Korean Chem. Eng. Res., Vol. 47, No. 6, December, 2009, pp. 788-794

악취제거를 위하여 분리한 황화합물 산화균주의 배양특성

임동준† · 임광희*,†

영남대학교 디스플레이화학공학부
712-749 경북 경산시 대동 214-1
*대구대학교 화학공학과
712-714 경북 경산시 진량읍 내리리 15
(2009년 10월 27일 접수, 2009년 11월 10일 채택)

Characteristics on the Incubation of Sulfur Compound-Oxidizing Strains Separated for the Removal of Malodor

Dong Joon Lim† and Kwang-Hee Lim*,†

School of Display & Chemical Engineering, Yeungnam University, 214-1 Daedong, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-749, Korea
**Department of Chemical Engineering, Daegu University, 15 Naeriri, Jillyang-eup, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-714, Korea*
(Received 27 October 2009; accepted 10 November 2009)

요 약

황화수소 및 메틸머캡탄(CH_3SH) 또는 DMS(CH_3SCH_3)와 같은 황화합물들의 악취를 효율적으로 처리하기 위하여 축분으로 오염된 토양으로부터 sodium thiosulfate 또는 유리황과 같은 기질을 이용하여 미생물의 분리 및 동정을 하고 분리된 미생물들의 여러 가지 pH, 배양온도, 산소조건, 기질(황화합물) 농도, 질소원 및 탄소원의 농도 및 배양기 교반속도 등의 배양조건 하에서의 배양특성을 관찰하고 적정배양조건을 구축하였다. KD-1212와 DAH-1056 균주의 최적 pH는 각각 7.0 및 4.0이었으며 최적배양온도는 30~35 ºC 범위였다. 또한 독립영양미생물인 ED-1138 균주를 다른 오염된 토양에서 분리하였다. 균주를 고정한 바이오필터의 악취처리에 있어서 균주 DAH-1056이 기존 균주 *Thiobacillus sp.* IW보다 황화수소 제거능이 우수하였다. KD-1212 균주를 이용하여 황화합물의 농도 및 질소원 및 탄소원에 대한 성장특성을 조사한 결과, KD-1212는 sodium thiosulfate의 25 mM 농도에서 성장이 가장 잘되었고, 탄소원으로는 glucose와 maltose를 잘 이용하는 것으로 나타났다. 그리고 질소원으로는 yeast extract를 잘 이용하였으며 0.5% 농도에서 성장이 가장 잘 되었다.

Abstract – Both strains of KD-1212 and DAH-1056 were isolated and identified from animal manure-contaminated soil by screening bacterial strains for the removal of sulfur compound-malodor with such substrate as sodium thiosulfate or free sulfur. Then the characteristics on the incubation of these microbes were observed under various incubating-condition such as pH, temperature, aerobic or anaerobic, substrate(sulfur compound) concentration, nitrogen and carbon source and rotating speed for mixing, and the optimum incubating condition was established. The optimum pHs of KD-1212 and DAH-1056 were 7.0 and 4.0, respectively, and their optimum temperatures were in the range of 30~35 °C. Another autotrophic strain, ED-1138, was isolated from contaminated soil. The strain DAH-1056 excelled a strain *Thiobacillus sp.* IW in eliminating hydrogen sulfide during the process of malodor-biofiltration with a fixed strain. The characteristics on the incubation of strain KD-1212 were observed under various substrate-concentrations, nitrogen and carbon sources. KD-1212 favored glucose and maltose, and yeast extract as carbon sources and nitrogen source, respectively. The optimum concentrations of substrate and nitrogen source were 25 mM of sodium thiosulfate and 0.5% yeast extract, respectively for the growth of strain KD-1212.

Key words: Sulfur Compound-Oxidizing Strains, Isolation, Identification, Malodor, Hydrogen Sulfide, Incubation Characteristics

1. 서 론

황화수소는 석유정제, 펄프 및 제지, 식품공정 등과 같은 산업설비뿐만 아니라 공공처리시설(POTWs)에서도 흔히 배출된다. 황화수소는 공기보다 무겁고 무색이며 독성 및 가연성이 있으며 최소감지농도는 0.47 ppbv이다[1]. 황화수소는 약 8 ppbv 정도의 낮은 농도에서 불쾌감을 주는 악취를 유발하고 하수시스템에서 부식문제를 야기한다[2]. 황화수소는 일반적으로 차아염소산 또는 과산화물 스크러버를 사용하여 처리하나, 이러한 화학적 스크러버와 같은 물리화학적 방법은 상대적으로 높은 에너지비용 또는 비싼 화

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: djlim@yumail.ac.kr and khlim@daegu.ac.kr

학적인 처리비용 때문에 운전비용이 높다. 따라서 바이오필터와 같은 생물학적 처리는 황화수소를 포함한 폐가스를 처리하는 경제적인 대안으로서 부상하고 있다[1]. 일반적으로 바이오필터는 폐가스에 함유된 악취오염원의 제거에 뛰어나다고 보고되고 있다[1-14]. 또한 생물학적 폐가스처리공정은 낮은 농도의 오염원을 함유한 다량의 기류를 처리하기 위한 경제적으로 효과적인 방법이다[15-19]. 황화수소는 호기 및 혐기성 미생물에 의하여 처리될 수 있다. 황화수소 처리에 있어서 호기미생물의 경우에는 HS^- 이온과 유리황이 각각 무취의 유리황과 SO_4^{-2} 이온으로 산화처리되어 미생물이 필요한 에너지를 공급한다. 또한 황화수소를 포함한 폐가스의 처리를 위한 바이오필터 공정에서 중요한 인자 중의 하나는 미생물담체에 고정화할 미생물의 선정으로서 황산화박테리아는 *Thiobacillus*와 filamentous 황박테리아 등이 있는데 *Thiobacillus*는 산성 pH에서 최적활성을 보이며 강산성조건에서도 성장과 물질대사를 할 수가 있다고 알려져 있다[5]. 황화수소 분해 호기성균주 중에서 *Thiobacillus* 속 균주는 화학합성종속영양미생물보다 영양소가 적게 요구되고, 특히 *Thiobacillus* 속 화학무기합성독립영양미생물은 초기 lag phase 기간이 없거나 더 짧으며 더 높은 황화수소 제거효율을 보인다[1,20]. 그러나 낮은 농도의 황화수소 제거에 있어서 *Pseudomonas putida* CH11과 같은 종속영양 황산화미생물은 독립영양미생물인 *Thiobacillus thioparus* CH11보다 더 우수하였고[10, 11], 한편 높은 농도의 황화수소는 *Pseudomonas putida* CH11과 같은 종속영양 황산화미생물의 성장을 저해하므로 황산화능력이 제한된다고 보고되었다[12]. 본 연구에서는 악취원인 물질을 제거할 수 있는 미생물로서 독립영양 또는 종속영양 미생물 모두에 대한 가능성을 가지고 황화수소 또는 황화합물의 악취를 효율적으로 처리하기 위하여 sodium thiosulfate 또는 유리황을 기질로 하는 미생물의 분리 및 동정을 하고, 분리된 미생물들의 여러 가지 pH, 배양온도, 산소조건, 기질(황화합물) 농도, 질소원 및 탄소원의 농도 및 배양기 회전속도 등의 배양조건 하에서의 배양특성을 관찰하고 적정배양조건을 구축하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2-1. 시료채취 및 사용배지

악취제거 미생물의 분리를 위해 여러 지역의 축분으로 오염된 토양들을 시료로서 채취하였다. 악취제거미생물은 각각의 종에 따라 수소이온농도에 대한 활성영역이 다르며, 특히 산성 조건에서 황산화물을 제거하는 미생물이 다수 보고됨에 따라 황산화물을 제거하는 미생물 분리 및 배양과정에서 사용배지의 pH 조건을 중성과 산성으로 나누어 실험을 진행하였다. 악취원인물질을 제거하는 미생물 분리를 위한 사용배지조성은 Table 1과 같다.

2-2. 황화합물 제거미생물의 순수분리

황화합물 제거를 목표로 하여 악취제거 미생물의 분리에 대한 연구를 수행하기 위하여 오염된 토양에서 샘플을 채취하여 Table 1과 같은 액체배지에 1.5% agar를 첨가하여 121 ºC에서 15분간 가압 멸균하여 제조한 적정고체배지에 도말 후 30 ºC 조건의 배양기에서 배양하였다. 배양 후 출현한 콜로니 중에서 가장 빠르게 성장한 것을 골라 계대배양을 하여서 황화합물 제거 미생물의 분리를 수행하였다.

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

Medium	Composition	Content (g/L)
Medium (1) pH 7.0	KH_2PO_4	2.0
	K_2HPO_4	2.0
	NH_4Cl	0.4
	$MgCl_2$	0.2
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01
	$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	8.0
	Yeast extract	2.0
Medium (2) pH 4.0	KH_2PO_4	3.0
	NH_4Cl	0.1
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01
	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.3
	S^0	10.0

2-3. 황화합물 제거미생물의 특성조사

분리한 황화합물 제거 균주들을 Table 1에서의 thiosulfate가 함유된 medium(1) 배지에 넣고 pH와 온도, 산소조건 및 교반속도 등에 따른 황화합물 제거균주의 배양특성을 조사하였다. 유리황이 포함된 medium(2) 배지를 활용하여 분리한 균주의 경우도 배지상의 균주성장특성을 정확하게 관찰하기 위하여, 배지의 멸균조작의 열로 인해 콜로이드 상의 황입자들이 서로 엉기는 유리황 대신에 thiosulfate로 대체된 medium(1) 배지를 사용하여 미생물을 배양하였다. Medium(1) 배지의 초기 pH, 온도, 산소조건 및 교반속도의 control은 각각 7, 30 ºC, 호기조건 및 200 rpm이며, medium(1) 배지의 pH 7이 아닌 다른 초기 pH로의 변경은 0.1 M HCl과 0.1 M NaOH를 사용하여 수행하였다. 산소조건에 따른 황화합물 제거균주의 배양특성을 조사하기 위하여 thiosulfate를 함유한 medium(1)에 황화합물 제거균주를 96시간 호기적 조건과 무산소 조건으로 각각 배양하여 비교하였다. 실험방법은 먼저 500 ml 삼각플라스크를 실리스토프로 막고 호기적 조건에서 30 ºC에서 24시간 배양하였다. 호기적 배양은 같은 조건 하에서 72시간 계속 배양하였고, 반면에 무산소 배양은 24시간 호기적 조건에서 배양한 배양액을 초음파세척기로 탈기한 후 멸균된 실리콘 마개로 막고 72시간 30 ºC에서 계속 배양하였다. 한편 yeast extract, peptone, tryptone 등과 같은 질소원 및 glucose, sucrose, fructose, maltose와 같은 탄소원을 첨가한 다음 황화합물 제거 균주들의 배양특성을 조사하였다. 또한 분리한 황화합물 제거 군주들의 혼합배양 시의 적정 pH 조건을 구하기 위하여 여러 pH 조건에서 혼합 배양하였다.

2-4. 분석방법

Medium(1) 배지에서 배양 중인 균주의 성장도측정을 위하여 측정시간마다 배양액 1 ml를 채취한 후에 UV-visible spectrophotometer (Shimazu, UV-1601PC)를 사용하여 660 nm 파장에서 흡광도를 측정하였고, 측정된 흡광도를 균주농도로 간주하였다. 또한 황화물 제거균주가 medium(1) 배지의 thiosulfate를 산화시켜서 발생한 황산이온(SO_4^{-2}) 농도는 이온 크로마토그라프(인성크로마텍, DX-120)를 이용하여 측정하였다.

2-5. 분리균주의 관찰 및 동정

주사전자현미경(SEM)(Hitachi, S-4300)을 사용하여 분리한 황화합물 제거 균주의 형태를 관찰하고, 분리균주들의 16S rRNA 유전

자를 분석한 다음 NCBI에서 제공되는 BLAST를 사용하여 분리된 악취제거 미생물을 동정하였다.

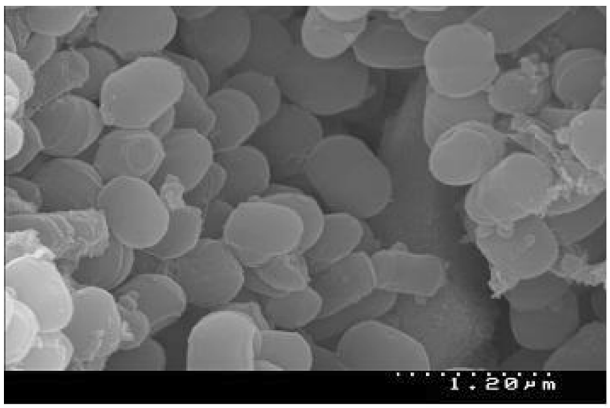
3. 결과 및 토론

3-1. 황화합물 제거균주의 분리

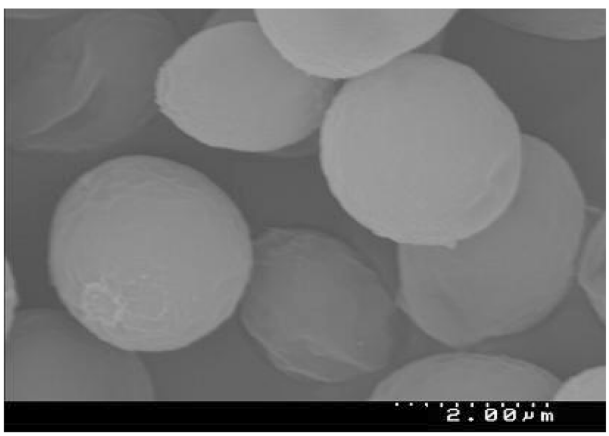
황화합물 균주로서 균주 KD-1212와 ED-1138을 Table 1의 medium(1) 배지를 사용하여, 균주 DAH-1056을 Table 1의 medium(2) 배지를 사용하여 각각 순수분리하였다. KD-1212를 medium(1) 배지에서 84시간 현탁 배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 SEM으로 관찰한 사진을 Fig. 1에 나타내었다. 이 미생물은 거의 구형에 가까우며, cell debris도 부분적으로 관찰되었다. 또한 DAH-1056을 medium(1) 배지에서 84시간 현탁 배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과사진을 Fig. 1b에 나타내었다. 이 SEM 결과로서 KD-1212는 크기가 약 0.4~0.6 μm로서 크기가 약 2 μm인 DAH-1056보다 월등히 작은 것을 관찰할 수 있다.

3-2. 황화합물 제거균주의 pH에 따른 성장특성

KD-1212를 medium(1) 배지에 접종하여 30 ºC, 다양한 pH에서 미생물의 성장곡선을 결정하여 Fig. 2(a)에 나타내었다. 배지의 초기 pH 값이 6.0~8.0 범위에서 미생물의 성장속도가 빨랐으며 pH 5.0과 pH 9.0에서는 미생물의 성장속도가 느렸다. 그러나 배양시



(a)



(b)

Fig. 1. Scanning electron micrograph of the strain: (a) KD-1212; (b) DAH-1056.

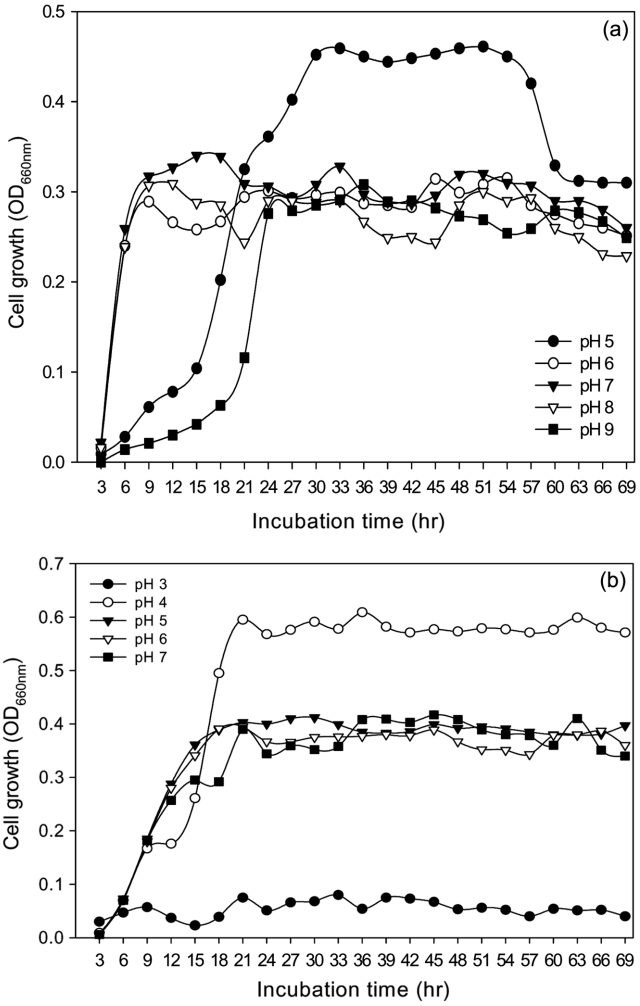


Fig. 2. Cell growth curves at various pHs: (a) KD-1212; (b) DAH-1056.

간이 21시간으로 되었을 때는 pH 5.0에서도 미생물이 많이 성장하는 것을 볼 수 있는데 이것은 시간이 경과함에 따라 미생물이 산성조건에 적응을 한 것에 기인한 것으로 사료된다. 초기 pH 값이 7일 때 18시간 경과시 균주농도가 최대치를 보였으며 그 이후에는 조금 감소하였으나 66시간까지는 균주농도의 값이 큰 변화가 없었다. DAH-1056 균주를 medium(1) 배지에 접종하여 30 ºC, 다양한 pH에서 시간에 따른 미생물의 성장곡선을 결정하여 Fig. 2(b)에 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 균주농도는 거의 변화가 없었다. 이상의 결과는 황을 이용하는 DAH-1056 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.

3-3. 황화합물 제거균주의 온도에 따른 성장특성

온도가 미생물 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해, KD-1212를 thiosulfate가 함유된 medium(1)에 접종하여 30, 35 및 40 ºC에서 36시간 동안 각각 진탕배양한 후에, 6시간마다 시료를 채취하여 균주농도를 측정한 것을 Fig. 3(a)에 나타내었다. 그 결과 30 ºC와

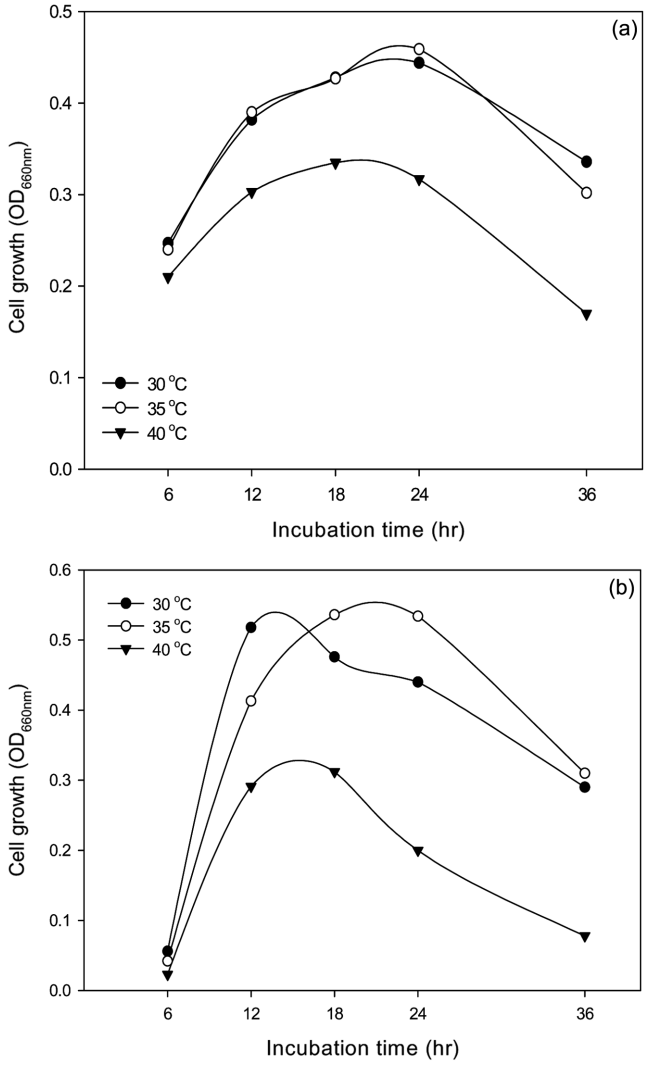


Fig. 3. Effect of temperature on the cell growth of strains: (a) KD-1212; (b) DAH-1056.

35 ℃에서 균주성장이 가장 높게 나타났으며, 40 ℃에서는 균주농도가 현저히 적었음을 볼 수 있다. 24시간 후에 균주농도가 감소한 것은 배지속의 미생물에 의한 성장에 필요한 영양분을 대부분 이용한데 기인한 것으로 사료된다. 한편 DAH-1056 균주에 대한 최적 배양온도를 결정하기 위하여 thiosulfate가 함유된 medium(1)에 균주를 접종한 후 각각 30, 35 및 40 ℃에서 36시간 동안 각각 배양하였다. 6시간마다 시료를 채취하여 균체농도를 측정한 것을 Fig. 3(b)에 나타내었다. 그 결과 배양 12시간에서는 30 ℃에서 균체농도가 가장 높았으나, 배양 18시간 이후에는 35 ℃에서 배양한 것이 가장 높게 나타났다. 30과 35 ℃에서는 시간에 따른 균주농도에서 큰 차이가 없었으나, 40 ℃에서는 미생물 성장 정도가 현저히 낮음을 볼 수 있다.

3-4. 황화합물 제거균주의 thiosulfate 제거특성 및 황화수소 제거능력

KD-1212를 30 ℃에서 배양한 균주성장특성 데이터를 구축하면서, 6시간마다 시료를 채취하여 황산이온농도를 각각 측정하였으며, DAH-1056은 35 ℃에서 배양하여 6시간마다 시료를 채취하여

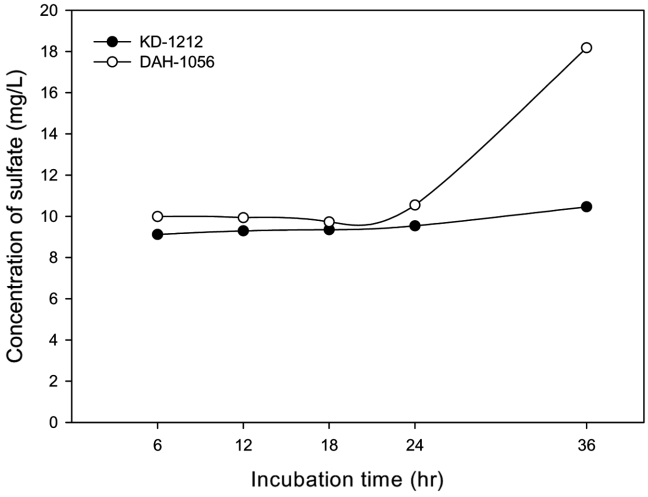


Fig. 4. Time evolution of sulfate concentration incubating the strains of KD-1212 and DAH-1056.

황산이온농도를 각각 측정하였다(Fig. 4). 결과를 보면 24시간까지는 KD-1212와 DAH-1056을 배양한 배양액 중의 sulfate 농도는 비슷하였으나 시간경과에 따라 황산이온의 농도가 미량 증가됨을 볼 수 있었으며, 36시간에서는 DAH-1056 배양액 중에서 sulfate 농도가 KD-1212에 비해 훨씬 높게 측정되었다. 시간에 따라 sulfate 농도가 증가되는 것은, 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. 4에서 36시간의 균주 DAH-1056 배양시간에 sulfate가 급증하는 것은, Fig. 3(a)와 3(b)에서와 같이 균주농도가 24시간의 배양시간에서 최대를 보이고 그 이후에는 균주농도가 감소되는 것을 고려할 때, 24시간의 배양시간까지는 생성된 sulfate가 균주성장에 사용되어 sulfate 농도 증가가 미미하였으나 균주성장이 멈춘 24시간의 배양시간 이후에는, KD-1212 균주의 경우는 sulfate 축적으로 인한 산성 환경조건에서 균주가 비활성화되는 반면에 DAH-1056 균주의 경우에는 균주의 활성화를 유지하여 상기 반응식에 따라 생성된 sulfate가 많이 축적되는데 기인하는 것으로 판단할 수 있다. 따라서 DAH-1056은 황뿐만 아니고 thiosulfate도 잘 이용하는 넓은 범위의 황원을 이용할 수 있는 미생물인 것으로 사료된다. 한편 분리균주의 황화수소 제거능력을 측정하기 위하여, 황산화균주 DAH-1056과 암모니아 산화균주를 혼합 고정한 semi-pilot scale의 운전조건에서 바이오필터에서 25~200 ppmv의 황화수소와 120~240 ppmv의 암모니아를 동시 함유한 악취가스를 처리하였을 때에 황화수소 처리효율은 약 95%로서, 같은 운전조건에서 *Thiobacillus sp.* IW 및 반송슬러지를 혼합 고정한 바이오필터의 황화수소 제거율보다 약 15%가 높았다[21].

3-5. 황화합물 제거균주의 호기/무산소 및 혼합배양특성

산소조건에 따른 악취제거 효율을 조사하기 위하여 thiosulfate를 함유한 medium(1)에 KD-1212와 DAH-1056을 96시간 호기적 조건과 무산소 조건으로 각각 배양하여 비교하였다. 미생물의 균주농도를 측정한 결과 균주농도에 큰 차이점을 발견할 수 없었으며 산소조건에 크게 영향을 받지 않는 것으로 보였다. 한편 ED-1138을, Fig. 2(b)와 같이 pH 4.0에서 가장 효율적으로 thiosulfate를 이용하

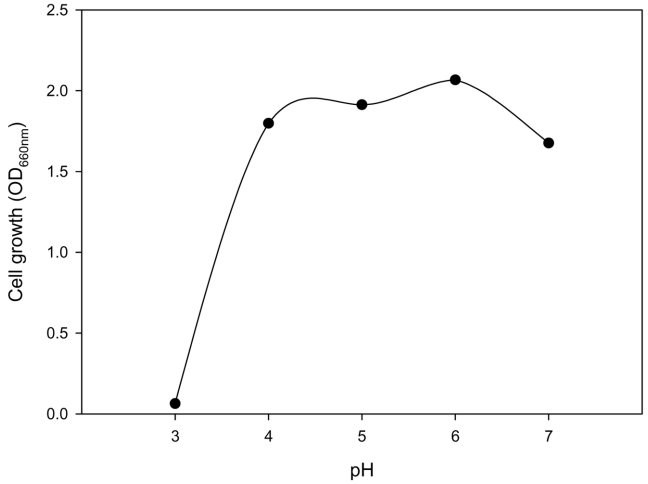


Fig. 5. Effect of pH on the cell growth after 18hrs of shaking incubation using the consortium strains of DAH-1056 and ED-1138.

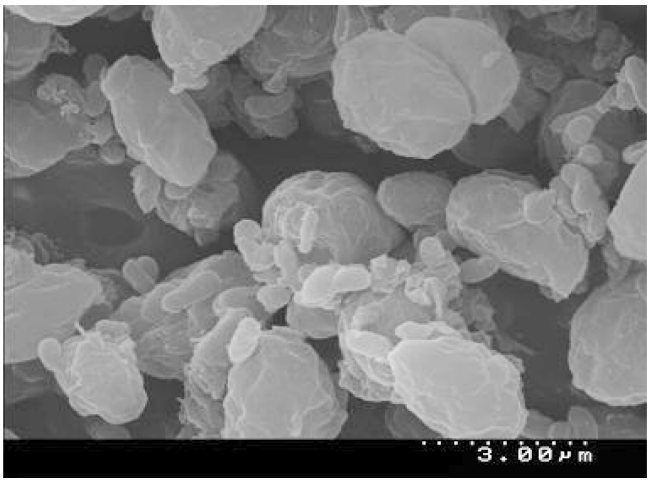


Fig. 6. Scanning electron micrograph of the consortium of strain DAH-1056 and ED-1138.

는 것으로 확인된 DAH-1056과 함께 thiosulfate 함유 medium(1)에서 혼합배양하면서 pH에 따른 미생물 성장정도를 조사하였다. 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. 5), DAH-1056을 단독으로 배양한 결과와는 달리, pH 6.0에서 성장이 제일 잘 되었음을 볼 수 있으며, pH 4.0에서부터 7.0까지 비교적 넓은 범위에서 균체성장이 높게 나타났다. pH 3.0에서는 DAH-1056을 단독으로 배양한 결과와 마찬가지로 균주가 잘 자라지 않았다. DAH-1056과 ED-1138을 84시간 혼합, 현탁배양한 시료를 채취하여 미생물의 상태를 보기 위해 SEM 사진을 Fig. 6에 나타내었다. DAH-1056은 상당히 크게 나타났으나, ED-1138은 상대적으로 아주 작게 나타났으며 DAH-1056과 ED-1138은 서로 협조하여 성장이 잘 되었음을 볼 수 있다.

3-6. 황화합물 제거균주의 동정

분리된 악취제거 미생물의 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과 KD-1212 균주는 *Arthrobacter* sp.와 염기상동성(sequence homology)

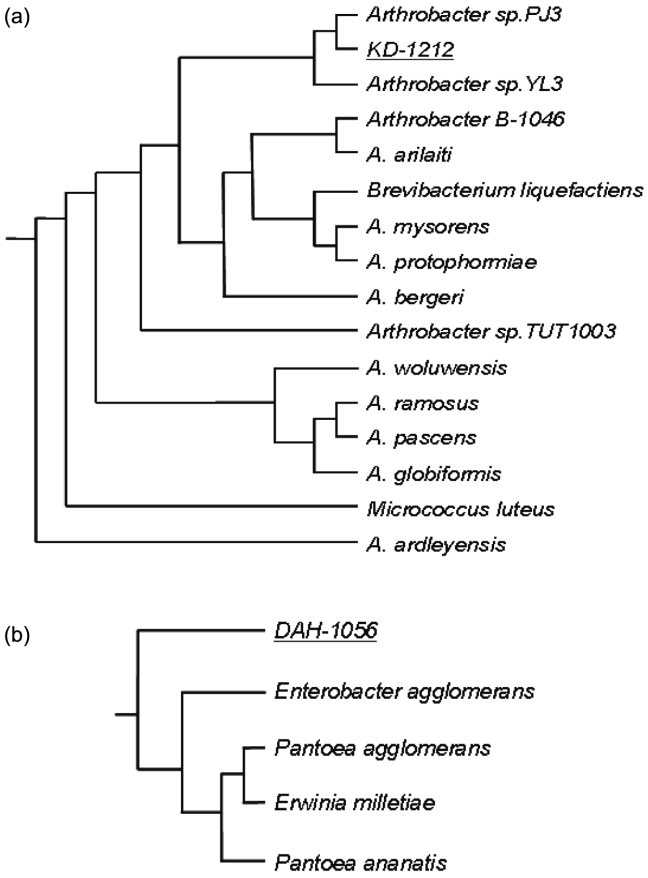


Fig. 7. Dendrogram derived from Cluster-X (Kyoto University Bioinformatics Center) of 16S rRNA gene sequences of isolated strains. Sequence was aligned with 16S rRNA sequences obtained from a BLAST search of the NCBI database: (a) KD-1212; (b) DAH-1056.

이 99%, DAH-1056 균주는 *Enterobacter* sp.와 98%의 염기상동성을 각각 보였음으로 균주 KD-1212는 *Arthrobacter* sp. KD-1212, 균주 DAH-1056은 *Enterobacter* sp. DAH-1056으로 명명하였다(Fig. 7a-7b).

3-7. 황화합물 제거균주의 탄소원, 질소원 및 교반속도에 따른 성장특성

황화합물 분리균주 중에서 30~35 ºC에서 균주성장이 균일한 *Arthrobacter* sp. KD-1212 균주에 대한 medium 배지(1)을 사용하여 30 ºC에서 배양할 때에 sodium thiosulfate 농도변화, 여러 가지 부가되는 탄소원 및 질소원 및 교반속도에 대한 성장특성을 조사하여 그 결과를 Fig. 8a-8d 및 Fig. 9와 같이 나타내었다. *Arthrobacter* sp. KD-1212의 에너지원으로 sodium thiosulfate를 사용하여 25~100 mM의 농도에서 24시간 배양하면서 성장정도를 조사하였다. *Arthrobacter* sp. KD-1212는 sodium thiosulfate의 25 mM 농도에서 성장이 잘 되었다(Fig. 8a). 또한 탄소원으로는 glucose와 maltose를 잘 이용한 것으로 나타나 이것은 기존에 알려진 *Arthrobacter* sp.종의 성장특성과 유사하였다(Fig. 8b). 그리고 질소원으로는 yeast extract를 잘 이용하였으며 0.5% 농도에서 성장이 잘 되었다(Fig. 8c-8d). 또한 배양기 회전속도가 성장에 주는 영향을 조사하기 위해 회전속도를 100, 150, 200 rpm으로 조절하고 24시간 동

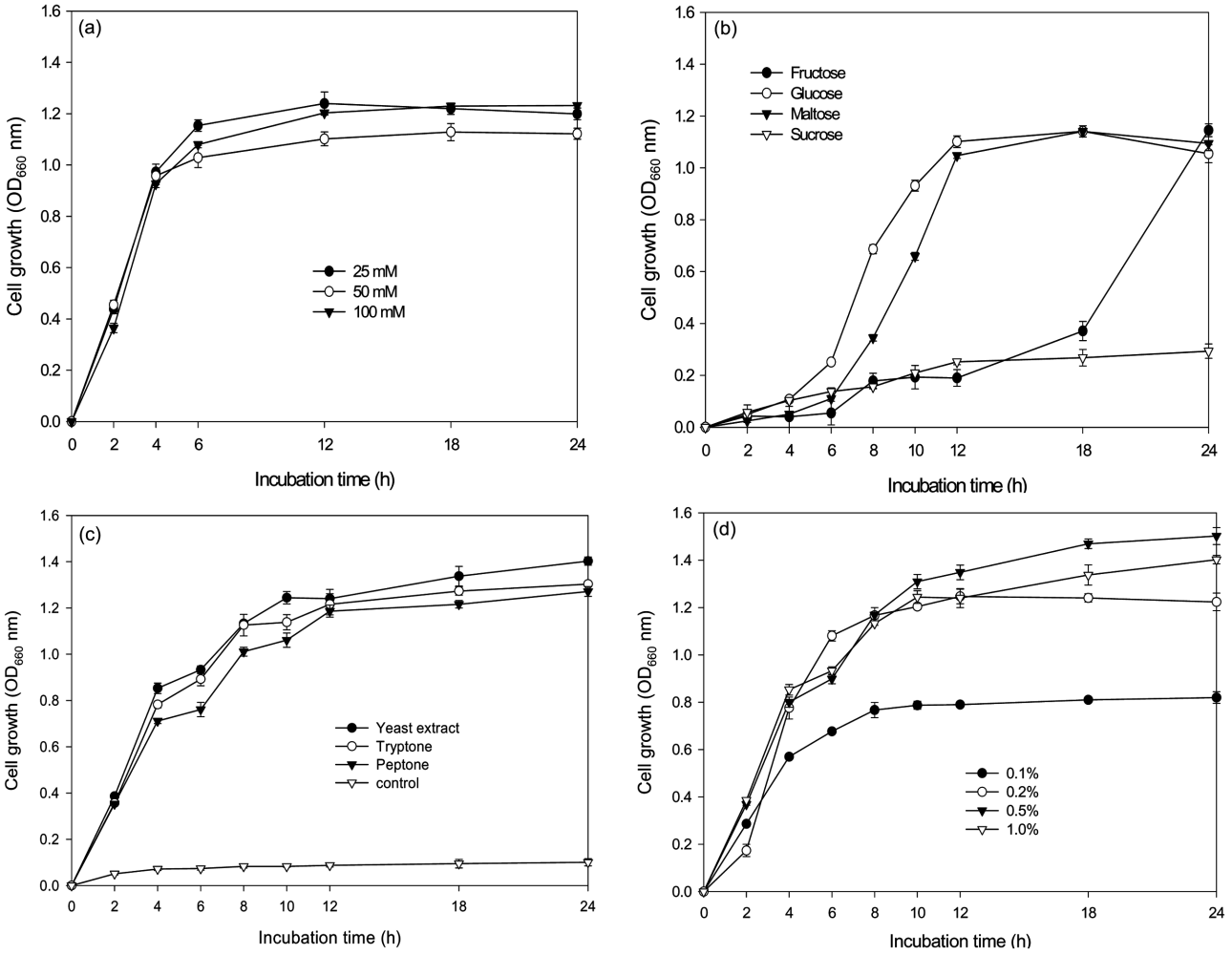


Fig. 8. Effect of sodium thiosulfate (a), 2.0% carbon sources (b), 1.0% nitrogen sources (c) and yeast extract (d) on the cell growth of strain *Arthrobacter* sp. KD-1212 at 30 °C and 200 rpm.

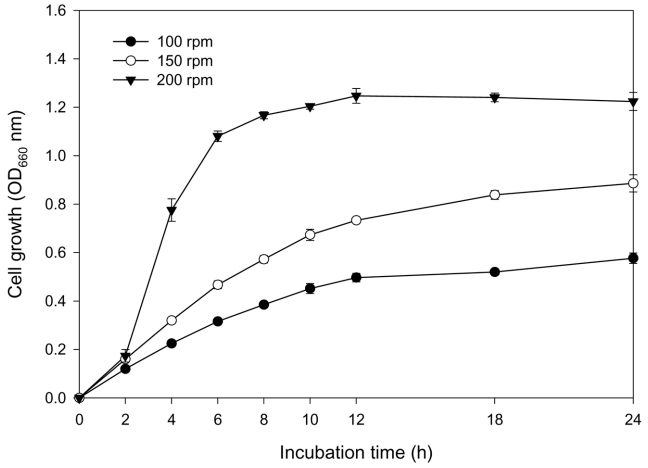


Fig. 9. Effect of agitation on the cell growth of *Arthrobacter* sp. KD-1212 strain at 30 °C.

안 배양하면서 성장정도를 조사하였다. *Arthrobacter* sp. KD-1212는 회전속도가 높을수록 성장정도가 빨랐으며, 200 rpm에서 성장이 가장 양호하였다 (Fig. 9).

4. 결 론

황화수소, 에틸멜캅탄, 메틸멜캅탄 등 황화합물을 제거할 수 있는 균주 KD-1212와 DAH-1056을 여러지역의 축분으로 오염된 토양들에서 분리하였다. Medium(1) 배지에서 배양할 때에 KD-1212와 DAH-1056 균주의 최적 pH는 각각 7.0 및 4.0이었으며 최적배양온도는 30~35 °C 범위였다. KD-1212와 DAH-1056 균주는 모두 산소조건에 대한 영향이 미미하였다. 오염된 토양으로부터 thiosulfate를 이용할 수 있는 독립영양균 ED-1138을 새로 분리하여 DAH-1056과 함께 thiosulfate가 함유된 medium(1) 배지에 넣고 혼합배양한 결과 미생물들이 함께 잘 성장하였으며, 특히 pH에 대한 특성을 보면 DAH-1056을 단독으로 배양한 경우와는 상당히 다르게 pH 4.0~7.0의 넓은 범위에서 미생물들이 잘 성장되었으며, 특히 pH 6.0~7.0에서 균주성장이 우수하였다. 균주를 고정한 바이오필터의 악취처리에 있어서 균주 DAH-1056이 기존 균주 *Thiobacillus sp.* IW보다 황화수소 제거능이 우수하였다. KD-1212와 DAH-1056 균주의 SEM 사진을 관찰할 때 KD-1212는 거의 구형이었으며, 특히 크기가 약 2 μm인 DAH-1056은 약 0.4~0.6 μm인 KD-1212에 비해 크기가 훨씬 컸다. 한편 DAH-1056과 ED-1138을 혼합배양한 후에 찍은 SEM 사진에 의하면 양 균주가 비교적 양호하게 섞여있

어서 혼합배양이 잘되었음을 볼 수 있으며 DAH-1056은 크기가 큰 것에 비해 ED-1138은 크기가 비교적 작은 것으로 나타났다. 분리된 악취제거 미생물의 16S rRNA 유전자를 이용하여 염기서열을 분석한 결과 KD-1212 균주는 *Arthrobacter* sp.와 염기상동성(sequence homology)이 99%, DAH-1056은 *Enterobacter*와 98%의 염기상동성을 보였음으로 각각을 *Arthrobacter* sp. KD-1212, *Enterobacter* sp. DAH-1056으로 명명하였다. 또한 *Arthrobacter* sp. KD-1212 균주를 이용하여 황화합물의 농도 및 질소원 및 탄소원에 대한 성장특성을 조사한 결과, *Arthrobacter* sp. KD-1212는 sodium thiosulfate의 25 mM 농도에서 성장이 가장 잘되었고, 탄소원으로는 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 잘되었다.

참고문헌

1. Oyarzun, P., Arancibia, F., Canales, C. and Aroca, G. E., "Biofiltration of High Concentration of Hydrogen Sulfide Using *Thiobacillus thioparus*," *Process Biochemistry,* **00**, 1-6(2003).
2. Cox, H. H. and Deshusses, M. A., "Co-treatment of H_2S and Toluene in a Biotrickling Filter," *Chem. Eng. J.*, **87**, 101-110(2002).
3. Eckhart, A., Proceedings of Biological Treatment of Industrial Waste Gases, Dechema, Mar. 24-26, 2pp., Heidelberg, Germany (1987).
4. Lee, T. J., Kwon, O. Y. and An, S. J., "Removal of Odor Causing Compounds Using Adsorption of Crushed Refused-tire and Phenol Oxidizing Bacteria," *Cryptococcus Terreus A, J. KSEE,* **22**, 1601-1607(2000).
5. Islander, R. I., Devinny, J. S., Mansfield, F., Postyn, A. and Shin, H., "Microbial Ecology of Crown Corrosions in Sewers," *J. Environ. Eng.,* **117**, 751-770(1990).
6. Hirai, M., Ohtake, M. and Shoda, M., "Removal Kinetics of Hydrogen Sulfide, Methanethiol and Dimethyl Sulfide by Peat Biofilters," *J. Ferment. Bioeng.,* **70**, 334-339(1990).
7. Hirai, M., Kamamoto, M., Yani, M. and Shoda, M., "Comparison of the Biological H_2S Removal Characteristics Among Four Inorganic Packing Materials," *J. Biosci. Bioeng*., **91**(4), 396-402 (2001).
8. Cho, K.-S., Ryu, H. W. and Lee, N. Y., "Biological Deodorization of Hydrogen Sulfide Using Porous Lava as a Carrier of *Thiobacillus thioxidants*," *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 25-31(2000).
9. Wani, A. H., Branion, M. R. and Lau, A. K., "Effects of Periods of Starvation and Fluctuating Hydrogen Sulfide Concentration on Biofilter Dynamics and Performance," *J. Hazard. Mater.*, **60**, 287-303(1998).
10. Chung, Y.-C., Huang, C. and Tseng, C.-P., "Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 biofilter," *Biotechnol. Prog.*, **12**, 773-778(1996).
11. Chung, Y.-C., Huang, C. and Tseng, C.-P., "Operation Optimization of *Thiobacillus thioparus* CH11 in a Biofilter for Hydrogen Sulfide Removal," *J. Biotechnol.*, **52**, 31-38(1996).
12. Chung, Y.-C., Huang, C. and Tseng, C.-P., "Biological Elimination of H_2S and NH_3 from Wastegases by Biofilter Packed with Immobilized Heterotrophic Bacteria," *Chemosphere,* **43**, 1043-1050 (2001).
13. Elias, A., Barona, A., Arreguy, A., Rios, J., Aranguiz, I. and Penas, J., "Evaluation of a Packing Material for the Biodegradation of H_2S and Product Analysis," *Process. Biochem.*, **37**, 813-820(2002).
14. Lim, K. H. and Park, S. W., "Transient Behavior of Biofilter Incubated with *Thiobacillus* sp. IW to Treat Waste-air Containing Hydrogen Sulfide," *Korean J. Chem. Eng.*, **23**(6), 965-971(2006).
15. Ottengraf, S. P. P., in H. J. Rehm and G. Reed(Eds.), Exhaust gas purification: Biotechnology, VCH, Weinheim, Germany, **8**, 426-452(1986).
16. Sorial, G. A., Smith, F. L., Suidan, M. T. and Biswas, P., "Evaluation of Trickle Bed Biofilter Media for Toluene Removal," *J. Air. Waste Manage. Assoc.,* **45**, 801-810(1995).
17. Lim, K. H. and Lee E. J., "Biofilter Modeling for Waste Air Treatment: Comparisons of Inherent Characteristics of Biofilter Models," *Korean J. Chem. Eng.*, **20**(2), 315-327 (2003).
18. Lim, K. H. and Park, S. W., "The Treatment of Waste-air Containing Mixed Solvent Using a Biofilter: 1. Transient Behavior of Biofilter to Treat Waste-air Containing Ethanol," *Korean J. Chem. Eng.*, **21**(6), 1161-1167(2004).
19. Lim, K. H., "The Treatment of Waste-air Containing Mixed Solvent Using a Biofilter: 2. Treatment of Waste-air Containing Ethanol and Toluene in a Biofilter," *Korean J. Chem. Eng.*, **22**(2), 228-233(2005).
20. Buisman, C. J., Geraats, B. G., Ljspeert, P. and Lettinga, G., "Optimization of Sulphur Production into a Biotechnological Sulphide-removing Reactor," *Biotechnol Bioeng*, **35**, 50-56(1990).
21. Lim, K. H., Lee, E. J., Lee, J. H., Jung, J. K. and You, D. J., "Treatment of Waste-air with a Biofilter with the Media Fixed with Hydrogen Sulfide Oxidizing Strain Enterobacter sp. DAH-1056(renamed from YES-1153) and Ammonia Oxidizing Strain Bacillus Cereus YCa-1214," *Theories and Applications Chem. Eng.*, **12**(2), 2055-2058(2006).