

## *Pseudomonas putida* B2가 접종된 Biofilter의 황화수소제거 효과

윤지용·이수철·권일·†성창근  
(주) 대덕바이오, <sup>1</sup>충남대학교 식품공학과  
(접수 : 2001. 5. 11., 게재승인 : 2001. 6. 25.)

## Effect of Hydrogen Sulfide Removal by Biofilter Seeded with *Pseudomonas putida* B2

Ji-Yong Yoon, Soo-Choul Lee, Il Kwon, and Chang-Keun Sung<sup>1†</sup>  
Dbio Co. Ltd., 220 Kung-Dong, Yuseong-Ku, Taejeon 305-764, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, Korea  
(Received : 2001. 5. 11., Accepted : 2001. 6. 25.)

A heterotrophic *Pseudomonas putida* B2 was used to treat of hydrogen sulfide containing gas. The experimental approach involved operating two identical bench-scale biofilters with media consisting of a mixture of peatmoss, perlite and granular activated carbon(GAC). One column was seeded with *Pseudomonas putida* B2 and the other was left unseeded. The biofilter was operated for 16 days under EBRT for 20-40 sec, at a temperature of 25-30°C and a hydrogen sulfide concentration of 40-190 ppm. The biofilter inoculated with *P. putida* B2 exhibited high hydrogen sulfide removal efficiency, average of 95%, at a hydrogen sulfide concentration of 40-190 ppm (flow rate 3.6 L/min). However, at a shock loading of 190 ppm the biofilter showed a removal efficiency of 78.9% and the control only showed a removal efficiency of 31.6%. The critical load of this biofilter was 14.83 g/m<sup>3</sup>hr, and the critical load of the control column was 4.93 g/m<sup>3</sup>hr. These results suggest that *P. putida* B2 has the potential to be used as a H<sub>2</sub>S removal agent in a biofilter.

**Key Words :** *Pseudomonas putida* B2, granular activated carbon(GAC), biofilter, elimination capacity, hydrogen sulfide

### 서 론

H<sub>2</sub>S는 부패된 제란냄새가 나는 악취물질로서 폐수처리장, 돈분처리장, 음식물쓰레기, 제지공장 등에서 다량 발생된다(1). 현재까지는 H<sub>2</sub>S가스 제거를 위해 물리적 화학적방법을 주로 많이 써왔으나 높은 유지비와 과도한 처리비로 인하여 최근에는 토양탈취 및 생물탈취 기법을 기반으로 하는 시설이 증가되고 있다.

이 중 biofilter를 이용한 생물탈취 기술은 타 악취제거공정에 비해 시설투자 및 유지관리가 훨씬 싸고 2차오염물질이 배출되지 않으므로 높은 유량과 낮은 농도의 악취를 제거하는데 가장 적합한 공정으로 알려져 있다(2). Prokop 등은 토양을 담체로 이용하여 황화수소를 제거하는 연구를 실시하여 높은 제거율을 보였다(3).

Biofilter의 담체로 사용되어온 천연담체인 토티, peat, woodchip 등은 높은 물리적 흡착, 양호한 수분보수력으로 높은 제거율을 보였으나 충전제 자체의 분해 및 압착현상으로 clogging 및 channeling현상이 생겨 공정효율저하 및 교체주기를 단축시키는 원인이 되어왔다(2,4). 이러한 단점을 보완하기 위해 compost 및 peat에 무기성 담체인 perlite, 활성탄(Granular Activated Carbon, GAC), 세라믹 담체 등을 혼합하여 사용하는 연구가 진행되어왔으며(5), 이 중 활성탄의 경우 높은 흡착율에 의한 물리, 화학적 제거효과가 큰 물질로서 오염기체에 대해 보다 높은 제거율을 나타낸다. 그러나 흡착용량한계에 도달했을 때 재생하거나 교체해 주어야 하는데 교체주기가 짧고 가격이 타 담체에 비해 고가인 단점이 있다(6). 한편 biofilter media로 활성탄 첨가시 오염물질의 큰 부하에도 높은 제거율을 나타낼 뿐만 아니라 biofilter의 초기 순치기간 동안의 낮은 제거율을 극복할 수 있는 장점이 있다(7,8). 그리고 활성탄에 흡착된 오염물질은 탈취미생물에 의해 분해되어 장시간의 운전에도 원하는 제거율을 얻을 수 있다고 보고되어 있다(6).

현재 담체내 미생물 접종원으로 활성슬러지를 사용한 연구가 많이 진행되어오고 있는데 이 공정은 일정 순치기간이 필

†Corresponding Author : Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Yuseong-Ku, Taejeon 305-764, Korea  
Tel : +82-42-821-6722, Fax : +82-42-822-2287  
E-mail : kchung@cucv.chungnam.ac.kr

요한 단점이 있어 이를 해결하기 위해 현재는 악취성분을 분해하는 미생물을 대량 배양하여 접종하는 연구가 많이 진행 중이다(9).

H<sub>2</sub>S를 분해하는 균주로는 현재 독립영양미생물과 종속영양미생물이 사용되고 있다(9,10,11). 독립영양미생물로서 *Thiobacillus* sp.가 있는데 이 균주들은 황을 산화하여 에너지를 얻는 대표적인 균주이다(9). 종속영양생물로 혐기적 조건에서 *Thiothrix*, *Beggiatoa*와 *Hyphomicrobium* genera 등은 황화수소를 산화하여 황이온을 균내부에 저장한다. 또한 종속영양생물 중 *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Xanthomonas* 등도 황화수소를 산화한다. 이들의 산화 기전은 sulfur oxidase에 의해 H<sub>2</sub>S를 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>로 분해 시키고, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>는 아미노산 중 cysteine과 methionine의 합성에 필요한 것으로 보고되었다(12). 현재까지는 독립영양생물인 *Thiobacillus* sp.를 이용한 H<sub>2</sub>S 제거 연구가 많이 진행되어 있다(9,10). *Thiobacillus* sp의 경우 탄소원의 별도 첨가없이 CO<sub>2</sub>고정에 의해 탄소원을 공급받지만 지속적인 산화에 의한 pH저하로 급격한 제거율 저하를 보이는 경우도 있다(11). Ying 등(11)에 의하면 *Pseudomonas putida*의 경우 *Thiobacillus* sp.에 비교해서 pH변화에 거의 영향을 받지 않으며 안정된 H<sub>2</sub>S제거율을 보인다고 보고한 바 있다. 또한 종속영양생물의 특성상 빠른 증식속도에 의해 담체에 우점하는 기간이 짧아 순치기간을 단축시킬 수 있는 장점이 있다.

본 연구는 biofilter충진제로 peat moss와 perlite, 활성탄(GAC)조합담체에 대한 *Pseudomonas putida* B2에 의한 H<sub>2</sub>S 탈취력을 시험하였고, 특히 활성탄(GAC)의 부분적 첨가에 따른 영향과 연속적인 H<sub>2</sub>S유입조건에서의 운전조건을 결정하는 연구를 수행하였다.

**재료 및 방법**

**균주의 분리과 배양**

본 실험에서 사용한 균주는 대전 종합처리장 반송 오니조에서 채취한 활성슬러지를 시료로 사용하였으며 분리용 기본 배지는 Cho 등(13)이 사용한 Thiosulfate(8g/L)와 yeast(2g/L)를 따로 멸균하여 60℃에서 혼합하여 사용하였다. 분리방법은 시료 5 mL를 200 mL 배지에 접종하여 5일간 진탕배양한 후 다시 계대 배양하는 방법을 수 차례 반복하여 우점종이 되는 한 colony를 사용하였고, 미생물동정분류시스템(MIDI, HP6890)을 사용해 동정하였다. *Pseudomonas putida* B2는 초기 10 mL test tube에서 12시간 배양 후 200 mL의 baffle flask로 접종해서 24시간 동안 배양한 후 발효조에 접종하였다. 사용된 배지는 증류수 1 L당 glucose 5 g, Yeast extract 5 g, MgSO<sub>4</sub> 0.2 g, NH<sub>4</sub>Cl 1 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g, CaCl<sub>2</sub> 0.1 g, FeSO<sub>4</sub> 0.1 g, MnSO<sub>4</sub> 0.05 g, ZnSO<sub>4</sub> 0.05 g, CuSO<sub>4</sub> 0.05 g로 제조하였고, 5 L 발효조(KoBiotech)에서 working volum 3 L로 30℃, 56시간 배양하였다.

**담체(Media)**

담체는 유기담체로 Peat moss를 무기담체로 perlite, GAC를 50:25:25(v/v/v)로 혼합하였으며, 각 컬럼에 2.4 L씩 충전하였다. 컬럼 1기에는 *Pseudomonas putida* B2 배양액 1 L가 접종

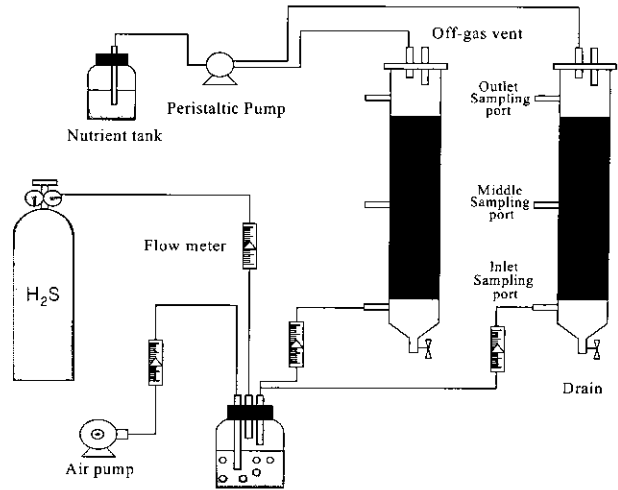


Figure 1. Schematic diagram of bench scale biofilter

되었고, 컬럼2기는 대조구(control)로 균주 접종없이 1 L 배지를 첨가한 담체로 채워졌다.

**실험장치 및 분석방법**

본 실험에 사용된 실험장치는 Figure 1에 나타나 있다. 컬럼은 길이 76 cm 내경 7.4 cm의 아크릴재질의 원통형으로 제작되었으며, 담체는 컬럼 내부에 2.4 L 채웠다. 악취원인 H<sub>2</sub>S가스는 1% 황화수소와 99% N<sub>2</sub>가스로 채워진 가스봄베에서 가스조절기(Crown, Japan) 및 유량계(Dwyer, USA)로 조절되어 혼합가스병으로 주입되었다. 가스주입방식은 upflow형식이며 air pump를 이용하여 H<sub>2</sub>S를 40-200 ppm으로 희석하여 컬럼 하부로 주입하였다. 컬럼 온도는 25-30℃로 유지하였고, 상부에서 peristaltic pump를 이용해서 하루 1회 100 mL씩 살수하여 함수율 50-60%를 유지하였다. 영양분은 운전 중 1회 상부에서 주입하였다. Sampling port는 유입부(Inlet sampling port), 중간부(Middle sampling port), 유출부(Outlet sampling port) 총 3개를 설치하였고, 각각 silicone마개로 sealing하였다. H<sub>2</sub>S가스는 3개의 sampling port에서 매 12시간마다 가스검(GASTEC, Japan)을 사용하여 측정하였다. 검지관은 H<sub>2</sub>S정량용 검지관 4H, 4L, 4LT를 사용하였다.

**결과 및 고찰**

**운전기간중 각 sampling port에서의 H<sub>2</sub>S 농도 변화**

담체 체류시간(EBRT, Empty Bed Residence Time)을 40 sec로 유지하면서 유입부(Inlet sampling port)의 H<sub>2</sub>S 농도와 컬럼 중간(Middle sampling port)에서의 농도, 컬럼 유출부(Outlet sampling port)의 H<sub>2</sub>S농도를 12시간 간격으로 측정하였다. 유입부 농도를 40 ppm~190 ppm까지 변화시키면서 middle sampling port에서의 H<sub>2</sub>S 농도 변화 추이를 살펴보았다. Figure 2는 컬럼 중간부분(Middle sampling port)에서 sampling한 가스를 분석한 결과로서 EBRT가 20초에 해당한다. 초기 40 ppm에서 *P. putida* B2가 접종된 컬럼에서는 초기부터 가스가 감지되지 않았고, 3일째 유입농도를 80 ppm으로 높여줌에 따라 중간 유출부에서 차츰씩 농도가 증가하기 시작하였다. 6일째에 유입부 농도를 130 ppm까지 높여주

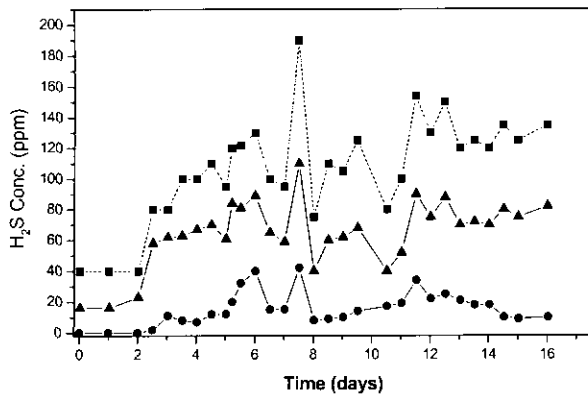


Figure 2. Time-variable H<sub>2</sub>S concentration in inlet and middle sampling port —■— inlet conc. ; —●— middle conc. ; —▲— middle conc. at control; Control means column with no microorganism.

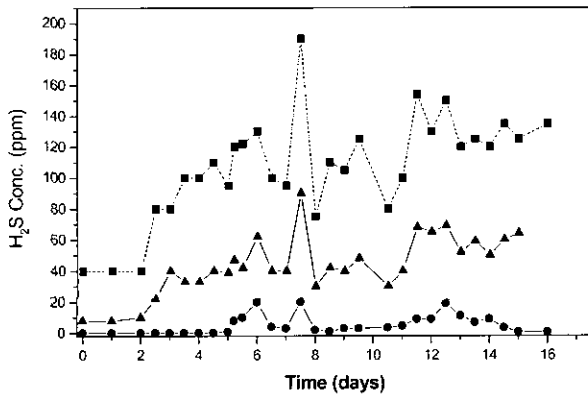


Figure 3. Time-variable H<sub>2</sub>S concentration in inlet and outlet sampling port —■— inlet conc. ; —●— outlet conc. ; —▲— outlet conc. at control; Control means column with no microorganism.

있을 때 유출부 농도는 40 ppm까지 증가하였으나 다시 95 ppm까지 낮춰주면서 농도가 15 ppm으로 낮아졌다. 7.5일째 190 ppm shocking test를 해 주었을 때 대조구는 110 ppm까지 상승하였으나 실험구는 42 ppm으로 대조구 보다는 훨씬 낮은 농도를 나타내었다. 이상의 middle sampling port에서의 H<sub>2</sub>S농도 변화를 측정된 결과로 볼 때 큰 폭의 유입농도증가에도 실험구의 경우 영향이 작은 것으로 보아 큰 유입부하량 변동에서도 안정적인 제거능을 보인다는 것을 의미한다. 이것은 황성탄의 흡착력과 *P. putida* B2의 H<sub>2</sub>S분해력이 조합되어 얻어진 결과로 추정되며 일정량의 황성탄을 첨가함으로써 보다 안정된 제거능을 보인다는 사실을 뒷받침한다.

Outlet sampling port에서의 H<sub>2</sub>S 농도 변화를 측정하고 그 결과를 Figure 3에 제시하였다. 상부의 유출부(Outlet sampling port)에서 가스를 측정된 결과로 EBRT는 40초에 해당되는데 전체적으로 컬럼 중간부분(middle sampling port)에서 측정된 H<sub>2</sub>S농도보다 낮은 양이 분석되었다. 특히 실험구에서는 4일째까지 거의 H<sub>2</sub>S 농도가 측정되지 않았고, 5일째 유입농도 120 ppm 정도에서 유출부에서 8 ppm이 감지되었다. 7.5일째 유입부 농도가 190 ppm이로 높여주었을 때 대조구의 유출부

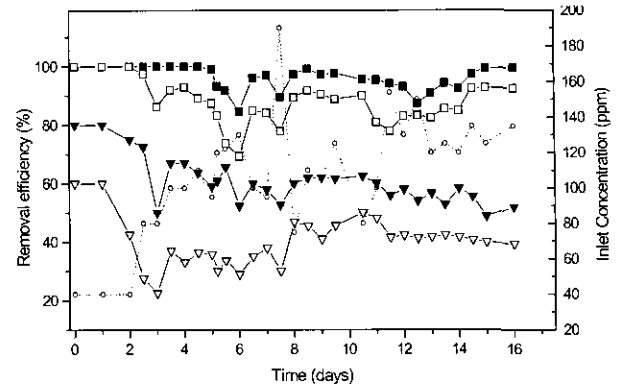


Figure 4. H<sub>2</sub>S removal efficiency of biofilter during operation. —■— Outlet; —□— Middle; —▼— Outlet (control); —▽— Middle (control); --○--, Inlet Conc.

에서는 90 ppm까지 상승하였으나 실험구는 20 ppm을 유지하였다. 이것은 middle sampling port에서의 분석결과와 일치하는 것이다.

**제거율(Removal Efficiency, RE)**

유입농도에 따른 실험구와 대조구에서의 H<sub>2</sub>S제거율을 측정된 결과 Figure 4에서 제시된 것처럼 초기 20 ppm에서 제거율은 실험구의 경우 중간부분과 유출부분 모두 H<sub>2</sub>S가 감지되지 않아 100% 가까운 제거율을 보였고, 대조구의 경우도 중간부분이 60%, 유출부분이 80%로 비교적 높은 제거율을 기록하였다. 특히 실험구의 경우 유출부분에서는 운전 4일째에 유입농도 110 ppm에서도 100% 가까운 제거율을 기록하였는데, 이것은 황성탄의 흡착력과 *P.putida*의 분해력으로 인한 상승효과로 사료된다. 6일째에는 유입량의 농도가 130 ppm이었을 때 실험구 컬럼 중간에서의 제거율은 69.3%, 컬럼 유출부에서의 제거율은 84.6%를 나타내었으나, 대조구의 경우 컬럼 중간에서의 제거율이 31.5%, 유출부에서의 제거율은 52.3%로 실험구와 30% 정도의 제거율 차이를 보였다. 그러나 7일째 다시 유입농도를 95 ppm으로 낮춰주었을 때 제거율이 다시 상승하여 실험구의 중간부분과 유출부분의 제거율이 각각 84.2%, 96.8%였고, 대조구에서의 제거율도 중간부분 38%, 유출부분 58%로 다소 제거율의 상승을 나타내었다. 6일째 제거율이 떨어진 이유는 유입량의 과부하에 의한 제거율이 하락된 것으로 생각되어진다. 그리고 실험구의 경우 초기부터 제거율이 거의 100%에 가까웠으므로 현재 황성슬러지를 이용한 biofilter의 순치기간의 문제점을 보완할 수 있는 가능성을 보였다.

**제거용량 (Elimination Capacity, EC)**

제거용량은 다른 biofilter와의 직접적인 성능 비교를 할 수 있는 값으로서, 본 실험에서는 유입 부하량(Inlet load)에 따른 실험구와 대조구의 제거용량을 아래와 같은 식에 의해 계산하고 그 결과를 Figure 5에 제시하였다.

$$EC = \frac{C_{Gi} - C_{Go}}{V_f} \times Q$$

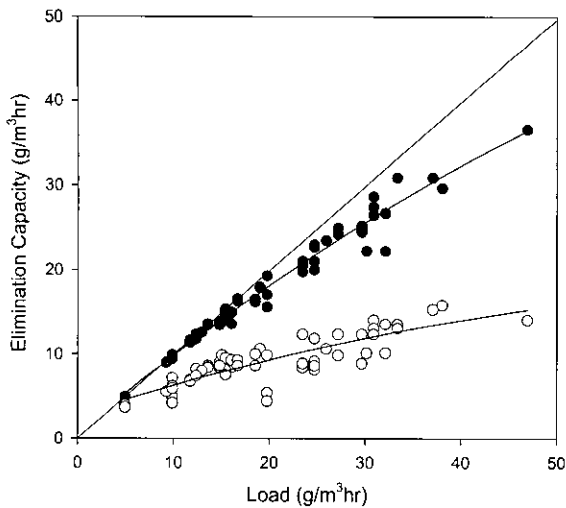


Figure 5. Elimination capacity profile of H<sub>2</sub>S at increasing mass loading. : ●, Column inoculated by *P.putida* B2; ○, No-strain (Control)

- $C_{Gi}$  : Inlet Gas Conc.(g/m<sup>3</sup>)
- $C_{Go}$  : Outlet Gas Conc.(g/m<sup>3</sup>)
- $V_f$  : Packing material Volumn m<sup>3</sup>
- $Q$  : Air flow rate (m<sup>3</sup>/hr)

실험구의 경우 유입부하(Inlet load)가 14.83 g/m<sup>3</sup>·hr 일때까지 제거율이 100%를 나타내었고, 그 후 점차적으로 제거율이 저하되는 것을 알 수 있어, 본 biofilter 실험구의 임계부하(Critical load)는 14.83 g/m<sup>3</sup>·hr 정도로 생각되어 진다(Figure 5).

대조구의 경우 Figure 5에 나타난 바와 같이 유입부하 4.93 g/m<sup>3</sup>·hr 이하에서는 거의 95% 이상의 제거율을 나타내는 것을 알 수 있었으나 그 이상의 유입부하가 가해지는 경우 제거율이 급격히 떨어졌다. 임계부하를 놓고 볼 때 실험구가 대조구에 비해 3배 정도 더 높은 것을 알 수 있다. 본 실험에서의 최대 유입부하량 46.93 g/m<sup>3</sup>·hr에서 실험구의 경우 제거용량이 36.42 g/m<sup>3</sup>·hr로 77.6% 제거율을 나타내었으나, 대조구의 경우 15.26 g/m<sup>3</sup>·hr으로 32.5%를 나타내었다. 대조구의 제거용량은 15.83 g/m<sup>3</sup>·hr 이상은 올라가지 않은 것으로 보아 제거용량의 한계에 다다랐음을 알 수 있었다.(Figure 5) 이 결과로 알 수 있는 실험구와 대조구의 제거용량의 차이는 실험구에 접종해준 *P.putida* B2의 제거용량을 나타내는 것으로 본 담체에 *P.putida* B2를 접종했을 때 충분한 H<sub>2</sub>S 탈취력을 보인다는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 실험은 *Pseudomonas putida* B2를 접종한 biofilter에서의 H<sub>2</sub>S 제거능을 알아 보았다. 담체로는 유기담체로 peat moss, 무기담체로 perlite 그리고 활성탄(GAC)을 각각 부피비로 50:25:25로 혼합하여 사용하였고, *P. putida* B2가 접종된 실험구는 본 균주가 접종되지 않은 대조구와 비교해본 결과 30% 정도의 제거율 향상을 볼 수 있었고, 운전중 H<sub>2</sub>S 부하 변동에 대해 대조구보다 안정되고 높은 제거율을 나타낸다는

것을 알 수 있었다. 임계 부하량은 제거율 100%를 기준으로 할 때 실험구의 경우 14.83 g/m<sup>3</sup>·hr인 것으로 나타났고, 대조구의 경우 최대 4.93 g/m<sup>3</sup>·hr 나타나 약 3배 정도 실험구가 더 큰 부하량 처리능력을 나타내었다. 본 실험결과로 탈취 균주로서 *P. putida* B2의 가능성을 타진해 본 결과 충분한 H<sub>2</sub>S 제거력을 발휘했으며, 아울러 활성탄을 첨가하여 부하 변동에 대해 보다 안정적인 제거효과를 보여 현 탈취공정의 부하 변동에 대한 안정성과 순치 기간의 필요성을 극복할 수 있을 것으로 판단된다.

REFERENCES

1. Eikum, A. S. Storhang, Odour Problems Related to Waste Water and Sludge Treatment, In Odour Prevention and Control of Organic Sludge and Livestock Farming, Neilsen, V.C., Voorburg, J. H., Hermite, P.L., Eds.; Elsevier Applied Science Publishers; London, 1986, 12-18
2. George A. Sorial, Francis L. Smith, Markram T. Suidan, Pratim Biswas, and Richard C. Brenner (1997), Performance of peat biofilter: impact of the empty bed residence time, temperature and toluene loading, *Journal of Hazardous materials*, **53**, 19-33.
3. Prokop, W. H. and H. L. Bohn (1985), Soil bed system for control of rendering plant odors, *JAPCA*, **35**, 1332
4. Tang, H. M. and S. J. Hwang (1996), Wase gas treatment in biofilters, *J. Air & Waste Manage Assoc.*, **46**, 349-354.
5. Van Lith. C., G. Leson, and R. Michelsen (1997), Evaluation design operation for biofilter, *J. Air & Waste Manage Assoc.*, **47**, 37-48.
6. Victor F. Medina and Todd Webster (1995), Treatment of Gasoline Residuals by Granular Activated Carbon Based Biological Filtration, *J. Environ.Sci.Health.*, **A30(2)**, 407-422.
7. W.J. Weber, M. Pirbazari, and G. L. Melson (1978), Biological Growth on activated carbon: an investigation by scanning electron microscopy, *Environmental Science and Technology*, **12(7)**, 817-819.
8. M. Pirbazari, T. C. Voice, and W. J. Weber (1990), Evaluation of biofilm development on various natural and synthetic media, *Hazardous Waste and Hazardous Materials*, **7(2)**, 239-250.
9. Ying-Chien Chung, Chihpin Huang, and Ching-Ping Tseng (1996), Operation optimization of *Thiobacillus thioparus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal, *Journal of Biotechnology*, **52**, 31-38.
10. Takahiro Kanagawa, Eiichi Mikami, Removal of Methanethiol, Dimethyl Sulfide, Dimethyl Disulfide, and Hydrogen Sulfide from Contaminated Air by *Thiobacillus thioparus* TK-m (1989), **55(3)**, 555-558.
11. Ying-Chien Chung, Chihpin Huang, and Ching-Ping Tseng (1996), Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-Scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 Biofilter, *Biotechnol. Prog.* **12**, 773-778.
12. Paul vermeij and Michael A. Kertesz (1999), Pathway of Assimilative sulfur Metabolism in *Pseudomonas putida*, *Journal of Bacteriology*, Sept. 1999, 181(18), 5833-5837
13. K. S. Cho, Hirai, and M. Shoda (1991), Removal of Dimethyl Disulfide by the Peat Seeded with Night Soil Sludge, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **71(4)**, 289-291.