매몰지 조기 안정화를 위한 유용 미생물의 효과에 관한 연구

김현숙¹ · 박수정² · 정원화² · Sathiyaraj Srinivasan³ · 이상섭^{3*}

¹경기대학교 생명공학과, ²국립환경과학원, ³경기대학교 생명과학과

The Study on the Effect of Efficient Microorganism for Early Stabilization of the Burial Sites

Hyun-Sook Kim¹, Sujung Park², Weonhwa Jheong², Sathiyaraj Srinivasan³, and Sang-Seob Lee^{3*}

¹Department of Bioengineering, Kyonggi University, Suwon 443-760, Republic of Korea

²Environmental Infrastructure Research Department, Water Supply & Sewerage Research Division,
National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Republic of Korea

³Department of Life Science, Kyonggi University, Suwon 443-760, Republic of Korea

(Received June 26, 2013 / Accepted November 11, 2013)

In this study, we have evaluated the effect of efficient microorganisms on odor-removal efficiency and early stabilization of the burial sites. We have developed an efficient microorganism designated as 'KEM' which have the ability to degrade organic compounds and remove odor effectively. Other efficient microorganisms already used on site, such as EM and *Bacillus* sp., were also compared. We preceded these experiment using lab-scale reactors under three conditions (control, only media and only body) and comparing the effect of with or without the application of tree efficient microorganisms separately. Analysis was focused on eight components (ammonia, TMA, H₂S, methyl mercaptan, dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, CO₂ and CH₄), and as a result, efficient microorganisms were shown efficiency in the removal of ammonia and methyl mercaptan. The applied KEM decayed up to 71.2% of the buried meat. We were unable to observe significant differences in microbial communities between efficient microorganisms-treated and non-treated reactors due to the large presence of microorganisms in both soil and carcasses. However, it was possible to observe the effect on odor control and decay rate through the application of efficient microorganisms.

Keywords: efficient microorganism, FMD (Foot and Mouth Disease), KEM, odor removing efficiency

최근 발생한 구제역과 조류 인플루엔자(AI)로 인해 전국 약 4,600개소의 매몰지에 돼지 213만 마리, 소 14만 마리, 조류 380만 마리의 동물 사체를 매몰하였고, 그에 따른 2차 환경 오염이 우려되고 있다(McBean and Ro Farquhar, 1995; Banks and Wang, 1999; Higgins *et al.*, 2002; Fuller and Manning, 2004). 구제역 발생 3년 뒤, 지금까지도 매몰인근 지역은 악취와 침출수의 발생이 이어지고 있다(Oberbremer *et al.*, 1990; Angelidaki and Ahring, 1992; Castaldi and Ford, 1992; Cassidy and Hudak, 2001; Wang and Vipulanander, 2001; Hanyang University, 2002; Fava *et al.*, 2004; Ireri *et al.*, 2008).

국민들의 생활수준과 환경에 대한 관심이 증가함에 따라 생활 환경 문제에 대한 관심과 민원 역시 증가하고 있다. 현재 안정화 효과가 검증되지 않은 유용 미생물 제제들이 매몰지에 무분

별하게 사용되고 있으며(Ministry of Environment, 2011), 이에 대한 기본 연구가 되어 있지 않은 것이 실정이다. 따라서 본 연구에서는 랩 스케일의 반응기를 통하여 매몰지 조기 안정화 및 악취 제어에 대한 유용 미생물의 효과를 알아보려 한다(Pinelli *et al.*, 1997; Zeev and Aharon, 2000; Zhang *et al.*, 2000; Salminen and Rintala, 2001; Janikowski *et al.*, 2002).

재료 및 방법

미생물 제제 선정 및 대량 배양

유용미생물 제제로는 혼합 균주 KEM을 개발하였다. KEM은 (주)닉시안과 환경미생물은행에서 분양 받았으며 유기물 및 질소 분해능이 있는 홍색 비항 혼합 광합성 박테리아와 질소 및 황 화합물 악취 제어능이 뛰어난 균주와 발효 균주를 혼합하여 만들었다. 또한 대조균으로써 EM과 바실러스를 선정하였으며, 현장에서 가장 많이 사용되고 있는 유용 미생물 제제로 알려져 있다

*For correspondence. E-mail: sslee@kyonggi.ac.kr; Tel.: +82-31-249-9642; Fax: +82-31-245-8868

Table 1. The list of efficient microorganism

Efficient microorganism	Microorganism
KEM	<i>Rhodopseudomonas capsulate</i> , <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Achromobacter</i> sp., <i>Alcaligenes</i> sp., <i>Paracoccus</i> sp., <i>Thiobacillus</i> sp., Fermented mixture
EM	Photosynthetic bacteria, <i>Pichia</i> <i>deserticola</i> , <i>Lactobacillus</i> sp.
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus alcalophilus</i>

(Table 1).

EM과 바실러스의 배양을 위해 멸균한 nutrient broth (NB, Difco, USA) 배지 1 L에 1% 계대배양하였다. 바실러스는 알칼리조건에서 최적배양의 조건을 보이는 것으로 확인되어 pH 8.0으로 조정하여 배양하였다. EM은 통성 혐기 조건에서, 바실러스는 호기 조건에서 24-48시간 동안 배양하였고, 이 후 대량 배양을 위해 20 L의 배양통에 계대하여 추가로 3-5일간 더 배양하였으며 모든 배양은 28℃에서 하였다.

KEM의 증식 배양을 위해 광합성 박테리아는 27M media (yeast extract 1.0 g, ethanol 0.5 ml, di-sodium succinate 1.0 g, 0.5% ferric citrate solution 1 ml, KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g, NaCl 0.4 g, NH_4Cl 0.4 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g, 1X Trace element solution SL-6 1 ml), 질소 화합물 약취 제거 균주는 ATCC 412 media (NH_4Cl 5.0 g, KH_2PO_4 2.0 g, NaCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, FeSO_4 0.002 g, MnCl_2 0.002 g, yeast extract 0.2 g), 황 화합물 약취 제거 균주는 *Thiobacillus* selective media (yeast extract 2.0 g, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5.0 g, KH_2PO_4 1.5 g, Na_2HPO_4 4.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, NH_4Cl 0.3 g), 발효균주는 NB를 사용하였다. 각 미생물은 배지 1 L에 1%(v/v)을 계대배양하였다. 광합성 박테리아와 발효균주는 통성 혐기조건으로 48-72시간 동안 배양하였고, 혼합 균주와 질소 및 황 화합물 약취 제거 균주는 호기조건으로 배양하였으며 24-48시간 동안 배양하였다. 이 후 대량 배양을 위해 20 L의 배양통에 계대하여 3-5일간 동안 28℃에서 배양하였다. 균주는 초기 주입 후, 200일이 경과한 뒤로는 한 달에 한번씩 미생물 제제(1 g/L, w/v)와 수분 500 ml을 추가 주입해주었다.

Fig. 1. Diagram of reactor and lab-scale of reactor.**Table 2.** The condition of analysis for sulfur compounds

Column	DB-dioxin
Oven	200
Temp. (°C)	Inlet 280
Detector	300

Table 3. The condition of analysis for CO_2 and CH_4

Column	HP-plot Q
Oven	23
Temp. (°C)	Inlet 280
Detector	300

Table 4. The condition of analysis for ammonia

Column	Waters IC-Pak Cation M/D
Eluent	0.1 mM EDTA / 3.0 mM Nitric Acid
Flow Rate	1 ml/min
Detector	Conductivity

Table 5. The condition of analysis for TMA

Column	HP-5
Oven	220
Temp. (°C)	Inlet 280
Detector	270

가축 사체 선정 및 반응기 제작

가축 사체는 부분 사체를 사용하였으며, 실제 가축의 육질과 내장(3:2) 비율, 혈액의 비율(사체 무게의 5%)을 고려하여 매물 하였다. 반응기는 매물지의 축소형 모형(1/35비율로 축소)으로 제작하였으며, 반응기의 상층부에는 발생하는 가스를 포집할 수 있도록 tedlar bag을 연결하였고, 하층부에는 발생하는 침출수를 모을 수 있도록 관을 연결하였다(Fig. 1). 유용 미생물 적용군에 대한 대조군으로는 미생물을 적용하지 않은 경우(control), 배지만 적용한 경우(only media), 토양에 매물하지 않고 사체만 적용한 경우(only body)로 나누어 준비하였다.

가스 성분 분석

배출되는 가스 성분은 가스 포집 장치와 가스를 액상으로 포집하는 장치, 두 가지 방법으로 포집 후 분석하였다. 기체 포집 장치와 tedlar bag을 사용하여 기체를 포집 한 후, 황 화합물 약취 성분인 황화수소, 메틸머캅탄(methyl mercaptane), DMS (dimethyl sulfide), DMDS (dimethyl disulfide) 및 탄화수소계 성분(CO_2 , CH_4)은 농축시킨 후 GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectroscopy)로 분석하였다(Tables 2 and 3). 질소 화합물 약취 성분인 암모니아, TMA (trimethylamine)은 펌프와 imprinter 장치를 이용하여 액상 흡수액에 포집하였으며, 암모니아는 IC (Ion Chromatography)로 분석하였고(Table 4), TMA는 GC-FID (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector)로 분석 하였다(Table 5).

미생물의 군집 분포도 변화 분석

미생물의 군집 분포의 변화를 분석하기 위하여 다양한 분자

Table 6. Molecular methods for microbial community analysis

Method	Category	Format of result	Database construction	Cost
DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis)	Fingerprint	Gel/band image	No	Low
TGGE (temperature gradient gel electrophoresis)	Fingerprint	Gel/band image	No	Low
SSCP (single strand conformation polymorphism)	Fingerprint	Gel/band image	No	Low
Clone library	Sequencing	Sequences	Yes	High
Pyrosequencing	Sequencing	Sequences	Yes	Medium

생물학적 방법이 개발되었다. 대부분의 경우 16S rDNA를 PCR로 증폭해서 이를 분석에 사용하며(Table 6), 본 연구에서는 DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis)와 pyro-sequencing을 통해 분석하였다(Amann *et al.*, 1995). Pyrosequencing은 16S rRNA 유전자의 V1~ 3 부분을 분석하였으며, primer는 V1-9F (5'-X-ACGAGTTTG TCMTGGCTCAG-3')와 V3-541R (5'-X-ACWTTACCGCGG TGCTGG-3')을 사용하였다(Chun *et al.*, 2010). 각 시료에서 FastDNA spin kit for soil of fecal (MP Biomedicals, USA)을 이용하여 DNA를 추출하였고, 천랩 연구소에 Pyrosequencing 분석을 의뢰하였다. 또한, DGGE의 미생물 군집 분포도를 확인하기 위하여, 추출한 DNA를 미생물의 일반적인 primer 341F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')와 907R (5'-CCGTCAATTC TTTGAGTTT-3')를 이용하여 1차 PCR을 수행하였다. 그 후, GC-clamp가 달린 341F (5'-CGCCCCGGG CGCGCCCCGGG CGGGGCCCTAC GGGAGGCAGCA-3')와 907R를 이용하여 2차 PCR을 수행하였다. 2차 PCR 결과물로 DGGE를 수행하였다. DGGE의 변성제 농도는 각 30%와 60%를 사용하였다.

결과 및 고찰

다양한 조건의 모형 매몰지의 가축 사체 분해율 조사 연구

가축 사체 분해 속도를 간접적으로 확인하기 위해 반응기의 전제 무게를 2주에 한번씩 측정하였다. 200일 후부터 주기적으로 수분 및 미생물 제제를 공급해 준 결과 확연하게 사체 분해 속도가 빨라진 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 2). 사체 분해 속도는

Fig. 2. Average weight decreasing rate of in vessel meat. (◆) Control, (■) Only media, (▲) Only body, (X) EM, (Ж) KEM, and (●) Bacillus

미생물을 적용하지 않은 경우 5.72 g/day이었고, 유용 미생물 EM, KEM, 바실러스를 적용하였을 경우 각각 6.28, 6.20, 5.47 g/day인 것으로 나타났다. 또한 배지만 적용하였을 경우에는 5.70, 사체만 적용한 반응기에서는 3.26 g/day이었다. 반응기 내의 남은 가축 사체의 양은 적은 양의 지방질과 소량의 부분 사체만이 관찰되었다. 가축 사체 분해율에서는 유용 미생물에 따른 효과가 크게 나타나지 않았는데 이는 반응기에 함께 매몰한 토양에 존재하는 토양 미생물에 의한 작용으로 사료된다.

또한 가축 사체 제거율은 사체만 적용한 반응기를 제외하고 모두 약 30%를 보였으며, 유용 미생물 EM과 KEM을 적용한 반응기에서 40, 45.8%의 제거율을 보였다. 주기 적인 수분 공급 후에는 제거율이 67%까지 증가하였으며, EM과 KEM을 적용하였을 경우 76, 71.2%까지 증가한 것을 확인하였다.

Fig. 3. Tendency of CO₂ emission (A) and CH₄ emission (B). CO₂ was generated continuously with high concentration, CH₄ emission level was increased after 200 days. (◆) Control, (■) Only media, (▲) Only body, (X) EM, (Ж) KEM, and (●) Bacillus

탄화수소계 성분 분석

CO₂ : CO₂는 연구기간 동안 지속적으로 발생되었으며, 사체 부패 정도에 따라 배출량이 증가되는 것을 확인하였다(Fig. 3A). CO₂의 배출 잔량은 사체만 적용한 반응기에서 14344.60 mg으로 가장 높은 값을 보였고, 사체 적용 반응기를 제외한 다른 모든 반응기에서는 모두 비슷한 값을 가지는 것으로 확인되었다(Fig. 4A).

CH₄ : 초기에 발생되지 않았으나, 주기적으로 수분과 미생물 제제를 주입 해준 이후부터 발생량은 점차 증가 후 다시 감소되는 것을 확인하였다(Fig. 3B). 바실러스를 적용하였을 경우 27.10 mg으로 배출잔량이 다른 유용 미생물을 적용한 반응기의 배출 잔량보다 가장 낮은 값을 나타내었다. 그러나 대조군 중, 미생물을 적용하지 않은 반응기와의 배출 잔량을 비교하였을 때, 유용 미생물을 적용한 반응기에서의 배출 잔량이 더 높은 것으로 나타났다(Fig. 4B).

질소 화합물 악취 성분 분석

암모니아: 암모니아의 발생량은 시간이 경과 될수록 전체적으로 크게 증가 하였으며, 균과 배지의 추가 주입에 따라 발생량의 증감 추세가 모든 반응기에서 관찰되었다. 초기에 모든 반응기에서 암모니아의 발생 농도는 모두 비슷하였고, 200일이 지난 후에 3개의 대조군(미생물을 적용하지 않은 경우, 배지만 적용한 경우, 사체만 적용한 경우)의 반응기에서 많은 양의 암모니아를 발생하였다. 또한, 미생물을 적용하지 않은 반응기에서 발생된 암모니아의 총량이 가장 많았다(Fig. 5A). EM, KEM, 바실러스를 각각 적용하였을 경우, 배출 잔량은 0.26, 0.33, 0.38 mg으로

Fig. 4. According to decomposed rate of carcass, remained the CO₂ level (A) and CH₄ level (B). Efficient microorganism cannot show the removing efficiency for CO₂ and CH₄.

로 나타났다(Fig. 6A).

TMA: TMA는 사체가 부패 될 때 발생하는 악취이다. 초기 모든 반응기에서 사체의 분해가 활발히 일어나며 높은 농도의 TMA가 검출되었으나, 시간이 경과할수록 발생량은 감소하는 것을 확인 하였다(Fig. 5B). KEM을 적용하였을 경우 3.45 mg의 TMA 배출 잔량을 확인하였지만, 다른 유용 미생물을 적용한 경우에는 EM과 바실러스 적용한 반응기에서 각각 7.53, 7.23 mg으로 대조군 반응기보다 많은 양의 TMA가 잔존하고 있음을 확인하였다(Fig. 6B).

황 화합물 악취 성분 분석

황화수소: 황화수소는 아미노산 중 황을 함유하고 있는 시스테인과 메티오닌이 분해될 때 생성된다(Eweis *et al.*, 1998). 초기 한 달 동안은 사체 분해가 활발히 일어나면서 많은 양의 황화수소를 발생하였지만, 그 이후 급격히 발생량이 감소하여 약 40 일 이후부터는 거의 발생되지 않는 것으로 확인되었다(Fig. 7A). KEM을 적용한 반응기에서 황화수소의 잔존량은 0.37 mg으로 가장 낮은 값을 보였으나, 사체만 매몰한 경우를 제외한 다른 대조군 반응기에서도 각각 0.44, 0.64 mg으로 낮은 잔존량이 확인되었다(Fig. 8A).

Fig. 5. Tendency of ammonia emission (A) and TMA emission (B). At initial time ammonia emission level very low, however after 200 days emission level increased all vessels. At initial time TMA emission level very high all vessels, but according to time emission level decreased. (◆) Control, (■) Only media, (▲) Only body, (X) EM, (●) KEM, and (●) Bacillus

메틸머캅탄: 메틸머캅탄은 연구기간 동안 지속적으로 발생하는 추이를 보였으며, 균주의 추가 주입을 하였을 때 발생량이 증가되었다 감소되는 현상을 보였다(Fig. 7B). 또한, 유용 미생물을 적용한 반응기에서 대조군에 비해 발생량이 높은 것으로 나타났다. 이는 주입한 미생물에 의해 사체 분해가 진행되면서 가스가 발생되었다가, 이를 다시 균이 제거함으로써 가스의 발생량이 줄어든 것으로 사료된다. 메틸머캅탄의 배출 잔량은 유용 미생물 EM, KEM, 바실러스를 적용하였을 때 각각 0.90, 0.61, 1.41 mg으로 나타났다(Fig. 8B).

DMS: DMS는 미생물에 의해 사체 분해가 일어나, 발생된 황화수소의 메틸화를 통해 발생하게 되며, 이는 황화수소의 발생량이 줄어드는 시점에, DMS의 발생량은 반대로 증가하는 것을 통해 알 수 있다.

약 한달 후부터 모든 조건에서 DMS의 발생이 측정되었으며 바실러스를 적용한 반응기에서는 높은 농도의 DMS를 발생하였다(Fig. 7C). 유용 미생물을 적용한 반응기에서의 배출 잔량은 각각 EM은 0.34 mg, KEM은 0.51 mg, 바실러스는 1.05 mg으로 대조군보다 높게 나타났다(Fig. 8C). 이는 적용한 미생물에 의해 사체 부패가 활발하게 일어나 DMS가 지속적으로 발생됨에 따른 현상으로 사료된다.

DMDS: DMDS의 경우 초기부터 고농도로 발생하였으며, 시간이 경과할수록 사체만 매몰되어 있는 반응기에서 DMDS의 발생이 지속되는 것을 확인하였다(Fig. 7D). DMDS의 배출 잔량은 사체만 적용한 경우에 4.87 mg으로 가장 높은 값을 나타냈고, 다른 반응기에서는 큰 차이 없이 모두 비슷한 값을 가지는 것

Fig. 6. According to decomposed rate of carcass, remained the ammonia level (A) and TMA level (B). KEM showed the good removing efficient for TMA, ammonia also decreased by KEM a little.

Fig. 7. Tendency of H₂S emission(A), MM emission(B), DMS emission(C) and DMDS emission(D). Usually sulfur compounds were occurred at initial time with high concentration. (◆) Control, (■) Only media, (▲) Only body, (X) EM, (Ж) KEM, and (●) Bacillus

으로 확인되었다(Fig. 8D).

Fig. 8. According to decomposed rate of carcass, remained the H₂S level (A), MM level (B), DMS level (C), and DMDS level (D). KEM showed odor removing efficiency for H₂S and MM.

미생물의 군집 분포도 변화 분석

DGGE: 분석 결과의 대조군으로 사용하기 위하여 혼합균주 KEM에 대하여 DGGE 분석을 실시하였다(Fig. 9). 광합성 박테리아, 질소 화합물 악취 제거 균주, 황 화합물 악취 제거 균주와

Fig. 9. The DGGE results from KEM mixture (M, marker; N, negative; 1, fermented mixture I; 2, fermented mixture II; 3, sulfur odor removing mixture; 4, nitrogen odor removing mixture; and 5, photosynthetic bacteria mixture).

Fig. 10. The DGGE results from reactor at initial time (A), after 214 days (B) and after 314 days (C). According to the period of the time, species diversity was reduced (M, marker; C, Control; D, only media; O, only body; E, EM; K, KEM; B, Bacillus; and N, negative).

발효균주의 gel상에서의 밴드의 위치를 확인하여 다른 시료들의 DGGE 분석에 있어 대조균으로 활용하였다. 균의 분포도 분석 결과 황 화합물 약취 제거 균주를 기준으로 발효균주 I은 71.8%, 발효 균주 II는 59.0%, 광합성 박테리아는 65.4%, 그리고 질소 화합물 약취 제거 균주와는 72.5%의 유사도를 보였다.

가축 사체의 부패가 진행됨에 따라 각 반응기 내 미생물의 분포도의 종 다양성이 감소되는 것을 확인하였으며(Fig. 10), 밴드 상의 빨간 사각형은 KEM 균주의 위치를 나타낸다. 실험 초기 DGGE 분석 결과, 반응기 내에서의 미생물의 종 다양성을 확인할 수 있었다. 또한 미생물을 적용하지 않은 반응기와 각 유용 미생물을 적용한 반응기에서의 균 분포도는 상이하게 다른 것을 확인하였다.

TMA와 황화수소의 발생량이 증가되는 가축 사체 부패의 초기 단계에서는 DGGE 분석 후 대조균의 밴드 위치와 비교해본

결과, 유용 미생물의 밴드가 뚜렷하게 관찰되어 미생물 분포도 내의 경쟁에서 효율적으로 생존하고 있음을 확인하였다.

주기적으로 수분과 미생물 제제를 공급해준 이후의 DGGE 결과에서는 미생물의 분포도가 전체적으로 다양성이 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 추가 주입한 유용 미생물 제제가 우점화가 이루어진 것으로 사료된다.

Pyrosequencing: Pyrosequencing 결과 사체 부패 전에는 사체만 적용한 반응기와 바실러스 적용 반응기를 제외한 모든 반응기의 초기 샘플에서는 uncultured bacteria (39.2%), *Bacillus* sp. (18.7%), *Enterobacter* sp. (40.1%), *Acinetobacter* sp. (24.6%) 등이 대부분을 차지하고 있었다(Fig. 11). 또한 사체만 적용 반응기와 바실러스 적용 반응기의 대부분은 병원성 미생물로 확인되었다.

사체 부패가 시작된 시점에서는 *Acinetobacter* sp. (31.4%)와 *Enterobacter* sp. (21.1%)와 *Pseudomonas* sp. (49.4%) 등이 우

Fig. 11. The pyrosequencing results from control (A), only media (B), only body (C), EM (D), KEM (E), and *Bacillus* sp. (F) at initial time.

점화를 이루었다(Fig. 12). 미생물 미적용 반응기와 사체만 적용 반응기에서는 여전히 병원성 미생물이 관찰되었으나, 유용 미생물 KEM을 적용한 경우 병원성 미생물은 확인되지 않았다.

사체 부패가 완료된 시점에서는 *Planococcaceae* (48.1%), *Clostridium* sp. (62.8%), uncultured bacteria (39.0%) 등이 우점화를 이루고 있었으며 군 다양성이 많이 줄어든 것을 확인하였고, 사체만 적용한 반응기를 제외하고 병원성 미생물의 분포가 줄어든 것을 확인하였다(Fig. 13.)

결론

본 연구에서는 매몰지 모형 반응기에 유용 미생물을 적용하

여 악취 저감효율에 따른 유용성 평가를 목적에 두고 실험하였다. 반응기 내의 가축 사체 분해 속도는 주기적인 수분 공급이 이루어졌을 때 증가되었으며 유용 미생물 EM과 KEM을 적용하였을 때 사체가 더 빠르게 분해되는 것으로 나타났다.

유용 미생물을 적용하였을 경우 암모니아와 메틸머캅탄의 배출 잔량이 대조군에 비해 적은 것을 통하여 악취 저감 효율을 확인하였다. 그러나 DMS의 경우 대조군 반응기의 배출 잔량보다 유용 미생물 적용 반응기의 배출 잔량이 많은 것으로 확인되어 저감 효율을 확인 할 수 없었다.

연구에 사용된 일반 토양 자체에 이미 많은 토양 미생물이 포함되어 있고, 또한 가축 사체 내에도 미생물들이 존재하므로 유용 미생물을 투입하였을 때 뚜렷한 변화는 확인 할 수 없었다. 그

Fig. 12. The pyrosequencing results from control (A), only media (B), only body (C), EM (D), KEM (E), and *Bacillus* sp. (F) after decomposed carcasses.

러나 일정 부분 악취 제어와 부패 속도 등에 효과를 증대시켰다. 또한, 악취 종류와 적용하는 유용 미생물의 종류에 따라 차이가 있지만, 유용 미생물을 적용하였을 때 악취 저감 효율은 높은 것으로 나타났다.

모든 매몰지에 유용 미생물 사용은 경제성과 효율성을 고려해야 하며, 초기 안정화가 필요하나 토양 환경이 좋지 않을 때 유용 미생물의 투입이 필요하다. 이때는 매몰지침과 유용 미생물 사용 지침을 새로이 만들어야 할 것이다.

적요

본 연구를 통해 유용 미생물을 적용하여 악취 저감 효과 및 초기 안정화에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 유기물 분해능

과 악취 제어능이 뛰어난 유용 미생물 KEM을 개발하고, 이미 현장에 사용 중인 EM과 바실러스를 각각 적용하였다. 랩 스케일의 매몰지 모형 반응기를 제작하여 유용 미생물을 각각 적용한 경우와 적용하지 않은 경우(미생물을 적용하지 않고 사체만 매몰한 경우, 배지만 적용한 경우, 사체만 적용한 경우)로 나누어 실험을 진행하였다.

주기적인 수분 공급을 해줌으로써 가축 사체의 분해속도가 빨라진 것을 확인하였고, 유용 미생물을 적용한 반응기의 사체 분해속도가 대조군 보다 빠른 것을 확인하였다. 가스는 총 8개의 성분(암모니아, TMA, 황화수소, 메틸머캅탄, DMS, DMDS, CO₂, CH₄)을 중점적으로 분석하였으며, 그 결과 유용 미생물을 적용하였을 경우 암모니아와 메틸머캅탄에 대하여 악취 저감 효율을 보였다.

Fig. 13. The pyrosequencing results from control (A), only media (B), only body (C), EM (D), KEM (E), and *Bacillus* sp. (F) after finished the decomposed carcasses.

연구에 사용되었던 토양 내에 많은 토양 미생물과 가축 사체에
도 많은 미생물들이 존재하고 있어, 유용 미생물을 투입하였을
때의 뚜렷한 차이는 볼 수 없었다. 그러나 일정 부분에 한하여 악
취 저감 효과와 부패 속도를 증가시키는 효과를 확인 할 수 있었다.

감사의 말

이 논문은 국립환경과학원(20120527134)과 미래 창조 과학
부/연구재단(2010-0007473)의 연구비로 수행되었습니다.

참고문헌

- Amann, R.L., Ludwig, W., and Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **59**, 143–169.
- Angelidaki, I. and Ahring, B.K. 1992. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 808–812.
- Banks, C.J. and Wang, Z. 1999. Development of a two phase anaerobic digester for the treatment of mixed abattoir wastes. *Water Sci. Technol.* **40**, 67–76.
- Cassidy, D.P. and Hudak, A.J. 2001. Microorganism selection and biosurfactant production in a continuously and periodically operated bioslurry reactor. *J. Hazard Mat.* **84**, 253–264.
- Castaldi, F.J. and Ford, D.L. 1992. Slurry bioremediation of petrochemical waste sludges. *Water Sci. Technol.* **25**, 207–212.
- Chun, J., Kim, K.Y., Lee, J.-H., and Choi, Y. 2010. The analysis of oral microbial communities of wild-type and toll-like receptor 2-deficient mice using a 454 GS FLX Titanium pyrosequencer. *BMC Microbiol.* **10**, 101.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.Y., and Schroeder, E.D. 1998. Bioremediation Principles pp. 207–236, McGraw-Hill, USA.
- Fava, F., Berselli, S., Conte, P., Piccolo, A., and Marchetti, L. 2004. Effects of humic substances and soya lecithin on the aerobic bioremediation of a soil historically contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Biotechnol. Bioeng.* **88**, 214–223.
- Fuller, M.E. and Manning, J.F. 2004. Microbiological changes during bioremediation of explosives-contaminated soils in laboratory and pilot-scale bioslurry reactors. *Bioresour. Technol.* **91**, 123–133.
- Hanyang University. 2002. Simultaneous Odors and Nutrients Removal Process Development by Soil Origin Microorganisms. Report for National Institute of Environmental Research.
- Higgins, M.J., Murthy, S.N., Striebig, B., Hepner, S., Yamani, S., Yarosz, D.P., and Toffey, W. 2002. Factors affecting odor production in Philadelphia Water Department Biosolids. Proceedings of Water Environment Federation Odors and Toxic Air Emissions.
- Ileri, V.R.G., Fabio, F., and Hector, M.P.V. 2008. A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. *Microb. Cell Fact.* **7**, 5.
- Janikowski, T.B., Velicogna, D., Punt, M., and Daugulis, A.J. 2002. Use of a two-phase partitioning bioreactor for degrading polycyclic aromatic hydrocarbons by a *Sphingomonas* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **59**, 368–376.
- McBean, E.A. and Ro Farquhar, G.J. 1995. Solid waste landfill engineering and design. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Ministry of environment. 2011. 정부, 전국 매몰지 일제 조사 후 보완·정비 착수. http://www.me.go.kr/web/286/me/common/board/detail.do?boardId=notice_02&decorator=me&idx=176629
- Oberbremer, A., Muller-Hurtig, R., and Wagner, F. 1990. Effect of the addition of microbial surfactants on hydrocarbon degradation in a soil population in a stirred reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 485–489.
- Pinelli, D., Fava, F., Nocentini, M., and Pasquali, G. 1997. Bioremediation of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil by using different aerobic batch bioreactor system. *J. Soil Contam.* **6**, 243–256.
- Salminen, E. and Rintala, J. 2001. Anaerobic digestion of organics solid poultry slaughterhouse waste – a review. *Bioresour. Technol.* **83**, 13–26.
- Wang, S.Y. and Vipulanandar, C. 2001. Biodegradation of naphthalene contaminated soils in slurry bioreactors. *J. Environ. Eng.* **127**, 748–754.
- Zeev, R. and Aharon, A. 2000. Anaerobic-aerobic process for microbial degradation of retribromobisphenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2372–2377.
- Zhang, C., Hughes, J.B., Nishino, S.F., and Spain, J.C. 2000. Slurry-phase biological treatment of 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene: role of bioaugmentation and effects of high dinitrotoluene concentrations. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2810–2816.