

## ***Thiobacillus neapolitanus* R-10에 의한 유황계 악취물질의 제거**

원 용 돈·박 상 보·이 원 구\*·송 승 구\*\*

부산공업대학교 고분자공학과, \*부산 보건환경연구원

\*\*부산대학교 화학공학과

(1994년 10월 10일 접수)

## **Removal of Malodorous Sulfur Compounds by *Thiobacillus neapolitanus* R-10**

Yong-Don Weon, Sang-Bo Park, Won-Koo Lee\* and  
Seung-Koo Song\*\*

*Dept. of Polymer Eng., Pusan National University of Technology, Pusan, 608-080, Korea*

*\*Public Health & Environment Institute of Pusan*

*\*\*Dept. of Chem., Eng., Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea*

(Manuscript received 10 October 1994)

### **Abstract**

*Thiobacillus neapolitanus* R-10 isolated from sludge of night soil, showed an oxidizing activity on several malodorous sulfur compounds. The microbe successfully utilized hydrogen sulfide( $H_2S$ ), methyl mercaptan(MM), dimethyl sulfide(DMS) and dimethyldisulfide(DMDS) during the batch culture reaction, of which  $H_2S$  was rather rapidly oxidized. To examine the ability for removal of malodorous sulfur compounds, various concentrations of sulfide substrates were supplemented separately to basal medium and their responses were investigated. As the concentration of sulfide was increased, growth was accelerated within three days of cultivation. 2.5mM was the most favorable substrate concentration of sulfide added for all cases tested. However, when the concentration of sulfur compounds were raised over 4mM, they behaved as a growth inhibitor.

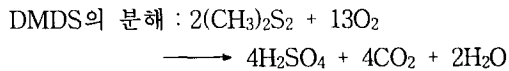
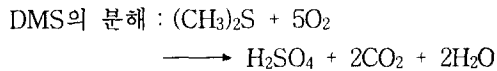
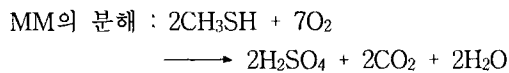
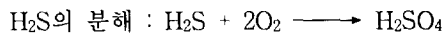
Key Words : *Thiobacillus neapolitanus* R-10, malodorous sulfur compounds.

### **1. 서론**

악취는 감각 수용기를 매개로 하는 감각 공해로써 그 심각성은 인식되어 왔지만 방지책은 수질이나 대기오염 방지 노력에 비해 대단히 부족한 실정이다. 악취를 발생하는 물질은 여러가지 종류가 있으나 유화수소( $H_2S$ ), methyl mercaptan

(MM), dimethylsulfide(DMS) 및 dimethyldisulfide(DMDS)는 미량이 존재하더라도 악취발생이 강한 대표적인 물질로 알려져 있다(加藤龍夫 *et al.*, 1984). 이러한 악취를 제거하기 위한 방법으로는 약물세정법, 연소법, 흡착법 또는 오존법 등이 있으나, 이들 방법은 2차 악취의 유발이나 폐액을 발생시킴으로써 약품 및 관리비 등의 고정 처리비를 요구하는 문제점이 지적되어, 이를 개선하기

위해 생물학적 처리법이 많이 이용되고 있다(金川貴博, 1989). 생물학적 탈취법은 토양 탈취법, 활성오니법이 실용화 되어 있으나, 유황을 함유한 악취 물질의 제거효율이 특히 낮은 것으로 알려져 있다(西田耕之助과 井上仁, 1986). 유황함유 악취 물질의 생물학적 제거는 일반적으로 다음과 같은 메카니즘에 의해 이산화탄소, 질산 또는 황산으로 분해됨으로써 가능하다(福山丈二과 本多淳裕, 1981; 金川貴博, 1992).



악취를 발생하는 대표적인 유황함유 물질인  $\text{H}_2\text{S}$ , MM, DMS 및 DMDS 등은 단백질이 부패할 때 생기는 물질로서 분뇨처리장, 하수처리장, 축산물 및 농수산물 폐수처리장 등에서 악취의 원인이 되고 있으며, 또한 원유중에도 다량 함유되어 있어 석유관련 산업시설에서도 이러한 악취가 발생되고 있다(金川貴博, 1991).  $\text{H}_2\text{S}$ , MM, DMS 및 DMDS 등을 분해하는 대표적인 미생물로는 *Thiobacillus* sp.(金川貴博, 1986)와 *Hyphomicrobium* sp.(De Bont. et al., 1981; Suylen and Kuenen, 1986)를 들 수 있는데, 이들은 하천 등에 광범위하게 분포되어 있으며 자연계의 유황순환에 중요한 역할을 담당하는 것으로 이미 많은 연구자들에 의해 보고되어 왔다(Sivela and sundman, 1975; Sivela, S. 1980; Kanagawa, T. and Kelly, 1986).

본 연구에서는 분뇨처리장의 활성오니로부터 분리된 *T. neapolitanus* R-10(원용돈, 1994)를 이용하여 몇가지 유황함유 악취물질의 제거 특성을 고찰하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 미생물

본 연구에서 사용된 균주는 부산시 북구 사상에 위치한 분뇨처리장의 활성오니에서 직접 분리한 *T. neapolitanus* R-10을 사용하였다.

### 2.2 미생물 배양

기본 배지(basal medium, BM)는  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  8g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2g,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.4g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.4g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2g과 미량의 무기질 혼합액 2ml를 증류수 1l에 녹여서 제조하였다. 배양특성을 고찰할 목적으로 BM배지에 일반적으로 많이 사용하는 비타민 혼합액(5 ml/l)을 첨가한 basal vitamin medium (BVM), 또는  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  대신에  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.2g과 미량의 무기질 혼합액(1ml/l)을 첨가한 일반적인 basal mineral medium(BMM)배지를 각각 사용하였다. 모든 배양실험은 전술한 배지 200 ml를 함유한 500 ml 플라스크를 이용하여 30°C에서 5일간 배양하였다.

### 2.3 시약

MM과  $\text{H}_2\text{S}$ 는 Takachiho Co.(일본)로부터 공급받았고, DMS와 DMDS는 Sigma Co.의 제품을 사용하였다. 실험에 사용된 유황 화합물의 농도는  $\text{H}_2\text{S}$ 가 8,500 ppm, MM이 20,200 ppm, DMS가 8,000 ppm, 그리고 DMDS가 8,000 ppm이 되도록 질소 gas로 희석하였다. 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

### 2.4 분석

$\text{H}_2\text{S}$ , MM, DMS 및 DMDS 등은 gas chromatography(Shimatzu GC-4BM)로 측정하였으며, 황산이온 농도는 ion chromatographic analyzer IC500 (Yokokawa-Hokushin Electric Co.)를 이용하여 정량하였다. 단백질은 buvine

serum albumin을 표준물질로 이용하여 Lowry법 (Lowry *et al.*, 1951)에 의해 정량하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 *T. neapolitanus* R-10의 생육 특성

*T. neapolitanus* R-10을 0.5%  $S_2O_3^{2-}$ 를 함유한 기본 배지에서 배양했을 때의 생육곡선을 Fig. 1에 나타내었다. 전체적인 성장양상은 다른 세균과 유사하였고 배양 3일후 더 이상 증식되지 않았다. Fig. 2는 이 미생물의  $S_2O_3^{2-}$  산화력을 고찰하기 위하여 기본배지에  $Na_2S_2O_3$ 를 첨가하여 배양한 결과를 보여주는 것으로서, 초기 기질인  $S_2O_3^{2-}$ 를 산화시켜  $S_4O_6^{2-}$ 를 생성하고 다시  $S_4O_6^{2-}$ 로부터  $SO_4^{2-}$ 를 생성시키는 메카니즘을 잘 설명해 주고 있다. 배양중에 pH가 낮아지는 이유는 연쇄적으로 생성되는 산화산물의 영향때문인 것으로 판단된다. 특히  $S_4O_6^{2-}$ 의 농도가 배양 3일째 최고치를 나타내었다가 그 후 급격히 낮아져 배양말기에는 완전히 산화되었다.

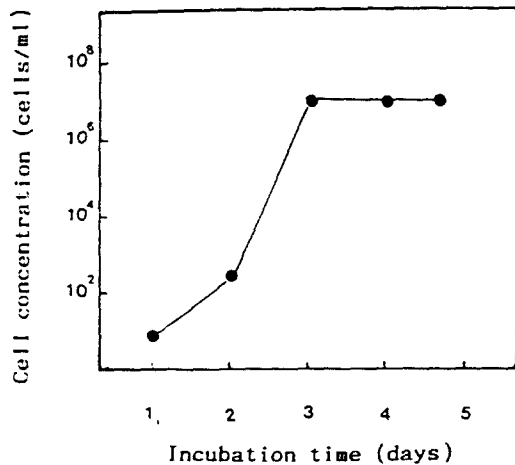


Fig. 1. Typical growth curve of *T. neapolitanus* R-10 on basal medium.

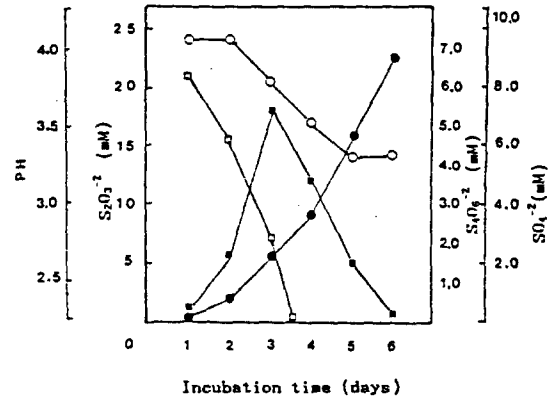


Fig. 2. Kinetics of *T. neapolitanus* R-10 on basal medium containing  $S_2O_3^{2-}$ : (O)pH, (●) $SO_4^{2-}$ , (□) $S_2O_3^{2-}$ , (■) $S_4O_6^{2-}$ .

#### 3.2 H<sub>2</sub>S 첨가농도의 영향

*T. neapolitanus* R-10을 BVM배지에  $H_2S$ 를 0.5, 1.5, 2.5 및 4.0 mM로 각각 첨가한 후 30°C에서 5일간 배양하면서 성장양상을 고찰하였다(Fig. 3A).  $H_2S$ 의 농도가 증가할수록 성장속도가 빨라졌으나, 4mM를 첨가한 경우 2.5mM 경우보다 오히려 성장속도가 낮게 나타난 것으로 보아 이 이상의 농도에서는  $H_2S$ 가 부분적으로 성장저해제로 작용되는 것으로 보인다. Fig. 3B는 균체성장에 가장 효과적인  $H_2S$  첨가농도인 2.5mM에서 배양하였을 때  $H_2S$ 의 소모 및 sulfate 농도변화를 보여준 것이다. 초기에 첨가된  $H_2S$ 는 배양 3일후 완전히 산화 제거되어 sulfate 농도 증가를 유발하였고, 이 시점에서 균체 성장은 정지되었다.

#### 3.3 MM 첨가농도의 영향

*T. neapolitanus* R-10을 BVM 배지에 MM을 0.5, 1.5, 2.5 및 4.0mM로 각각 첨가한 후 30°C에서 5일간 배양하면서 성장양상을 고찰하였다(Fig. 4A). MM의 첨가농도가 균체성장에 미치는 영향은 전체적으로  $H_2S$ 의 경우와 매우 유사하였으며, MM의 농도가 증가할수록 균체성장에 유리하였으나, 일정농도 이상에서는 MM이 저해현상을 유발

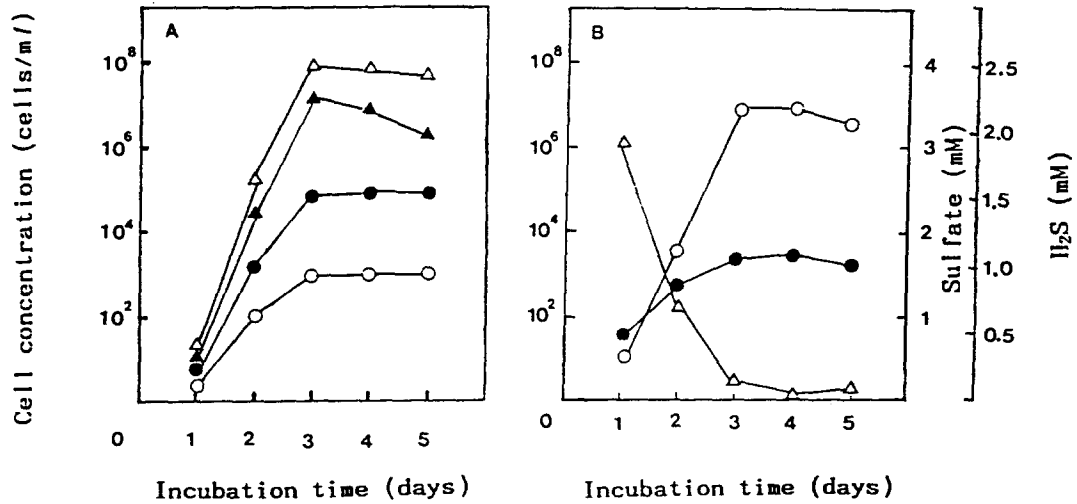


Fig. 3. Growth of *T. neapolitanus* R-10 in BVM medium supplemented with various concentrations of  $H_2S$ (A) and  $H_2S$  removal curve(B). Symbols in(A): (○)0.5mM, (●)1.5mM, (△)2.5mM, (▲)4.0 mM; Symbols in(B): (○)cell growth, (△) $H_2S$  disappearance, (●)sulfate formation.

하였다. 한편 MM 2.5 mM이 첨가된 배지에서 MM의 분해속도는  $H_2S$ 의 경우보다 다소 낮은 것으로 나타났고, 배양 5일후에 이르러 완전히 분해되었다(Fig. 4B).

#### 3.4 DMS 첨가농도의 영향

Fig. 5A는 *T. neapolitanus* R-10을 BVM 배지에 DMS를 0.5, 1.5, 2.5 및 4.0mM로 각각 첨가한

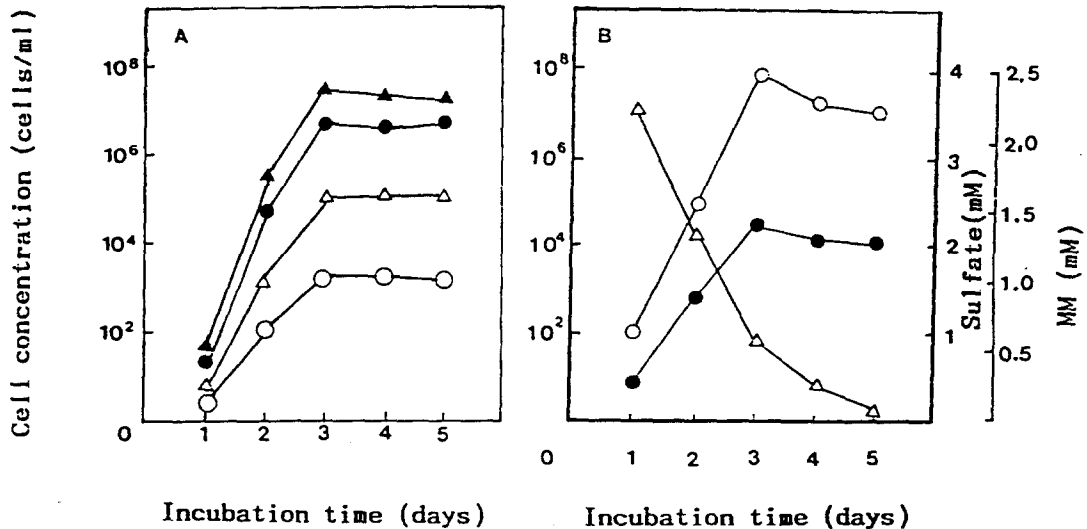


Fig. 4. Growth of *T. neapolitanus* R-10 in BVM medium supplemented with various concentrations of MM(A) and MM removal curve(B). Symbols in(A): (○)0.5mM, (△)1.5mM, (▲)2.5mM, (●)4.0 mM; Symbols in(B): (○)cell growth, (△)MM disappearance, (●)sulfate formation.

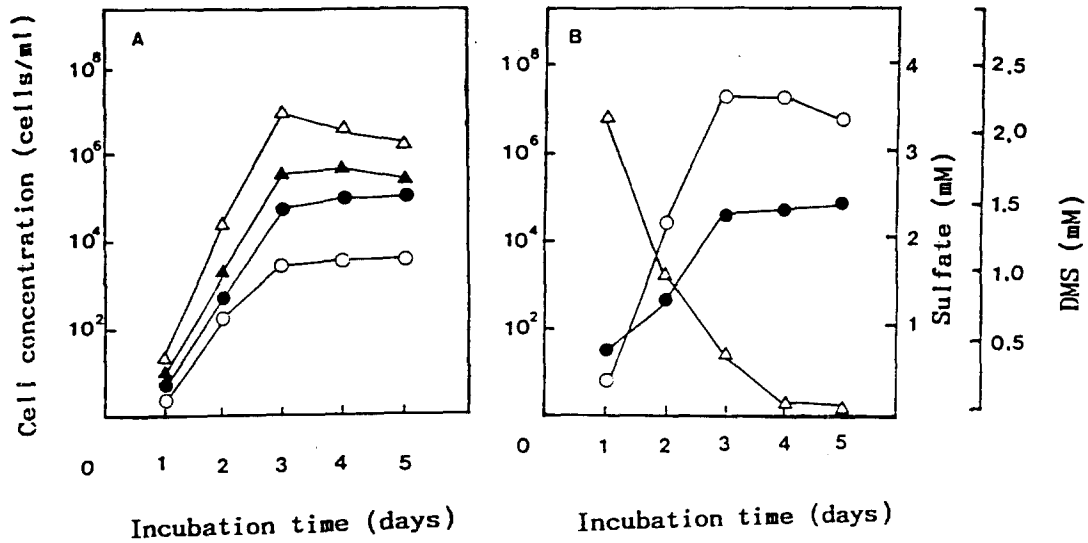


Fig. 5. Growth of *T. neapolitanus* R-10 in BVM medium supplemented with various concentrations of DMS(A) and DMS removal curve(B). Symbols in(A): (○)0.5mM, (●) 1.5mM, (△)2.5mM, (▲)4.0 mM; Symbols in (B): (○)cell growth, (△)DMS disappearance, (●)sulfate formation.

후 30°에서 5일간 배양하면서 성장양상을 고찰한 결과이다. H<sub>2</sub>S 및 MM을 첨가한 경우에 비해 전

체적으로 균체성장 속도가 낮았으나, 이 경우에도 2.5 mM를 첨가했을 때 성장이 가장 좋았다. Fig.

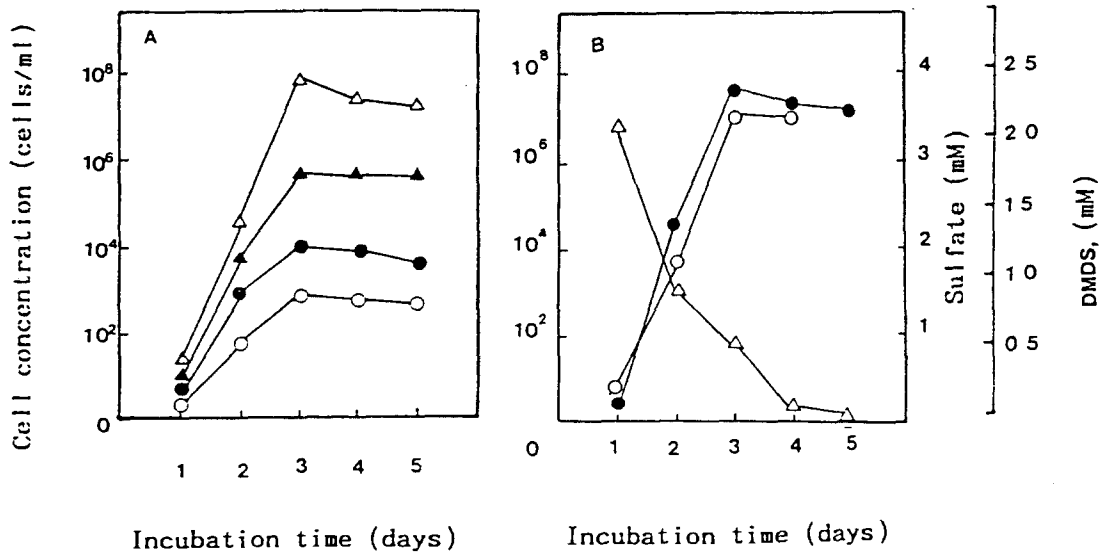


Fig. 6. Growth of *T. neapolitanus* R-10 in BVM medium supplemented with various concentrations of DMDS(A) and DMDS removal curve(B). Symbols in(A): (○)0.5mM, (●) 1.5mM, (△)2.5mM, (▲)4.0 mM; Symbols in (B): (○)cell growth, (△)DMDS disappearance, (●)sulfate formation.

5B에 나타난 바와 같이, DMS의 분해속도는 H<sub>2</sub>S보다는 낮았으나 MM의 경우보다는 빠른 것을 알 수 있었다.

### 3.5 DMDS 첨가농도의 영향

*T. neapolitanus* R-10을 BVM배지에 DMDS를 0.5, 1.5, 2.5 및 4.0mM로 각각 첨가한 후 30°C에서 5일간 배양하면서 성장양상을 고찰한 결과를 Fig. 6A에 나타내었다. DMDS를 첨가한 경우를 DMS의 경우와 비교했을 때, 첨가농도가 저농도 일 때는 DMDS가 성장저해 정도가 컸으나 2.5mM 이상의 첨가농도에서는 DMS의 경우와 거의 유사한 양상을 나타내었다. 한편 DMDS의 분해속도는 DMS의 경우와 유사하였으나 이때 생성된 sulfate의 농도는 높게 나타났는데, 이것은 배양중에 DMDS가 산화메카니즘이 다르기 때문인 것으로 판단된다.

## 4. 결 론

*Thiobacillus neapolitanus* R-10을 이용하여 H<sub>2</sub>S, MM, DMS 및 DMDS등의 유향을 함유한 악취발생 물질의 제거 실험을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) *T. neapolitanus* R-10은 H<sub>2</sub>S, MM, DMS 및 DMDS등을 모두 기질로 이용하여 분해할 수 있었으며, 배양중에 생성된 산화물의 영향으로 pH가 낮아지는 현상을 나타내었다.

(2) 기본배지에 H<sub>2</sub>S, MM, DMS 및 DMDS를 각각 0.5, 1.5, 2.5, 4 mM농도로 첨가하였을 때, 모든 경우에서 2.5 mM을 첨가했을 때 균체 성장이 가장 좋았고, 그 이상의 첨가농도에서는 성장에 저해현상을 나타내었다.

(3) 기본배지에 H<sub>2</sub>S, MM, DMS 및 DMDS를 각각 2.5 mM 농도로 첨가하였을 때, H<sub>2</sub>S와 MM의 경우는 거의 동일한 분해속도를 나타내었고, DMS 및 DMDS를 첨가한 경우도 비슷한 경향이

있었다.

## 감사의 글

본 연구는 산학협동재단과 주식회사 비전 산업의 지원으로 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 원용돈, 1984, 경성대학교 박사학위논문, p.18-24.  
 加藤龍夫, 石黒智彦, 重田芳廣, 1984, 悪臭の機器測定, 292-296, 講談社, 東京. 金川貴博, 1989, イオウ系悪臭物質の生物學的脱臭, 用水と廢水, 31 (5) 9-16.  
 西田耕之助, 井上仁, 1986, 土壤による悪臭除去の實用化についてねね, 産業と環境, 15(9), 93-96.  
 金川貴博, 1992, 微生物で悪臭を消す, 工業技術, 33(7), 28.  
 福山丈二, 本多淳裕, 1981, 悪臭の生物學的處理法とその實例, 環境技術, 10(6), 49-58.  
 金川貴博, 1991, 廢水處理施設への微生物脱臭法の適用, 水處理技術, 32(12), 625.  
 金川貴博, D.P. Kelly, 1986, *Thiobacillus thioparus*による硫化メチルの分解, 微工研報告, 66, 37-45.  
 De Bont. J. A. M., J. P. Vand Dijken and W.S. Harder. 1981, Dimethyl sulphoxide and dimethyl sulfide as a carbon, sulfur and energy source for growth of *Hyphomicrobium*, *J.Gen. Microbiol.*, 127,315.  
 Kanagawa, T. and D. P. Kelly, 1986, Breakdown of dimethyl sulfide by mixed cultures and *Thiobacillus thioparus*. *FEMS Microbiol Lett.*, 34, 13.  
 Lowry, O. H., F. A. L. Rosebrough and R. T. Randall, 1951, Protein measurement with

- the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 256-275.
- Sivela, S. and V. Sundman, 1975, Demonstration of *Thiobacillus* type bacteria, which utilize methyl sulfide, *Arch. Microbiol.*, 103, 303-310.
- Sivela, S., 1980, Dimethyl sulfide as a growth substrate for an obligate chemolithotrophic *Thiobacillus*, *Commentations Physico-Mathematicae Dissertationes*, 2. 1.
- Suylen, G. M. H. and J. G. Kuenen, 1986, Chemostat enrichment and isolation of *Hyphomicrobium* EG. *Antonie van Leeuwenhoek*, 52, 281.