Thiobacillus* sp. Isolated from Peat in Biological Deodorization, *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 44-49.
19. Chung, Y. C., Huang, C., and Tseng, C. P. (1996), Operation optimization of *Thiobacillus thio-parus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal, *J. Biotechnol.*, **52**, 31-38.