

Acetohydroxamic acid 이용한 Urea로부터 암모니아 발생 저감 연구

윤광수^a, 오하은^b, 정민웅^c, 황옥화^d, 윤여명^{et}

Reduction of ammonia conversion from urea by adding acetohydroxamic acid

Gwang Su Yun^a, Ha Eun Oh^b, Min Woong Jung^c, Okhwa Hwang^d, Yeo-Myeong Yun^{et}

(Received: Sep. 15, 2021 / Revised: Sep. 23, 2021 / Accepted: Sep. 23, 2021)

ABSTRACT: Ammonia, primarily originating from urinary urea of the livestock manure, is known to play as a major precursor of fine particulate matter (PM_{2.5}) generation which leads to a decrease in air quality and to harmful effects on public health. The objective of this study was to evaluate the effect of acetohydroxamic acid (AHA) addition on inhibition of ammonia conversion from urea. The experiment was performed at different urea concentration (500-4,000 mg Urea-N/L), AHA concentration (0-4,000 mg AHA/L), pHs (pH 6-10), and temperature (10-35°C). The result showed that the urease inhibition efficiency increased at higher concentration of AHA. However, the specific urease inhibition activity decreased at higher pH, showing 867.1±6.7 Unit/g AHA at pH 6 and 1,167.9±17.4 Unit/g AHA at pH 10, respectively. Decreased urease inhibition efficiency at both AHA and control was observed at higher temperature. This finding indicates that AHA can be used as the urease inhibitor for reducing ammonia emission in the management of livestock manure.

Keywords: Acetohydroxamic acid, Ammonia, Urea, Urease inhibitor

초 록 가축분뇨의 요소에서 유래하는 암모니아는 미세먼지(PM_{2.5}) 생성의 주요 전구체로 작용하여 대기질을 저하시키고 공중 보건에 유해한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 목적은 Acetohydroxamic acid(AHA)의 주입에 따른 요소로부터 암모니아 전환의 억제에 대한 효과를 평가하는 것이었다. 실험은 다양한 요소 농도(500-4,000 mg Urea-N/L), AHA 농도(0-4,000 mg AHA/L), pH(pH 6-10) 및 온도(10-35°C)범위에서 수행되었다. 그 결과 AHA 농도가 높을수록 Urease 억제 효율이 증가함을 보여주었다. 그러나 특정 Urease 억제 활성은 pH가 높을수록 감소하여 pH 6에서 867.1±6.7 Unit/g AHA, pH 10에서 1,167.9±17.4 Unit/g AHA를 나타냈다. AHA와 대조군 모두에서 높은 온도에서 요소분해효소 억제 효율이 감소됨을 확인하였다. 본 연구결과를 통해 AHA가 가축분뇨 관리에서 암모니아 배출을 줄이기 위한 요소분해효소 억제제로 사용될 수 있음을 확인하였다.

주제어: Acetohydroxamic acid, 암모니아, 요소, 요소분해효소

- ^a 충북대학교 환경공학과 박사과정(Ph. D. Student, Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University)
^b 국립축산과학원 축산과학과 연구원(Researcher, Division of Animal Environment, National Institute of Animal Science)
^c 국립축산과학원 축산과학과 연구관(Senior Researcher, Division of Animal Environment, National Institute of Animal Science)
^d 국립축산과학원 축산과학과 연구사(Researcher, Division of Animal Environment, National Institute of Animal Science)
^e 충북대학교 환경공학과 조교수(Assistant Professor of Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University)

† Corresponding author(e-mail: ymyun@chungbuk.ac.kr)

1. 서론

국내의 급격한 경제발전에 따른 국민의 서구화된 식습관 변화는 축산 수요의 증가로 이어졌으며 이에 따른 축산업의 규모 증가와 가축분뇨 발생량은 지속적으로 증가하고 있다.¹⁾ 발생된 가축분뇨는 그동안 정부의 가축분뇨 자원화 정책 추진에 의해 자원화 공정을 거친 후 농경지로 환원되는 경축순환 방법을 적용하고 있으나 가축분뇨 발생량은 증가하는데 비해 농경지 면적의 지속적으로 감소하면서 가축분뇨 관리에 어려움이 가중되고 있다.¹⁾ 최근 가축분뇨 관리 과정에서 발생하는 악취는 쾌적한 대기질을 원하는 주민들로부터의 민원 증가 및 사회적 갈등의 중심이 되고 있다.²⁾ 축산악취 중 축종별 가장 많은 악취 민원의 발생은 양돈 축산으로부터 비롯되며 가축의 부적절한 사육 관리, 축사 내·외부의 청결관리, 분뇨의 장기간 저장 및 관리 소홀이 가장 큰 원인이다.

이 중 가축분뇨의 장기간 저장과정에서 발생하는 악취는 가축분뇨 슬러리 내 영양성분이 혐기성 상태에서 특정 미생물군에 의해 분해되는 과정에서 발생하는 것으로 알려져 있다. 탄수화물과 지방은 산발효 미생물에 의해 단사슬 지방산(Short chain fatty acid : SCFA), 이산화탄소 및 수소가 생성되고, 단백질의 경우 단사슬지방산(SCFAs), 페놀류, 인돌류, 황화합물류, 암모니아, 아민 등이 생성된다.³⁻⁵⁾

최근 축산 분야는 국내 주요 암모니아(NH₃)의 배출원 중 하나로 알려지고 있으며 발생된 암모니아는 규제대상 악취물질 중 하나로서의 영향 뿐만 아니라 최근 이슈가 되고 있는 2차 미세먼지 발생의 주요 전구물질로 작용하는 것으로 보고됨에 따라 축산 암모니아 발생 저감을 위한 기술적 제도적 대책이 강구됨에 따라 축사 환경의 중요성이 증대하고 있는 상황이다.

가축분뇨 내 질소는 전체 중 20-50%는 분을 통하여, 50-80%는 오줌으로 배설된다. 가축의 오줌으로 배설되는 질소의 약 97%는 요소(Urea) 형태이며 이 요소는 가수분해나 호기성 발효과정을 거쳐 암모니아로 변한다. 반면, 축분에 함유된 단백질은 단백질분해 세균에 의한 혐기성발효과정을 거쳐 펩타이드나 아미노산으로 분해되고 탈아민 세균에 의해 암모니아로 변하게 되는데 이 반응은 요소의 가수분해보다 늦어 장

기간의 시간이 소요되어 소변으로부터 유래되는 암모니아와 비교하여 상대적으로 악취 발생에 영향이 적다고 알려져 있다. 요소는 요소분해효소(Urease)가 없는 경우 25 °C 에서 40년의 반감기를 가지는 매우 안정한 물질이나 요소분해효소와 결합 시 반감기가 20 ms로 매우 빠르게 분해가 진행된다.^{7,8)} 요소분해효소는 요소 가수분해를 위해 활성부위에 두 가지 유형의 친화성 니켈 수송 시스템(Nik system, HoxN system)을 이용해서 2개의 니켈(Ni) 이온을 끌어당겨 결합이 이루어진다. 따라서 해당 과정에 관여하는 요소분해효소의 활성 조절을 통해 축사 내 암모니아 발생을 억제할 수 있는 기술 개발이 요구되지만 이들의 메커니즘에 대한 확립 및 기초연구가 아직 부족한 상황이다.⁶⁾

Acetohydroxamic acid(AHA)는 요소분해효소(Urease) 억제제로 알려져 있으며 요소분해효소의 니켈 이온(Ni²⁺)활성 부위에 요소보다 빠르게 결합하여 활성부위의 플랩(Flap)이 닫힌 상태로 고정되어 요소의 가수분해를 억제하게 된다.⁷⁻¹⁰⁾ AHA는 이미 토양 내 요소비료의 살포 시 토양 토착미생물 분비 요소분해효소의 활성을 억제하여 암모니아 전환 및 요소 소실을 억제 기능으로 활용되고 있으나 가축분뇨 암모니아 사전저감을 위한 활용 연구는 현재까지 수행 실적이 없다.¹¹⁻¹⁴⁾

따라서 본 연구는 AHA 주입을 통해 가축분뇨 중뇨 내 요소분해효소의 활성 저감 및 요소의 암모니아 전환을 억제하는 것을 주요 목적으로 하였다. 실험은 합성 요소를 이용하여 축사의 일반적인 환경을 고려하여 기질의 농도(500-4,000 mg/L), AHA 주입 농도(0-4,000unit/L), pH(6-10), 온도(10-35°C)변화에 따른 암모니아 발생 저감 효율 평가를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용 시약 및 실험 준비

본 실험을 위해 요소(99%, 덕산, 대한민국)와 요소분해효소(Jack bean urease, 2,100 Unit/g, Fisher science, 미국), Acetohydroxamic acid(C₂H₅NO₂, AHA, 98%, TCI, 일본)을 이용하였다. 모든 Batch test는 각각의 실험 목적에 맞게 3 M 수산화칼륨(93%, Deajung, 대한민

국)와 3 M 염산(34.36%, 대정, 대한민국)를 각각 제조하여 사용하였다. 실험 중 pH 변화를 최소화하기 위해 인산일수소칼륨(99%, 대정, 대한민국), 인산이수소칼륨(99%, 대정, 대한민국)를 이용 0.05 M Potassium phosphate buffer(PPB)를 제조하여 이용하였다.

2.2. 요소분해효소 억제 Batch test

양돈 축사 내 분뇨 슬러리 및 분뇨처리장 내 슬러리의 암모니아 농도는 약 3,000 mg/L 로 알려져 있으며, ^{22,23)} 요소 1 몰이 가수분해되어 2 몰의 암모니아를 생성하므로, 요소의 농도는 1,500 mg/L 로 설정하였다.

Batch test I에서는 Urea 농도 변화에 따른 AHA의 요소분해효소 억제효율 비교 평가를 목적으로 하였다. Serum bottle에 0.05M PPB용액을 50mL를 주입 후, AHA 1,500 mg/L(대조군 : AHA 미주입), 요소분해효소 3,150 Unit/L, Urea 500, 1000, 2000, 4,000 mg/L를 각각 주입하였다. 온도 25 °C, pH는 7.0±0.1으로 고정하였다.

Batch test II는 AHA 농도에 따른 요소분해효소 억제효율 비교 평가를 수행하였다. Serum bottle에 PPB 0.05M 50mL를 주입 후, AHA 500, 1000, 2000, 4,000 mg/L(대조군 : AHA 미주입), 요소 1,500 mg/L, 요소분해효소 3,150 Unit/L를 각각 주입 후 온도 25 °C, pH 7.0±0.1로 고정하였다.

Batch test III에서는 pH에 따른 AHA의 요소분해효소 억제효율 비교를 수행하였다. Serum bottle에 PPB 0.05M 50mL를 주입 후, AHA 1,500 mg/L(대조군 : AHA 미주입), 요소 1,500 mg/L, 요소분해효소 3,150 Unit/L를 각각 주입 후, 온도 25 °C, pH 6.0-10.0(6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0)으로 조절하였다.

Batch test IV에서는 온도에 따른 AHA의 요소분해효소 억제효율 비교를 목적으로 하였다. Serum bottle에 PPB 0.05M 50mL를 주입 후, AHA 1,500 mg/L(대조군 : AHA 미주입), 요소 1,500 mg/L, 요소분해효소 3,150 Unit/L를 각각 주입 후, 온도를 10-35°C (10, 15, 20, 25, 30, 35 °C) 조절하였다. 실험 중 pH는 7.0±0.1로 고정하였다.

모든 Batch test는 250 mL serum bottle을 이용하였고, 이산화탄소(CO₂, 99.9999%) Purging을 실시한 초

순수(DI water)를 주입하여 working volume을 200 mL로 조절했으며, 항온수조에서 150 rpm 교반을 실시, 0 h, 24 h, 48 h 각각 샘플링 후 암모니아 농도 분석을 실시하였다. 실험은 2배수로 진행하여 그 평균값을 결과로 사용했다.

2.3. 분석방법 및 데이터 계산 방법

암모니아는 이온형태와 가스형태의 두 가지 형태로 존재하므로, 이온형태(용액)의 암모니아의 경우 샘플링 된 시료를 여과 후 50배 희석하여 Nessler 법(Humas, 대한민국)으로 측정을 실시하였으며, 기체상태의 암모니아의 경우 48 시간 샘플링 후 3 M 염산 주입 후 헤드스페이스(Headspace) 내 암모니아가 충분히 녹을 수 있게 교반시킨 후 샘플링 하여 여과 후 50배 희석하여 Nessler 법(Humas, 대한민국)으로 측정했으며 총 암모니아는 기상&액상 형태의 암모니아의 합계로 산정하였다.

요소의 암모니아 전환 효율은 (식 1)을 통해 계산되었다.

$$NH_3 \text{ conversion efficiency (\%)} = \frac{NH_3 \text{ (measured)} \times \frac{MW_{N \text{ of } NH_3}}{MW_{NH_3}}}{Urea \text{ (Injected)} \times \frac{MW_{N \text{ of } Urea}}{MW_{Urea}}} \times 100 \quad (1)$$

AHA의 요소분해효소 억제 효율은 AHA를 주입하지 않은 대조군(Urease)의 암모니아 전환 효율 대비 AHA를 주입한 시료의 암모니아 전환 효율을 비교하였다.

AHA 억제효율은 (식 2)을 통해 계산되었다.

$$Urease \text{ inhibition efficiency (\%)} = \left(1 - \frac{NH_3 \text{ conversion efficiency}^a}{NH_3 \text{ conversion efficiency}^b} \right) \times 100 \quad (2)$$

(a : NH₃ conversion efficiency in the presence of AHA,

b : NH₃ conversion efficiency of control)

전환된 Unit 값은 (식 3)을 통해 계산되었다.

$$\text{Converted Unit (Unit/L)} = \text{NH}_3 \text{ conversion efficiency} \times \text{Urease Unit} \quad (3)$$

주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소의 양 {Specific urease inhibition activity(Unit/g AHA)}은 (식 4)를 통해 계산되었다.

$$\text{Specific urease inhibition activity (Unit/g AHA)} = \left(\frac{\text{inhibited urease by AHA}^*}{\text{AHA concentrations}} \right) \times 1000 \quad (4)$$

(* : Converted urease Unit of Control - Converted urease Unit in the presence of AHA)

실험 중 아질산(NO_2^-), 질산염(NO_3^-)는 미검출 됨에 따라 본 연구에서 총질소(T-N)는 암모니아와 유기성 질소(요소)의 합으로 가정하여 산정하였으며, 용존+기상 상태의 암모니아를 합하여 산정 후, 유입 요소의 요소분해효소에 의한 전환된 암모니아 양과 남아있는 잔존 요소의 합으로 나타내어 질소 물질 수지를 산정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 요소 농도 변화에 따른 요소분해효소 억제 효율

요소 주입 농도에 따른 암모니아 전환 효율 및 요소분해효소 억제 효율을 Table 1과 Fig. 1(a)에 각각 나

타냈다. AHA를 주입하지 않은 대조군의 샘플 중 요소 주입 농도의 증가(500 mg/L → 4,000 mg/L)에 따른 암모니아 전환효율은 대체적으로 감소(71.5±9.5% → 61.5±3.0%)했음을 확인할 수 있었다. 이는 3,150 Unit/L로 고정된 요소분해효소 대비 요소의 농도의 증가에 따라 기질과 효소 반응의 원리에 의해 요소+요소분해효소 복합체 형성되는 양은 한정되어 있어 결과적으로 암모니아 전환효율 감소의 결과를 보여준다. 반면에, AHA(1,500 mg/L) 주입에 따른 요소분해효소의 활성 저해 효과는 뚜렷하게 나타났다. 특히, 요소 주입 농도를 증가(500 mg/L → 4,000 mg/L)시킴에 따라 요소분해효소 억제 효율은 32.8±0.8% → 71.1±1.0%로 증가했으며 결과적으로 암모니아 전환율은 대조군 대비 48.0±5.7% → 16.6±1.5%로 급격히 감소하였다. 1,500 mg/L의 AHA를 주입한 상태에서 요소 주입농도 증가에 따른 활성이 억제된 요소분해효소의 양은 739.7±120.5-1,283.1±46.9 Unit/L으로 산정되었고, 이를 주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소의 양(Specific urease inhibition activity)로 환산한 결과 493.1±80.3-855.4±31.3 Unit/g AHA 으로 각각 나타났다. 본 결과를 통해 AHA의 주입에 따른 요소분해효소 활성억제를 확인했으며 일정량의 AHA 주입된 상태에서 요소의 농도가 증가함에 따라 AHA의 암모니아 전환 억제 효율이 증가하여 결과적으로 요소로부터 암모니아의 전환율이 감소함을 확인하였다.

Table 1. Effect of Acetohydroxamic Acid on Urease Inhibition Efficiency at Different Urea Concentration (500-4,000 mg Urea-N/L)

No.	Initial Urea (mg/L)	Urease (Unit/L)	AHA (mg/L)	Total NH_3 (ionized +gas) (mg/L)	NH_3 conversion efficiency (%)	Urease inhibition efficiency (%)	Inhibited Urease (unit/L)	Specific urease inhibition activity (Unit /g AHA)
1	500	3,150	0	202.4	71.5±9.5	-	-	-
2	1,000	3,150	0	344.7	76.6±11.1	-	-	-
3	2,000	3,150	0	597.2	55.4±1.9	-	-	-
4	4,000	3,150	0	1,298.0	61.5±3.0	-	-	-
5	500	3,150	1,500	136.0	48.0±5.7	32.8±0.8	739.7±120.5	493.1±80.3
6	1,000	3,150	1,500	179.8	31.8±8.9	47.8±4.0	917.6±70.7	611.7±47.1
7	2,000	3,150	1,500	228.1	20.1±0.7	61.8±0.1	1,026.8±38.4	684.5±25.6
8	4,000	3,150	1,500	375.7	16.6±1.5	71.1±1.0	1,283.1±46.9	855.4±31.3

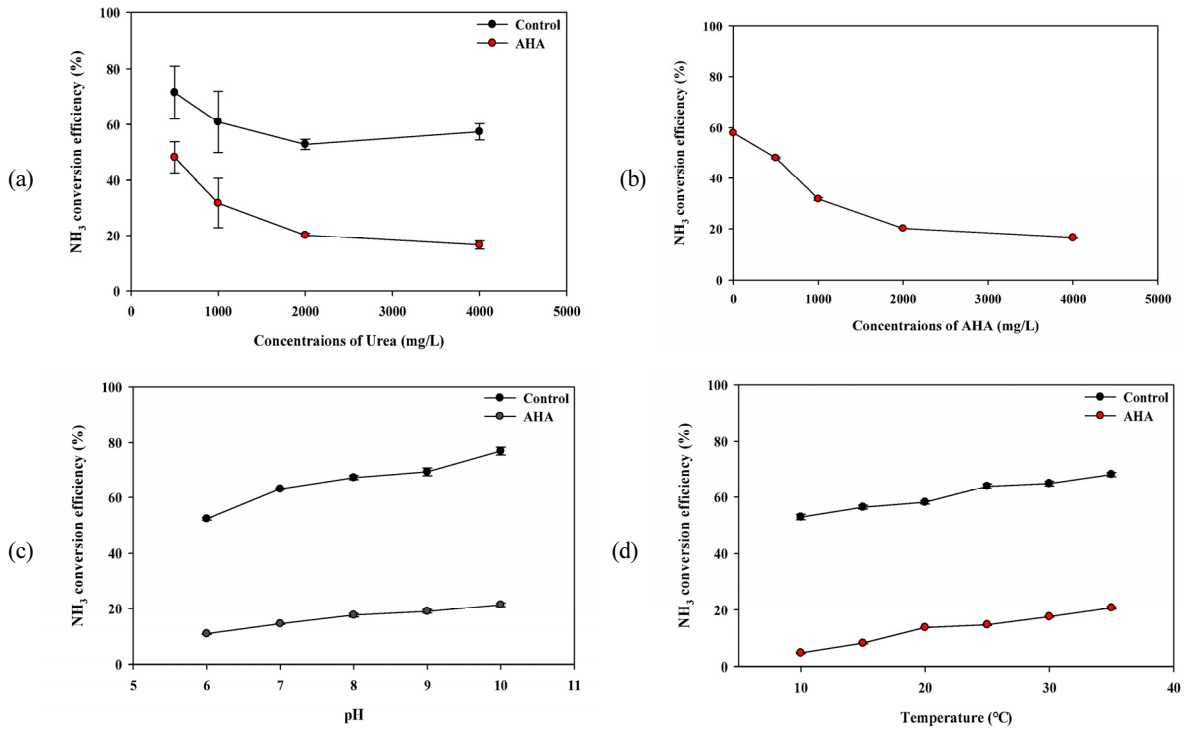


Fig. 1. Effect of acetohydroxamic acid on ammonia conversion efficiency at different (a) urea concentration (500-4,000 mg Urea-N/L), (b) AHA concentration (0-4,000 mg AHA/L), (c) pHs (pH 6-10), and (d) temperature (10-35°C).

3.2. AHA 주입 농도에 따른 요소분해효소 억제 효율

AHA 주입 농도에 따른 암모니아 전환율 및 요소 분해효소 억제 효율 결과를 Table 2 및 Fig. 1(b)에 나타냈다. AHA를 주입하지 않은 대조군의 암모니아 전환율은 57.9±0.3%로 나타났다. 반면에 AHA의 주입 농도를 500 mg/L에서 4,000 mg/L로 상승에 따른 Urease 억제 효율은 48.6±0.3 → 81.9±0.0%로 증가했고 이에 따라 암모니아 전환율은 29.7±0.4% → 10.5±0.1%로 감소했다. AHA 주입농도가 증가함에 따라 억제된 요소

분해효소의 양은 887.6±1.0 Unit/L → 1,494.6±8.7 Unit/L로 증가했음을 확인했으며, 주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소의 양(Specific urease inhibition activity)는 1,775.3±2.1 → 373.6±2.2 Unit/g AHA로 감소했음을 확인했다. 본 연구 결과를 통해 AHA 주입 농도의 증가에 따른 Urease 억제 효율은 향상됨을 확인했으나, 주입된 AHA 대비 활성이 억제된 Urease의 양은 오히려 감소했음을 확인하였다. 이는 한정된 농도의 Urease의 주입량 대비 AHA의 주입량의 증가에 따른 결과로 판단되며 추후 이에 대한 최적화 연구가 요구된다.

Table 2. Decreased Ammonia Conversion Efficiency from Urea in Response to Increasing AHA Concentration (0-4,000 mg AHA/L)

No.	Initial Urea (mg/L)	Urease (Unit/L)	AHA (mg/L)	Total NH ₃ (ionized +gas) (mg/L)	NH ₃ conversion efficiency (%)	Urease inhibition efficiency (%)	Inhibited Urease (Unit/L)	Specific urease inhibition activity (Unit /g AHA)
1	1,500	3,150	0	491.9	57.9±0.3	-	-	-
2	1,500	3,150	500	252.6	29.7±0.4	48.6±0.3	887.6±1.0	1,775.3±2.1
3	1,500	3,150	1,000	206.4	24.3±0.5	58.0±0.7	1,058.9±6.4	1,058.9±6.4
4	1,500	3,150	2,000	146.1	17.2±0.1	70.3±0.0	1,282.5±7.8	641.3±3.9
5	1,500	3,150	4,000	89.0	10.5±0.1	81.9±0.0	1,494.6±8.7	373.6±2.2

3.3. pH 변화에 따른 AHA의 요소분해효소 억제 효율

일반적으로 신선한 가축분뇨의 pH는 7-8 범위로 알려져 있으며 분뇨 저장 초기에는 가수분해&산발효가 일어나 생성된 유기산에 의해 일시적으로 pH의 감소가 일어난다.²⁴⁾ 반면에 가축분뇨의 저장기간이 길어질수록 단백질류의 분해에 의해 암모니아 및 알칼리 유발물질의 생성 및 누적에 의하여 pH가 상승하는 것으로 알려지고 있다. 따라서 본 연구에서는 가축분뇨의 저장과정에서 발생할 수 있는 pH의 변화를 고려하여 실험 범위를 pH 6-10으로 범위 설정하여 AHA의 Urease 억제 효율을 평가하였으며 이에 대한 결과는 Table 3과 Fig. 1(c)에 나타났다. 실험 결과 대조군의 pH 변화를 6 → 10로 조절한 결과 요소로부터 암모니아 전환율이 52.2±0.5% (pH 6) → 76.9±1.5% (pH 10)로 상승함을 확인했다. AHA를 주입했을 경우 대조군과 비교하여 pH의 증가에 따른 암모니아 전환율은 10.9±0.2%(pH 6) → 21.3±0.7%(pH 10)로 상대적으로 낮은 암모니아 증가를 보였으며 이때 요소분해효소 억제 효율은 79.1±0.1%(pH 6) → 72.3±0.3%(pH 10)로 감소하였다. pH 증가에 따라 AHA에 의해 반응이 억제된 요소분해효소와 주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소의 양(Specific urease inhibition activity)는 1,300.7±10.1 Unit/L(pH 6) → 1,751.8±26.1 Unit/L(pH 10), 867.1±6.7 Unit/g AHA(pH 6) → 1,167.9±17.4 Unit/g AHA(pH 10)으로 각각 증가하였다. pH

변화에 따라 요소분해효소 억제 효율은 감소했으나, 주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소 Unit의 양은 오히려 증가하였다.

일반적으로 효소의 활성은 pH 변화에 민감하게 작용되는 특성이 있다고 알려지고 있다. 특히, 수소결합 등에 의해 약한 단백질 결합으로 이루어져 있는 효소는 주위의 수소이온농도의 급격한 변화에 상당히 민감하게 작용하여 효소의 활성이 떨어져 촉매 기능을 상실하기도 한다고 보고되고 있다. 요소분해효소는 일반적으로 pH 3-10 범위에서는 안정적이며 그 외의 범위에서는 활성 저해현상이 발생한다고 보고되고 있다.²⁵⁾ 본 연구에서 적용한 pH는 요소분해효소의 활성에 안정적인 범위로 판단되며 AHA 주입 유무에 따른 차이는 있으나 대체적으로 pH의 증가에 따른 Urea로부터 암모니아의 발생량의 증가의 결과를 확인하였다. 본 연구 결과를 바탕으로 가축분뇨 저장기간이 오래 경과됨에 따라 슬러리 내 pH의 상승은 AHA의 주입에 따른 요소분해효소 억제 효과 저하에 영향을 끼칠 것으로 예상되어 이에 대한 대책이 추가적으로 고려되어야 할 것으로 판단된다.

3.4. 온도 변화에 따른 AHA의 요소분해효소 억제 효율

요소분해효소의 활성은 pH와 더불어 온도에 상당한 영향을 받을 수 있으므로 본 연구에서는 계절별 국내 축사 온도 변화를 고려하여 10-35 °C의 범위에

Table 3. Changes in Ammonia Conversion Efficiency from Urea at Different pHs (pH 6-10)

No.	pH	Initial Urea (mg /L)	Urease (Unit/L)	AHA (mg/L)	Total NH ₃ (ionized+gas) (mg/L)	NH ₃ conversion efficiency (%)	Urease inhibition efficiency (%)	Inhibited Urease (Unit/L)	Specific urease inhibition activity (Unit /g AHA)
1	6	1,500	3,150	0	443.5	52.2±0.5	-	-	-
2		1,500	3,150	1,500	92.9	10.9±0.2	79.1±0.1	1,300.7±10.1	867.1±6.7
3	7	1,500	3,150	0	536.0	63.1±0.3	-	-	-
4		1,500	3,150	1,500	123.4	14.5±0.2	77.0±0.2	1,530.5±1.5	1,020.4±1.0
5	8	1,500	3,150	0	571.0	67.2±0.8	-	-	-
6		1,500	3,150	1,500	149.8	17.6±0.6	73.8±0.6	1,562.6±4.1	1,041.7±2.8
7	9	1,500	3,150	0	589.1	69.4±1.4	-	-	-
8		1,500	3,150	1,500	161.4	19.0±0.7	72.6±0.4	1,586.5±24.1	1,057.7±16.0
9	10	1,500	3,150	0	653.4	76.9±0.5	-	-	-
10		1,500	3,150	1,500	181.2	21.3±0.7	72.3±0.3	1,751.8±26.1	1,167.9±17.4

서 AHA의 주입 유무에 따른 암모니아 전환 효율 및 Urease 억제 효율을 평가했으며 결과는 Table 4. 및 Fig. 1(d)에 나타냈다. AHA를 주입하지 않은 대조군의 전환 효율은 온도 변화(10 °C → 35 °C)에 따라 52.8±1.0% → 68.1±0.8%로 증가 경향을 보였다. AHA를 주입한 경우의 암모니아 전환율은 동일 온도의 대조군의 결과와 비교하여 낮은 수치를 보였으나 전반적으로 온도 증가에 따라 4.2±0.1% → 26.3±0.4%로 증가하였다. 또한 온도변화에 따른 암모니아 전환효율의 감소는 요소분해효소 억제 효율(92.1±0.1% → 62.3±0.1%)의 감소로 이어졌다. 온도의 변화에 따른 AHA에 의한 활성이 억제된 요소분해효소는 1,344.3±11.9-1,552.7±29.2 Unit/L이며 주입 AHA 대비 억제된 요소분해효소의 양(Specific urease inhibition activity)는 896.2±7.9-1,035.1±19.5 Unit/g AHA 범위로 나타났다. 온도 상승에 따라 억제 효율의 감소와 AHA 대비 억제된 Urease units의 양 또한 감소하는 것으로 나타났다. 온도 변화에 따른 AHA의 Urease 억제효율 변화의 결과를 바탕으로 계절별 축사 온도 변화를 고려한 대응이 필요할 것으로 보인다.

4. 결론

본 연구는 AHA의 주입을 통해 요소에서 암모니아

으로 전환되는 과정에 관여하는 요소분해효소의 활성 억제를 목표로 했으며 그 결과에 따라 축산분뇨의 저장 과정에서 요소로부터 유래되는 암모니아의 사전 발생 저감 가능성을 확인하였다. 요소 농도와 AHA 농도, pH는 요소분해효소 억제효율과 비례관계를 확인하였다. 반면에, 온도 증가에 따른 AHA의 요소분해효소 활성 억제효율은 감소됨을 확인하였다. 국내 축사 내 가축분뇨의 장기간 저장에 따른 pH 변화와 계절 변화에 따른 축사 내 온도 변화는 요소분해효소 억제 효율의 영향을 받으므로 축산환경 변화에 따른 AHA 주입량 최적화와 관련된 추가 연구의 진행이 요구된다. 특히, 주입된 AHA 대비 활성 억제된 요소분해효소의 양은 요소분해효소 억제효율과 항상 비례하지는 않았으므로, 요소분해효소 활성 억제효율과 경제성, 효과 지속성을 종합적으로 고려한 최적의 주입 조건 도출이 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: pJ 014861)과 농림식품기술기획평가원 공동연구사업(과제번호: 321088051)의 지원을 받아 수행하였습니다.

Table 4. Changes in Ammonia Conversion Efficiency from Urea at Different Temperatures (10-35°C)

No.	Temp (°C)	Initial Urea (mg/L)	Urease (Unit/L)	AHA (mg/L)	Total NH ₃ (ionized+gas) (mg/L)	NH ₃ conversion efficiency (%)	Urease inhibition efficiency (%)	Inhibited Urease (Unit/L)	Specific urease inhibition activity (Unit/g AHA)
1	10	1,500	3,150	0	448.4	52.8±1.0	-	-	-
2		1,500	3,150	1,500	35.2	4.2±0.0	92.1±0.1	1,552.7±29.2	1,035.1±19.5
3	15	1,500	3,150	0	478.4	56.3±0.7	-	-	-
4		1,500	3,150	1,500	69.2	8.1±0.3	85.0±0.4	1,525.8±10.9	1,017.2±7.3
5	20	1,500	3,150	0	493.3	58.1±0.6	-	-	-
6		1,500	3,150	1,500	104.4	12.3±0.3	78.8±0.3	1,450.3±10.7	966.9±7.2
7	25	1,500	3,150	0	542.0	63.8±0.9	-	-	-
8		1,500	3,150	1,500	135.7	16.0±0.4	75.0±0.3	1,517.2±13.7	1011.5±9.1
9	30	1,500	3,150	0	550.7	64.9±0.9	-	-	-
10		1,500	3,150	1,500	171.0	20.2±0.2	68.9±0.1	1,421.3±20.7	947.5±13.8
11	35	1,500	3,150	0	578.4	68.1±0.8	-	-	-
12		1,500	3,150	1,500	218.3	25.7±0.4	62.3±0.1	1,344.3±11.9	896.2±7.9

References

1. Ministry of Environment, "Environmental Statistical Yearbook", p. 56. (2019).
2. Anti-Corruption and Civil Rights Commission, "ACRC Korea annual report", p. 247, 386. (2018).
3. Ministry of Environment, "Odor management manual", pp. 104~105, 139~173. (2012).
4. Jensen B. B. and Jørgensen, H. "Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs", *Appl Environ Microbiol.*, 60(6), pp. 1897~1904. (1994).
5. Aarnink, A., "Ammonia emission from houses for growing pigs as affected by pen design, indoor climate and behavior", Doctoral thesis, Wageningen Agriculture University, pp. 1~175. (1997).
6. Sigurdarson, J. J., et al., "The molecular processes of urea hydrolysis in relation to ammonia emissions from agriculture", *Rev. Environ Sci Biotechnology*, 17, pp. 241~258. (2018).
7. Callahan B. P., et al., "The Burden Borne by Urease", *J. Am. Chem. Soc.*, 127(31), pp. 10828~10829. (2005).
8. Dai, X. and Karring, H., "A Determination and comparison of urease activity in feces and fresh manure from pig and cattle in relation to ammonia production and pH changes", *PLOS ONE*, 9(11), e110402. (2014).
9. Eitinger, T. and Mandrand-Berthelot, M. A., "Nickel transport systems in microorganisms", *Archives of Microbiology*, 173(1), pp. 1~9. (2000).
10. Amtul, Z., et al., "Chemistry and mechanism of urease inhibition", *Current Medicinal Chemistry*, 9(14), pp. 1323~1348. (2002).
11. Griffith, D. P., "Urease stones", *Urological Research*, 7, pp. 215~221. (1979).
12. Zhengping, W., et al., "Effect of urease inhibitors on urea hydrolysis and ammonia volatilization", *Biology and Fertility of Soils*, 11, pp. 43~47. (1991).
13. Fan, X., et al., "The contrasting effects of N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) on N₂O emissions in arable soils differing in pH are underlain by complex microbial mechanisms", *Science of The Total Environment*, 642, pp. 155~167. (2018).
14. Varel, V. H., et al., "Conservation of nitrogen in cattle feedlot waste with urease inhibitors", *J Anim. Sci.*, 77(5), pp. 1162~1168. (1999).
15. Krajewska, B., et al., "Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow-binding inhibitors: Ni²⁺, F⁻ and acetohydroxamic acid", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic on Science Direct*, 14(4-6), pp. 101~109. (2001).
16. Benini, S., et al., "A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels", *Structure*, 7(2), pp. 205~216. (1999).
17. Giovanni, P. M., et al., "A survey of the virological problems of *Cynara* species, Atti del 3° Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo", Bari, pp. 895~927. (1981).
18. Griffith, D. P., et al., "Acetohydroxamic Acid: Clinical studies of a urease inhibitor in patients with staghorn renal calculi", *The Journal of Urology*, 119(1), pp. 9~15. (1978).
19. Phillips, K., et al., "Antibacterial action of the urease inhibitor acetohydroxamic acid on *Helicobacter pylori*", *Journal of Clinical Pathology*, 46(4), pp. 372~373. (1993).
20. Ohta, T., et al., "Marked reduction of *Helicobacter pylori*-induced Gastritis by urease inhibitors, Acetohydroxamic acid and Fluorofamide, in Mongolian Gerbils", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285(3), pp. 728~733. (2001).
21. Zullo, A., et al., "*Helicobacter pylori* and plasma ammonia levels in cirrhotics: Role of urease inhibition by acetohydroxamic acid", *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 30(4), pp. 405~409. (1998).
22. Ra, C., "Farm scale verification of developed technology

- for control and recovery of nitrogen and phosphorus from animal manure”, Rural Development, PJ007661, (2012).
23. Lasisi A. A., et al., “Ammonia emission from manures treated with different rates of urease and nitrification inhibitors”, Canadian Journal of Soil Science, 100(3), pp. 198~205. (2020).
24. Jang, Y. N., et al., “Comprehensive analysis of microbial dynamics linked with the reduction of odorous compounds in a full-scale swine manure pit recharge system with recirculation of aerobically treated liquid fertilizer”, Science of The Total Environment, 777, p. 146122. (2021).
25. Deviney, A. V. and Victoria, A. “Conserving nitrogen in liquid swine manure by urease enzyme inhibition”, Doctoral dissertation, North Carolina State University. (2018)