

최 종
연구보고서

계분퇴비 생산공정의 악취제거를 위한 팩키지형 시스템 개발

Development of package typed system for the treatment of malodorous compounds
in the process of compost-production from poultry manure

주 관 연 구 기 관

대 구 대 학 교

농림자료실



0012273

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “계분퇴비 생산공정의 악취제거를 위한 팩키지형 시스템 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 14 일

주관연구기관명 : 대 구 대 학 교

총괄연구책임자 : 강 선 철

세부연구책임자 : 임 광 희

연 구 원 : 김 지 은

연 구 원 : 홍 수 현

연 구 원 : 신 정 화

협동연구기관명 : (주)노벨환경기술

협동연구책임자 : 장 현 영

요 약 문

I. 제 목

계분퇴비 생산공정의 악취제거를 위한 팩키지형 시스템 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

미국, 일본을 포함한 선진국에서는 악취를 발생하는 물질별로 감지할 수 있는 악취강도를 유발하는 최저감지농도(odor threshold)를 설정하여 악취발생시설을 철저히 시행 및 관리하여오고 있으나 우리나라는 근래에 악취의 중요성을 인정하여 근래에 악취집중관리업소를 선정하여 집중관리하고 있으며 1991년 이후에 11개 업종을 생활악취 규제대상시설로 지정하여 관리하고 있다. 현재가동 중인 축분퇴비 공장은 악취규제를 적용받지 않는 산업체로 이에 대한 법적인 제재를 받지 않으나, 1999년부터 신규로 완공된 축분퇴비 공장은 이 악취강도의 규제를 받게 되어 있어 악취제거기술의 개발이 시급한 실정이다. 전술한 바와 같이 가장 경제적이고 2차처리가 필요 없는 악취제거용 바이오필터 기술개발이 필요한데, 지금까지는 악취보다는 휘발성유기화합물(VOC)의 제거에 더욱 중점을 두어왔던 실정이다. 암모니아나 황화수소 등의 질소화합물 및 황화합물에 대한 효율적인 제거를 위하여, 그 중에서도 황화수소는 악취강도지수가 낮아서 대기 중에서 분산되어도 희석에 의한 악취강도 감소율이 크지 않아 최저감지농도도 우리나라의 경우 0.0005 ppm으로서 암모니아의 경우의 0.1 ppm인 최저감지농도보다 훨씬 낮아서 효율적인 제거를 위한 악취제거 미생물 개발, 높은 농도의 미생물을 담지할 수 있고 겨울의 추운 온도에서도 미생물의 활성을 어느 정도 유지할 수 있는 바이오 필터의 공정시스템 구축, 미생물 담체 및 미생물 개발에 연구노력을 경주하여야 한다. 따라서 본 연구에서는 퇴비화 공정중의 악취문제를 해소하기 위하여 돌연변이 또는 분리 및 동정을 통한 악취제거 미생물 균주 개발, 악취를 효과적으로 감소시킬 수 있는 바이오필터/광촉매 HYBRID 공정개발 등을 통한 효율적인 팩키지형 악취제거 시스템을 확립함으로써 엄격한 악취규제에도 불구하고 지속적인 퇴비생산을 통한 환경친화적 농업이 가능하도록 방향을 설정하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 세부연구과제 I (악취제거 미생물의 돌연변이체 균주 제조), 세부연구과제 II (악취제거를 위한 미생물 담체개발 및 바이오필터/광촉매반응기 hybrid시스템 개발) 및 협

동연구과제 (악취제거 미생물 개발)로서 아래와 같은 세 가지의 연구목표와 각각의 연구내용 및 범위로 이루어진다.

1) 돌연변이를 통한 악취제거 미생물 균주 개발 :

- 악취제거 미생물의 돌연변이체 균주 제조
- 선발된 돌연변이체 균주의 황화수소(H₂S) 제거 특성조사
- 돌연변이체 균주의 환경독성 평가
- 돌연변이체 균주들의 혼합배양

2) 바이오필터/광촉매를 활용한 악취제거시스템 개발

- 미생물 담체개발
- 바이오필터 시스템 구축
- 바이오필터/광촉매반응기 hybrid시스템 구축
- 바이오필터/광촉매반응기 hybrid시스템 적정운전조건 구축
- (Semi-)pilot scale 시스템 제작 및 실험미생물 담체 개발

3) 악취제거미생물 개발

- 악취제거 미생물의 분리
- 악취제거 미생물을 악취제거 특성조사
- 악취제거 미생물의 동정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구에서는 퇴비화 공정 중에 발생하는 악취문제를 해소하기 위하여 돌연변이를 통한 악취제거 미생물 균주 개발, 악취제거 미생물 제제 개발, 바이오필터/광촉매를 활용한 악취제거 공정개발 등을 통한 작고 효율적인 완전한 팩키지형 악취제거 시스템을 확립하고자 한다.

황화수소, 에틸멜캅탄, 메틸멜캅탄 등 황화합물을 제거할 수 있는 균주 DG-1082, YES-1153와 암모니아 gas를 제거할 수 있는 균주 YCa-1214를 오염지 토양에서 분리하였다. 이 중에서 pH 7.0의 조건에서 황화수소 에틸멜캅탄, 메틸멜캅탄 등 황화합물을 제거할 수 있는 미생물 DG-1082 균주를 순수 분리하는 데 성공하였고, 조사결과 황화합물 3종에 대해 우수한 제거효율을 보였으며 넓은 온도범위에서 우수한 균주성장과 황화수소 제거효율을 보였다.

DG-1082와 YES-1153 균주의 최적 pH는 각각 7.0, 4.0 이었으며 배양온도는 30~35°C 범위였다. DG-1082와 YES-1153 균주는 모두 산소조건(호기,무산소)에 대한 영향이 미미하였다. 토양으로부터 thiosulfate를 이용할 수 있는 독립영양균 AD-1247을 새로 분리하였다.

분리된 AD-1247과 YES-1153 두 균주를 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 혼합배양 한 결과 미생물들이 함께 잘 성장하였으며, 최적 pH는 6.0 - 7.0이었다. DG-1082와 YES-1153 균주를 25,000배로 확대한 SEM 사진을 관찰할 때 DG-1082는 거의 구형이었으며, 특히 YES-1153은 DG-1082에 비해 크기가 훨씬 컸다. 한편 YES-1153과 AD-1247을 혼합배양한 10,000배의 SEM사진에 의하면 비교적 coinubation이 잘되었음을 볼 수 있으며 YES-1153은 크기가 큰 것에 비해 AD-1247은 크기가 비교적 작은 것으로 나타났다.

암모니아 제거용 균주 YCa-1214는 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 NH_4Cl 일 때 균체가 잘 성장되었으며, 이 균주를 Medium(I)의 배지(질소원 = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)에 넣고 pH를 각각 달리하여 배양한 결과 초기 pH 7.0 일 때 균체 성장 속도가 가장 빨랐으며 pH 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 에서도 비슷한 성장 곡선을 보였다. 그러나 pH 4.0과 5.0에서는 초기 24시간까지는 균체 성장이 거의 이루어지지 않았으나 그 후로는 성장이 급격하게 이루어졌다. 이는 초기 pH 4.0과 5.0에서 시작하여 배양시간이 경과함에 따라 꾸준히 pH값이 증가하여 미생물 성장에 적절한 pH값에 도달하여 비로소 미생물 성장이 활발하게 이루어진 것으로 사료된다. YCa-1214 균주를 Medium(I)의 배지에 질소원 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 대신 NH_4Cl 을 8.0 g/L를 넣고, 초기 pH를 각각 달리하여 배양한 결과 pH 7.0에서 균체 성장 속도가 가장 빨랐으며 pH 9.0에서는 균체 성장이 비교적 떨어졌다. pH 4.0에서는 12시간이 경과한 후부터 비로소 균체 성장이 활발히 이루어지기 시작하였다. 이 때 배양기간 동안 일정한 시차를 두고 배양액의 pH를 측정할 결과 초기 pH 4.0에서 배양 시간이 경과됨에 따라 pH 값이 꾸준히 증가됨을 볼 수 있었다.

질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 인 Medium(I) 배지 및 이 배지의 질소원으로 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 대신에 NH_4Cl 로 치환한 배지에 YCa-1214를 배양하였을 때 YCa-1214는 초기에는 40°C에서 균체 성장이 높게 나왔으나 24시간 이후에는 30°C와 35°C에서 성장이 더 높아졌다. YCa-1214 균주를 40,000배 확대한 SEM 사진을 관찰했을 때, 이것은 간균 형태의 미생물임을 알 수 있었다.

분리된 약취제거 미생물의 16S rRNA 유전자를 이용하여 염기서열을 분석한 결과 DG-1082 균주는 *Arthrobacter* sp.와 염기상동성이 99%, YES-1153은 *Enterobacter*와 98%, YAc-1214 균주는 *Bacillus cereus*와 99%의 염기상동성(sequence homology)을 보였으므로 각각을 *Arthrobacter* sp. DG-1082, *Enterobacter* sp. YES-1153, *Bacillus cereus* YCa-1214로 명명하였다. 또한 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주를 이용하여 황화합물의 제거 및 질소원 및 탄소원에 대한 성장특성을 조사한 결과, DG-1082는 탄소원으로 glucose와 maltose를 잘 이용하는 것으로 나타나 이것은 기존에 알려진 *Arthrobacter* sp. 종의 성장특성과 유사하였다. 그리고 질소원으로는 yeast extract를 잘 이용하였으며 0.5% 농도에서 성장이 잘 되었다.

한편 황화수소 제거 돌연변이주를 개발하기 위해서 토양으로부터 황화수소제거 미생물인 U21을 분리하였으며 이것은 *Thiobacillus* sp. 균주로 확인되었다. 이 균주를 이용하여 돌연변이원으로 UV를 조사한 다음 변이주 U21a를 제조하였다. 변이주 U21a는 모본주의 콜로니 크기보다 2-3배 더 컸으며, 모본주와의 형태 및 생리생화학적인 차이점은 없었다. 모균주

U21과 변이주 U21a의 최적 pH는 6.3 전후이며, 배양온도는 30-40°C 범위였다. 모균주와 변이주는 실험에 이용한 ammonium salt를 제외한 대부분의 탄산염과 질산염은 이용하지 못하였고, 인산염은 절대적으로 요구하였다. 또한 *Thiobacillus* sp. IW 균주를 이용하여 UV를 조사한 다음 변이주 UIW-10과 UIW-6를 제조하였다. 변이주 UIW-10의 콜로니 크기는 모본주의 콜로니 크기보다 2-3배 더 컸다. 변이주 UIW-10의 최적조건은 pH 6.0, 배양온도는 35-40°C이었으며, 회전속도는 150-200 rpm이었다. Sulfur와 sodium thiosulfate를 함유하고 있는 액체배지에서 배양 후 6시간째에 돌연변이주 *Thiobacillus* sp. UIW-10은 공시균주 IW보다 성장정도가 2배 더 높았다. 또한 변이주 UIW-10의 성장은 0.5% yeast extract와 0.5 - 2.0% tryptone에서 증가하였다. 변이주 UIW-6의 특성을 조사한 결과 최적조건은 pH 6.5, 배양온도는 35°C이었으며, 회전속도는 200 rpm 이었다. 황 화합물인 sodium thiosulfate 농도가 50 mM에서 변이주 UIW-6는 6시간째에 공시균주 IW보다 성장정도가 2배 더 높았다. 변이주 UIW-6의 최적 탄소원은 fructose와 sucrose이었으며 질소원은 yeast extract > tryptone > peptone 순으로 이용하였다. 또한 변이주 UIW-6의 성장은 0.2% yeast extract에서 가장 높게 나타났다.

황화수소(H₂S) 제거를 목적으로 개발된 *Thiobacillus* sp. UIW-6 변이주의 자체 및 황화수소 제거 시 생성될 수 있는 2차 오염물질 혹은 독성물질의 환경에 대한 위해성 평가를 위하여 어류에 대한 독성검사 및 배추, 콩, 양대, 무, 팔 등의 작물에 대한 돌연변이주의 발아억제시험을 수행하였다. 어류는 수조당 10마리 이상을 넣어 시험하였으며, 변이주 UIW-6 배양액을 1 × 10⁶ cfu/ml의 농도로 넣은 후 48시간 및 96시간에서의 치사율을 결정하여 어독성을 결정하였다. 그 결과 배양액을 처리했을 때 미꾸라지 및 송사리는 48시간과 96시간째 무처리구와 마찬가지로 한 마리도 죽지 않았다. 또한 발아억제실험을 수행한 결과 사용한 작물의 종자가 100% 발아하였다. 따라서 *Thiobacillus* sp. UIW-6 변이주 및 균주의 배양에 의해서 생성되는 2차 물질은 어독성 및 종자발아에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

우수돌연변이 균주의 혼합배양을 통한 황화수소 제거효과를 극대화하기 위하여 *Thiobacillus* sp. UIW-6 변이주와 *Arthrobacter* sp. UDG-1082 변이주를 혼합배양하여 최적 성장정도를 조사하였다. 그 결과 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 각각 단독으로 배양한 것보다 혼합배양 하였을 때 성장이 20 - 30% 증가하였다. 이때의 최적 pH를 조사한 결과, 혼합배양 후 12시간째에는 pH 5.0에서 성장이 제일 잘 되었으며 24시간째에는 pH 4.0에서 pH 8.0까지 비교적 넓은 범위에서 균체가 잘 성장하였다. 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 30°C, 35°C에서 24시간 혼합배양한 결과 배양 후 4시간째까지는 35°C에서 성장이 약간 높은 것으로 나타났지만, 이후에는 30°C에서 높은 성장을 보였다. 50 mM sodium thiosulfate에서 성장이 가장 잘 되었고 질소원으로 tryptone 보다 yeast extract를 잘 이용하였다. 이때 yeast extract의 농도는 0.5%일 때 가장 양호한 성장정도를 보여주었다.

3년간의 연구를 통하여 황화수소와 암모니아를 동시에 포함한 악취제거를 위한 돌연변이를 통한 악취제거 미생물 개발, 악취제거를 위한 미생물 담체개발 및 바이오필터/광촉매반

응기 hybrid시스템 개발 및 전통적 미생물분리 및 동정에 의한 약취제거 미생물 등이 개발되었다.

황화수소 제거의 경우 elimination capacity가 hybrid시스템의 경우에 바이오필터 만의 경우보다 약 36.8% 만큼 제고된 약 135 S-g/m³/h이었다. 암모니아의 경우는 elimination capacity가 hybrid시스템의 경우에 바이오필터 만의 경우보다 약 27.3% 만큼 제고된 약 70 N-g/m³/h이었다.

한편 황화수소와 암모니아의 동시제거에 있어서, hybrid시스템의 황화수소에 대한 제거율은 거의 100%이어서 elimination capacity는 지속적인 증가가 예상되었고 암모니아에 대한 최대 elimination capacity는 약 40 N-g/m³/h이었다.

SUMMARY

During the screening of bacterial strains for the removal of malodor from compost, we isolated two strains, DG-1082 and YES-1153, that could effectively remove hydrogen sulfide (H_2S) and methyl mercaptan (CH_3SH) and another strain, YCa-1214, for elimination of ammonia. The optimum pHs of DG-1082 and YES-1153 were 7.0 and 4.0, respectively, and their temperatures were in the range of 30 - 35°C. Also we isolated another autotrophic strain, AD-1247, from soil using thiosulfate.

We used AD-1247 and YES-1153 strains for the mixture culture in the medium containing thiosulfate that resulted in maximum growth for both strains, and the optimum pH of mixtures was in the range of 6.0 - 7.0. For the observation of SEM images of DG-1082 and YES-1153 strains, scanning electron microscope (SEM) was applied at 25,000 magnification. The cell shape of DG-1082 was almost cocci and YES-1153 was bigger than DG-1082. The SEM image at 10,000 magnification indicated that mixed cultures of YES-1153 and AD-1247 could be co-incubated in a complete manner and the cell size of AD-1247 was smaller than that of YES-1153.

To investigate the removal effect of ammonia the strain YCa-1214 was screened from soil. The growth of YCa-1214 was increased when added $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and NH_4Cl as nitrogen sources. At pH 7.0 the growth curve of YCa-1214 was high and almost similar at the pH range from 6.0 - 9.0. There was no growth for YCa-1214 at pH 4.0 and 5.0 until 24 h culture but rapid increase after 24 h culture.

There was an increase in the growth of strain YCa-1214 at pH 7.0 but low growth rate was observed at pH 9.0 in the medium containing $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. There was an increase in the growth of YCa-1214 after 12 h culture at pH 4.0, since the pH value of culture broth was increased as the duration of culture was increased.

For the identification of isolated strains we analyzed 16S rRNA gene sequences of each strain. The results suggested that the strain DG-1082 belonged to *Arthrobacter* sp. with 99% sequence homology, YES-1153 was similar as *Enterobacter* sp. with 98% sequence homology and YCa-1214 belonged to *Bacillus cereus* due to 99% sequence homology. We investigated the characteristics of strain DG-1082 which selected as an excellent eliminator of sulfide compounds. Strain DG-1082 utilized glucose and maltose as carbon sources. The similar results were obtained as previously characterized for *Arthrobacter* species. It also utilized yeast extract as nitrogen source and its growth was increased at 0.5% yeast extract.

To develop mutants for the removal of hydrogen sulfate (H_2S) we isolated sulfur-oxidizing bacteria U21 from soil and it was identified as *Thiobacillus* sp. U21.

Further its mutant U21a was screened by direct UV treatment for 30 - 40 seconds. The colony size of mutated U21a strain was 2 - 3 times bigger in diameter than the size of parent strain, U21, on thiosulfate agar medium (TAM), but showed little differences on morphological and biochemical characteristics. The optimum condition for the growth was pH 6.0 - 6.5 and 30°C. Ammonium salts promoted the growth but most carbonates and nitrates tested did not. Moreover, a phosphate salt was required absolutely. *Thiobacillus* sp. UIW-10 and UIW-6 mutants also obtained by UV treatment from sulfur-oxidizing bacteria, *Thiobacillus* sp. IW. The colony size of UIW-10 was found 2 - 3 times bigger in diameter than the parent on TAM medium. Initial pH and temperature for the optimum growth of UIW-10 were 6.0 and 35 - 40°C, respectively. It was found that addition of 0.5% yeast extract and 0.5 - 2.0% tryptone as nitrogen sources and the constant agitation at 150 - 200 rpm gave positive effects on its growth. The UIW-6 mutant was also found 1.6 times faster in growth than the parent strain in TM medium at 36 h culture. Initial pH, temperature and agitation for the optimum growth of UIW-6 were 6.5, 35°C and 200 rpm, respectively. The UIW-6 mutant used fructose and sucrose as carbon sources and yeast extract > tryptone > peptone as nitrogen ones. It was found that the growth of UIW-6 mutant was increased by the addition of 0.2% yeast extract.

To evaluate toxicity of UIW-6 mutant and its secondary metabolites we investigated toxicity against fishes and germination of seed such as bean, radish and cabbage. The toxicity test of fishes used more 10 fishes per a water tank and added cultured suspensions of UIW-6 mutant as 1×10^6 cfu/ml concentration. The toxicity was decided by lethal ratio at 48 and 96 h. The fishes, loach and monnow, survived at 48 and 96 h after addition of culture suspension of UIW-6 mutant, likewise control. The germination test of seed showed 100% germination. These results indicate that IW-6 mutant and its secondary metabolites have no harm on fishes and seed germination.

To maximize the removal of hydrogen sulfide (H₂S) we investigated optimum conditions of mixture culture of mutants, UIW-6 and UDG-1082 selected by UV treatment from sulfur-oxidizing strains. The growth of the mixture mutants, UIW-6 and UDG-1082, was faster than the one of each mutant in TM medium. The growth of mutants was increased in 50 mM sodium thiosulfate and they used glucose and maltose as carbon sources and yeast extract more than tryptone as nitrogen sources.

Through three years of research we developed malodor-eliminating mutated microbes, hybrid system composed of biofilter and photo-catalytic reactor and malodor-eliminating microbes by screening and identification to eliminate malodor including hydrogen sulfide and ammonia.

When malodorous air containing hydrogen sulfide was treated with the hybrid system its maximum elimination capacity was ca. 135 S-g/m³/h, which was 36.8% higher than that with only biofilter. For ammonia its maximum elimination capacity was ca. 70 N-g/m³/h, which was 27.3% higher than that with only biofilter. When malodorous air containing both hydrogen sulfide and ammonia was treated with the hybrid system, the elimination capacity of hydrogen sulfide was expected to increase continuously and the maximum elimination capacity of ammonia was ca. 40 N-g/m³/h.

CONTENTS

Chapter 1. Overview -----	14
Chapter 2. Background -----	15
Chapter 3. Subjects and results -----	16
[1] Subjects -----	16
[2] Development of malodor-eliminating microbes -----	18
1. Materials and method -----	18
1-1. Screening of malodor-eliminating microbes -----	18
1-2. Development of malodor-eliminating mutants -----	23
2. Results -----	24
2-1. Screening of malodor-eliminating microbes -----	24
2-1-1. Screening of malodor-eliminating microbes -----	24
2-1-2. Cultural characteristics of malodor-eliminating microbes -----	29
2-1-3. Identification of malodor-eliminating microbes -----	43
2-2. Development of malodor-eliminating mutants -----	48
2-2-1. Development of malodor-eliminating mutants -----	48
2-2-2. Cultural characteristics of mutants for elimination of hydrogen sulfide (H ₂ S) -----	51
2-2-3. Toxicity test of mutants against environment -----	81
2-2-4. Mixture culture of mutants -----	84
[3] Development of hybrid system composed of biofilter and photo-catalytic reactor -----	90
1. Development of microbes media made of waste tire powder and EVA -----	90

2. Establishment of hybrid system composed of biofilter and photo-catalytic reactor	100
3. Construction of optimum operating condition of hybrid system for eliminating malodor compounds from malodor gas	119
4. Construction of (semi-)pilot scale system and operation	139
Chapter 4. Level of accomplishment and contribution in related fields	176
[1] Research goal	176
[2] Factors for research evaluation	176
[3] Level of accomplishment	177
1. 1st year	177
2. 2nd year	181
3. 3rd year	183
Chapter 5. Application plans of results	188
Chapter 6. Information from foreign researchers	191
Chapter 7. References	192

목 차

제 1 장. 연구개발과제의 개요 -----	14
제 2 장. 국내외 기술개발 현황 -----	15
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 -----	16
제1절. 연구개발 수행 내용 -----	16
제2절. 악취제거 미생물 균주 개발-----	18
1. 연구재료 및 방법 -----	18
가. 악취제거 미생물의 분리 -----	18
나. 돌연변이주의 개발 -----	23
2. 연구개발 결과 -----	24
가. 악취제거 미생물 분리 -----	24
1) 악취제거 미생물의 분리 -----	24
2) 악취제거 미생물의 특성조사 -----	29
3) 악취제거 미생물의 동정 -----	43
나. 돌연변이주 개발 -----	48
1) 악취제거 미생물의 돌연변이체 균주 제조 -----	48
2) 선발된 돌연변이체 균주의 황화수소(H ₂ S) 제거 특성조사 -----	51
3) 돌연변이체 균주의 환경독성 평가 -----	81
4) 돌연변이 균주들의 혼합배양 -----	84
제3절. 바이오필터/광촉매를 활용한 악취제거시스템 개발 -----	90
1. 미생물 담체개발 -----	90
2. 바이오필터/광촉매반응기 hybrid시스템 구축 -----	100
3. 바이오필터/광촉매반응기 hybrid시스템 적정운전조건 구축 -----	119

4. (Semi-)pilot scale 시스템 제작 및 실험미생물 담체 개발 -----	139
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	176
제1절. 연구개발의 최종목표 -----	176
제2절. 연구평가의 착안점 -----	176
제3절. 연구개발 목표의 달성도 -----	177
1. 제 1차년도 -----	177
2. 제 2차년도 -----	181
3. 제 3차년도 -----	183
제 5 장. 연구개발결과의 활용계획 -----	188
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	191
제 7 장. 참고문헌 -----	192

제 1 장 연구개발과제의 개요

인구의 증가 및 도시집중과 산업화로 인하여 자원 및 에너지의 소비는 급증하여 왔으며, 자연의 자정능력을 넘어선 엄청난 양의 환경오염물질이 배출되고 있다. 이로 인해 자연생태계는 파괴되어 생물다양성이 감소되었고 인류의 생존권마저 위협하는 지경에 이르렀다.

퇴비화는 동양에서 전통적으로 농축산폐기물을 이용하여 농지개량 등의 목적으로 이용하여 왔던 방법으로 현실성 있는 자원화 기술로 평가받고 있다. 퇴비화는 미생물의 호기적 유기물 분해를 이용한 유기성 폐기물 처리방법 중의 하나로 폐기물을 매립할 때 발생하는 악취, 지하수오염, 동물 및 인체 병원균 전파 등의 문제를 상당히 감소시킬 수 있고, 또 퇴비화 공정 중 유기탄소가 미생물 호흡에 의해 이산화탄소로 소실되므로 전체적인 폐기물의 부피가 상당량 감소한다. 또한 충분한 퇴비의 질을 확보할 수 있다면 이를 토양에 환원하여 토양개량제 혹은 비료로서 역할을 담당하게 할 수 있다. 외국에서는 퇴비화가 가장 환경오염이 적고 효과적인 유기성 폐기물의 처리법으로 인식되어 지난 30년간 이 기술에 관한 수많은 연구가 수행되고 있다. 최근 국내의 많은 축산단지에서도 축산폐기물의 퇴비화를 이용한 비료공장 건설이 진행되어 상업적으로 가동되고 있다. 특히 양계장에서 대량으로 방출되는 계분은 가장 이상적인 퇴비화 재료로서 대부분이 퇴비로 재활용되고 있다. 그러나 퇴비화 공정은 대부분 단순한 야적식 공정을 채택함으로써 발효의 지연에 따른 악취발생 및 생산성 감소라는 문제가 발생한다. 따라서 본 연구에서는 퇴비화 공정중에 발생하는 악취문제를 해소하기 위하여 돌연변이를 통한 악취제거 미생물 균주 개발, 악취제거 미생물 제재 개발, 바이오필터/광촉매를 활용한 악취제거 시스템개발 등을 통한 작고 효율적인 완전한 팩키지형 악취제거 시스템을 확립하고자 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

미국 농무성은 닭, 소, 돼지에 의해 생산되는 가축 분뇨의 양은 10억 ton이며 건조량으로 는 약 2억 ton이 되는 것으로 평가하였다. 그러나 이와 같은 축분의 퇴비화는 대규모 양계장, 목장 등과 같이 규모가 큰 곳에서만 대량의 퇴비를 생산할 만큼의 충분한 양의 가축 분뇨가 배출되게 된다. 그러나 소량으로 생산되는 경우에는 퇴비화공정의 적용에 상당한 애로가 따르며 이 경우 효과적인 대안의 제시가 필요하다.

한편 축산분뇨의 환경오염을 방지하기 위하여 일본과 미국에서는 사양관리기술의 개량에 의한 배출량 감소, 냄새 감소를 위한 사료 개량을 통한 악취를 개선 및 탈취미생물을 선발하여 적용하는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 또한 일본에서는 물리적, 화학적 탈취기술의 개발도 활발히 진행되고 있다.

국내의 경우 대규모 축산단지는 대부분 퇴비화공정 및 시설을 도입하여 축분을 처리하고 있지만 경우에 따라서는 처리비용을 경감시키기 위하여 자연방류 혹은 토양 및 하천 투기에 따른 환경오염 문제가 빈발하고 있다. 또한 국내의 가축분뇨 처리기술은 외국에 비해 상당히 뒤떨어져 있으며 일부 외국기술이 도입되어 운용되고 있으나 아직 효과적으로 정착되지는 못하고 있는 편이다.

미국, 일본을 포함한 선진국에서는 악취를 발생하는 물질별로 감지할 수 있는 악취강도를 유발하는 최저감지농도(odor threshold)를 설정하여 악취발생시설을 철저히 시행 및 관리하여오고 있으나 우리나라는 근래에 악취의 중요성을 인정하여 1897년부터 악취집중관리업소를 선정하여 집중관리하고 있으며 1991년 이후에 11개 업종을 생활악취 규제대상시설로 지정하여 관리하고 있다. 현재 가동 중인 축분퇴비공장은 악취규제를 적용받지 않는 산업체로 이에 대한 법적인 제재를 받지 않으나, 1999년부터 신규로 완공된 축분퇴비공장은 이 악취강도의 규제를 받게 되어 있어 악취제거기술의 개발이 시급한 실정이다.

이 분야는 외국에서도 활발히 연구되고 있는 분야이나 그 기술이 아직까지 완성된 상태는 아니다. 또한 각 기술의 적용은 지역적, 기후적 환경요인에 의해 상당히 다른 결과가 발생하고 있다. 따라서 외국의 기술을 단순히 도입하기 보다는 독자적인 기술을 확보하는 것이 가장 좋은 방법으로 보여진다. 특히 외국에서 선발한 미생물을 도입할 경우 국내 생태계 교란의 우려가 높기 때문에 국내의 토양에서 자생하는 악취제거 미생물을 개발함으로써 이와 같은 문제점을 완전히 해결할 수 있을 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 내용

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (2003)	악취제거 미생물의 돌연변이체 균주 제 조	1) 황화수소(H ₂ S) 제거미생물의 균주 수집 2) 돌연변이원(UV, EMS, NTG 등) 처리를 통한 황화 수소(H ₂ S) 제거미생물 돌연변이체 균주제조 3) 돌연변이체 미생물의 황화수소(H ₂ S) 제거효과 조사
1차 년도 (2003)	-미생물 담체개발 -바이오필터 시스 템 구축	1) 친수성 테스트(접촉각 및 표면장력 측정) 2) 미생물 담체의 공극 특성 조사 3) 미생물 부착특성 조사 (<i>Thiobacillus</i> 균 및 질산화/탈 질균(응축수로 포화된 담체 내부공극) 4) 제오라이트 충전담체와 비충진담체의 암모니아질소 제거 특성 비교 1) 황화수소 제거 특성 조사 2) 암모니아 질소 제거 특성 조사 가. 제오라이트 충전 페타이어담체의 경우 나. 제오라이트 비충진 페타이어담체의 경우 3) 황화수소 및 암모니아질소의 elimination capacity 對 inlet load 특성 조사 4) 황화수소 및 암모니아 질소 혼합가스의 제거특성
1차 년도 (2003)	악취제거 미생물 개 발	· 악취제거 미생물의 분리 1) 제거하고자 하는 악취원인물질은 NH ₃ , H ₂ S, CH ₃ SH, C ₂ H ₅ SH, 으로 한다. 2) 하수처리장 농축슬러지, 침전조의 부상스컴,하수고도 처리시설 혐기성조 오니, 하수도, 축산농가 주변 등 에서 시료를 채취하여 악취제거 미생물을 분리한다. 3) 악취원인물질을 각각 제거할 수 있는 미생물들을 우 선 분리하고, 악취원인물질을 두 개 또는 그 이상 잘 제거할 수 있는 미생물의 분리도 시도한다. 4) 분리한 미생물들의 악취제거효과를 조사하여 우수한 효과를 보이는 미생물들을 선별한다.

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
2차 년도 (2004)	돌연변이를 통한 악취 제거 미생물 균주 개발	<ol style="list-style-type: none"> 1) 돌연변이원(UV, EMS, NTG 등) 처리를 통한 황화수소(H₂S) 제거미생물 돌연변이체 균주제조 2) 돌연변이체 미생물의 황화수소(H₂S) 제거효과 조사 3) 황화수소(H₂S) 제거능력이 뛰어난 우수돌연변이체 균주의 최종선발 4) 선발된 돌연변이체 균주의 배양특성(배양온도, pH, 탄소원, 질소원, 미량원소 등) 조사
2차 년도 (2004)	-바이오필터/광촉매반응기 HYBRID시스템	<ol style="list-style-type: none"> 1) 황화수소 제거 특성 조사 2) 암모니아 질소 제거 특성 조사 3) 황화수소 및 암모니아질소의 elimination capacity 對 inlet load 특성 조사 4) 황화수소 및 암모니아 질소 혼합가스의 제거특성
2차 년도 (2004)	악취제거 미생물을 악취제거 특성조사	<ol style="list-style-type: none"> 1)악취제거미생물의 악취제거 특성을 조사 <ul style="list-style-type: none"> · 기본적인 특성조사(온도, pH, 탄소원, 질소원등 미량원소 등) · 산소(호기, 혐기)조건에 따른 악취제거 효율조사 2)악취제거미생물의 비유해성 검토 <ul style="list-style-type: none"> · 분리한 미생물을 이용한 악취제거시 2차오염물질 또는 독성물질의 생성여부를 확인한다. 3)악취제거 미생물의 혼합배양 <ul style="list-style-type: none"> · 분리한 악취제거미생물들을 단독 배양하였을 때와 혼합 배양하였을 때 악취제거 효율의 변화와 미생물의 배양형태 및 경쟁관계를 조사한다.
3차 년도 (2005)	돌연변이체 미생물의 악취제거능 최적화	<ol style="list-style-type: none"> 1) 선발된 돌연변이체 균주의 황화수소(H₂S) 제거 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 배양조건(배양온도, pH, 배양시간, agitation 속도 등)에 따른 황화수소(H₂S) 제거효율 조사 2) 돌연변이체 균주의 환경독성 평가 : 황화수소(H₂S) 제거시 2차오염물질 및 독성물질 생성여부 조사 3) 돌연변이체 균주의 혼합배양에 따른 황화수소(H₂S) 제거효율 변화조사
3차 년도 (2005)	-바이오필터시스템 적정운전조건 구축 -PILOT PLANT제작 및 실험	-바이오필터/광촉매반응기 HYBRID시스템의 적정운전 조건 구축 -풍량 5-10m ³ /min 기준 -성능평가 -적정운전조건 구축
3차 년도 (2005)	-악취제거 미생물의 동정	<ul style="list-style-type: none"> · 악취제거 미생물의 특성조사 및 동정 - 분리한 미생물의 생화학적 특성과 성장특성을 조사하고 동정을 실시한다.

제 2 절 악취제거 미생물 균주 개발

1. 연구재료 및 방법

가. 악취제거 미생물의 개발 :

- 1) 시료채취 및 사용배지 : 악취제거 미생물의 분리를 위해 하수처리장의 농축오니, 침전조의 부상스컴, 하수고도처리시설의 혐기성조 오니, 하수도, 축산농가 주변 토양 및 하천수 등을 시료로 이용하였다. 악취제거미생물은 원인물질 중 NH_3 , H_2S , CH_3SH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$ 의 제거를 목표로 하고 있으며, 이들 원인물질을 동시에 제거할 수 있는 미생물 또는 각각의 원인물질을 제거하는 미생물을 목표로 하고 있다. 악취제거를 위한 미생물은 종속영양 미생물 또는 독립영양 미생물이 있으며, 특히 토양에서 황산화에 중요한 역할을 하는 미생물로 종속영양 미생물인 *Thiobacillus* 종이 보고된 바 있는데 이 종은 이산화탄소나 환원된 황화합물이 있는 곳에서는 독립영양 미생물으로써 활동하며, 유기물이 없는 곳에서는 종속영양 미생물로 활동한다. 또한 황의 산화로 에너지를 얻고 영양원으로 CO_2 를 사용하는 화학합성 독립영양 미생물도 존재한다. 따라서 본 연구에서도 악취원인 물질을 제거할 수 있는 미생물으로써 독립영양 또는 종속영양 미생물 모두에 대한 가능성을 가지고 연구를 시작하였다. 또한 악취제거미생물은 각각의 종에 따라 수소이온농도에 대한 활성영역이 다르며, 특히 산성 조건에서 황산화물을 제거하는 미생물이 다수 보고 됨에 따라 황산화물을 제거하는 미생물에 대해서는 분리과정에서 pH의 조건을 중성과 산성으로 나누어 실험을 진행하였다. 그러나 암모니아 제거미생물의 경우 산성조건에서 활성을 보이지 않으므로 중성영역에서만 실험을 진행하였다. 악취원인물질을 제거하는 미생물 분리를 위한 배지조성은 아래 Table 1과 같다.

Table 1. Media composition for the isolation of sulfur-oxidizing bacteria

Medium	Composition	Content (g/L)
Medium (I) pH 7.0	KH_2PO_4	2.0
	K_2HPO_4	2.0
	NH_4Cl	0.4
	MgCl_2	0.2
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01
	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	8.0
	Yeast extract	2.0
Medium (II) pH 4.0	KH_2PO_4	3.0
	NH_4Cl	0.1
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.3
	S^0	10.0

2) 분리미생물의 제거효율조사 :

가) 분리한 미생물의 기본적인 특성조사 : 목표로 한 악취원인물질의 제거효율을 조사하고 목표치의 제거율을 보인 분리미생물을 최종 선정함 다음 온도, pH에 대한 환경특성을 조사하였다.

나) 악취원인물질의 최종 제거능 조사 : 목표로 한 악취원인물질의 최종 제거능 조사는 악취원인물질 및 황산화물 포집이 가능한 생물배양장치를 통해 회분식으로 배양하면서 황화합물 제거효율을 조사하였다.

(1) 분석방법

(가) 황화합물의 분석 : 가스 크로마토그래프(gas chromatograph)법에 따랐으며 분석조건은 아래와 같다.

- Detector : 불꽃광도검출기(FPD).
- Colume : 불소수지제, 내경 3 mm, 길이 3 m (내면을 10 N인산으로 세척하여 건조)
- Injector Temp : 130℃
- Oven Temp : 70℃

- Carrier gas : 질소가스
- Flow rate : 40ml/min.
- Injection volume : 1 μ l

(나) 암모니아 분석 : 암모니아 가스의 분석은 봉산용액흡수 - 인도페놀법(공해공정시험법)에 따랐으며, 최종적으로 분광광도계(Shimadzu UV 1240, Japan)를 이용 640 nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다.

(다) 악취원인물질 포집장치 : 악취원인 물질의 제거효율 조사와 각종 특성조사에서 보다 정밀한 실험결과를 얻기 위해 생물반응기와 연계된 악취 포집장치를 고안하였다. 악취 포집장치에는 생물반응기, 시료채취주머니, 흡입탱크로 구성되어 있으며, 분석용 시료의 소량 포집을 위해 주사기의 연결 탈착이 쉽게 하였다.

3) 악취제거미생물의 특성조사 (pH, 온도, 산소조건 등) : 1차년도 연구개발에서 분리한 DG-1082 균주와 YES-1153 균주를 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 pH와 온도 및 산소조건에 따른 악취제거 미생물의 특성을 조사하였다.

4) 악취제거 미생물의 혼합배양 : YES-1153과 AD-1247 두 균주를 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 혼합배양 한 결과 미생물들이 함께 잘 성장하였으며, 특히 pH에 대한 특성을 보면 pH 4.0 - 7.0의 넓은 범위에서 미생물들이 잘 성장되었으며, 특히 pH 6.0 - 7.0이 좋았다. 이는 YES-1153을 단독으로 배양한 경우와는 상당히 달라, 실제 활용 시 대단히 유리한 것으로 사료된다.

5) 주사전자현미경(SEM)에 의한 미생물 관찰 : 주사전자현미경을 사용하여 분리한 악취제거 미생물의 형태를 관찰하였다.

6) 악취제거 미생물의 동정 및 특성조사 : 16S rRNA 유전자를 분석한 다음 NCBI에서 제공하는 BLAST를 사용하여 분리된 악취제거 미생물을 동정하였다. 또한 yeast extract, peptone, tryptone 등과 같은 질소원 및 glucose, sucrose, fructose, maltose와 같은 탄소원을 첨가한 다음 균주의 배양특성을 조사하였다. 배양온도, pH, agitation speed 등과 같은 물리적 특성에 대하여서도 조사하였다.

나. 돌연변이주의 개발 :

1) 배지 및 균체배양 : 균의 배양에는 S6 배지(Table 2), TAM 배지(Table 3) 및 thiosulfate medium (TM) 배지(Table 4)를 사용하였고, 고체배지의 경우에 1.5% agar를

첨가하였으며, 멸균은 121℃에서 15분간 열처리하여 진행하였다. 배양조건은 고체배지의 경우 30℃의 배양기에 넣고 배양하였고, 1주일 이상 장기간 배양할 때에는 수분증발로 인한 수분활성도 감소를 방지하고자 평판배지의 둘레를 para film으로 밀봉하여 배양하였다. 또한 액체배지의 경우 250 ml 삼각플라스크에 50 ml의 액체배지를 넣고 30℃에서 180-200 rpm의 속도로 진탕배양하였다. 최적 배지조성을 얻기 위하여 실험목적에 따라 배지성분을 가감하였다.

Table 2. The composition of S6 medium for sulfur-oxidizing bacteria

Component	Content
Na ₂ S ₂ O ₃	1.000%
KH ₂ PO ₄	0.180%
Na ₂ HPO ₄	0.120%
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.010%
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.010%
CaCl ₂	0.003%
FeCl ₃	0.002%
MnSO ₄	0.002%
Agar, if needed	1.5%
pH	6.0

*. pH was adjusted with 0.1 M NaOH

Table 3. The composition of TAM medium for sulfur-oxidizing bacteria

Component	content
Na ₂ S ₂ O ₃	1.00%
(NH ₄) ₂ H ₂ PO ₄	0.10%
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.10%
CaCl ₂	0.001%
FeCl ₃	0.001%
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.001%
MnSO ₄	0.001%
Agar, if needed	1.5 %

pH

6.0

*. pH was adjusted with 0.1 M NaOH

Table 4. Media composition for sulfur-oxidizing bacteria

Medium	Component	Content (g/L)
Thiosulfate medium pH 6.5	NH ₄ Cl	0.5
	KH ₂ PO ₄	4.0
	K ₂ HPO ₄	4.0
	MgSO ₄	0.8
	Na ₂ · EDTA	0.5
	ZnSO ₄	0.22
	CaCl ₂	0.05
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.01
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.05
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.01
	CuSO ₄	0.01
	CoCl ₂	0.01
	Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O	8.0
Yeast extract	2.0	
Agar	15.0	

*. pH was adjusted with 0.1 N NaOH

2) 약취제거균의 분리 : 황화수소를 효과적으로 제거하는 균을 분리하기 위하여 경북 경산시 일대의 토양과 퇴비 및 하수로부터 미생물 시료들을 수집하였다. 수집된 시료들을 3% 황이 포함된 S6 액체 배지에 소량씩 첨가하여 2 주간 진탕한 후 TAM 고체배지에 도말하여 콜로니를 분리하였다.

3) 분리균의 동정 : 분리균의 동정은 Bergy's manual of systematic bacteriology (James T. Staley et al., 1989)에 준하여 진행하였다.

4) 돌연변이주의 개발 :

가) 공시균주 : 황화수소 돌연변이체 균주 제조에는 분리균과 각각 부산대학교 및 협동연구기관 (주)노벨환경기술에서 분양받은 *Thiobacillus* sp. IW 균주와 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주를 공시균으로 이용하였다.

나) 돌연변이 유발 : UV lamp의 254 nm 파장을 변이원(mutagen)으로 사용하여 5초, 10초, 20초, 30초, 40초, 1분, 2분, 3분의 조건으로 분리균 및 분양받은 공시균에 처리하였다

(Jörg Wehner, 1995). 각각의 균을 적정 액체배지에서 18시간 배양하고, 균의 농도를 10^6 /ml로 현탁한 다음 고체배지에 1 ml씩 분주하고 20 cm의 높이에서 0-3분 동안 다양한 시간으로 UV를 조사하였다. UV를 처리한 현탁액을 각각의 고체배지에 도말하고 30℃에서 배양하면서 출현한 콜로니들 중에서 생장이 양호한 콜로니를 선발하여 동일배지에 옮기고 30℃에서 재배양 후 보관하였다.

5) 황화합물의 제거특성 조사 : 공시균주와 변이주들의 황화합물 제거효과를 시험하기 위하여 황(Sulfur), DMS (dimethyl disulfide), sodium thiosulfate 등의 다양한 황화합물들을 Sigma사(U.S.A.)에서 구입하여 배지에 첨가하여 사용하였다.

6) 선발된 돌연변이체 균주의 배양특성 조사 : 선발된 돌연변이 균주의 황화수소 제거효과에 미치는 yeast extract, peptone, tryptone등과 같은 질소원의 영향을 조사하기 위해, 50 mM sodium thiosulfate를 함유하고 있는 배지에 질소원을 첨가한 후 균주의 성장정도를 조사하였다. 또한 균주의 황화수소 제거효과에 미치는 탄소원 종류의 영향을 조사하기 위해, 배지에 glucose, sucrose, fructose를 첨가한 후 성장정도를 조사하였다. 배양온도, pH 등과 같은 균주의 물리화학적 배양특성을 조사하였다.

7) 미생물 생육도의 측정 : 액체배지로 배양중의 균의 생육도 측정은 배양액 2 ml를 채취하여 660 nm에서 측정된 흡광도를 균체량으로 하였다(Sato, C, 1985).

8) 돌연변이체 균주의 환경독성 평가 : 돌연변이체 균주 자체 및 황화수소(H_2S) 제거시 생성될 수 있는 2차 오염물질 혹은 독성물질의 환경에 대한 위해성 평가를 실시한다. 이를 위하여 어류에 대한 독성검사 및 일반콩(*Glycine max*), 팥, 양대, 콩나물콩, 배추, 무 등의 다양한 작물에 대한 종자발아시험을 실시하였다.

가) 돌연변이주의 어독성 시험 : 돌연변이주의 어독성 시험을 위하여 미생물농약의 등록시험방법 및 등록신청서류 검토기준에 의하여 시험을 수행하였다. 시험어종은 (주) 경농에서 어독성 시험을 위하여 인공사육하고 있는 미꾸라지와 일본송사리를 분양받아 사용하였다. 미꾸라지는 5-10 cm, 송사리는 2-3 cm 정도 크기의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다. 또한 적절한 순화 및 급이를 하였으며, 시험개시 24시간 전에는 급이를 중단하였다. 시험용 수조는 유리로된 원통수조를 사용하였으며, 시험용수는 지하수를 사용하여 수온을 20-28℃로 항상 유지하였다. 어류는 수조당 10마리 이상을 넣어 시험하였으며, 돌연변이주 배양액을 10배 희석하여 넣은 후 48시간 및 96시간에서의 치사율을 결정하여 어독성을 시험하였다.

나) 돌연변이주의 주요작물에 대한 독성 시험 : 돌연변이주의 작물에 대한 독성시험을 위

하여 본 연구에서는 배추, 콩, 양대, 무, 팥 등의 작물에 대한 돌연변이주의 발아억제 시험을 수행하였다. 시험방법은 솜에 10배 희석한 배지 및 배양액을 충분히 적신 다음 petri-dish의 바닥에 골고루 퍼뜨린다. 이 위에 종자를 올려놓고 25℃의 growth chamber에서 4일간 배양하여 작물의 발아상태를 조사하였다.

9) 돌연변이 균주들의 혼합배양 : 우수돌연변이체 균주들의 혼합배양을 통한 황화수소(H₂S) 제거효과를 극대화하고자 한다. 이를 위하여 혼합배양의 조건(배지조성, 배양온도, pH 등)을 결정하며 혼합배양에 따른 황화수소의 제거효율 증가와 시간단축에 따른 효과를 평가하였다.

2. 연구개발 결과

가. 악취제거 미생물의 분리 : 황화합물과 암모니아를 90% 제거를 목표로 하여 악취제거 미생물의 분리에 대한 연구를 수행하였으며, 그 결과 황화수소 제거미생물을 순수분리 하였으며 순수분리 과정에서의 분리된 각각의 미생물들의 황화수소제거 효율을 GC (Gas chromatography, HP5890, USA)로 조사하여 최종적으로 제거능이 우수한 2종의 황화수소 제거미생물을 선정하였다. 선정된 황화합물 제거미생물에 대해서 기본 특성 및 제거효율을 조사하였다. 아래 표 1에 황화수소 제거 효능을 보이는 균주의 황화수소 제거효율을 나타내었다. 또한 황화수소 외에 메틸멜캅탄, 에틸멜캅탄을 제거할 수 있는 미생물 분리를 위하여 Table 1에 나타낸 배지 중 기본배지 II(pH 4.0)에서 유리황을 제거할 수 있는 미생물을 분리하였다. 그 결과 유리황을 황산화물로 변환하는 미생물 4종을 분리할 수 있었으며 이들 미생물이 기본배지 II의 조건에서 유리황을 황산화물로 변환시킨 결과를 표 2에 나타내었다. 또한 표 3에 암모니아 제거 미생물의 암모니아 제거효율을 나타내었다.

표 1. 황화합물의 제거를 위해 순수 분리한 미생물들의 황화수소 제거효율

(배양조건 : pH 7.0, 배양시간 48시간, 단위 : 제거효율(%))

미생물*	YA-	YC-	YF-	AE-	DA-	DE-	DE-	DG-	SA-	SA-	SA-
항목	0710	0923	1008	1105	10048	1003	1132	1082	1036	1006	1024
황화수소	40	58	29	31	76	55	88	82	62	49	53

*. 미생물의 명칭은 분리 과정에서 시료채취 지점, 시기, 샘플의 채취 연번 등을 고려 실험자가 임의로 명명한 것임.

표 1에서 보는 바와 같이 분리 과정에서 황화합물의 제거효능이 있는 것으로 판단된 미생물 11 종을 최종적으로 순수분리하고 이들 미생물을 pH 7.0의 조건에서 배양배지에 48시간 배양한 다음 황화수소의 제거효율을 조사한 결과 미생물 DE-1132가 88%, DG-1082가 82%의 제거효율을 보였다. 따라서 이들 미생물을 같은 조건에서 조사하면서 에틸멜캅탄과 메틸멜캅탄을 각각 첨가하고 이들 화합물이 황산화물로 변화되는 효율을 조사하였다. 그 결과 DE-1132가 배양 48시간 후 에틸멜캅탄 51%, 메틸멜캅탄 56%의 변환율을 보였으며, DG-1082는 배양 48시간 후 각각 78%, 73%의 변환율을 보였다. 따라서 최종적으로 DG-1082를 황화합물 제거를 위한 미생물로 선정하였다.

표 2. 유리황에 대한 산화미생물들의 산화능

(배양조건 : pH 4.0, 배양시간 48시간, 단위 : 농도(g/L))

미생물*	YBS-	YES-	AGS-	AES-
항목	1014	1153	1109	1084
황산화물(Sulfate)	0.8	1.1	0.7	0.6

* 미생물의 명칭은 분리 과정에서 시료채취 지점, 시기, 샘플의 채취 연번 등을 고려 실험자가 임의로 명명한 것임.

표 2에서 보는 바와 같이 유리황을 pH 4.0의 조건에서 산화시키는 미생물 4종을 최종적으로 순수 분리하여 유리황의 산화능을 조사하였다. 초기 유리황의 첨가량은 8.0 g/L이었으며 배양 48시간 후 가장 우수한 산화능을 보인 미생물은 YES-1153으로 황산염의 농도가 1.1 g/L이었다. 이때 배지의 pH는 3.4로 나타났다.

표 3. 암모니아 제거를 위해 순수 분리한 미생물들의 암모니아 제거효율

(단위 : 제거효율(%))

미생물*	YDa-	YCa-	DBa-	DBa-	DFa-	DGa-	SBa-	SBa-	SBa-
항목	1153	1214	1037	1024	0122	0154	1244	1205	1038
암모니아 gas	24	48	37	26	27	35	44	19	41

*. 미생물의 명칭은 분리 과정에서 시료채취 지점, 시기, 샘플의 채취 연번 등을 고려 실험자가 임의로 명명한 것임.

표 3에서 보는 바와 같이 암모니아 제거를 위해 순수 분리한 미생물들 중에서 암모니아 제거능을 보이는 미생물은 9종이었으며 이들을 기본 배지에서 24시간 배양한 후 암모니아 gas를 주입하고 24시간 추가배양하면서 암모니아 제거효율을 조사한 결과 YCa-1214 균주가 48%의 제거효율을 보였다.

지금까지 표 1, 표 2 그리고 표 3에서 본 바와 같이 초기 pH 7.0에서 황화수소를 제거하는 미생물의 분리는 성공적인 것으로 판단되며 이 미생물은 기타 황화합물 즉 메틸멜캅탄, 에틸메캅탄에도 비교적 우수한 제거효율을 보이고 있다.

1) 황화합물 제거 미생물의 기본특성 : 상기의 순수 분리한 미생물들 중에서 최종적으로 황화합물 제거미생물로 선정된 DG-1082의 기본적인 특성을 회분식 성장곡선과 온도에 따른 균주 성장능 및 황화수소 제거효율을 이용하여 조사하였다.

가) 회분식 성장곡선 : 그림 1에서 보는 바와 같이 DG-1082는 접종 후 9시간에서 접종 후 24시간까지 지수성장기를 보였으며 이후 배양 48시간까지 정상상태를 유지하였다. 이때 접종량은 1%로 배양배지 100 ml에 대해 24시간 배양한 배양액 1 ml을 접종하였다. 이상의 결과에서 미생물 DG-1082의 균주 성장은 일반적인 세균의 균주성장능과 비슷하게 나타났으며, 이는 아주 우수한 성장능을 가지고 있는 것으로 판단된다.

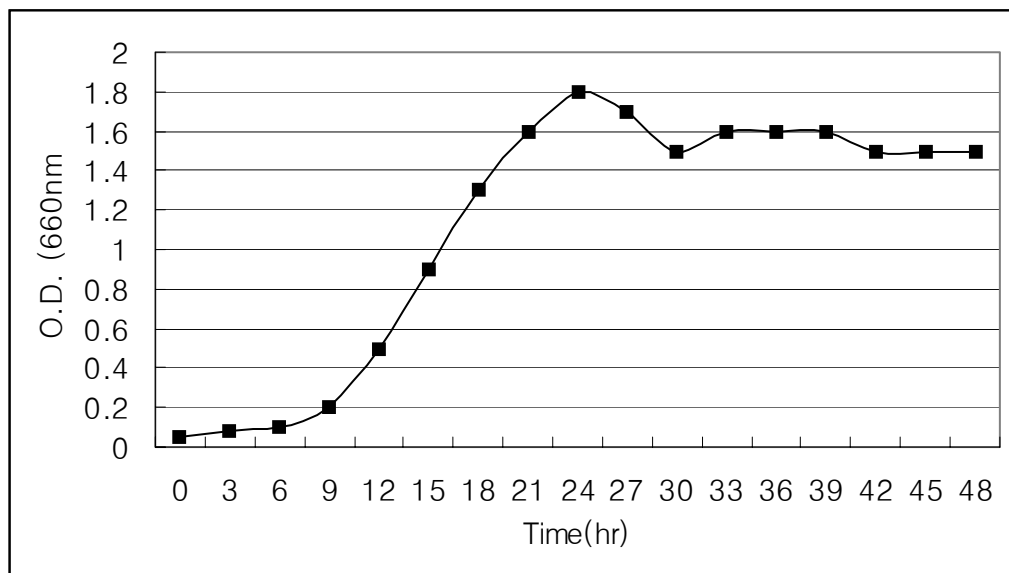


그림 1. 미생물 DG-1082의 기본배지 I에서의 회분식 성장 곡선.

나) 온도에 따른 성장능과 황화수소 제거효율 : 그림 2에서 보는 바와 같이 DG-1082는 35℃에서 최고 균주 성장을 보였으나, 황화수소 제거효율은 30℃에서 더 우수하게 나타났다. 또한 배양온도 25-40℃의 범위에서 양호한 균주 성장능과 황화수소 제거효율을 보여주었다. 상기 결과에서 볼 때 DG-1082는 전반적으로 넓은 온도 범위에서 우수한 황화수소 제거효율을 보여주어 현장에 적용할 때 외부환경조건 중 온도조건의 변화에 따른 충격을 쉽게 이겨낼 수 있어 활용성이 우수한 것으로 판단된다.

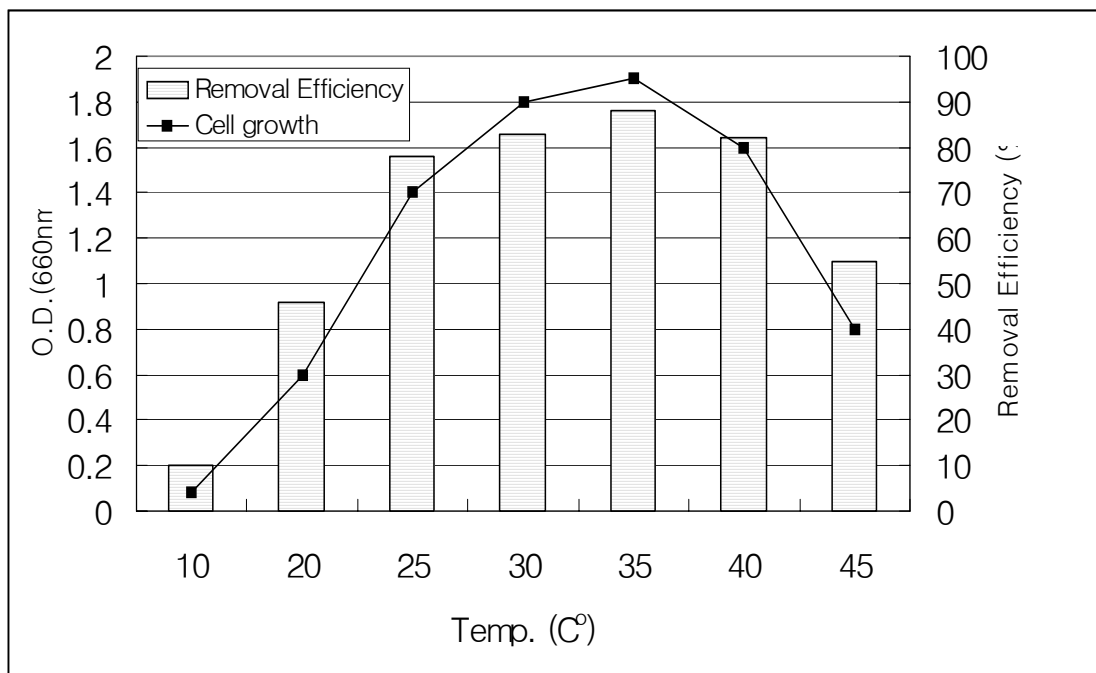
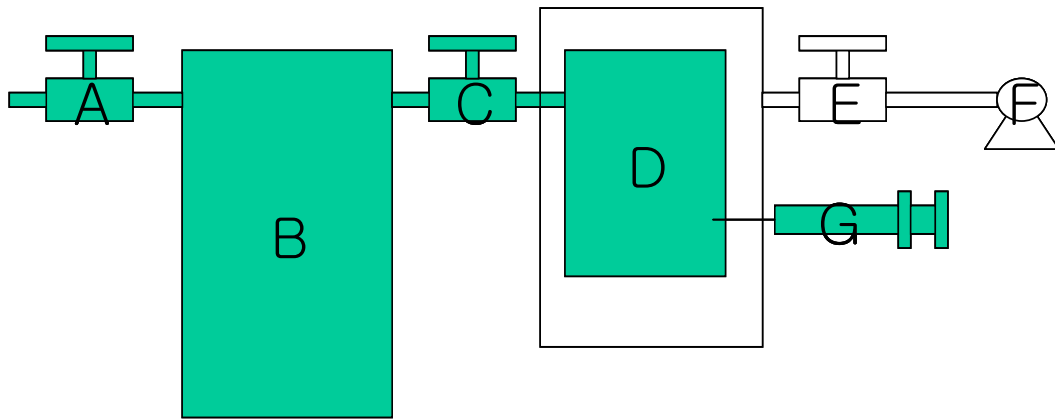


그림 2. 미생물 DG-1082의 배양온도에 따른 성장능과 황화수소제거 효율(24시간 배양).

다) 밀폐형 생물학적 약취제거 system의 구성 : 생물반응기와 약취원인물질 포집장치로 구성된 system을 완성하였으며 본 system은 분리한 미생물을 회분식으로 배양하면서 약취원인물질의 제거효율을 조사하는데 사용하기 위해 제작하였다. 아래 그림 3에 system의 모식도를 나타내었다.



- A: 불소수지제콕크(반응기내 약취원인물질 주입용)
- B: 생물반응기
- C: 불소수지제콕크
- D: 시료채취주머니
- E: 흡입콕크
- F: 흡입펌프
- G: 시료채취용 주사기

그림 3. 생물반응기와 연계된 약취포집장치의 모식도.

2) 약취제거미생물의 특성조사 (pH, 온도, 산소조건 등) : 1차년도에 분리한 황화수소제거 미생물인 DG-1082를 medium(1) 배지에 희석하여 30℃, 다양한 pH에서 미생물의 성장곡선을 결정하여 Fig. 1에 나타내었다. 배지 중의 초기 pH는 0.1 M HCl과 0.1 M NaOH를 사용하여 조절하였다. 그 결과 배지의 초기 pH값이 6.0-8.0 범위에서 미생물의 성장속도가 빨랐으며 pH 5.0와 pH 9.0에서는 미생물의 성장속도가 느렸다. 그러나 배양시간이 21시간으로 되었을 때는 pH 5.0에서도 미생물이 많이 성장하는 것을 볼 수 있는데 이것은 아마도 시간이 경과함에 따라 미생물이 성장함으로써 pH값이 7부근으로 상향된 데 기인

한 것으로 보인다. 초기 pH값이 7일 때 18시간 경과시 균체농도가 최대치를 보였으며 그 이후에는 조금 감소하였으나 66시간까지는 세포농도의 값이 큰 변화가 없었다.

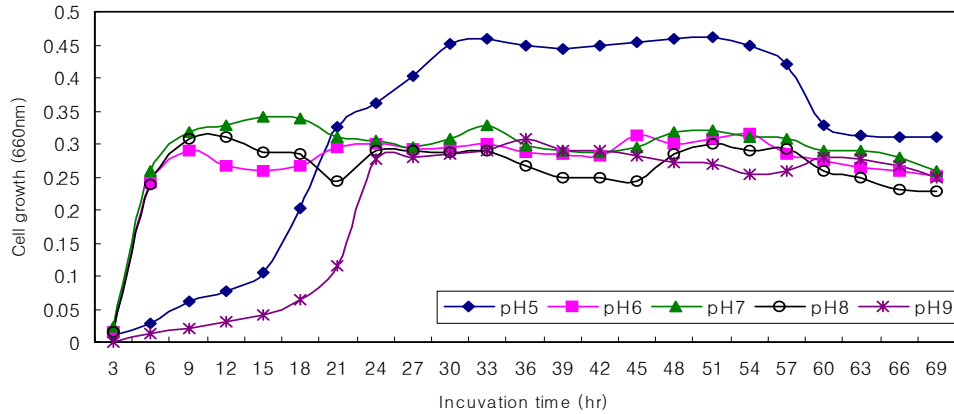


Fig. 1. Cell growth curve of DG-1082 at various pHs.

한편 1차년도에 분리한 또 다른 미생물인 YES-1153 균주를 황 대신에 thiosulfate로 대체된 medium(1)배지를 사용하여 미생물을 배양하였다. 황을 대신한 이유는 황은 고체 분자로 물에 녹지 않으므로 실험용 액체배지에 첨가하여 진탕을 하더라도 수용성 상태가 아닌 콜로이드 상태로 진탕이 되며, 황을 이용하는 세균들이 불수용성의 황을 세포내로 수용하기가 쉽지 않으며, 배지의 멸균조작의 열로 인해 콜로이드상의 황입자들이 서로 엉겨 큰 덩어리가 형성되어 배지상의 미생물의 성장특성을 파악하기가 힘들어 thiosulfate 배양액으로 대체하였다. YES-1153 균주를 medium(1) 배지에 희석하여 30°C, 다양한 pH에서 시간에 따른 미생물의 성장곡선을 결정하여 Fig. 2에 나타내었다. 초기 pH가 4.0인 배양액에서 균체가 가장 잘 성장되었으며, pH 3.0에서는 미생물이 거의 성장하지 않았다. 배양 21시간 경과 시 균체농도가 최고점에 도달한 후 69시간까지 거의 변화가 없었다. 이상의 결과는 황을 이용하는 YES-1153 균주가 황 대신 thiosulfate를 첨가한 배지에서도 잘 자랐음을 볼 수 있으며, pH 4.0에서 미생물이 가장 잘 자랐으나 pH 5.0-7.0의 넓은 범위에서도 비교적 잘 자란다는 것을 알 수 있다.

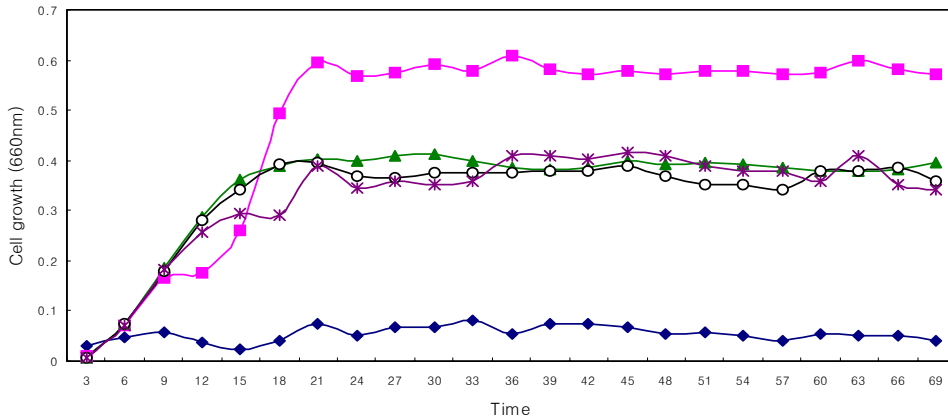


Fig. 2. Cell growth curve of YES-1153 strain at various pHs.
 ◆ pH3 ■ pH4 ▲ pH5 ○ pH6 * pH7

온도가 미생물 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해, thiosulfate가 함유된 medium(1)을 희석하여 DG-1082를 각각 30, 35, 40℃에서 36시간 동안 진탕배양하였다. 12시간마다 시료를 채취하여 균체농도를 측정하는 것을 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과 30℃와 35℃에서 균체성장이 가장 높게 나타났으며, 40℃에서는 균체농도가 현저히 적었음을 볼 수 있다. 24시간 후에 균체농도가 감소한 것은 배지속의 미생물에 의한 성장에 필요한 영양분을 대부분 이용하는데 기인한 것으로 사료된다.

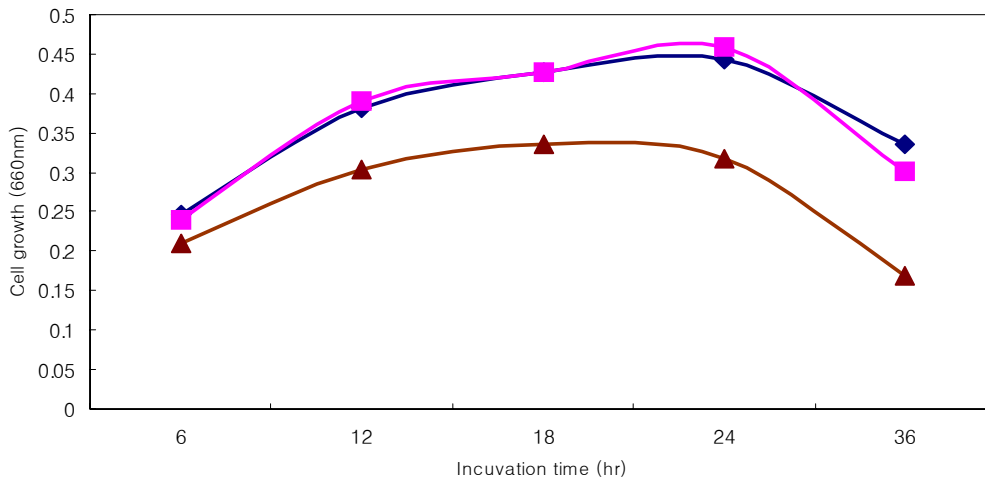


Fig. 3. Effect of temperature on cell growth of DG-1082 strain.
 ◆ 30°C ■ 35°C ▲ 40°C

한편 YES-1153 균주에 대한 최적 배양온도를 결정하기 위하여 thiosulfate가 함유된 medium(1)에 넣고 균체를 접종한 후 각각 30, 35, 40℃에서 36시간동안 배양하였다. 12시간마다 시료를 채취하여 균체농도를 측정하는 것을 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 배양 12시간에서는 30℃에서 균체농도가 가장 높았으나, 배양 18시간 이후에는 35℃에서 배

양한 것이 가장 높게 나타났다. 30℃와 35℃에서는 시간에 따른 균체농도에서 큰 차이가 없었으나, 40℃에서는 미생물 성장 정도가 현저히 낮음을 볼 수 있다.

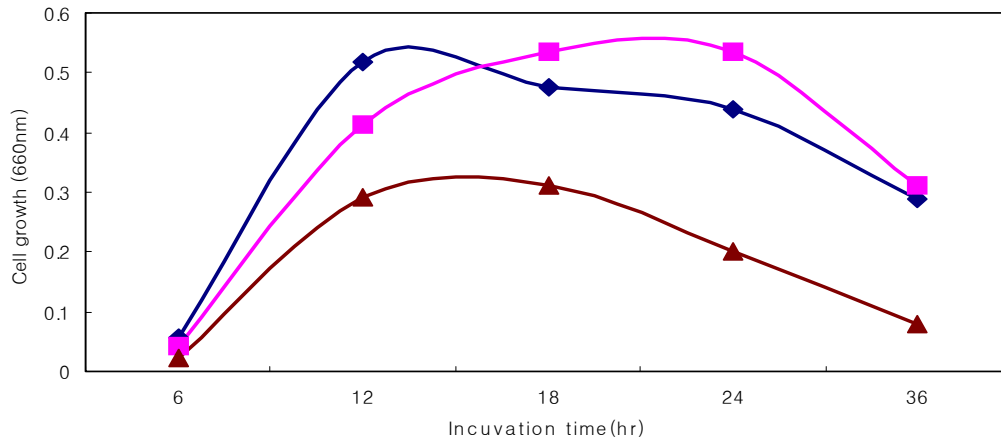


Fig. 4. Effect of temperature on cell growth of YES-1153 strain.
 —◆— 30℃ —■— 35℃ —▲— 40℃

온도에 따른 균체성장특성 데이터로부터 DG-1082를 30℃에서 배양하여 12시간마다 시료를 채취하여 황산이온농도를 IC 분석기를 이용하여 측정하였으며, YES-1153은 35℃에서 배양하여 12시간마다 시료를 채취하여 황산이온농도를 측정하였다 (Fig. 5). 결과를 보면 24시간까지는 DG-1082와 YES-1153을 배양한 배양액 중의 sulfate 농도는 비슷하였으나 시간경과에 따라 황산이온의 농도가 증가됨을 볼 수 있었으며, 36시간에서는 YES-1153 배양액 중에서 sulfate 농도가 DG-1082에 비해 훨씬 높게 측정되었다. 시간에 따라 sulfate 농도가 증가되는 것은 DG-1082와 YES-1153이 종속영양균으로 생각되어지며, 이 미생물들이 $S_2O_3^{2-} + H_2O + 2O_2 \rightarrow 2H^+ + 2SO_4^{2-}$ 와 같은 반응식으로 thiosulfate를 sulfate로 변환시켜 sulfate가 증가되는 것으로 사료된다. Fig. 5에서 보면 36시간에서 sulfate가 급증하는 것은, Fig. 3과 Fig. 4에서 미생물 농도가 24시간에서 최대를 보이고 그 이후에는 세포농도가 감소되는 것을 볼 때, 24시간까지는 생성된 sulfate가 세포골격을 만드는데 사용되어 sulfate 농도의 증가가 미미하였으나 세포성장이 멈춘 24시간 이후에는 상기 반응식에 따라 생성된 sulfate가 많이 축적되는데 기인하는 것으로 판단할 수 있다. YES-1153은 황뿐만 아니라 thiosulfate도 잘 이용하는 넓은 범위의 황원을 이용할 수 있는 미생물인 것으로 추측된다.

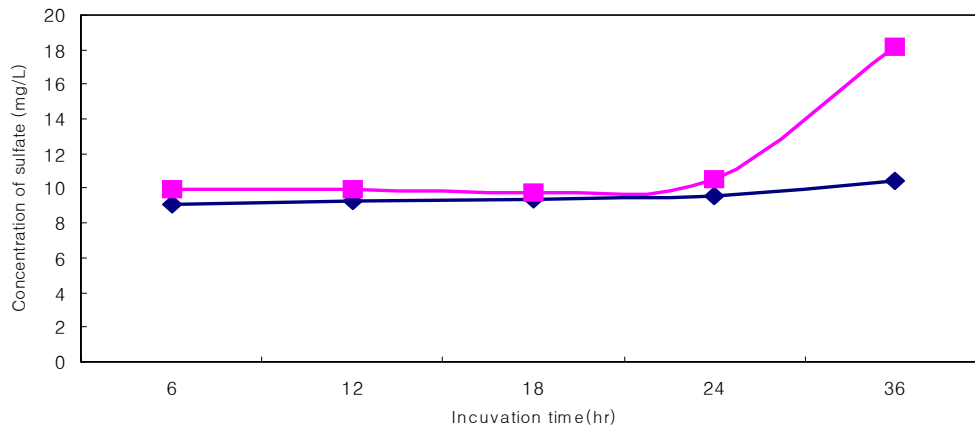


Fig. 5. Time course of sulfate concentration using DG-1082 & YES-1153 strains.

◆ 1082 ■ 1153

DG-1082를 84시간 현탁 배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 SEM으로 25,000배 확대한 사진을 Fig. 6에 나타내었다. 이 미생물은 거의 구형에 가까우며, cell debris도 부분적으로 관찰되었다.

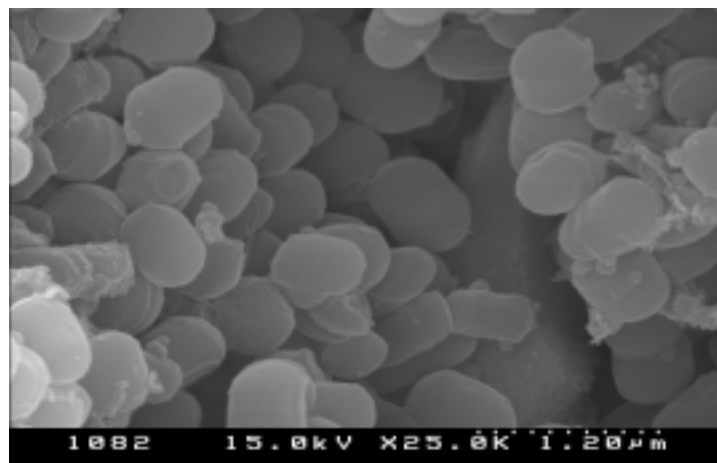


Fig. 6. Scanning electron micrograph of the strain DG-1082.

또한 YES-1153을 84시간 현탁 배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 전자현미경(SEM)으로 25,000배 확대한 결과사진을 Fig. 7에 나타내었다. 이 사진을 보면 같은 25,000배로 확대한 Fig. 6의 DG-1082에 비해 월등히 큰 것을 관찰할 수 있다.

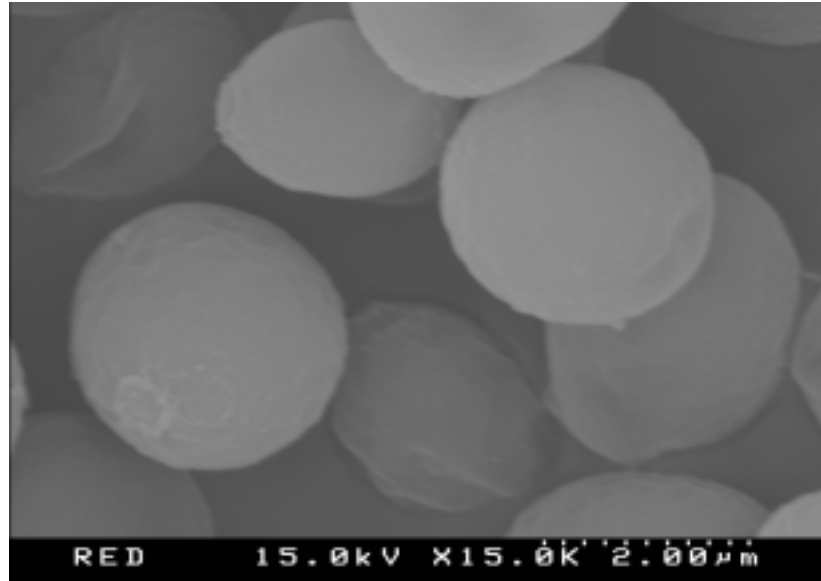


Fig. 7. Scanning electron micrograph of the strain YES-1153.

산소조건에 따른 약취제거 효율을 조사하기 위하여 thiosulfate를 함유한 medium(1)에 DG-1082와 YES-1153을 96시간 호기적 조건과 무산소 조건으로 각각 배양하여 비교하였다. 실험방법은 먼저 500 ml 삼각플라스크에 실리스토프를 막고 호기적 조건에서 24시간 배양하였다. 무산소 배양은 24시간 배양한 배양액을 ultrasonic cleaner로 탈기한 후 멸균된 실리콘 마개로 막고 72시간 30℃에서 계속 배양하였다. 호기적 배양은 24시간 배양한 배양액을 멸균된 실리스토프로 막고 72시간 30℃에서 계속 배양하였다. 미생물의 세포농도를 측정할 결과 상기 실험방법으로는 세포농도에 큰 차이점을 발견할 수 없었으며 산소조건에 크게 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

- 3) 미생물의 혼합배양 : 2차년도 실험을 통하여 YES-1153 균주는 pH 4.0에서 가장 효율적으로 thiosulfate를 이용하는 것으로 확인되었다. 한편 2차년도에 신규로 분리한 thiosulfate 이용 균주인 AD-1247을 YES-1153과 함께 thiosulfate 함유 medium(1)에서 혼합배양하면서 pH에 따른 미생물 성장정도를 조사하였다. 그 결과 초기 pH를 각각 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0으로 한 medium(1)에 두 균주를 함께 넣고 18시간 배양한 결과(Fig. 8), YES-1153을 단독으로 배양한 결과와는 달리, pH 6.0에서 성장이 제일 잘 되었음을 볼 수 있으며, pH 4.0에서부터 pH 7.0까지 비교적 넓은 범위에서 균체성장이 높게 나타났다. pH 3.0에서는 YES-1153을 단독으로 배양한 결과와 마찬가지로 균체가 잘 자라지 않았다. 이상의 결과는 YES-1153과 AD-1247을 혼합배양하여 실제 현장에서 폭넓은 pH에서 유용하게 활용할 수 있는 큰 장점이 있는 배양기법인 것으로 사료된다.

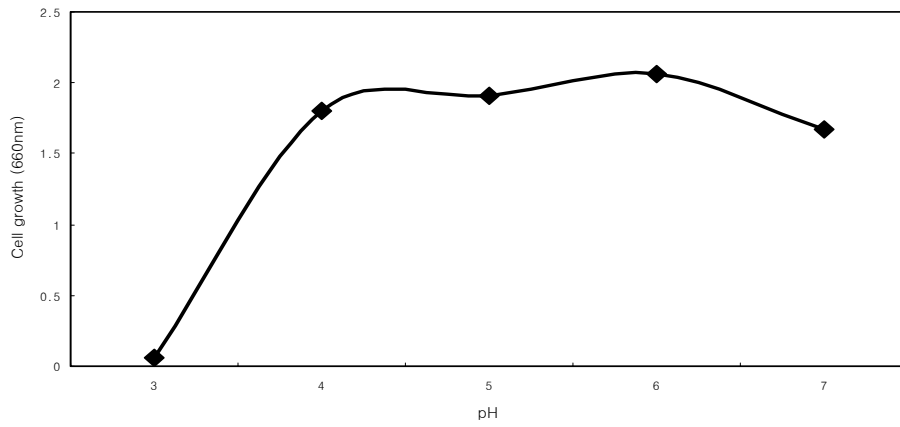


Fig. 8. Effect of pH on cell growth after 18hrs of shaking incubation using consortium strain YES-1153 & AD-1247.

YES-1153과 AD-1247을 84시간 혼합, 현탁배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 SEM으로 10,000배 확대한 사진을 Fig. 9에 나타내었다. 여기서 보면 YES-1153은 상당히 크게 나타났으나, AD-1247은 상대적으로 작게 나타났다. 이 사진을 보면 YES-1153과 AD-1247은 서로 협조하여 성장이 잘 되었음을 볼 수 있다.

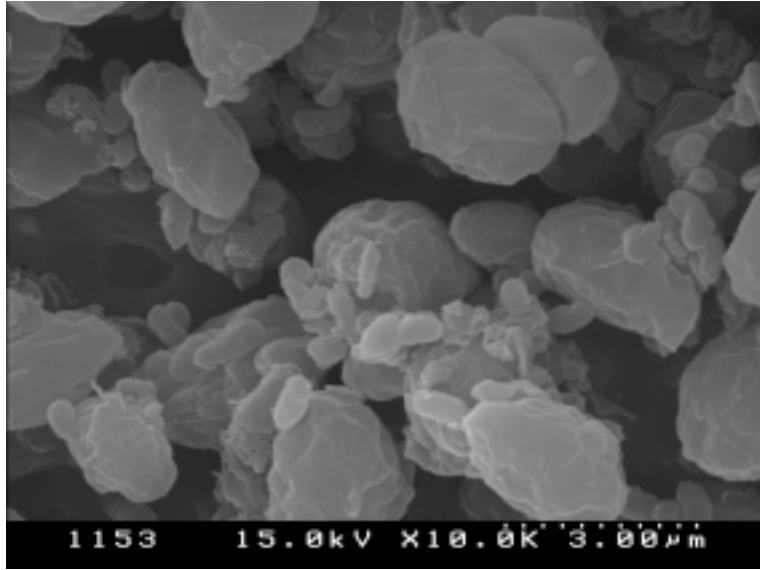


Fig. 9. Scanning electron micrograph of the consortium of strain YES-1153 & AD-1247.

4) 약취(암모니아)제거미생물의 특성조사 : YCa-1214를 Table 1의 배지를 기본으로 하여 35℃에서 질소원을 달리하여 시간에 따른 미생물의 성장곡선을 본 것을 Fig. 10에 나타내었다. 즉, Table 1의 배지 중에서 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 을 제외한 성분은 동일한 조성으로 하고, 질소원은 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (8.0 g/L)중의 질소원소가 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , NaNO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 중의 질소원소와 동일한 값이 되도록 content 양을 각각 달리하였다. Fig. 10에서 보면 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 NH_4Cl 일 때 세포가 잘 성장되었으며, 질소원이 각각 NH_4NO_3 , NaNO_3 , KNO_3 일 때 세포농도는 비슷하였으나 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 NH_4Cl 일 때에 비해서는 못하였다. 반면에 질소원이 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 일 때는 세포가 거의 증식되지 않았다. 이는 YCa-1214가 세포증식을 하는데 질산이온에 비해 암모늄 이온을 훨씬 선호하는 것으로 볼 수 있으며, 몰리브데이트는 YCa-1214 세포증식에는 방해하는 것으로 사료된다.

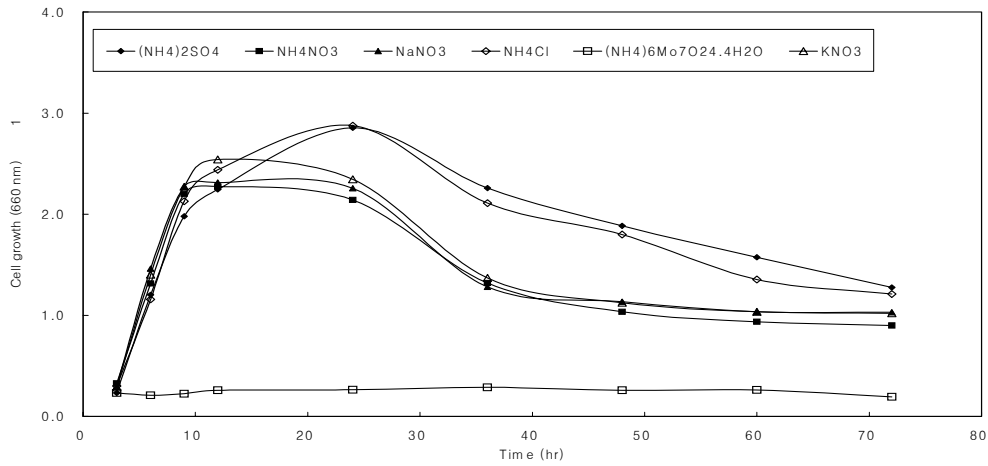


Fig. 10. Growth curve of YCa-1214 strain at various nitrogen sources.

배지의 초기 pH가 세포 성장에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 Table 1의 조성의 배지(질소원 = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)에 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 으로 하여 60시간 배양한 결과를 Fig. 11에 나타내었다. 초기 pH 7.0 일 때 세포 성장 속도가 가장 빨랐으며 pH 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 에서도 비슷한 세포 성장 곡선을 보였다. 그러나 pH 4.0과 pH 5.0에서는 초기 24시간까지는 세포 성장이 거의 이루어지지 않았으나 그 후로는 세포 성장이 급격하게 이루어졌다. 이는 Fig. 12에서 보는 바와 같이 초기 pH 4.0과 pH 5.0 이 배양시간이 경과함에 따라 꾸준히 pH값이 증가하여 미생물 성장에 적절한 pH값에 도달하여 비로소 미생물 성장이 활발하게 이루어진 것으로 사료된다. 이것으로 미루어 볼 때, 세포 성장의 최적 pH값은 7.0 부근이며 pH 6.0 이상의 비교적 넓은 범위에서 미생물 성장이 우수한 것으로 사료된다.

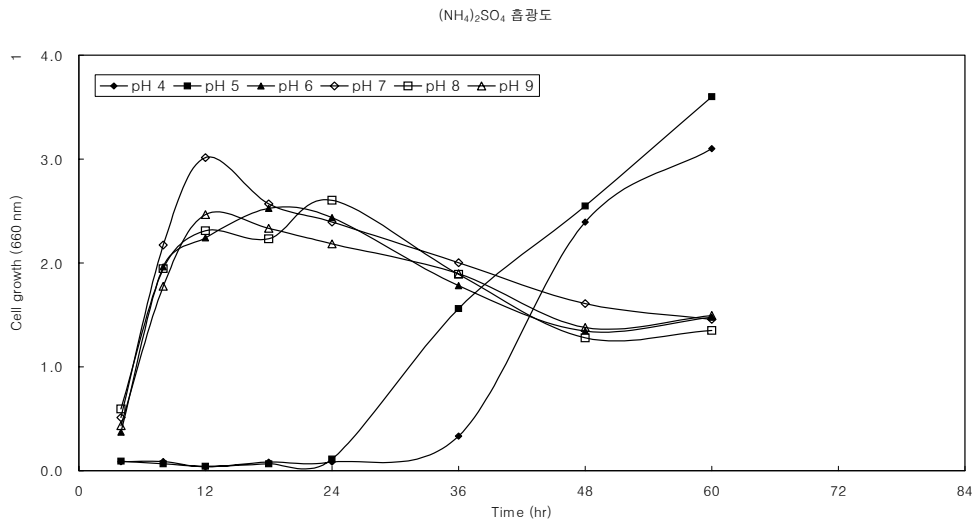


Fig. 11. Cell growth curve of YCa-1214 at various initial pH. In this experiment, the nitrogen source is $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 인 배지에 초기 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 으로 하여 60 시간 배양하였을 때 배양기간 동안 일정한 시차를 두고 시료를 채취하여 배양액의 pH를 측정하여 Fig. 13에 나타내었다. 여기서 보면 초기 pH 4.0과 초기 pH 5.0에서 세포가 배양함에 따라 pH 값이 꾸준히 증가됨을 볼 수 있었다.

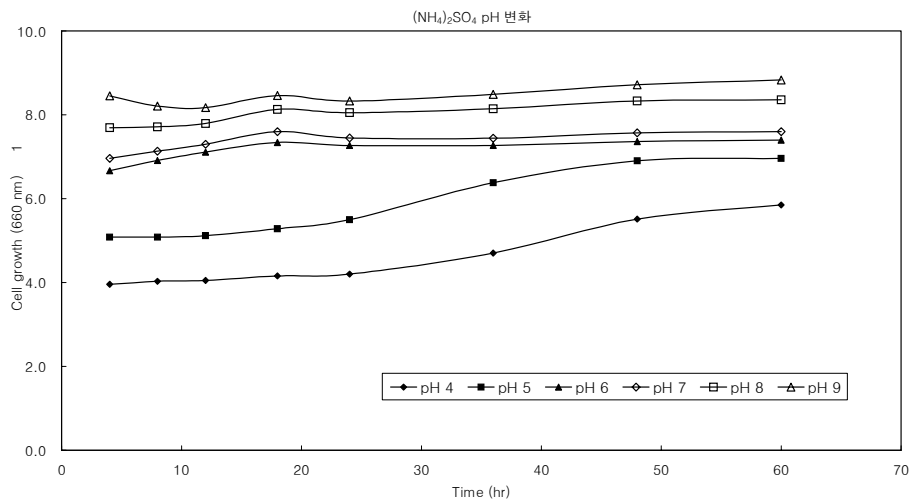


Fig. 12. Time course behaviour of pH after culturing YCa-1214 at various initial pH. In this experiment, the nitrogen source is $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Table 1의 배지에 질소원 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 대신 NH_4Cl 을 8.0 g/L를 넣고, 초기 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 으로 하여 60시간 배양하였을 때 세포 성장 곡선을 Fig. 13에 나타내었다. 여기서 보면 pH 7.0에서 세포 성장 속도가 가장 빨랐으며 pH 9.0에서는 세포 성장이 비교적 떨어졌다. pH 4.0에서는 12시간이 경과한 후부터 비로소 세포 성장이 활발히 이루어지

기 시작하였다. 이는 Fig. 12의 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 인 경우와 비슷한 양상을 보였다.

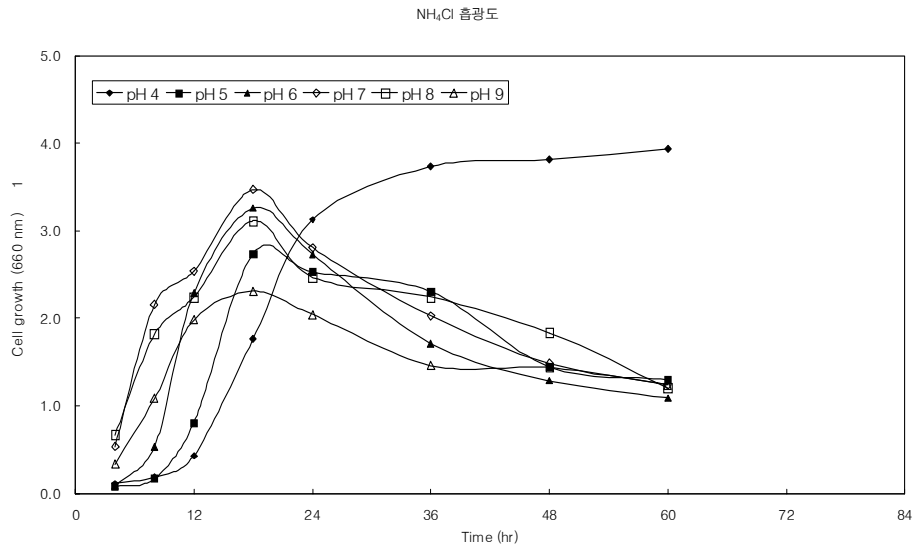


Fig. 13. Cell growth curve of YCa-1214 at various initial pH. In this experiment, the nitrogen source is NH_4Cl .

질소원이 NH_4Cl 인 배지에 초기 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 으로 하여 60시간 배양하였을 때 배양기간 동안 일정한 시차를 두고 시료를 채취하여 배양액의 pH를 측정하여 Fig. 14에 나타내었다. 여기서 보면 초기 pH 4.0에서, 세포가 배양 시간이 경과됨에 따라 pH 값이 꾸준히 증가됨을 볼 수 있었다.

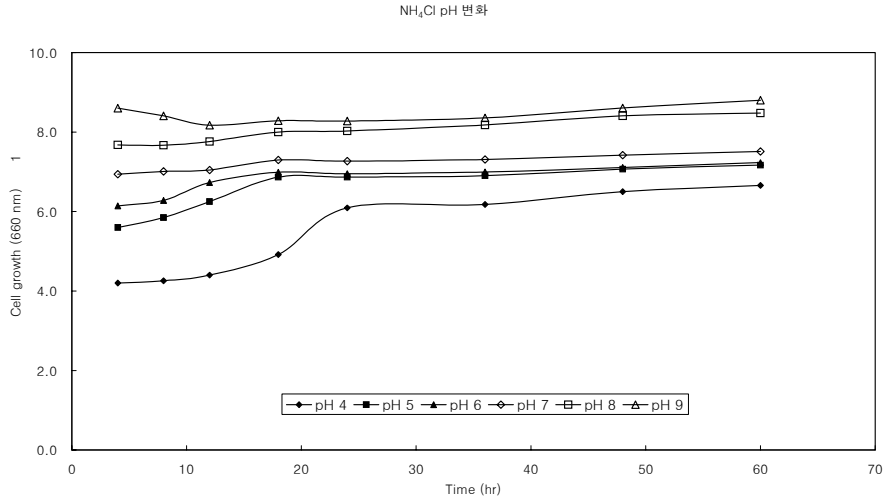


Fig. 14. Cell growth curve of YCa-1214 at various initial pH. In this experiment, the nitrogen source is NH₄Cl.

온도가 세포 성장에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해, 질소원이 (NH₄)₂SO₄ 인 Table 1의 medium에 YCa-1214를 30°C, 35°C, 40°C에서 60시간동안 배양하였다. 초기는 4시간 마다 그 후는 12시간마다 시료를 채취하여 세포 농도를 측정하는 것을 Fig. 15에 나타내었다. 여기서 보면 40°C에서는 초기에는 세포 농도가 높게 나왔으나 24시간 이후에는 35°C와 30°C에서 세포 농도가 높게 측정되었다. 36시간 이후에는 세포 농도가 전반적으로 감소한 것은 세포들이 세포 성장에 필요한 영양분을 대부분 이용하는데 기인한 것으로 사료된다. YCa-1214는 배양 온도 30°C에서 40°C의 넓은 범위에서 양호한 균주 성장능을 보여주었으며 특히 35°C에서 최적 미생물 성장 온도로 생각된다.

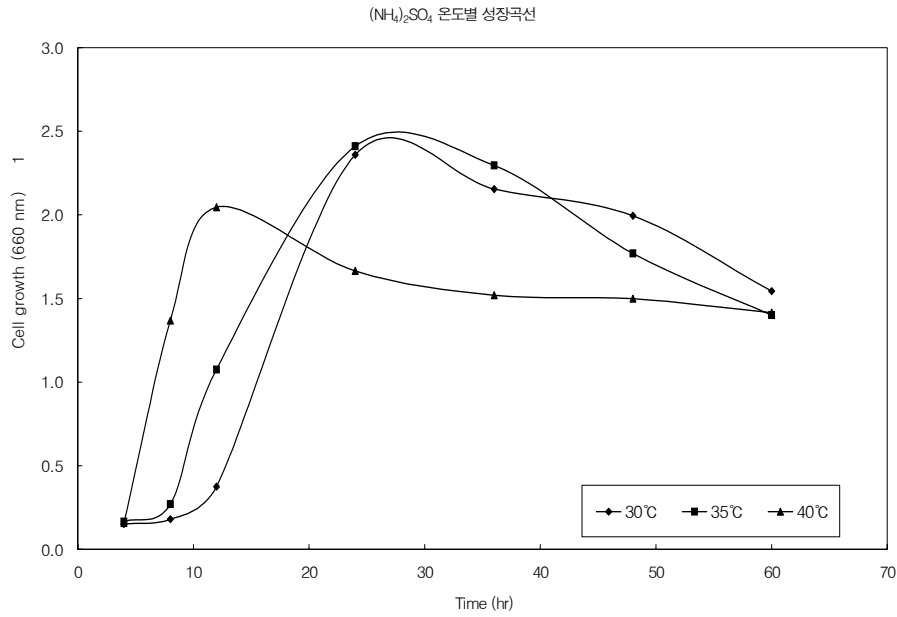


Fig. 15. Effect of temperature on cell growth (YCa-1214). In this experiment, the nitrogen source is (NH₄)₂SO₄.

Table 1의 조성에서 질소원을 (NH₄)₂SO₄ 대신에 NH₄Cl로 치환한 medium에 YCa-1214를 30°C, 35°C, 40°C에서 60시간동안 배양하였다. 초기는 4시간 마다 그 후는 12시간마다 시료를 채취하여 세포 농도를 측정하는 것을 Fig. 16에 나타내었다. 여기서 보면 40°C에서는 초기에는 세포 농도가 높게 나왔으나 24시간 이후에는 35°C와 30°C에서 세포 농도가 높게 측정되었다. 36시간 이후에는 세포 농도가 전반적으로 감소한 것은 세포들이 세포 성장에 필요한 영양분을 대부분 이용함에 기인한 것으로 사료된다. YCa-1214는 배양 온도 30°C에서 40°C의 넓은 범위에서 양호한 균주 성장능을 보여주었으며 특히 35°C에서 최적 미생물 성장 온도로 생각된다. 이것은 질소원을 (NH₄)₂SO₄로 하여 실험한 Fig. 15의 결과와 비슷한 경향을 보였다.

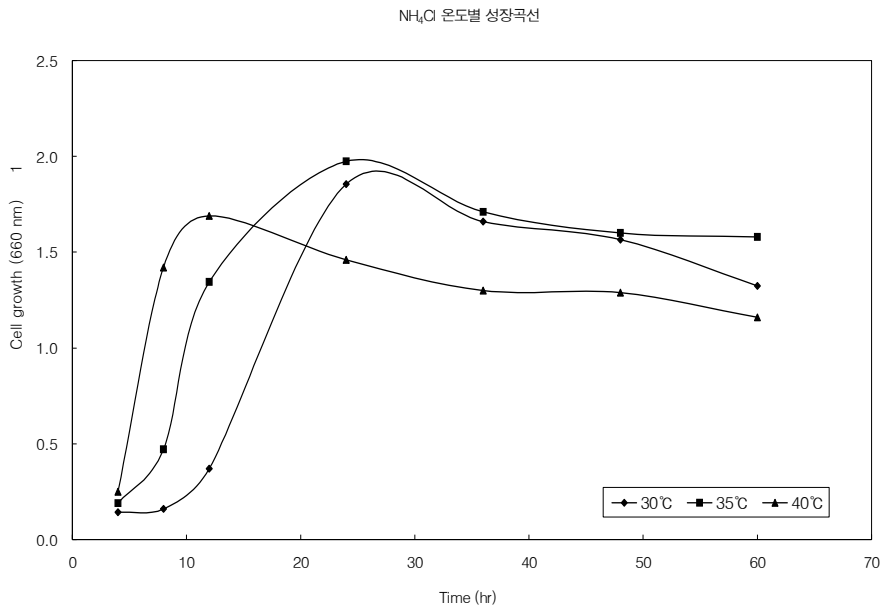


Fig. 16. Effect of temperature on cell growth (YCa-1214). In this experiment, the nitrogen source is NH₄Cl.

YCa-1214를 60시간 현탁 배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 SEM으로 40,000배 확대한 사진을 Fig. 17에 나타내었다. 간균 형태의 미생물이며, cell debris도 부분적으로 관찰되었다.

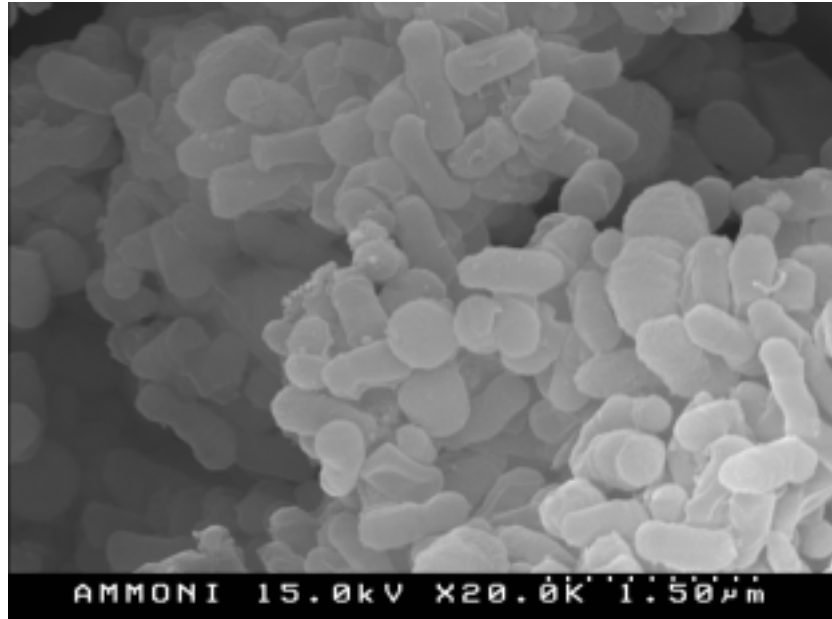


Fig. 17. Scanning electron micrograph of the strain YCa-1214.

5) 약취제거 미생물의 동정 및 배양특성 조사 : 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 다음 NCBI에서 제공되는 BLAST를 사용하여 분리된 약취제거 미생물을 동정하였다. 또한 yeast extract, peptone, tryptone 등과 같은 질소원 및 glucose, sucrose, fructose, maltose와 같은 탄소원을 첨가한 다음 균주의 배양특성을 조사하였다. 배양온도, pH, agitation speed 등과 같은 물리적 특성에 대하여서도 조사하였다.

분리된 약취제거 미생물의 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과 DG-1082 균주는 *Arthrobacter* sp.와 염기상동성(sequence homology)이 99%, YES-1153은 *Enterobacter* sp.와 98%, YCa-1214 균주는 *Bacillus cereus*와 99%의 염기상동성을 각각 보였으므로 DG-1082는 *Arthrobacter* sp. DG-1082, YES-1153은 *Enterobacter* sp. YES-1153, YCa-1214는 *Bacillus cereus* YCa-1214로 명명하였다(Fig. 18 - 20).

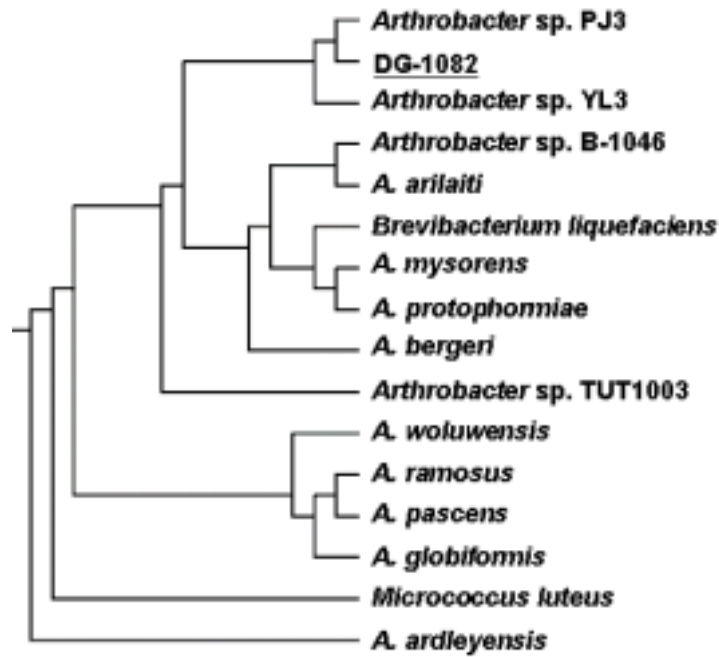


Fig. 18. Dendrogram derived from Cluster-X (Kyoto University Bioinformatics Center) of 16S rRNA gene sequences of isolate DG-1082. Sequence was aligned with 16S rRNA sequences obtained from a BLAST search of the NCBI database.

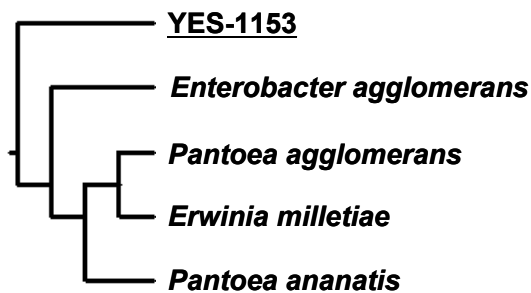


Fig. 19. Dendrogram derived from Cluster-X (Kyoto University Bioinformatics Center) of 16S rRNA gene sequences of isolate YES-1153. Sequence was aligned with 16S rRNA sequences obtained from a BLAST search of the NCBI database.

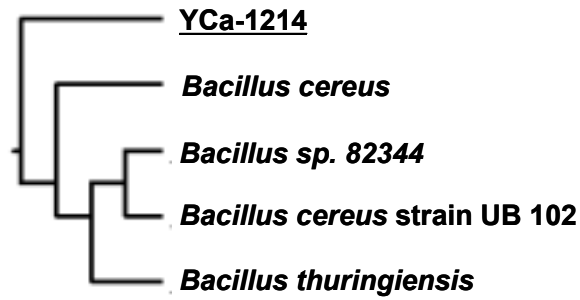


Fig. 20. Dendrogram derived from Cluster-X (Kyoto University Bioinformatics Center) of 16S rRNA gene sequences of isolate YCa-1214. Sequence was aligned with 16S rRNA sequences obtained from a BLAST search of the NCBI database.

황화합물에 대하여 가장 분해능이 우수한 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주를 이용하여 황화합물의 제거 및 질소원 및 탄소원에 대한 성장특성을 조사하여 그 결과를 Fig. 21 - 24에 나타내었다.

DG-1082의 에너지원으로 sodium thiosulfate 황화합물을 사용하여 25-100 mM의 농도에서 24시간 배양하면서 성장정도를 조사하였다. DG-1082는 25 mM 농도에서 성장이 잘 되었다(Fig. 21). 또한 탄소원으로는 glucose와 maltose를 잘 이용한 것으로 나타나 이것은 기존에 알려진 *Arthrobacter* sp.종의 성장특성과 유사하였다(Fig. 22). 그리고 질소원으로는 yeast extract를 잘 이용하였으며 0.5% 농도에서 성장이 잘 되었다(Fig. 23 - 24).

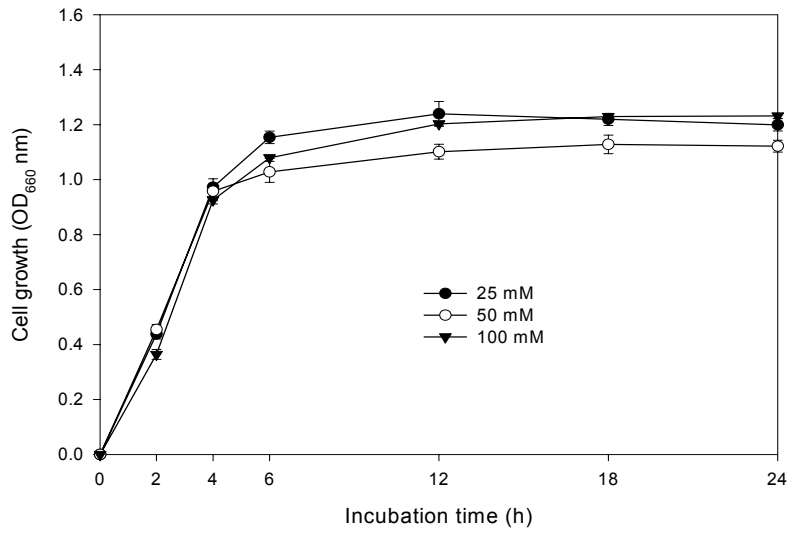


Fig. 21. Effect of sodium thiosulfate on cell growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 strain at 30°C and 200 rpm, respectively.

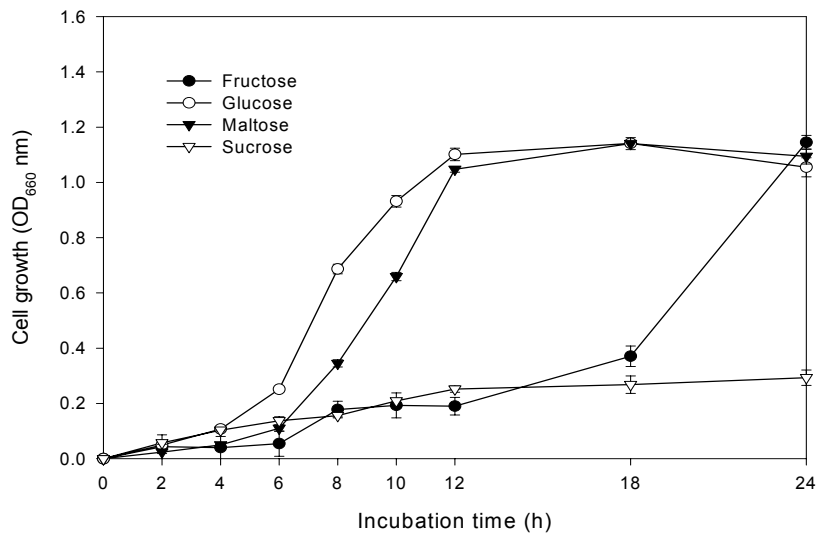


Fig. 22. Effect of 2.0% carbon sources on cell growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 strain at 30°C and 200 rpm, respectively.

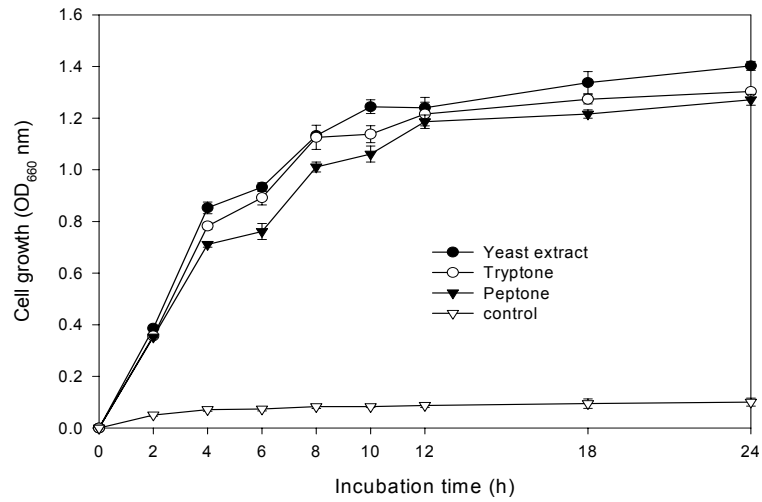


Fig. 23. Effect of 1.0% nitrogen sources on cell growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 strain at 30°C and 200 rpm, respectively.

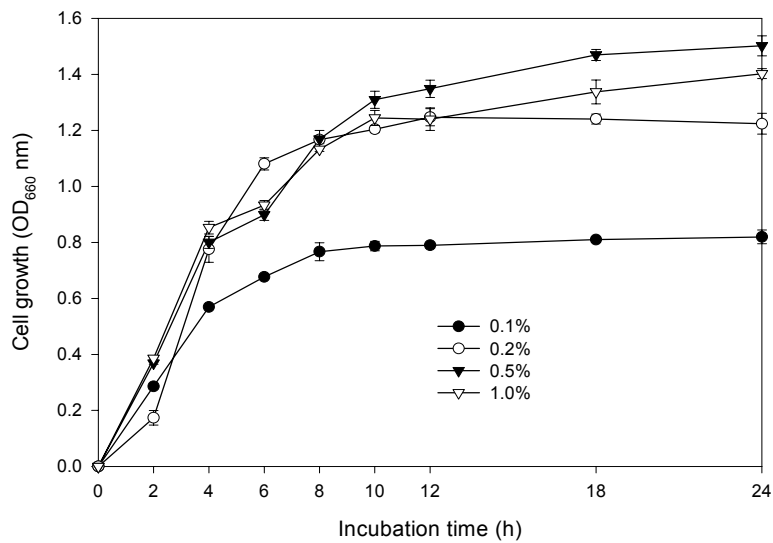


Fig. 24. Effect of yeast extract on cell growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 strain at 30°C and 200 rpm, respectively.

배양기 회전속도가 성장에 주는 영향을 조사하기 위해 회전속도를 100, 150, 200

rpm으로 조절하고 24시간 동안 배양하면서 성장정도를 조사하였다. DG-1082는 회전속도가 높을수록 성장정도가 빨랐으며, 200 rpm에서 성장이 가장 양호하였다 (Fig. 25).

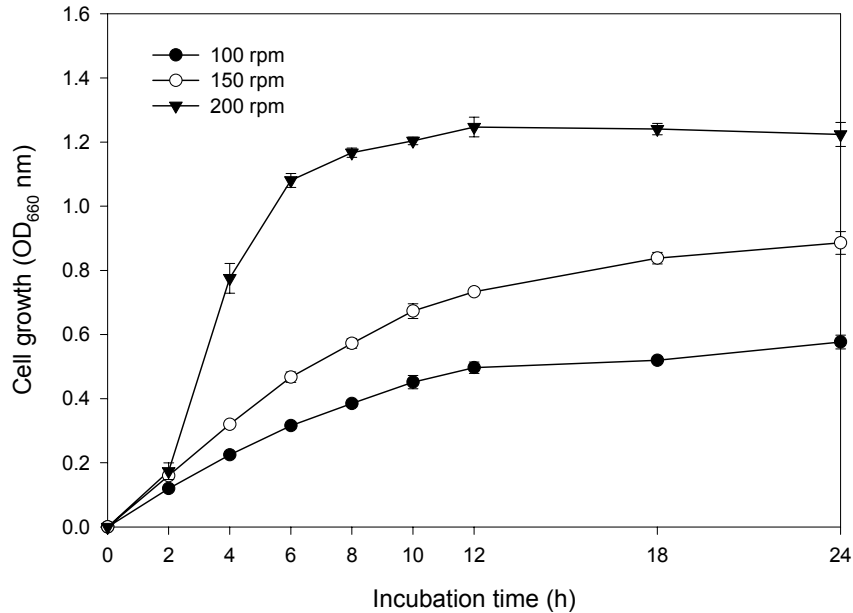


Fig. 25. Effect of agitation on cell growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 strain at 30°C.

나. 돌연변이주의 개발

- 1) 균의 선발 : 경북 경산시 일대의 토양과 하수 및 퇴비로부터 시료를 채취하여 냉장보관 하면서 목적하는 균의 분리를 진행하였다. 먼저 각 시료를 적당량 취하여 S6 액체배지에 넣고 30°C에서 2주간 진탕배양하면서 수시로 배양액의 일부를 채취하여 10-1,000배의 생리식염수로 희석하여 S6 평판배지(pH 6.0)에 도말하였다. 시료가 도말된 각각의 S6 평판배지를 적당히 밀봉하고 30°C의 배양기에서 7-10일 정도 배양하면서 각 시료들로부터 출현한 세균 콜로니들 중에서 육안으로 보았을 때 콜로니의 색깔과 크기, 콜로니 내외의 모양이 다르다고 인정되는 세균의 콜로니 총 25주의 세균들을 분리하였다. 분리한 균주 25주를 대상으로 S6 평판배지(pH 6.0)에 도말하고 30°C에서 1주일 이상 배양한 다음 출현한 콜로니들의 직경을 측정하여 생육도를 비교하였다. 분리균주 총 25주 중에서 배양 속도가 비교적 빠르다고 판단된 흰색 콜로니의 U21, S3 균주를 선별하였고, 이들의 배양 속도를 재확인하여 비교한 결과 U21의 배양속도가 가장 우수한 것으로 판단되어 다음부터 진행되는 실험에 U21을 사용하였다.

2) 분리균 U21의 동정 : 분리균들 중에서 S6 평판배지에서 배양속도가 가장 양호한 U21을 대상으로 Bergy's manual of systematic bacteriology에 따라 분류동정을 진행하였다. 분리균은 그람음성 간균으로 운동성이 있고, TAM 고체배지에서 흰색의 콜로니를 형성하였다(Fig. 26). 그러나 대조균주 *Thiobacillus thioparus* (ACTC 23645)가 30°C에서 2주 이상 배양시 콜로니 내부에 황 침전이 관찰된 것과 달리 분리균 U21은 콜로니 내부에 황의 침전으로 보여지는 현상이 전혀 관찰되지 않았다. 최적 pH 범위는 5.5-8.0 (최적 pH는 6.3)이었고, 그 이외의 범위에서는 배양되지 않았다. 또한 배양 최적온도는 30°C이고, 배양가능한 최대온도는 55°C이었다. 분리균의 NaCl에 대한 내성은 0.9-1.2 M 농도까지 배양이 가능한 것으로 나타났고, 1.5 M 이상의 농도에서는 배양되지 않았다(Table 5).

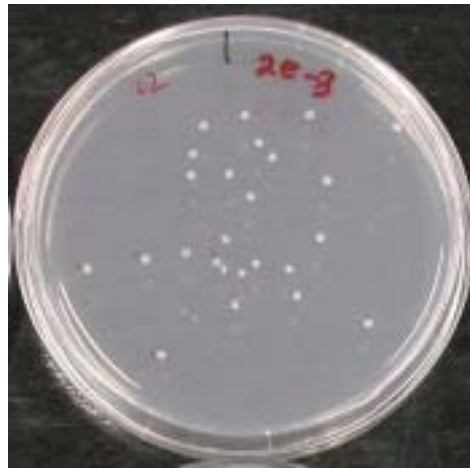


Fig. 26. The isolated sulfur-oxidizing bacteria U21. The isolated strain was cultured at 30°C on TAM agar medium.

Table 5. Biochemical characteristics of the isolated U21 strain

Test	<i>T. thioparus</i> (ACTC 23645)	The isolated strain U21
Morphological properties		
Gram staining	-	-
shape	rod	rod
cell size	< 1 μ M	< 1 μ M
motility	+	+
color	yellow	white
sulfur granules in cell	+	-
Biochemical and physiological properties		
Growth		

at pH 3.0	-	-
at pH 5.0	+/-	+
at pH 8.0	+/-	+/-
optimum pH	6.5	6.5
optimum temperature	30°C	30°C
maximum temperature	ND	53°C
NaCl resistance	ND	0.9-1.2 M
Autotrophic growth with		
sulfur	+	+
sodium thiosulfate	+	+
dimethyl sulfide	+	+
pyrite	-	-
ferrous iron	-	-
thiocyanate	-	-
Chemoorganotrophic growth		
methanol	-	+
ethanol	-	+
glycerol	-	+
glucose	-	+
fructose	-	+

*. Symbols: +, positive growth; -, negative growth; ND, not determined.

The isolated strain was cultured at 30°C on S6 broth or TAM medium.

에너지원으로써 유기 및 무기 황화합물들을 이용할 수 있는 특성에 대하여 조사하였다. 그 결과, sulfur, sodium thiosulfate, hydrogen sulfide, dimethyl disulfide 등은 에너지원으로 이용하는 것으로 나타났으나 zinc sulfide, pyrite, ferrous iron, thiocyanate는 이용하지 못하는 것으로 나타났다.

분리균은 질소원과 탄소원을 완전히 제거하여도 균의 증식은 정상적으로 일어났으므로 질소 및 탄소를 공기중에서 고정할 수 있는 것으로 추정된다. 또한 ammonia나 methyl alcohol과 같은 일부 질소원과 탄소원들은 균의 증식을 촉진하였고, 반면에 NaNO₂와 같은 일부 질소원들은 균의 생육을 저해하였다. 결론적으로 분리균은 별도의 질소원과 탄소원을 배지에 공급하지 않아도 자가동화능력이 있어서 균의 생존에 절대적인 영향을 미치지 않는 것으로 보여진다.

분리균은 대조균주로 사용된 *Thiobacillus thioparus* (ACTC23645)와 대부분의 생리생화학적인 특성에서 동일하지만, 대조균주가 당류들을 전혀 이용하지 못한 결과와 달리 분리균은 첨가된 당들에 의하여 증식속도가 증가되는 것이 관찰되었으며, 이렇게 당류를 이용할 수 있는 종(species)들이 *Thiobacillus* 속에도 존재하였다. 이상의 형태학적 및 생리생화학적 특성을 종합하여 고찰한 결과, 분리균 U21은 *Thiobacillus* 속의 한 종으로 판명되었다.

3) 변이주의 분리 : 균의 현탁액에 0-3분 동안 다양한 시간으로 UV를 조사하고, 처리한 다 음 적정 고체배지에 도말 후 배양하였다. 배양후 출현한 콜로니들 중에서 모균주에 비하 여 콜로니의 크기가 큰 것들을 적정 배지에 옮기고 30℃에 배양후 보관하면서 실험에 사 용하였다.

가) 분리균 U21 변이주 : UV 처리시간 후 평판배지에 출현한 것 중에서 콜로니의 크기가 큰 변이주 약 120주를 수집하였다. 배양 3일 경에 측정된 모균주 U21의 콜로니 크기는 1.6 ± 0.4 mm 이었다. 한편 UV 처리주들 중에서 콜로니의 크기가 비교적 큰 것은 40초 간 UV를 조사한 U21a이었고, 이 균주는 배양을 계속할수록 더욱더 증가하여 3.6 ± 0.9 mm까지 증가하였다(Fig. 27, Table 6). 이와 같이 고체배지에서 콜로니의 크기가 쉽게 증가될 경우, 바이오필터 내부에 충전된 고체수지에서 균의 확산이 쉽고 빨라 균의 생존율뿐만 아니라 바이오필터의 효율도 더욱 증가될 수 있다는 예측을 할 수 있다.

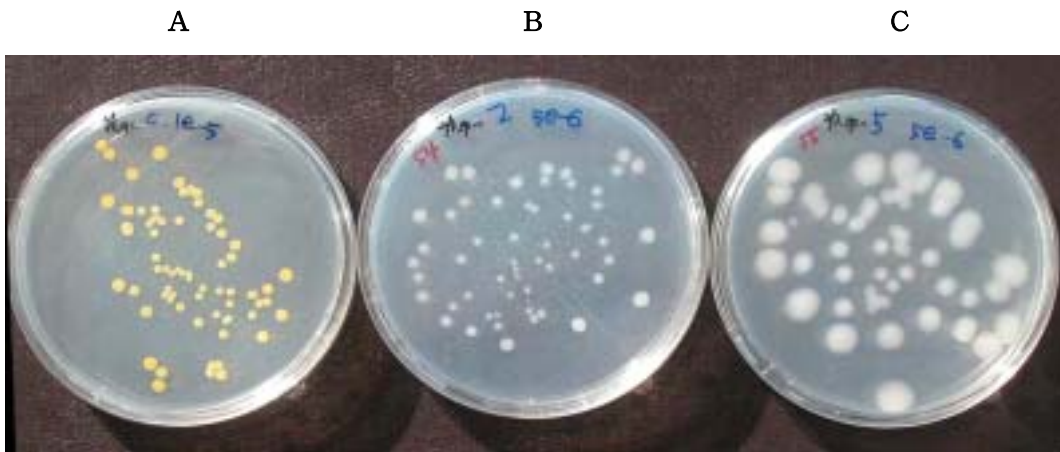


Fig. 27. Isolated bacteria on TAM agar medium after 3 days. A; *Thiobacillus thioparus* (ACTC 23645), B; the isolated strain U21, C; the mutant strain U21a.

Table 6. The average size of colonies on TAM agar on the growth of *Thiobacillus* sp. KCTC23753, *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains

Strains	Average size of colonies (mm)
---------	-------------------------------

<i>Thiobacillus thioparus</i> KCTC23753	1.1 ± 0.3
The isolated strain, U21	1.6 ± 0.4
UV-treated strains, U21a	3.6 ± 0.9

*. The bacteria were cultured on TAM agar at 30°C for 3 days.

(1) 무기 및 유기황화합물의 이용성 : 황 산화균들의 무기 및 유기 황화합물의 이용성이 속(Genus) 뿐만 아니라 종(species)에 이르기 까지 다양한 특이성을 가진 것으로 알려져 있는데, *Thiobacillus* 속의 경우에도 대부분의 종들이 철(iron, Fe)을 산화시키지 못하지만 *Thiobacillus ferroxidans*는 황뿐만 아니라 철도 함께 산화하여 에너지를 얻는 것으로 알려져 있다. 또한 황산화균들이 전반적으로 증식속도가 느린 것은 바로 저효율적인 황산화 메커니즘 때문에 발생된다고 알려져 있는데, 황산화 메커니즘의 결과로 신생합성된 ATP들이 다시 황산화를 위한 메커니즘에 대부분 재투입되기 때문에 증식을 위하여 얻을 수 있는 에너지가 적은 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 분리균에 대한 무기 및 유기 황화합물들의 에너지원으로써 이용성에 대하여 조사하였다. 본 연구에 사용된 총 22종의 황화합물들에 대한 결과는 Table 7과 같다. 황(sulfur)을 비롯하여 hydrogen sulfide, dimethyl disulfide, sodium thiosulfate 등이 이용되어지는 것을 알 수 있었고, ferrous sulfate, urea, thiourea도 이용되는 것으로 나타났다. 그러나 모균주 U21과 UV 처리후 콜로니 크기가 증가한 변이주 U21a의 황화합물 이용특성의 차이는 없었다.

Table 7. Utilization of organic and inorganic compounds as a energy source on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains

Sulfur compounds	Isolated strain (U21)	Mutant strain (U21a)
Sulfur	+	+
Dimethyl disulfide	+	+
Sodium thiosulfate	+	+
Li ₂ SO ₄	-	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	+	+
FeSO ₄ .(NH ₄) ₂ SO ₄ .6H ₂ O	-	-
Na ₂ SO ₃	+	+
Na ₂ SO ₄	+	+
Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O	+	+
Na ₂ S ₂ O ₅	-	-

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	-	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	+	+
$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	-	-
NH_2CONH_2	+	+
NH_2CSNH_2	+	+

*. The bacteria were cultured on the basal medium which contained 30 mM ammonium sulfate and 1.5% agar.

(2) 황화합물의 농도의 영향 : 분리균 U21과 변이주 U21a의 에너지원으로 S(sulfur), DMS(dimethyl disulfide), sodium thiosulfate 3종의 황화합물들을 사용하여 30-100 mM의 농도에서 3일간 배양하면서 생육도를 조사하였다. 황화합물들의 이용성에서 변이주는 sulfur, dimethyl disulfide, sodium thiosulfate에 대하여 대부분의 농도에서 모균 주보다 생육도가 월등히 우수한 것으로 나타났다.

각 화합물간에 비교를 할 경우, sulfur의 경우 배양이 많이 지연이 되었는데 이것은 황이 물에 불수용성이기 때문인 것으로 추정된다(Fig. 28). 수용성 황화합물인 dimethyl disulfide의 경우는 배양초기에 빠른 생육도의 특성을 보였으나 배양시간이 경과하여도 생육도가 뚜렷한 증가속도를 보이지 않는 것은 수용성의 dimethyl disulfide가 점점 액체배지로부터 점점 휘발되어 세균들이 이용할 수 없게 되기 때문일 것으로 추정된다(Fig. 29). 3가지 조사된 황화합물 가운데 고체도 아니고 휘발성도 없는 sodium thiosulfate는 농도가 높을수록 성장이 빨랐으며, 배양 3일까지도 지속적인 생육도가 증가하는 경향을 보여주고 있다(Fig. 30).

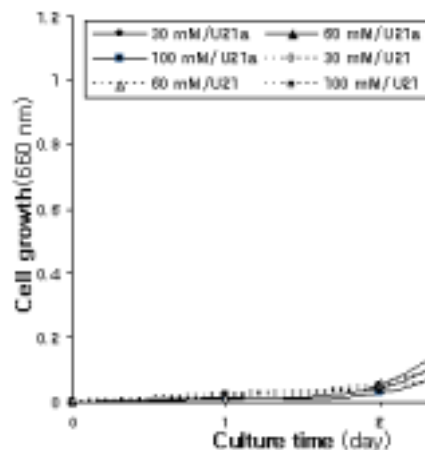


Fig. 28. Effect of sulfur on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains. Cells were cultured at 30°C with 180 rpm in TAM medium.

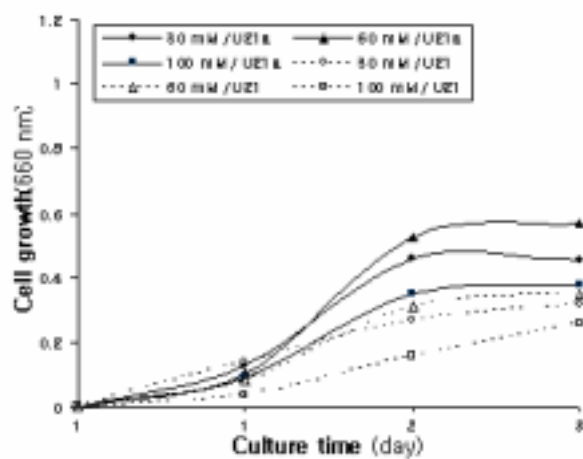


Fig. 29. Effect of dimethyl disulfide on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains. Cells were cultured at 30°C with 180 rpm in TAM medium.

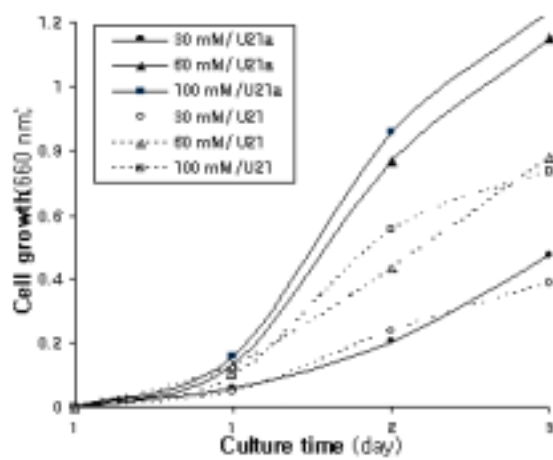


Fig. 30. Effect of thiosulfate on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains. Cells were cultured at 30°C with 180 rpm in TAM medium.

(3) 질소원의 이용성 : 탈질화 반응을 조사하기 위하여 배지에 10 mM sodium phosphate buffer에 여러 가지 질소원을 첨가한 고체배지를 조제하고 균을 도말하여 배양특성을 조사하였다. 사용된 질소원 중에서 ammonia 등은 이용하였으나 urea와 sodium nitrite 등은 이용하지 못하는 것으로 나타났다.

분리균 U21과 분리균의 변이주 U21a는 대조균주로 사용한 *T. thioparus* KCTC 2753(ACTC 23645)과 달리 sodium nitrite를 이용하지 못하는 것으로 나타나 분리균은 대조균주와는 다른 균주라는 사실을 보여준다 (Table 8).

Table 8. Utilization of organic and inorganic compounds on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains

Sulfur compounds	The isolated strain U21	The mutant strain U21a
NH ₃	+	+
NH ₄ Cl	+	+
(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+
NH ₂ CONH ₂	-	-
NH ₂ CSNH ₂	-	-
NaNO ₂	+	+
NaNO ₃	-	-

*. The bacteria were cultured on the medium containing 30 mM ammonium phosphate (pH 6.3) and 1.5% agar.

(4) 인산염과 탄산염의 영향 : 분리균 U21의 인산염과 탄산염의 영향을 조사하기 위하여 50 mM sodium thiosulfate와 1.5% agar가 포함된 평판배지에 균을 적당히 도말하여 콜로니의 크기를 비교하였다. 그 결과 인산염은 30 mM의 농도가 적당하다는 것을 알 수 있었으나, 탄산염은 농도가 증가할수록 균의 생육을 저해하는 것으로 나타났다(Table 9).

Table 9. Effect of phosphate salts and carbonate salts on the growth of *Thiobacillus* sp. U21

$\text{NH}_4\text{CO}_3 \backslash \text{NH}_4\text{PO}_4$	0 mM	10 mM	30 mM	50 mM
0 mM	1	4	8	4
10 mM	1	5	7	3
30 mM	1	3	5	4
50 mM	0	1	3	2

*. The bacteria were cultured on TAM medium containing 50 mM sodium thiosulfate, 30 mM ammonium phosphate and 1.5% agar.

(5) 최적 pH 조사 : 분리균과 변이주의 pH에 따른 생육특성에 대하여 조사하였다. 최적 배양 pH는 약 6.3 전후이며, 분리균과 변이주간의 pH 변화에 따른 배양특성의 차이는 발견되지 않았다(Fig. 31). 한편 배양 pH가 5.5 이하 또는 7.0 이상에서는 균의 생육이 지연되는 현상이 나타났다. 그런데 pH 5.5에서는 정상기의 균농도가 높지 않은 것으로 보아 균의 증식으로 인하여 감소된 pH 때문에 생육이 저해되는 것으로 보인다. 또한 pH 8.0 에서는 유도기가 48시간 이상 지연되는 것이 관찰되었는데, 이러한 이유는 초기의 낮은 농도의 균들이 주변환경의 pH를 배양에 적합하도록 조절하는데 상당히 오랜 시간을 소비되기 때문인 것으로 추정된다.

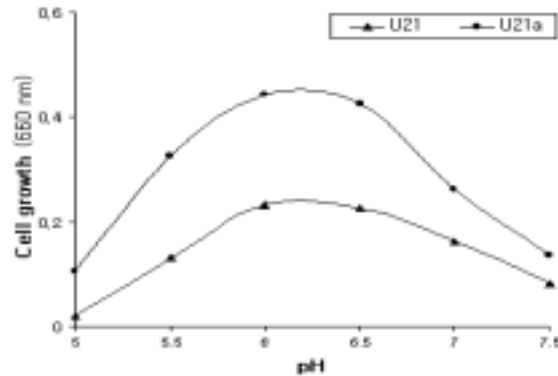


Fig. 31. Effect of pH on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains. Cells were cultured at 30°C with 180 rpm in TAM medium.

(6) 최적온도 조사 : 분리균과 변이주의 배양온도 특성을 조사하였다. 50 mM sodium thiosulfate, 30 mM ammonium sulfate, agar 1.5%를 첨가하여 평판배지를 조제하고 적당량의 균을 도말하여 미리 20, 25, 30, 37, 40, 45, 50, 55°C로 온도를 조절한 8대의 배양기에 넣고 3-7일간 배양하였다. 배양하는 동안 고체배지 상에 형성된 콜로니들의 크기를 측정하였다.

콜로니 크기에 따른 최적배양온도는 30-40°C 범위였으며, 그 중에서도 40°C에서

콜로니의 크기가 약간 더 큰 것으로 나타났다. 그러나 온도가 40℃가 넘어서면서 콜로니의 크기가 갑자기 줄어들고, 50℃가 넘으면 콜로니가 육안으로 확인하기 어려울 정도로 작은 크기를 형성하였고, 55℃에서는 콜로니가 관찰되지 않았다(Table 10).

Table 10. Effect of temperature on the growth of *Thiobacillus* sp. U21 and mutated U21a strains

Colony size (mm)		
Temperatures (°C)	The isolated strain	The mutant strain
	U21	U21a
20	2.3	3.6
25	4.7	6.8
30	6.1	11.5
37	6.3	11.7
40	7.1	12.9
45	5.2	7.4
50	-	+
55	-	-

*. The bacteria were cultured on TAM medium containing 50 mM sodium thiosulfate, 30 mM ammonium phosphate and 1.5% agar.

나) *Thiobacillus* sp. UIW-10 돌연변이주 : 더 많은 변이주를 얻기 위하여 부산대학교에서 분양받은 황화수소 분해균주인 *Thiobacillus* sp. IW를 UV 처리한 후, 고체배지에 출현한 colony 중에서 콜로니의 크기가 큰 변이주 약 30주를 수집하였다. 배양 6일 경에 측정된 공시균주 *Thiobacillus* sp. IW의 콜로니 크기는 3.0±0.4 mm 이었다. 한편 UV 처리주들 중에서 콜로니의 크기가 비교적 큰 것은 30-40초간 UV를 조사한 고체배지에서 얻은 UIW-10와 UIW-15이었고, 이 균주는 배양을 계속할수록 더욱더 증가하여 각각 6.8±0.9, 6.5±0.9 mm까지 증가하였다(Fig. 32, Table 11). 여기에서 얻은 두개의 변이주 중에서 콜리니 크기의 생장이 가장 양호한 UIW-10 균주를 이용하여 다음 실험을 계속 수행하였다.

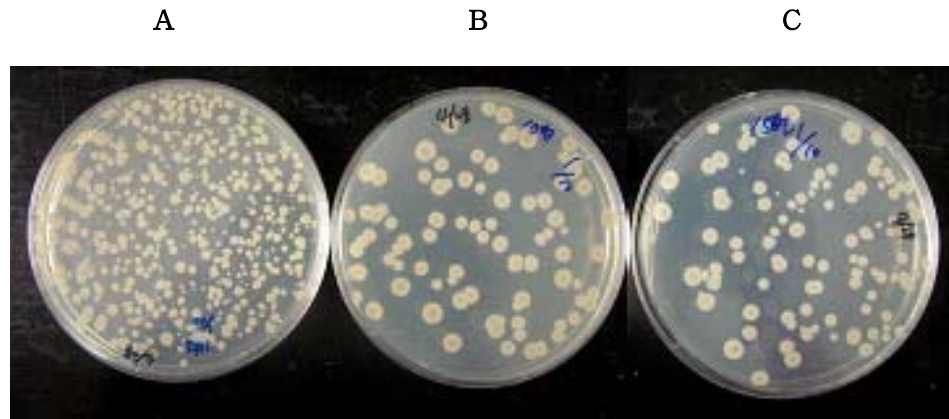


Fig. 32. Mutated bacteria on Thiosulfate-agar Medium after 6 days. A; *Thiobacillus* sp. IW, B; the mutant strain UIW-10, C; the mutant strain UIW-15.

Table 11. The average size of colonies on Thiosulfate-agar Medium during the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutant strains

Strains	Average size of colonies	(mm)
<i>Thiobacillus</i> sp. IW	3.0 ± 0.3	
the mutant strain UIW-10	6.8 ± 0.4	
the mutant strain UIW-15	6.5 ± 0.9	

*. The bacteria were cultured on TAM at 30°C for 6 days.

- (1) 무기 및 유기황화합물의 이용성 : 본 연구에서 변이주 UIW-10에 대한 무기 및 유기 황화합물들의 에너지원으로써 이용성에 대하여 조사하였다. Table 12는 연구에 사용된 총 21종의 황화합물들에 대한 결과를 나타낸다. 황(sulfur)을 비롯하여 hydrogen sulfide, dimethyl disulfide, sodium thiosulfate 등이 이용되어지는 것을 알 수 있었고, ferrous sulfate도 이용되는 것으로 나타났다. 그러나 공시균주와 UV 처리 후 콜로니 크기가 증가한 변이주 UIW-10의 황화합물 이용특성의 차이는 없었다.

Table 12. Utilization of organic and inorganic compounds as a energy source on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains

Sulfur compounds	<i>Thiobacillus</i> sp. IW	Mutant strain UIW-10
Sulfur	+	+
Dimethyl disulfide	+	+
Sodium thiosulfate	+	+
Li ₂ SO ₄	-	-
FeSO ₄ ·7H ₂ O	+	+
FeSO ₄ ·(NH ₄) ₂ SO ₄ ·6H ₂ O	-	-
Na ₂ SO ₃	+	+
Na ₂ SO ₄	+	+
Na ₂ S ₂ O ₅	-	-
Al ₂ (SO ₄) ₃	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	-	-

*. The bacteria were cultured on the basal medium which contained 30 mM ammonium sulfate and 1.5% agar.

(2) 황화합물의 농도의 영향 : 변이주 UIW-10의 에너지원으로 S (sulfur), sodium thiosulfate 2종의 황화합물들을 사용하여 25-100 mM의 농도에서 24시간 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 변이주 UIW-10은 배양 후 6시간째에 sulfur, sodium thiosulfate에 대하여 대부분의 농도에서 성장정도가 공시균주보다 2배 정도 높은 것으로 나타났다.

각 화합물간에 비교를 할 경우, sulfur의 경우 초기에 sodium thiosulfate보다 배양이 지연되었는데 이것은 황이 물에 불수용성이기 때문인 것으로 추정된다(Fig. 33). 황화합물 가운데 고체도 아니고 휘발성도 없는 sodium thiosulfate는 농도가 높을수록 생장이 빨랐으며, 배양 12시간째까지 지속적인 생육도가 증가하는 경향을 보여주고 있다. 이후 일정하게 유지되다가 배양 30시간째에 생장이 다시 증가하였다(Fig. 34).

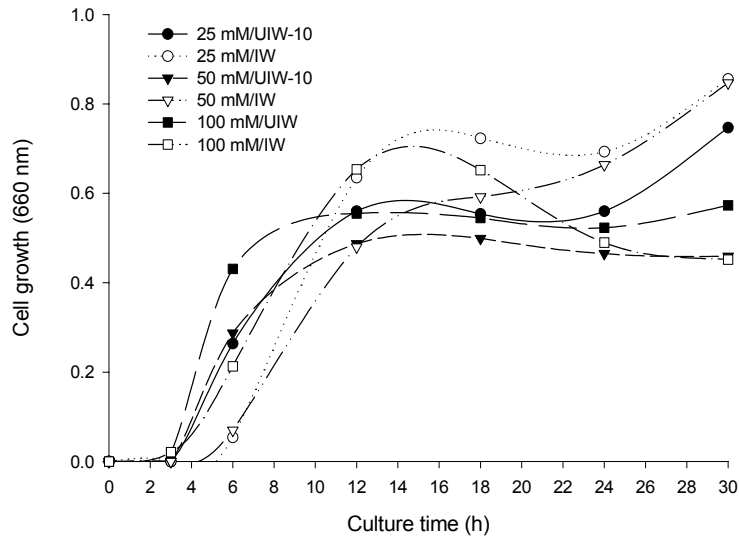


Fig. 33. Effect of sulfur on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains. Cells were cultured at 30°C with 150 rpm in TM medium.

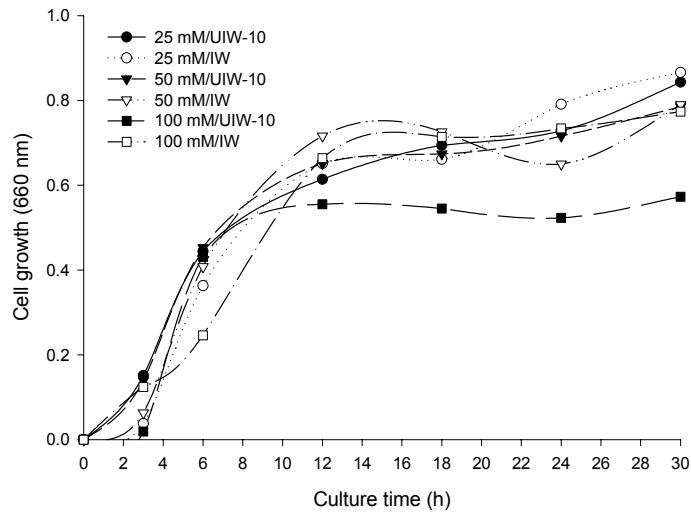


Fig. 34. Effect of sodium thiosulfate on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains. Cells were cultured at 30°C with 150 rpm in TM medium.

(3) 탄소원 및 질소원의 이용 : UIW-10 변이주의 성장에 미치는 탄소원 및 질소원의 영향을 조사하였다. 탄소원과 질소원을 첨가하지 않았을 때 변이주 UIW-10의 생장이 공시균주 IW보다 2배 정도 높은 것을 확인할 수 있었다. 변이주 UIW-10은 sucrose

와 glucose 등과 같은 당성분보다는 yeast extract나 peptone과 같은 질소계 유기화합물을 첨가해 줌으로써 높은 성장속도를 얻을 수 있었다 (Fig. 35 - 36). 변이주 UIW-10은 탄소원인 glucose와 fructose를 이용하였지만 sucrose는 이용하지 못하였다. 반면에 공시균주 IW는 변이주 UIW-10보다 sucrose를 잘 이용하는 것으로 나타나 변이균 UIW-10은 공시균주 IW와는 다른 성장특성을 가진 균주라는 사실을 보여준다(Fig. 35). 또한 변이주 UIW-10은 질소원으로 첨가한 tryptone과 peptone을 이용하였으며 yeast extract의 경우에는 18시간 이후에 생장이 급격히 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 36). 이것은 질소원으로 첨가한 yeast extract의 농도가 높기 때문에 생장에 영향을 주었을 것으로 판단하여 yeast extract의 농도에 따른 성장정도를 재조사하였다.

Fig. 37은 yeast extract 농도에 따른 변이주 UIW-10의 성장정도를 나타낸 것이다. yeast extract의 농도가 0.5%까지는 농도가 높을수록 생장이 증가하였다. 그러나 0.5% 이상이 되면 배양 후 균의 생장이 지연되는 것을 확인할 수 있고 2%에서는 균이 전혀 성장하지 않았다. 이것은 고농도 yeast extract에서 균이 yeast extract를 제대로 이용하는데 시간이 더 걸리는 것으로 추정된다.

Fig. 38은 질소원 중 tryptone 농도에 따른 변이주 UIW-10의 성장정도를 나타낸 것으로 tryptone의 농도가 0.5%에서 2.0% 사이에서 양호한 성장정도를 보여주었다. 또한 배양 후 6시간째까지는 농도가 높을수록 생장이 증가하였지만 후반으로 갈수록 농도별 성장차이가 없었다. 이것은 변이주 UIW-10이 성장 초기에는 tryptone을 이용하지만 시간이 지남에 따라 생장이 안정한 상태로 접어들어 일정농도 이상에서는 생장에 큰 변화를 주지 않는 것으로 추정된다.

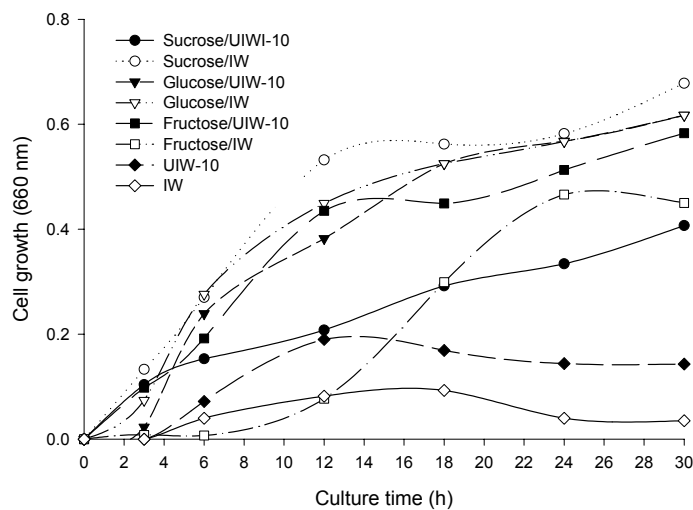


Fig. 35. Effect of 2.0% (W/V) carbon sources on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains.

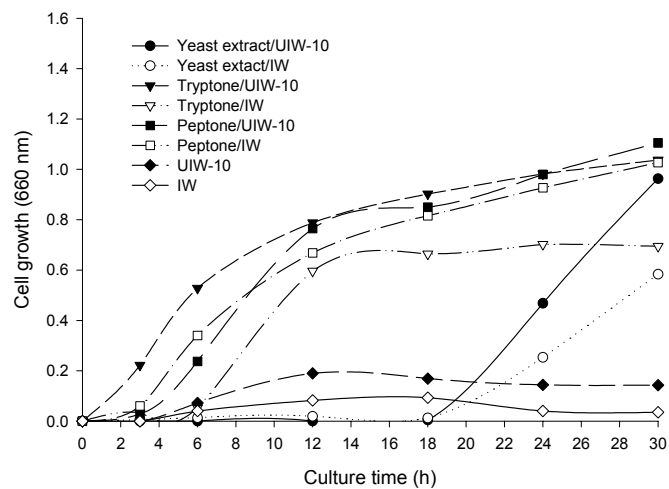


Fig. 36. Effect of 1.0% (W/V) nitrogen sources on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains.

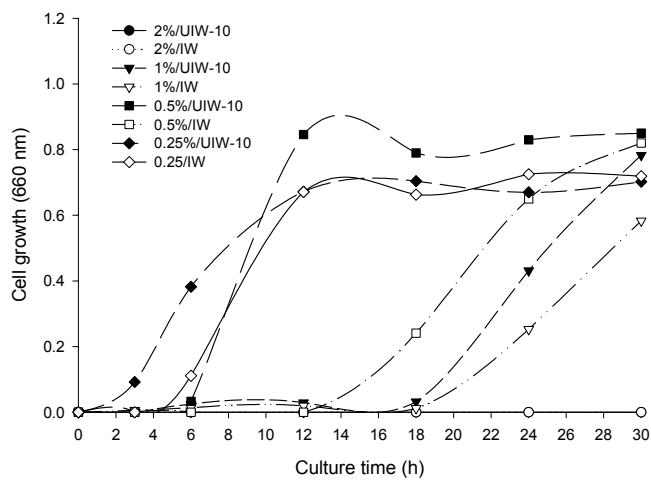


Fig. 37. Effect of yeast extract concentration on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains.

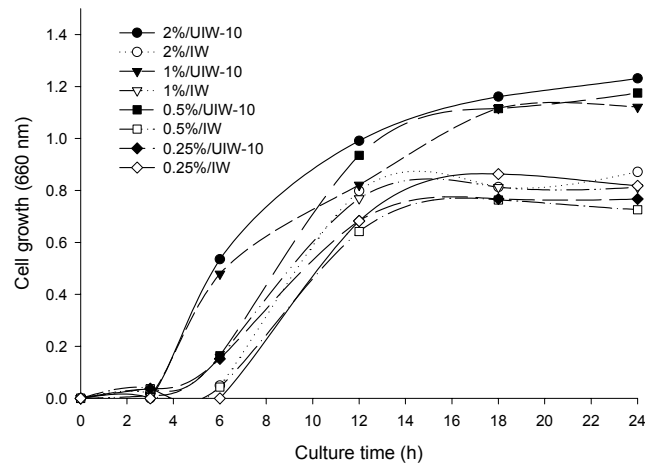


Fig. 38. Effect of tryptone concentration on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains. Cell were cultured at 35°C with 150 rpm in TM medium.

(4) 최적 pH 조사 : 공시균과 변이주의 pH에 따른 성장특성에 대하여 조사하였다. 각각의 배지에 균주를 접종한 후 30°C에서 진탕하면서 일정한 간격으로 균주의 성장을 조사한 결과 Fig. 39에서 보여주는 바와 같이 변이주 UIW-10에 대한 최적배양 pH는 약 6.0 전후이며, 공시균과 변이주간의 pH 변화에 따른 배양특성의 차이는 pH 5.0-6.0에서 다소의 성장률 차이를 보여주었다. 한편 배양 pH가 6.5 이상에서는 균의 생육이 지연되는 현상이 나타났으며, pH 5.0에서는 전혀 성장하지 못하였다.

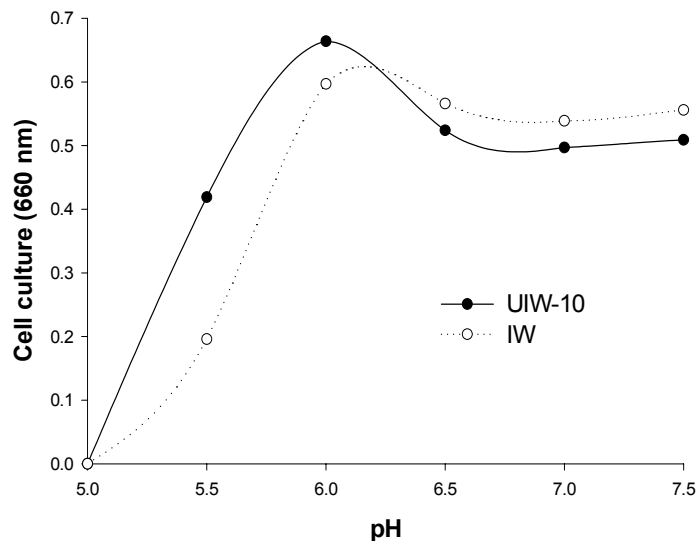


Fig. 39. Effect of pH at 12 h culture on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains. Cell were cultured at 30°C with 150 rpm in TM medium.

(5) 최적온도 조사 : 변이주 UIW-10의 배양온도 특성을 조사하였다. Thiosulfate-agar Medium 평판배지를 조제하고 적당량의 균을 도말하여 미리 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50°C로 온도를 조절한 8대의 배양기에 넣고 1-2일간 배양하면서 평판배지 상에 형성된 콜로니들의 크기를 측정하였다.

콜로니 크기에 따른 최적배양온도는 35-40°C 범위였으며, 그 중에서도 40°C에서 콜로니의 크기가 약간 더 큰 것으로 나타났다. 또한 배양온도 25-40°C의 범위에서 양호한 균주 성장능을 보여주었다. 그러나 온도가 40°C가 넘어서면서 콜로니의 크기가 갑자기 줄어들고, 45°C가 넘으면 콜로니가 육안으로 확인하기 어려울 정도로 작았고, 50°C에서는 콜로니가 관찰되지 않았다(Table 13).

Table 13. Effect of temperature at 24 h culture on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains

Temperatures (°C)	Colony size (mm)	
	<i>Thiobacillus</i> sp. IW	<i>Thiobacillus</i> sp. UIW-10
20	+ ^a	+ ^a
25	0.8	1.0
30	1.5	2.7
35	1.8	3.1
40	2.5	4.7
45	+ ^a	+ ^a
50	-	-

*. The bacteria were cultured on Thiosulfate-agar medium containing 1.5% agar.

a: Detectable colony size at 48 h culture.

(6) 배양기 회전속도에 따른 배양특성 조사 : 배양기 회전속도가 생장에 미치는 영향을 조사하기 위해, 회전속도를 100, 150, 200 rpm으로 조절하고 30시간 동안 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 그 결과 회전속도가 높을수록 성장정도가 빨라졌으며 변이주 UIW-10은 200 rpm에서 생장이 가장 양호하였다(Fig. 40). 또한 공시균주 IW는 200 rpm에서 6시간째 생장이 급격히 증가하여 일정하게 유지되다가 18시간째부터 생장이 급격히 감소하지만 변이주 UIW-10은 24시간까지 생장이 시간이 흐름에 따라 완만하게 증가하였다. UIW-10은 안정적으로 성장하기 때문에 현장에 적용할 때 유리할 것으로 판단된다.

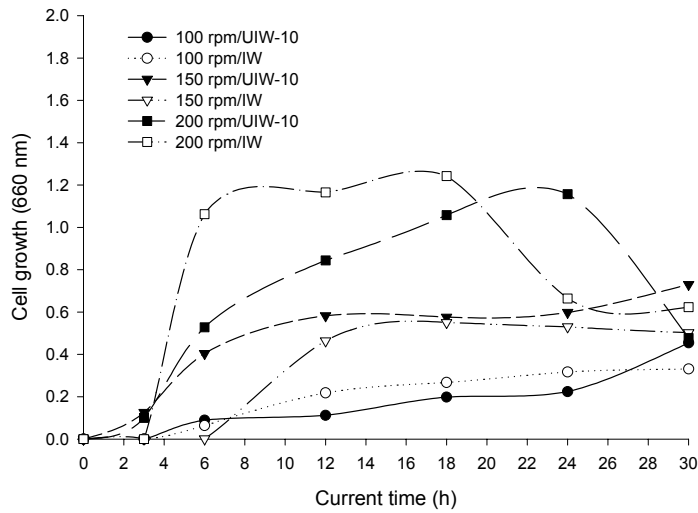


Fig. 40. Effect of agitation on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-10 strains.

다) *Thiobacillus* sp. UIW-6 돌연변이주 : 혼합배양을 위하여 *Thiobacillus* sp. IW에 30-40 초간 UV를 조사한 후, 고체배지에서 콜로니의 크기가 비교적 큰 돌연변이 균주를 새로 분리하였다. 분리한 변이주 UIW-6의 성장특성을 조사한 결과 변이주 UIW-6의 성장속도는 배양 후 6시간째에 공시균주 *Thiobacillus* sp. IW보다 2배정도 빨랐으며, 배양을 계속할수록 더욱더 증가하여 36시간째에 변이주 UIW-6의 성장속도는 공시균주 IW보다 1.6배 빨랐다 (Fig. 41). 또한 24시간째에 변이주 UIW-6의 콜로니 색깔은 공시균주 IW에 비해서 더 짙게 나타났다 (Fig. 42). 여기에서 얻은 변이주 UIW-6를 이용하여 실험을 계속 수행하였다.

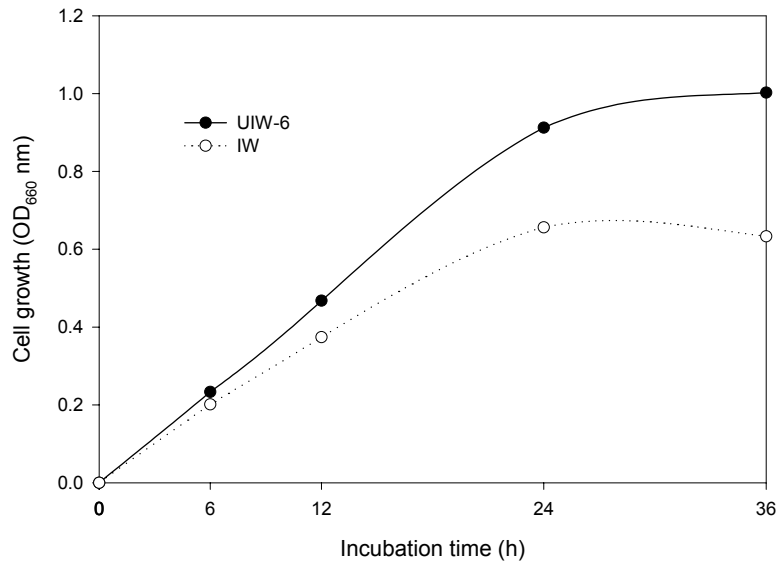


Fig. 41. Growth curve of the *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at pH 6.5, 30°C and 150 rpm, respectively.

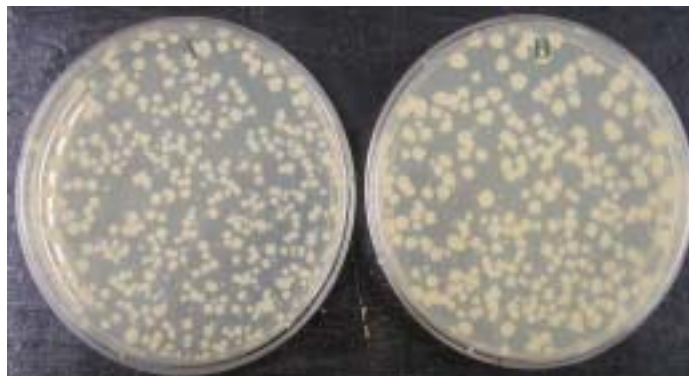


Fig. 42. Bacterial colonies on Thiosulfate-agar Medium after 24 h culture. A; *Thiobacillus* sp. IW, B; the mutant strain *Thiobacillus* sp. UIW-6.

(1) 황화합물의 농도의 영향 : 황화수소는 화학적으로 높은 유독성과 액체배지상에서 미생물 배양이 불가능할 정도의 낮은 잔류성 문제가 있기 때문에 어렵게 배지를 조제한다고 해도 배양도구로써 역할을 할 수가 없고, 더욱이 황은 불수용성이고 열처리로 인한 영김현상 때문에 변이주 개발에 중요한 수단이 되는 고체배지의 조제가 불

가능하다. 이러한 문제점들을 다소 극복할 수 있는 황화합물인 sodium thiosulfate는 물에 쉽게 용해되고 휘발성도 없기 때문에 액체배지 뿐만 아니라 고체배지의 조제에도 전혀 문제가 없다. 따라서 변이주 UIW-6의 에너지원으로 sodium thiosulfate의 황화합물을 사용하여 25-100 mM의 농도에서 24시간 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 50 mM sodium thiosulfate 농도에서 변이주 UIW-6은 배양 후 6시간째에 성장정도가 공시균주보다 2배정도 높은 것으로 나타났으며 농도가 높을수록 성장이 빨랐다(Fig. 43).

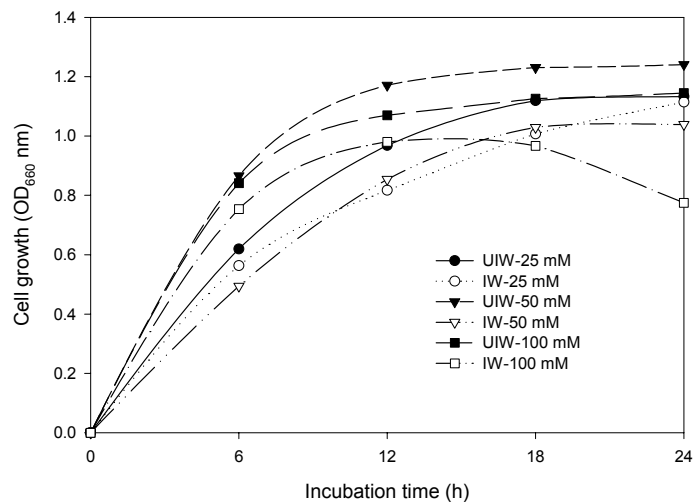


Fig. 43. Effect of sodium thiosulfate on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

(2) 변이주 UIW-6의 최적 pH와 온도 조사 : pH 변화에 따른 변이주 UIW-6의 성장을 알아보기 위해 2 N-NaOH와 20%-HCl로 pH를 5.0-7.5로 조절하여 배양한 결과를 Fig. 44에 나타냈다. 변이주 UIW-6 세포성장은 pH가 중성 부근인 6.5-7.0에서 증식이 우수하게 나타났고, 최적배양 pH는 6.5이었다. 공시균주 IW와 변이주간의 pH 변화에 따른 배양특성의 차이는 발견되지 않았다. 그러나 배지의 pH가 약산성에 가까울수록 세포성장에 적응하는 유도기가 길어지고 있음을 알 수 있었다. 일반적으로 *Thiobacillus* 종은 산성에 비교적 우수한 균주로 알려져 있으나, 본 연구에서 사용된 변이주 UIW-6는 pH 적응성이 비교적 넓은 pH 범위에서 안정된 성장이 진행되므로 앞으로 산업 현장에서의 응용 가능성을 보여주고 있다. 따라서 변이주 UIW-6를 생물학적 약취제거 반응기에 적용할 경우 장치의 부식도 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

또한 온도의 영향을 알아보고자 30°C, 35°C, 40°C에서 24시간 배양 후의 변이주 UIW-6의 성장은 Fig. 45와 같다. 변이주 UIW-6의 최적 성장 온도는 35°C이고 30 - 40°C에서 비교적 성장이 우수한 중온균임을 알 수 있다. 황산화세균은 일반적으로 배양 최적 온도가 30°C인 중온균으로 알려져 있는데, 상기 결과에서 볼 때 변이주 UIW-6는 전반적으로 넓은 온도 범위에서 성장이 가능하여 현장에 적용할 때 외부 환경조건 중 온도조건의 변화에 따른 충격을 쉽게 이겨낼 수 있어 활용성이 우수한 것으로 생각된다.

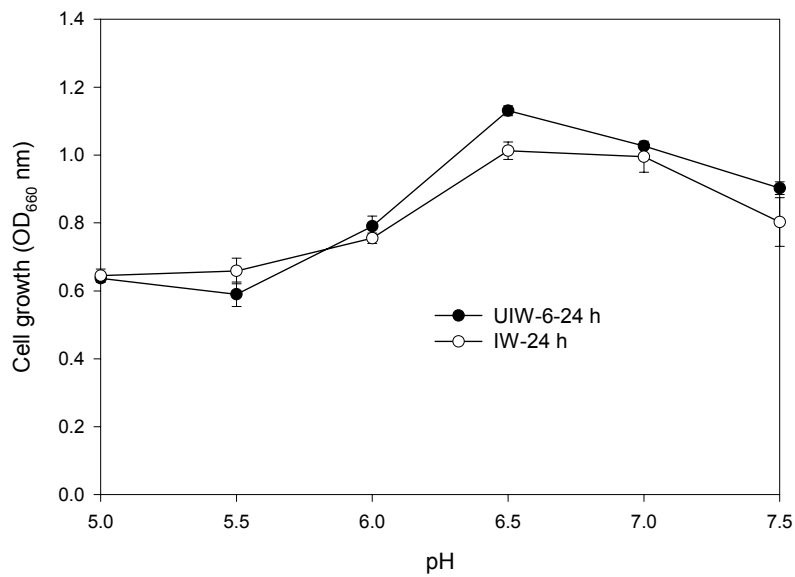


Fig. 44. Effect of pH on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at 30°C and 150 rpm, respectively.

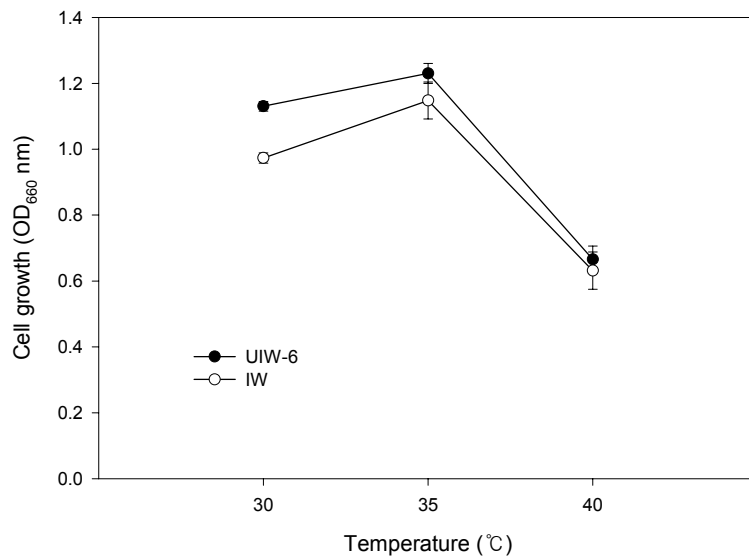


Fig. 45. Effect of temperature on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at 200 rpm.

(3) 탄소원 및 질소원의 이용성 : UIW-6 변이주의 성장에 미치는 탄소원 및 질소원의 영향을 조사하였다. 탄소원과 질소원을 첨가하지 않았을 때 변이주 UIW-6의 성장이 공시균주 IW보다 2배 이상 빠른 것을 확인할 수 있었다. 변이주 UIW-6는 sucrose와 glucose 등과 같은 당성분보다 yeast extract나 tryptone과 같은 질소계 유기화합물을 첨가해 줌으로써 높은 성장속도를 얻을 수 있었다(Fig. 46 - 47). 변이주 UIW-6는 탄소원인 fructose와 sucrose를 잘 이용하였다. 그리고 공시균주 IW는 sucrose를 이용하지 못하였지만 변이주 UIW-6보다 glucose를 잘 이용하는 것으로 나타나 변이주 UIW-6는 공시균주 IW와는 다른 특성의 균주라는 사실을 보여준다(Fig. 46). 또한 질소원을 첨가했을 때 변이주 UIW-6는 yeast extract > tryptone > peptone 순으로 이용하였다(Fig. 47). Fig. 48은 이용정도가 높은 yeast extract의 농도에 따른 변이주 UIW-6의 성장정도를 나타낸 것이다. yeast extract의 농도가 0.2%에서 가장 양호한 성장정도를 보여주었으며 농도가 높을수록 성장이 증가하였다. 그러나 0.5% 이상이 되면 배양 후 균의 성장이 지연되는 것을 확인할 수 있었다.

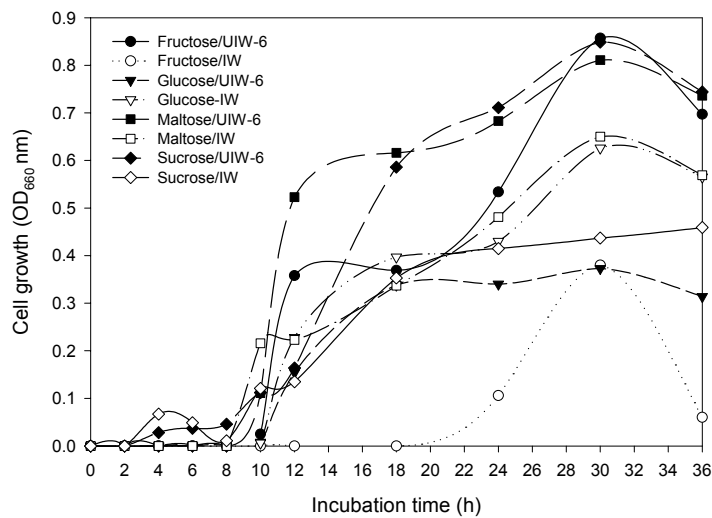


Fig. 46. Addition effect of 2.0% (W/V) carbon sources on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

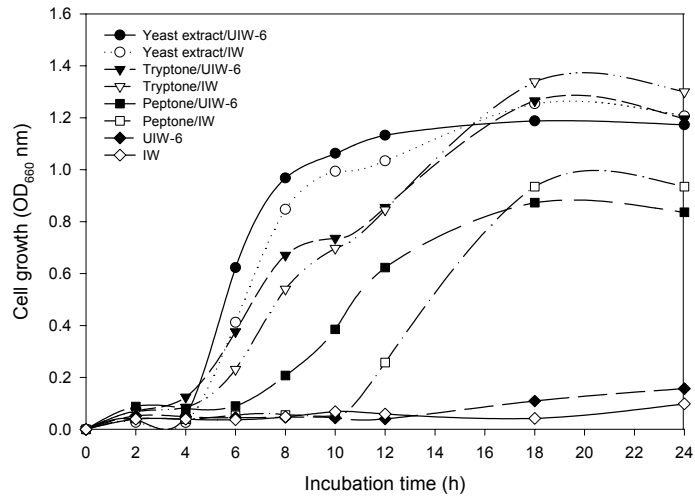


Fig. 47. Addition effect of 1.0% (W/V) nitrogen sources on the cell growth of IW and UIW-6 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

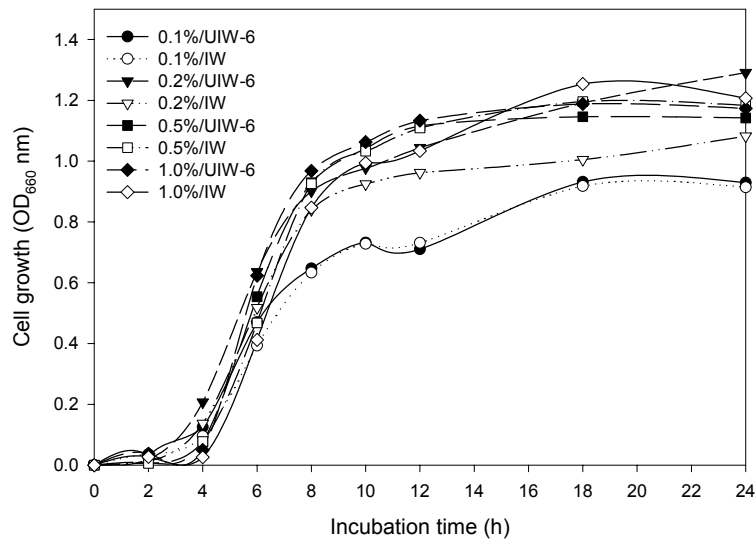


Fig. 48. Effect of yeast extract concentration on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

(4) 배양기 회전속도에 따른 배양특성 조사 : 배양기 회전속도가 성장에 주는 영향을 조사하기 위해 회전속도를 150, 200 rpm으로 조절하고 24시간 동안 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 회전속도가 높을수록 성장정도가 공시균주 IW보다 빨랐으며 변이주 UIW-6는 200 rpm에서 성장이 가장 양호하였다 (Fig. 49).

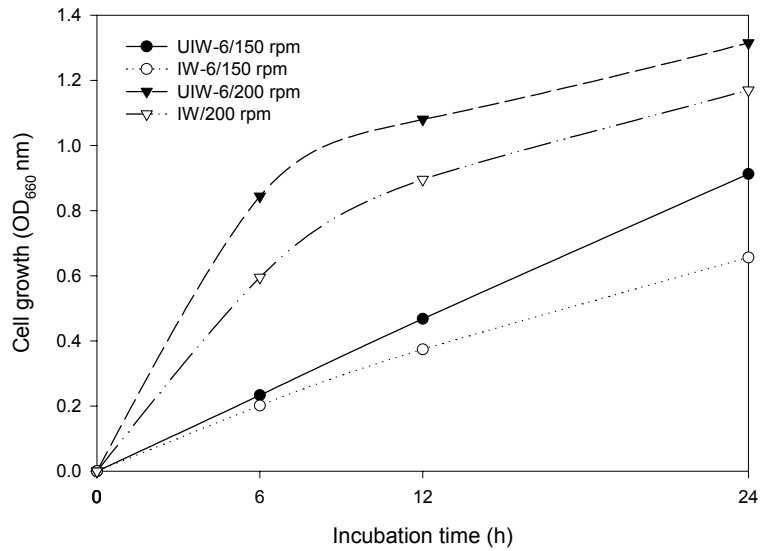


Fig. 49. Effect of agitation on the growth of *Thiobacillus* sp. IW and mutated UIW-6 strains.

라) *Arthrobacter* sp. UDG-1082 돌연변이주 : 다양한 변이주의 혼합배양을 위하여 협동과 제인 (주)노벨환경기술에서 분양받은 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주를 30-40초간 UV 조사한 후, 고체배지에서 얻은 콜로니의 크기가 비교적 큰 변이주 UDG-1082를 새로 분리하였다.

분리한 변이주 *Arthrobacter* sp. UDG-1082의 성장특성을 조사한 결과 이 균주의 성장속도는 공시균주 *Arthrobacter* sp. DG-1082 보다 약 30% 낮은 것으로 확인되었다 (Fig. 50). 그러나 이 변이주는 pH 5.0-8.0의 넓은 범위까지 일정하게 높은 성장이 가능하였으며, 또한 25-40°C의 비교적 넓은 온도범위에서 비교적 안정한 성장이 가능하다는 점이 모균주에 비해 큰 차이를 보였다(Fig. 52 - 53). 따라서 변이주 *Arthrobacter* sp. UDG-1082를 이용하여 실험을 계속 수행하였다.

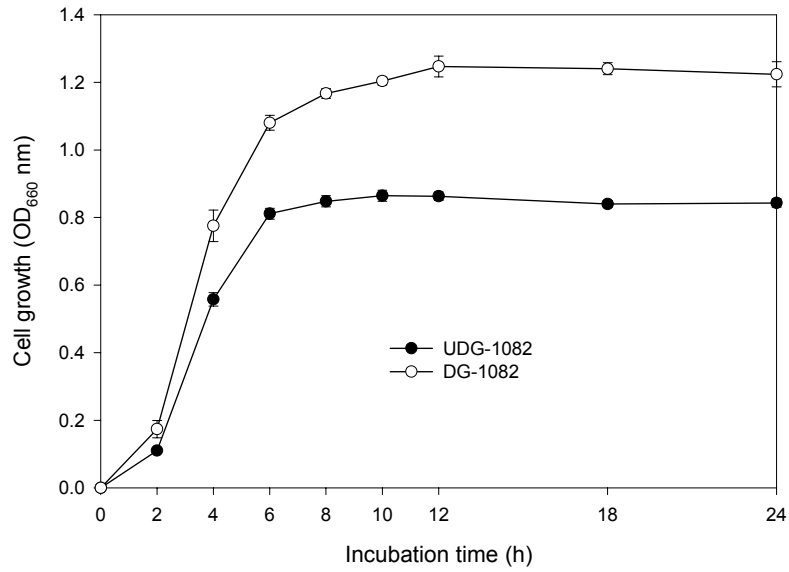


Fig. 50. Growth curve of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at pH 7.0, 30°C and 200 rpm.

- (1) 황화합물의 농도의 영향 : 변이주 UDG-1082의 에너지원으로 황화합물인 sodium thiosulfate를 사용하여 25-100 mM의 농도에서 24시간 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 공시균주 DG-1082는 50 mM 농도에서 성장이 잘 된 것과는 달리 변이주 UDG-1082는 25 mM 농도에서 성장이 잘 되었다(Fig. 51).

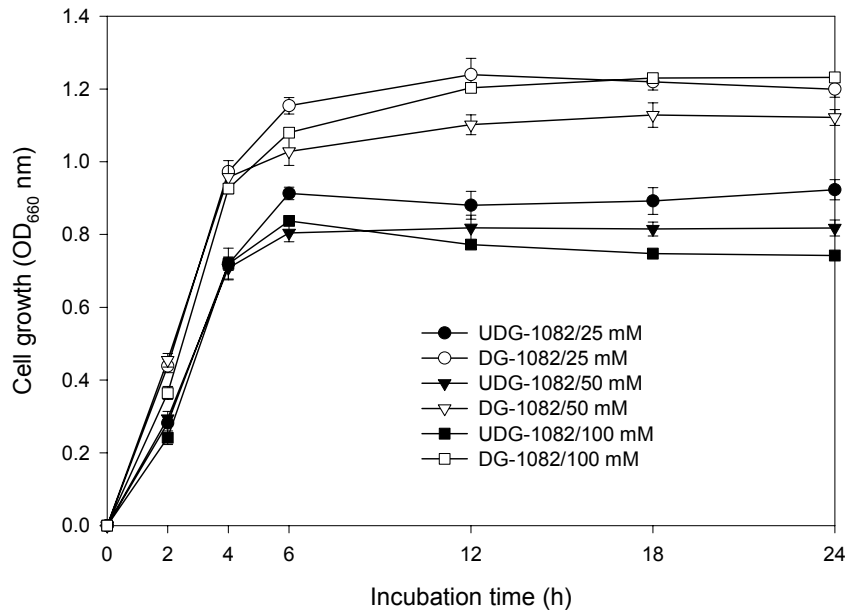


Fig. 51. Comparison of the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at different concentrations of sodium thiosulfate, 30°C and 200 rpm, respectively.

(2) 변이주 UDG-1082의 최적 pH와 온도 조사 : pH 변화에 따른 변이주 UDG-1082의 성장을 알아보기 위해 2 N-NaOH와 20%-HCl로 pH를 4.0-8.0으로 조절하여 배양한 결과를 Fig. 52에 나타냈다. 변이주 DG-1082의 균체성장은 pH 5.0-8.0의 비교적 넓은 범위에서 나타났고, 최적배양 pH는 7.0이었다. 공시균주 DG-1082와는 달리 pH 5.0에서 성장이 잘 된 것으로 나타나 변이주 UDG-1082는 공시균주와 다른 특성의 균주로 판단된다. 그러나 배지의 pH가 산성에 가까울수록 균체성장에 적응하는 유도가 길어지고 있음을 알 수 있었다. 변이주 UDG-1082는 pH가 비교적 넓은 pH 범위에서 안정된 성장이 진행되므로 앞으로 산업 현장에서의 응용 가능성을 보여주고 있다.

또한 온도의 영향을 알아보고자 25°C, 30°C, 35°C, 40°C에서 24시간 배양 후의 변이주 UDG-1082의 성장정도를 Fig. 53에 나타내었다. 변이주 UDG-1082의 최적 성장 온도는 35°C이고 25-40°C에서 비교적 안정된 성장을 하는 균임을 알 수 있다.

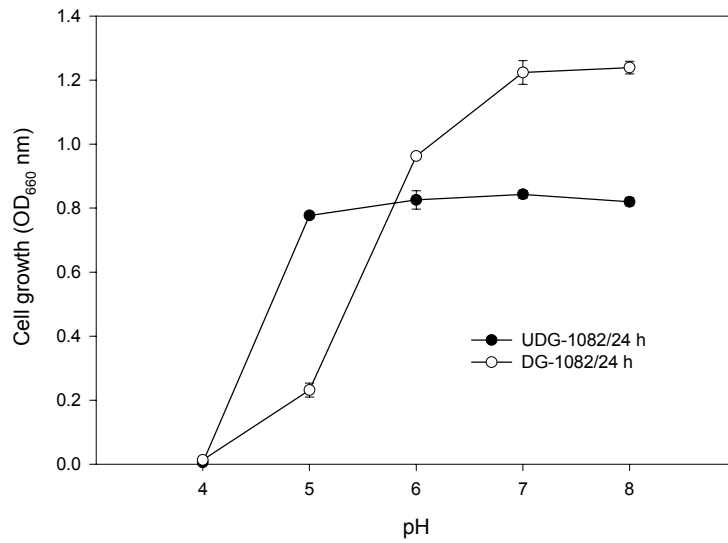


Fig. 52. Effect of pH on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

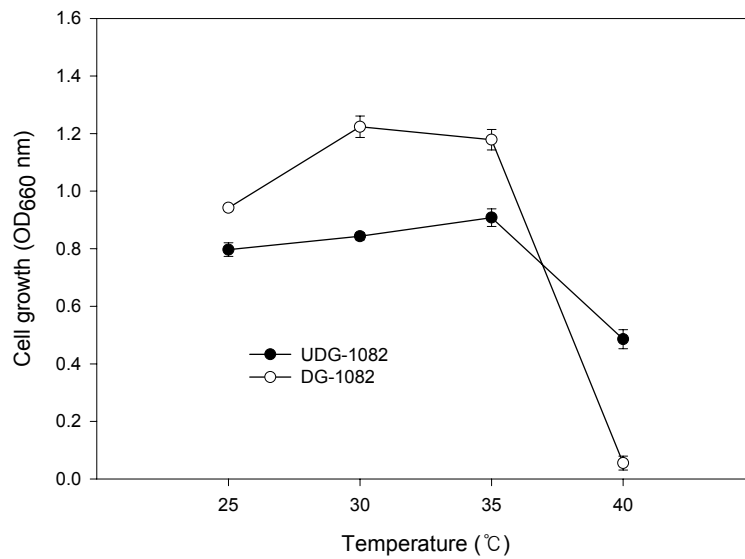


Fig. 53. Effect of temperature on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at 200 rpm.

(3) 탄소원 및 질소원의 이용성 : UDG-1082 변이주의 성장에 미치는 탄소원 및 질소원의 영향을 조사하였다. 변이주 UDG-1082는 탄소원으로 공시균주 DG-1082와 마찬가지로 glucose와 maltose를 잘 이용하여 성장하였다(Fig. 54). 또한 질소원을 첨가했

을 때 변이주 UDG-1082는 yeast extract와 tryptone를 잘 이용하였으며 공시균주보다 tryptone을 더 잘 이용하는 것으로 나타나 변이주 UDG-1082는 공시균주 DG-1082와는 다른 특성을 갖는 균주임을 알 수 있다. 탄소원과 질소원을 첨가하지 않았을 때 변이주 UDG-1082의 성장은 공시균주 DG-1082와 거의 차이가 없었다 (Fig. 55). Fig. 56은 yeast extract의 농도에 따른 변이주 DG-1082의 성장정도를 나타낸 것으로 농도가 0.5-1.0%에서 가장 양호한 성장정도를 보여주었으며 농도가 높을수록 성장이 증가하였다.

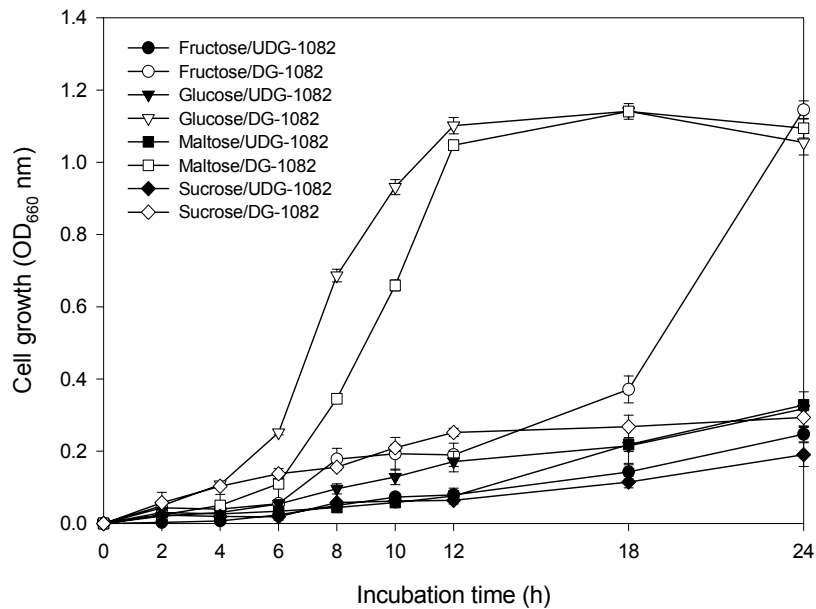


Fig. 54. Effect of 2.0% (W/V) carbon sources on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

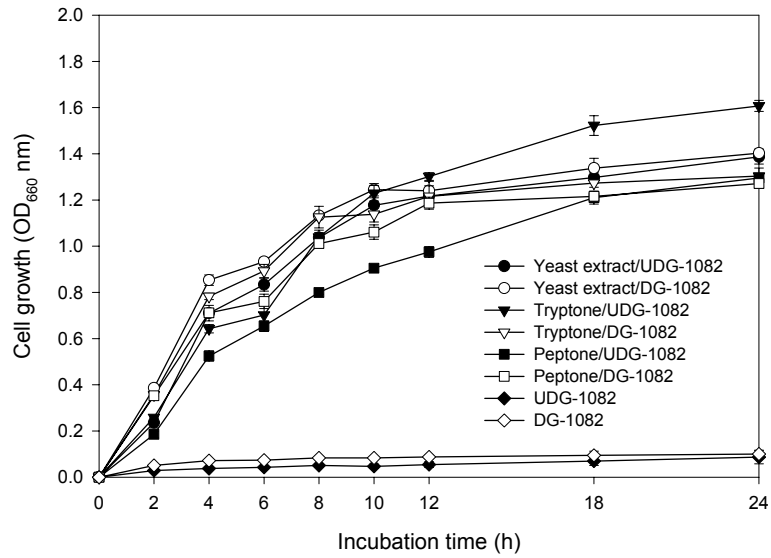


Fig. 55. Effect of 1.0% (W/V) nitrogen sources on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

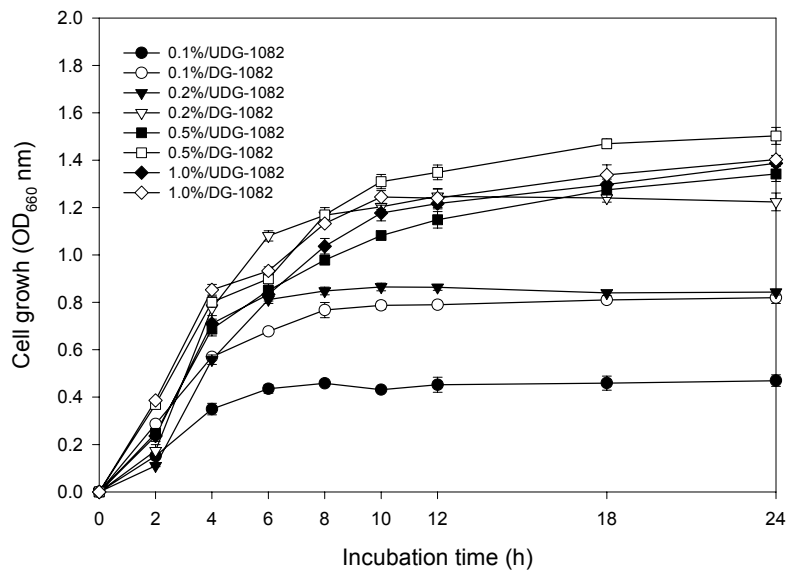


Fig. 56. Effect of yeast extract concentration on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains at 30°C and 200 rpm, respectively.

(4) 배양기 회전속도에 따른 배양특성 조사 : 배양기 회전속도가 성장에 주는 영향을 조사하기 위해 회전속도를 100, 150, 200 rpm으로 조절하고 24시간 동안 배양하면서 성장정도를 조사하였다. 변이주 UDG-1082는 회전속도가 높을수록 성장정도가 빨랐

으며, 200 rpm에서 성장이 가장 양호하였다 (Fig. 57).

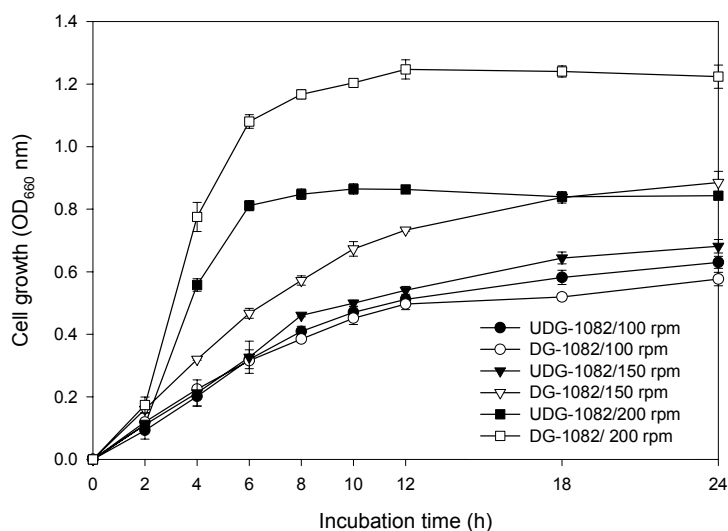


Fig. 57. Effect of agitation on the growth of *Arthrobacter* sp. DG-1082 and mutated UDG-1082 strains.

라) 돌연변이체 균주의 환경독성 평가

(1) 돌연변이주의 어독성 시험 : 돌연변이주의 어독성 시험을 위하여 미생물농약의 등록 시험방법 및 등록신청서류 검토기준에 의하여 시험을 수행하였다. 시험어종은 (주)경 농에서 어독성 시험을 위하여 인공사육하고 있는 미꾸라지와 일본송사리를 분양받아 사용하였다. 미꾸라지는 5-10 cm, 송사리는 2-3 cm 정도 크기의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다. 또한 적절한 순화 및 급이를 하였으며, 시험개시 24시간 전에는 급이를 중단하였다. 시험용 수조는 유리로 된 원통수조를 사용하였으며, 시험용수는 지하수를 사용하여 수온을 20-28℃로 항상 유지하였다. 어류는 수조당 10마리 이상을 넣어 시험하였으며, 변이주 UIW-6 배양액을 1×10^6 cfu/ml의 농도로 넣은 후 48시간 및 96시간에서의 치사율을 결정하여 어독성을 시험하였다. Fig. 58 - 59의 결과가 보여주는 바와 같이 배양액을 처리했을 때 10마리의 미꾸라지 및 송사리는 48시간과 96시간 모두 무처리구와 마찬가지로 한 마리도 죽지 않았다. 따라서 변이주 UIW-6는 어독성이 전혀 없는 것을 판정되었다.



Fig. 58. Toxicity test of *Thiobacillus* sp. UIW-6 strain (inoculum : 1×10^6 cfu/ml) against loach (*Misgurnus mizolepis*), a kind of fish, during 96 hours treatment.

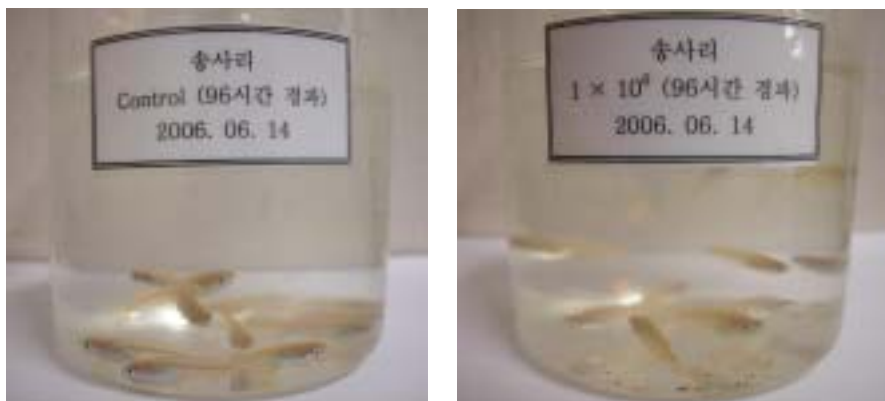


Fig. 59. Toxicity test of *Thiobacillus* sp. UIW-6 strain (inoculum : 1×10^6 cfu/ml) against monnow (*Oryzias latipes*), a kind of fish, during 96 hours treatment.

- (2) 돌연변이주의 주요작물에 대한 독성 시험 : 돌연변이주의 작물에 대한 독성시험을 위하여 본 연구에서는 배추, 콩, 양대, 무, 팥 등의 작물에 대한 돌연변이주의 발아억제시험을 수행하였다. 시험방법은 솜에 10배 희석한 배지 및 배양액을 충분히 적신 다음 petri-dish의 바닥에 골고루 퍼뜨린다. 이 위에 종자를 올려놓고 25°C의 growth chamber에서 4일간 배양하여 작물의 발아상태를 조사하였다.

그 결과 Fig. 60에서 보는 바와 같이 실험에 사용한 모든 작물의 종자가 100% 발아하였다. 이 결과로부터 변이주 UIW-6 및 이 균주의 배양에 의해서 생성되는 2차 대사물질이 종자발아에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

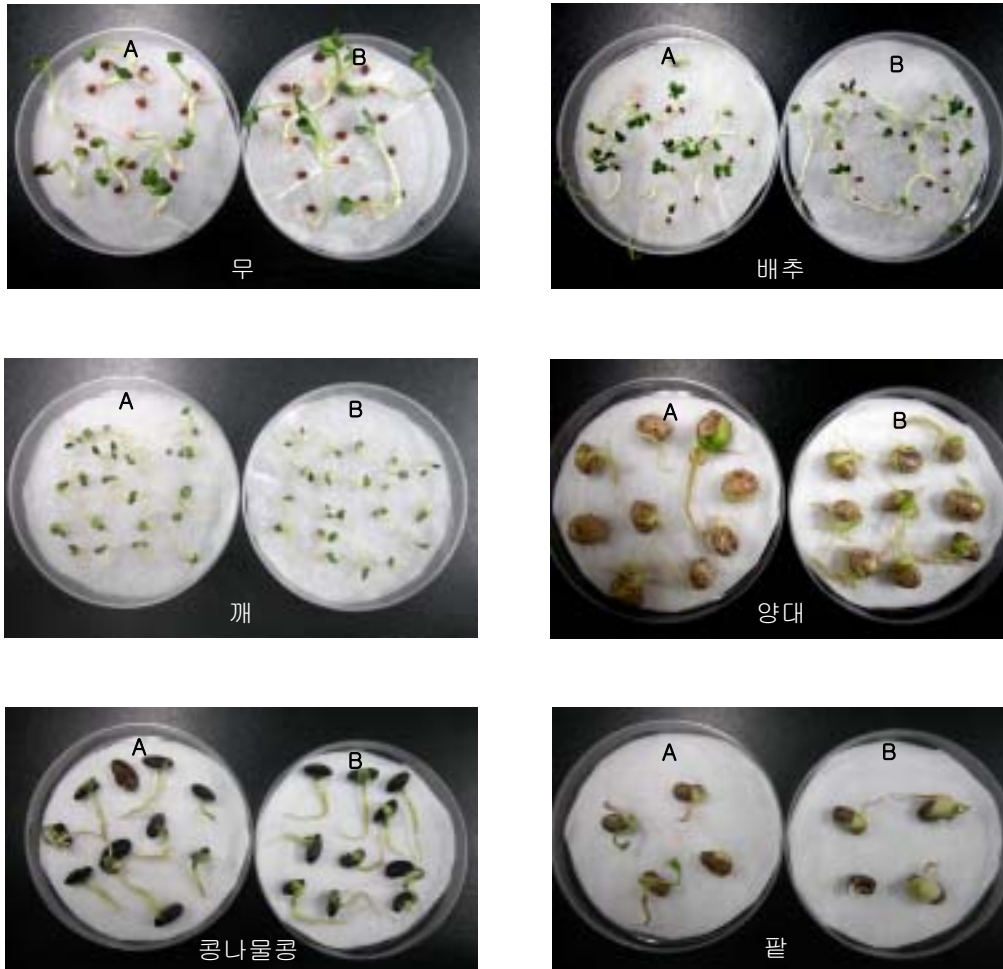


Fig. 60. Toxicity test of *Thiobacillus* sp. UIW-6 strain against various seed during 4-days germination. A: TM medium; B: Treatment of *Thiobacillus* sp. UIW-6 strain.

마) 돌연변이 균주들의 혼합배양 : 앞에서 돌연변이주 UIW-6는 효율적으로 thiosulfate를 이용하여 균체가 성장하였음을 보았다. 또한 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주에 UV를 처리하여 선발한 변이주 UDG-1082도 thiosulfate를 효율적으로 이용함을 살펴보았다. 이 두개의 변이주를 동시에 thiosulfate가 함유된 TM 액체배지(Table 4)에서 혼합배양하여 성장정도를 조사하였다. 즉 TM 액체배지에 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 함께 넣고 24시간 배양한 결과를 Fig. 61에 나타내었다. 그 결과 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 단독으로 배양할 때보다 혼합배양 했을 때 배양 후 4시간째부터 성장이 크게 증가하는 것으로 나타났다.

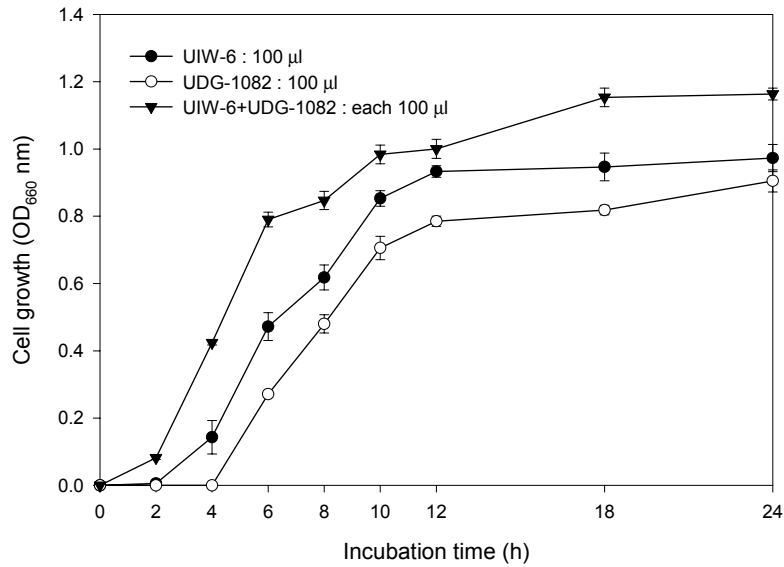


Fig. 61. Co-culture of mutant strains of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 30°C and 200 rpm in TM medium.

초기 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0으로 맞춘 TM배지에 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 함께 넣고 배양한 결과를 Fig. 62에 나타내었다. 여기서 보면 UIW-6 변이주를 단독으로 배양한 결과와는 달리, 혼합배양 12시간째에는 pH 5.0에서 성장이 제일 잘 되었으며, 24시간째에는 pH 4.0에서 pH 8.0까지 비교적 넓은 범위에서 세포가 잘 성장하였다. 이것은 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 혼합배양함으로써 실제 현장에서 pH에 상관없이 활용할 수 있는 장점이 있는 것으로 판단된다.

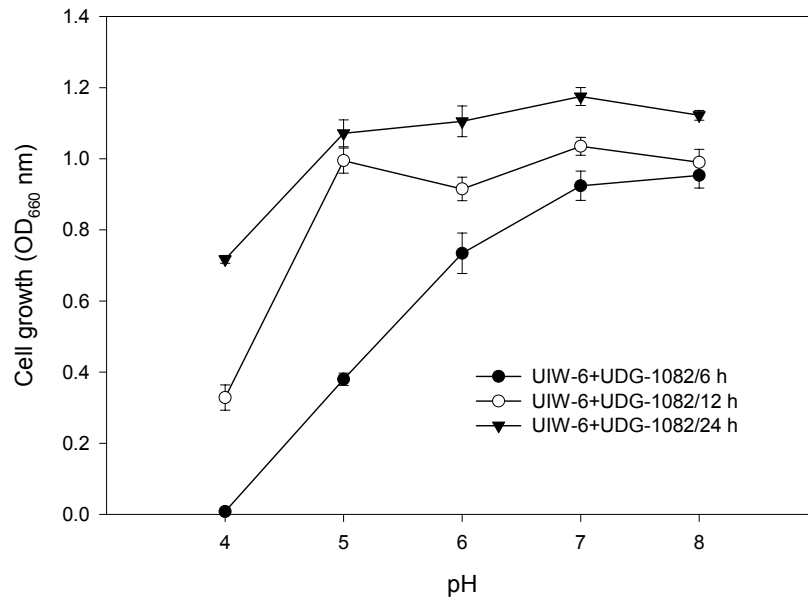


Fig. 62. Effect of pH on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 30°C and 200 rpm in TM medium.

온도가 혼합배양에 미치는 영향을 알아보기 위해, thiosulfate가 함유된 TM배지에 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 30°C, 35°C에서 24시간 혼합배양한 결과를 Fig. 63에 나타내었다. 여기서 보면 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 혼합배양하였을 때 배양 후 4시간째까지는 35°C에서 성장이 약간 높은 것으로 나타났지만, 이후에는 30°C에서 높은 성장을 보였다. 이것은 혼합배양을 할 경우 초반에 성장이 잘 되었기 때문에 균체 성장에 필요한 영양분을 대부분 이용한데 기인한 것으로 사료된다.

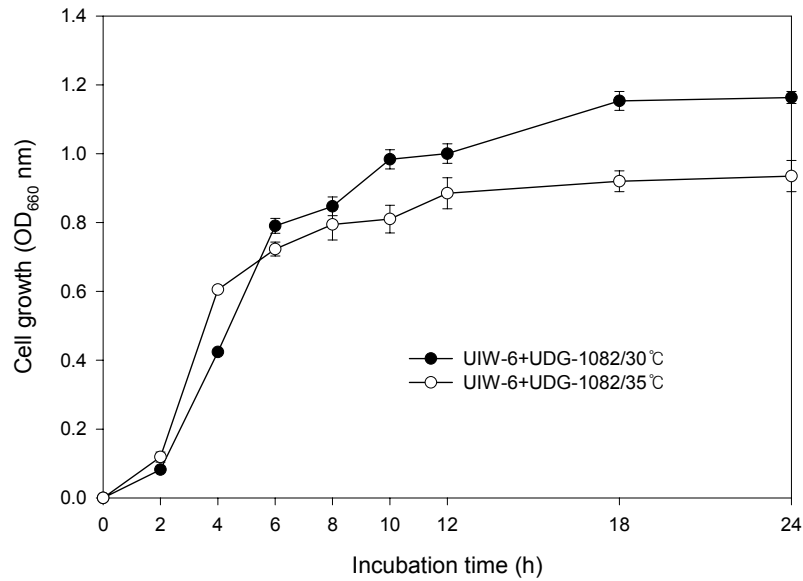


Fig. 63. Effect of temperature on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 200 rpm in TM medium.

Sodium thiosulfate의 농도가 혼합배양에 미치는 영향을 알아보기 위해, 변이주 UIW-6와 UDG-1082를 25-100 mM thiosulfate가 함유된 TM 배지에서 24시간 혼합배양한 결과를 Fig. 64에 나타내었다. 여기서 보면 UIW-6를 단독으로 배양한 결과와 마찬가지로 50 mM 농도에서 성장이 가장 잘 되었고 25 mM과 100 mM에서는 성장이 거의 일정하게 유지되었다.

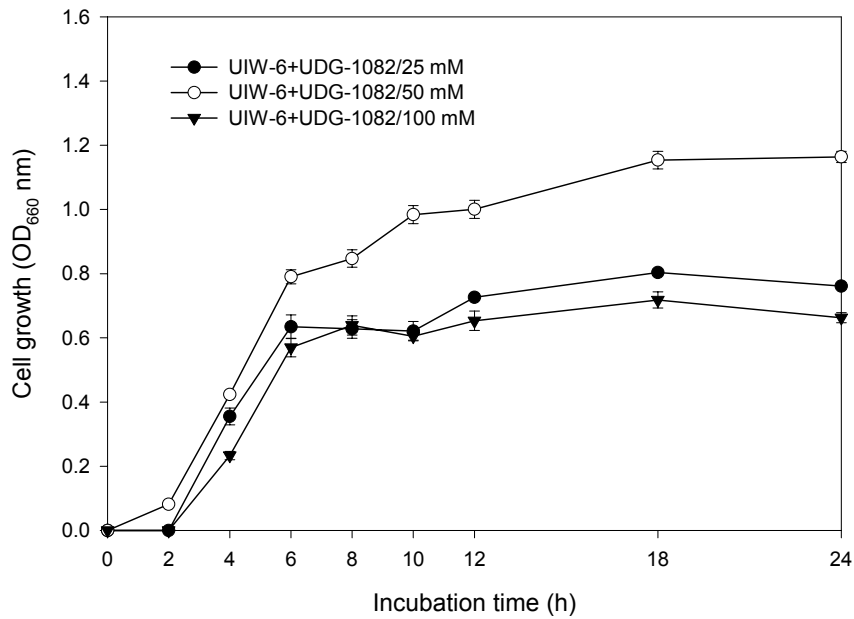


Fig. 64. Effect of sodium thiosulfate on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 200 rpm in TM medium.

혼합배양에 미치는 탄소원과 질소원의 영향을 조사하기 위해, 탄소원으로 fructose, glucose, maltose 및 sucrose를, 질소원으로 yeast extract와 tryptone을 첨가한 다음 24시간 배양한 결과를 Fig. 65 - 66에 나타내었다. 여기서 보면 탄소원으로는 glucose와 maltose를 잘 이용하였으며 UIW-6를 단독으로 배양한 경우와 마찬가지로 질소원으로는 tryptone 보다 yeast extract를 잘 이용하였다. 그러나 UIW-6를 단독배양한 경우와 달리 yeast extract의 농도가 0.5%에서 가장 양호한 성장정도를 보여주었고 0.5% 이상이 되면 성장정도가 거의 비슷하였다 (Fig. 67).

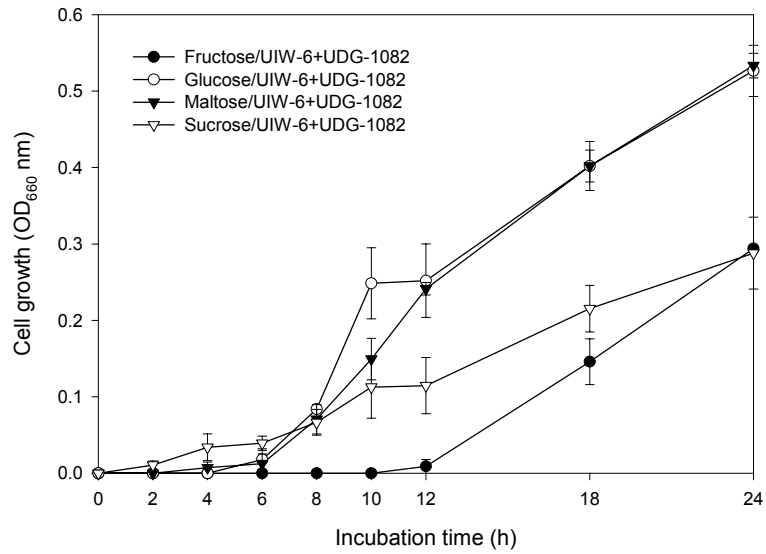


Fig. 65. Effect of 2.0% carbon sources on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 200 rpm in TM medium.

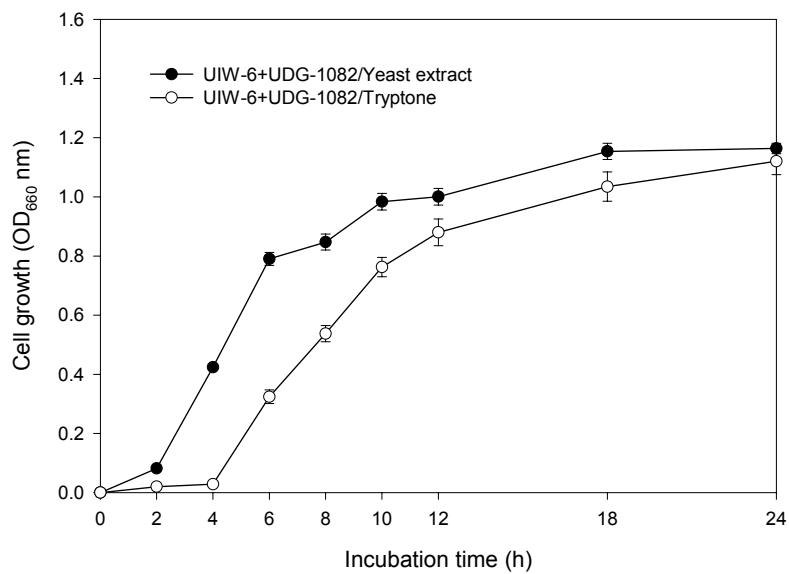


Fig. 66. Effect of 0.2% nitrogen sources on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 200 rpm in TM medium.

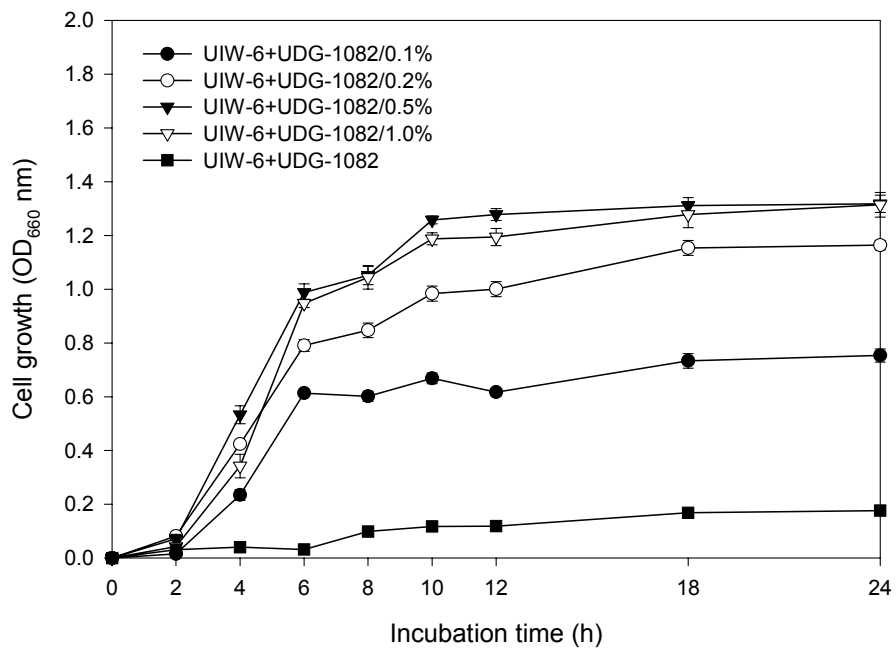


Fig. 67. Effect of yeast extract on the growth during co-culture of *Thiobacillus* sp. UIW-6 and *Arthrobacter* sp. UDG-1082 at 200 rpm in TM medium.

제 3 절 바이오필터/광촉매를 활용한 악취제거 시스템개발

1. 미생물 담체개발

90년대에 연간 약 20-25만 톤에 육박한 페타이어 배출량은, 93년 1,200만개에서 해마다 증가하여 2,000년 한해 동안에도 약 2000-2500만개에 도달할 것으로 추정되고 있다. 중금속 및 기타 환경오염물질을 제거하기 위한 흡착제로서 페타이어를 이용하려는 연구들이 행해져 왔는데, 국내에서는 정(1994)이 페타이어를 이용한 공장 폐수내의 중금속 제거에 관한 연구를 하였고 최근에는 이 등(2000)이 페타이어와 폐놀미생물(*Cryptococcus Terreus A*)을 이용하여 암모니아를 비롯한 악취 유발물질 제거연구를 하였는데, 이 연구에서 페타이어 Kg 당 흡착된 암모니아의 양은 0.0154 g/min으로 활성탄에 의한 흡착량인 0.0074 g/min보다 높았다. 또한 도시하수 또는 폐수의 영양염류 제거나 암모늄 이온의 질산화를 위한 생물학적 처리에 있어서 페타이어의 담체로서의 활용이 최근에 연구되어, 페타이어를 이용하여 만든 담체를 반응조에 주입하여 담체에 고정화된 고밀도의 미생물에 기인한 기존 하수 처리장의 질산화 효율 향상과 호기조의 용적감소를 위한 방안으로 활용하여 폐수의 생물학적 처리에 쓰이던 기존의 다공성 폴리우레탄 담체 및 섬유상 담체를 대신하고 있다.

이 연구 목적은 제조원가절감 등 여러 가지 면에서 이득을 볼 수 있는 페타이어 재활용을 위하여, 제조원가가 싸고 미생물에 독성이 비교적 없으며 내구성이 뛰어난 암모니아를 비롯한 악취유발물질 제거용 페타이어 담체를 제조할 수 있는 공정의 최적조건을 제오라트를 포함한 페타이어분말을 EVA와 blending하여 압출 제조된 페타이어 담체의 물성 분석을 통하여 구축하는 것이다. 또한 이렇게 제조된 페타이어 담체에 여러 가지 흡착제를 도포하였을 때의 각각의 접촉각을 측정하여 미생물담체로서의 친수성을 상호 비교하는 것이다.

가. 실험

1) 담체 제조 방법

페타이어를 상온 분쇄하여 페타이어분말을 생산하는 전문업체인 부성에서 페타이어분말을 구입하여 담체 제조에 사용하였는데 입도 분석 결과는 표 2-1과 같다. 담체제조에 사용되는 압출기는 Fig. 2-1과 같은 motor, heating barrel, 이축혼련기(twin screw), 흡착제 도포기, cutter, control box 및 공정 시에 발생하는 폐가스의 포집장치로 구성되어 있다. 분쇄과정에서 발생된 wire 등의 잔여불순물을 제거한 후에 제오라트를 포함한 페타이어분말과 접착제로 사용되어지는 EVA (Ethyl Vinyl Acetate)를 적당량의 중량비로 충분히 섞어준 다음 압출기의 호퍼에 넣어주었다. Heating부의 스크루에서 페타이어와 EVA를 160℃ 정도의 온도에서 충분히 혼합시켜서 바렐을 통해 호퍼로 나온 시료를 이축 혼련기를 사용하여 압출을 하였다. 압출부 말단에는 gate가 담체의 크기를 결정하여 균일한 속도로 회전하는 cutter

로 담체를 절단한 후에 절단된 담체에 흡착제를 적당한 량을 뿌려주었다. 도포된 흡착제는 페타이어 담체를 폐수처리에 투입 시에 유기물질과 암모니아의 제거 효율을 높여주는 역할을 하지만 제조과정에서는 뜨거운 담체가 서로 엉겨 붙는 현상을 방지해주는 역할을 하였다. 흡착제가 도포된 완성된 담체는 배출구를 통해 밖으로 나온 후에 균일하게 펴서 냉각시켰다.

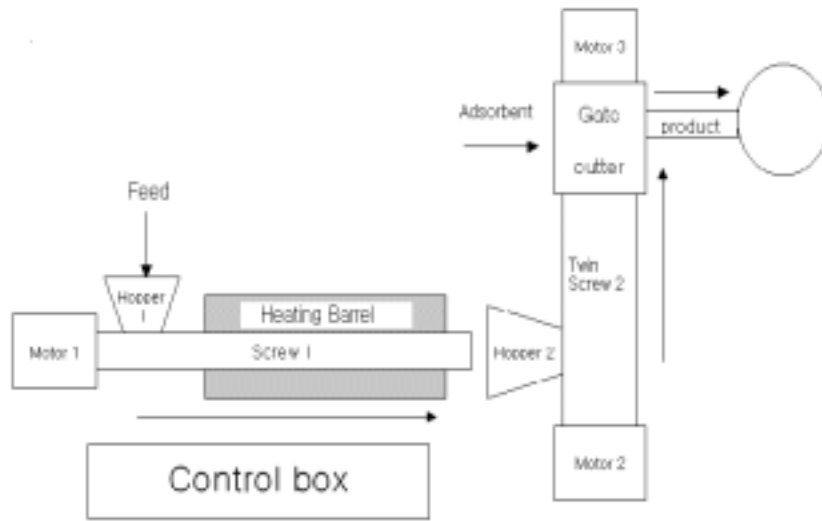


Fig. 2-1. Schematic diagram of media-preparation process.

Table 2-1. Size distribution of waste-tire-powder used in the preparation of the media

Mesh	Weight(%)
5	0
6	0
8	0
10	0.02
14	0.20
18	3.63
20	22.60
25	27.45
40	25.65
50	6.47
>50	13.98
Total	100.00

2) 담체의 물리·화학적 특성

가) 담체 성분의 물성검사 및 담체 표면의 접촉각 측정

페타이어를 입자로 잘게 분쇄한 페타이어 분말을 이용하여 성형함에 있어서 제조원가가 저렴하고, 중량이 가벼우며, 내구성이 뛰어난 페타이어 담체의 제조를 위한 최적 공정조건의 도출을 위하여 여러 가지의 물성 실험을 수행하였다. 페타이어 담체의 안정성을 측정하기 위해서 여러 가지 조성의 페타이어 시편에 대한 인장강도로서 대신 나타내었고 또한 페타이어 담체 모양이 보존되어야 하는데 담체 모양의 일그러짐 방지의 척도로서 압축강도를 측정하였다. 또한 담체 표면의 친수성의 정도를 측정하기 위하여 시편 표면 위에 놓인 액적에 대한 평형 접촉각을 재어서 담체 표면에 활성탄 또는 합성 칼슘 실리케이트 같은 흡착제가 도포되었을 때와 도포되어 있지 않을 경우의 친수성을 상호 비교하였다.

나) 시편제조

KSM 6518 가황 고무 물리시험방법에 따른 아령형 3호의 시편성형을 위해 제작한 금형을 12톤 프레스(#3851 Model C, Carver사)의 두 개의 heating & cooling plate위에 장착하였다. 폴리이미드 필름 및 도포용 실리카를 이형체로서 금형의 천장과 바닥에 도포하고, 페타이어 분말에 여러 가지 중량비의 EVA를 넣고 기계적으로 충분히 혼합한 혼합물을 금형의 cavity안에 주입한 후에 필요한 경우에는 혼합물 위에 활성탄 또는 합성실리케이트 같은 흡착제를 도포하여 8톤의 압력 하에 10분 동안 주어진 온도에서 시편을 압축성형하였다. 압축성형 시의 프레스기의 TIC 설정 온도는 두 개의 heating & cooling plate위에 장착된 시편성형을 위한 금형 표면의 실제 온도와의 차이를 보정하여 설정하였다.

다) 물성검사 시험방법

모든 물성검사는 실험에 사용된 페타이어 분말(표 2-1)에 대하여 수행되었고 또한 바인더의 경우도 삼광수기에서 사용하고 있는 Sumitomo사의 Ethyl Vinyl Acetate (VA양: 28%)를 사용하여 각각의 중량비에 대하여 3회 이상 수행되어 평균값을 구하였다. Texture Analyzer (TA-HD 500, Stable Micro System)를 사용하여 인장속도를 300 mm/min으로 설정하여 인장강도를 시험하였고 또한 동 계측기기를 이용하여 시편에 수직으로 probe의 지름이 5 mm인 바늘이 2-3 mm 까지 들어갈 때의 압축강도를 측정하여 경도시험을 대신하였다. 이와 같이 인장강도 및 압축강도를 시험하여 최적 바인더 투입량 즉 최적 공정조건을 도출하였다. 시편 표면에 대한 액적의 접촉각 측정을 위하여 접촉각 측정장치를 제작하였는데 측정장치는 대신과학사의 광원(모델 GLS-V100C)이 2방향반침대위에 놓여진 시편 표면 위의 액적을 표면과 평행으로 주사하고 줌 렌즈(CFM+)를 통과하여 Panasonic Color CCTV 카메라(Model WV-CL320)에 투사된 시편 표면 위에 놓여진 액적의 측면 영상을 Data Translation사의 소프트웨어(Global LAB Image)를 이용하여 나타내고 그 위에 node를 찍어서 각각의 경우에 접촉각 측정을 10회 수행하였다.

나. 결과 및 토론

1) 물성 실험결과

가) 담체 성분의 기초물성

Fig. 2-2는 실험에 쓰인 바인더의 유리전이점 등을 differential scanning calorimetry (DSC) 실험을 수행하여 나타내고 있다. 바인더의 양이 아주 적을 때에는 페타이어 입자끼리의 직접적인 접촉면이 커서 인장강도가 약하나 바인더의 양이 증가하여 페타이어간의 직접적인 접촉면이 없고 거의 모든 페타이어 입자가 혼합된 바인더에 둘러싸여 있을 때에 인장강도가 증가함을 예측할 수가 있고 바인더의 투입량이 필요이상 커져서 페타이어 입자사이에 충전된 바인더의 폭이 증가하면 페타이어 입자 표면과 바인더간의 접착력보다 바인더에 대한 인장응력이 약해져서 인장강도가 감소함을 예측할 수 있는데, 바인더의 양이 페타이어 분말과의 혼합물에 미치는 물성 변화의 실험 결과는 페타이어분말과 EVA의 중량비가 4 대 1이 될 때가 인장강도가 가장 커서 약 13 Kg중/cm²을 나타내었다(Fig. 2-3(A)). 또한 그 조성비에서의 압축강도는 약 16 Kg중/cm²을 나타내었다(Fig. 2-3(B)). 따라서 페타이어 담체의 제조에 있어서 투입되는 페타이어 및 EVA의 적정조성(w/w)은 약 4 대 1 이었다. 한편 접촉각 측정 결과는 Fig. 2-3(C)와 같이 시편 위에 활성탄이 도포된 경우가 합성 칼슘실리케이트가 도포된 경우 또는 어느 흡착제도 도포되지 않은 경우보다 약 15°정도 낮아서 활성탄이 도포된 경우가 그렇지 않은 경우 보다 더욱 친수성임을 보여주었다.

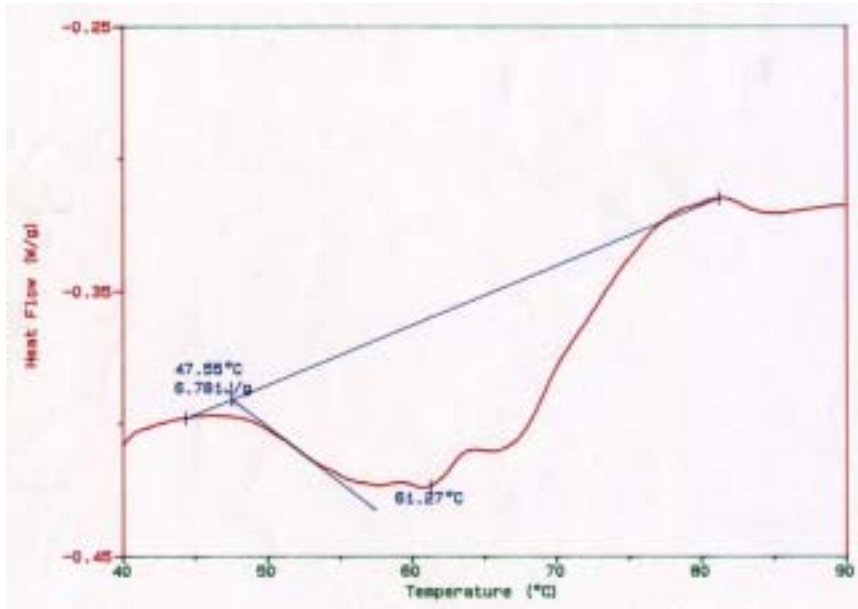


Fig. 2-2. DSC scan of EVA (Vinyl Acetate: 28%).

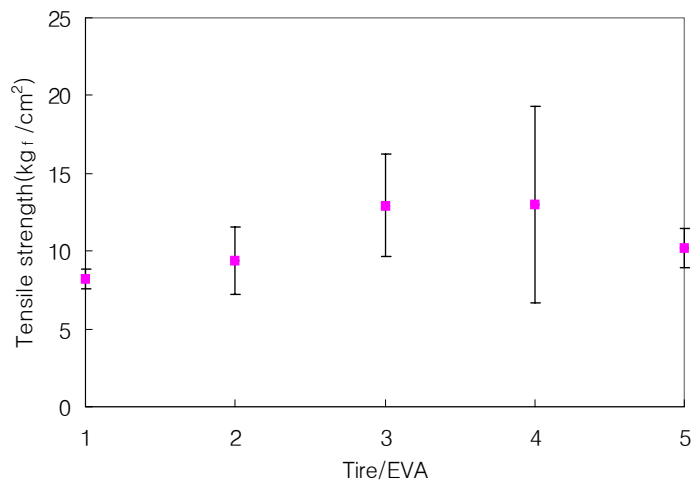


Fig. 2-3(A). Tensile strength over various ratios (w/w).
 (1; 5:5, 2; 6:4, 3; 7:3, 4; 8:2, 5; 9:1) of Tire/EVA

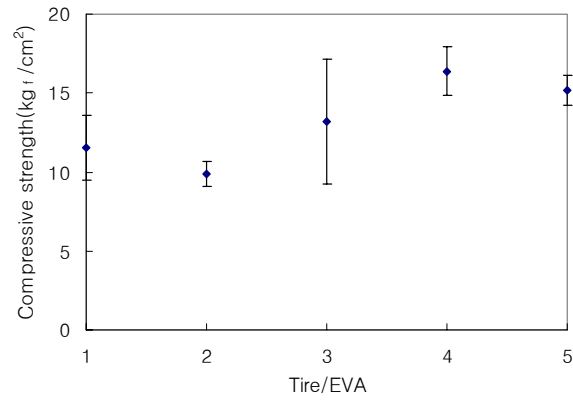


Fig. 2-3(B). Compressive strength over various ratios (w/w).
(1: 5:5, 2: 6:4, 3: 7:3, 4: 8:2, 5: 9:1) of Tire/EVA

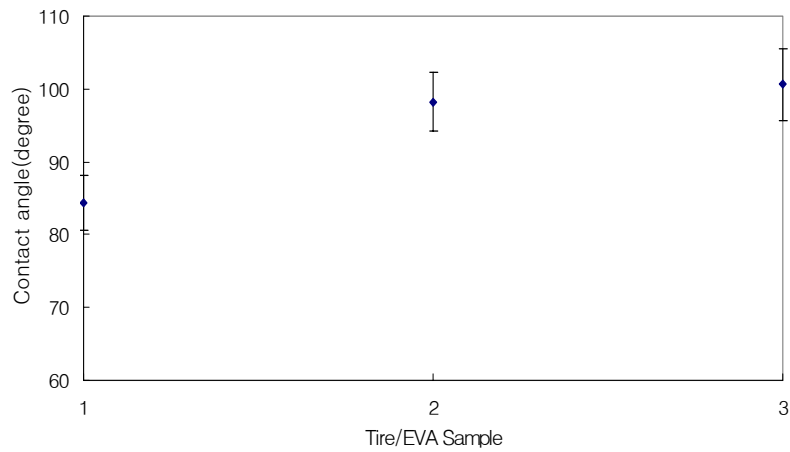


Fig. 2-3(C). Contact angles on various surfaces of Tire/EVA samples. (1; with coconut-based activated carbon, 2; with synthetic calcium silicate, 3; without activated carbon)

나) 제조된 담체의 물리적 특성

질산화 속도 상수 측정치의 비교를 위하여 삼천리 활성탄소(주)에서 제작되어진 코코넛

및 석탄 활성탄 분말 2종과 Celite corporation에서 제작되어진 합성 칼슘 실리케이트 4종을 페타이어 담체 표면에 도포되어진 흡착제로 사용하였다. 페타이어 및 EVA의 적정 조성 (w/w)인 약 4 대 1로 제조된 페타이어 담체는 폭 및 높이가 약 5-7 mm정도인 계란형의 입자로서 비표면적이 약 $1,500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ 이고 담체 내부의 빈 공간에 물을 채웠을 때의 겉보기 비중은 1.01 Kg/L 정도로서 일반적인 슬러지 비중인 1.03 Kg/L 보다는 약간 가벼웠고 물의 비중과 비슷하여 유동상 담체로서 적합하였다. 또한 담체의 공극이 비었을 때의 겉보기 비중은 약 0.27 kg/L로서 이에 따른 페타이어 담체 내외부의 공극의 부피는 페타이어 담체 1 L당 약 0.74 L이며 타 담체에 비하여 비교적 큰 질산화균의 부착 및 성장을 위한 공극을 제공한다. 페타이어 및 EVA 조성에 따른 담체 공극율의 추이를 Fig. 2 - 4와 같이 나타내고 있는데 EVA가 적게 투입될수록 페타이어 분말 간의 공극이 커져서 페타이어 대 EVA의 조성이 4 대 1 일 때에 담체 내외부공극율은 0.74까지 증가하였다. 한편 내부공극율은 같은 조성의 페타이어담체의 경우에 0.14이었고 제오라이트를 포함한 페타이어담체의 경우는 0.24이었다.

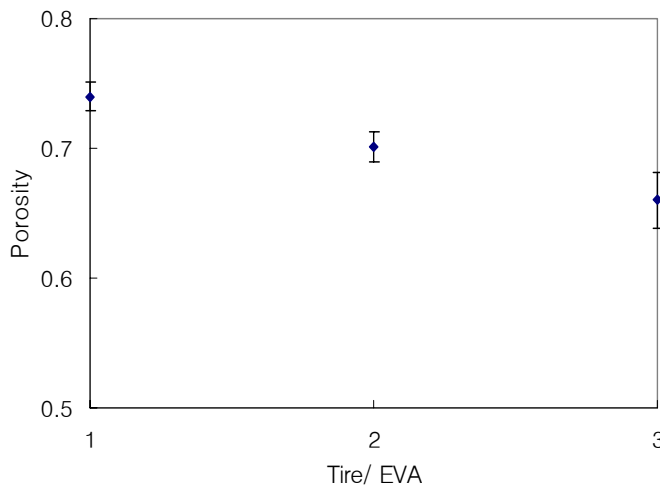


Fig. 2-4. Porosity of the media over various ratios (w/w).

(1; 4:1, 2; 3:1, 3; 2:1) of Tire/EVA

페타이어 표면과 흡착제의 접촉성에 있어서 페타이어 담체 표면에 도포할 때에 합성 칼슘 실리케이트류는 육안으로 감지될 만큼 도포성이 활성탄에 비하여 떨어졌다. 이는 분말 활성탄 및 합성 칼슘 실리케이트 표면을 광학 현미경(BX60, Olympus)으로 30배 확대한 Fig. 2-5(A)~(F)에서와 같이 일반적으로 합성 칼슘 실리케이트의 표면이 활성탄에 비하여

매끄러운 것 또는 흡착제를 도포 시 EVA와 유기물인 활성탄과의 접착력이 EVA와, 무기물 규소가 주성분인 합성 칼슘 실리케이트와의 접착력보다 우월함에 기인한 것으로 보인다.

Fig. 2-5. Activated carbon powder(A and B) and synthetic calcium silicate(C-F) by light microscopy (x30).

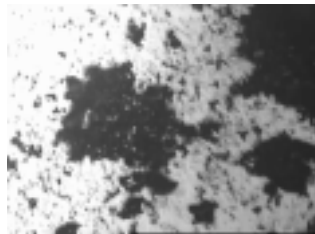


Fig. 2-5(A). Coconut-based activated carbon

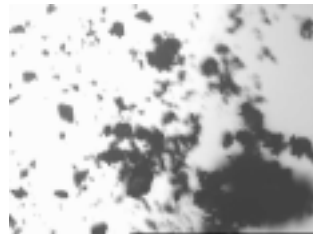


Fig.2-5(B). Coal-based activated carbon



Fig. 2-5(C). Synthetic Calcium Silicate (CEL-E).

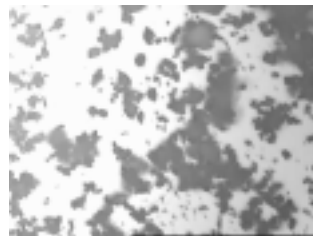


Fig. 2-5(D). Synthetic calcium silicate (CEL-C).

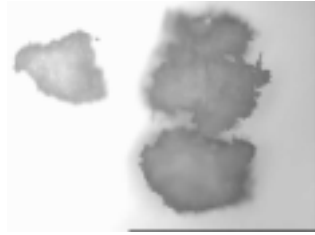


Fig. 2-5(E). Synthetic calcium silicate (C-209).



Fig. 2-5(F). Synthetic calcium silicate (C-281).

또한 높은 농도의 질산화균을 유지하기 위하여, 미생물에 대한 담체 선정에 있어서 질산화균이 효과적으로 고정화되는 담체를 선정하는 것이 중요한데 미생물이 부착되는 담체 표면에 도포된 흡착제 표면의 거칠기 정도가 미생물 부착에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어서 표면이 거친 흡착제의 선정이 유리하다고 볼 수 있다. 또한 친수성인 표면이 소수성의 표면보다 미생물 부착에 유리하다고 보고 되고 있다. 따라서 합성 칼슘 실리케이트보다 활성탄이, 활성탄 중에서도 코코넛 활성탄의 표면이 가장 요철이 심하여 담체 표면에 도포 시에 미생물의 부착이 용이할 것이라고 판단되며 미생물은 활성탄의 micro (0.001-0.01 μm), transition (0.01-0.1 μm) 및 macro기공(0.1-10 μm) 중에서 macro 기공에 부착된다고 보고 되고 있다. 활성탄의 기공 표면은 유기물의 탄소에는 활성탄의 기공 표면의 수많은 탄소와의 중첩된 dispersion force에 의하여 강한 흡착력을 보이고 물 분자에는 산화된 활성탄의 탄소와의 수소결합에 의하여 흡착되는데(8) 실험에 쓰인 흡착제 별 크기, 비표면적, 건조감량 및 주요성분은 표 2-2와 같다.

Table 2-2. Characteristics of the adsorbents used in the preparation of waste-tire-media

	CEL-E	CEL-C	C-209	C-281	Coal	Coconut
MESH(%)	+325(6)	+325(4)	+325(0.5)	+325(1.5)	+150(1.0)	+150(1.0)
BET(m^2/g)	120	175	10-20	2	962	1107
Moisture(%)	5.5	8.0	6.0	1.48	4.0	3.0
Component (%)	CaO(32) SiO ₂ (17)	CaO(27) SiO ₂ (50)	CaO(0.5) SiO ₂ (86.7)	CaO(0.5) SiO ₂ (89.6)	CaO(8.9)	CaO(2.1)

제조된 페타이어담체의 절단면의 표면상태를 광학 현미경(BX60, Olympus)으로 30배로 관찰하여 페타이어 입자를 둘러싼 바인더의 배열상태, 즉 바인더와 페타이어의 계면 및 질산화군의 성장장소가 되는 공극의 상태를 조사하였다(Fig. 2-6).

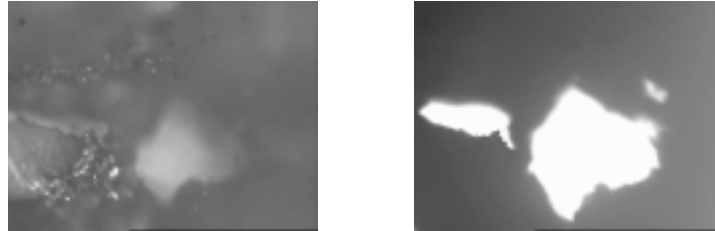


Fig. 2-6. Inner pore of the media (reflected light observation(the left) and transmitted light observation(the right)) by light microscopy (x30).

광학현미경의 mode 중에서 Fig. 2-6의 왼편에 있는 일반적인 반사mode의 화상(reflected light observation)은 광원의 빛을 시편 위에서 조사하여 반사된 화상으로서 담체 내부의 공극 주위 표면의 울퉁불퉁한 요철 상태를 보여주며, 오른편에 있는 투과mode의 화상(transmitted light observation)은 빛이 담체 시편의 아래에서부터 위로 투과하여 담체 내부의 공극의 배열 및 크기를 대조적인 명암으로 보여주고 있다. 광원은 반사 및 투과 mode의 두 경우 모두 12V, 100W HAL-L halogen전구(PHILIPS 7724)가 사용되었다.

다. 결론

제조원가가 싸고 미생물에 독성이 비교적 없으며 내구성이 뛰어난 암모니아를 비롯한 악취유발물질 제거용 페타이어 담체를 압출기를 이용한 제조공정에 적용하여 약 160℃에서 제조하였는데, 페타이어분말과 EVA의 중량비가 4 대 1 이었을 때에 가장 큰 페타이어 담체의 강도를 나타내었으며 총공극율은 0.74까지 접근하였다. 암모니움 이온의 이온교환능력을 가지고 있는 제오라이트를 포함한 같은 EVA 중량비의 페타이어담체의 경우 내부공극율은 0.24로서 제오라이트가 없는 페타이어담체의 내부공극율인 0.14보다 더욱 컸다.

2. Hybrid 시스템구축 및 실험

가. Hybrid시스템 및 바이오필터의 구성

1) Lab scale 시스템

여러 가지 단계에서 황화수소(A) 또는 암모니아(B) 또는 황화수소/암모니아 혼합물(C)의

inlet load량과 농도를 변화시켜서 황화수소(A) 또는 암모니아(B) 또는 황화수소/암모니아 혼합물(C)의 시간에 따른 hybrid시스템 또는 바이오필터에서의 처리추이를 관찰하기 위하여 실험을 수행하였다. 실험의 수행을 위하여 아크릴을 소재로 한 바이오필터를 downflow방식으로 운전하기 위하여 반응기를 제작하였다. 당 실험은 광촉매와 바이오필터로 이루어진 hybrid 시스템에서 4개의 sampling port를 각각 설치하여, 각 port의 높이에서의 폐가스를 처리분석 하였다. 바이오필터는 담체를 지름이 5 cm이고 길이가 바이오필터 상부관(내경=5 cm; 길이=30 cm) 및 하부관(내경=5 cm; 길이=30 cm)에 22 cm 및 22 cm 각각의 높이로 채워 넣어서 바이오필터(총 높이=60 cm)의 총 유효높이는 44 cm로 하였다.

바이오필터에는 평균지름(Dp)이 3 mm인 입상 활성탄(GAC)과 0.6 mm인 compost 또는 추가로 자체 제작한 페타이어담체(암모니아(B)와 황화수소/암모니아의 혼합물(C)의 경우) 각각을 같은 부피로 혼합한 담체를 사용하였다. 담체의 지지체로 선정된 활성탄은 높은 흡착능력 및 그로 인한 shock loading에 대한 높은 buffer capacity 등의 장점이 있으나 미생물의 성장에 따른 압력 손실의 증가와 함께 잦은 channeling 및 short-circuiting 등의 단점이 있다. 담체의 일부는 유기담체(compost)로 선정하여 미생물에 필요한 무기영양소를 자체 공급하였고 바이오필터의 윗부분에서 peristaltic pump (Masterflex) 를 이용하여 바이오필터 내의 담체의 pH와 수분 유지를 위하여 buffer solution을 바이오필터 위에서 밑으로 간헐적으로 공급되게 하였다.

한편 광반응기는 외경, 내경 및 길이가 각각 8 cm, 4 cm 및 47 cm인 환형의 pyrex관을 제작하여 360 nm에서 주파장을 갖는 15W UV-A램프(437 mm(L)×28 mm(Φ), 한성자외선)를 pyrex관의 내경 안에 삽입하였다. 그리고 pyrex관의 내경 및 외경 사이에는 지름이 1 cm인 glass bead를 충전시켰다. 폐가스가 pyrex관에 들어와서 접촉하는 pyrex관의 내부면과 glass bead의 표면은 나노팩에서 구입한 광촉매졸(이산화타이타늄졸)에 dip-coating하여 상온에서 10분간 건조 후에 furnace에서 450℃의 조건으로 30분 이상 소성시키고 이러한 dip-coating 및 소성공정을 3회 반복 시행하였다.

Blower (Young Nam Yasunnaga, 토출압력; 0.12 Kg/cm², 최대유량; 43 L/min)에서 공급되는 공기는 향온수조(제일과학, J-PW B2)에 의하여 약 40-50℃로 유지되는 humidifier 칼럼 3개를 통과하여 상대습도가 95-99%를 유지하며 이 공급공기는 mixing chamber로 투입된다. 이 mixing chamber에는 황화수소의 경우는 1017 ppmv의 황화수소가스(RiGas)가, 암모니아의 경우는 992 ppmv의 암모니아가스(RiGas)가 약 1500 psia의 압력으로 유지되는 봄베에서 regulator를 거쳐서 metering 밸브(Swagelok, S series: viton sealing(황화수소) 및 kalrez sealing (암모니아))를 통과한 후에 보다 정확한 질량유입을 위하여 mass flow controller (Bronkhorst, F-201D)를 사용하여 mixing chamber에 투입될 유량을 설정하였다. Mixing chamber에서 가습된 공기와 황화수소 또는 암모니아가스를 혼합하여서 바이오필터의 운전조건에 설정된 인입농도로 맞춘 후에 광촉매반응기를 통과한 후에 황화수소 및 암모

니아 각각의 바이오필터(A 및 B)로 인입된다. 이와 같이 광촉매반응기를 통과한 폐가스는 바이오필터의 feed로서 downflow 방식으로 바이오필터 위에서 주입되었다. 황화수소 또는 암모니아가스 봄베에서 mixing chamber까지는 1/8인치 스테인리스 스틸관으로 연결하였다. Blower에서 공기를 이송하는 관은 tygon관으로 사용하였고 mixing chamber에서 바이오필터까지는 황화수소의 경우 내산성이 있는 viton관을, 암모니아의 경우는 tygon관을 각각 사용하여 배관하였다. 각 바이오필터는 temperature controller가 부착된 heating band로 감아서 반응기의 온도유지 (30°C)를 하였고 각 장치의 fitting은 swagelok fitting으로 사용하였다.

Hybrid시스템A, B 및 바이오필터 A(황화수소), B(암모니아) 및 C(황화수소/암모니아 혼합물)에 대한 공정도를 Fig. 2-7-1, 2-7-2, 2-8-1, 2-8-2 및 2-8-3과 같이 각각 나타내었다. (Hybrid시스템을 묘사하는 Fig. 2-7에서 H₂S (A)는 경우에 따라 NH₃ (B)로 바꾸어 질 수도 있으며 H₂S/NH₃의 혼합가스(C)로 바꾸어 질 수 있다.)

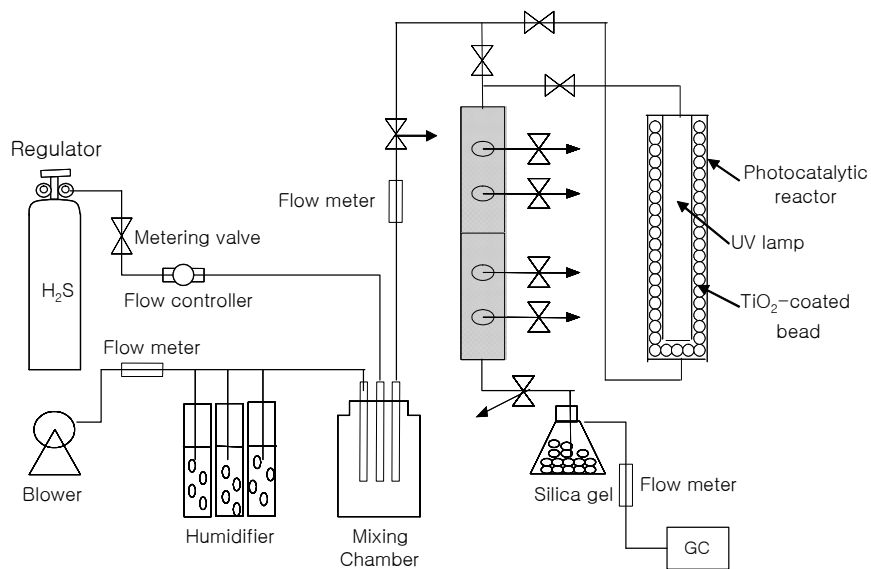


Fig. 2-7-1. Schematic diagram of hybrid system A.

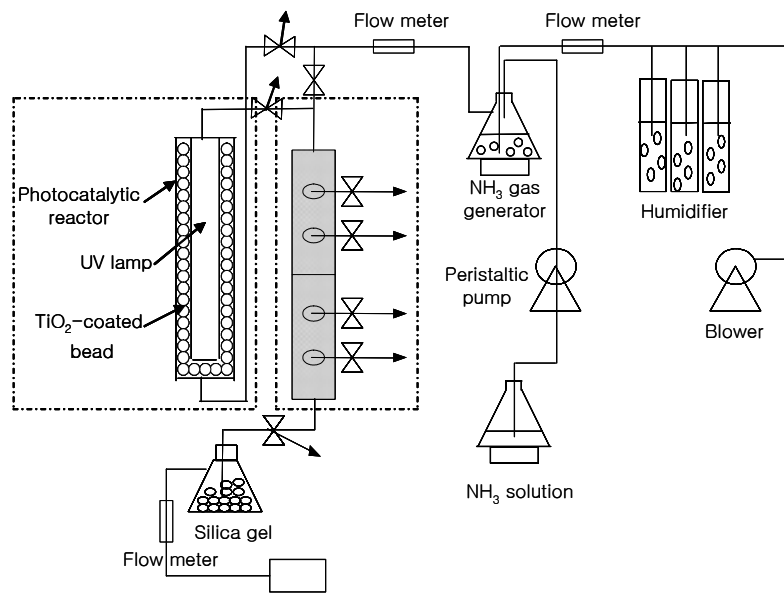


Fig. 2-7-2. Schematic diagram of hybrid system B.

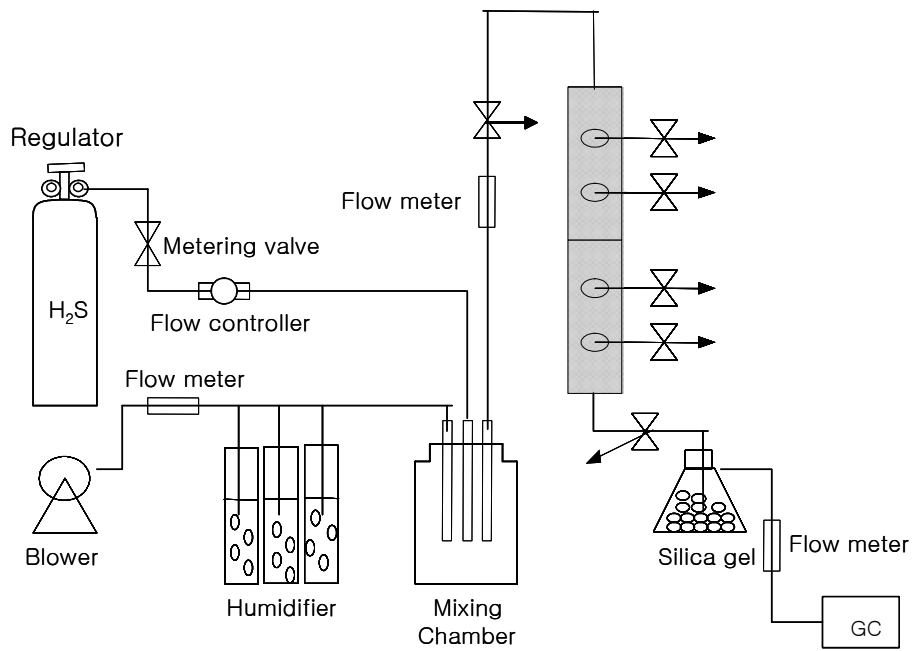


Fig. 2-8-1. Schematic diagram of biofilter A.

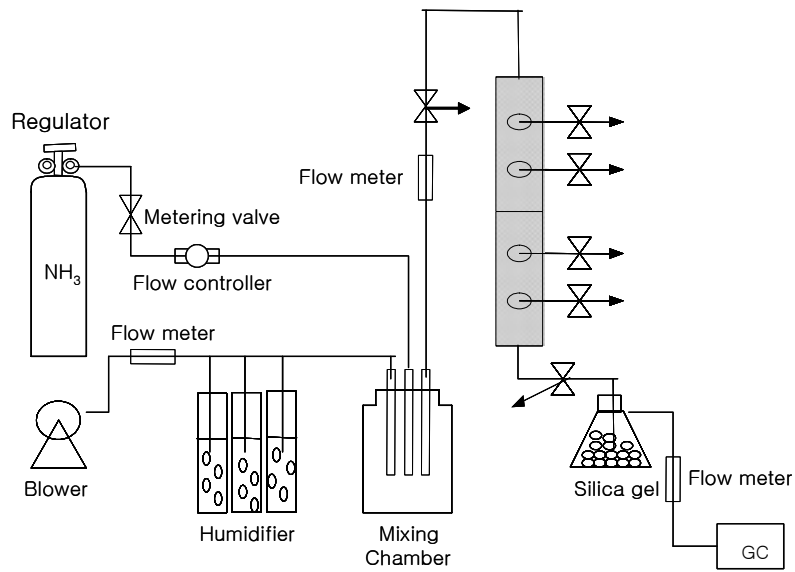


Fig. 2-8-2. Schematic diagram of biofilter B.

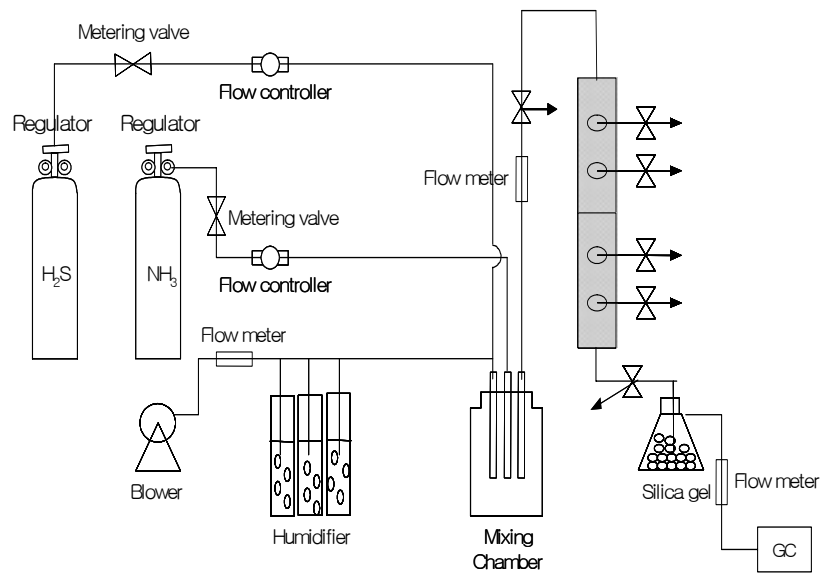


Fig. 2-8-3. Schematic diagram of a biofilter C.

2) Semi-pilot scale 시스템

여러 가지 단계에서 황화수소/암모니아 혼합물(D 및 E)의 inlet load량과 농도를 변화시켜서 황화수소/암모니아 혼합물(D 및 E)의 시간에 따른 hybrid시스템 또는 바이오필터에서의

처리추이를 관찰하기 위하여 실험을 수행하였다. 실험의 수행을 위하여 아크릴을 소재로 한 바이오필터를 전향의 lab scale 시스템과 마찬가지로 downflow방식으로 운전하기 위하여 아크릴관(내경=9.5 cm; 길이=16 cm)의 5단으로 이루어진 반응기(총 높이=80 cm)를 제작하였다. 당 실험은 광촉매와 바이오필터로 이루어진 hybrid 시스템에서 5개의 sampling port를 각각 설치하고, feed, 3단 및 exit에서 폐가스의 처리분석을 하였다. 바이오필터는 담체를 바이오필터 5단에 7.5 cm의 높이로 각각 채워 넣어서 바이오필터의 총 유효높이는 37.5 cm로 하였다.

바이오필터에는 평균지름(Dp)이 3 mm인 입상 활성탄(GAC), 0.6 mm인 compost 및 자체 제작한 페타이어담체 각각을 같은 부피로 혼합한 담체를 사용하였다. 담체의 일부분은 유기담체(compost)로 선정하여 미생물에 필요한 무기영양소를 자체 공급하였고 바이오필터의 윗부분에서 peristaltic pump (Masterflex) 를 이용하여 바이오필터 내의 담체의 pH와 수분 유지를 위하여 buffer solution을 바이오필터 위에서 밑으로 간헐적으로 공급되게 하였다.

한편 광반응기는 외경, 내경 및 길이가 각각 15 cm, 7 cm 및 42 cm인 환형의 pyrex관을 제작하여 306 nm에서 주파장을 갖는 36W UV-B램프(417 mm(L)×18 mm(Φ), 한성자외선)를 pyrex관의 내경 안에 삽입하였다. 그리고 pyrex관의 내경 및 외경 사이에는 지름이 1 cm인 glass bead를 충전시켰다. 폐가스가 pyrex관에 들어와서 접촉하는 pyrex관의 내부면과 glass bead의 표면은 전향의 lab scale 시스템과 같은 방법으로 광촉매 코팅 및 소성하였다.

Blower (동부산업기계공업 DBR-032, 토출압력; 0.4 Kg_f/cm², 최대유량; 1,650 L/min)에서 공급되는 공기는 향운수조(제일과학, J-PW B2)에 의하여 약 40-50℃로 유지되는 humidifier 칼럼 3개를 통과하여 상대습도가 95-99%를 유지하며 이 공급공기는 mixing chamber로 투입된다. 이 mixing chamber에는 황화수소의 경우는 Na₂S 용액을 peristaltic pump (Masterflex)를 이용하여 염산에 공급하여 일정농도의 황화수소를 발생시키고 보조 blower (Young Nam Yasunnaga, 토출압력; 0.12 Kg_f/cm², 최대유량; 43 L/min)를 활용하여 발생한 황화수소 가스를 lead acetate 용액을 통과시킨 후에 mixing chamber에 공급한다. 한편 암모니아의 경우는 황화수소의 경우와 같이 보조 bower를 활용하여 암모니아수에서 발생한 일정농도의 암모니아 가스를 mixing chamber에 공급한다. Mixing chamber에서 가습된 공기와 황화수소 또는 암모니아가스를 혼합하여서 바이오필터의 운전조건에 설정된 인입농도로 맞춘 후에 광촉매반응기를 통과한 후에 황화수소 및 암모니아 각각의 바이오필터(D 및 E)로 인입된다. 이와 같이 광촉매반응기를 통과한 폐가스는 바이오필터의 feed로서 downflow 방식으로 바이오필터 위에서 주입되었다. Blower에서 공기를 이송하는 관은 tygon관으로 사용하였고 mixing chamber에서 바이오필터까지는 황화수소의 경우 내산성이 있는 viton관을, 암모니아의 경우는 tygon관을 각각 사용하여 배관하였다. 각 바이오필터는 temperature controller가 부착된 heating band로 감아서 반응기의 온도유지 (30℃)를 하였고 각 장치의 fitting은 swagelok fitting으로 사용하였다.

황화수소와 암모니아의 혼합가스(D 및 E)를 처리하는 hybrid시스템 D 및 바이오필터 D에 대한 공정도를 Fig. 2-9-1과 2-9-2와 같이 각각 나타내었다. 한편 염산이나 암모니아용액을 교환하지 않고 발생하는 황화수소 및 암모니아가스의 농도를 장시간 일정하게 유지시키기 위하여 개선한 hybrid시스템 E 및 바이오필터 E에 대한 공정도는 Fig. 2-10-1과 2-10-2와 같이 각각 나타내었다.

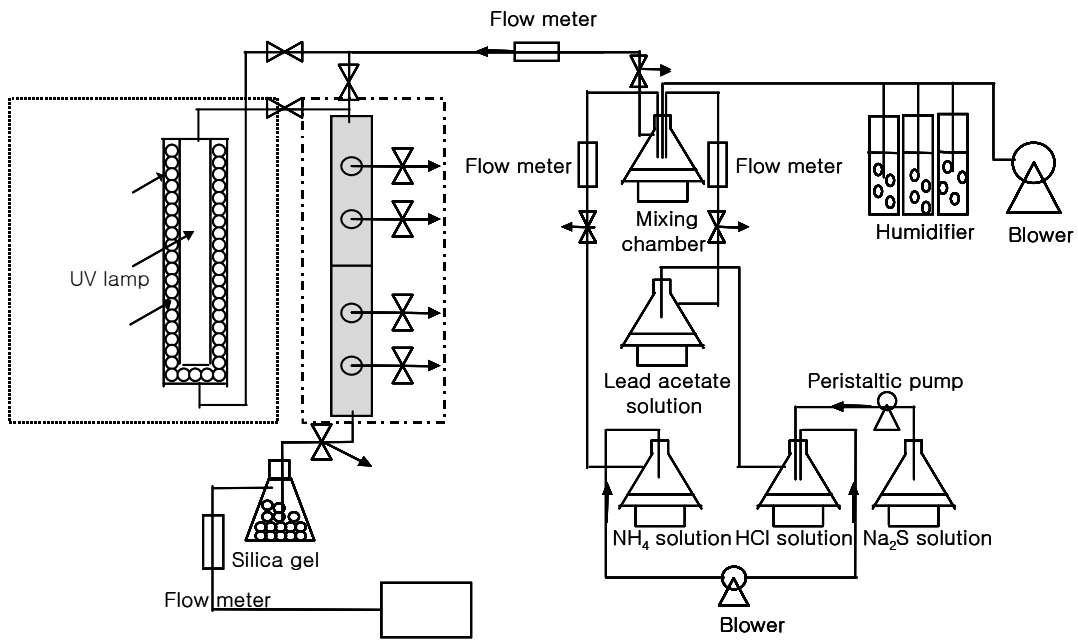


Fig. 2-9-1. Schematic diagram of semi-pilot scaled hybrid system (D) composed of photo-catalytic reactor and biofilter.

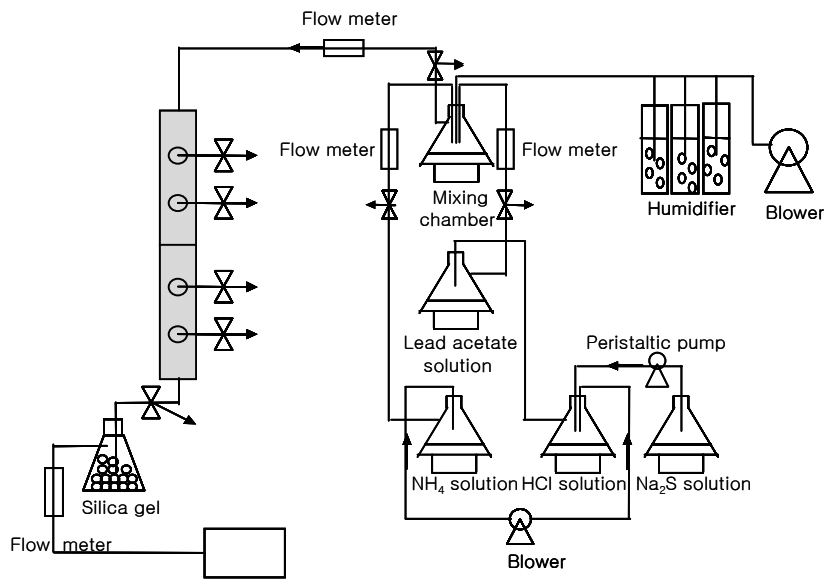


Fig. 2-9-2. Schematic diagram of semi-pilot scaled biofilter-system (D).

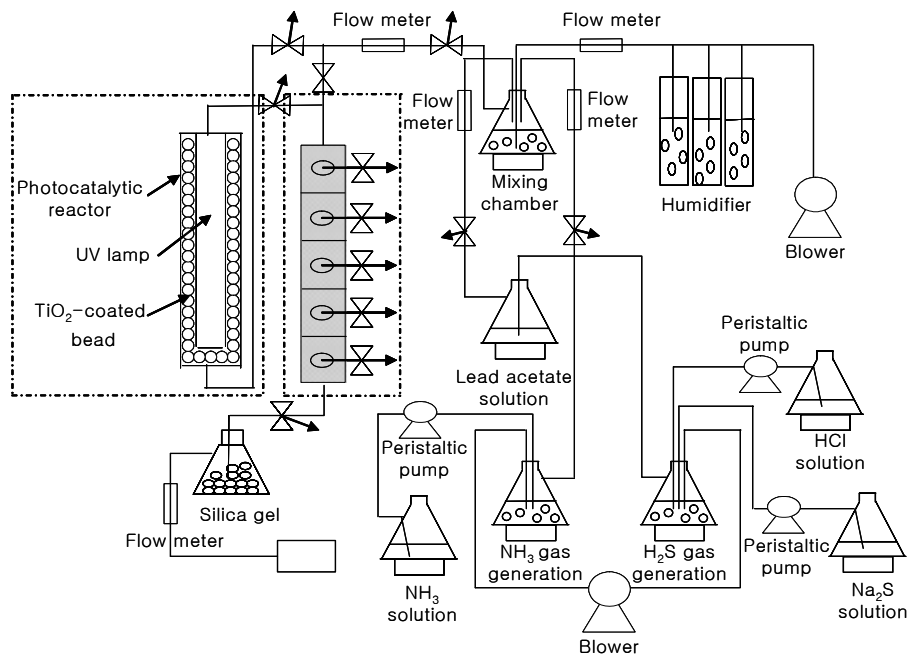


Fig. 2-10-1. Schematic diagram of semi-pilot scaled hybrid system (E) composed of photo-catalytic reactor and biofilter.

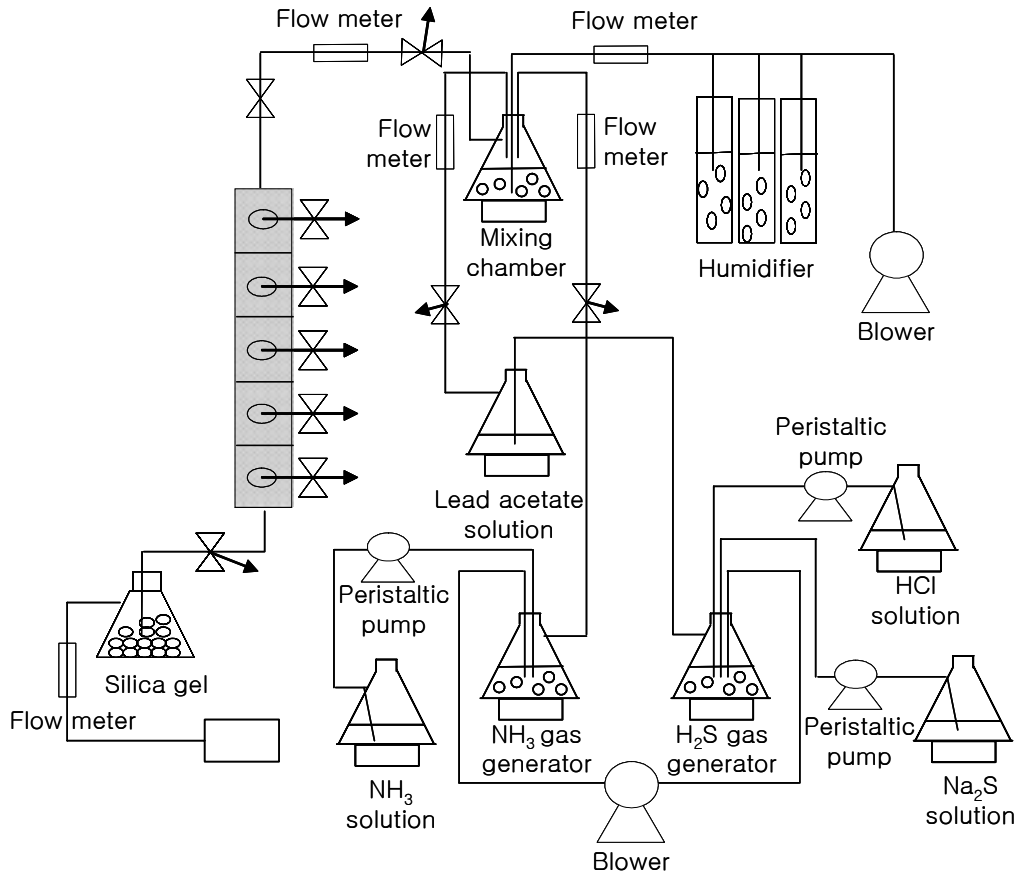


Fig. 2-10-2. Schematic diagram of semi-pilot scaled biofilter-system (E).

나. 미생물 접종 및 미생물 개체수 산정

1) 미생물 접종

황화수소에 대한 분해능이 있는 미생물을 바이오필터의 담체에 접종하기 위하여 *Thiobacillus sp. IW*와 황화수소 분해균주 1153을 부산대학교 및 협동연구기관인 (주)노벨환경기술에서 분양받아 각각 배양하였다. 아래의 Table 2-3-1 및 2-3-2와 같은 조성의

medium을 조제한 후에 Clean bench 안에서 petri-dish 안에 있는 미생물을 백금이로 긁어서 조제한 medium에 각각 떨어뜨려서 shaking incubator에 넣은 후에 30℃에서 200 rpm의 조건으로 진탕 배양하였다. 이때에 optical density를 spectrometer를 사용하여 660 nm의 파장에서 3시간마다 측정하여 흡광도가 0.8 이상일 때에 hybrid시스템 및 바이오필터의 담체에 접종하였다.

Table 2-3-1. Compositions of medium for *Thiobacillus sp.* IW

Medium component		Medium component	
NH ₄ Cl	0.5g/L	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.01g/L
K ₂ HPO ₄	4.0g/L	FeSO ₄	0.05g/L
KH ₂ PO ₄	4.0g/L	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.01g/L
MgSO ₄	0.8g/L	CuSO ₄	0.01g/L
Na ₂ · EDTA	0.5g/L	CoCl ₂	0.01g/L
ZnSO ₄	0.22g/L	Na ₂ S ₂ O ₃	8g/L
CaCl ₂	0.05g/L	yeast extract	2g/L

Table 2-3-2. Compositions of medium for 1153

Na ₂ S ₂ O ₂ · 5H ₂ O	8.0 g/L
Yeast extract	2.0 g/L
KH ₂ PO ₄	1.0 g/L
K ₂ HPO ₄	1.0 g/L
MgCl ₂	0.2 g/L
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01 g/L
NH ₄ Cl	1.5 g/L

한편 암모니아의 분해균주의 배양 및 접종을 위해서는 경산 수질관리소의 반송슬러지를 취수하고 당 세부과제책임자의 수질실험실에서 개발한 제오라이트를 포함한 페타이어담체(이하 페타이어담체)가 충전된, 암모니아의 질산화와 탈질화를 위하여 호기조와 무산소조가 상하로 연결되어 있는 패키지형 다단반응조(특허출원번호 10-2002-0057775)에 peristaltic pump (Masterflex)를 이용하여 반송슬러지를 연속적으로 주입하여 페타이어담체에 고정화시켰다. 또한 암모니아 분해균주 1214를 협동연구기관 (주)노벨환경에서 분양받아 Table 2-3-3과 같은 조성의 medium을 조제한 후에 황화수소의 경우와 같이 진탕 배양하여 hybrid시스템 및 바이오필터의 담체에 접종하였다.

Table 2-3-3. Compositions of medium for 1214

NH ₄ Cl	9.0 g/L
Yeast extract	2.0 g/L
KH ₂ PO ₄	1.0 g/L
K ₂ HPO ₄	1.0 g/L
MgCl ₂	0.2 g/L
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01 g/L

2) 미생물 개체 수 산정

미생물 접종 후에 담체에 고정된 미생물 개체수는 다음과 같은 방법으로 산정하였다. Sample 1 g에 멸균증류수 5 ml를 넣고 잘 섞은 후 5% paraformaldehyde solution에 48시간 고정하였다. 고정된 sample을 10배 희석하여 polycarbonate membrane filter (pore size 0.2 µm, ø25 mm)에 1 ml씩 여과한 후 건조시켰다. 건조된 filter를 slide glass에 올려놓고 DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole, 0.33 mg/ml)를 10 µl를 취하고 암상자에서 1시간 염색시켰다. 염색된 filter를 멸균증류수로 씻어서 말린 뒤 Fluoro Guard Antifade Reagent 1 방울씩 아래 윗면에 넣고 cover glass로 덮고 형광현미경(Axiolab, Zeiss, Germany) UV filter (G365, LP395, FT420)에서 관찰·계수하였다. 모든 과정은 암실에서 행해졌다.

또한 황화수소/암모니아의 혼합가스를 처리하는 hybrid시스템 및 바이오필터의 경우는 미생물담체에 고정하는 미생물 혼합물의 분포특성을 확인하기 위하여 실험이 끝난 후에 적용된 페타이어담체의 표면 및 내부, 활성탄 표면 및 compost 표면에 부착된 미생물에 대한 SEM image (Field Emission Scanning Electron Microscope. Hitachi, S-4300)를 관찰하였다.

3) FISH법을 이용한 질화세균 군 측정

시료 고정 : 채취한 시료를 바로 4% paraformaldehyde solution에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 시료를 polycarbonate membrane filter (pore size 0.2 µm, ø25 mm)에 5 ml씩 여과한 후, phosphate buffered saline(1×PBS) 1 ml을 여과하였다. 여과된 filter를 50%, 80%, 99% 0.5 ml ethyl alcohol에 차례로 각각 3분 동안 담구어 탈수·여과한 후 filter를 공기 중에 건조시켰다.

gene probe : 사용한 gene probe의 염기서열은 이미 보고된 방법대로 주문 제작 (TaKaRa, Japan)하였는데 암모니아산화세균의 동정에는 NSO190 (Schramm *et al.*, 1998), 그리고 아질산산화세균의 동정은 NIT3 (Wagner *et al.*, 1996; Schramm *et al.*, 1998)을 사용하였다. 이때 NSO190, NIT3 probe는 CY3 (indocarbocyanine dye)으로 각각 표지하였다.

In situ Hybridization : Ethyl alcohol이 완전히 건조되었을 때 미리 예열시켜 둔 16 µl의 hybridization solution [0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.01% SDS, formamide (농도 NIT3 40%: NSO190 55%)]에 각각의 rRNA targeted oligonucleotide probe 3 µl를 첨가하여 잘 섞은 후, 질화세균인 NSO190와 NIT3은 46°C에서 90분간 hybridization

chamber에서 배양하였다. 특히 NIT3-group을 검색할 때는 mismatching을 방지하기 위해 gene probe, NIT3에 동일한 양의 CNIT3 probe를 첨가하여 교배시켰다(Wagner *et al.*, 1996). 배양 후 세척은 배양온도보다 2°C 높은 온도에서, 15분 동안 행했는데 이때 사용하는 washing solution [20mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0.01% SDS, NaCl (농도 EUB 0.9 M: NIT3와 NSO190 0.056 mM)]은 미리 예열시켜 두었다. 세척 후, 총세균수 측정을 위한 DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole) 염색(0.11 µg/ml)을 5분간 암실에서 실행한 후 (Hicks *et al.*, 1992) 형광현미경(Axioplan 2, Zeiss) green filter (BP546/12, LP580, FT590)로 관찰하였다.

질화세균, eubacteria 및 총세균수 산출 : 질화세균군의 크기는 신뢰성 있는 결과를 얻기 위해 시료 당, 최소한 10개 이상의 임의적인 fields안에 존재하는 해당 세균을 계수하여 얻어진 평균값을 역시 동일한 fields의 DAPI로 염색된 세균수(총세균수)에 대한 비율(%)로 산출하였다(Glückner *et al.*, 1999). 아울러 총세균수는 위와 동일한 방법으로 계수하되 여과시킨 시료의 양으로 감안하여 그 결과치를 ml 당의 세균수로 환산하여 제시하였다.

다. 황화수소 및 암모니아 분석방법

Flame photometric detector (FPD)와 silica capillary column (30 m×0.32 mm, 4 µm thickness)을 장착한 가스크로마토그래피(Shimadzu, GC-2010AF)를 RiGas에서 주문하여 구입한 황화수소(1 ppmv) 및 암모니아(15.4 ppmv) 각각의 표준가스로 calibration을 수행하였고 injection port, 오븐 및 detector의 온도는 각각 100°C, 50-230°C와 225°C를 유지하였다. 공기, 헬륨 및 수소의 유량은 82, 4 및 85 ml/min을 유지하였다.

황화수소 또는 암모니아를 각각 함유한 폐가스가 들어가는 바이오필터의 인입구, 처리되어 나오는 배출구 및 각 sampling port에 용량이 1 L인 테트라 백을 연결시켜서 황화수소 및 암모니아용 검지관(Gastec, 4LK-4LT 및 4L-4LL(황화수소), 3L-3La 및 3M(암모니아))을 사용하여 각각의 가스내의 황화수소 및 암모니아의 농도를 측정하였다.

라. pH, 밀도, 내부공극율, 및 moisture 양 측정

바이오필터 내부에 장착된 미생물담체의 pH 및 moisture 양 조절은 원활한 바이오필터의 운전을 위하여 반드시 필요한 요소이다. 담체의 적정 pH 유지를 위하여 미생물 배양액과 같은 buffer solution을 미량으로(2 ml/hr) peristaltic pump (Masflex)에 공급되게 하였다. 담체의 pH는 각각의 port에서 sample을 10 g씩 채취하여 비이커에 담고 3차 증류수 50 ml로 교반 후 상등액 부분을 pH meter (Istek 720P)로 측정하였다. 담체의 moisture 양의 측정은 각각의 port에서 sample을 20 g씩 채취하여 비이커에 담고 dry oven (Sam Heung vacuum dry oven)안에서 24시간동안 105°C에서 건조시킨 후 무게를 재어 건조후의 담체의 무게와 건조전의 담체의 무게 차로 함수율을 측정하였다.

한편 미생물담체의 밀도는 메스실린더 25 ml부피의 활성탄과 같은 부피에서의 compost를 섞은 혼합물을 50 ml의 비이커에서 무게를 재어 50 ml부피당 혼합물(활성탄:compost = 1:1)의 질량으로 밀도를 측정하였고, 페타이어담체의 경우는 100 ml 메스실린더에서 겉보기 밀도를 측정하고 다음으로 진공펌프를 이용하여 페타이어담체의 내부공극을 물로 채운 후에 겉보기밀도를 측정하였다. 두 겉보기밀도의 차이로부터 페타이어담체의 내부공극율을 구하였다.

마. Hybrid시스템 및 바이오필터의 실험 및 운전

1) Lab scale 실험

가) Hybrid시스템A 및 바이오필터A

황화수소에 대한 분해능력이 있는 *Thiobacillus* sp. IW를 미생물담체에 접종하여 hybrid시스템A에 충전한 후에 황화수소를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템A를 32일 (2회/1일의 회수로 총 64 times 실험) 동안 약 30℃에서 8단계의 작업조건 하에서 운전하였다. 가동 후 5일(10 times) 동안(1단계)은 0.5 L/min의 유량으로 blower로 공기를 공급하였고 약 1000 ppm의 황화수소가스를 1500 psi의 압력으로 유지한 봄베에서 mass flow controller를 이용하여 0.015 L/min의 유량으로 황화수소가스를 mixed chamber에 주입하였다.(이하 황화수소 주입량은 봄베에서 주입되는 약 1000 ppm의 황화수소가스이다.) 따라서 제조된 폐가스의 이론농도는 이상기체로 가정할 때에 약 30 ppm이었다. 가동 후 11 times부터 20 times (2단계)까지는 같은 폐가스의 황화수소농도를 유지하되 공기공급량과 황화수소 주입량을 각각 1 L/min 및 0.03 L/min으로 2배로 증가시켜서 inlet load를 2배로 크게 하여 유지하였다. 가동 후 21 times부터 30 times (3단계)까지는 공기공급량은 1 L/min로 그대로 유지하고 황화수소 주입량은 0.06 L/min으로 2배로 증가하였다. 따라서 황화수소농도는 2배로 증가하여 황화수소가 함유된 폐가스를 이상기체로 가정할 때의 이론농도는 60 ppm이 되고 inlet load도 마찬가지로 2배 증가하였다. Hybrid시스템 운전 31 times부터 40 times (4단계)까지 공기공급량은 2 L/min로 2배로 증가하고 황화수소 주입량도 0.12 L/min으로 2배로 증가하여서 황화수소가 함유된 폐가스를 이상기체로 가정할 때의 이론농도는 같은 60 ppm으로 유지하였고 inlet load는 2배로 증가하였다. 다시 공기공급량은 그대로 유지한 채 hybrid시스템 운전 41 times부터 50 times (5단계)까지 황화수소 주입량은 0.2 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 100 ppm으로 높였고 inlet load도 약 67% 만큼 증가하였다. Hybrid시스템 가동일 51 times부터 55 times (6단계)는 5단계와 마찬가지로 공기공급량을 그대로 유지한 채 황화수소 주입량을 0.5 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 250 ppm으로 증가시켰고 inlet load도 150% 만큼 증가시켰다. Hybrid시스템 가동일 56 times부터 60 times (7단계)는 6단계와 마찬가지로 공기공급량을 그대로 유지한 채 황화수소 주입량을 1.0 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 500ppm으로 증가시켰고 inlet load도 두 배로 증가시켰

다. 마지막 단계인 8단계에서는 공기공급량을 그대로 유지한 채 황화수소 주입량을 2 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 1000 ppm으로 증가시켰고 inlet load도 또 다시 두 배로 증가시켰다

Hybrid시스템A에서의 운전단계별 운전조건은 표 2-4와 같다.

Table 2-4. Theoretical values of operating condition from each stage of hybrid system A

Stage(times) Theoretical Value	I (1-10)	II (11-20)	III (21-30)	IV (31-40)	V (41-50)	VI (51-55)	VII (56-60)	VIII (61-64)
Q (L/min)	0.5	1		2				
C _{go} (ppmv)	30		60		100	250	500	1000
τ (min)	1.72	0.86		0.43				
Inlet load (g/m ³ /h)	1.5	3	6	12	20	50	100	200

※Q: air flow rate

C_{go}: feed concentration

τ: retention time (유효높이: 0.44 m)

한편 황화수소를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템A에 대한 control로서, 바이오필터A만을 활용한 실험 연구를 바이오필터A의 exit 분만 아니라 각 단, 즉 모든 sampling port에서 다시 수행하였는데, 최대 inlet load를 100 S-g/m³/h로 설정하여 표 2-4와 같은 hybrid시스템 운전조건 중에서 1단계부터 7단계의 운전조건을 표 2-5와 같이 바이오필터A의 운전조건으로 설정하였다.

Table 2-5. Theoretical values of operating condition from each stage of biofilterA

단계(times)	1단계 (1-10)	2단계 (11-20)	3단계 (21-30)	4단계 (31-40)	5단계 (41-50)	6단계 (51-55)	7단계 (56-60)
이론값							
Q (L/min)	0.5	1		2			
C _{go} (ppmv)	30		60		100	250	500
τ (min)	1.72	0.86		0.43			
Inlet load (g/m ³ /h)	1.5	3	6	12	20	50	100

※Q: air flow rate

C_{go}: feed concentration

τ: retention time (유효높이: 0.44 m)

나) Hybrid시스템B 및 바이오필터B

암모니아의 질산화 및 탈질화를 위한 미생물을 호기조 및 무산소조로 구성된 다단반응조에서 반응슬러지를 60일간 순환시켜서 개발된 페타이어담체에 고정화 시킨 후에 바이오필터 B에 충전하였다. 암모니아를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 바이오필터B를 35일(2회/1일의 회수로 총 70 times 실험) 동안 약 30℃에서 6단계의 바이오필터 작업조건 하에서 운전하였다. 가동 후 5일(10 times) 동안(1단계)은 0.5 L/min의 유량으로 blower로 공기를 공급하였고 약 1000 ppm의 암모니아가스를 1500 psi의 압력으로 유지한 봄베에서 mass flow controller를 이용하여 0.05 L/min의 유량으로 암모니아가스를 mixed chamber에 주입하였다.(이하 암모니아 주입량은 봄베에서 주입되는 약 1000 ppm의 암모니아가스이다.) 따라서 제조된 폐가스의 이론농도는 이상기체로 가정할 때에 약 100 ppm이었다. 가동 후 11 times부터 20 times (2단계)까지는 같은 폐가스의 암모니아농도를 유지하되 공기공급량과 암모니아 주입량을 각각 1 L/min 및 0.1 L/min으로 2배로 증가시켜서 inlet load를 2배로 크게 하여 유지하였다. 가동 후 21 times부터 30 times (3단계)까지는 공기공급량은 1 L/min로 그대로 유지하고 암모니아 주입량은 0.2 L/min으로 2배로 증가하였다. 따라서 암모니아 농도는 2배로 증가하여 암모니아가 함유된 폐가스를 이상기체로 가정할 때의 이론농도는 200 ppm이 되고 inlet load도 마찬가지로 2배 증가하였다. 바이오필터 운전 31 times부터 40 times (4단계)까지 공기공급량은 2 L/min로 2배로 증가하고 암모니아 주입량도 0.4 L/min으로 2배로 증가하여서 암모니아가 함유된 폐가스를 이상기체로 가정할 때의 이론농도는 같은

200 ppm으로 유지하였고 inlet load는 2배로 증가하였다. 다시 공기공급량은 그대로 유지한 채 바이오필터 운전 41 times부터 50 times (5단계)까지 암모니아 주입량은 0.8 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 400 ppm으로 높였고 inlet load도 2배로 증가하였다. 바이오필터 가동일 51 times부터 60 times (6단계)는 5단계 보다 공기공급량을 크게 하여 3 L/min으로 하고 암모니아 주입량을 1.6 L/min으로 증가시켜서 이론농도를 533 ppm으로 증가시켰고 inlet load는 2배로 증가시켰다. 암모니아를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템B에 대한 control로서, 바이오필터B만을 활용한 실험 연구를 바이오필터B의 exit 뿐만 아니라 각 단, 즉 모든 sampling port에서 표 2-6과 같은 운전조건으로 수행하였다.

Table 2-6. Theoretical values of operating condition from each stage of biofilter B

단계(times) 이론값	1단계 (1-10)	2단계 (11-20)	3단계 (21-30)	4단계 (31-40)	5단계 (41-50)	6단계 (51-60)
Q (L/min)	0.5	1		2		3
C _{go} (ppmv)	100		200		400	533
τ (min)	1.72	0.86		0.43		0.29
Inlet load (g/m ³ /h)	2.18	4.36	8.72	17.44	34.88	70

※Q: air flow rate

C_{go}: feed concentration

τ: retention time (유효높이: 0.44 m)

한편 hybrid시스템B 실험을 위하여 암모니아를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 협동연구기관인 (주)노벨환경기술로부터 분양받은 암모니아분해균주 1214를 미생물담체에 고정화시킨 후에 바이오필터 상부관 및 하부관에 각각 18 cm 및 20 cm의 높이로 hybrid시스템B에 충전하여 총 유효높이는 0.38 m로 하였다. Hybrid시스템B를 33일(1회/1일의 회수로 총 33회 실험) 동안 약 30℃에서 표 2-7과 같은 6단계의 hybrid시스템B의 작업조건 하에서 운전하였다.

Table 2-7. Experimental schedule for feed conditions of hydrogen sulfide and ammonia

Description	step1	step2	step3	step4	step5	step6
	(8 days)	(5 days)	(5 days)	(5 days)	(5 days)	(5 days)
Q	0.5 L/min	1 L/min	1 L/min	2 L/min	2 L/min	3 L/min
	(0.03 m ³ /hr)	(0.06 m ³ /hr)	(0.06 m ³ /hr)	(0.12 m ³ /hr)	(0.12 m ³ /hr)	(0.18 m ³ /hr)
C _{go} (NH ₃)	240 ppm	120 ppm	200 ppm	200 ppm	400 ppm	520 ppm

Q : air flow rate

C_{go} : feed concentration

유효높이: 0.38 m

다) 바이오필터C

전항의 연구에서는 황화수소를 포함한 폐가스 및 암모니아를 포함한 폐가스를 각각 처리하였다. 이번 연구는 황화수소 및 암모니아 혼합가스를 효율적으로 제거하기 위하여 *Thiobacillus sp. IW*를 미생물담체에 접종한 후에 반송슬러지를 순환시켜서 담체에 고정화시킨 후에 수행된 바이오필터C의 실험으로서 30-500 ppmv의 황화수소 및 50-500 ppmv의 암모니아를 동시에 포함한 폐가스에 대한 바이오필터C의 각단에 대한 동적 특성을 관찰하였다. 여러 가지 단계에서 황화수소와 암모니아의 inlet load량과 농도를 표 2-8과 같이 변화시켜서 황화수소와 암모니아의 시간에 따른 바이오필터C에서의 처리추이를 관찰하기 위하여 바이오필터C 실험을 수행하였다.

Table 2-8. Theoretical values of operating condition from each stage of a biofilter

H ₂ S/NH ₃		Q=1 L/min				Q=2 L/min						
Simultaneous treatment												
H ₂ S	Stage (times)	1(1-10)		2(11-20)		3(21-30)		4(31-40)		5(41-50)		
	C _{go} (ppmv)	30		60		100		250		500		
	S-g/m ³ /h	3		6		10		50		100		
NH ₃	Stage (times)	1(1-5)	2(6-15)		3(16-25)		4(26-30)		5(31-35)	6(36-45)		7(46-50)
	C _{go} (ppmv)	50	100		200		300		300	400	500	
	N-g/m ³ /h	2.18	4.36		8.72		13.08		26.16	34.88	43.6	

※Q: air flow rate
 C_{go}: feed concentration
 T: retention time (유효높이: 0.44 m)

2) Semi-pilot scale 실험

가) Hybrid D 및 바이오필터 D

이번 연구는 황화수소 및 암모니아 혼합가스를 효율적으로 제거하기 위하여 *Thiobacillus sp. IW*를 미생물담체에 접종한 후에 반응슬러지를 순환시켜서 담체에 고정화시킨 후에 황화수소 및 암모니아 혼합가스를 semi-pilot scale의 운전조건으로 효율적으로 동시처리하기 위한 semi-pilot scale 실험으로서 전반 및 중반부에는 계분퇴비공장 등의 배기가스 특성을 고려하여 비교적 낮은 농도의 황화수소 및 비교적 높은 농도의 암모니아를 동시에 포함하고, 후반부에는 둘 다 비교적 높은 농도의 암모니아와 황화수소를 동시에 포함한 배기가스에 대한 hybrid시스템 및 바이오필터의 동적 특성을 관찰하였다. 황화수소 및 암모니아를 동시 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템 및 바이오필터를 50일(2회/1일의 회수로 총 100times 실험)동안 30°C의 온도조건 하에서 표 2-9과 같은 semi-pilot scale의 운전조건으로 각각 운전하였다.

Table 2-9. Experimental schedule for feed conditions of hydrogen sulfide and ammonia

Description	step1 (10 days)	step2 (10 days)	step3 (10 days)	step4 (5 days)	step5 (5 days)	step6 (5 days)	step7 (5 days)
Q	10 L/min (0.6m ³ /hr)	20 L/min (1.2m ³ /hr)	20 L/min (1.2m ³ /hr)	10 L/min (0.6m ³ /hr)	10 L/min (0.6m ³ /hr)	10 L/min (0.6m ³ /hr)	10 L/min (0.6m ³ /hr)
C _{go} (H ₂ S)	25 ppm	12 ppm	12 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm
C _{go} (NH ₃)	240 ppm	120 ppm	180 ppm	160 ppm	160 ppm	240 ppm	240 ppm

※Q: air flow rate
C_g feed concentration

나) Hybrid시스템 E 및 바이오필터 E

협동연구기관 (주)노벨환경기술로부터 분양받은 황화수소 분해균주 YES-1153 및 암모니아 분해균주 YCa-1214를 미생물 담체에 접종한 후에 순환시켜서 담체에 고정화 시킨 후에, hybrid시스템 D 및 바이오필터 D와 같은 semi-pilot scale의 표 2-9와 같은 운전조건으로 황화수소 및 암모니아를 동시 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템 및 바이오필터를 50일(2회/1일의 회수로 총 100 times 실험)동안 30°C의 온도조건 하에서 각각 운전하였다.

바. 연구결과 및 고찰

1) Lab scale 실험결과

가) Hybrid시스템A의 운전결과

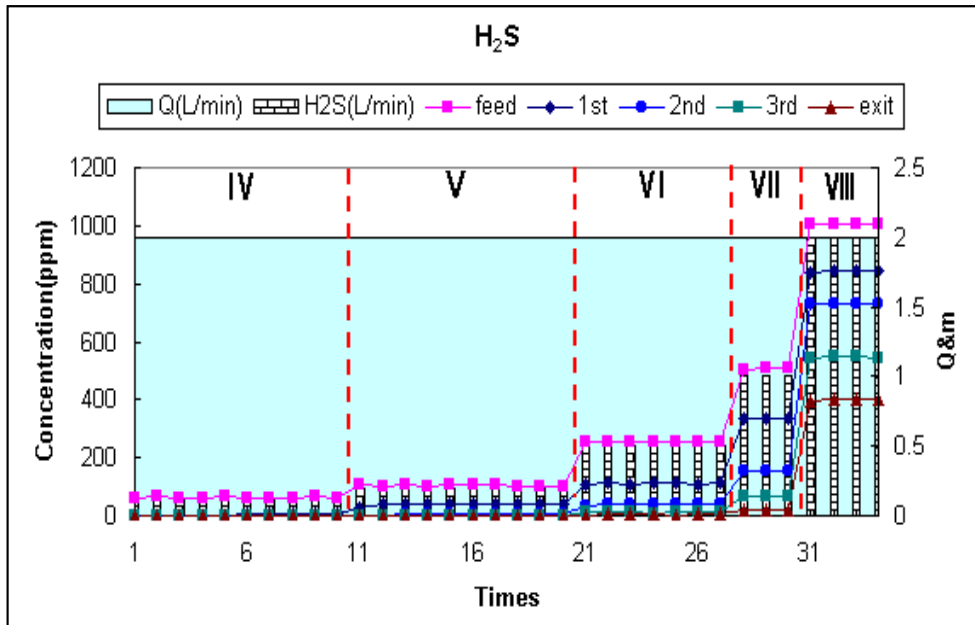


Fig. 2-11. Various hydrogen sulfide concentrations of hybrid system at each sampling port versus experimental times

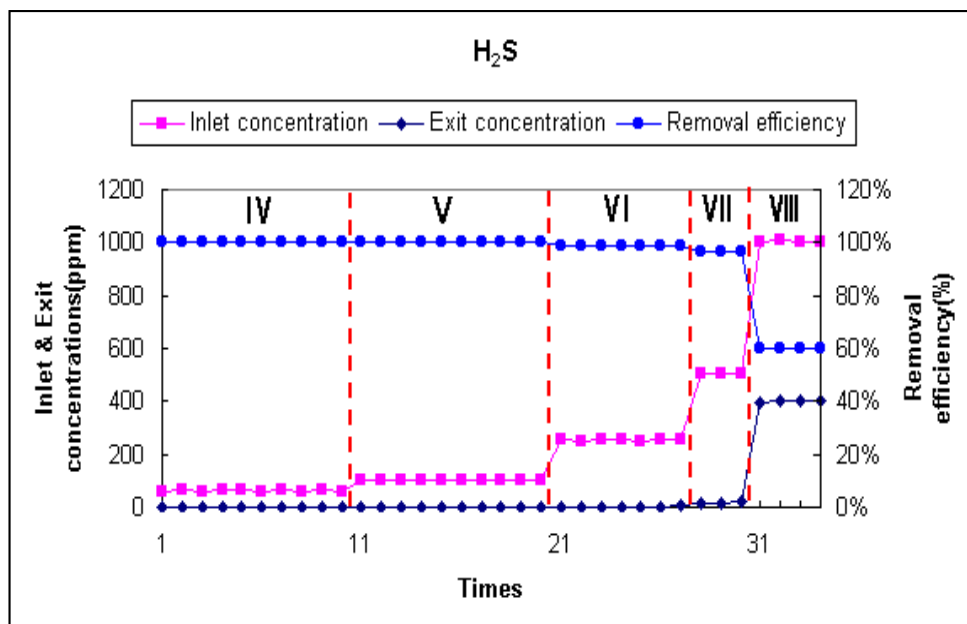


Fig. 2-12. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

황화수소를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템A를 32일(2회/1일의 회수로 총 64 times 실험)동안 약 30°C의 온도조건 하에서 Table 2-4와 같은 운전조건으로 운전하였다. Hybrid시스템A의 feed inlet, sampling port의 각 단에서 측정된 황화수소의 농도 추이

및 그에 따른 removal efficiency의 추이는 Fig. 2-11 및 2-12와 같다. (1-3단계까지의 운전 조건 하에서는 각 단에서 측정된 황화수소의 농도는 미미하여 4단계부터 그림에 나타내었다.)

Hybrid시스템을 이용한 황화수소만을 함유한 폐가스의 처리는 Fig. 2-12에서와 같이 황화수소의 inlet load가 100 S-g/m³/h인 운전조건 VII까지는 거의 100%의 removal efficiency를 보였고 inlet load가 200 S-g/m³/h인 운전조건 VIII에서는 removal efficiency가 60%까지 급감하였다.

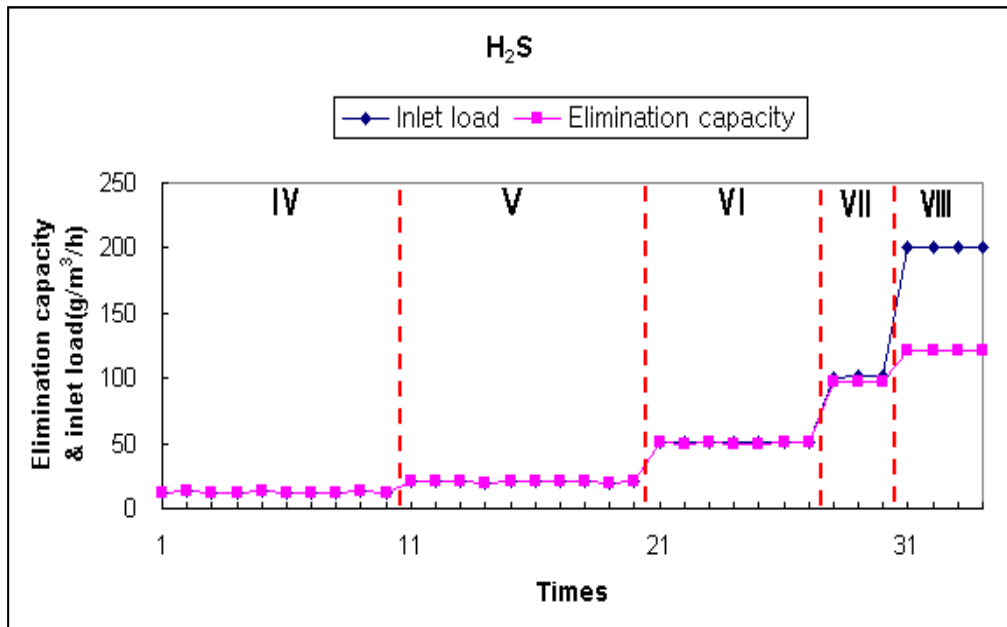


Fig. 2-13. Elimination capacity(g/m³/h) and inlet load versus times

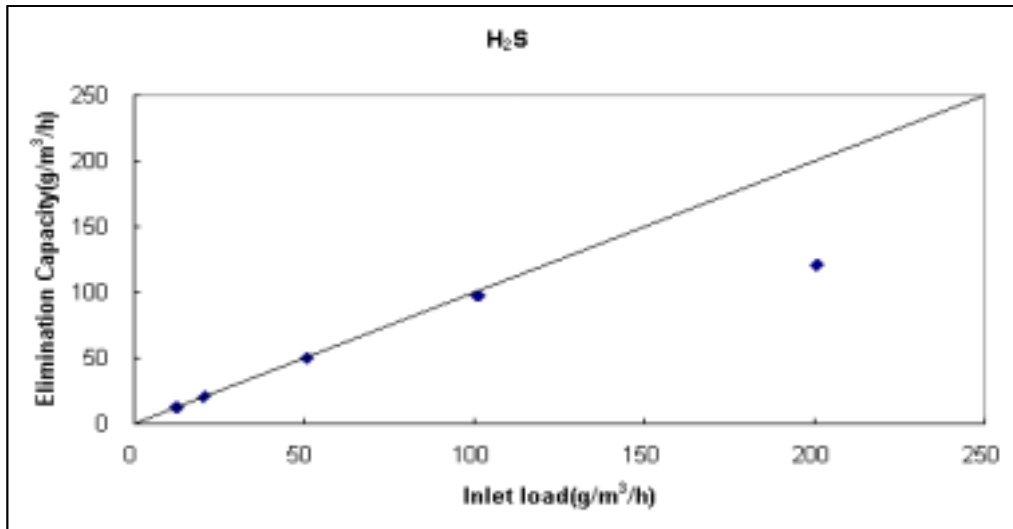


Fig. 2-14. Elimination capacity(g/m³/h) versus inlet load at the exit of hybrid system

Hybrid 시스템의 운전에 있어서 각 단계별로 시간이 지나갈 때에 황화수소에 대한 elimination capacity 및 inlet load의 거동을 Fig. 2-13이 보여주고 있다. 또한 황화수소의 inlet load 및 elimination capacity의 관계를 Fig. 2-14가 보여주고 있다.

따라서 Removal efficiency는 Fig. 2-12에서처럼 운전조건 VII단계까지는 거의 100%를 유지하다가 Fig. 2-13에서와 같이 inlet load가 약 100 g/m³/h를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 VIII단계에서 약 60% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 Fig. 2-13 및 2-14에서와 같이 최대 elimination capacity 값은 약 130 g/m³/h이었다. 당 hybrid시스템A의 control인 다음 나)항의 바이오필터A의 최대 elimination capacity가 약 95 g/m³/h이므로, 광촉매반응기를 결합한 hybrid시스템A에서 황화수소의 elimination capacity가 바이오필터A의 경우보다 약 36.8% 증가하였다.

나) 바이오필터시스템A의 운전결과

황화수소를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 각각의 바이오필터를 30일(2회/1일의 회수로 총 60 times 실험)동안 약 30℃의 온도조건 하에서 표 2-5와 같은 7단계의 운전조건으로 운전하였다.

바이오필터의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소의 농도 추이는 Fig. 2-15와 같다.

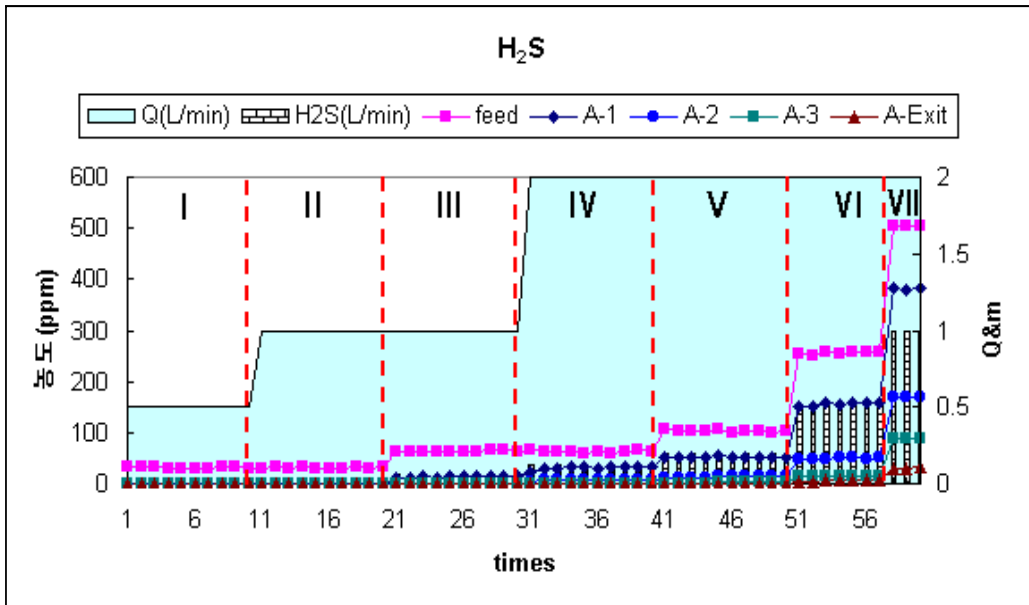


Fig. 2-15. Various hydrogen sulfide concentrations of biofilter A at each sampling port versus experimental times

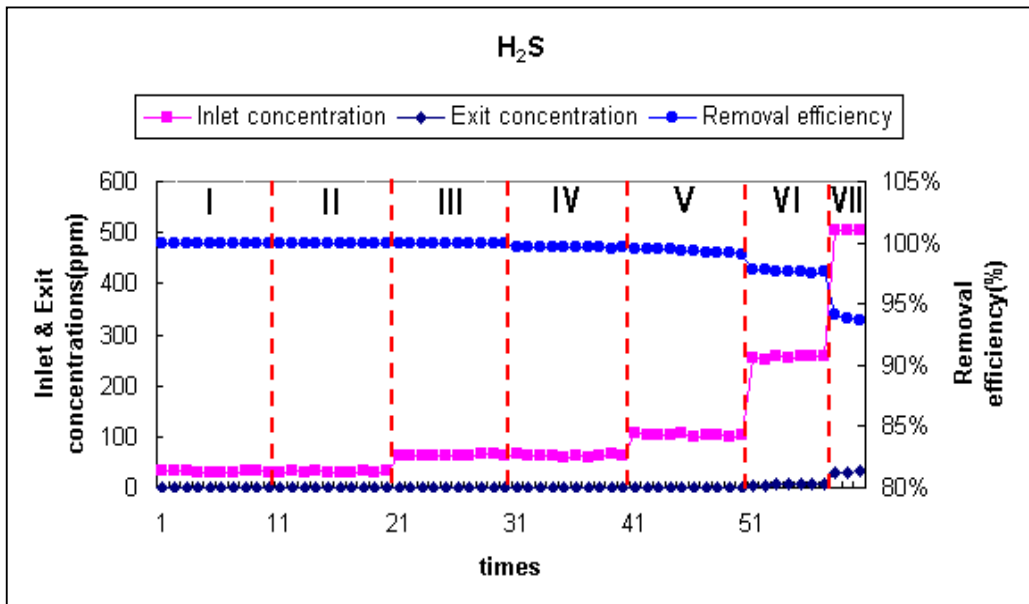


Fig. 2-16. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

이론적인 황화수소의 inlet load가 작은 $1.5-3 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 인 바이오필터A의 가동 후 10일 (20 times) 동안은 각 단 중에서 황화수소의 농도가 거의 나타나지 않았다. 두 번째 단계(11 times에서 20 times까지)에서 황화수소 주입량 및 공기공급량이 각각 2배 증가하여 표 2-5

및 Fig. 2-15에서와 같이 feed 중의 황화수소 농도의 변화는 없으나 공기공급량이 증가하여 상대적으로 바이오필터A에서의 체류시간이 짧아졌음에도 불구하고 Fig. 2-16과 같이 removal efficiency가 1단계와 같이 거의 100%를 유지하였다.

3단계(21 times부터 30 times까지)에서는 2단계와 같은 체류시간으로 하고 황화수소 feed농도와 황화수소 inlet load는 2배로 증가시켜서 바이오필터A를 운전하였다. 제4단계는 황화수소 feed농도는 그대로 유지하고 체류시간을 0.5배로 하여 황화수소부하를 2배로 증가시켰다. 그 결과 Fig. 2-16에서와 같이 removal efficiency는 약간 감소하여 99.5% 정도를 보였다. 한편 5단계에서는 4단계와 같은 체류시간을 적용하였으나 67% 증가한 황화수소 feed 농도를 운전조건으로 하여 결과적으로 inlet load를 4단계보다 67% 증가시켰고 Fig. 2-16과 같이 removal efficiency는 99%까지 감소하였다. 제6단계(51 times부터 55 times 사이)에서는 5단계와 같은 체류시간을 유지하며 황화수소 feed농도를 2.5배로 증가시켜서 결과적으로 inlet load를 5단계보다 2.5배 증가시켰다. 그 결과 removal efficiency는 5단계보다 약간 감소한 98% 정도를 나타내었다. 제7단계(56 times부터 60 times까지)에서도 6단계와 같은 체류시간을 유지하고 황화수소 feed농도를 2배로 증가시켜서 inlet load를 6단계보다 2배로 증가시켰다. 제7단계의 removal efficiency는 지금까지보다 훨씬 감소한 94% 정도를 나타내었다.

바이오필터A의 운전에 있어서 각 단계별로 시간이 지나갈 때에 황화수소에 대한 removal efficiency의 추이와 elimination capacity 및 inlet load의 거동을 Fig. 2-16 및 Fig. 2-17이 각각 보여주고 있다.

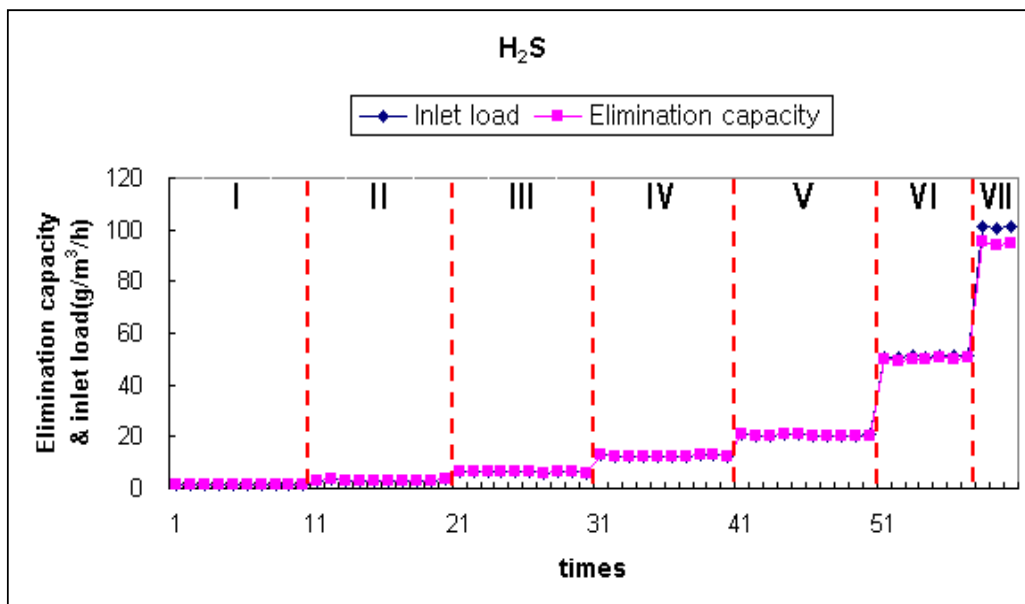


Fig. 2-17. Elimination capacity(g/m³/h) and inlet load versus times

Removal efficiency는 Fig. 2-16에서처럼 거의 100%를 유지하다가 Fig. 2-17에서와 같이 inlet load가 약 50 S-g/m³/h를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 약 94% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 Fig. 2-18에서와 같이 최대 elimination capacity 값은 약 95 S-g/m³/h이었다.

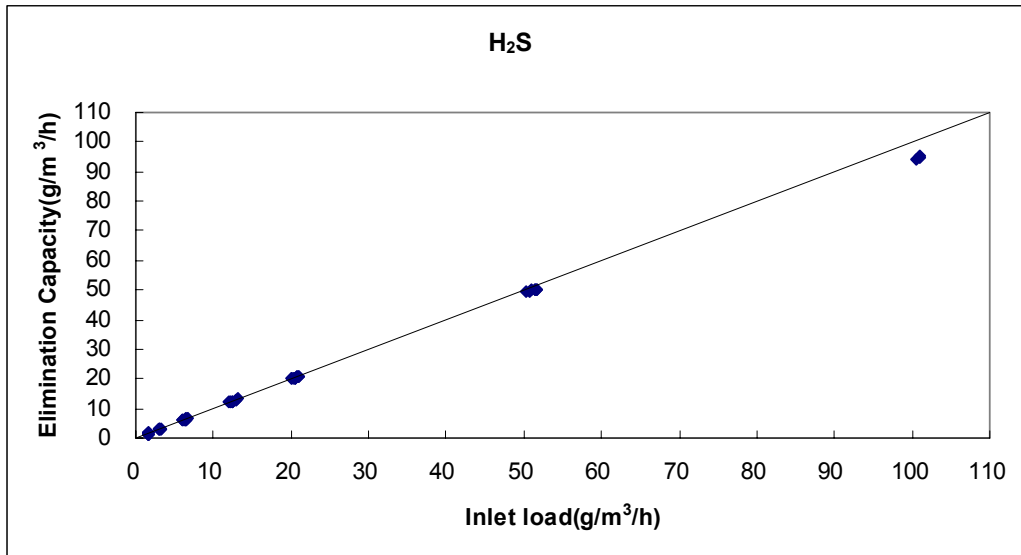


Fig. 2-18. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of biofilter A.

다) 바이오필터B의 운전결과

이번 연구는 황화수소 및 암모니아 혼합가스를 효율적으로 제거하기 위한 바이오필터 실험에 대한 control로서 100-533 ppmv 농도 의 암모니아를 포함한 폐가스에 대한 바이오필터의 각단에 대한 동적 특성을 관찰하였다.

암모니아를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 바이오필터를 30일(2회/1일의 회수로 총 60 times 실험)동안 약 30℃의 온도조건 하에서 표 2-6과 같은 운전조건으로 운전하였다.

바이오필터에서 암모니아만을 함유한 폐가스의 처리를 위하여 바이오필터를 표 2-6과 같은 여러 운전조건 아래에서 운전하였을 때의 바이오필터의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 암모니아의 농도 추이는 Fig. 2-19와 같다.

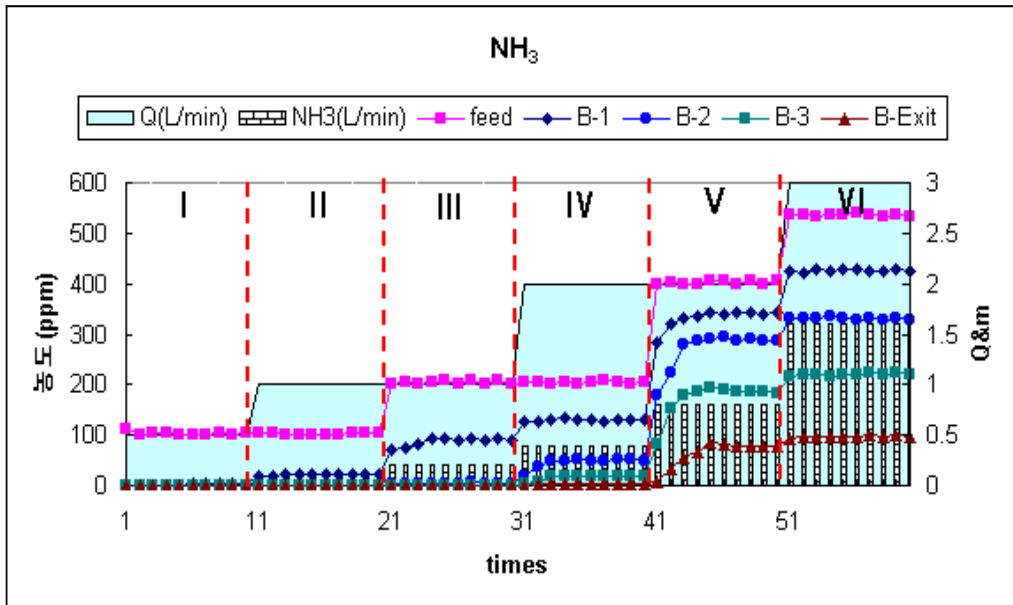


Fig. 2-19. Various ammonia concentrations of biofilter B at each sampling port versus experimental times

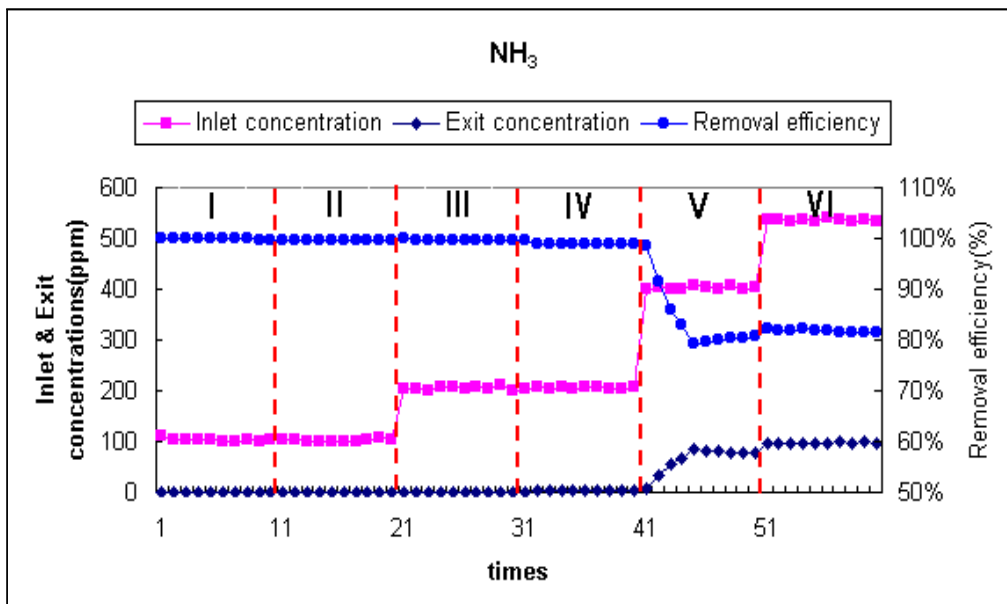


Fig. 2-20. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

바이오필터B의 가동 후 5일(10 times) 동안은 이론적인 암모니아의 inlet load가 각 단계 중에서 가장 작은 $2.18 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이어서 각단에서의 파과곡선(breakthrough curve)들의 시간변화에 따른 거동은 미미하였고 두 번째 단계(11 times에서 20 times까지)에서부터 암모니아

주입량 및 공기공급량이 각각 2배 증가하여 각단계에서의 파과곡선(breakthrough curve)들의 시간변화에 따른 거동이 관찰되기 시작하였다. 제 2단계에서 표 2-6 및 Fig. 2-19에서와 같이 feed 중의 암모니아 농도의 변화는 없으나 공기공급량이 증가하여 상대적으로 바이오필터B에서의 체류시간이 짧아졌음에도 불구하고 Fig. 2-20과 같이 removal efficiency가 1단계와 같이 거의 100%를 유지하였다.

3단계(21 times부터 30 times까지)에서는 2단계와 같은 체류시간으로 하고 암모니아 feed농도와 암모니아 inlet load는 2배로 증가시켜서 바이오필터B를 운전하였다. 제4단계는 암모니아 feed농도는 그대로 유지하고 체류시간을 0.5배로 하여 암모니아부하를 2배로 증가시켰다. 그 결과 Fig. 2-20과 같이 removal efficiency는 전 단계와 비슷한 100% 정도를 보였고 각단계에서의 파과곡선(breakthrough curve)들의 시간변화에 따른 거동이 두드러지게 관찰되었다. 한편 5단계에서는 4단계와 같은 체류시간을 적용하였으나 100% 증가한 암모니아 feed 농도를 운전조건으로 하여 결과적으로 inlet load를 4단계보다 100% 증가시켰고 Fig. 2-20과 같이 removal efficiency는 80%까지 감소하였다. 이 단계에서 각단계에서의 파과곡선(breakthrough curve)들의 시간변화에 따른 거동이 가장 두드러지게 관찰되어서 각 파과곡선들의 거동에서 흡착에 의하여 포화되는 순서는 제 1단, 2단, 3단 및 가스출구의 차례이며, 각 단에서 흡착이 포화되고 통과하는 폐가스의 농도는 먼저 포화될수록 커짐을 마찬가지로 Fig. 2-19에서 보여주고 있다. 제6단계(51 times부터 60 times 사이)에서는 5단계보다 체류시간을 33% 만큼 감소하고 암모니아 feed농도를 33% 만큼 증가시켜서 결과적으로 inlet load를 5단계보다 2배 증가시켰다. 그 결과 removal efficiency는 5단계와 비슷한 80%정도를 유지하였다.

바이오필터B의 운전에 있어서 각 단계별로 시간이 지나갈 때에 암모니아에 대한 removal efficiency의 추이와 elimination capacity 및 inlet load의 거동을 Fig. 2-20 및 Fig. 2-21이 각각 보여주고 있다.

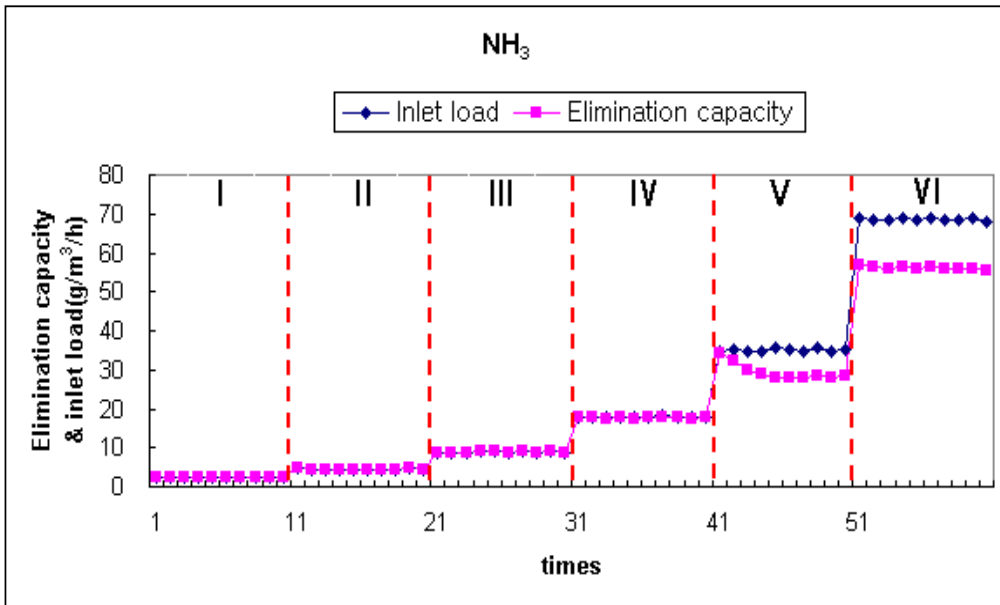


Fig. 2-21. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

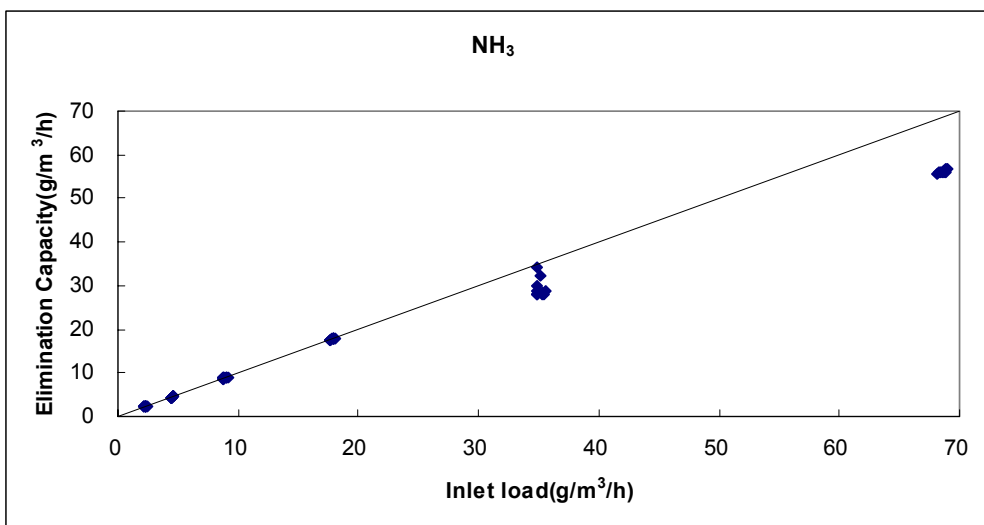


Fig. 2-22. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load of ammonia at the exit of biofilter B.

Removal efficiency는 Fig. 2-20에서처럼 거의 100%를 유지하다가 Fig. 2-21에서와 같이 운전조건 5단계에서 inlet load가 약 35 g/m³/h를 초과할 때부터 떨어지기 시작하여 약 80% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 Fig. 2-22에서와 같이 최대 elimination capacity 값은 약 55-60 g/m³/h이었다.

한편 페타이어담체/활성탄/compost가 적용된 암모니아제거실험(바이오필터B)의 경우에는 활성탄/compost가 적용된 황화수소제거실험(바이오필터A)의 경우와는 다르게 바이오필터 실험에서 각단에서의 과과곡선의 시간변화에 따른 거동이 현저하게 관찰되어서 각 바이오필터실험B에 적용한 페타이어담체의 암모니아에 대한 비교적 큰 흡착capacity를 관찰할 수 있었다.

라) Hybrid시스템B의 운전결과

암모니아를 함유한 폐가스의 처리를 위하여 Fig. 2-7-2와 같은 hybrid시스템B를 33일(1회/1일의 회수로 총 33 times 실험)동안 약 30°C의 온도조건 하에서 표 2-7과 같은 운전조건으로 운전하였다.

Hybrid시스템B에서 암모니아만을 함유한 폐가스의 처리를 위하여 표 2-7과 같은 여러 운전조건 아래에서 운전하였을 때의 feed inlet, 3단 및 exit에서 측정된 암모니아의 농도 추이는 아래의 Fig. 2-HB19와 같다.

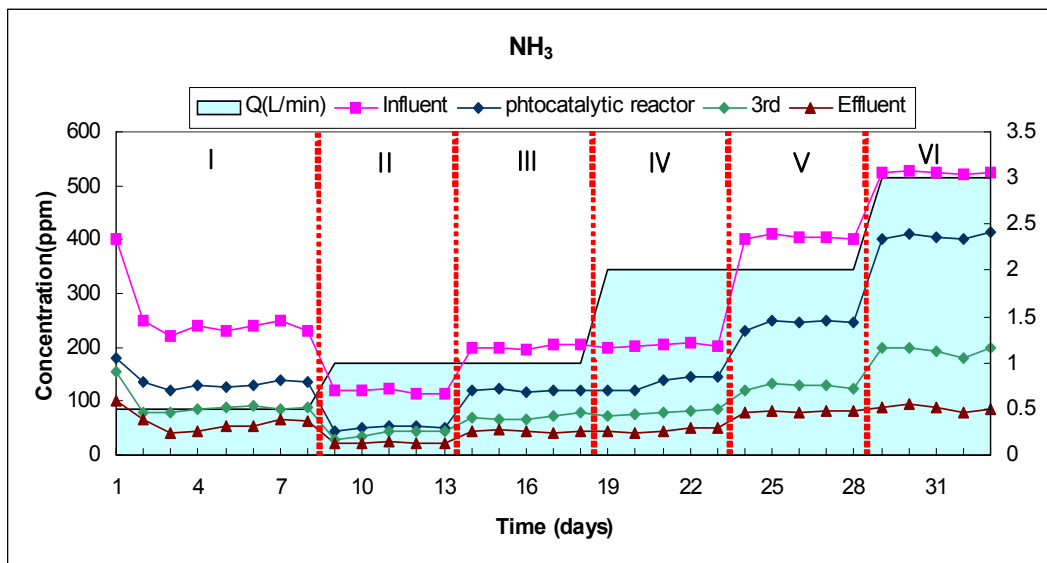


Fig. 2-HB19. Various ammonia concentrations of hybrid system B at each sampling port versus experimental times

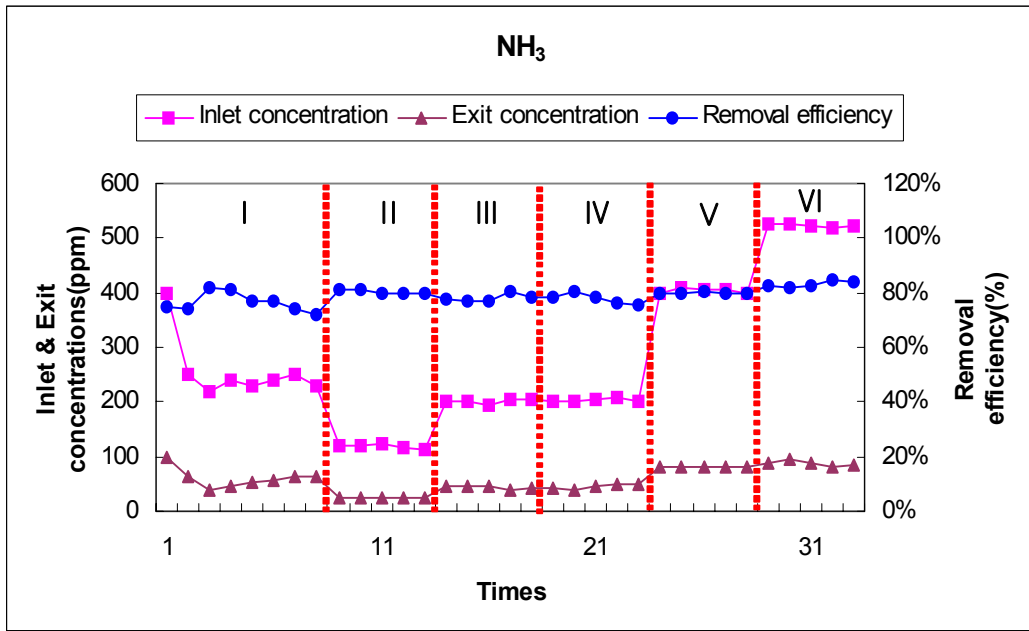


Fig. 2-HB20. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

Hybrid시스템B의 운전에 있어서 각 단계별로 시간이 지나갈 때에 암모니아에 대한 removal efficiency의 추이와 elimination capacity 및 inlet load의 거동을 Fig. 2-HB20 및 Fig. 2-HB21이 각각 보여주고 있다.

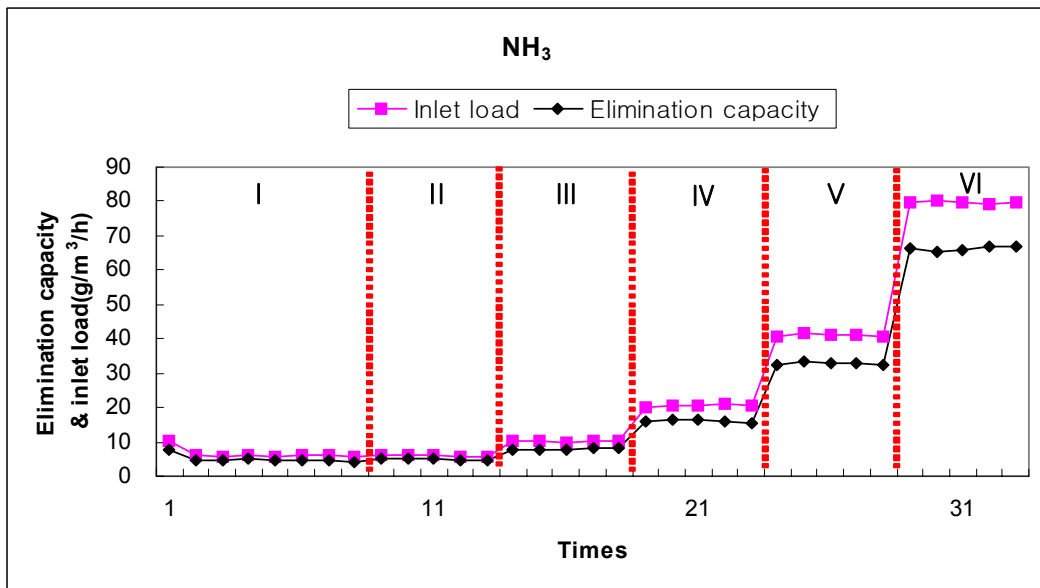


Fig. 2-HB21. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

Fig. 2-HB22에서와 같이 hybrid시스템B의 최대 elimination capacity 값은 약 70 g/m³/h

로서 바이오필터B의 최대값인 55-60 g/m³/h보다 약 20%가 증가하였다.

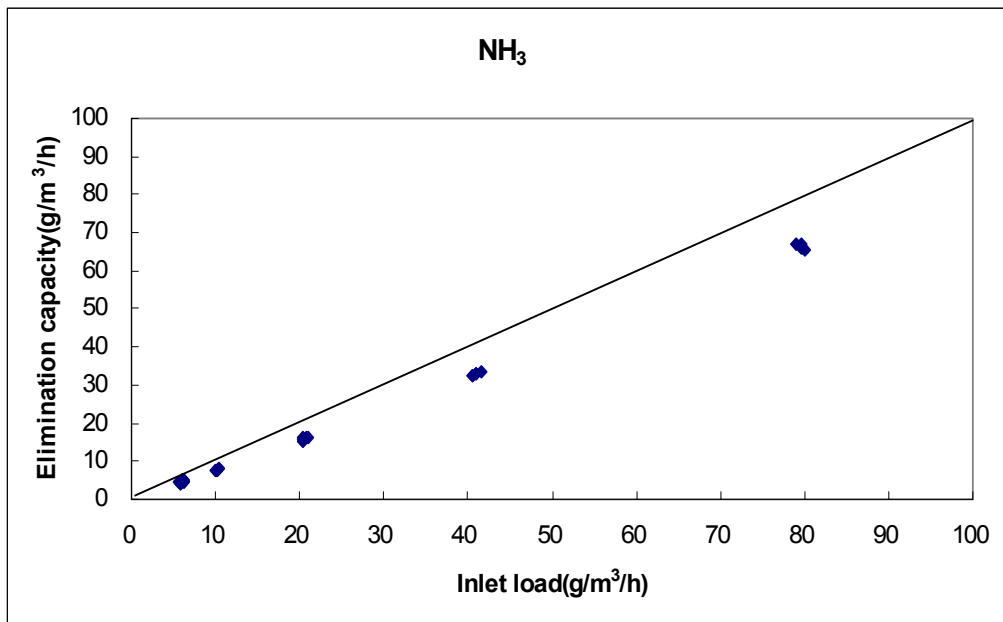


Fig. 2-HB22. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load of ammonia at the exit of hybrid system B

마) 바이오필터C의 운전결과

황화수소 및 암모니아를 동시함유한 폐가스의 처리를 위하여 각각의 바이오필터를 30일 (2회/1일의 회수로 총 60 times 실험)동안 30°C의 온도조건 하에서 표 2-8과 같은 운전조건으로 운전하였다.

바이오필터의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소와 암모니아의 농도 추이 및 removal efficiency는 각각 Fig. 2-23과 24 및 Fig. 2-25와 26과 같다.

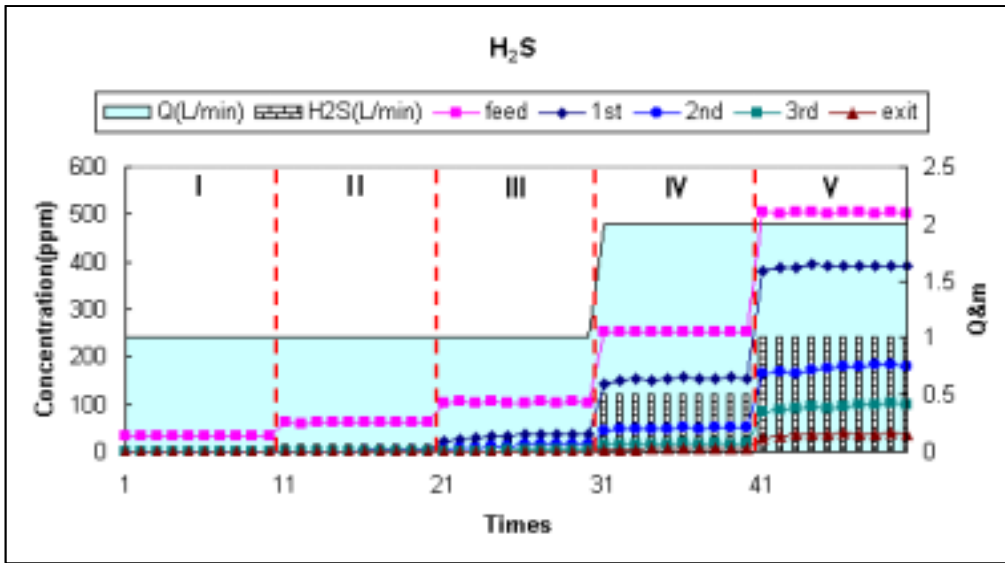


Fig. 2-23. Various hydrogen sulfide concentrations of a biofilter at each sampling port versus experimental times

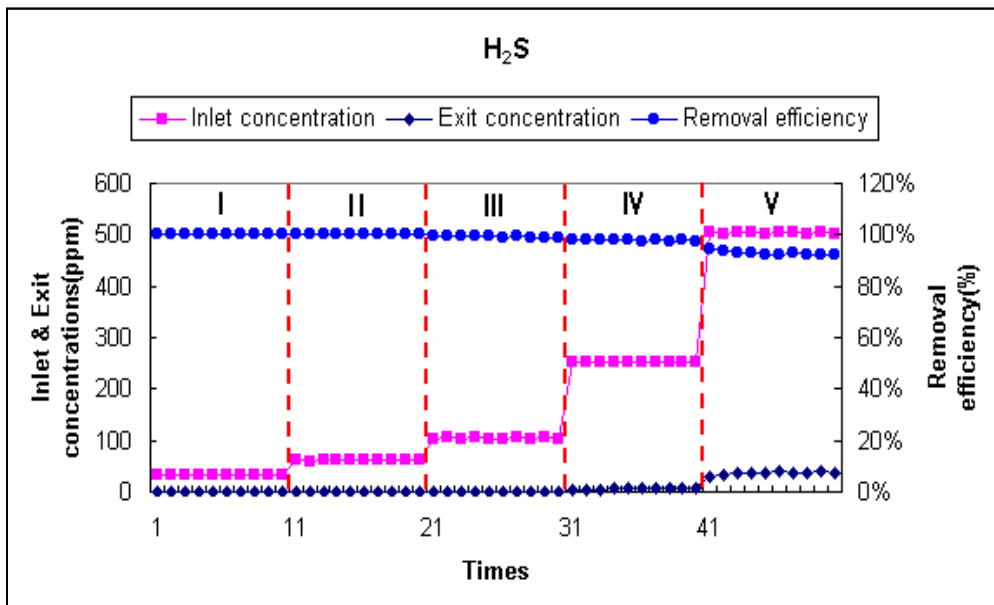


Fig. 2-24. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

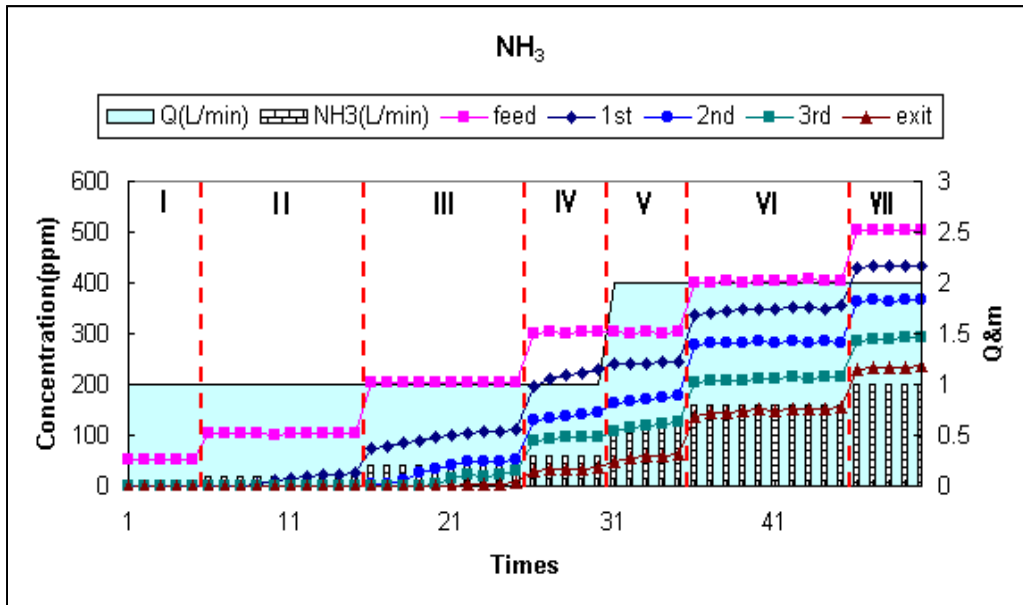


Fig. 2-25. Various ammonia concentrations of a biofilter at each sampling port versus experimental times

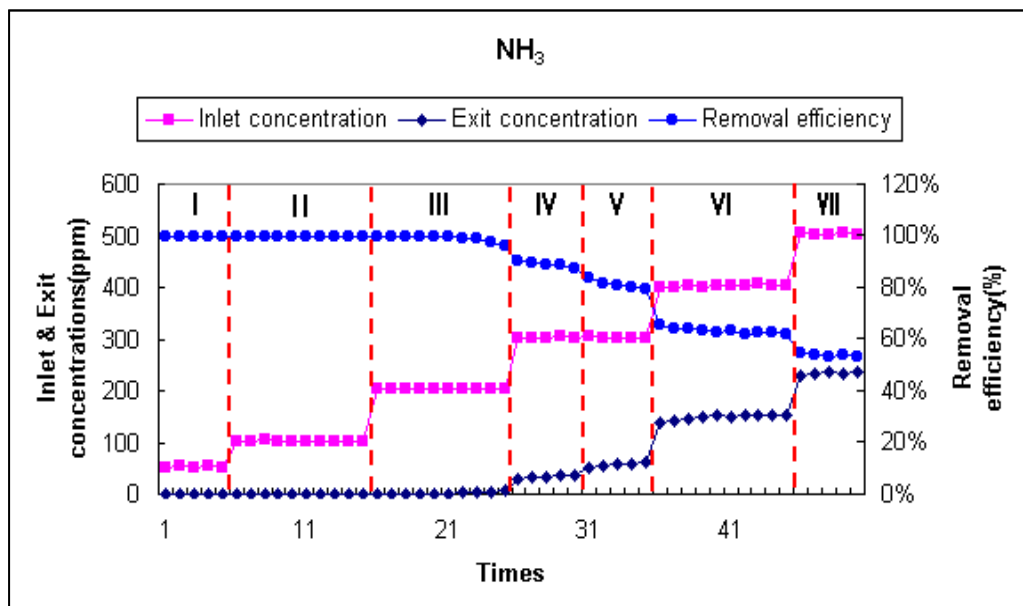


Fig. 2-26. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

황화수소를 포함한 폐가스 및 암모니아를 포함한 폐가스를 각각 처리한 전항의 연구에서는 황화수소와 암모니아의 inlet load가 각각 1.5-100 g/m³/h 및 2.18-70 g/m³/h 일 때의

removal efficiency는 각각 94% 및 80%를 유지하였다. 황화수소에 대한 removal efficiency는 Fig. 2-24에서처럼 거의 100%를 유지하다가 황화수소의 inlet load가 약 $100 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 일 때에 떨어지기 시작하여 약 93% 수준을 유지하여서 황화수소만을 함유한 폐가스를 처리할 때와 비슷한 removal efficiency를 보였다. 그러나 암모니아에 대한 removal efficiency는 Fig. 2-26에서처럼 거의 100%를 유지하다가 암모니아의 inlet load가 약 $13 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 떨어지기 시작하여 inlet load가 $26 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로 증가할 때 까지 약 80% 수준을 유지하였으나 암모니아의 inlet load가 $44 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로 증가할 때에는 약 53%로 감소하였다.

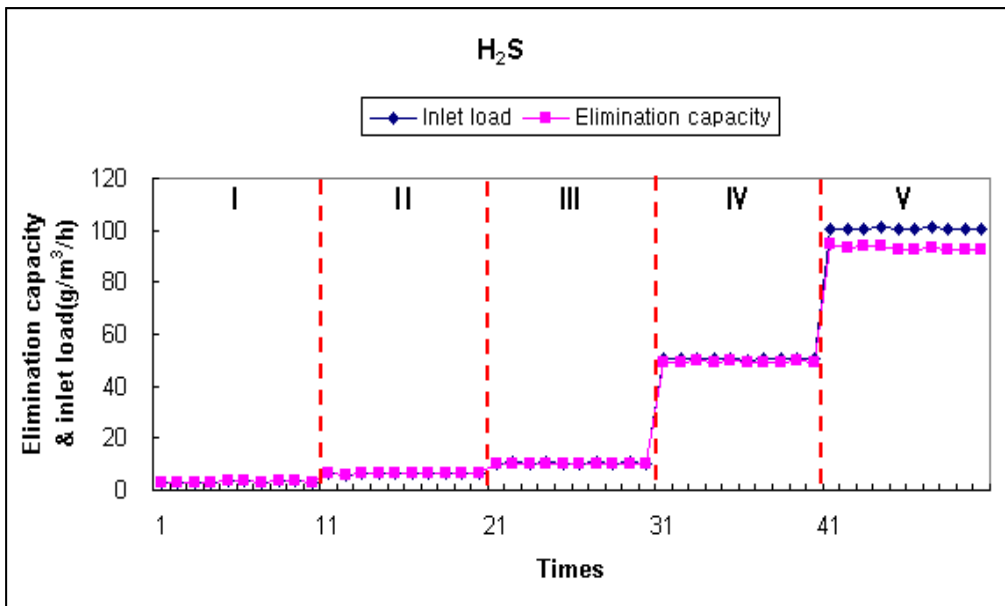


Fig. 2-27. Elimination capacity ($\text{g/m}^3/\text{h}$) and inlet load versus times

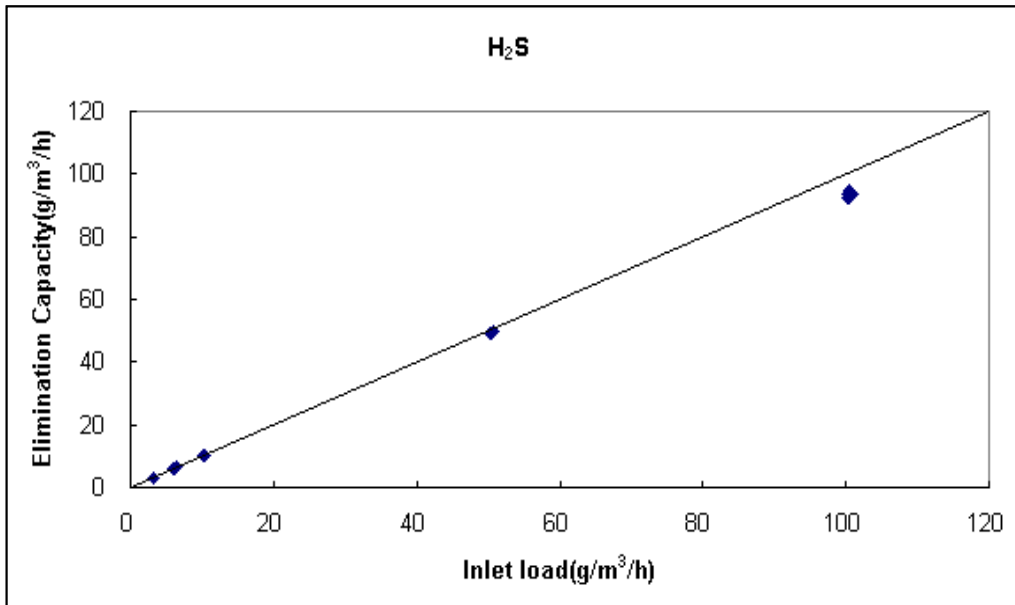


Fig. 2-28. Elimination capacity ($\text{g/m}^3/\text{h}$) versus inlet load at the exit of biofilter C

황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-27 및 28에서와 같이 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-29 및 30에서와 같이 약 $23 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

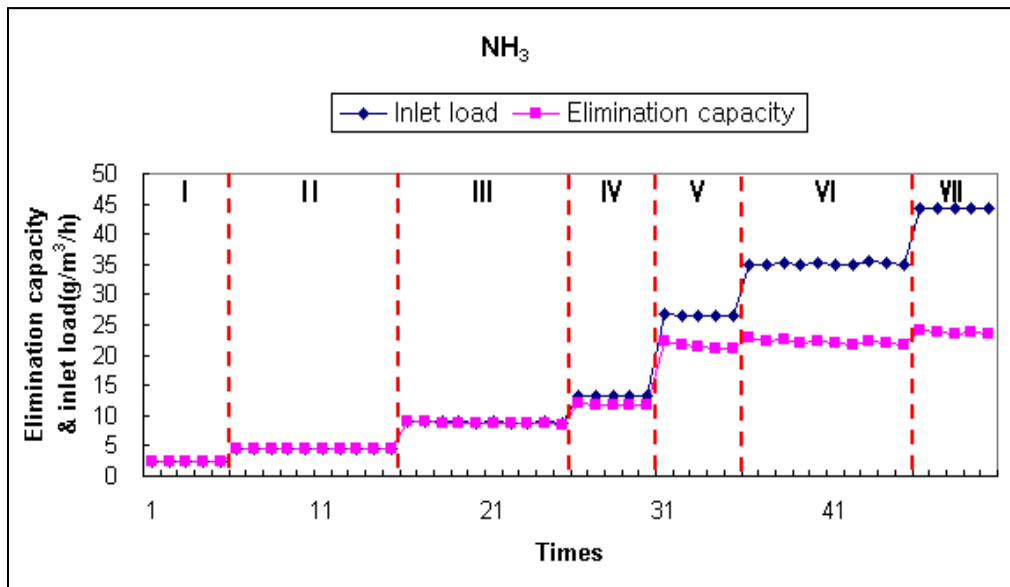


Fig. 2-29. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

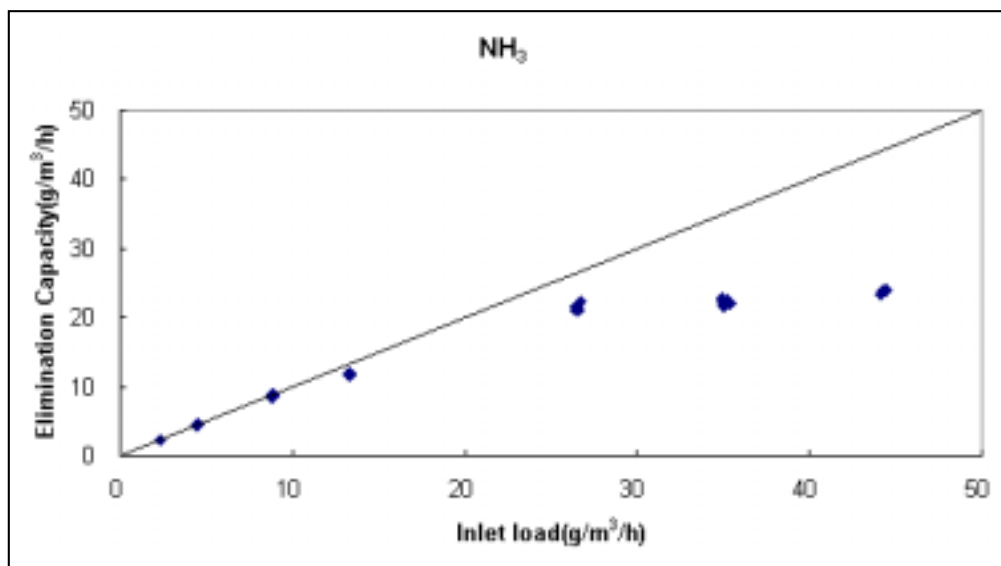


Fig. 2-30. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of biofilter C

따라서 결론적으로 페타이어담체, 입상 활성탄(GAC)과 compost를 각각 같은 부피로 혼합한 미생물담체를 사용하여 *Thiobacillus sp.* IW와 하수처리장의 반송슬러지를 고정화한 바이어필터의 운전결과 황화수소의 removal efficiency는 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와

비슷한 93%이었다. 마찬가지로 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와 비슷한 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

그러나 암모니아의 removal efficiency는 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우보다 훨씬 감소하여 약 53%를 유지하였다. 또한 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $23 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 으로서 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우의 약 $60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 보다 훨씬 감소하였다.

2) Semi-pilot scale 실험결과

가) Hybrid시스템D의 운전결과

황화수소 및 암모니아를 동시 함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템D를 50일(2회/1일의 회수로 총 100 times 실험)동안 30°C 의 온도조건 하에서 표 2-9와 같은 운전조건으로 운전하였다.

Hybrid시스템D의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소와 암모니아의 농도 추이 및 removal efficiency는 각각 Fig. 2-31과 32 및 Fig. 2-33과 34와 같다.

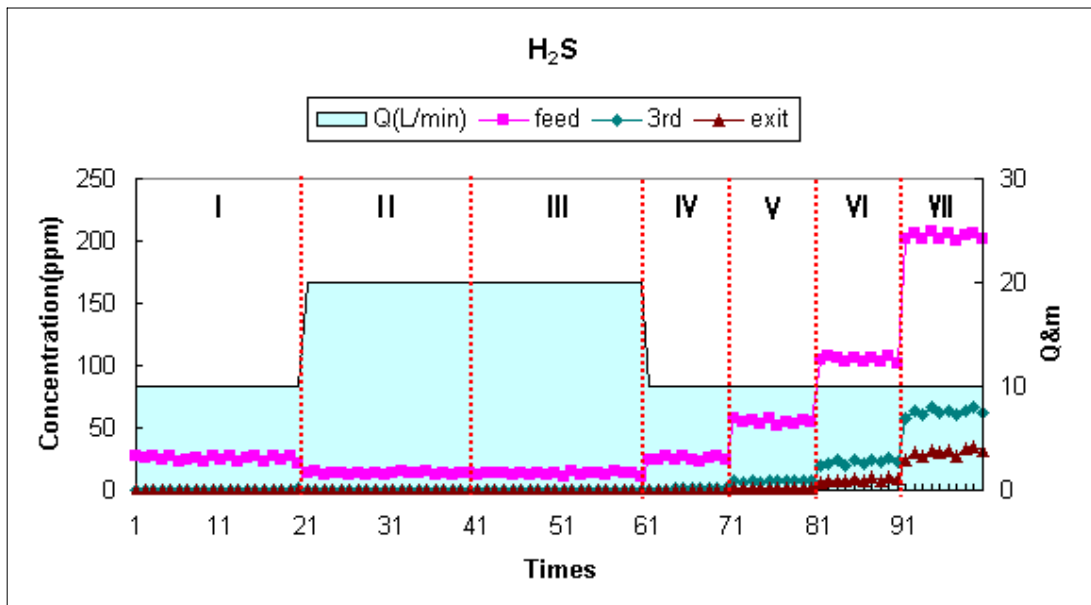


Fig. 2-31. Various hydrogen sulfide concentrations of a hybrid system D at each sampling port versus experimental times.

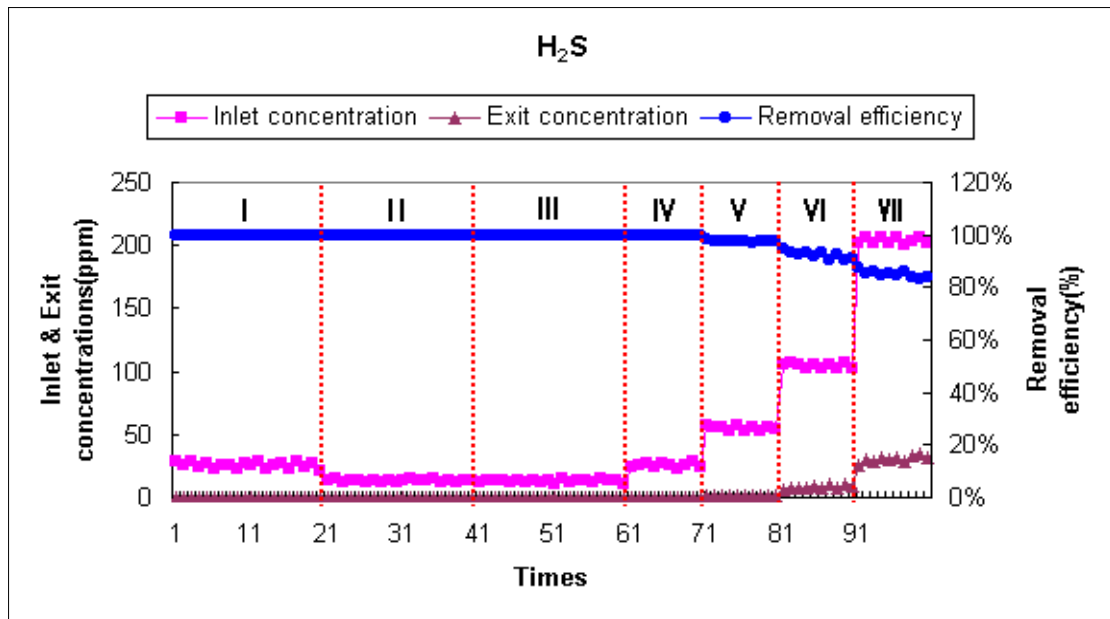


Fig. 2-32. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times.

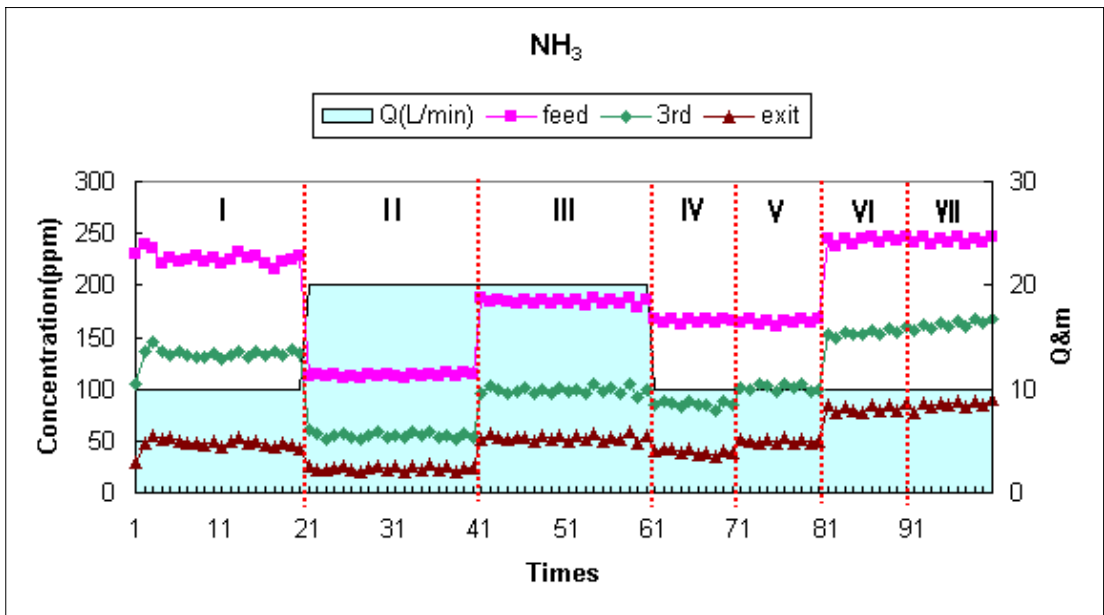


Fig. 2-33. Various ammonia concentrations of hybrid system D at each sampling port versus experimental times.

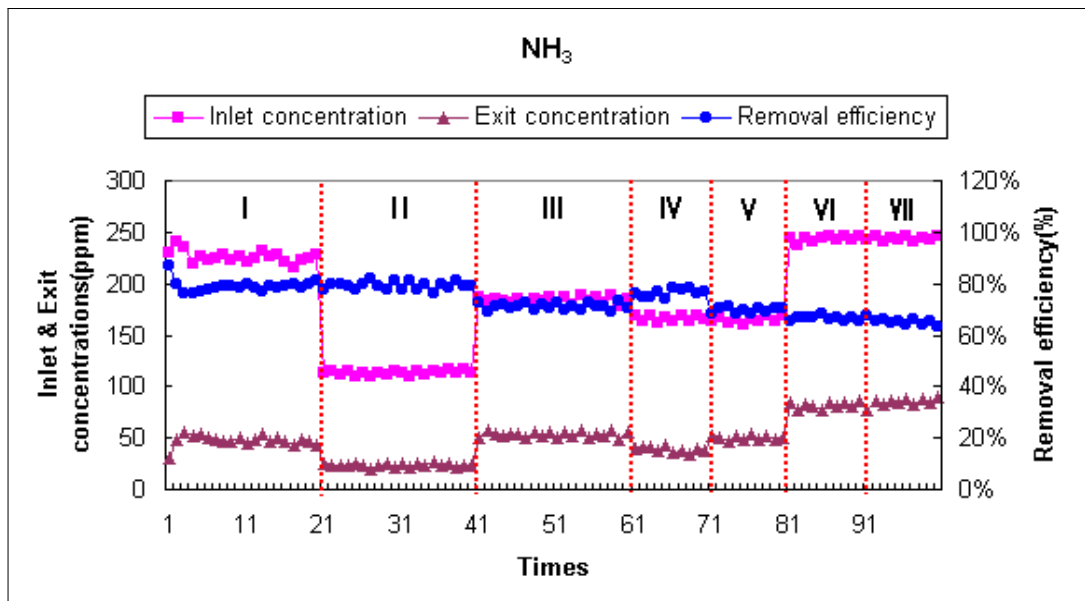


Fig. 2-34. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times.

황화수소 및 암모니아를 동시 처리한 lab scale의 바이오필터C에서 황화수소의 removal efficiency는 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우인 바이오필터 A와 비슷한 93%이었다. 그러나 암모니아의 removal efficiency는 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우인 바이오필터B보다 훨씬 감소하여 약 53%를 유지하였다. 한편 semi-pilot scale 운전조건에서는 바이오필터D의 황화수소의 removal efficiency는 약 80%이었고 암모니아의 removal efficiency는 약 50% 정도이었다. 같은 semi-pilot scale 운전조건에서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D의 황화수소에 대한 removal efficiency는 83%로서 바이오필터D의 경우보다 약간 증가하였고, 암모니아에 대한 removal efficiency는 65%로서 바이오필터D의 경우 보다 30% 증가하였다.

따라서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다. 또한 바이오필터D의 경우와 마찬가지로 표 2-9의 step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 80%에서 70%로 감소하였고 step6 및 7에서와 같이 황화수소농도를 계속 증가시켰을 때에 암모니아에 대한 removal efficiency는 65%로 다소 감소하였다. Semi-pilot scale 운전조건에서 hybrid시스템D의 황화수소와 암모니아에 대한 removal efficiency는 각각 약 83% 및 약 65% 정도이었다. 따라서 바이오필터D의 경우보다 황화수소 및 암모니아에 대한 removal efficiency는 약간 및 30% 정도 각각 증가하였다. 따라서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다.

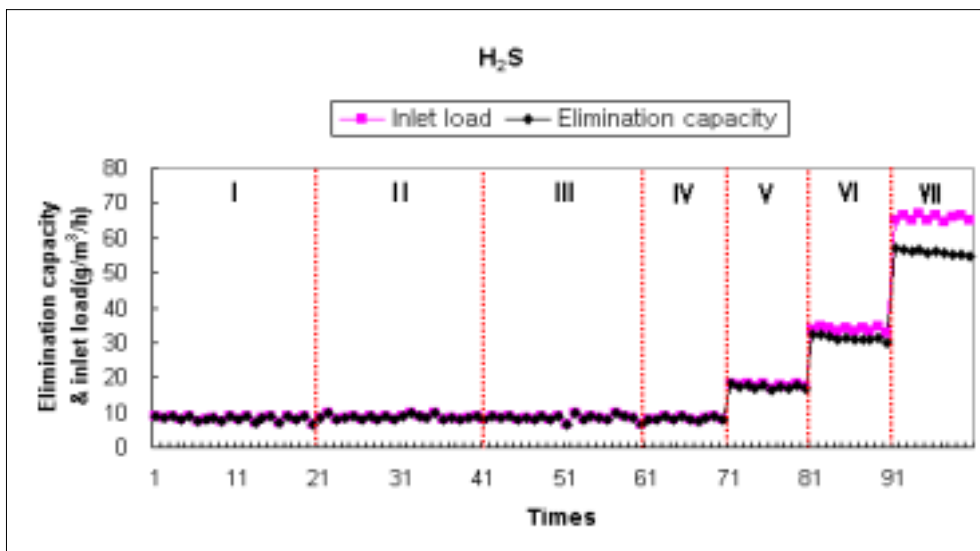


Fig. 2-35. Elimination capacity ($\text{g}/\text{m}^3/\text{h}$) and inlet load versus times.

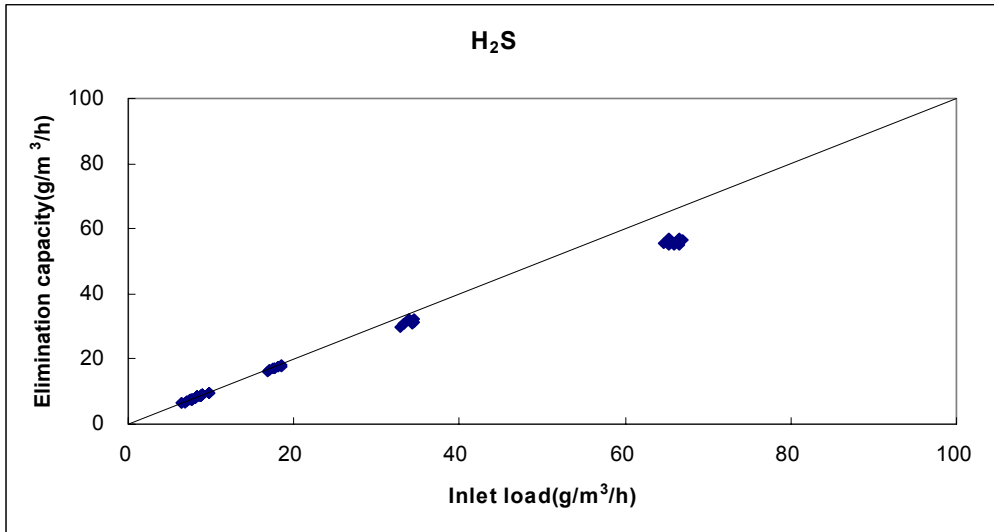


Fig. 2-36. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of hybrid system D.

황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-35 및 36에서와 같이 약 60 g/m³/h이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-37 및 38에서와 같이 약 37 g/m³/h이었다.

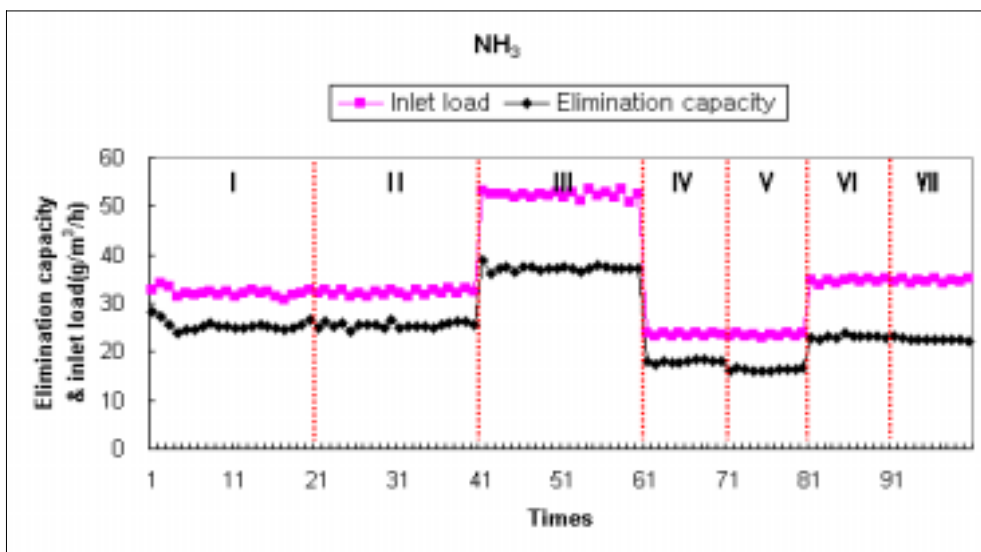


Fig. 2-37. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times.

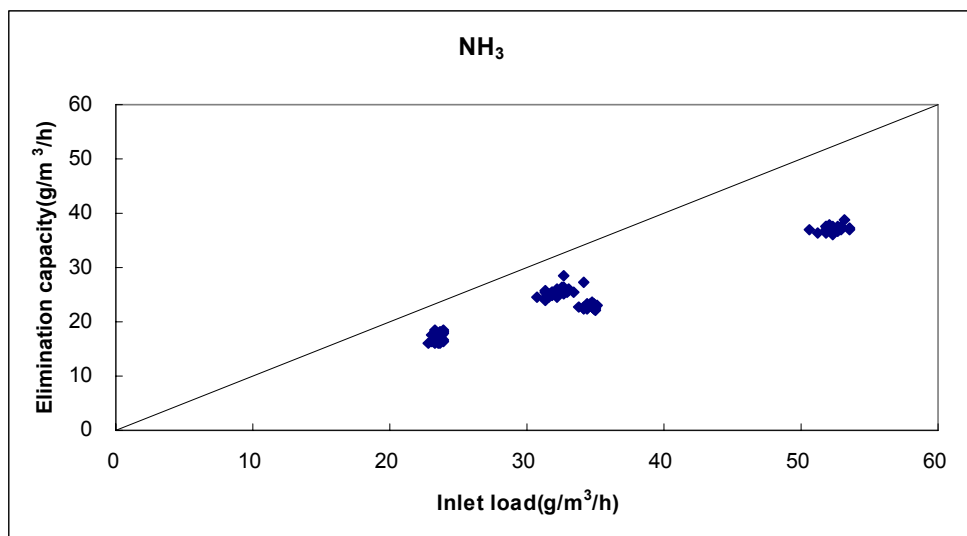


Fig. 2-38. Elimination capacity ($\text{g/m}^3/\text{h}$) versus inlet load at the exit of hybrid system D.

나) 바이오필터D의 운전결과

황화수소 및 암모니아를 동시 함유한 폐가스의 처리를 위하여 바이오필터D를 50일(2회/1일의 회수로 총 100 times 실험)동안 30°C의 온도조건 하에서 표 2-9과 같은 운전조건으로 운전하였다.

바이오필터의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소와 암모니아의 농도 추이 및 removal efficiency는 각각 Fig. 2-39와 40 및 Fig. 2-41과 42와 같다.

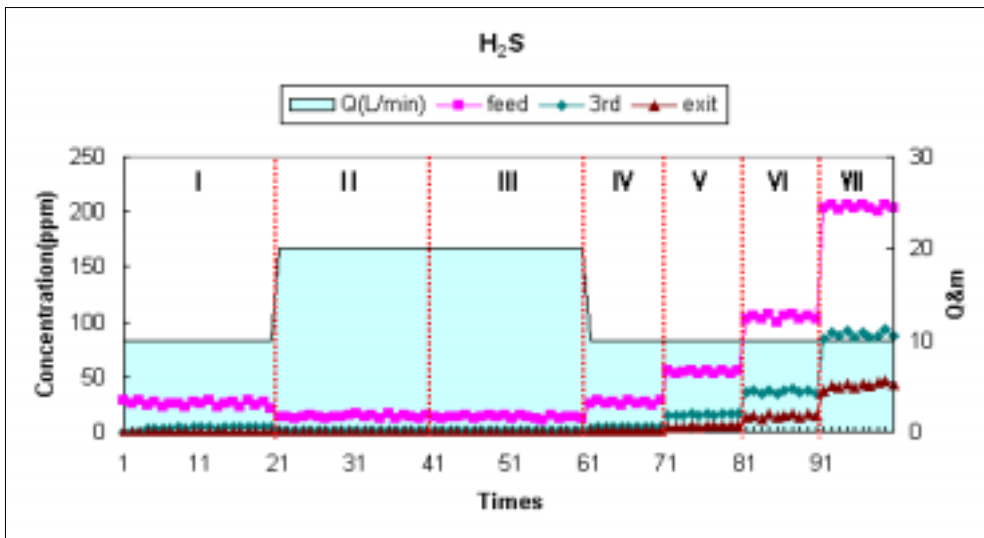


Fig. 2-39. Various hydrogen sulfide concentrations of a biofilter D at each sampling port versus experimental times.

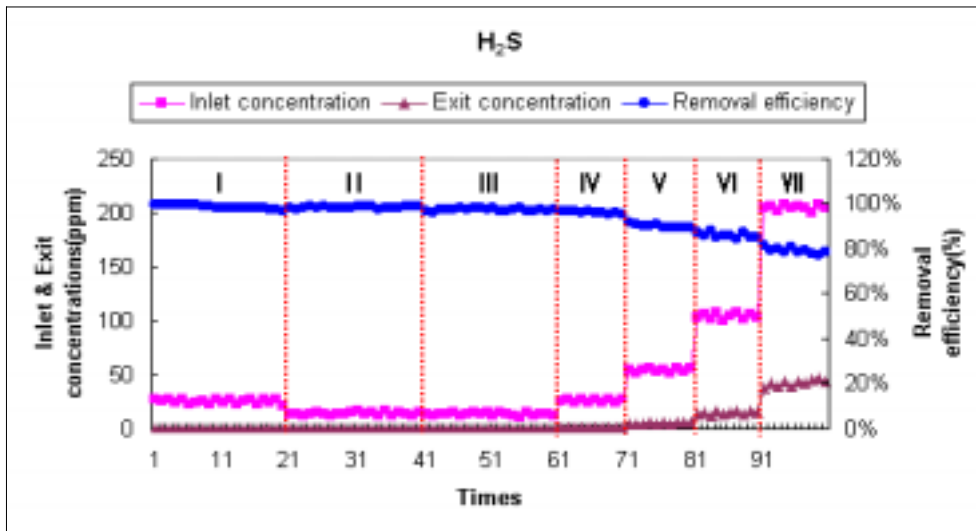


Fig. 2-40. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times.

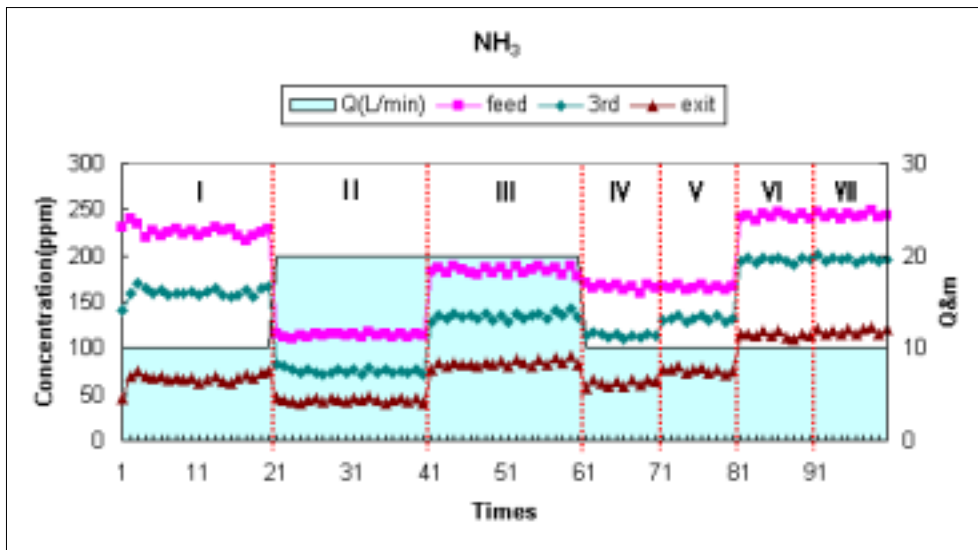


Fig. 2-41. Various ammonia concentrations of biofilter D at each sampling port versus experimental times.

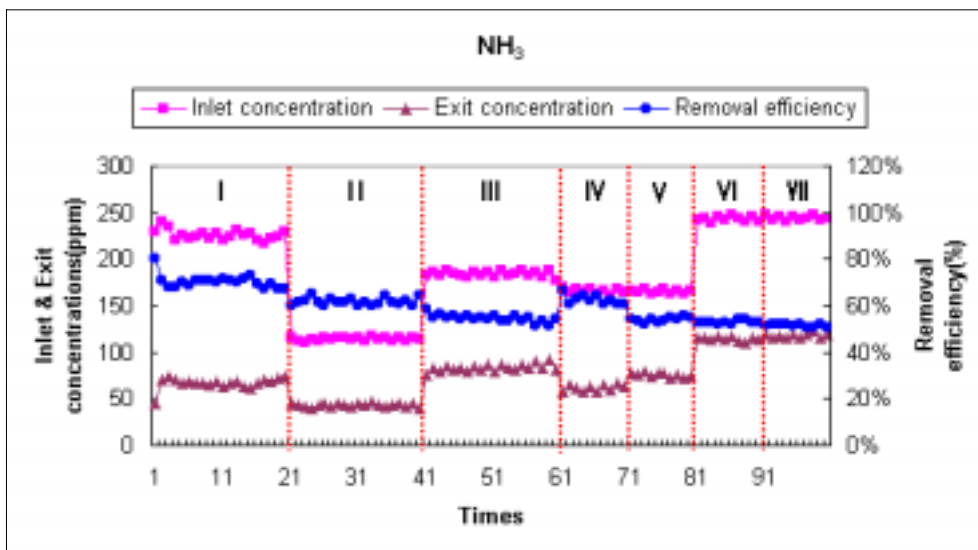


Fig. 2-42. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times.

Semi-pilot scale 운전조건에서 바이오필터 D의 황화수소의 removal efficiency는 Fig. 2-40과 같이 약 80%이었고 암모니아의 removal efficiency는 Fig. 2-42와 같이 약 50% 정도이었다. Step2 및 3에서 암모니아농도가 증가할 때 황화수소에 대한 removal efficiency는 변화가 거의 없었고, step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 60%에서 50%로 감소하였으나 step6 및 7에서와 같이 황화수소농도를 계속 증

가시켜도 암모니아에 대한 removal efficiency는 그대로 유지되었다. 마찬가지로 Fig. 2-45 및 46에서와 같이 step4 및 5 전에는 암모니아의 elimination capacity가 30 N-g/m³/h 정도 이었으나, step4 및 5에서 황화수소 농도가 증가하여 암모니아의 elimination capacity가 20 N-g/m³/h이하로 떨어졌음을 알 수 있다.

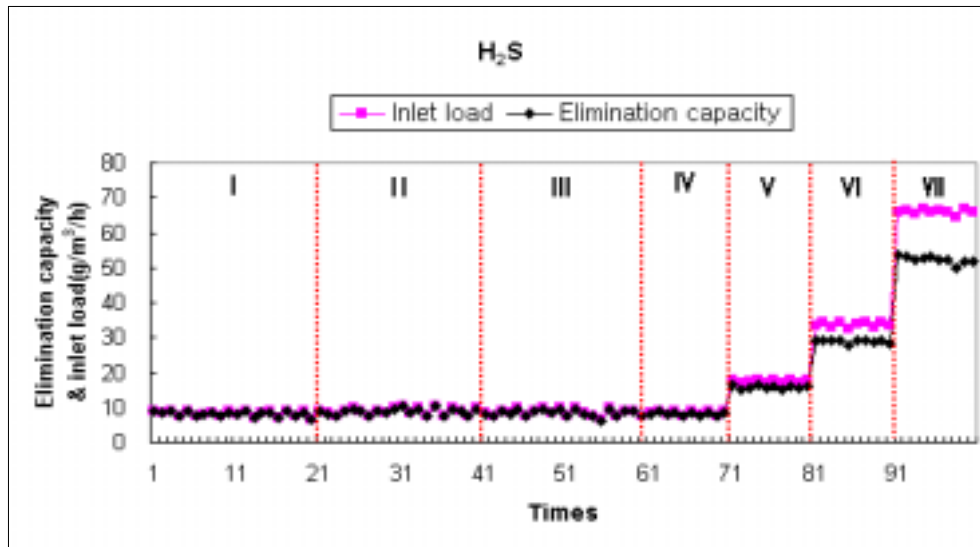


Fig. 2-43. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times.

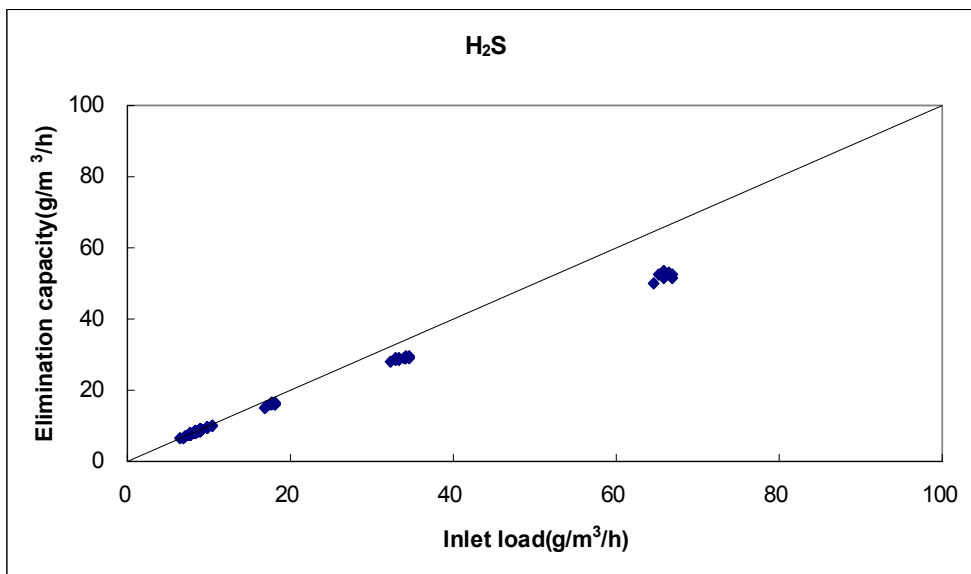


Fig. 2-44. Elimination capacity ($\text{g}/\text{m}^3/\text{h}$) versus inlet load at the exit of biofilter D.

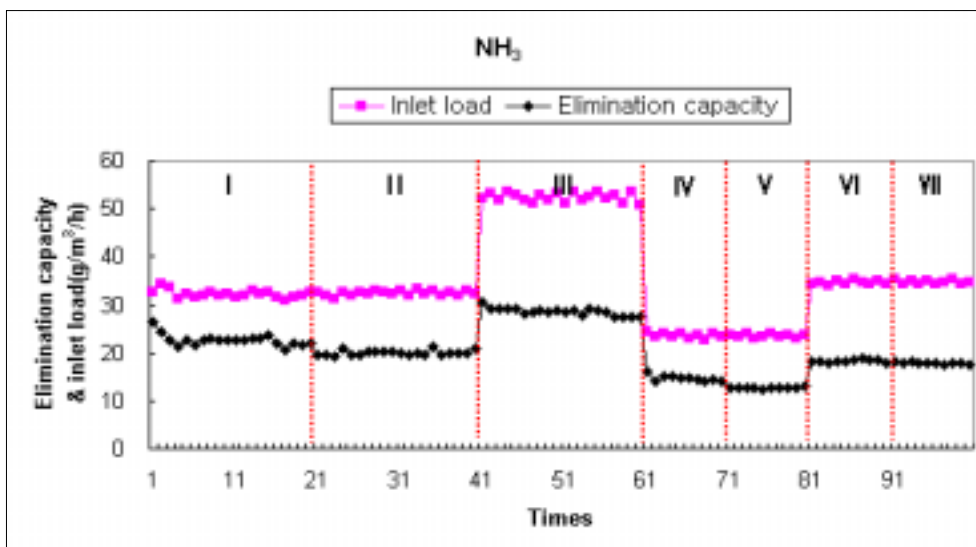


Fig. 2-45. Elimination capacity ($\text{g}/\text{m}^3/\text{h}$) and inlet load versus times.

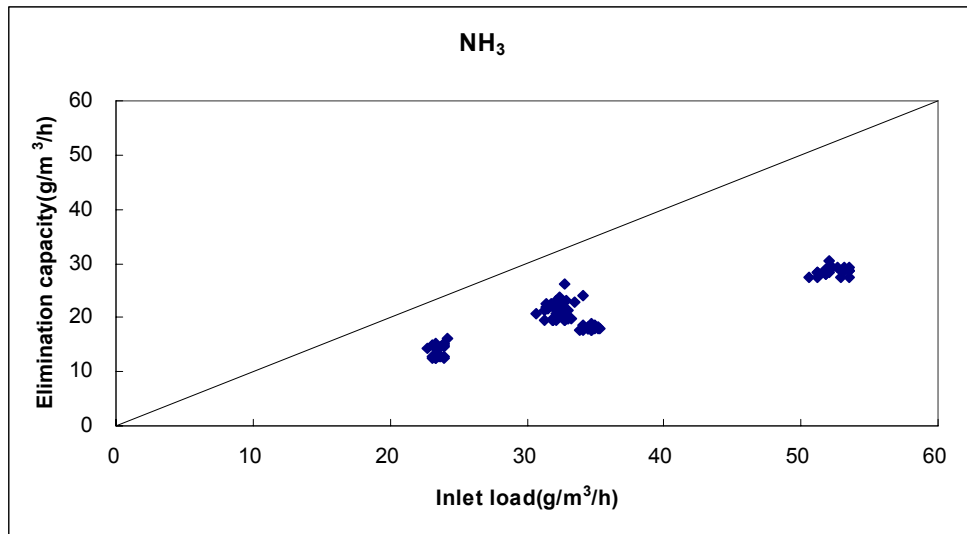


Fig. 2-46. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of biofilter D.

다) Hybrid시스템 E의 운전결과

황화수소 및 암모니아를 동시함유한 폐가스의 처리를 위하여 hybrid시스템D를 50일(1회/1일의 회수로 총 50 times 실험)동안 30℃의 온도조건 하에서 표 2-9와 같은 운전조건으로 운전하였다.

Hybrid시스템D의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소와 암모니아의 농도 추이 및 removal efficiency는 각각 Fig. 2-47과 48 및 Fig. 2-49와 50과 같다.

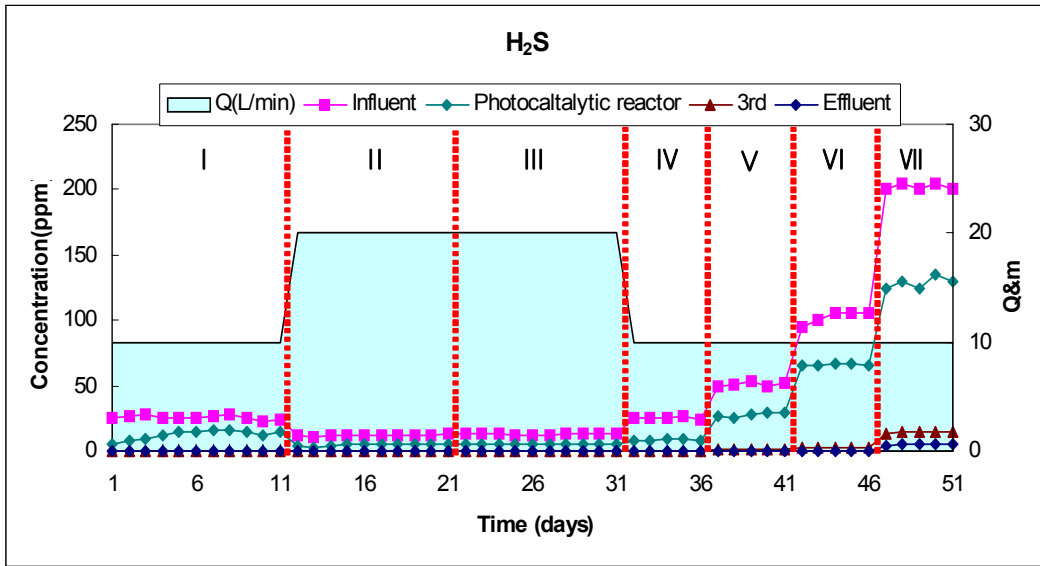


Fig. 2-47. Various hydrogen sulfide concentrations of hybrid system E at each sampling port versus experimental times.

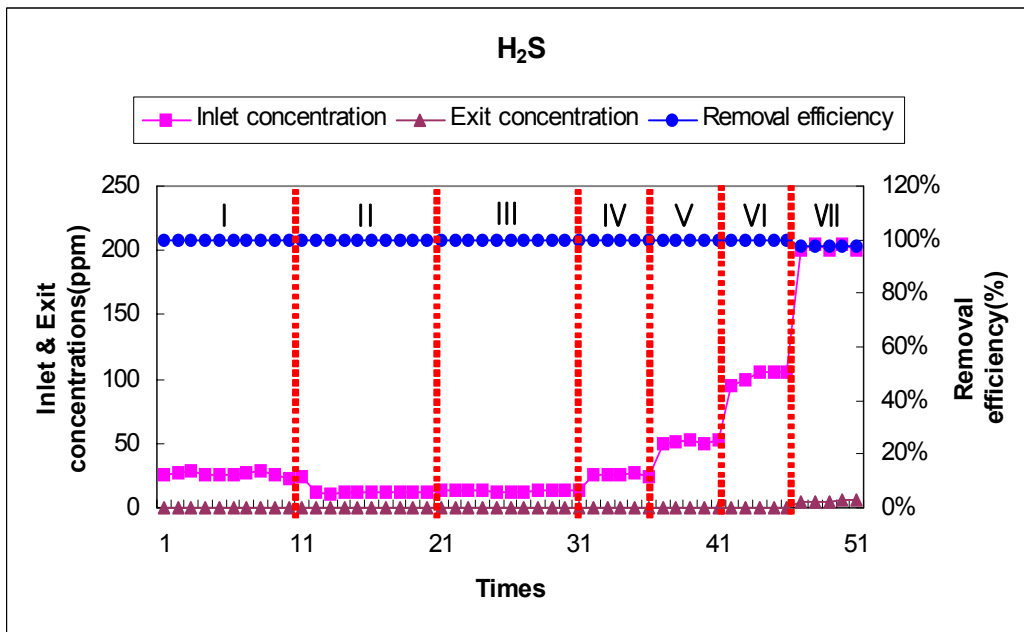


Fig. 2-48. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

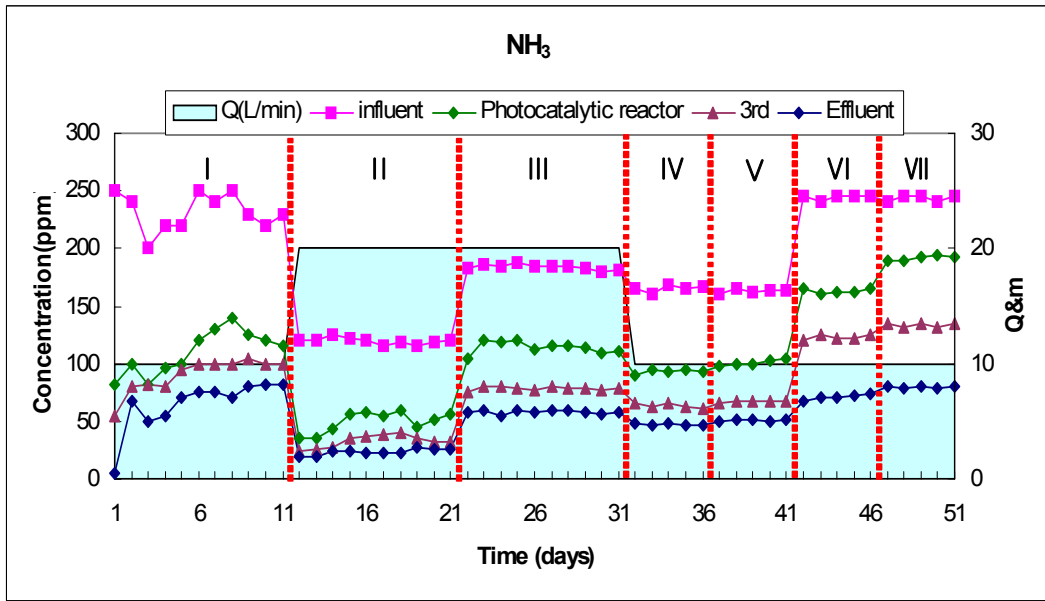


Fig. 2-49. Various ammonia concentrations of hybrid system E at each sampling port versus experimental times.

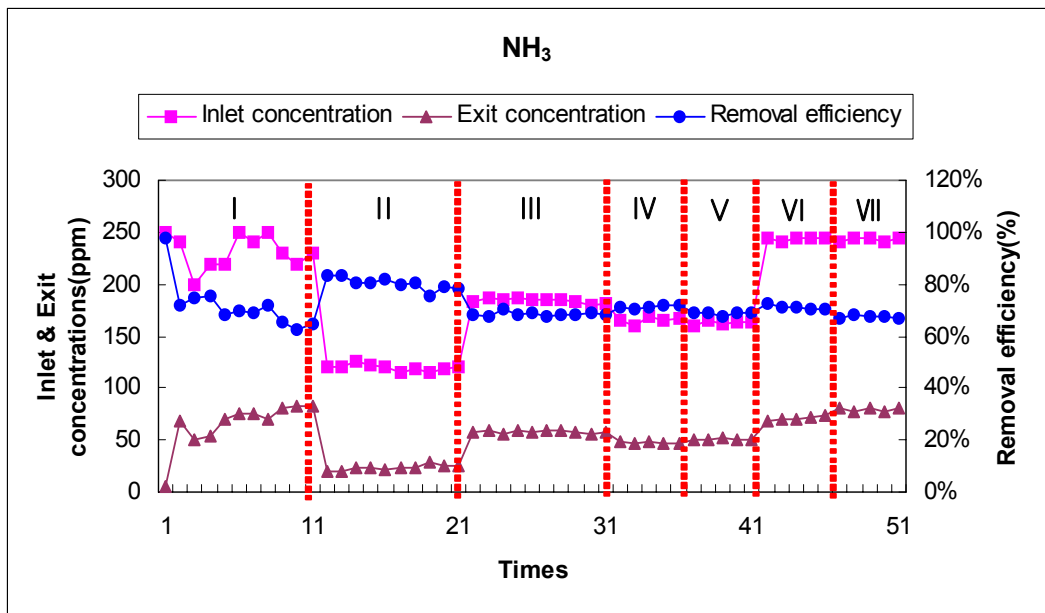


Fig. 2-50. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

같은 semi-pilot scale 운전조건에서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템E의 황화수소에 대한 removal efficiency는 거의 98%로서 바이오필터E의 경우 보다 약 5% 정도 개선되었고, 암모니아에 대한 removal efficiency는 70%로서 바이오필터E의 경우

보다 약 10% 증가하였다. Hybrid시스템D와 비교할 때에 황화수소에 대한 제거율은 25% 정도만큼이나 개선되었고 암모니아에 대한 제거율은 약간 높은 수준이었다.

또한 표 2-9의 step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 75%에서 70%로 감소하였고 step6 및 7에서와 같이 황화수소농도를 계속 증가시켰을 때에 암모니아에 대한 removal efficiency는 다소 감소하였다. Semi-pilot scale 운전 조건에서 hybrid시스템E의 황화수소와 암모니아에 대한 removal efficiency는 각각 약 98% 및 약 70% 정도이었다.

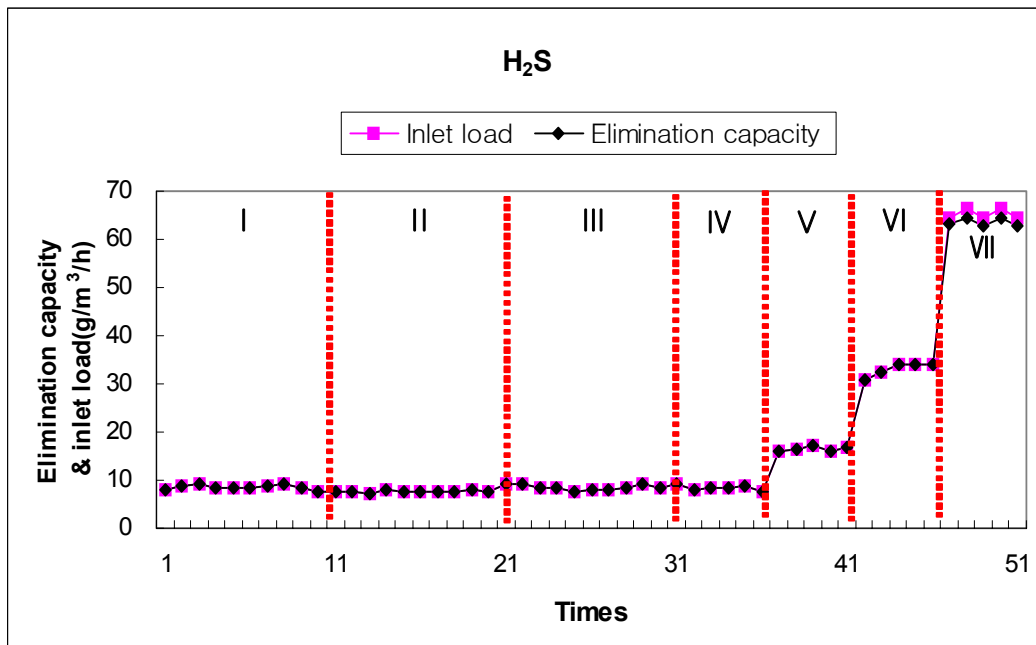


Fig. 2-51. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

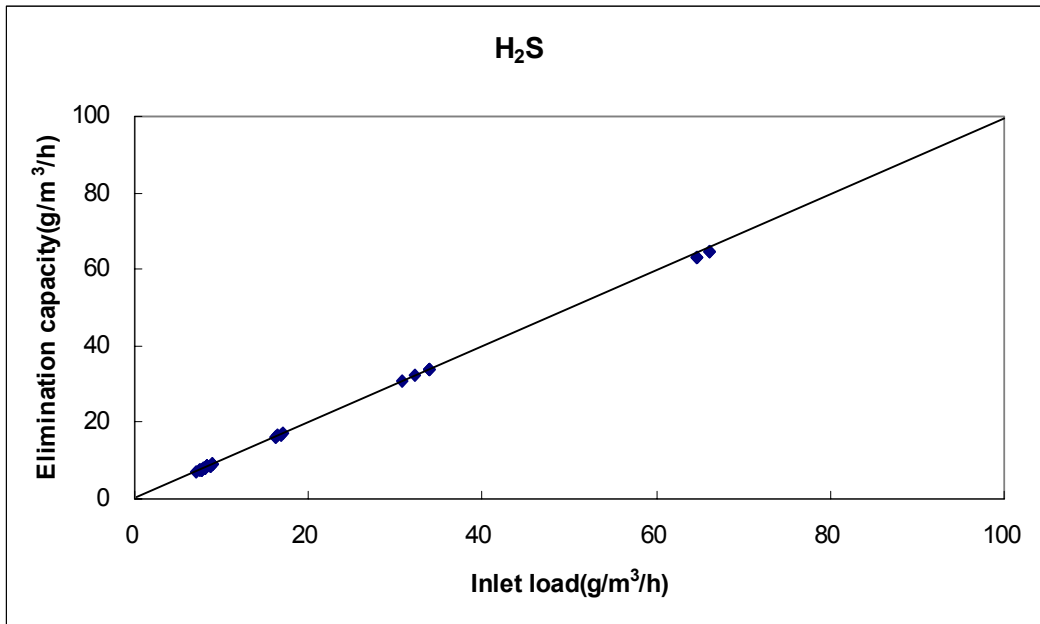


Fig. 2-52. Elimination capacity ($\text{g}/\text{m}^3/\text{h}$) versus inlet load at the exit of hybrid system E

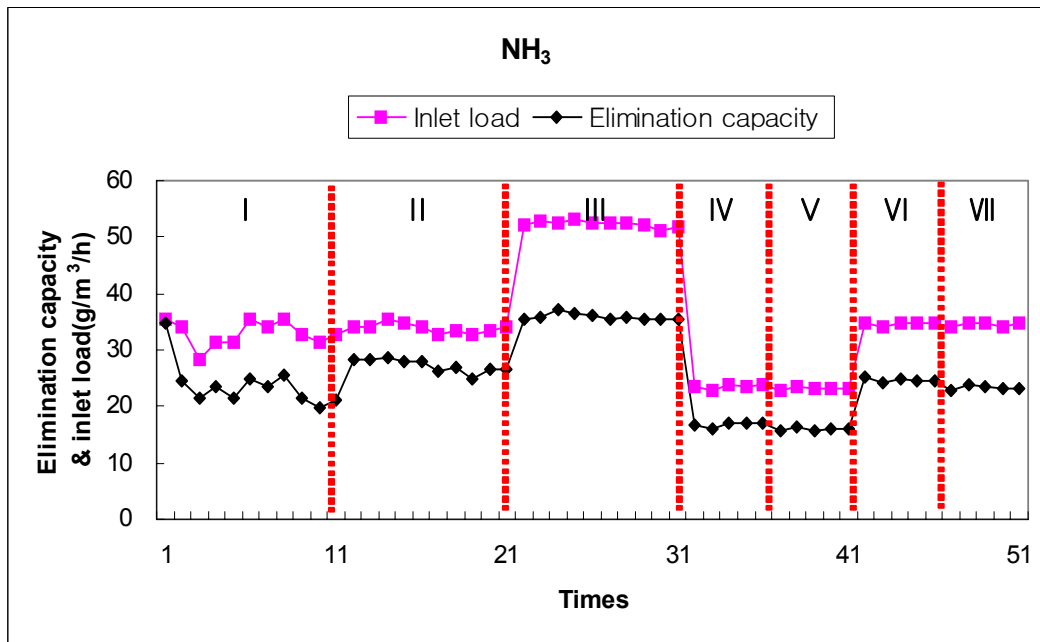


Fig. 2-53. Elimination capacity ($\text{g}/\text{m}^3/\text{h}$) and inlet load versus times

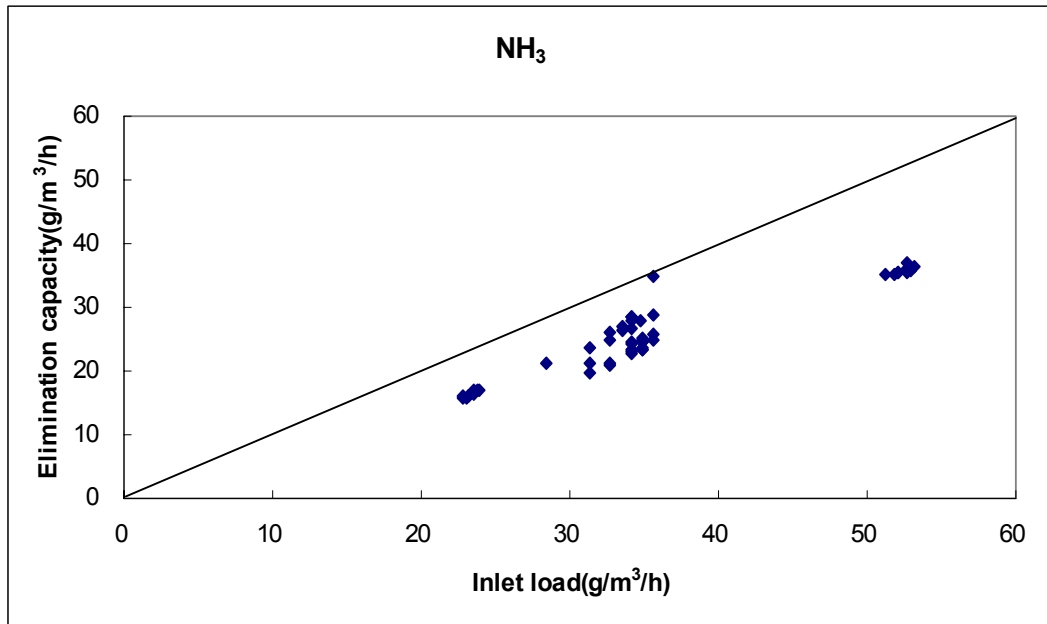


Fig. 2-54. Elimination capacity ($\text{g/m}^3/\text{h}$) versus inlet load at the exit of hybrid system E

황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-51 및 52에서와 같이 약 $70 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 Fig. 2-53 및 54에서와 같이 약 $40 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

라) 바이오필터E의 운전결과

황화수소 및 암모니아를 동시 함유한 폐가스의 처리를 위하여 바이오필터E를 50일(1회/1일의 회수로 총 100 times 실험)동안 30°C 의 온도조건 하에서 표 2-9와 같은 운전조건으로 운전하였다.

바이오필터의 feed inlet, 처리가스의 exit 및 각 sampling port에서 측정된 황화수소와 암모니아의 농도 추이 및 removal efficiency는 각각 Fig. 2-55와 56 및 Fig. 2-57과 58과 같다.

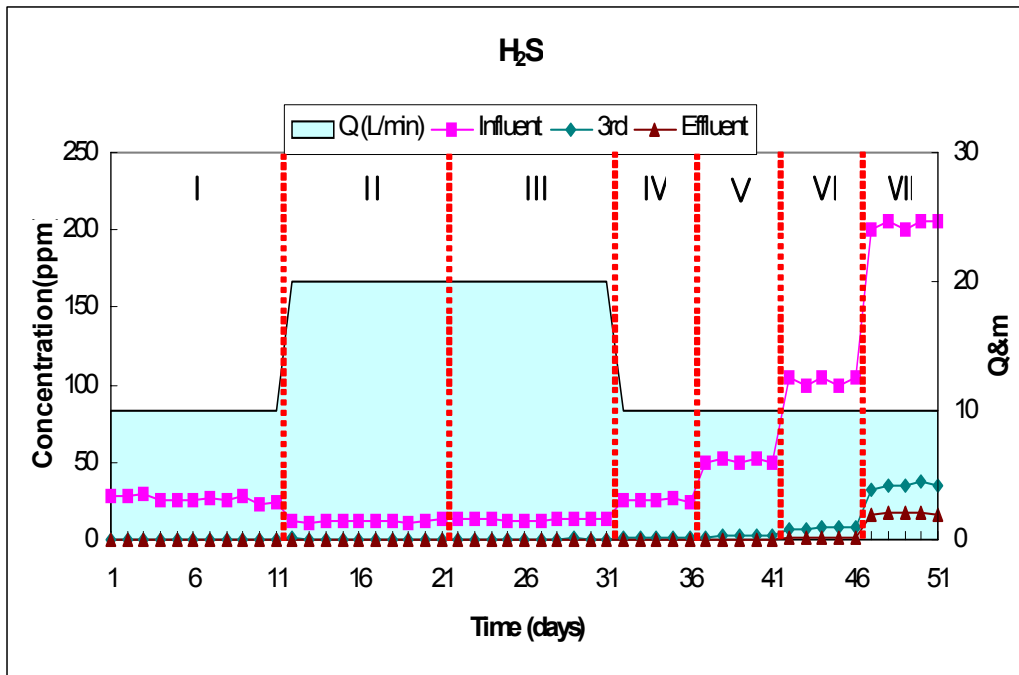


Fig. 2-55. Various hydrogen sulfide concentrations of a biofilter E at each sampling port versus experimental times.

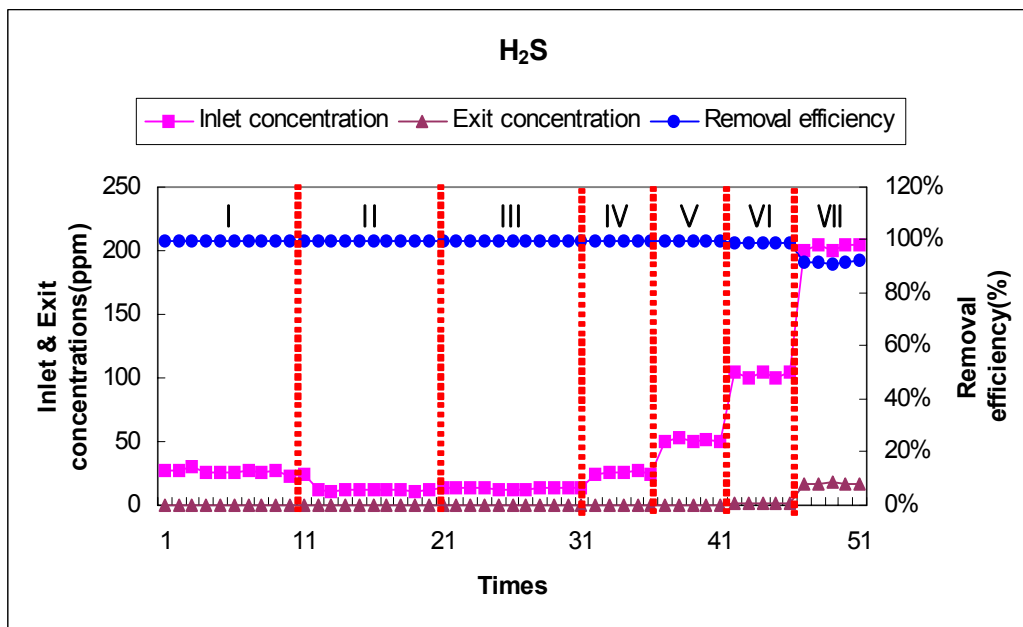


Fig. 2-56. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

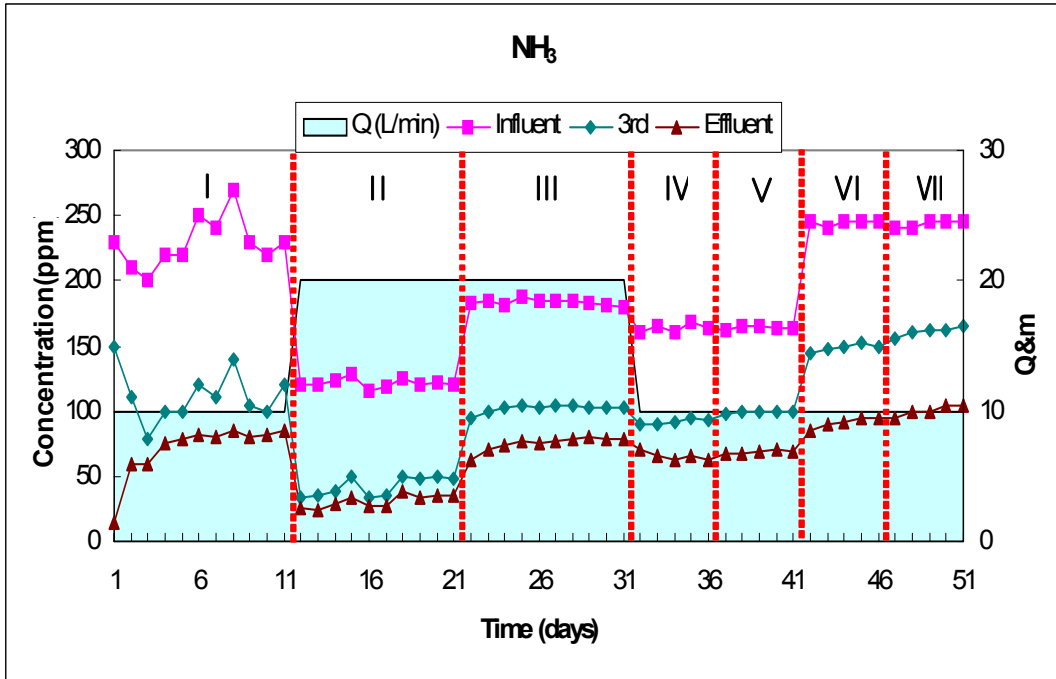


Fig. 2-57. Various ammonia concentrations of biofilter E at each sampling port versus experimental times.

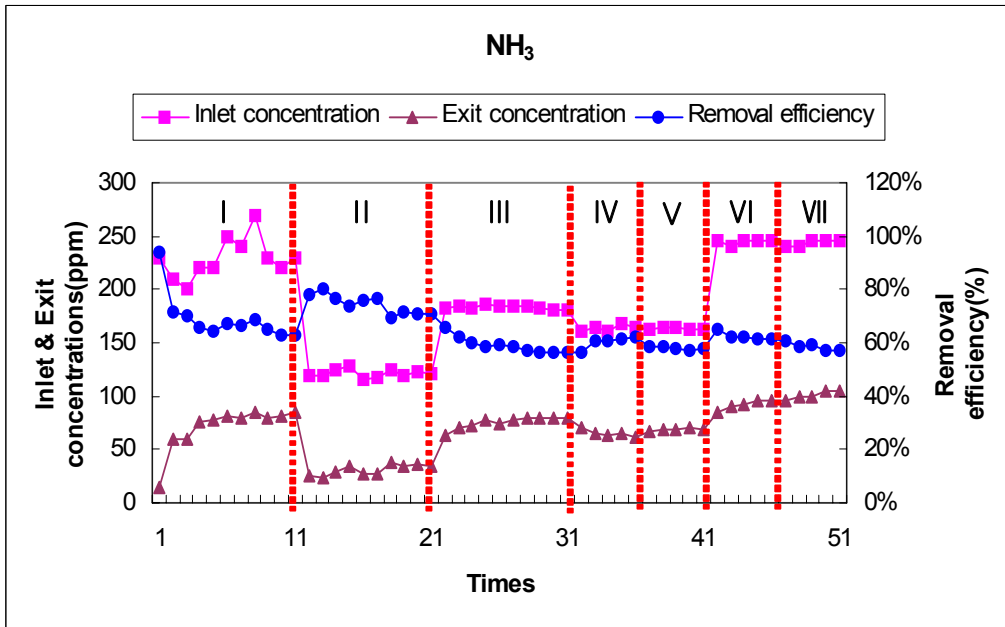


Fig. 2-58. Removal efficiency, inlet and exit concentrations versus times

Semi-pilot scale 운전조건에서 바이오필터D의 황화수소의 removal efficiency는 약 80% 이었고 암모니아의 removal efficiency는 약 50% 정도이었던 반면에 바이오필터E에서 황화수소의 removal efficiency는 약 90%이었고 암모니아의 removal efficiency는 약 60% 정도 이어서 바이오필터D의 경우보다 removal efficiency가 10-20% 정도 제고되었다. Step2 및 3

에서 암모니아농도가 증가할 때 황화수소에 대한 removal efficiency는 변화가 거의 없이 100% 수준을 유지하였고, step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 65%에서 60%로 감소하였고 황화수소농도를 계속 증가시켜도 암모니아에 대한 removal efficiency는 그대로 유지되었다. 마찬가지로 Fig. 2-61 및 62에서와 같이 step4 및 5 전에는 암모니아의 elimination capacity가 30 N-g/m³/h 이상이었으나, step4 및 5에서 황화수소 농도가 증가하여 암모니아의 elimination capacity가 20 N-g/m³/h 정도로 떨어졌음을 알 수 있다. 따라서 바이오필터D의 경우보다 암모니아의 elimination capacity가 3-5 N-g/m³/h 정도 더욱 높았다. 한편 바이오필터E의 황화수소의 elimination capacity는 Fig. 2-59 및 60에서와 같이 약 60 N-g/m³/h 정도로 바이오필터D의 경우보다 약 20% 증가하였다.

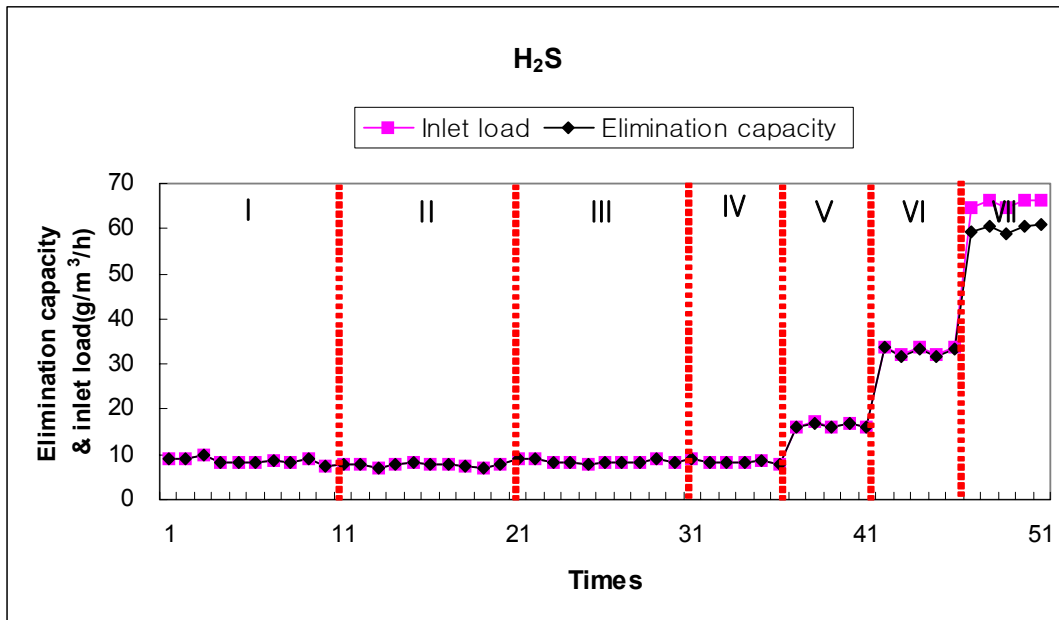


Fig. 2-59. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

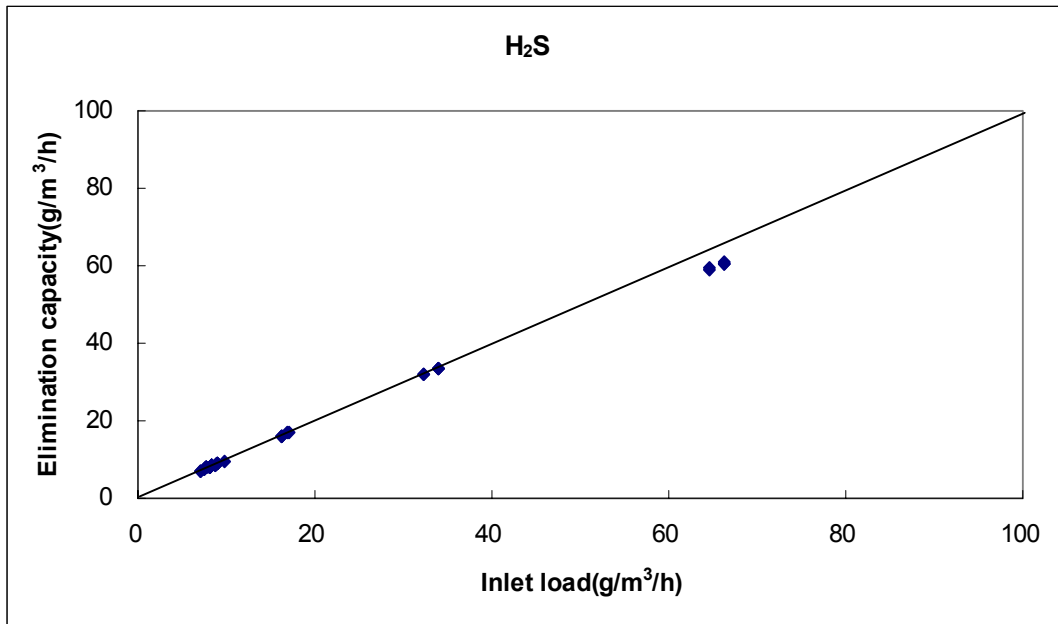


Fig. 2-60. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of biofilter E

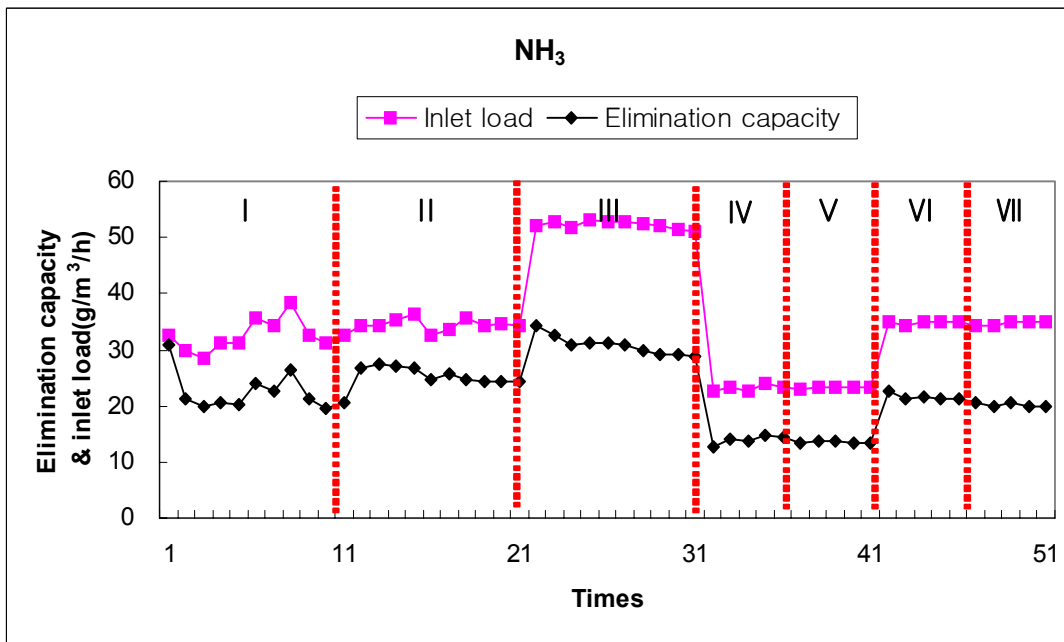


Fig. 2-61. Elimination capacity (g/m³/h) and inlet load versus times

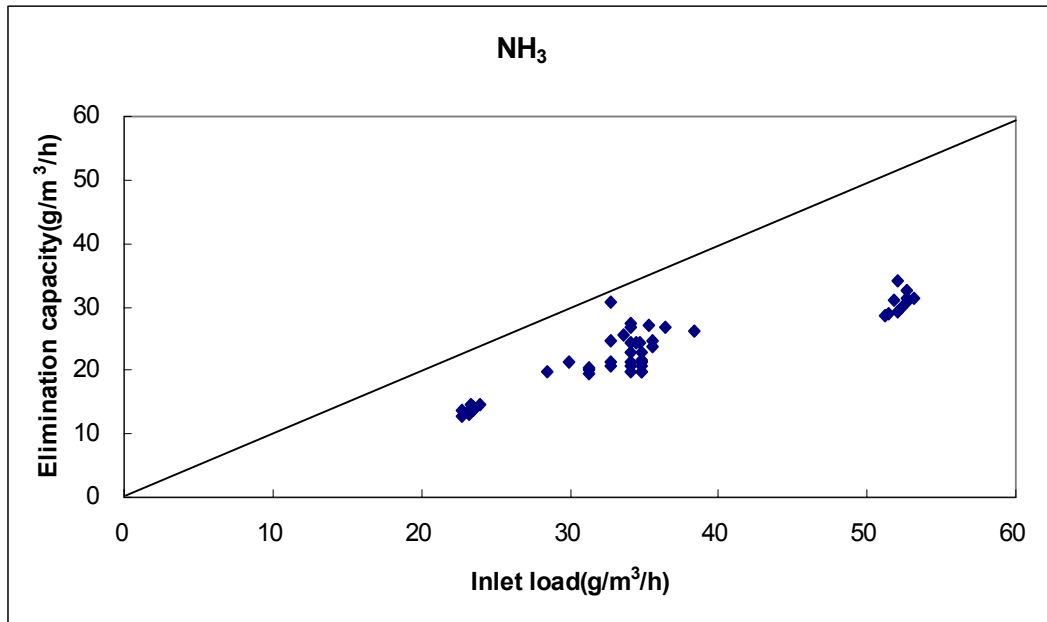


Fig. 2-62. Elimination capacity (g/m³/h) versus inlet load at the exit of biofilter E

3) 담체(활성탄 및 compost) 분석 결과

가) Hybrid시스템A 및 바이오필터A(황화수소)

(1) 밀도 측정 결과

활성탄과 compost를 1:1로 섞은 50 ml의 혼합물 밀도는 0.38이었다.

(2) pH 및 moisture양 측정결과

-Hybrid시스템A: 1단, 2단 및 3단 내부의 미생물 담체의 pH는 sulfate ion의 축적으로 인하여 각각 4.12, 4.98 및 6.01로 증가함을 보였으며, 담체의 건조 후의 무게는 건조 전 20 g에서 각각 9.55 g, 8.49 g 및 8.23 g으로 함수율은 각각 52.35%, 56.46% 및 58.99%로서 1단<2단<3단의 순서로 증가하였다.

-바이오필터A: 1단, 2단 및 3단 내부의 미생물 담체의 pH는 각각 4.48, 5.27 및 6.33으로 증가함을 보였으며, 담체의 건조 후의 무게는 건조 전 20 g에서 각각 9.44 g, 8.56 g 및 8.68 g으로 함수율은 각각 52.82%, 57.22% 및 56.67%로서 hybrid시스템A와 마찬가지로 1단<2단<3단의 순서로 증가하였다.

(3) 미생물개체수 산정결과

Hybrid시스템A의 1단, 2단 및 3단 내부에서 채취한 미생물 담체 1 g을 DAPI 염색시켜 형광현미경으로 관찰·계수한 미생물 개체 수는 각각 $1.354 \times 10^9/g$, $7.11 \times 10^8/g$ 및 $4.68 \times 10^8/g$ 이었고 미생물 개체수는 1단>2단>3단의 순서로 감소하였다. Fig. 2-63은 형광현미경 (Axiolab, Xeiss, Germany)을 사용하여 미생물담체에 고정된 *Thiobacillus* sp. IW를 관찰한 결과이다.

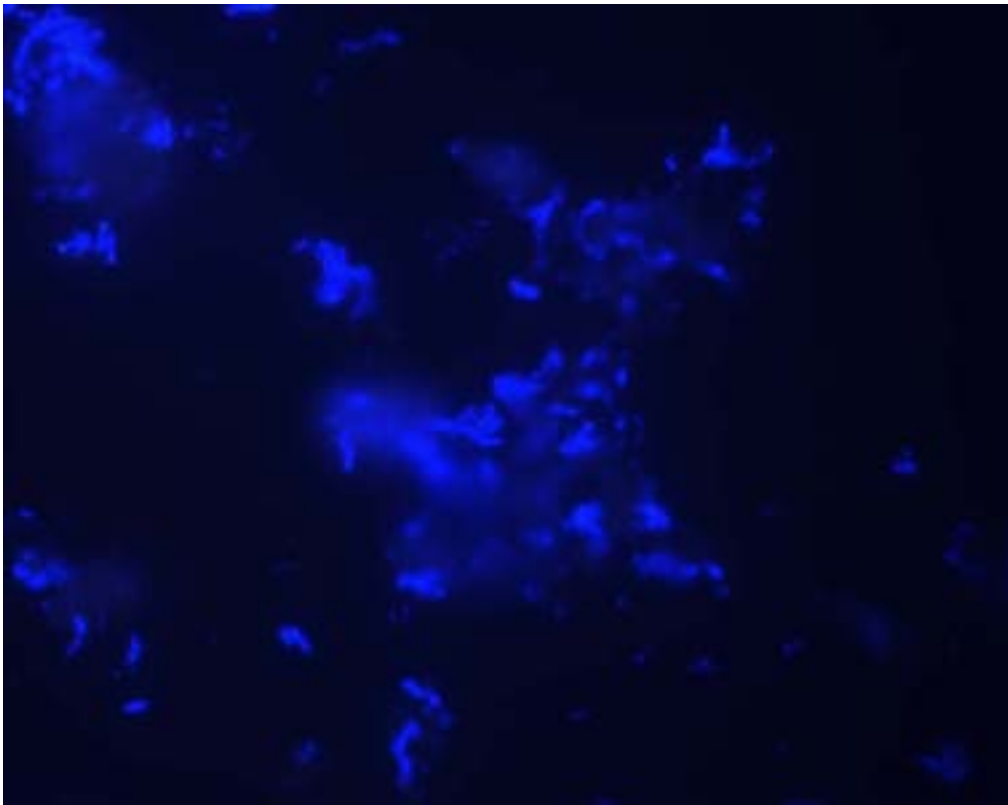


Fig. 2-63. *Thiobacillus* sp. IW observed by fluorescence microscope (16×100) (Axiolab, Xeiss, Germany).

나) Hybrid시스템B/바이오필터B(암모니아)

(1) 페타이어담체의 겉보기 밀도 및 담체 내부 공극율 측정 결과

개발된 제올라이트를 포함한 페타이어담체의 겉보기 밀도는 0.31 g/ml이고 페타이어담체의 내부공극율을 진공펌프를 이용하여 물로 채운 후에 측정한 겉보기밀도는 0.55 g/ml이었다. 따라서 제올라이트를 포함한 페타이어담체의 내부공극율은 24%이었다. 한편 제올라이트를 포함하지 않은 페타이어담체의 경우는 14%의 내부공극율을 보였다.

(2) pH 및 moisture양 측정결과

바이오필터B 내부의 미생물 담체(폐타이어담체+활성탄+compost)의 pH는 pH 7.0과 6.5 사이에서 변화됨을 보였으며, 담체의 건조 후의 무게는 건조 전 20 g에서 8 g으로 감소하여 함수율은 60%를 나타내었다.

(3) 미생물개체수 산정결과

바이오필터B의 1단, 2단 및 3단 내부에서 채취한 미생물 담체 1 g을 DAPI 염색시켜 형광현미경으로 관찰·계수한 미생물 개체 수는 각각 $2.80 \times 10^9/g$, $2.00 \times 10^9/g$ 및 $1.51 \times 10^9/g$ 이었다. Fig. 2-64는 형광현미경(Axiolab, Xeiss, Germany)을 사용하여 미생물담체에 고정된 반송슬러지의 미생물 consortium을 관찰한 결과이다.

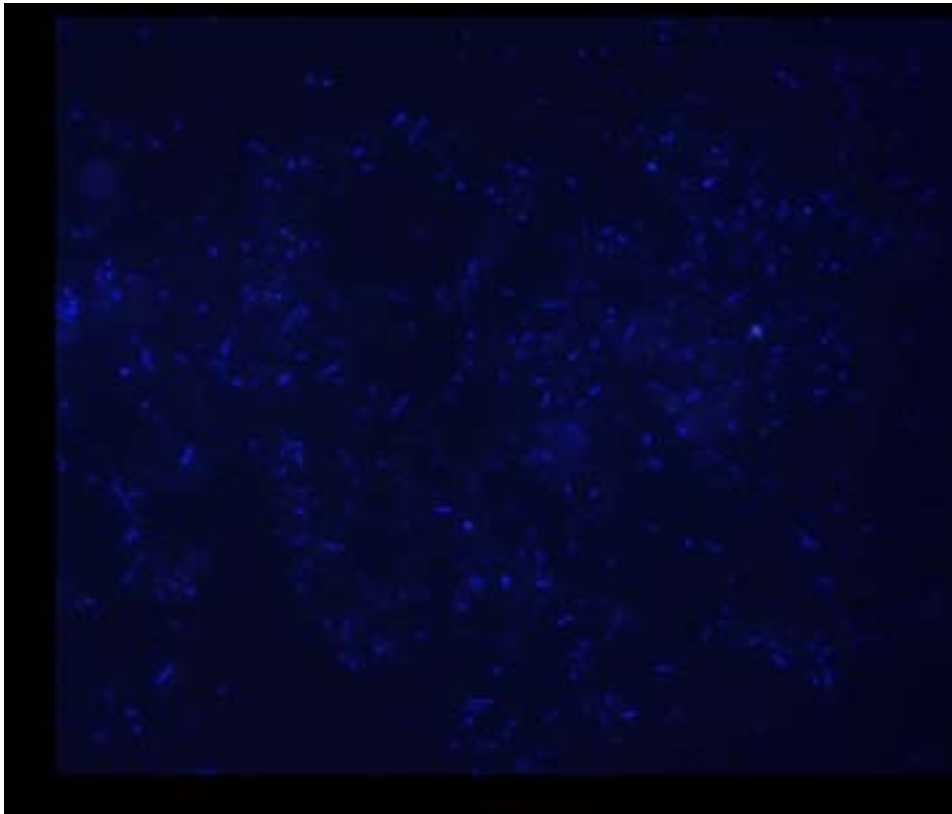


Fig. 2-64. Microbes of return-sludge observed by fluorescence microscope (16×100) (Axiolab, Xeiss, Germany).

다) 바이오필터C(황화수소/암모니아 혼합가스)

(1) 폐타이어담체의 겉보기 밀도 및 담체 내부 공극율 측정 결과

전향 참조

(2) pH 및 moisture양 측정결과

바이오필터C 내부의 미생물 담체(페타이어담체+활성탄+compost)의 pH는 1단, 2단 및 3단에서 각각 5.12, 6.04 및 6.53이었고, 함수율은 담체의 활성탄/compost의 경우는 각각 55.3%, 57.2% 및 59.4%를 나타내었고 페타이어담체는 각각 44.5%, 47.8% 및 54.1%를 보였다. 따라서 미생물담체의 1단, 2단 및 3단에서의 평균함수율은 52.0%, 54.4% 및 57.8%를 보였다.

(3) 미생물개체수 산정결과

바이오필터C의 1단, 2단 및 3단 내부에서 채취한 미생물 담체 1 g을 DAPI 염색시켜 형광현미경으로 관찰·계수한 *Thiobacillus* sp. IW를 포함한 간균은 각각 $1.540 \times 10^9/g$, $9.56 \times 10^8/g$ 및 $6.14 \times 10^8/g$ 이었다. 한편 간균을 제외한 비간균은 각각 $7.77 \times 10^8/g$, $1.05 \times 10^9/g$ 및 $8.15 \times 10^8/g$ 이었다.

황화수소/암모니아의 혼합가스를 처리하는 hybrid시스템 및 바이오필터의 경우는 미생물 담체에 고정하는 미생물이 *Thiobacillus* sp. IW와 하수처리장의 반송슬러지의 혼합물이므로 그 분포특성을 확인하기 위하여 실험이 끝난 후에 적용된 페타이어담체의 표면(Fig. 2-65) 및 내부(Fig. 2-66), 활성탄 표면(Fig. 2-67) 및 compost 표면(Fig. 2-68)에 부착된 미생물에 대한 SEM image (Field Emission Scanning Electron Microscope. Hitachi, S-4300)를 찍었다.

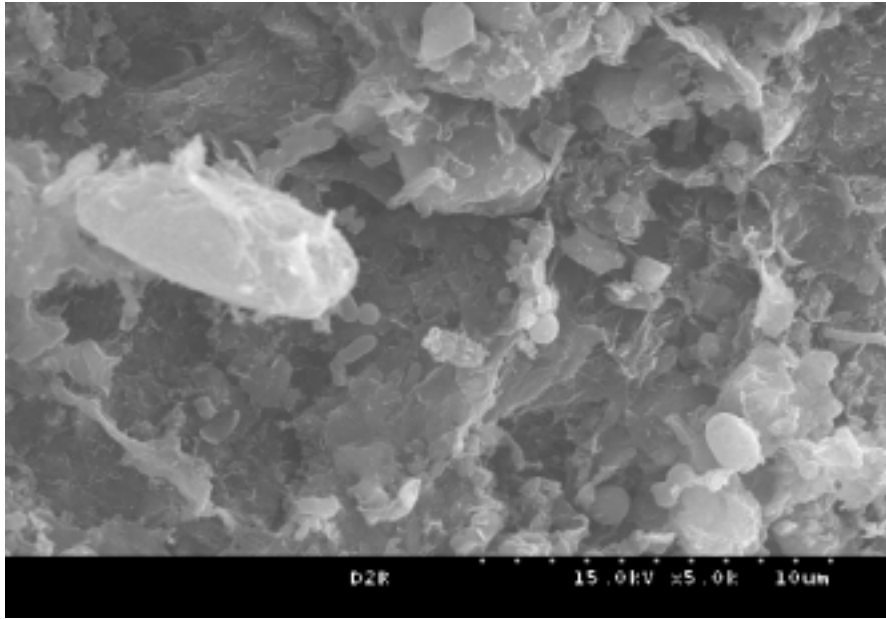


Fig. 2-65. SEM image of the surface of the rubber-media made of granular waste-tire and EVA.

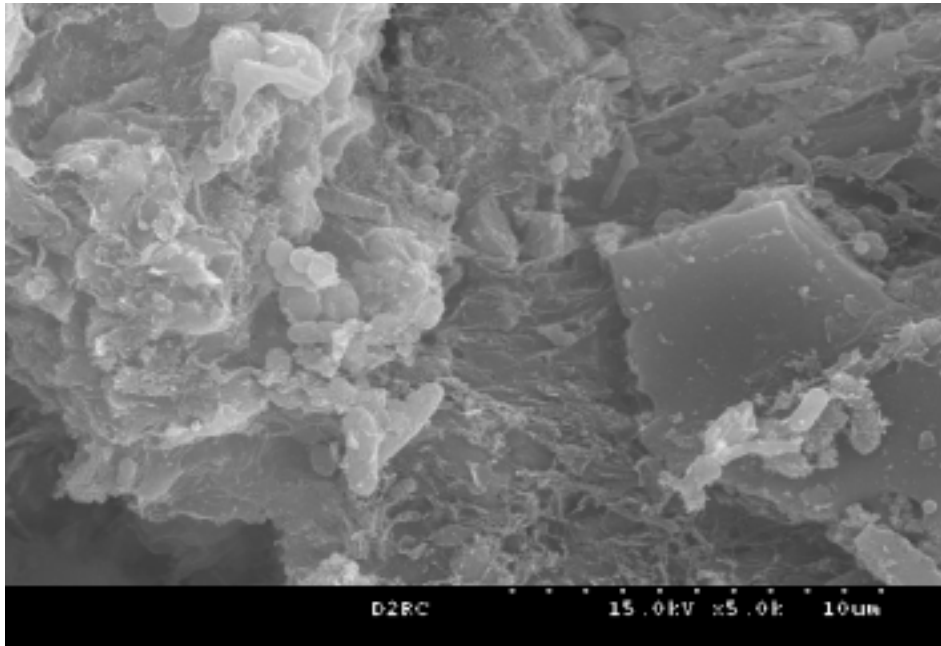


Fig. 2-66. SEM image of the section of the rubber-media made of granular waste-tire and EVA.

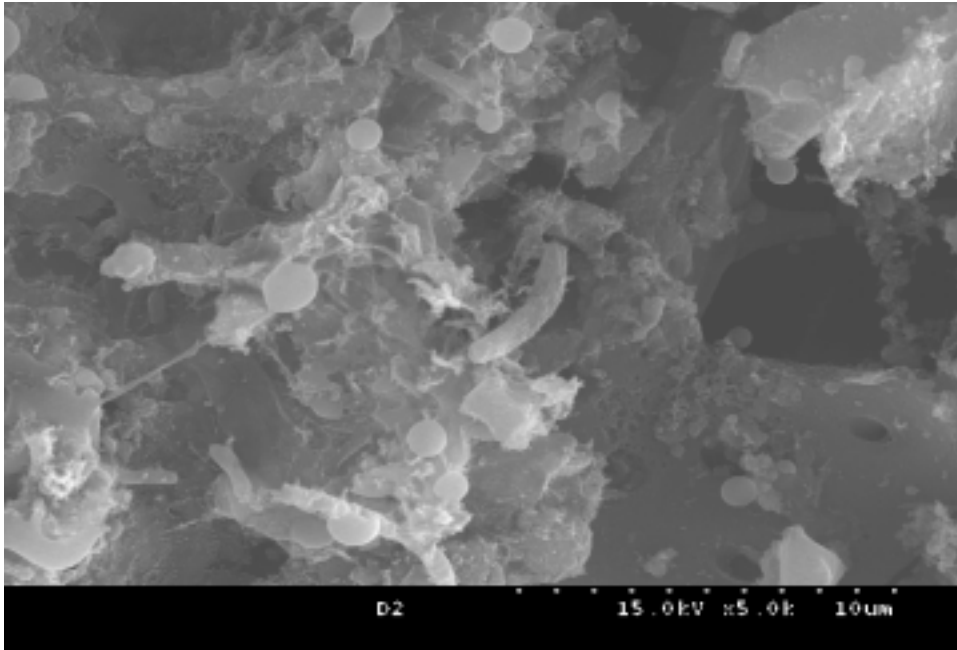


Fig. 2-67. SEM image of the surface of GAC.

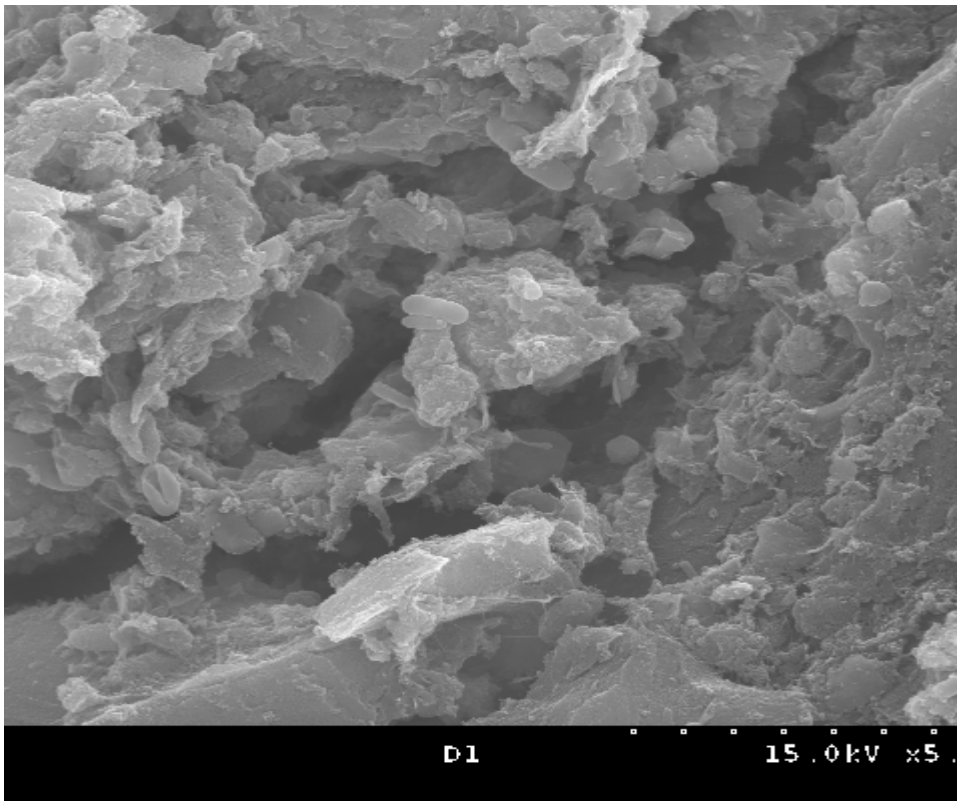


Fig. 2-68. SEM image of the surface of compost.

라) Hybrid시스템D/바이오필터D(황화수소/암모니아 혼합가스)

(1) 페타이어담체의 겉보기 밀도 및 담체 내부 공극율 측정 결과

전향 참조

(2) pH 및 moisture양 측정결과

바이오필터D 내부의 미생물 담체(페타이어담체+활성탄+compost)의 pH는 1단, 3단 및 5단에서 각각 5.23, 5.87 및 6.55이었고, 함수율은 담체의 활성탄/compost의 경우는 각각 55.4%, 55.1% 및 54.7%를 나타내었고 페타이어담체는 각각 57.4%, 57.2% 및 56.4%를 보였다. 따라서 미생물담체의 1단, 2단 및 3단에서의 평균함수율은 56.4%, 56.3% 및 56.0%를 보였다.

(3) 미생물개체수 산정결과

바이오필터D의 1단, 3단 및 5단 내부에서 채취한 미생물 담체 1 g을 DAPI 염색시켜 형광현미경으로 관찰·계수한 *Thiobacillus* sp. IW를 포함한 간균은 각각 $2.0568 \times 10^9/g$, $1.7137 \times 10^9/g$ 및 $1.2722 \times 10^9/g$ 이었다. 한편 간균을 제외한 비간균은 각각 $1.8383 \times 10^9/g$, $1.5568 \times 10^9/g$ 및 $1.0984 \times 10^9/g$ 이었다.

황화수소/암모니아의 혼합가스를 처리하는 hybrid시스템 및 바이오필터의 경우는 미생물 담체에 고정하는 미생물이 *Thiobacillus* sp. IW와 하수처리장의 반송슬러지의 혼합물이므로 그 분포특성을 확인하기 위하여 실험이 끝난 후에 적용된 페타이어담체의 표면(Fig. 2-69) 및 내부(Fig. 2-70), 활성탄 표면(Fig. 2-71) 및 compost 표면(Fig. 2-72)에 부착된 미생물에 대한 SEM image (Field Emission Scanning Electron Microscope. Hitachi, S-4300)를 찍었다

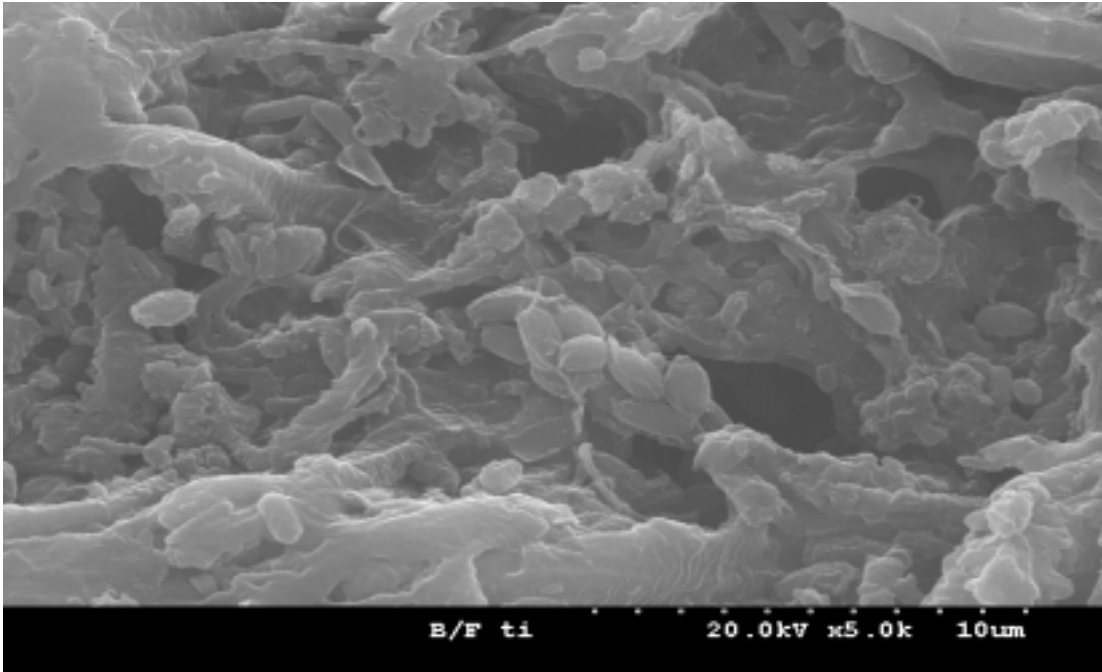


Fig. 2-69. SEM image of the surface of the rubber-media.

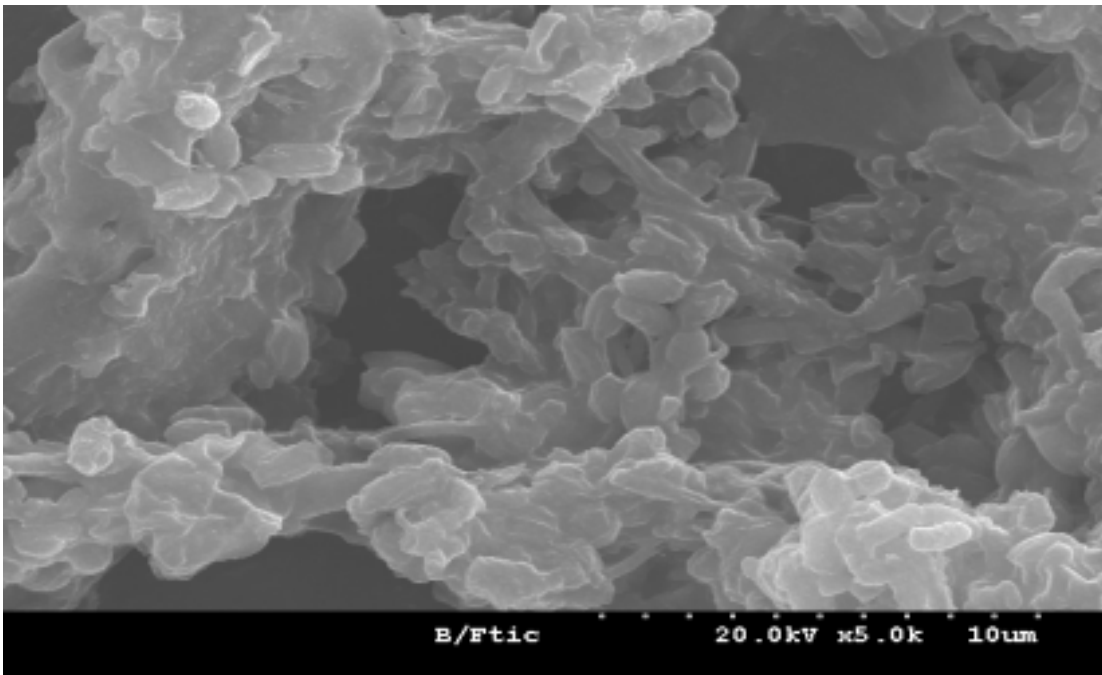


Fig. 2-70. SEM image of the section of the rubber-media made of granular waste-tire and EVA.

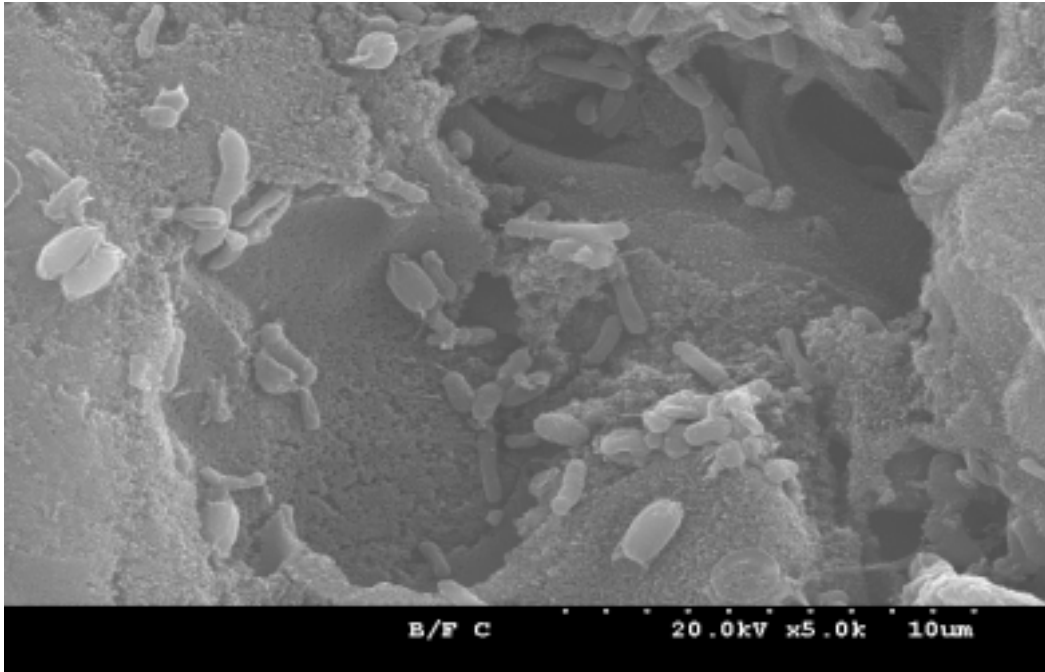


Fig. 2-71. SEM image of the surface of GAC.

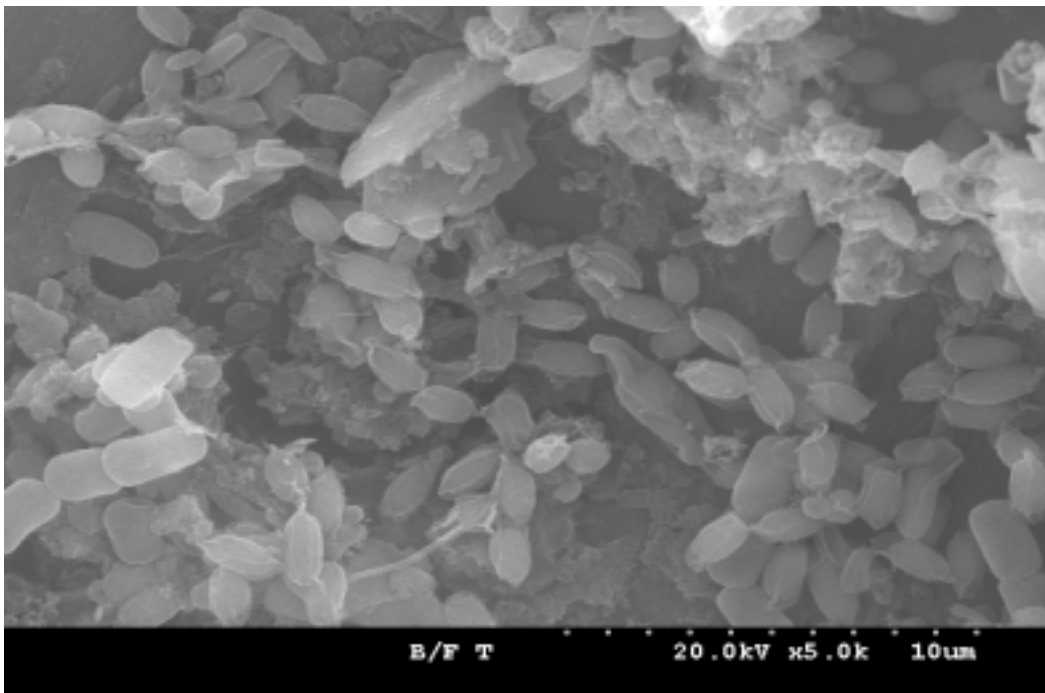


Fig. 2-72. SEM image of the surface of compost.

(4) FISH법에 의한 질화균 개체수 산정결과

암모니아산화세균의 동정에는 NSO190 (Schramm *et al.*, 1998), 그리고 아질산산화세균의 동정은 NIT3 (Wagner *et al.*, 1996; Schramm *et al.*, 1998)을 사용하였다. 이때 NSO190,

NIT3 probe는 CY3 (indocarbocyanine dye)으로 각각 표지하였다. 바이오필터D의 1단에서 채취한 미생물 담체 중 페타이어담체에서는 암모니아산화세균은 1.4460×10^8 g, 아질산산화세균은 3.8767×10^8 g이었고 활성탄 및 compost에서는 암모니아산화세균은 1.4768×10^8 g, 아질산산화세균은 3.3844×10^8 g이었다.

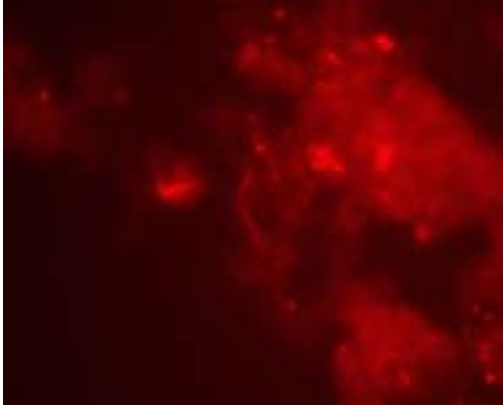


Fig. 2-73. 페타이어담체에서 CY3로 표지된 NSO190 probe.

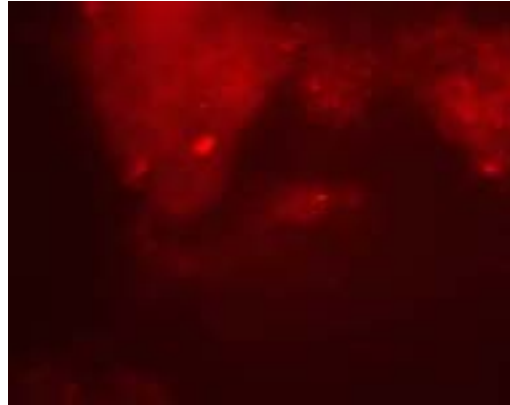


Fig. 2-74. 페타이어담체에서 CY3로 표지된 NIT3 probe.

마) Hybrid시스템E/바이오필터E(황화수소/암모니아 혼합가스)

(1) 페타이어담체의 겉보기 밀도 및 담체 내부 공극율 측정 결과
전향 참조

(2) pH 및 moisture양 측정결과

바이오필터E 내부의 미생물 담체(페타이어담체+활성탄+compost)의 pH는 1단, 3단 및 5단에서 각각 6.3, 6.6 및 6.9이었고, 함수율은 담체의 활성탄/compost의 경우는 각각 53.5%, 52.2% 및 50.1%를 나타내었고 페타이어담체는 각각 56.4%, 54.3% 및 52.6%를 보였다. 따라서 미생물담체의 1단, 2단 및 3단에서의 평균함수율은 55.0%, 53.3% 및 51.4%를 보였다.

(3) 미생물개체수 산정결과

바이오필터E의 1단, 3단 및 5단 내부에서 채취한 미생물 담체 1 g을 DAPI 염색시켜 형광현미경으로 관찰·계수한 황화수소분해세균 1153 및 암모니아분해세균 1214를 포함한 총 세균수는 각각 9.99×10^9 /g, 7.47×10^9 /g 및 6.53×10^9 /g이었다.

황화수소/암모니아의 혼합가스를 처리하는 hybrid시스템 및 바이오필터의 경우는 미생물 담체에 고정하는 미생물이 황화수소분해세균 1153과 암모니아분해세균 1214의 혼합물이므로

그 분포특성을 확인하기 위하여 실험이 끝난 후에 적용된 페타이어담체의 표면(Fig. 2-75) 및 내부(Fig. 2-76), 활성탄 표면(Fig. 2-77) 및 compost 표면(Fig. 2-78)에 부착된 미생물에 대한 SEM image (Field Emission Scanning Electron Microscope. Hitachi, S-4300)를 찍었다

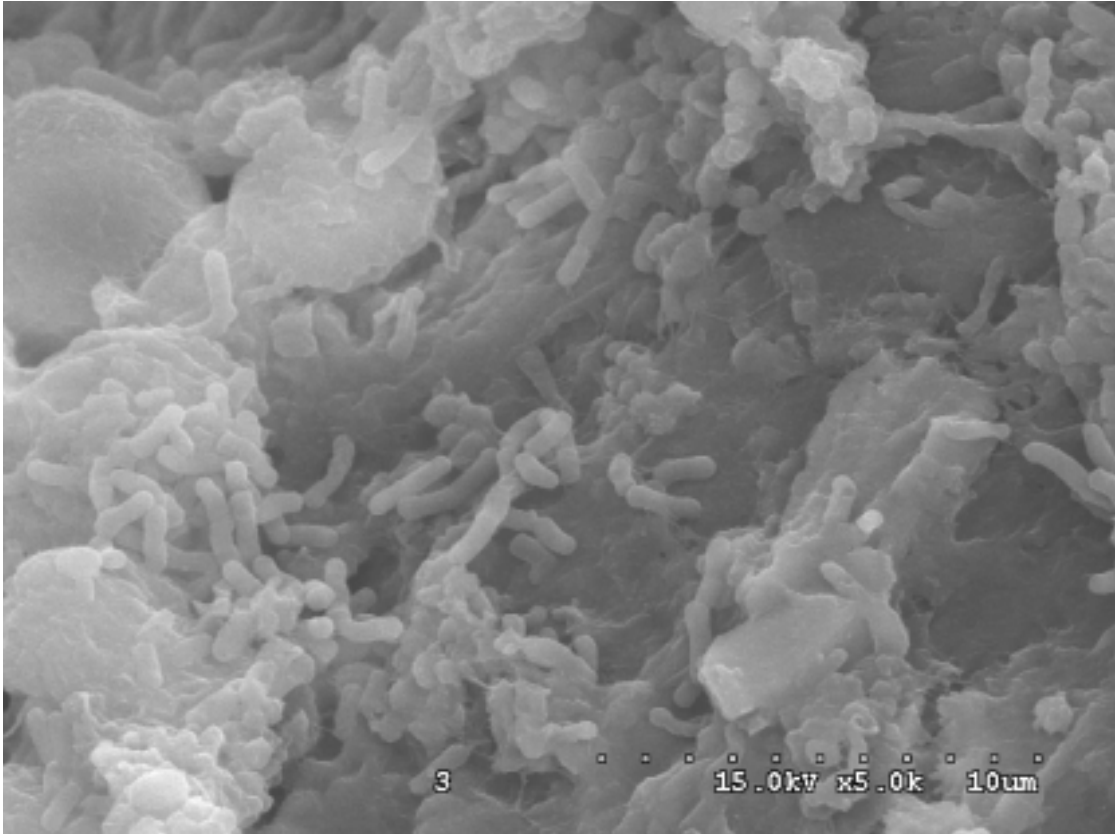


Fig. 2-75. SEM image of the surface of the rubber-media.

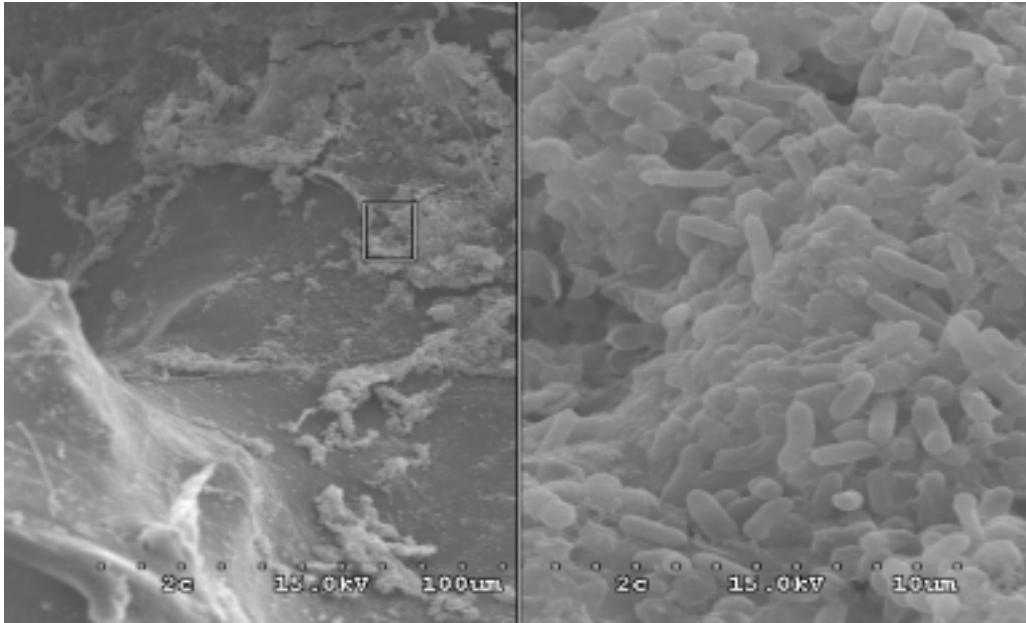


Fig. 2-76. SEM image of the section of the rubber-media made of granular waste-tire and EVA.

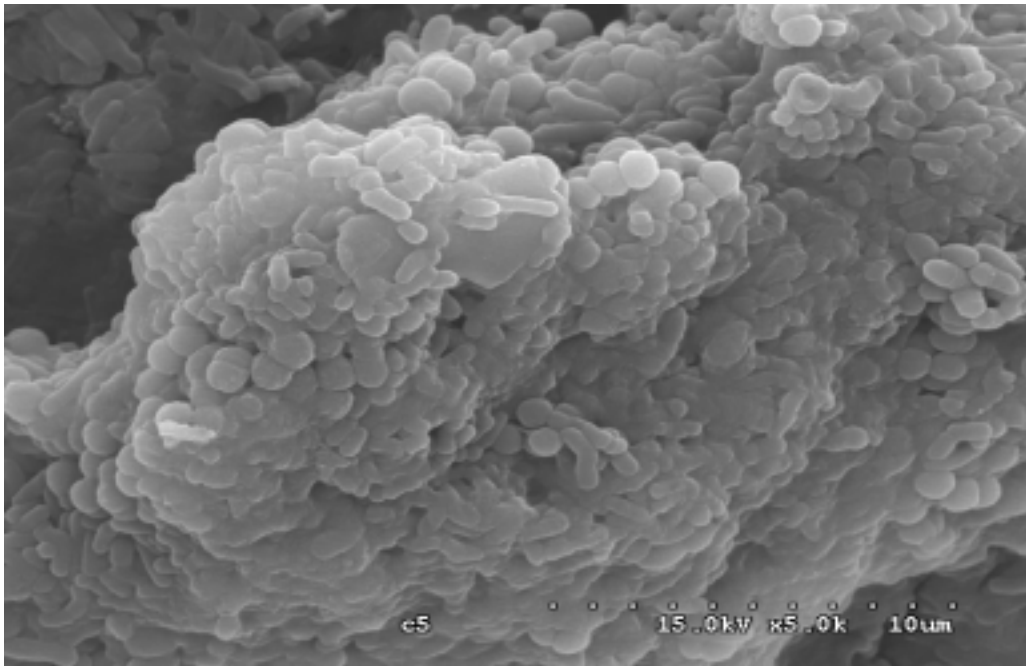


Fig. 2-77. SEM image of the surface of GAC.

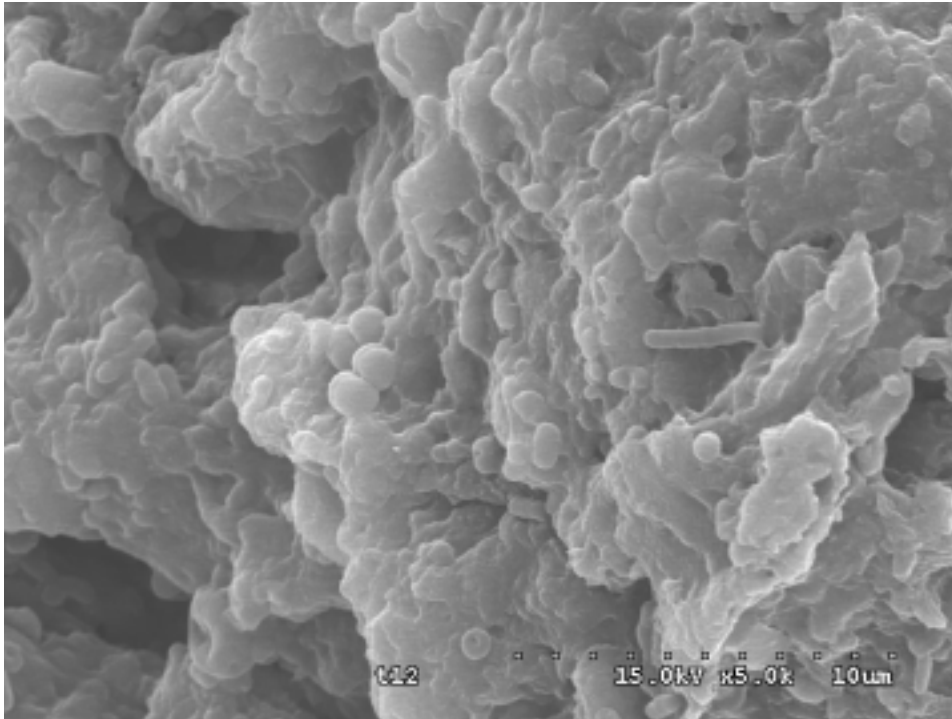


Fig. 2-78. SEM image of the surface of compost.

사. 결 론

1) Lab scale

가) Hybrid시스템A

Removal efficiency는 운전조건 VII단계까지는 거의 100%를 유지하다가 inlet load가 약 $100 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 VIII단계에서 약 60% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $130 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 당 hybrid시스템A의 control인 바이오필터A의 최대 elimination capacity가 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ (5.2.6.2.항 참조)이므로, 광촉매반응기를 결합한 hybrid시스템A에서 황화수소의 elimination capacity가 바이오필터A의 경우보다 약 36.8% 증가하였다.

나) 바이오필터A

Removal efficiency는 거의 100%를 유지하다가 inlet load가 약 $50 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 약 94% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $95 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

다) 바이오필터B

Removal efficiency는 거의 100%를 유지하다가 운전조건 5단계에서 inlet load가 약 $35 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 떨어지기 시작하여 약 80% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $55\text{--}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 페타이어담체/활성탄/compost가 적용된 암모니아제거실험(바이오필터B)의 경우에는 활성탄/compost가 적용된 황화수소 제거실험 (바이오필터A)의 경우와는 다르게 바이오필터실험에서 각 단계에서의 파괴곡선의 시간변화에 따른 거동이 현저하게 관찰되어서 각 바이오필터실험B에 적용한 페타이어담체의 암모니아에 대한 비교적 큰 흡착 capacity를 관찰할 수 있었다.

라) Hybrid시스템B:

Hybrid시스템B의 최대 elimination capacity 값은 약 $70 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로서 바이오필터B의 최대 값인 $55\text{--}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 보다 약 20%가 증가하였다.

마) 바이오필터C

페타이어담체, 입상 활성탄(GAC)과 compost를 각각 같은 부피로 혼합한 미생물담체를 사용하여 *Thiobacillus* sp. IW와 하수처리장의 반송슬러지를 고정화한 바이어필터의 운전결과 황화수소의 removal efficiency는 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와 비슷한 93%이었다. 마찬가지로 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와 비슷한 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 그러나 암모니아의 removal efficiency는 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우보다 훨씬 감소하여 약 53%를 유지하였다. 또한 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $23 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로서 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우의 약 $55\text{--}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 보다 훨씬 감소하였다.

2) Semi-pilot scale

가) Hybrid시스템D 및 바이오필터D

황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 약 $60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $37 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다. 또한 바이오필터D의 경우와 마찬가지로 표 2-9의 step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 80%에서 70%로 감소하였고 step6 및 7에서와 같이 황화수소농도를 계속 증가시켰을 때에 암모니아에 대한 removal efficiency는 65%로 다소 감소하였다. Semi-pilot scale 운전조건에서 hybrid시스템D의 황화수소와 암모니아에 대한 removal efficiency는 각각 약 83% 및 약 65% 정도이었다. 따라서 바이오필터D의 경우보다 황화수소 및 암모니아에 대한 removal efficiency는 약간 및 30% 정도 각각 증가하였다. 따

라서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다.

나) Hybrid시스템E 및 바이오필터E

같은 semi-pilot scale 운전조건에서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템E의 황화수소에 대한 removal efficiency는 거의 98%로서 바이오필터E의 경우 보다 약 5% 정도 개선되었고, 암모니아에 대한 removal efficiency는 70%로서 바이오필터E의 경우 보다 약 10% 증가하였다. Hybrid시스템 D와 비교할 때에 황화수소에 대한 제거율은 25% 정도만큼이나 개선되었고 암모니아에 대한 제거율은 약간 높은 수준이었다. Hybrid시스템 E에서 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 약 70 g/m³/h이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 40 g/m³/h이었다.

한편 바이오필터E의 경우는 바이오필터D의 경우보다 암모니아의 elimination capacity가 3-5 N-g/m³/h 정도 더욱 높았다. 한편 바이오필터E의 황화수소의 elimination capacity는 약 60 N-g/m³/h 정도로 바이오필터D의 경우보다 약 20% 증가하였다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발의 최종목표

본 연구에서는 퇴비화 공정중의 악취문제를 해소하기 위하여 돌연변이 또는 분리 및 동정을 통한 악취제거 미생물 균주 개발, 악취를 효과적으로 감소시킬 수 있는 바이오필터/광촉매 HYBRID 공정개발 등을 통한 효율적인 패키지형 악취제거 시스템을 확립함으로써 엄격한 악취규제에도 불구하고 지속적인 퇴비생산을 통한 환경친화적 농업이 가능하도록 방향을 설정하고자 한다.

제 2 절 연구평가의 착안점

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	척 도 (점수)
1차년도 (2003)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 황화수소(H₂S) 제거 미생물 돌연변이체 제조 ○ 바이오필터(인입농도) 암모니아:150ppm, 황화수소:10ppm EBCT=5sec ○ 악취미생물 ○ 악취제거미생물분리 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 돌연변이체 균주 획득여부 ○ 별도 제거율: 98%(암모니아) 98%(황화수소) ○ 회분식 배양에서 분리 미생물의 악취제거효율(90%)

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	척 도 (점수)
2차년도 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> ○우수한 황화수소 제거 돌연변이체 미생물 선발 ○바이오필터(인입농도)/광촉매공정 HYBRID시스템 암모니아:150ppm, 황화수소:10ppm EBCT(바이오필터)=5sec ○악취미생물 ○악취제거미생물의 악취제거특성 	<ul style="list-style-type: none"> ○우수한 돌연변이체 미생물 균주 획득 여부 ○동시처리제거율: 황화수소: 99% 암모니아: 99% ○회분식배양에서 악취제거시 생체유해물질 생성되지 않음(환경부 규정 허용기준치 이하) 회분식배양에서 악취제거시 2차오염물질 생성되지 않음(환경부 규정 허용기준치 이하)
3차년도 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> ○돌연변이체 균주의 황화수소 제거 조건 최적화 ○바이오필터(인입농도)/광촉매 HYBRID시스템 암모니아:150 ppm, 황화수소:10 ppm ○악취제거미생물의 동정 	<ul style="list-style-type: none"> ○돌연변이체 균주의 황화수소 처리 효율 최적화 ○PILOT PLANT에서의 동시처리제거효율:(풍량 5-10 m³/min) 황화수소: 99% 암모니아: 99% ○탄소원 소모에 의한 동정에서 유사성 80%이상

제 3 절 연구개발 목표의 달성도

1. 제 1차년도 :

제 1차년도의 연구에서는 계획한 연구목표를 완전히 달성하였다고 평가된다. 구체적인 목표달성 내용은 아래와 같다.

가. 악취제거 미생물의 돌연변이체 균주제조 :

- 1) 황화수소(H₂S) 제거미생물의 균주 수집 : 황화수소 분해균주와 그 변이주를 개발하고자

토양 등의 시료로부터 유사한 특성의 황 이용균 총 25주를 분리하고, 분리균들의 성장특성을 확인한 결과 *Thiobacillus thioparus* KCTC23753 (ACTC23645)와 생리학적으로 유사하면서도 평판배지상에서 배양속도가 아주 빠른 S3와 U21 두균주를 최종선별하였는데, biofilter 적용단계 이전까지의 기초적인 모든 실험에는 분리균주 U21을 공시균주로 사용하였다. 이 균주는 동정 결과 *Thiobacillus* sp. U21 균주로 최종 확인되었다.

- 2) 돌연변이원 처리를 통한 황화수소 제거미생물 돌연변이체 균주제조 : 분리공시균 U21로부터 변이주를 개발하고자 UV 처리법과 더불어 NTG와 nitrosoguanidine 처리법 등을 시도하였다. 그 결과 UV 처리를 통하여 120주 이상의 성장이 우수한 돌연변이 균주들을 수집할 수 있었고, 이러한 변이주들로부터 콜로니 크기가 모균주에 비하여 2배 이상 큰 U21a 돌연변이 균주를 성공적으로 개발하였다.
- 3) 돌연변이체 미생물의 황화수소(H₂S) 제거효과 조사 : 개발된 변이주 *Thiobacillus* sp. U21a에 대하여 3종의 황화합물을 에너지원으로 이용하면서 증식하는 능력을 배양온도, 배양 pH, 황화합물의 농도별로 분석한 결과, 모균주에 비하여 증식하는 속도가 2배 이상 증가되는 결과를 보였다.

나. 미생물담체 개발 :

- 1) 친수성 테스트 : 담체표면에 활성탄 또는 합성 칼슘 실리케이트 같은 흡착제가 도포되었을 때와 도포되어 있지 않을 때의 담체 표면의 친수성의 정도를 측정하기 위하여 시편 표면 위에 놓인 액적에 대한 평형 접촉각을 측정하여 친수성 테스트를 수행하였다. 접촉각 측정결과는 시편위에 활성탄이 도포된 경우 또는 어느 흡착제도 도포되지 않은 경우보다 약 15°C정도 낮아서 활성탄이 도포된 경우가 그렇지 않은 경우 보다 더욱 친수성을 보여주었다.
- 2) 미생물담체의 공극특성조사 : 미생물담체의 페타이어 및 EVA (Ethyl Vinyl Acetate)의 조성에 있어서 EVA가 적게 투입될수록 페타이어 분말 간의 공극이 커짐이 관찰되었다. 한편 바인더의 양이 페타이어 분말과의 혼합물에 미치는 물성변화의 실험결과는 페타이어분말과 EVA의 중량비가 4 대 1이 될 때가 인장강도가 최대이었다. 페타이어 대 EVA의 조성을 4 대 1까지 증가시켰을 때에 담체 내외부의 공극율은 0.74까지 증가하였다. 한편 내부공극율은 같은 조성의 페타이어담체의 경우에 0.14이었고 제오라이트를 포함한 페타이어담체의 경우는 0.24이었다.
- 3) 미생물 부착특성조사: 페타이어 표면과 흡착제의 접착성에 있어서 페타이어 담체 표면에 도포할 때에 합성 칼슘 실리케이트류는 육안으로 감지될 만큼 도포성이 활성탄에 비하여

떨어졌다. 이는 분말활성탄 및 합성칼슘 실리케이트 표면을 광학현미경으로 30배 확대하여 관찰한 경우에서와 같이 합성 칼슘 실리케이트의 표면이 활성탄에 비하여 매끄러운 것에 기인한다고 생각된다. 높은 농도의 질산화균을 유지하기 위하여서 질산화균이 효과적으로 고정되는 담체를 선정하는 것이 중요한데, 미생물이 부착되는 담체표면에 도포된 흡착제 표면의 거칠기 정도가 미생물 부착에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어서 표면이 거친 흡착제의 선정이 유리하다고 보고 되고 있다. 또한 친수성인 표면이 소수성의 표면보다 미생물흡착에 유리하다고 보고 되고 있다. 따라서 합성 칼슘 실리케이트보다 활성탄이 활성탄 중에서도 코코넛 활성탄의 표면이 가장 요철이 심하여 담체 표면에 도포시에, 활성탄기공 중에서 미생물이 부착되는 macro기공에 미생물의 부착이 용이할 것이라고 판단된다.

- 4) 제오라이트 충전담체와 미충진담체의 암모니아질소제거 특성비교: 양이온교환 능력을 가진 제오라이트를 충전한 페타이어담체가 미충진 페타이어담체 보다 암모니아질소제거 능력이 우수하리라는 예상을 가지고 얼마나 더욱 우수한지를 정량화하기 위하여 두 개의 상(기체 및 액체)이 아닌 하나의 상(액체)에서 암모니아 질소제거실험을 수행하였다.

다. 바이오필터시스템 구축 : 각각 1000 ppm의 황화수소(실험 A) 및 암모니아(실험 B) 분배에서 미량의 가스를 mass flow controller로 기체유량을 조정하여 mixing chamber에 주입하고 알맞은 각각의 농도로 희석하기 위하여 필요한 공기 유량을 blower로 역시 mixing chamber에 주입하였다. 각각의 운전조건에 맞는 농도의 황화수소 및 암모니아 가스는 바이오필터의 상부로 주입되어 바이오필터 A 및 바이오필터 B를 각각 통과하여 처리된다.

- 1) 황화수소제거 특성조사: 황화수소의 제거를 위하여 동부피의 활성탄과 compost를 미생물담체로 하여 *Thiobacillus* sp. IW를 고정화하여 여러 가지의 운전조건 하에서 바이오필터 A를 운전하였다. 바이오필터 A의 운전결과 황화수소에 대한 최대 elimination capacity는 $30 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 1차년도는 90% 이상의 황화수소를 제거하는 것이 연구목표이었으며, 본 연구에서 개발한 바이오필터 시스템에서 5초의 EBCT의 체류시간 하에서 황화수소(10ppm)의 별도제거율이 98%이었다.
- 2) 암모니아 제거특성조사: 암모니아의 제거를 위하여 동부피의 개발한 제오라이트 충전 페타이어담체와 compost를 미생물담체로 하고 하수처리장의 반송슬러지를 고정화한 바이오필터 B를 여러 가지의 운전조건 하에서 운전하였다. 바이오필터 B의 운전결과 암모니아에 대한 최대 elimination capacity는 $70 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 1차년도의 연구목표는 90% 이상이었으며, 본 연구의 바이오필터 시스템에서 5초의 EBCT의 체류시간 하에서 암모

니아(150ppm)의 별도제거율이 98%이었다.

- 3) 황화수소 및 암모니아 질소의 elimination capacity 및 inlet load 특성조사 : 황화수소 및 암모니아질소의 elimination capacity는 각각 10.1 S-g/m³/h 및 66.2 N-g/m³/h이었다.

라. 악취제거미생물의 개발 :

- 1) 악취제거미생물의 분리 : pH 7.0의 조건에서 황화수소, 메틸메르캡탄, 에틸메르캡탄의 제거능이 있는 미생물 11종류를 순수 분리하였으며, 이중 2개종은 황화수소의 제거효율이 80% 이상으로 나타났다. 한편 pH 4.0의 조건에서 유리황을 황산화물로 산화시키는 미생물 4종류도 별도로 순수 분리하였다. 또한 암모니아 제거 미생물 9종류도 순수 분리하였다.
- 2) 악취제거 system 구성 : 각종 특성조사와 악취원인물질 제거율 조사에 사용할 system 제작을 완료 하였다.
- 3) 분리미생물의 악취 제거 조사 및 미생물 선정 : 선발된 악취 제거 미생물 11종류에 대한 황화수소 제거실험에서 80% 이상의 제거효율을 보여준 DE-1132 및 DG-1082 두종류의 균주를 선정하고 이들에 대한 에틸멜캡탄과 메틸멜캡탄의 제거효율을 재조사하여 이들 2종류의 황화합물에 대하여서도 제거효능이 우수한 DG-1082 균주를 공시균으로 최종 선발하였다. 선발미생물의 회분식 성장곡선도와 온도에 따른 균주 성장능 및 황화수소 제거효율 조사를 완료하였다.

2. 제 2차년도 :

제 2차년도의 연구에서는 계획한 연구목표를 완전히 달성하였다고 평가된다. 구체적인 목표달성 내용은 아래와 같다.

가. 악취제거 미생물의 돌연변이체 균주제조 :

- 1) 돌연변이원 처리를 통한 황화수소 제거미생물 돌연변이체 균주제조 : 황화수소 돌연변이체 균주 제조에는 한국생명공학연구원 생물자원센터 (Korean Collection for Type Cultures, KCTC)로부터 수집한 *Thiobacillus thioparus* KCTC2753 균주 및 부산대학교에서 분양받은 *Thiobacillus* sp. IW 균주를 공시균으로 이용하였다.
- 2) 돌연변이체 미생물의 황화수소(H₂S) 제거효과 조사 : 개발된 변이주 UIW-10에 대하여 3

중의 황화합물을 에너지원으로 이용하면서 증식하는 능력을 배양온도, 배양 pH, 황화합물의 농도별로 분석한 결과, 모균주에 비하여 증식하는 속도가 2배 이상 증가되었다.

- 3) 황화수소(H₂S) 제거능력이 뛰어난 우수돌연변이체 균주의 최종선발 : 30종 이상의 우수 돌연변이체 균주 중에서 배양특성이 가장 우수한 *Thiobacillus* sp. UIW-10 균주를 최종적으로 선발하였다.
- 4) 선발된 돌연변이체 균주의 배양특성(배양온도, pH, 탄소원, 질소원, 미량원소 등)조사 : 선발된 돌연변이 균주(UIW-10)의 황화수소 제거효과에 미치는 yeast extract, peptone, tryptone 등과 같은 질소원의 영향을 조사하기 위해 sodium thiosulfate 배지에 각각의 질소원을 첨가한 후 균체성장률을 조사하였다. 또한 황화수소 제거효과에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위해 각각의 배지에 glucose, sucrose, fructose, maltose를 첨가한 후 황화수소 제거 효과를 조사하였다. 배양온도, pH, agitation speed 등과 같은 물리적 특성에 대하여서도 조사하였다.

나. 바이오필터/광촉매 Hybrid 시스템 실험 :

- 1) 바이오필터/광촉매 Hybrid 시스템 구축
- 2) 황화수소 제거특성조사 :
 - 같은 부피의 활성탄과 compost를 미생물담체로 하여 *Thiobacillus* sp. IW를 고정화하여 여러 가지의 운전조건 하에서 Hybrid 시스템을 운전하여 Hybrid 시스템의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 황화수소 제거특성을 관찰하였다.
 - 또한 이에 대한 control로서 같은 운전조건 하에서 바이오필터의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 황화수소 제거특성을 관찰하였다.
- 3) 암모니아 제거특성조사 :
 - 같은 부피의 페타이어 담체, 활성탄과 compost를 미생물 담체로 하여 하수처리장의 반송슬러지를 고정화하여 여러 가지의 운전조건 하에서 Hybrid 시스템을 운전하여 Hybrid 시스템의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 암모니아 제거특성을 관찰하였다.
 - 또한 이에 대한 control로서 같은 운전조건 하에서 바이오필터의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 암모니아 제거특성을 관찰하였다.
- 4) 황화수소와 암모니아 질소의 elimination capacity 對 inlet load 특성조사 :

상기 2) 및 3) 참조

5) 황화수소 및 암모니아 질소 혼합가스 제거특성 :

- 같은 부피의 페타이어 담체, 활성탄과 compost를 미생물담체로 하여 *Thiobacillus sp.* IW와 하수리처장의 반응슬러지를 고정화하여 여러 가지의 운전조건 하에서 Hybrid 시스템을 운전하여 Hybrid 시스템의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 황화수소와 암모니아의 혼합가스에 대한 제거특성을 관찰하였다.
- 또한 이에 대한 control로서 같은 운전조건 하에서 바이오필터의 exit을 포함한 4개의 sampling port 각각에서의 황화수소와 암모니아의 혼합가스에 대한 제거특성을 관찰하였다.

다. 악취제거미생물의 특성조사 :

- 1) pH에 따른 특성조사 : 1차년도 연구개발에서 분리한 DG-1082 균주를 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 pH를 각각 달리하여 배양한 결과 pH 7.0에서 미생물이 가장 많이 성장하였으며 배양시간 24시간에서 성장이 멈추었으며 pH 3.0과 pH 9.0에서는 세포성장이 힘들었다. 한편 1차년도 연구개발에서 분리한 YES-1153 균주의 경우 유리황 배지 대신에 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 배양하였더니 미생물성장이 잘 이루어졌다. pH 4.0에서 미생물이 가장 많이 성장하였으나 pH 3.0 이하에서는 미생물이 거의 성장되지 않았다.
- 2) 온도에 따른 특성조사 : DG-1082와 YES-1153 균주를 각각 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 반응온도를 각각 달리하여 실험한 결과 30~35℃ 범위에서 미생물의 성장이 양호하였으며 40℃ 이상의 온도에서는 두 균주 모두 세포성장이 둔화되었다. DG-1082와 YES-1153 균주의 온도특성에는 약간의 차이가 있어 보인다.
- 3) 산소조건에 따른 특성조사 : DG-1082와 YES-1153 균주를 각각 thiosulfate가 함유된 액체배지에 넣고 24시간 호기적 조건에서 배양한 다음 ultrasonic cleaner로 탈기한 다음 멸균된 실리콘마개로 막은 다음 무산소 조건으로 배양을 계속 한 것과 처음부터 계속 호기적 조건으로 배양한 것을 비교하여 보았더니 두 균주 모두 산소조건(호기,무산소)에 대한 영향이 미미한 것으로 나타났다.
- 4) 악취제거 미생물의 분리 : 토양으로부터 thiosulfate를 이용할 수 있는 독립영양균을 새로 분리하였으며 균주명을 AD-1247로 명명하였다.
- 5) 악취제거 미생물의 혼합배양 : YES-1153과 AD-1247 두 균주를 thiosulfate가 함유된 액

체배지에 넣고 혼합배양 한 결과 미생물들이 함께 잘 성장하였으며, 특히 pH에 대한 특성을 보면 pH 4.0 - 7.0의 넓은 범위에서 미생물들이 잘 성장되었으며, 특히 pH 6.0 - 7.0이 좋았다.

- 6) 주사전자현미경(SEM)에 의한 미생물 관찰 : DG-1082와 YES-1153 균주를 25,000배로 확대한 SEM 사진을 관찰할 때 DG-1082는 거의 구형이었으며, 특히 YES-1153은 DG-1082에 비해 크기가 훨씬 컸다. 한편 YES-1153과 AD-1247을 혼합배양한 10,000배의 SEM사진에 의하면 비교적 coinubation이 잘되었음을 볼 수 있으며 YES-1153은 크기가 큰 것에 비해 AD-1247은 크기가 비교적 작은 것으로 나타났다.

3. 제 3차년도 :

제 3차년도의 연구에서는 계획한 연구목표를 완전히 달성하였다고 평가된다. 구체적인 목표달성 내용은 아래와 같다.

가. 돌연변이체 미생물의 악취제거능 최적화 :

- 1) 선발된 돌연변이체 균주의 배양특성(배양온도, pH, 탄소원, 질소원, 미량원소 등)조사 : 변이주 *Thiobacillus* sp. UIW-6와 *Arthrobacter* sp. UDG-1082를 선발하여 황화수소 제거효과에 미치는 균주의 배양특성을 조사하였다. 변이주 UIW-6의 특성을 조사한 결과 최적조건은 pH 6.5, 배양온도는 35°C이었으며, 회전속도는 200 rpm 이었다. 황 화합물인 sodium thiosulfate 농도가 50 mM에서 변이주 UIW-6는 6시간째에 공시균주 IW보다 성장정도가 2배 더 빨랐다. 변이주 UIW-6의 성장 최적 탄소원은 fructose와 sucrose였으며 질소원은 yeast extract > tryptone > peptone 순으로 이용하였다. 또한 변이주 UIW-6의 성장은 0.2% yeast extract에서 증가하였다. 변이주 UDG-1082의 특성을 조사한 결과 최적조건은 pH 7.0, 배양온도는 35°C이었다. 황 화합물인 sodium thiosulfate 농도가 25 mM에서 성장이 잘 되었고 탄소원으로는 glucose와 maltose를 잘 이용하였다. 또한 질소원으로 yeast extract와 tryptone을 잘 이용하였으며 0.5-1.0% yeast extract 농도에서 성장이 잘 되었다.
- 2) 돌연변이체 균주의 환경독성 평가 : 변이주 UIW-6 자체 및 황화수소(H₂S) 제거시 생성될 수 있는 2차대사물질의 환경에 대한 위해성 평가를 실시하였다. 이를 위하여 어류에 대한 독성검사 및 배추, 콩, 양대, 무, 팔 등의 다양한 작물에 대한 종자발아 실험을 수행한 결과 변이주 UIW-6는 어독성 및 종자발아에 전혀 영향을 주지 않았다.
- 3) 돌연변이 균주들의 혼합배양 : *Thiobacillus* sp. UIW-6 와 *Arthrobacter* sp. DG-1082 변

이주들의 혼합배양을 통한 황화수소(H_2S) 제거효과를 극대화하였다. 그 결과 변이주 UIW-6와 UDG-1082을 각각 단독으로 배양한 것보다 혼합배양 하였을 때 성장이 잘 되었다. 최적 pH를 조사한 결과, 혼합배양 후 12시간째에는 pH 5.0에서 성장이 제일 잘 되었으며 24시간째에는 pH 4.0에서 pH 8.0까지 비교적 넓은 범위에서 세포가 잘 성장하였다. UIW-6와 UDG-1082을 30°C, 35°C에서 24시간 혼합배양한 결과 배양 후 4시간까지는 35°C에서 성장이 약간 높은 것으로 나타났지만, 이후에는 30°C에서 높은 성장을 보였다. 또한 50 mM sodium thiosulfate에서 성장이 가장 잘 되었고 질소원으로 tryptone 보다 yeast extract를 잘 이용하였다. 그리고 yeast extract의 농도가 0.5%에서 가장 양호한 성장정도를 보여주었다.

나. 바이오필터/광촉매 Hybrid 반응기 적정운전조건 구축 :

1) Lab scale

가) Hybrid시스템A

Removal efficiency는 운전조건 VII단계까지는 거의 100%를 유지하다가 inlet load가 약 $100 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 VIII단계에서 약 60% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $130 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 당 hybrid시스템A의 control인 바이오필터A의 최대 elimination capacity가 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이므로, 광촉매반응기를 결합한 hybrid시스템A에서 황화수소의 elimination capacity가 바이오필터A의 경우보다 약 36.8% 증가하였다.

나) 바이오필터A

Removal efficiency는 거의 100%를 유지하다가 inlet load가 약 $50 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 elimination capacity와 함께 떨어지기 시작하여 약 94% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $95 \text{ S-g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

다) 바이오필터B

Removal efficiency는 거의 100%를 유지하다가 운전조건 5단계에서 inlet load가 약 $35 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 를 초과할 때부터 떨어지기 시작하여 약 80% 수준을 유지하고 있음을 알 수가 있고 최대 elimination capacity 값은 약 $55\text{--}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 페타이어담체/활성탄/compost가 적용된 암모니아제거실험(바이오필터B)의 경우에는 활성탄/compost가 적용된 황화수소 제거실험 (바이오필터A)의 경우와는 다르게 바이오필터실험에서 각단에서의 파과곡선의 시간변화에 따른 거동이 현저하게 관찰되어서 각 바이오필터실험B에 적용한 페타이어담체의 암모니아에 대한 비교적 큰 흡착 capacity를 관찰할 수 있었다.

라) Hybrid시스템B

Hybrid시스템B의 최대 elimination capacity 값은 약 $70 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로서 바이오필터B의 최대 값인 $55\text{-}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 보다 약 20%가 증가하였다.

마) 바이오필터C

펩타이어담체, 입상 활성탄(GAC)과 compost를 각각 같은 부피로 혼합한 미생물담체를 사용하여 *Thiobacillus* sp. IW와 하수처리장의 반송슬러지를 고정화한 바이어필터의 운전결과 황화수소의 removal efficiency는 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와 비슷한 93%이었다. 마찬가지로 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 황화수소만을 포함한 폐가스의 처리 경우와 비슷한 약 $95 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 그러나 암모니아의 removal efficiency는 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우보다 훨씬 감소하여 약 53%를 유지하였다. 또한 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $23 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 로서 암모니아만을 포함한 폐가스의 처리 경우의 약 $55\text{-}60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 보다 훨씬 감소하였다.

2) Semi-pilot scale

가) Hybrid시스템D 및 바이오필터D

황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 약 $60 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $37 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다. 또한 바이오필터D의 경우와 마찬가지로 표 2-9의 step4 및 5에서 황화수소농도가 증가할 때 암모니아에 대한 removal efficiency는 80%에서 70%로 감소하였고 step6 및 7에서와 같이 황화수소농도를 계속 증가시켰을 때에 암모니아에 대한 removal efficiency는 65%로 다소 감소하였다. Semi-pilot scale 운전조건에서 hybrid시스템D의 황화수소와 암모니아에 대한 removal efficiency는 각각 약 83% 및 약 65% 정도이었다. 따라서 바이오필터D의 경우보다 황화수소 및 암모니아에 대한 removal efficiency는 약간 및 30% 정도 각각 증가하였다. 따라서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템D는 황화수소보다 암모니아의 제거효율 향상에 더욱 기여를 하였다.

나) Hybrid시스템E 및 바이오필터E

같은 semi-pilot scale 운전조건에서 UV/광촉매반응기를 前공정으로 추가한 hybrid시스템E의 황화수소에 대한 removal efficiency는 거의 98%로서 바이오필터E의 경우 보다 약 5% 정도 개선되었고, 암모니아에 대한 removal efficiency는 70%로서 바이오필터E의 경우 보다 약 10% 증가하였다. Hybrid시스템 D와 비교할 때에 황화수소에 대한 제거율은 25% 정도만큼이나 개선되었고 암모니아에 대한 제거율은 약간 높은 수준이었다. Hybrid시스템E

에서 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 황화수소의 최대 elimination capacity 값은 약 $70 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다. 한편 황화수소와 암모니아의 동시제거를 할 때에 암모니아의 최대 elimination capacity 값은 약 $40 \text{ g/m}^3/\text{h}$ 이었다.

다. 약취제거 미생물의 동정 :

- 1) 약취(암모니아)제거미생물의 특성조사 : 암모니아제거용 미생물 YCa-1214는 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 과 NH_4Cl 일 때 균체가 잘 성장되었으나, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24,4}\text{H}_2\text{O}$ 일 때는 균체가 거의 증식되지 않았다.

YCa-1214 균주를 Medium(I)의 배지(질소원 = $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)에 넣고 pH를 각각 달리하여 배양한 결과 초기 pH 7.0 일 때 균체 성장 속도가 가장 빨랐으며 pH 6.0-9.0에서 비슷한 성장곡선을 보였다. 그러나 pH 4.0과 5.0에서는 초기 24시간까지는 균체 성장이 거의 이루어지지 않았으나 그 후로는 성장이 급격하게 이루어졌다. 이는 초기 pH 4.0과 5.0에서 배양시간이 경과함에 따라 꾸준히 pH값이 증가하여 미생물 성장에 적절한 pH값에 도달하여 비로소 미생물 성장이 활발하게 이루어진 것으로 사료된다.

- 2) 주사전자현미경(SEM)에 의한 미생물 관찰 : 암모니아 제거용 YCa-1214 균주를 40,000배 확대한 SEM 사진을 관찰했을 때 간균 형태의 미생물임을 알 수 있었다.

- 3) 분리 미생물의 동정 : 분리된 약취제거 미생물의 16S rRNA 유전자를 이용하여 염기서열을 분석한 결과 DG-1082 균주는 *Arthrobacter* sp.와 염기상동성이 99%, YES-1153은 *Enterobacter*와 98%, YCa-1214 균주는 *Bacillus cereus*와 99%의 염기상동성(sequence homology)을 보였으므로 각각을 DG-1082는 *Arthrobacter* sp. DG-1082, YES-1153은 *Enterobacter* sp. YES-1153, YCa-1214는 *Bacillus cereus* YCa-1214로 명명하였다. 또한 *Arthrobacter* sp. DG-1082 균주를 이용하여 황화합물의 제거 및 질소원 및 탄소원에 대한 성장특성을 조사한 결과, DG-1082는 탄소원으로 glucose와 maltose를 잘 이용하는 것으로 나타나 이것은 기존에 알려진 *Arthrobacter* sp. 종의 성장특성과 유사하였다. 그리고 질소원으로는 yeast extract를 잘 이용하였으며 0.5% 농도에서 성장이 가장 높음을 알 수 있었다.

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

본 연구를 통하여 이루어진 연구개발 성과와 개발된 계분퇴비 생산공정의 악취제거를 위한 팩키지형 시스템의 활용방안은 아래와 같다.

1. 특허출원 : 대한민국 특허출원 제 10-2006-0027687
발명의 명칭: 광촉매산화, 혼합조 및 바이오필터로 조합된 하이브리드시스템 공정을 이용하여 휘발성 유기화합물 또는 악취가 포함된 공정폐가스를 안전하고 효율적으로 처리하기 위한 방법 및 장치
2. 신승용, 강선철 "황산화 세균 *Thiobacillus* sp. UIW-6 변이주의 성장 최적화" 한국환경농학회지 52(2): 124-128 (2006).
3. 강선철, 임광희, 김창화 "황화수소(H₂S) 제거 미생물의 돌연변이체 제조" 2005년도 한국응용생명화학회 춘계학술대회, pp. 154 (2005).
4. Chang-Hwa Kim, Kwang-Hee Lim and Sun-Chul Kang "Development of Mutants of *Thiobacillus* sp. U21a for elimination of hydrogen sulfide" 2004년도 한국생물공학회 춘계학술대회, pp. 294-296 (2004).
5. 강선철, 임동준, 신승용 "*Thiobacillus* sp. UIW-6와 USY-7 변이주의 혼합배양" 2006년도 한국환경농학회 학술대회, pp. 187 (2006).
6. 강선철, 신승용 "*Thiobacillus* sp. UIW-6 변이주의 환경독성 평가" 2006년도 한국환경농학회 학술대회, pp. 206 (2006).
7. 임광희, 박상원 "Hybrid시스템을 활용한 황화수소를 함유한 폐가스의 처리" *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 한국화학공학회 발표 10(2), 587-590 (2004).
8. 임광희, Wang Zhi Ping "바이오필터를 활용한 폐가스에 함유된 황화수소와 암모니아의 동시처리" *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 한국화학공학회 발표 10(2), 567-570 (2004).

9. 임광희, 박상원 "폐가스에서 황화수소제거를 위한 바이오필터/광촉매반응기 시스템의 활용" 응용화학, 9(1), 한국공업화학회 발표 241-244 (2005).
10. 임광희, Wang Zhi Ping "바이오필터를 이용한 황화수소와 암모니아를 동시함유한 폐가스의 처리" 응용화학, 9(1), 한국공업화학회 발표 213-216 (2005).
11. 임광희, 박상원, 이은주 "바이오필터시스템의 semi-pilot scale 운전조건하의 폐가스의 황화수소 및 암모니아의 동시처리" *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 한국화학공학회 발표 12(1), 528-531 (2006).
12. 임광희, 박상원, 이은주 "Semi-pilot scale의 UV/광촉매반응기/바이오필터 하이브리드 시스템을 활용한 악취가스에서의 황화수소 및 암모니아의 동시제거" *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 한국화학공학회 발표 12(1), 524-527 (2006).
13. 분리된 다양한 악취제거 미생물은 악취제거를 위한 바이오필터/광촉매반응기 시스템에 활용할 수 있다.
14. UV를 처리하여 선발된 돌연변이주의 성장속도는 악취제거 미생물에 비해서 2배나 빠르기 때문에 바이오필터 내부에 충전된 고체수지에서도 균의 확산이 쉽고 빨라 균의 생존율뿐만 아니라 바이오필터의 효율을 증가시킬 수 있다.
15. 돌연변이주의 혼합배양은 단독으로 배양할 때보다 균의 성장 속도가 더 빠른 것으로 확인된 바 황화수소제거를 위한 바이오필터/광촉매반응기 시스템에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.
16. 당해 기술은 공공시설물에서 배출되는 황화수소 및 암모니아 등과 같은 폐가스의 처리에도 적용할 수가 있다.
17. 축분퇴비공장에서 축분퇴비의 생산공정에서 발생하는 악취문제가 해결되면 축분퇴비공장이 더욱 많이 신설되고 농토의 지력향상을 통한 농가의 소득증대, 생산성향상을 가져올 수 있다.
18. 실용화된 기술은 참여기업 및 관련기업에 기술 이전하여 산업화하고자 하며 기술이전 시 기술료를 징수할 수 있다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

최근 이 분야의 연구가 미국, 일본, 유럽 등 선진국을 중심으로 활발히 연구되고 있음.

제 7 장 참고문헌

1. 김기연, 최홍립 (2001), *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)*, 43(6), 1005-1018.
2. 남상일, 김창일, 이재호, 정준희, 최용삼 (2001), 한국농업기계학회 2001년 동계학술대회, 387-392.
3. 박상진, 서정석 (2000), *J. Korean Solid Waste Engineering Society*, 17(3), 243-251.
4. 임광희, 정용준, 박이순, 민경석 (2001), *HWAHAK KONGHAK*, 39(5), 600-606.
5. 임광희, 박상원, 김지은, 임무현, 홍수현 (2004), *화학공학의 이론과 응용*, 10(2), 1632-1635.
6. 임광희, 김지은, 박상원, 임무현, 홍수현 (2004), *화학공학의 이론과 응용*, 10(2), 1636-1639.
7. 임광희, 박상원 (2005), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 11(1), 587-590.
8. 임광희, 박상원 (2005), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 11(1), 571-574.
9. 임광희, 박상원 (2005), 폐가스에서 황화수소제거를 위한 바이오필터/광촉매반응기 시스템의 활용, *응용화학*, 9(1), 241-244.
10. 임광희, Wang Zhi Ping (2005) 바이오필터를 이용한 황화수소와 암모니아를 동시함유한 폐가스의 처리, *응용화학*, 9(1), 213-216.
11. 임광희, Wang Zhi Ping (2005), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 11(1), 567-570.
12. 임광희, Wang Zhi Ping (2005), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 11(1), 575-578.
13. 임광희, 박상원, 이은주 (2006), 한국화학공학회 2006년도 봄학술대회, 288.
14. 임광희, 박상원, 이은주 (2006), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 12(1), 528-531.
15. 임광희, 박상원, 이은주 (2006), *Theories and Applications of Chem. Eng.*, 12(1), 524-527.
16. 정윤진 (1999), *대한상하수도학회지*, 13(1), 43-50.
17. 특허출원번호 10-2005-0039204(발명의 명칭: 대기 또는 폐가스에 포함된 휘발성 유기화합물 또는 악취를 효율적으로 제거하기 위한 광촉매반응기와 바이오필터로 조합된 하이브리드시스템 공정; 출원인: 임광희)
18. 특허출원번호 10-2005-0039206(발명의 명칭: 휘발성 유기화합물 또는 악취를 효율적으로 제거하기 위한 관형의 광촉매반응기와 바이오필터로 조합된 하이브리드시스템공정; 출원인: 임광희)
19. 특허출원번호 10-2006-0027687(발명의 명칭: 광촉매산화, 혼합조 및 바이오필터로 조합된 하이브리드시스템공정을 이용하여 휘발성 유기화합물 또는 악취가 포함된 공정폐가스를 안전하고 효율적으로 처리하기 위한 방법 및 장치; 출원인: 임광희)

20. 특허출원번호 10-2006-0032543(발명의 명칭: 광촉매반응기, 유동상 호기 및 혐기조 및 바이오필터로 조합된 하이브리드시스템공정을 이용하여 악취폐가스를 효율적으로 처리하기 위한 방법 및 장치: 출원인: 임광희)
21. Amma, P. B., Itoh, K. and Murabayashi, M. (2001), *Journal of Molecular Catalysts A: Chemical*, 176, 165-172.
22. APHA, 1992. American Public Health Association, Standard Method: Examination of Water and Wastewater, 18th ed. APHA, New York.
23. Cho, J.-H., Kim, Y.-H., Lee, Y.-W. and Lee, W.-K., 1998. *J. of KSEE*, 20, 443.
24. Cho, K.S., Hirai, M. and Shoda, M., 1991. Removal of dimethyl sulfide by the peat seeded with night soil sludge. *J. Fermentation Bioeng.* 71, pp. 289 - 291.
25. Choung, Y.-K., 1985. KOSEF Report, 853-1304-004-1.
26. Chris, E., Chris, Q., Peter, B., Jay, W. and Dirk, A., 2005. *Chemical Engineering Journal*, 113, 93-104.
27. Chung, J.-C., 1994. *J. of KSEE*, 16, 589.
28. Chung, Y.C., Huang, C., Pan, J.R. and Tseng, C.P., 1998. Advanced study of H₂S removal by *Thiobacillus novellus* CH3 biofilter in autotrophic and mixotrophic environments. *J. Environ. Eng.-ASCE* 124, pp. 362 - 367.
29. Chung, Y.C., Huang, C. and Tseng, C.P., 1996. Reduction of H₂S/NH₃ production from pig feces by controlling environmental conditions. *J. Environ. Sci. Health A* 31, pp. 139 - 155.
30. 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, pp. 773 - 778.
31. Chung, Y.C., Huang, C. and Tseng, C.P., 1996. Operation optimization of *Thiobacillus thioparus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal. *J. Biotechnol.* 52, pp. 31 - 38.
32. Chung, Y.C., Huang, C., Tseng, C.P. and Pan, J.R., 2000. Biotreatment of H₂S- and NH₃-containing waste gases by co-immobilized cells biofilter. *Chemosphere* 41, pp. 329 - 336.
33. Dubinin, M. M., 1980. *CARBON*, 18, 355.
34. Eikum, A.S., Storhang, R., 1986. Odour Prevention and Control of Organic Sludge and Livestock Farming. Elsevier, London, pp. 12 - 18.
35. Hashiki, K. and Furukawa, S., 1985. Proc. of the 22nd symposium on sewerage and sewage treatment, Jun., Fukuoka, 259.
36. Hennezel, D., Pichat O. P. and Ollis D. F., 1998. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 118, 197-204
37. Hirai, M., Ohtake, M. and Shoda, M., 1990. Removal kinetic of hydrogen sulphide,

- methanethiol and dimethyl sulphide by peat biofilters. *J. Fermentation Bioeng.* 70, pp. 334 - 339.
38. James T. Staley, Marvin P. Baryant, Norbert P., John G. Holt., 1989. Bergy's manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, London.
 39. Jan Gasiorek., 1994. Microbial removal of sulfur dioxide from a gas stream, *Fuel Processing Technology*, 40, pp. 129-138
 40. Jörg Wehner and Gerda Horneck., 1995. Effects of vacuum UV and UVC radiation on dry Escherichia coli plasmid pUC19 II. Mutational specificity at the lacZ gene, *J. Photochem. and Photobiol. B: Biology*, 30, pp. 171-177.
 41. Kazutaka, K., Takashi, O., Mitihiro, Y., Akane, K., Takako, N., Sigenori, M. and Tomoko, N., 1996. *Bioresource Technology*, 56, 265-271.
 42. Korea resources recovery & reutilization cooperation, 1999. "Waste recycling statistics(II): the current status on the generation of waste tire and its recycling".
 43. Lee, T. J., Kweon, O.-Y. and An, S. J., 2000. *J. of KSEE*, 22, 16101.
 44. Leson, G. and Winer, A.M., 1991. Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emission. *J. Air Waste Management Assoc.* 41, pp. 1045 - 1054.
 45. Lim, K. H., Park, S. W., 2004. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 21(6), 1161-1167.
 46. Lim, K. H., Park, S. W. and Lee, E. J., 2005. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 22(6), 922-926.
 47. Lim, K. H., Park, S. W., Lee, E. J. and Hong, S. H., 2005. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 22(1), 70-79.
 48. Lim, K. H., Wang, Z. P., Lim, D. J. and Lee, E. J., 2005. Utilization of biofilter/photo-catalytic reactor system for the simultaneous treatment of hydrogen sulfide and toluene from waste-air, *생물공학의 동향(XVI), 한국생물공학회*, 287-292.
 49. Luo, Y. and Ollis, D. F., 1996. *Journal of Catalyst*, 163, 1-11.
 50. Obee, T. N. and Brown, R. T., 1995. *Journal of Environmental Science and Technology*, 29, 1223-1231.
 51. Park, Y.-S., Suh, J.-H. and Song, S.-K., 1997. *J. of the Korean Environmental Science Society*, 6, 689.
 52. Ramiro, G. M. and Danny, L. R., 2005. *Bioresource Technology*, In press
 53. Sato, C., Schnoor, J., L, McDonald, D.B and Huey, J., 1985. Test medium for the growth of *N. europaea*. *Appl. Environ. Microbiol.* 32, pp. 1101 - 1107.
 54. Schedel, M. and Truper, H.G., 1980. Anaerobic oxidation of thiosulfate and elemental sulfur in *Thiobacillus denitrifans*. *Arch. Microbiol.* 2 - 3, pp. 205 - 210.
 55. Shang, J., Du, Y. and Xu, Z., 2002. *Chemosphere*, 46, 93-99.

56. Shareefdeen, Z., Herner, B., Webb, D., Verhaeghe, L. and Wilson, S., 2005. *Chemical Engineering Journal*, 113, 215-220.
57. Shinabe, K., Oketani, S., Ochi, T. and Matsumura, M., 1980. Characteristics of hydrogen sulfide removal by *Thiobacillus thiooxidans* KS1 isolated from a carrier-packed biological deodorization system. *J. Fermentation Bioeng.* 80, pp. 592 - 598.
58. Tiwaree, R.S., Cho, K.S., Hirai, M. and Shoda, M., 1992. Biological deodorization of dimethyl sulfide using different fabrics as the carriers of microorganisms. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 32, pp. 135 - 148.
59. Wang, K., Tsai, H. and Hsieh, Y., 1998. *Chemosphere*, 36, 2763-2773.
60. Yang, Y. and Allen, E.R., 1994. Biofiltration control of hydrogen sulfide. design and operational parameters 1 design and operational parameters. *J. Air Waste Management Assoc.* 44, pp. 863 - 868.
61. Ying-Chien Chung, Chihpin Huang, Ching-Ping Tseng, 2000. Biological elimination of H₂S and NH₃ from wastegases by biofilter packed immobilized heterotrophic bacteria. *Chemosphere* 43, 1043-1050.
62. Zhao, J. and Yang, X., 2003. *Building and Environment*, 38, 645-654.