

최 종  
연구보고서

축산폐기물의 생물학적 고차처리 및  
고기능성 생물비료 개발

Advanced Treatment of Livestock Wastewater and Development  
of Highly Functional Biofertilizer from Livestock Waste

연 구 기 관

생 명 공 학 연 구 소

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “축산폐기물의 생물학적 고차처리 및 고기농성 생물비료 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1997. 12.

주관연구기관명 : 한국과학기술연구원 부설  
생명공학연구소

총괄연구책임자 : 오희목

연구원 : 윤병대

박용하

이성기

이석준

김성빈

박미경

구영환

이인근

장민호

문성훈

권기석

(현: 안동대학교

위탁연구기관명 : 경희대학교

위탁연구책임자 : 박창호

위탁연구연구원 : 정은혜

김성훈

# 요 약 문

## I. 제 목

축산 폐기물의 생물학적 고차처리 및 고기능성 생물비료 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

### 1. 연구개발의 목적

축산폐기물 중에서 2차처리된 축산폐수를 대상으로 미세조류를 이용한 고차처리로 질소화 인 동시제거기술을 개발하여 호소 및 하천의 부영양화 방지에 기여하며, 축산폐기물 중에서 고형분은 각종 식물병원균에 대한 길항미생물 및 부속축진 미생물을 이용하여 탈취 및 퇴비화하고 이를 생물비료-농약의 첨단 복합농업소재로 개발한다.

### 2. 연구개발의 중요성

산업발달과 경제발전으로 식생활이 개선됨으로서 육류의 소비량이 증대되고 축산업이 점차 대형화되어 가축분뇨가 누적되면서 새로운 환경오염 원인으로 부각되어 토양, 대기 및 수질을 오염시켜 새로운 사회적 문제를 야기시키고 있다. 특히 국내 환경문제 중에서 호소 부영양화에 의한 상수원오

염이 심각한 사회문제로 대두되고 있으며, 축산폐수에 의한 수질오염이 절대적으로 높은 비중을 차지하고 있으나, 가축분뇨처리기술은 개발초기의 낮은 수준에 있으므로 기술개발이 시급하다. 가축분뇨의 처리기술 중에서 혐기적소화에 의한 유기물의 분해에 대한 기술개발은 비교적 많이 이루어진 상태이나, 1996년부터 강화되는 방류수중의 질소와 인의 제거를 위해서는 고도처리가 필수적이며, 이때 미세조류를 이용한 질소와 인의 제거기술을 개발하여 보급할 필요가 있다.

가축분뇨는 유기물이 많이 함유되어 있어 유기질비료자원으로 활용할 경우 자원의 재활용과 환경오염을 경감시킬 수 있다는 두 가지 측면에서 바람직하다고 하겠다. 특히 토양 비옥도가 낮은 현실에서 가축분뇨를 양질의 유기질비료로 전환한다는 것은 그 의의가 매우 크다고 할 수 있다. 최근의 생명공학기술(biotechnology)의 급속한 발전은 축산폐기물의 퇴비화에도 크게 공헌하여 각종 새로운 고온혐기발효법개발을 가능하게 할 것이며, 보다 과학적이고, 합리적인 해결방안에 의한 새로운 미생물비료(biofertilizer)의 제조 가능성을 시사한다. 또한 축산폐기물은 대부분 퇴적에 의한 고온, 혐기발효법을 이용하므로 부패에 의한 황화수소( $H_2S$ ), 각종 아민류, 암모니아 등의 발생과 처리시간의 장기화(2-6개월)등에 따르는 심한 악취로부터의 환경개선대책의 마련이 중요하다.

축산단지 또는 소규모 영세농가에 의한 가축사육으로 발생하는 축산폐기물은 그 자체의 처리문제와 함께 환경파괴의 한 요인으로서 시급히 해결하여야 할 사회적 문제로 등장하였다. 수요증가 및 농축산가의 소득증대를 위해 축산업의 계속적인 확대가 예상되는 바 축산분야의 핵심기술 중에서 상대적으로 낙후되어 있는 환경오염방지기술의 개발을 통하여 환경문제해결과 동시에 축산업의 지속적 발전이 가능하다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구개발의 내용 및 범위는 다음과 같다.

#### 1. 미세조류를 이용한 축산폐수의 고도처리

- 축산폐수의 특성조사
- 질소와 인에 대한 제거율이 높은 미세조류의 탐색
- 조류에 의한 축산폐수중 질소와 인 제거의 최적화
- 축산폐수를 이용한 미세조류의 대량 배양의 최적화
- 미세조류의 biomass용도 개발

#### 2. 미생물을 이용한 가축분의 비료-농약 복합소재 개발

- 식물병원성균에 대한 길항미생물 분리 및 선별
- 부속촉진 미생물의 분리 및 선별
- 분리미생물의 가축분에 대한 퇴비화 효과 검토
- 길항, 부속촉진 미생물의 비료-농약화 최적조건 검토
- 활성탄 함유를 이용한 돼지분뇨의 탈취기술 개발

### IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 연구개발결과

가. 미세조류를 이용한 축산폐수의 고도처리

1) 축산폐수의 선정

수질오염의 주요 인자로 작용하고 있는 축산폐수를 처리하기 위해 충남 논산에 위치한 축산단지로부터 활성슬러지법에 의하여 1, 2차 처리된 돈 폐수를 수집하여 분석한 결과 유기물의 농도는 COD<sub>Mn</sub>- 40 mg/l로 비교적 낮았으나 총질소는 58.65 mg/l, 총인은 14.7 mg/l로 상당량 존재하였다.

## 2) 미세조류의 선별

축산폐수로부터 질소와 인을 효과적으로 제거할 수 있는 미세조류로서 남조류와 녹조류를 중심으로 축산폐수 처리에 적합한 균주를 선별하였다. 선별 대상 조류인 *Chlorella* sp. 1, *Chlorella* sp. 2, *Botryococcus* sp. 1, *Botryococcus* sp. 2, *Scenedesmus* sp., *Phormidium* sp., *Spirulina* sp. 중에서 *Chlorella* sp. 1, *Chlorella* sp. 2, *Scenedesmus* sp.의 생장이 우수하였으나 biomass를 사료로 이용할 수 있는 장점으로 *Chlorella* sp. 1과 *Scenedesmus* sp.를 대상 조류로 선별하였다.

## 3) 축산폐수 처리의 최적화

*Chlorella* sp. 1의 성장과 질소와 인의 제거는 35℃ 배양 조건에서 가장 높았다. 35℃에서 성장률은 50 mg/l/day로 계산되었으며, 총질소의 제거는 초기 21.5 mg/l에서 1.00 mg/l로 95.3%의 제거효율을 보였으며, 총인의 제거는 초기 4.83 mg/l에서 0.194 mg/l로 96%의 높은 제거효율을 보였다.

배지의 pH를 8로 조절한 경우 *Chlorella* sp. 1의 생장이 다른 pH에서 보다 우수하였다. 건조중량증가율은 43.7 mg/l/day이었고 질소와 인의 제거율은 각각 90.7%, 87.9%로 나타났다. pH 7에서 9까지는 큰 차이를 보이지 않아 약 알칼리의 범위에서 pH 변화에는 민감하지 않는 것으로 보였다.

*Chlorella* sp. 1의 축산폐수 농도에 따른 성장과 총질소, 총인의 제거율을 조사한 결과 배양온도 30℃와 pH 8.0에서 14일간 배양하였을 때 축산

폐수 농도 75%에서 최대 성장률(53.5 mg/l/day)과 높은 N, P 제거율을 보였다. 또한 축산폐수 농도 100%에서도 긴 lag time 후에 생육이 이루어져, 축산폐수를 희석하지 않고도 처리할 수 있음을 알 수 있었다. 축산폐수의 농도가 높을수록 lag time이 길어지는 것은 암모니아성 질소의 독성으로 인한 조류 생장의 억제 결과로 사료된다.

*Chlorella* sp. 1의 생장에 미치는 광도의 영향을 조사하기 위하여 25% 희석된 축산폐수에 접종한 후 5  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 160  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 까지 다양하게 광도를 조절하였다. 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이하의 광조건에서는 생육이 저해를 받았다. 광도가 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이상으로 공급된 실험구에서는 생장이나 총질소와 총인의 제거율은 비슷하였다. 따라서 축산폐수 처리에서 최소한 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광이 공급되어야 한다는 결론을 얻었다.

#### 4) 축산폐수 처리의 최적조건하에서 질소와 인의 제거 특성

기 조사된 축산폐수 처리의 최적조건을 기초로 하여 3ℓ-photobioreactor에서 pH 8.0, 35℃에서 광도는 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 공급하고 25% 희석된 축산폐수를 처리하였다. 접종후 6일동안에 총질소와 총인은 약 90% 정도의 제거효율을 보였다. 조류의 생장에 따른 pH 변화는 초기 8.0에서 6일후 10.0 정도까지 증가하다가 이후에 감소하였다. 그리고 chlorophyll-a는 배양 6일후 최대값이 되었다가 이후에 감소하였다.

#### 5) 연속배양에서의 축산폐수 처리

2차 처리(활성슬러지법)된 돈폐수를 pH 8.0, 35℃, 광도 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 연속배양을 통하여 수리학적 체류시간(HRT)를 결정하기 위한 실험을 실시하였다. 수리학적 체류시간이 5일이었을 때 총질소 제거율은 33.41 mg/l/day로 94.94% 제거되었으며, 총인의 제거율은 8.86 mg/l/day로 84.81%

의 제거효율을 보였다.

#### 6) *C. vulgaris* 유지를 위한 폐수의 최적화

*C. vulgaris*는 탄소원으로 glucose를 이용하는 heterotrophic생장을 보였다. 낮은 온도(20℃)에서도 glucose를 이용하여 조류를 이용한 겨울철 폐수처리에도 이용이 가능할 것으로 추측된다.

연속배양을 통하여 배양조건에 따른 조류의 성장과 질소와 인의 제거에 대한 영향을 조사한 결과 *C. vulgaris*를 sodium alginate에 고정화하여 배양시 bead가 깨지는 단점을 알았으며, glucose 0.1%와 MgSO<sub>4</sub> 0.01%의 농도에서는 HRT 5(day)에서 질소와 인의 제거효율이 높았다.

#### 7) 바닷물을 이용한 미세조류의 회수

응집활성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과 pH 12 이상일 때 응집효과가 뛰어났다. Flocculating activity는 pH 12일 때 15이었으며, pH 12.5에서는 23이었다. 이때 건조세포량은 pH 12 일 때가 0.065 g/l이었고 pH 12.5 일 때가 0.07 g/l로 거의 차이가 없었다.

pH를 12로 고정된 후 바닷물의 최종농도가 0-4%되게 하였을 때 2%에서 응집활성이 20이었고 3%일 때도 비슷한 결과를 얻었다. 즉 바닷물의 농도가 최종 2% 되었을 때 우수한 응집활성능을 보여준다는 것을 알았다.

### 나. 축산폐기물의 비료-농약 복합소재 개발

#### 1) 길항미생물의 분리 및 선별

연작토양 및 시설 재배토양으로부터 공시균주 *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* 등의 식물병원균에 대한 2개 병원균주 이상의 동시 길항력을 나타

내는 세균 13균주와 방선균 2균주 등 15균주를 1차 분리하였다. 분리균주중 공시된 5개 균주 모두에 길항작용을 나타내는 SC2214, SC2218균을 길항미생물로 최종선별하여 본 연구에 사용하였다.

## 2) 부속 활성미생물 분리

충남일원의 농가퇴비 및 돈사부근 토양을 채취하여 부속 활성 미생물을 순수분리한 후 이들의 효소학적 활성과 고온에 대한 내성을 조사한 결과 K116, K215, K324균주가 cellulose, amylase, protease, lipase 등의 활성을 동시에 혹은 2가지 이상의 효소를 분비하는 것으로 나타났으며, 80℃ 정도의 고온에서의 내성을 가지는 것으로 판단되어 이들 균주를 돈분 퇴비화 작업의 부속 촉진 미생물로 최종 선별하였다.

## 3) 선별 미생물의 동정

선별 미생물의 생리, 생화학적 특성과 형태학적 특성을 조사한 결과 SC2214는 Gram 양성으로 spore를 형성하는 *Bacillus pumillus*와 유사한 특성을 나타내는 것으로 판단되어 이를 *Bacillus pumillus* SC2214로 명명하였고, SC2218은 Gram 음성의 편모를 가지고 있으며 oxidase 양성반응의 전형적인 *Pseudomonas* 속과 유사한 특성을 나타내고 있는 것으로 조사되었다. 또한 부속활성 균주로 분리된 K116, K215, K324의 3개 균주는 모두 그람양성의 *Bacillus* 속의 특징을 나타내었다

## 4) 미생물 고정화 담체 선정

길항미생물과 부속활성 미생물의 제형화를 위한 담체화는 토양개량제로 쓰이고 있는 Vermiculite, Zeolite 등의 규산질 무기광물을 선정하였으며 적정 혼합비율을 결정하였고(Zeolite 1 :Vermiculite 1), viability를

조사한 결과 안정적인 균종수 및 균체밀도를 유지하는 것으로 조사되었다.

#### 5) 대상 축산폐기물 선정

축산폐기물 중에서도 대표적인 환경오염원으로 지목되고 있는 돈사폐기물을 선정하였으며, 돈분을 이용한 유기질비료생산을 위해 미생물과 각종 수분조절제에 의한 부속효율성 실험을 수행하였다. 돈분의 성상은 생돈분의 경우 TOC 38%, T-N 1.96%, T-P 1.21%로 조사되었으며 K는 118mg/l이었다.

#### 6) Pilot-scale compost

실험실 규모의 Pilot (50×50×70cm)에 돈분과 톱밥을 1 : 1 비율로 조합한 대조구와, 돈분과 톱밥을 조합한 것에 고정화된 미생물담체를 1 : 1 : 0.1의 비율로 첨가한 실험구로 부속기간은 4개 처리구 모두 20-25일이 소요되는 것으로 조사되었고 실험구에서 초기온도가 가장 높게 나타났으며 pH는 중성영역에서 약알칼리 영역으로 또한 C/N율이 가장 낮은 것으로 나타났다.

#### 7) Plant-scale compost

Pilot test의 결과를 토대로 대규모 양돈단지를 대상으로 실제 부속활성 미생물을 대규모 축산폐기물 퇴비구에 투여한 결과 실험구의 미생물 초기 활성이 대조구에 비해 높게 유지되었으며 대조구에 비해 온도 변화의 폭이 크지 않음을 알 수 있었다. pH 변화는 대조구와 실험구 모두 pH 9에서 시작하여 pH 8로 완만하게 진행되었으며 부속이 완료된 시점에서 실험구만 약산성으로 진행되었다. 함수율은 퇴적 깊이에 상관없이 거의 일정한 감소율을 나타내었으나 실험구가 대조구에 비해 함수율 감소가 빠르게 나타났다.

부속기간동안 화학적 성상 변화는 TOC의 경우 퇴적 깊이에 크게 영향을 받지 않았으며 대조구와 실험구의 TOC 감소경향은 거의 유사한 양상을 나타내었다. 총질

소와 총인은 대조구와 실험구 모두 부숙초기 5일간 급격한 감소현상을 나타내고 이후에는 거의 안정된 양상을 나타내어 결국 부숙초기에 질소와 인산이 biomass로 전환한 것으로 판단할 수 있다.

부숙기간중의 효소활성의 변화는 amylase와 protease의 경우 부숙기간 중 고온보다 중온으로 이행되는 시기에 높은 활성을 유지하는 것으로 조사되었고 대조구에 비해 실험구의 경우 단위활성이 높게 조사되었으며, cellulase의 경우 대조구는 amylase의 활성변화와 유사한 양상을 나타내고 있으나 실험구의 경우 고온에서도 높은 활성을 유지하는 것으로 조사되었다.

#### 8) 작물 검정 및 길항력 검정

부숙기간중 진균성 병원균에 대한 길항력의 존재 유무를 조사한 결과 부숙기간이 경과할수록 항균활성이 거의 나타나지 않는 것으로 조사되었으며, 완숙된 퇴비에 재차 길항미생물 담체를 첨가하여 작물의 포트재배로 조사한 결과 병원균에 감염된 작물의 발아율에서 약 50%정도의 높은 활성을 나타내었으며 발병율에서 약 25%의 감소율을 나타내었다.

부숙활성미생물과 길항미생물을 이용한 기능성 퇴비에 대한 작물의 생육정도와 발병율등 비효 및 비혜의 정도를 조사한 결과 고추, 벨론 등의 생육정도는 관행비료와 큰 차이는 없었으나 초기발육이 양호한 것으로 조사되었으며, 생육기간중 작물에 대한 병해발생이 거의 나타나지 않아 관행처리구와 비교 검토하기 어려웠다.

#### 다. 돼지 분뇨처리 및 탈취방법 개발

##### 1) 건조상태에서의 공간속도 변화에 관한 영향연구

활성탄 섬유가 물을 함유하지 않은 건조상태에서의 활성탄 섬유의 탈취능력은  $\text{NH}_3$ 는 40~60%의 제거율을 보였으며  $\text{H}_2\text{S}$ 는 60%의 제거율을 보였

다. 또한 공간속도가 낮을수록 제거율이 높았으며 활성탄 섬유는  $\text{NH}_3$  보다  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율이 더욱 높은 것을 알 수 있었다. 그러나 건조상태에서는 높은 제거율을 보이지는 않았다.

### 2) 습식상태에서 공간속도 변화에 관한 영향연구

활성탄 섬유의 탈취에 영향을 미치는 중요한 인자중의 하나는 공간속도이다. 습윤상태(50~90%)에서 공간속도를 변화시키면서  $\text{NH}_3$ 와  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율을 조사하였다. 동일한 공간속도의 건조상태에 비해 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ 에서 습윤상태의 제거율은 64% 증가하였다. 활성탄 섬유에서  $\text{NH}_3$ 의 제거량은 건조상태나 습윤상태에서 상대적으로  $\text{H}_2\text{S}$ 에 비해 적으나 건조상태에서의 제거율에 대한 습윤상태의 제거율의 증가는  $\text{H}_2\text{S}$ 에 비해 크게 나타났다.

### 3) 습윤상태에서 온도 변화에 관한 영향연구

활성탄 섬유의 탈취에 영향을 미치는 중요한 인자중의 하나는 온도이다. 습윤상태(50~90%), 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ 에서 온도를 변화시키면서  $\text{NH}_3$ 와  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율을 알아보았다. 습윤상태에서 온도변화에 따른  $\text{NH}_3$ 의 제거율은 각 온도 15, 25,  $35^\circ\text{C}$ 에서 각각 86%, 90%, 91%였다. 온도가 상승함에 따라 제거율이 증가된 것은 활성탄 섬유에 대한 암모니아의 흡착이 단순흡착이 아니라 화학흡착 때문이라 사료된다. 습윤상태에서 온도변화에 따른  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율은 각 온도 15, 25,  $35^\circ\text{C}$ 에서 각각 93%, 99%, 100%였다. 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ , 온도  $35^\circ\text{C}$ 에서  $\text{H}_2\text{S}$ 는 거의 100% 제거됨을 알았다.

결과적으로 활성탄 섬유를 사용한  $\text{H}_2\text{S}$ 와  $\text{NH}_3$ 의 제거는 위의 결과에서 보듯이 효과적이라고 할 수 있었다. 특히  $\text{H}_2\text{S}$ 에 대한 제거율은 일정한 수분을 유지한 상태에서 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ ,  $39^\circ\text{C}$ 에서는 거의 100% 제거됨을 알 수 있었다. 또한 활성탄 섬유에서 일어나는 흡착은 온도의 상승을 통해서

더욱 많은 양의 H<sub>2</sub>S 나 암모니아를 제거 할 수 있을 것으로 보아 화학적 흡착으로 사료된다.

## 2. 활용에 대한 건의

미세조류를 이용한 축산폐수의 질소와 인제거 고도처리기술은 pilot-scale의 실험을 거쳐 실용화할 수 있다고 본다. 특히 실험 종으로 선택한 *Chlorella* 와 *Scenedesmus*는 생산된 biomass를 양식어류의 사료로도 이용할 가치가 있다. 축산폐기물의 퇴비화에 관련하여 분리된 미생물 및 길항미생물은 비료-농약 복합 미생물 소재의 개발에 중요한 자원으로 활용할 수 있다.

탈취 능력이 뛰어난 활성탄 섬유를 이용하여 농촌의 양돈, 양계 등의 집중사육시설에서 동물 및 사육인의 건강증진을 위해 활용될 수 있을 뿐만 아니라 최근 많은 문제가 되고 있는 음식물 쓰레기의 유해가스 제거와 산업용 폐기가스를 정화하는데 활용 할 수 있다. 또한 폐수처리시설이 급증하고 있는 국내 여건으로는 기존의 탈취방법보다 유지관리가 용이하며 경제성을 갖춘 탈취방법이 요구되고 있다. 이러한 폐수처리 시설의 탈취에도 활성탄 섬유의 활용이 크게 기대된다.



# SUMMARY

## I. Title

Advanced treatment of livestock wastewater and development of highly functional biofertilizer from livestock waste

## II. Objective and Importance

The objectives of this study could be summarized as follows: 1) advanced treatment of secondary treated livestock wastewater in order to remove nitrogen and phosphorus which have caused the eutrophication of lakes and reservoirs, 2) development of highly functional biofertilizer from livestock waste in order to increase crop productivity without environmental pollution.

Industrialization and economic development have changed the pattern of living and caused the development of livestock farming. The increase of livestock wastewater has caused the deterioration of water quality by eutrophication. Therefore, technology development for the advanced treatment of livestock wastewater is necessary one. Also the waste of livestock should be converted and returned to the nature as highly functional biofertilizer for both increasing the productivity of crop and decreasing environmental pollution. It seems that this kind of research could contribute to the conservation of environment and the sustainable development.

### III. Scope of Study

The contents and scope of this research are as followings:

1. Advanced treatment of livestock wastewater by using microalgae
  - Screening of microalgae for the removal of nitrogen and phosphorus in livestock wastewater
  - Optimization for the removal of nitrogen and phosphorus in livestock wastewater
  - Mass cultivation of microalgae in livestock wastewater
  - Development of the harvesting techniques for microalgae
2. Development of highly functional biofertilizer
  - Screening and selection of antagonistic and compost activating microorganisms
  - Test for the effect of biofertilizer including the isolated microorganisms
  - Optimization for the biofertilizer
  - Deodorization of livestock waste by using activated carbon fiber filters

### IV. Results and Application

#### 1. Advanced treatment of livestock wastewater

The feasibility of algae as means of removing nitrogen and phosphorus from secondary treated swine wastewater was studied.

Among the tested 7 species of *Chlorella vulgaris* (UTEX 265), *Chlorella* sp. GE 21, *Botryococcus braunii* (UTEX 572), *Botryococcus* sp. GE 24, *Scenedesmus quadricauda*, *Phormidium* sp. GE 2, and *Spirulina maxima* (UTEX 2342), *C. vulgaris* was selected for their fast growth and abilities to remove nitrogen and phosphorus and to produce algal biomass from swine wastewater. *C. vulgaris* grew well at 35°C, and the optimum initial pH for growth was 8.0. In the effect of light intensity, the growth of *C. vulgaris* was limited under a light intensity of less than 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ . The secondary treated swine wastewater contained 58.7 mg/l of total nitrogen and 14.7 mg/l of total phosphorus, and was diluted to 75, 50, and 25% with groundwater to be treated. Nitrogen and phosphorus were removed by *C. vulgaris* in all diluted swine wastewaters among which the most effective removal was in 75% swine wastewater (swine wastewater : groundwater = 3 : 1). There was a tendency of linear increase in nitrogen and phosphorus removal time with increasing concentration of swine wastewater. Under the optimized culture condition, total nitrogen and total phosphorus were effectively removed to 95.3% and 96.0%, respectively, in 25% swine wastewater after 4 days incubation.

It is very important to keep the inoculated alga without the change of species in the advanced treatment of swine wastewater. We optimized the culture condition in order to keep the inoculated species, *Chlorella vulgaris*, and to remove inorganic nutrients effectively in the secondary treated swine wastewater. The addition of Mg in a concentration of 0.0075%  $\text{MgSO}_4$  was very effective in the removal of nitrogen and

phosphorus in swine wastewater.  $\text{CaCO}_3$  as an inorganic carbon source increased chlorophyll-*a* content, but showed some tendency of forming white precipitation resulting in the reduction of light intensity by shading. *C. vulgaris* could use glucose as an organic carbon source for growth. That is, *C. vulgaris* grew well in a medium containing glucose ranging from 0.1 - 0.6% at 30°C, whilst at 20°C it grew well only in 0.1% glucose. On the basis of the above conditions, we could successfully perform a continuous culture for 56 days without the change of algal species in the advanced treatment of swine wastewater.

For the harvesting microalgal cells, we tested seawater to flocculate and to settle down *C. vulgaris*. Optimal pH was above 12 for the flocculation of *C. vulgaris*. *C. vulgaris* was effectively flocculated with 2% final concentration of seawater. Alum has been widely used as a good flocculant, but it has some possibility of toxic effect on DNA. Therefore, *C. vulgaris* which was harvested by flocculation of alum cannot be used as feed for animal. It seems that seawater can substitute for alum which flocculates *C. vulgaris* in the harvesting process.

## 2. Highly functional biofertilizer

In order to reduce composting period, we have screened and selected compost activating bacterial strains (K116, K215 and K324) from cultivated land and normal compost pile. Also to test the antagonistic effect of isolated bacterial strains (SC2214 and SC2218) pathogenic fungi such as *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* were selected from cultivated land as test organisms. SC2214 had a

characteristic of *Bacillus pumillus* which formed spore and stood for Gram negative, and was tentatively identified as *B. pumillus* SC 2214. SC2218 had a characteristic of *Pseudomonas* sp. which stood for Gram positive and oxidase positive. K116, K215, and K324 were similar to *B. pumillus* which stood for Gram negative.

A 1:1 mixture of vermiculite and zeolite was selected as a matrix for microbial immobilization. Pig dung used in this experiment was composed of TOC 38%, T-N 1.96%, T-P 1.21%, K 118 ml/l, and Ca 16 ml/l. For the compost in a pilot scale (50×50×70 cm), pig dung, saw dust and immobilized microorganisms were mixed in a ratio of 1:1:0.1 on the basis of weight. This composting required 20-25 days and resulted in low alkaloid and low C/N ratio.

Plant-scale experiment to compare the control (general compost) with the treatment (microbe compost including bacterial isolates) was carried out in a compartment of 20 m<sup>3</sup> scale at a fertilization company located near Nonsan in Chungnam province. Temperature of the treatment was stable at *ca* 25 days which was shorter than that for the control. The decrease of water content was also faster in the treatment. There was not any difference among examined three depths. Total organic carbon content was continuously reduced in both the control and the treatment. Total nitrogen and total organic phosphorus contents dramatically decreased for first 5 days and then did not change much. Both amylase and protease activity were higher in the treatment than those in the control.

Antagonistic effect on pathogenic microorganisms was distinct in the germination and growth of red pepper. Germination rate of the control was examined as 94% which was higher than 83% of the control. The growth rate

of red pepper grown with antagonistic microorganisms at 40 days after seeding was 112 mm which was taller than 75 mm of the control. The attack rate of red pepper grown with antagonistic microorganisms after 120 days was reduced to 16% which was much lower than 29% of the control. Therefore it seems that the treatment containing antagonistic and compost activating microorganisms is very effect in the stimulation of germination and growth and the prevention of pathogenic attack to crop plant and could be used as a highly functional biofertilizer.

### 3. Deodorization

We showed that activated carbon fiber could efficiently remove hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) and ammonia. Especially hydrogen sulfide was almost completely removed at  $35^{\circ}C$  and space velocity of  $100\ h^{-1}$  for the wetted column. Adsorption to the activated carbon fiber appears to be a chemical type because removal of ammonia and hydrogen sulfide increased at a higher temperature. Activated carbon fiber can be regenerated by washing with water. Filters made of activated carbon fibers with this excellent deodorizing power can be used in intensive animal housing to improved human and animal health. The filters can also be used to clean industrial waste gas and harmful gasses from domestic food wastes. Activated carbon fiber filters are better alternative to existing deodorizing techniques because they are less costly and easier to maintain.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction	25
I . Livestock waste	25
1. Livestock waste treatment act	25
2. Production of livestock waste	26
II. Treatment of livestock waste	30
1. Fermentation	30
2. Nitrogen and phosphorus removal by advanced treatment	32
Chapter 2. Advanced treatment of livestock wastewater	35
I . Introduction	35
II. Materials and methods	37
1. Screening and selection of microalgae	37
2. Cultivation of microalgae	37
3. Physicochemical analyses of water	40
4. Microalgae harvesting	42
III. Results and discussion	43
1. Microalgae selection and optimization for algal culture	43
2. Optimization for maintaining <i>C. vulgaris</i> species	63
3. Microalgae harvesting by using seawater	78
IV. Conclusion	90
V. References	93

Chapter 3. Highly functional biofertilizer from livestock

waste - - - - - 97

I. Introduction - - - - - 97

II. Materials and methods - - - - - 99

    1. Isolation, selection and identification of antagonistic and  
        compost activating microorganisms - - - - - 99

    2. Immobilization and composting - - - - - 101

    3. Plant test and antagonistic capability test - - - - - 103

III. Results and discussion - - - - - 105

    1. Isolation and identification of microorganisms - - - - - 105

    2. Immobilization and composting - - - - - 110

    3. Plant test and antagonistic capability test - - - - - 135

IV. Conclusion - - - - - 146

V. References - - - - - 149

Chapter 4. Deodorization of livestock wastewater - - - - - 151

I. Introduction - - - - - 151

    1. Research background - - - - - 151

    2. Research objectives - - - - - 151

    3. Research direction - - - - - 153

II. Materials and methods - - - - - 154

III. Results and discussion - - - - - 160

    1. Effect of space velocity on deodorization at dry condition - - - 160

    2. Effect of space velocity on deodorization at wetted condition - - 163

    3. Effect of temperature on deodorization at wetted condition - - - 166

IV. Conclusion and future application - - - - - 169

# 목 차

제 1 장 총론	25
제 1 절 축산폐기물의 발생실태	25
1. 축산폐기물제도의 현황	25
2. 가축분뇨의 발생실태	26
제 2 절 축산폐기물의 처리	30
1. 발효	30
2. 고차처리에 의한 폐수중의 질소와 인 제거	32
제 2 장 축산폐수의 고차처리	35
제 1 절 서론	35
제 2 절 재료 및 방법	37
1. 질소와 인의 제거율이 우수한 미세조류의 선별	37
2. 미세조류의 배양	37
3. 이화학적 분석	40
4. 미세조류의 회수방법	42
제 3 절 결과 및 고찰	43
1. 미세조류의 선별 및 폐수처리의 최적조건	43
2. <i>C. vulgaris</i> 유지를 위한 폐수의 최적화	63
3. 해수를 이용한 미세조류의 회수	78
제 4 절 결론	90
제 5 절 참고문헌	93

제 3 장 축산폐기물의 고기능성 비료화	97
제 1 절 서론	97
제 2 절 재료 및 방법	99
1. 길항미생물의 분리, 탐색 및 동정	99
2. 미생물 담체화 및 composting	101
3. 작물 검정 및 길항력 검정	103
제 3 절 결과 및 고찰	105
1. 미생물 분리 및 동정	105
2. 미생물 담체화 및 composting	110
3. 작물 검정 및 길항력 검정	135
제 4 절 결론	146
제 5 절 참고문헌	149
제 4 장 축산폐기물의 탈취	151
제 1 절 서론	151
1. 연구의 배경	151
2. 연구목적	151
3. 연구방향	153
제 2 절 실험 방법	154
제 3 절 실험 결과 및 고찰	160
1. 건조상태에서의 공간속도 변화에 관한 영향	160
2. 습식상태에서 공간속도 변화에 관한 영향	163
3. 습식상태에서 온도 변화에 관한 영향연구	166
제 4 절 결론 및 활용방안	169

# 제 1 장 총론

## 제 1 절 축산폐기물의 발생실태

### 1. 축산폐기물제도의 현황

축산폐수는 “오수 분뇨 및 축산폐수의 처리에 관한 법률”의 규정에 의해 관리되고 있다. 동법에 의하면 가축의 종류와 사육시설의 규모에 따라 축산폐수 시설의 설치시 허가대상과 신고대상으로 구분하고 있는데 허가대상은 3가지 형태로 나뉘어 있다. 첫째, 자체 축산폐수정화시설을 이용하여 허가대상과 신고대상에 대해 규정된 배출허용기준을 준수하여 공공수역으로 배출하는 형태가 있고, 둘째, 자체 정화시설을 갖추지 못했을 경우에는 축산폐수를 수거하여 공동처리장에서 처리 후 공공수역에 배출하는 형태가 있으며, 셋째, 자체정화시설이 없는 경우 무처리 상태로 공공수역에 방류하거나, 간이 정화조에 보낸 후 공공수역에 방류하는 형태로 이루어져 있다.

환경보전법이나 폐기물 관리법에 의거 일정규모 이상의 양축시설에 대하여서는 가축분뇨 정화시설의 설치가 의무화되어 있으며, 규제기준에 따른 시설비 과다로 축산물 생산비 인상요인이 되고 있다. 한편 환경관련법 규제 규모 이하에 대해서는 다수의 소규모 양축가들이 지역적으로 산재하고 있을 뿐만 아니라 축산공해 유발문제에 대한 인식의 부족과 간편하고 경제적인 처리방법이 개발 또는 보급되지 않아 빈번하게 민원이 제기되고 있다. 지금까지 가축분뇨 관리방안에 관한 연구는 매우 부족하였으며 최근에 와서야 축산으로 인한 환경오염문제가 심각하게 제기되고 있는 형편이다. 이러한 문제에 대응하기 위하여 국립환경연구원에서는 “축산폐기물의 현황과 환경에 미치는 영향에 관한 연구(1986.11)”에서 안성천 유역을 사례지역으로 선

정하여 축산폐기물 관리현황과 축산폐기물이 하천수와 지하수에 미치는 영향을 조사하였다. 축산분뇨관리에 대한 최근의 연구로서는 한국과학기술원의 “전국 축산분뇨 적정관리대책 연구(1990. 1)”가 있다. 지금까지 국내에서 수행된 가축분뇨 관련연구사업을 가축분뇨의 발생특성, 처리방법의 개발, 관리대책, 관계자 교육 등으로 구분할 때, 가축분뇨의 발생특성에 관한 연구사업, 지역여건에 적합한 처리방법 개발에 관한 연구사업과 양축가나 축산관계 행정실무자에 대한 교육, 홍보사업이 부족하며, 가축분뇨로 인한 악취의 발생 및 절감대책이나 지하수오염에 관한 연구는 매우 미흡하다.

## 2. 가축분뇨의 발생실태

소, 돼지, 말, 닭을 사육하는 축산농가에서 배출되는 폐수는 무방비상태로 강이나 하천, 호수로 흘러 들어가 수질악화와 부영양화를 초래하고 있으며, 특히 상수원지역에 위치하고 있을 경우 상수원 및 농업용수를 오염시키고 악취와 해충발생을 초래하여 환경을 파괴하는 중요 요인이 되고 있다. 발생하는 가축분뇨의 농도와 사육두수 등을 고려할 때, 가장 문제가 되는 가축은 돼지와 소이다. 가축분뇨는 고농도의 유기물로 구성되어 있어 적절히 관리되지 않을 경우 지표수 오염, 지하수 오염, 악취문제 등을 일으킨다. 이러한 축산폐수의 오염원이 되고 있는 우리나라 가축사육의 연도별 추이는 Table 1-1과 같다. 총가축 사육량은 1970년 2,434천마리에서 출발하여 80년까지 연평균 3%정도로 성장하다가 80년에서 85년 사이에 10%로 급성장하였으며, 1990년대 들어와서는 연평균 9%이상 증가율을 보여 1994년에는 8,906천마리에 이르고 있다. 한육우, 젖소, 말, 돼지의 총가축 사육량 중 각 가축이 차지하는 비중은 1970년의 경우 한육우 52.8%, 돼지 46.3%로 감소하였으며 젖소의 비중은 약 8%를 유지하고 있는데 이러한 추세가 1994년까지 지속되고 있다. 따라서 이와 같은 총가축수의 증가 추세는 역시 축산

폐수 발생량의 직접적인 증가로 연결되어 나타날 것이고 축산폐수처리 시설이 제대로 갖추어지지 못한 우리나라의 현실에서 축산폐수오염의 심각성도 그 만큼 증대하여 왔다고 볼 수 있다.

Table 1-1. Change of the number of breed animals in Korea from 1970 to 1994 years (단위:마리)

가축\년도	1970	1975	1980	1985	1990	1991	1992	1993	1994
한육우	1,283,646	1,545,832	1,427,700	2,553,449	1,621,654	1,772,957	2,018,954	2,260,472	2,392,560
젖소	23,624	85,524	206,851	390,135	503,947	495,772	508,241	553,343	552,139
말		9,042	3,894	3,009	4,937	5,498	5,474	5,103	5,648
돼지	1,126,130	1,247,181	1,783,536	2,852,799	4,528,008	5,046,029	5,462,683	5,927,504	5,955,429

자료: 농림부, "농림수산통계연보", 1995

1980년 가축의 총폐수발생량은 72,620톤/일이었으며, 1985년은 134,200톤/일까지 증대했고, 1993년에 와서는 170,138톤/일에 달하였다 (Table 1-2). 그런데 1987년부터 1990년 사이에 폐수발생량이 감소하기도 했는데 이는 가축수 감소에 따른 것으로 보이며 특히 한육우의 폐수발생량 변화가 총폐수발생량의 증감에 결정적 영향을 미친 것으로 나타났다. 1986년까지 총폐수 발생량중 각각 가축의 폐수발생량의 비중은 한육우가 42,816톤/일로 약 59%, 돼지가 21,402톤/일로 29%, 젖소가 8,274톤/일로 11.4%, 말은 128톤/일로 약 0.2%의 구성비를 유지하다가 1987년부터 돼지 사육수가 1년만에 1백만 마리가 증대함에 따라 돼지에서 발생하는 축산폐수의 비중이 약 38.5%로 늘어났고 젖소 비중도 12.9%로 증대한 반면 한육우의 축산폐수 비중은 47.5%로 감소하였다.

Table 1-2. Change of the amount of produced wastewater according to breed animals (단위:톤/일)

년도\항목	가축별 폐수발생량				
	계	한육우	젖소	말	돼지
1980	72,620	42,816	8,274	128	21,402
1981	73,174	43,287	7,768	114	21,978
1982	85,774	50,346	9,129	101	26,198
1983	118,898	64,024	10,991	96	43,787
1984	125,452	76,483	13,374	98	35,497
1985	134,200	84,263	15,605	99	34,233
1986	135,966	78,210	17,493	95	40,168
1987	133,471	63,463	18,533	100	51,375
1988	128,995	51,445	19,209	117	58,224
1989	129,060	50,690	20,607	150	57,613
1990	128,170	53,514	20,157	163	54,336
1991	139,070	58,507	19,830	181	60,552
1992	152,686	66,625	20,329	180	65,552
1993	170,138	76,197	21,800	165	71,976
1994	175,669	78,955	22,086	186	74,443

자료: 환경부, "수환경정책 자료집(II)", 1994

"오수분뇨 및 축산폐수의 처리실적과 계획", 1995

그 이후 한육우와 돼지의 폐수발생량이 40%-44% 수준으로 비슷한 비중을 차지하고 있다. 한편 가축 형태별 BOD 발생부하량을 제시하면 Table 1-3과 같다. 1980년 한육우, 젖소, 말, 돼지의 총 BOD발생 부하량은 216.97톤/일 이었으나, 1993년 470.48톤/일로 증대되어 연평균 8.3%의 증가율을 보였다. 1983년에는 전년도에 비해 37.6%까지 증가하기도 했으나 반대로 1987-90년 사이는 감소추세를 보여주기도 하였다. 그 기간동안 감소의 주된

원인은 한육우 사육수의 감소에 따른 것이다. 이는 가축 종류별 총 BOD발생 부하량에서 차지하는 비중이 한육우의 경우 1986년 이전까지는 거의 매년 60%이상을 차지하고 있었으나 그 이후 한육우의 가축사육수 상대적 증가 둔화에 따라 한육우의 BOD발생부하량의 비중은 약 45%로 감소하고 돼지 가축수의 급증으로 돼지의 BOD발생부하량이 약 40% 이상을 차지하는 변화를 보여주고 있다. 가축분뇨에 의한 지역별 BOD발생량은 경기 30.4%, 충남 17.3%, 경북 12.5%의 순으로 조사되었다.

Table 1-3. The load of produced BOD according to breed animals

(단위: BOD, 톤/일)

연도\항목	가축별 BOD부하량				
	계	한육우	젖소	말	돼지
1980	216.97	136.8	24.0	0.37	56.0
1981	204.93	125.6	21.6	0.33	57.5
1982	240.19	146.0	25.4	0.29	68.5
1983	330.48	185.0	30.6	0.28	114.6
1984	352.28	221.8	37.3	0.28	92.9
1985	377.58	244.3	43.5	0.28	89.5
1986	380.97	226.8	48.8	0.27	105.1
1987	370.37	184.0	51.7	0.27	134.4
1988	355.53	149.2	53.6	0.34	152.3
1989	355.63	147.0	57.5	0.43	150.7
1990	354.07	155.2	56.2	0.47	142.2
1991	383.82	169.6	55.3	0.52	158.4
1992	421.92	193.2	56.7	0.52	171.5
1993	470.48	220.9	60.8	0.48	188.3

자료: 환경부, "수환경정책 자료집(II)", 1994

한편 환경관련법규제 규모별 BOD발생량은 법규제 규모이상이 43.8%를 차지하고 있고, 환경관련법규제 규모이하가 56.2%를 차지하고 있다. 그러나 법규제 규모별 가축분뇨 정화시설 설치율은 소가 79.5%, 27.8%, 돼지가 85.6%, 46.5%로 영세 양축농가의 가축분뇨 정화시설 설치율이 매우 낮게 나타나고 있다.

## 제 2 절 축산폐기물의 처리

### 1. 발효

분뇨에 의한 환경오염을 방지하기 위해서는 분뇨는 발효라는 과정을 거쳐야한다(소각, 건조 등은 예외). 발효(부숙되는 과정)는 분뇨를 발효시키는 미생물 군에 따라 크게 호기성 발효와 혐기성 발효로 구분한다.

#### 가. 호기성 발효

분뇨는 유기물의 집적물로 탄소, 수소, 산소, 질소, 인산, 유황 및 그 외의 미량 원소들로 구성되어 있으며 유기물은 미생물의 먹이가 되고 미생물이 먹고 생활(번식, 성장)할 때 호기성 미생물은 산소를 필요로 하며 적당한 산소가 공급되면 빠른 성장과 번식을 한다. 이때 많은 열이 발생하여 내부온도가 65-80℃까지 상승한다. 열의 발생에 따라 수분이 증발하여 다루기가 용이하게 되며 강제 산소공급 방법에서는 발효완료시 수분이 40%이내 수준까지로 된다. 최종적으로 완숙된 분뇨(이때는 구비라 함)는 탄산가스, 물(수분), 초산태질소, 인산, 이산화유황 등 안정된 화학물질로 변한다. 호기성 발효는 산소의 공급정도에 따라서는 7일 이내에 발효가 완료되기도 하여 다음 설명하는 혐기성발효에 비하여 발효기간은 1/20 수준으로까지 단축

할 수 있고 기간의 단축에 따라 발효시설 용적도 크게 줄일 수 있다. 다만 산소가 계속 공급되게 하기 위한 재료(수분조절제)나 설비(발효설비), 그리고 운전 조작비가 소요된다. 발효 건조된 구비는 다루기가 용이하고 퇴비로도 시용할 수 있으므로 사용시기의 폭도 매우 넓어진다. 호기성발효 구비화는 발효과정에서 악취물질의 발생은 적고 비료성분의 손실도 가장 적으므로 최고 양질의 구비가 되며 분뇨의 처리에 가장 바람직한 방법이고 가장 널리 쓰여진다.

#### 나. 혐기성 발효

혐기성발효에서는 발효과정에서 메탄가스( $CH_4$ ), 암모니아가스( $NH_3$ ), 유화수소( $H_2S$ ) 등의 냄새가 다량 발생하여 생활환경을 크게 오염시킨다. 뿐만 아니라 발효시 온도가 상승되지 않으므로 파리 같은 해충의 번식처가 되고 사람에게 해로운 세균이 사멸되지 않아 비위생적인 구비가 된다. 또한 우리나라의 기후상태에서 저온기에는 발효(완숙까지)에 5-6개월이 소요되어 매우 큰 용적의 저장시설이 소요된다.

저장시 물이 추가되면 발효에 필요한 기간은 더욱 길어진다. 이 방법에서 아직도 많은 농가가 객수의 유입이나 반대로 흘러나는 것을 철저히 막지 않는 것이 환경오염의 주된 요인이 되고 있다. 구처리방식이 되며 폐기물 관리법에도 객수의 유입을 방지(방수벽 설치)하도록 규정하고 있다. 호기성발효든 혐기성발효든 고형물을 발효시키기 위하여서는 수분의 경감이 최우선 과제이며 수분조절 방법에는 첨가제(왕겨, 톱밥등)의 첨가, 기계적 또는 지형(경사)을 이용한 탈수설비등 많은 방법이 있다. 분뇨를 경제적으로 처리하기 위하여서는 분뇨가 발생하는 시점(배설시)에서부터 과학적으로 취급되어야 한다.

## 2. 고차처리에 의한 폐수중의 질소와 인 제거

1996년 1월 1일부터 배출허용기준에 환경부장관이 지정 고시하는 호소 등의 지역에 대해 총질소와 총인이 포함되었다. 질소와 인이 배출허용기준에 추가된 이유는 질소, 인과 같은 영양 염류의 다량 배출로 인해 호소 등의 폐쇄성 수역에서 조류(algae)의 과다 생장이 촉진되어 이미 많은 호소들이 부영양화 되었거나 또는 현재 부영양화가 진행되고 있으며, 이대로 방치할 경우 향후 수년 내에 거의 모든 호소가 부영양화 될 것으로 예측되기 때문이다. 호소수의 용수 의존도가 40%가 넘는 우리나라에서 호소수의 부영양화 방지 및 생태계의 보전은 반드시 해결해야 할 과제이다. 그러나, 국내에서는 아직 탈질·탈인 기술이 정착되어 있지 않은 상태이므로, 각 배출시설 별로 적합한 기술의 채택 과정에서 많은 시행착오를 겪을 것으로 우려된다. 탈질과 탈인에 관한 기술개발이 늦어질 경우 국내의 폐하수처리시장은 외국 기술의 각축장으로 전락하고, 기술의 예측화가 우려되므로 연구개발을 통한 기술의 자립화와 실용화가 조속히 이루어져야 한다. 질소 및 인의 제거방법에는 생물학적, 생물·화학적 처리, 화학적 처리 그리고 물리적 처리방법이 있다. 그러나 현재 국제적인 추세는 처리단가가 타 처리법에 비해 낮으며 2차 오염물이 될 수 있는 슬러지의 발생이 적은 생물학적 처리로 제거하려는 경향이 많으며 생물학적 처리와 화학적 처리를 병행하여 처리하는 연구도 활발히 진행되고 있다. 우리나라의 연구 사례를 살펴보면 외국과 같은 다양하고 폭넓은 연구가 진행중이지 못하다. 그 이유는 우리나라의 경우 질소, 인에 대한 배출규제가 본격적으로 시작된 기간이 짧고, 질소 및 인의 제거보다는 통상적인 오염물인 생물학적 산소요구량, 생화학적 산소요구량, 부유물질 등에 관심을 두어 처리를 해왔기 때문이다.

세균뿐 아니라 조류 역시 세포합성에 필요한 인을 흡수하기 때문에 인 제거가 가능하다. 그러나 일반적으로 조류배양에 이용되고 있는 산화조의

가장 큰 문제점은 요구 부지면적이 방대하다는 점과 조류의 성장이 온도의 영향을 받아 가을부터 봄까지의 기간에는 인 제거가 거의 이루어지지 않는다는 점이다. 또한 조류에 의해 폐수중의 인이 세포의 인으로 섭취된 후 이를 수확(harvesting)하지 않을 경우 세포의 분해와 함께 인이 다시 용출되므로 적절한 고액분리가 함께 이루어져야 한다. 조류는 박테리아와 달리 쉽게 침전하지 않으므로 응집침전, 부상, 여과, microstraining, 해수주입 등의 고액분리방법이 병행되어야 인제거가 가능하다.

고액분리 방법들중 근래에 많이 연구되는 회수방법으로 응집(flocculation) 방법이 있다. 이 방법은 종전의 방법들과는 달리 많은 양을 처리할 수 있으며 원심분리법이나 막 분리법 보다 훨씬 편리하다는 장점이 있다. 그러나 에너지 소비가 많고 응집제의 독성이 문제가 된다. 조류는 대수적 성장시기에 세포표면의 음전하가 매우 높으며 중화하기 매우 어려운 상태로 분산되어 있다. 생장률이 낮아지면 음전하는 감소하고 세포는 서로 엉겨서 덩어리를 형성하여 침전하게 되며, 이와 같은 일련의 과정은 자가응집(autoflocculation)이라 불린다. 이와 같이 자가응집과 달리 무기염류의 동반 침전을 수반하지 않는 조류의 응집을 생물응집(bioflocculation)이라 한다. 실제로 조류 배양조의 교반을 멈추거나 CO<sub>2</sub> 공급을 차단하여 pH를 높임으로서 조류 flocs의 형성을 유도하고 결국 침전되도록 하기도 한다. 또 다른 방법으로 배양액의 Mg, Ca, 인산염 농도를 조절하는 것이다. 칼슘인산염 침전은 양의 표면전하를 띄고 있으므로 음의 표면전하를 갖고 있는 조류에 의하여 조류표면에 흡착되어 조류의 응집을 촉진하게 된다. 조류의 응집목적으로 사용되는 alumium화합물, lime, ferrous sulfate, ferric chloride 그리고 각종 ployelectrolytes와 같은 여러 가지 응집제(coagulant)가 사용되고 있다. 여러 가지 무기 응집제 중에서 alum이 가장 편리한 것으로 알려져 있으며 가장 경제적인 투여량은 pH 6.5에서 150 mg/l로 조사된 바 있다. 그러나

aluminum은 DNA에 binding해서 replication을 방해한다는 설도 제기되었다. 가축의 사료로 사용하기 위해서는 환경과 건강의 위협을 최소화한 생분해성 응집제의 필요성이 급격히 대두됨에 따라 일본을 비롯한 선진 각국에서는 미생물 유래의 강한 응집성 물질을 탐색, 개발하여 기존 합성고분자 응집제에 대체하려는 연구가 진행되고 있다.

## 제 2 장 축산폐수의 고차처리

### 제 1 절 서론

우리나라의 축산농가는 대부분 영세한 규모로서 소비지인 대도시 외곽의 하천주변에 위치하고 있어 축산농가로부터 발생하는 고농도의 축산폐수는 제대로 처리되지 않는 상태로 하천에 유입되어 수질악화의 주요인이 되고 있으며, 특히 질소와 인에 의한 호소 부영양화가 문제시되고 있다(1). 하·폐수중의 질소와 인의 제거에는 생물학적, 생물·화학적, 화학적 그리고 물리적 방법이 있으나, 근래에 세계적 추세는 처리단가가 비교적 낮으며 2차 오염물이 될 수 있는 슬러지의 발생이 적은 생물학적 처리(2, 3), 또는 생물학적 처리와 화학적 처리를 병행하는 경향이 있다.

선진 외국에서는 유기물과 부유물질 같은 보편적인 오염물질에 대한 제거는 오래 전 상당히 이루어졌으므로, 다음 단계로 영양염류의 효과적인 제거에 관심이 모아지고 있다(4). Guterstam과 Todd(5)에 의하면 광합성능이 있는 미세조류를 이용한 폐수처리의 장점은 첫째 생태적 원칙을 이용한 방법이고, 둘째 환경 친화적 이고, 셋째 이차 오염을 발생시키지 않고, 넷째 생성된 균체를 수거해 재 이용할 수 있는 장점을 가지고 있으나, 단점으로는 첫째 세대시간이 길고, 둘째 균체를 수거하는데 어려움과 비용이 많이 소모되고, 셋째 빛이 필수적이고, 넷째 균체농도가 낮고, 다섯째 그들의 생리학적 연구가 많이 수행되지 않았다고 하였다. 각종 산업의 발달로 수반되는 환경오염을 막기 위하여 방류수에 포함된 질소와 인의 규제가 강화되면서 조류를 이용한 산업폐수(6, 7), 축산폐수(8), 도시하수(9, 10)에서 질소와 인의 제거를 위한 연구 및 기술개발이 선진 외국에서는 활발히 수행되고

있다(11). 그러나 우리나라에서는 질소와 인에 대한 배출규제가 본격적으로 시작된 기간이 짧고, 지금까지 질소와 인의 제거보다는 통상적으로 BOD, COD, SS 등에 관심을 두고 처리해왔기 때문에 하·폐수종의 질소와 인의 제거에 대한 연구가 깊이 있게 이루어지지 못하고 있는 실정이다(12).

미세조류의 선별 및 처리 조건의 최적화 실험에서는 축산폐수 중에서 돈폐수를 대상으로 폐수내 질소와 인의 생물학적 고차처리를 달성하기 위하여 다양한 미세조류를 대상으로 돈폐수에서 생장이 우수한 조류를 선별하고, 질소와 인의 효율적 제거를 위한 최적화 조건의 설정, 그리고 최적조건 하에서 질소와 인의 제거 특성을 조사하였다.

다음은 연속처리 시스템에서 조류의 종이 다른 종으로 바뀌지 않도록 폐수를 선별된 조류의 생장에 적합한 조건으로 만들기 위한 실험을 수행하였다. 즉, 축산폐수를 *C. vulgaris*의 생육에 적합하게 최적화 시키고, 처리 온도를 낮추는 실험을 통하여 접종 조류종을 유지하면서 질소와 인 제거의 목적을 달성하고자 하였다.

연속처리 시스템에서 나오는 처리수 중에서 *C. vulgaris*를 분리하여 가축의 사료로 사용하기 위하여 응집방법을 연구하게 되었다. 처리수에서 조류를 분리하기 위하여 alum을 많이 이용하고있으나 alum은 독성을 가지고 있어 처리수 중에 있는 조류를 사료로 사용하기 위한 분리방법으로는 적합하지 않다. 그래서 alum을 대체할 수 있는 응집방법을 찾는 연구를 수행하였다.

## 제 2 절 재 료 및 방 법

### 1. 질소와 인의 제거율이 우수한 미세조류의 선별

#### 가. 대상 미세조류

본 실험에 사용된 균주는 폐수에서의 성장 및 biomass이용 가능성을 고려하여 *Chlorella vulgaris*(UTEX 265), *Chlorella* sp. GE 21, *Botryococcus braunii*(UTEX 572), *Botryococcus* sp. GE 24, *Scenedesmus quadricauda*, *Phormidium* sp. GE 2, *Spirulina maxima*(UTEX 2342)의 7종을 대상으로 하였다. 이들 조류 중에서 *Chlorella* sp. GE 21, *Botryococcus* sp. GE 24, *S. quadricauda* 그리고 *Phormidium* sp. GE 2는 자연계에서 분리하였으며, 나머지 균주는 UTEX(The University of Texas at Austin)에서 분양 받았다.

#### 나. 축산폐수

실험에 사용된 폐수는 충남 논산에 위치한 대규모 돼지사육단지로부터 공급받았으며, 1차 물리적 처리, 2차 활성슬러지법으로 처리된 돈폐수로 적절히 처리되어 돈폐수 특유의 냄새는 거의 없었으며, 짙은 갈색을 띄고 있었다. 고차처리에 이용될 돈폐수 시료는 4℃ 저온실에 보관하여 후속 실험에 사용하였다.

### 2. 미세조류의 배양

#### 가. 미세조류의 선별 및 배양조건 최적화

##### 1) 회분배양

미세조류의 선별 및 배양의 최적화 실험에서 온도, pH, 축산폐수의 농도 등의 효과는 폐수를 멸균하지 않고 희석(돈폐수 : 지하수 = 1 : 3)하여 질소와 인의 제거에 관한 실험을 수행하였다. 접종원은 Chu 13 배지(KNO<sub>3</sub>

0.371 g/l,  $K_2HPO_4$  0.08 g/l,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g/l,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0.107 g/l, Fe citrate 0.02 g/l, Citric acid 0.1 g/l)와 trace element 1ml/l( $H_3BO_3$  2.86 g/l,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ , 1.81 g/l,  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  0.391 g/l,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , 0.079 g/l,  $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ , 0.0494 g/l)에 미세조류를 실험전 2주전에 배양하여 이것을 접종원으로 사용하였다. 접종원에 포함된 미세조류의 수는  $4.16 \times 10^5/ml$  정도로 이 배양액을 실험군에 3% 접종하였다. 온도의 영향을 조사한 실험에서는 pH는 조절하지 않은 상태에서 온도를 20, 25, 30, 35°C 상태에서  $190 \mu E/m^2/s$ 의 광도의 shaking incubator에서 처리하였으며, pH의 영향을 조사한 실험에서는 돈폐수의 pH를 pH 5-9로 조절한 다음 *C. vulgaris*를 13일간 배양하였으며 온도의 영향을 조사할 때와 같이 성장과 폐수내 질소와 인 제거의 효과를 조사하였다. 이외에 축산폐수의 농도가 질소와 인 제거에 미치는 효과를 조사하는 실험에서도 같은 조건하에서 실시하였다.

## 2) 정치배양

광도의 영향은 25% 희석된 돈폐수에 *C. vulgaris*를 접종한 후  $5 \mu E/m^2/s$ 에서  $160 \mu E/m^2/s$ 까지 다양하게 광이 공급되는 light chamber내에서 250-ml의 삼각플라스크에 100 ml의 배양액을 9일간 정치배양하였다. 상온에서 하루에 2회 hand shaking으로 배양액을 혼합하였다.

## 3) 연속배양

연속배양은 돈폐수를 멸균하지 않고 각각의 조건에 맞추어 5-ℓ fermenter에서 배양하였고, 광도는  $150 \mu E/m^2/s$ 이었으며 온도는 35°C로 각각의 수류학적 체류시간(HRT)에 대한 영향을 조사하였다. Table 2-1에서 보는 바와 같이 먼저 50% 희석된 돈폐수에 미세조류를 접종한 후 배양을 시작하여 cell수가 증가하고 돈폐수의 질소와 인 제거가 종결되는 시기에 계

획된 수리학적 체류시간에 맞추어 돈폐수를 연속적으로 공급하여 주었다.

Table 2-1. The conditions of influent according to the hydraulic retention times(HRT)

HRT, day	Influent, ml/min	Influent, ml/hr	Influent, ml/day
3	0.694	41.66	999.84
5	0.416	25.00	600.00
7	0.297	17.85	428.56
10	0.208	12.50	300.00
14	0.148	8.92	214.27

#### 나. *Chlorella vulgaris* 유지를 위한 폐수의 최적화

##### 1) 회분식 배양

Chu 13 배지에 *C. vulgaris*를 실험전 2주전에 배양하여 접종원으로 사용하였다. 접종원에 포함된 미세조류의 수는  $4.16 \times 10^5$ /ml 정도로 이 배양액을 실험군에 3% 접종하였다 온도,  $MgSO_4$ ,  $CaCO_3$ , glucose의 영향을 조사한 실험에서 희석하지 않은 돈폐수를 멸균하였다. 각각의 조건에 따라 폐수를 처리하였다. 이때 돈폐수의 pH는 최적의 pH에 가까웠으므로 다른 처리는 하지 않았으며, 광도는  $190 \mu E/m^2/s$ 로 조절된 shaking incubator에서 배양하였다.

##### 2) 연속배양

연속배양을 하기 위하여 우선 *C. vulgaris*를 sodium alginate에 고정시켰다. 배양된 미세조류를 회수하고 나서 300 ml 식염수에 sodium alginate를 9 g 녹였다. 이와같이 회수한 조류를 alginate-cell mixture를

만든 후

Table 2-2. The various conditions in the continuous treatment of swine wastewater

No.	HRT(day)	Glucose(%)	MgSO <sub>4</sub> (%)
1	7(428.56 ml/day)	-	-
2	7(428.56 ml/day)	0.01	0.01
3	7(428.56 ml/day)	0.1	0.01
4	5(600.00 ml/day)	0.1	0.01
5	5(600.00 ml/day)	0.01	0.01

0.05 M CaCl<sub>2</sub> 용액에 stirring 시키면서 mixture를 떨구어 bead를 형성하고 강도를 높이기 위해 1-2시간 계속 방치하였다. 이와같이 고정화된 미세조류를 이용하여 5-ℓ의 fermenter에서 working volume 3ℓ로 돈폐수의 질소와 인을 제거하기 위한 실험을 실시하였다. Table 2-2와 같은 조건하에서 수리학적 체류시간을 7일, 5일에 따른 영향과 폐수의 성분을 조절하면서 *C. vulgaris*가 우점종으로 유지되도록 실험을 실시하였다. 이때 광도는 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 이었으며 온도는 27°C에서 배양하였다. 돈폐수는 2차 처리되어 방류되는 폐수를 사용하였으며 pH조절은 하지 않았다.

### 3. 이화학적 분석

#### 가. 건조세포중량

건조세포중량은 시료를 Sampling manifold(Millipore)를 이용하여 Whatman GF/C filter로 여과한 후 여과된 고형물을 100°C에서 24 hr 건조하여 측정하였다.

#### 나. 엽록소-a 함량

엽록소-a 함량을 측정하기 위하여 시료 1 ml을 Whatman GF/C filter로 여과한 후 chloroform/methanol(2:1 by volume) 9 ml을 첨가하여 섞어 준 후 4-5시간 냉장고에 보관하였다. 그런 후 증류수 5.4 ml을 넣고 흔들어 준 후 냉장고에서 over night하였다. Chloroform층을 분리하여 Fluorometer (Turner Model-450)를 이용하여 fluorescence 값을 측정한 다음 엽록소-a 농도를 산출하였다.

#### 다. 질소와 인 분석

폐수 내에 존재하는 총질소와 총인은 시료를 persulfate 방법에 따라 질소 또는 인을 질산염과 인산염으로 산화시킨 후 수행하였다(13, 14). 즉, 시료 4 ml에 0.67% potassium persulfate용액(0.30% NaOH 첨가) 6 ml을 가하고 고온 멸균기를 이용하여 120℃에서 30분간 가열하여 완전히 산화시켰다. 산화된 시료에 0.3 N HCl 0.6 ml을 가하여 혼합한 후 완충용액(3.0% boric acid, 2.0 N NaOH) 0.8 ml과 증류수 8.6 ml을 가하여 과황산염으로 산화 처리하여, 시료내 인산염과 질소를 정인산염( $PO_4^{3-}$ )과 질산염의 형태로 변화시켰다. 정인산염은 시료를 phosphomolybdate(15)로 발색시킨 후 5-cm light path의 cuvette으로 885 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였고, 질산염은 Szechrome NB 시약(Polyscience Inc.)을 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였으며(16), 암모니아성 질소는 직접 네슬러화법(17)으로 분석하였다.

#### 라. COD, SS, TOC 분석

COD와 SS는 환경오염공정시험법(18)에 따라 0.025 N  $KMnO_4$  일정량을

넣고 30분간 가열반응시킨 다음 소비된  $\text{KMnO}_4$ 의 양으로부터 COD를 측정하였으며, SS(suspended solid)는 시료를 GF/C 여과지로 여과하여 측정하였다. TOC(total organic carbon)는 총유기탄소분석기(Shimadzu 5000A)로 분석하였다.

#### 4. 미세조류의 회수방법

##### 가. 응집실험에 이용된 배양액

돈폐수처리 최적화 실험에서 얻어진 *C. vulgaris* 배양액을 이용하여 응집실험을 수행하였다. 배양액 내의 *C. vulgaris*의 건조세포중량은 1 g/l 정도이었고, pH는 7.3 정도이었다.

##### 나. 응집활성 측정

5-ℓ photobioreactor에서 약 1.12 g/l정도 배양된 *C. vulgaris* 100 ml을 250-ml 비이커에 담고 stirring bar를 추가하여 300 rpm으로 회전시키면서 각각의 처리 조건에 맞추어 처리한 후 1분간 급속 회전을 시켜준다. 그런 후 완속으로 30초간 100 rpm으로 회전시켜준 후 3분간 정지한 다음 550 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하고 건조세포중량도 측정하였다. pH의 영향을 조사한 실험에서는 *C. vulgaris* 배양액 100 ml에 10 M NaOH로 pH 9, 10, 11, 12, 12.5가 되게 각각 조절한 다음 바닷물 2 ml를 첨가하여 응집활성을 측정하였으며, 바닷물의 농도에 따른 응집활성을 조사한 실험에서는 *C. vulgaris*를 pH 12로 조절한 후 바닷물을 0-4%까지 첨가하여 조사하였고, 보조응집제로서의  $\text{CaCl}_2$ 의 영향을 조사한 실험에서는 배양액에 10 M NaOH를 가하여 pH 12로 맞추고 바닷물을 1%되게 첨가한 후  $\text{CaCl}_2$ 를 각각 0, 1, 10, 100 ppm되게 첨가한 후 응집활성을 조사하였다. 한편 바닷물이 아닌 NaCl만으로도 응집활성이 있는지 알아보기 위한 실험에서는 바닷물과 비슷

한 2%정도와 농도를 진하게 4%, 10%에서 응집활성을 조사하였고, 응집에 많이 쓰이는 alum과 바닷물의 활성은 최적화된 조건에 따라 응집활성을 비교 조사하였다.

$$\text{Flocculation activity} = 1/A - 1/B$$

A: optical density of sample at 550 nm

B: optical density of control at 550 nm

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 미세조류의 선별 및 폐수처리의 최적조건

##### 가. 축산폐수의 선정

축산폐수의 고차처리를 위해 충남 논산에 위치한 돼지사육단지로부터 1, 2차 처리된 돈폐수를 수집하여 분석한 결과는 Table 2-3과 같다. 활성슬러지법에 의해 처리된 폐수의 COD<sub>Mn</sub>은 40 mg/l로 유기물 농도는 비교적 낮았으나, 총질소와 총인은 각기 58.65 mg/l, 14.71 mg/l로 높은 농도로 존재하였다. 또한 총질소 중에서 암모니아성 질소가 45.44 mg/l로 77%를 차지하였다. 지금까지는 하천이나 호소에 유기물 유입으로 인한 수중생태계 오염을 중점으로 이에 대한 규제를 많이 해왔으나 점차 질소와 인에 대한 규제가 강화되고 있는 실정이다. 1996년부터 적용하고 있는 축산폐수공동처리 시설의 방류수 수질 기준인 BOD 30 mg/l, SS 30 mg/l, TN 120 mg/l, TP 16 mg/l에는 크게 벗어나지 않았으나, 축산폐수에 포함된 질소와 인이 호소 부영양화의 주요 인자임을 고려할 때 방류수 중의 질소와 인에 대한 기준강화 및 이를 뒷받침할 수 있는 효과적 처리기술의 개발이 요구된다 하겠다.

Table 2-3. Analysis of swine wastewater treated with activated sludge process

Characteristics	Treated swine wastewater
COD <sub>Mn</sub> , mg/l	40.00
SS, g/l	0.12
pH	8.01
TN, mg/l	58.65
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N, mg/l	9.75
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N, mg/l	45.44
TP, mg/l	14.71
PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -P, mg/l	3.17
TOC, mg/l	42.35

#### 나. 균주의 선별

선별 대상 미세조류인 *C. vulgaris*, *Chlorella* sp. GE 21, *B. braunii*, *Botryococcus* sp. GE 24, *S. quadricauda*, *Phormidium* sp. GE 2, 그리고 *S. maxima*의 25%로 희석(돈폐수 : 지하수 = 1 : 3)된 돈폐수 중에서 배양시간에 따른 미세조류의 생장은 Fig. 2-1과 같다. 배양후 27일째 조류의 생장은 *C. vulgaris*와 *Chlorella* sp. GE 21, 그리고 *S. quadricauda*에서 우수하였다. 이들 조류 중에서 *C. vulgaris*는 초기 생장률이 다른 두 종보다 높았으며, 양식어의 사료(19)로 이용될 수 있는 가능성으로 인하여 대상 미세조류로 최종 선별하였다. 질소와 인은 미세조류의 생장에 필수적인 성분이므로, 미세조류의 생장과 질소와 인의 제거는 상관관계를 갖게되어 Fig. 2-2에서 보는 바와 같이 생장이 우수한 *C. vulgaris*에서 질소와 인의 제거도 높은 것으로 조사되었다. 이는 Przytocka-Jusiak 등(20)과 Chen과 Johns(21)이 조사한 *Chlorella*가 질소나 인의 제거에 우수한 효과를 갖는다는 보고와도 일치하는 결과이다.

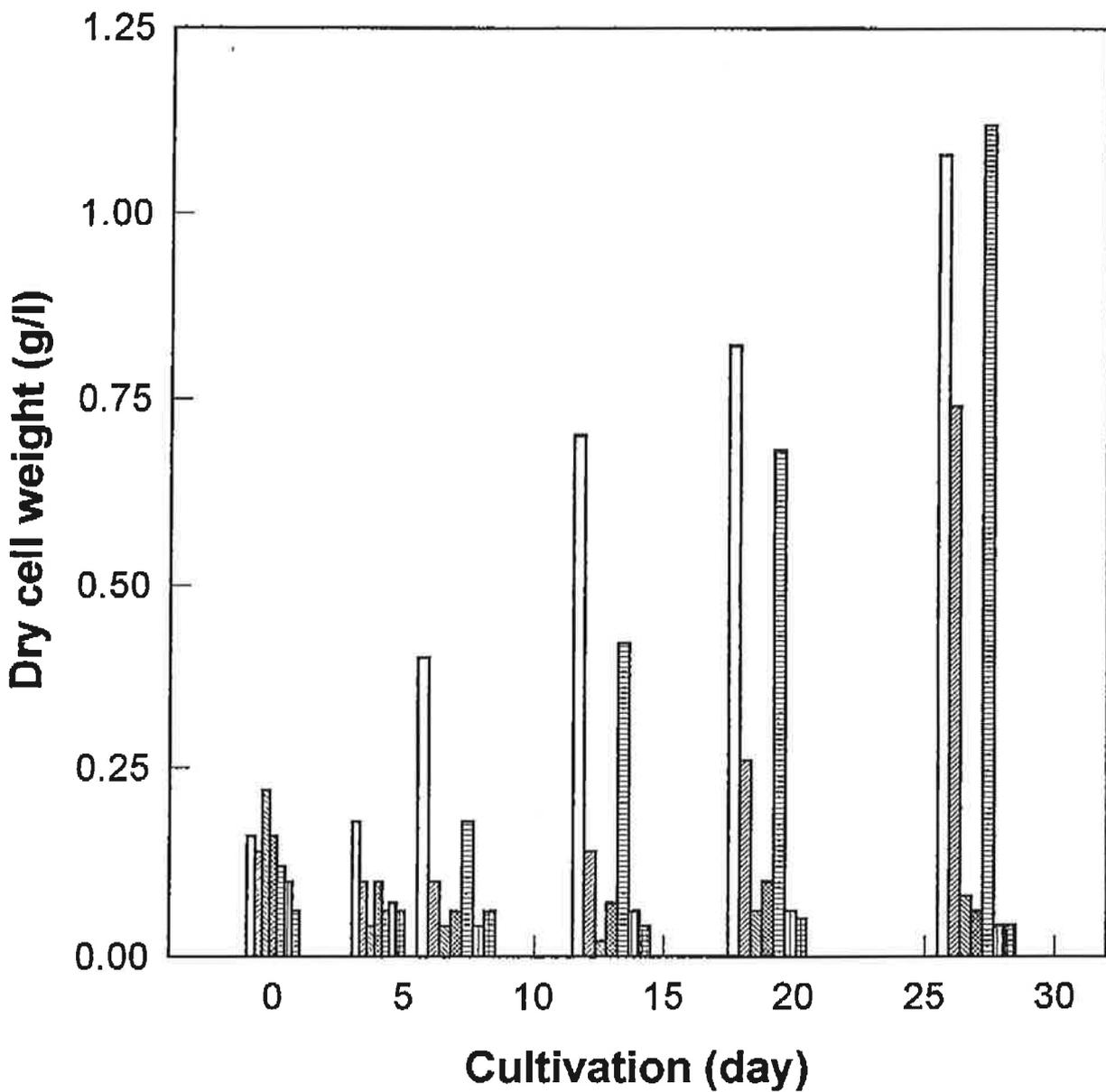


Fig. 2-1. Growth of seven algal species in secondary treated swine wastewater. Cultivation was done for 27 days at 25°C on a rotary shaker under a light intensity of 50  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ .

*Chlorella vulgaris* (□), *Chlorella* sp. GE 21 (▨), *Botryococcus braunii* (▩), *Botryococcus* sp. GE 24 (▤), *Scenedesmus quadricauda* (≡), *Phormidium* sp. GE 2 (▧), *Spirulina maxima* (▣).

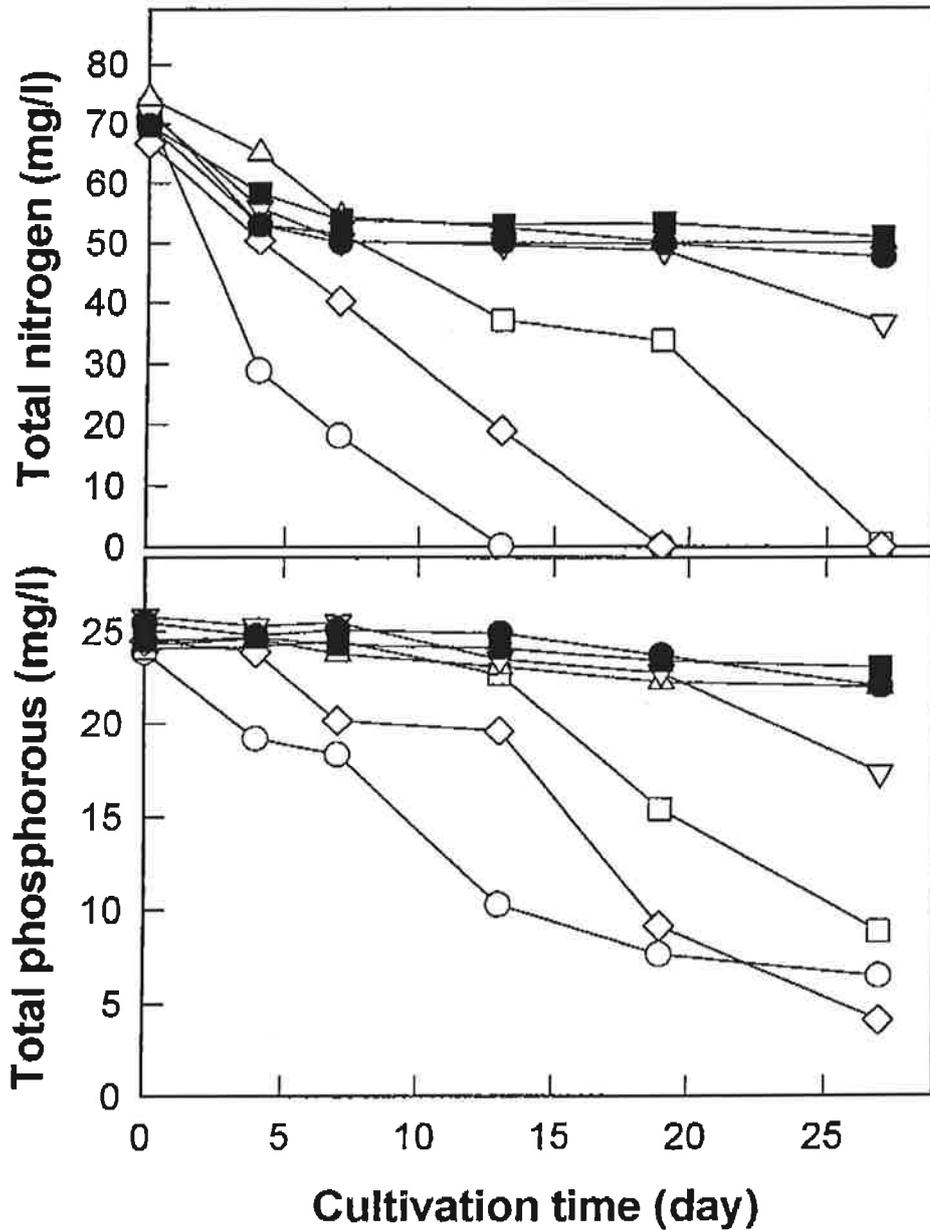


Fig. 2-2. The removal of total nitrogen and total phosphorus in non sterilized secondary treated swine wastewater by seven algal species. Cultivation was done for 27 days at 25°C on a rotary shaker under a light intensity of  $50 \mu E/m^2/s$ .

*Chlorella vulgaris* (○), *Chlorella* sp. GE 21 (□), *Botryococcus braunii* (△), *Botryococcus* sp. GE 24 (▽), *Scenedesmus quadricauda* (◇), *Phormidium* sp. GE 2 (●), *Spirulina maxima* (■).

Fig. 2-3은 멸균한 축산폐수에서 미세조류의 성장을 보여주고 있다. *C. vulgaris*의 생장이 우수하였으며, 멸균된 폐수에서도 조류 생장이 왕성한 결과로 볼 때 멸균하지 않은 폐수에서 질소와 인의 제거는 세균의 활성보다는 미세조류의 성장에 따른 결과로 판단된다. 지금까지의 결과를 Table 2-4에 종합하였다. 멸균한 돈폐수와 멸균하지 않은 돈폐수에서 질소와 인의 제거효율과 건조세포증가율이 비슷하다는 것은 접종조류에 의해 돈폐수가 처리되고 있음을 의미하며, *C. vulgaris*와 *S. quadricauda*가 비슷한 효율을 보였으나, 초기 생장은 *C. vulgaris*에서 우수하였다. 여러 종의 미세조류 중에서 돈폐수에서 생장이 우수한 3종(*B. braunii*, *Chlorella* sp. GE 21, *C. vulgaris*)의 미세조류를 선별하여 폐수의 희석 농도별에 따른 균체의 성장을 측정하였다(Fig. 2-4). 이종에서 활성이 우수한 *C. vulgaris*를 최종 선별하였다.

Table 2-4. Comparison of productivity, TN and TP removal efficiency of seven algae in sterile and nonsterile swine wastewater

Species	Productivity (mg/l/day)		TN removal efficiency (%)		TP removal efficiency (%)	
	sterile	non-sterile	sterile	non-sterile	sterile	non-sterile
<i>Chlorella vulgaris</i>	34.07	34.07	99.97	99.93	68.62	64.60
<i>Chlorella</i> sp. GE 21	21.48	-2.22	99.42	86.49	63.20	47.58
<i>Botryococcus braunii</i>	-3.71	-5.18	33.71	58.95	0.42	0.42
<i>Botryococcus</i> sp. GE 24	5.18	-3.71	49.03	64.51	17.71	1.28
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	54.81	37.03	99.95	99.92	83.23	73.77
<i>Phormidium</i> sp. GE 2	2.22	-2.22	38.24	69.36	2.25	4.69
<i>Spirulina maxima</i>	-1.48	-0.74	12.63	67.17	13.13	4.07

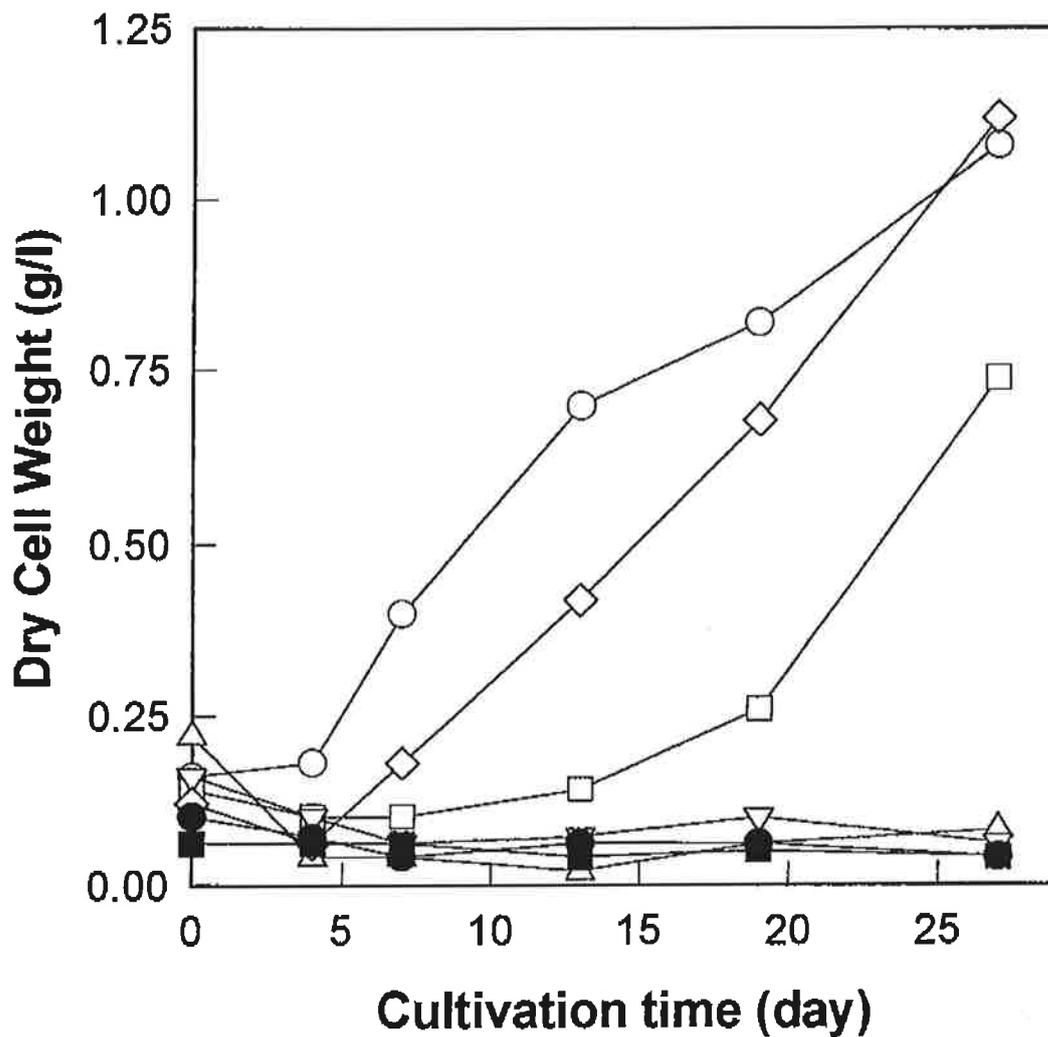


Fig. 2-3. Growth of seven algal species in sterilized secondary treated swine wastewater. Cultivation was done for 27 days at 25°C on a rotary shaker under a light intensity of 50  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ . *Chlorella vulgaris* (○), *Chlorella* sp. GE 21 (□), *Botryococcus braunii* (△), *Botryococcus* sp. GE 24 (▽), *Scenedesmus quadricauda* (◇), *Phormidium* sp. GE 2 (●), *Spirulina maxima* (■).

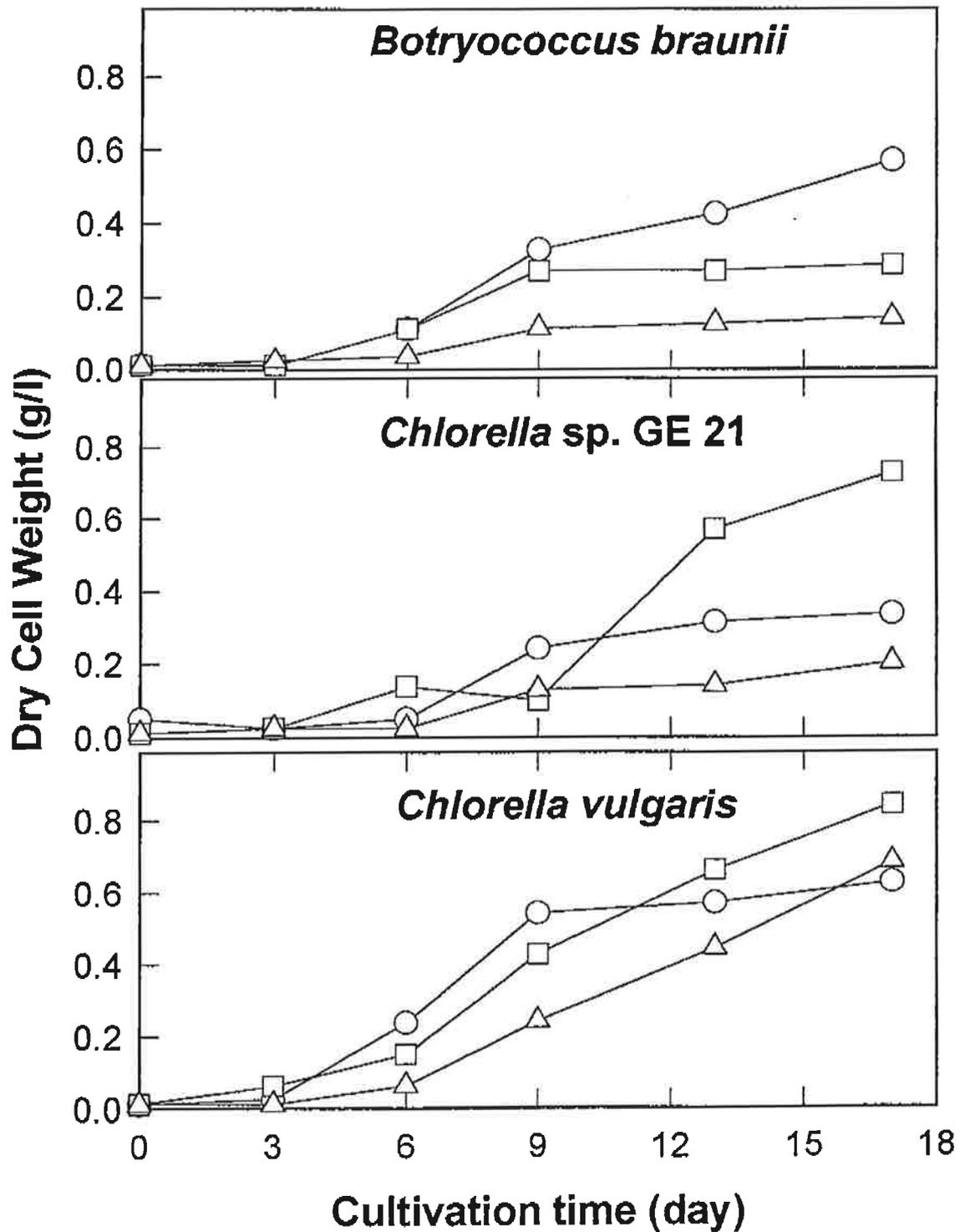


Fig. 2-4. Comparison of three algal growth in each concentration of swine wastewater.

○: 25%, □: 50%, △: 100% swine wastewater

다. 축산폐수 처리의 최적화

1) 온도

수온이 *C. vulgaris*의 성장과 질소와 인의 제거에 미치는 영향을 조사하기 위하여 조류를 25% 희석된 돈폐수에 접종한 후 20, 25, 30, 35, 40°C로 유지되는 photobioreactor에서 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광조건하에서 6일간 배양하면서 성장특성을 조사하였다(Fig. 2-5). 조사된 20-40°C의 범위 중에서 조류의 성장과 질소와 인의 제거는 35°C 배양조건에서 가장 높았다. 35°C에서 건조세포증량증가율은 50.0 mg/l/day로 계산되었으며, 총질소는 배양 초기 21.50 mg/l에서 1.01 mg/l로 95.3%의 제거효율을 보였으며, 총인은 배양 초기 4.83 mg/l에서 0.19 mg/l로 96.0%의 높은 제거효율을 보였다(Table 2-5). 대부분의 녹조류에서 성장의 최적온도가 25°C인 점을 고려할 때 본 실험종은 비교적 높은 수온에서 최대 성장을 보였다. 또한 Veber 등(22)은 폐수에서 *C. vulgaris*의 최적 생육온도는 36-37°C임을 보고한 바 있다. 한편, 수온이 25, 30, 40°C일 때 질소와 인의 제거효율은 80% 이상으로 높았으나, 미세조류의 생육은 35°C에 비하여 크게 감소하였다.

Table 2-5. Summary of cell growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen or phosphorus removal under different culture conditions

Temperature (°C)	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
25	41.3	4.04	76.4	1.08	85.9
30	45.0	4.24	89.3	0.84	72.2
35	50.0	4.39	95.3	1.16	96.0
40	46.7	4.19	82.6	1.01	81.5

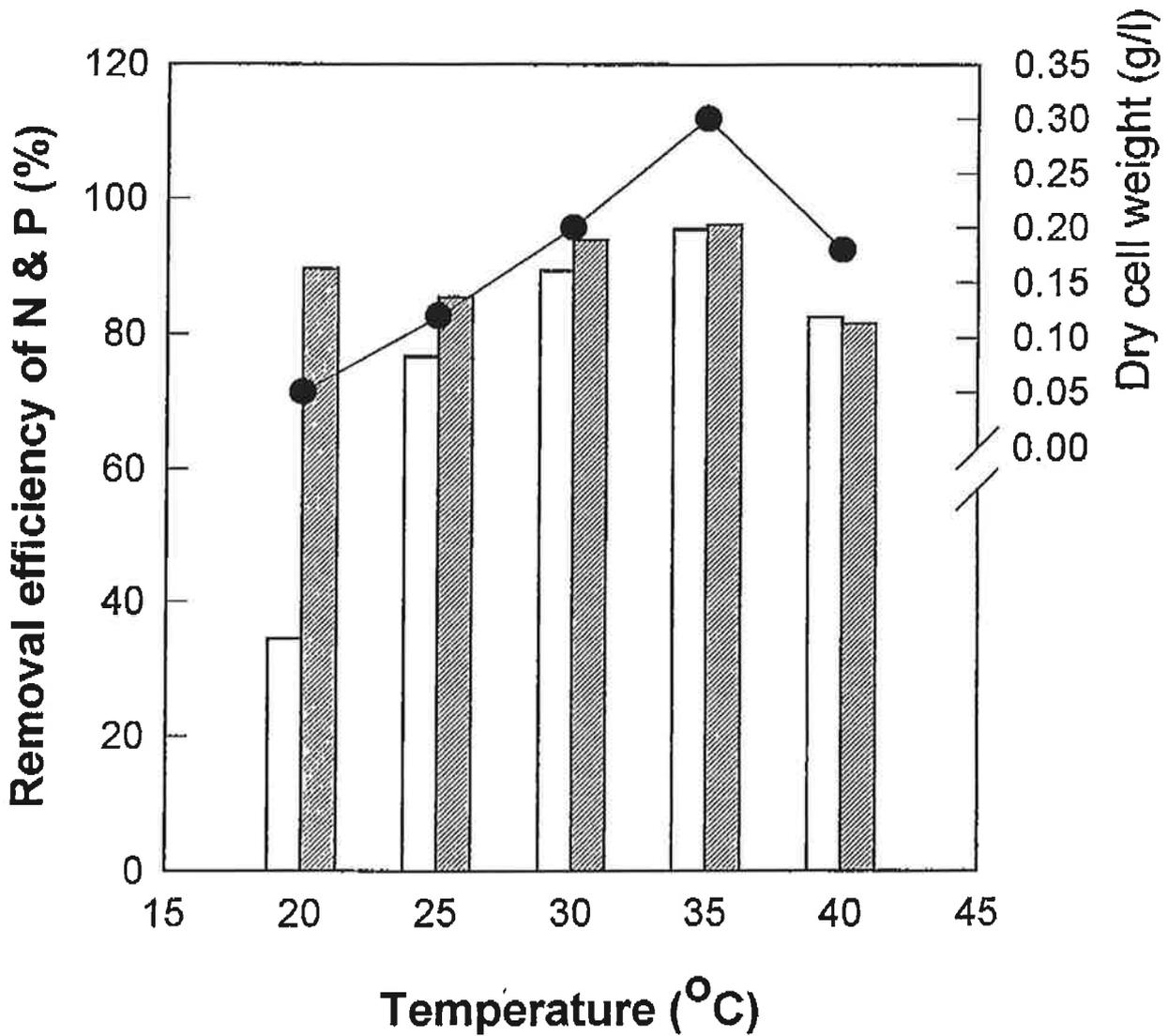


Fig. 2-5. Effect of temperature on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in 25% swine wastewater. Cultivation was done for 6 days at each temperature on a rotary shaker under a light intensity of  $50 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ . Total phosphorus removal efficiency (▨), Dry cell weight (●), Total nitrogen removal efficiency (□).

## 2) pH

돈폐수의 pH를 5-9로 조절한 다음 *C. vulgaris*를 13일간 배양하였을 때 성장과 폐수내 질소와 인 제거의 효과를 조사한 결과는 Table 2-6 및 Fig. 2-6과 같다.

Table 2-6. Summary of cell growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen or phosphorus removal under different culture conditions

pH	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
6	31.3	2.41	87.5	0.69	85.1
7	31.3	2.44	88.8	0.67	89.2
8	43.8	2.46	90.7	0.64	87.9
9	33.3	1.87	88.1	0.64	86.7

pH 5에서 9까지의 초기 pH 범위 중에서 pH 8로 조절한 경우 조류의 생장이 다른 pH에서 보다 우수하였다. 건조세포증량증가율은 43.8 mg/l/day이었고, 질소와 인의 제거효율은 각각 90.7%, 87.9%로 나타났다. 질소와 인의 제거효율은 pH 7에서 9까지 큰 차이를 보이지 않아 약 알칼리의 범위에서는 pH 변화에 민감하지 않는 것으로 보였다. 이는 Gordon 등(23)의 보고와 같이 대부분의 조류는 약알칼리에서 최대 성장을 보이는데, 본 실험에 사용된 *C. vulgaris*도 약알칼리에서 생육이 우수하며, 미세조류가 생육함에 따라 배지의 pH가 증가하는 것으로 판단된다.

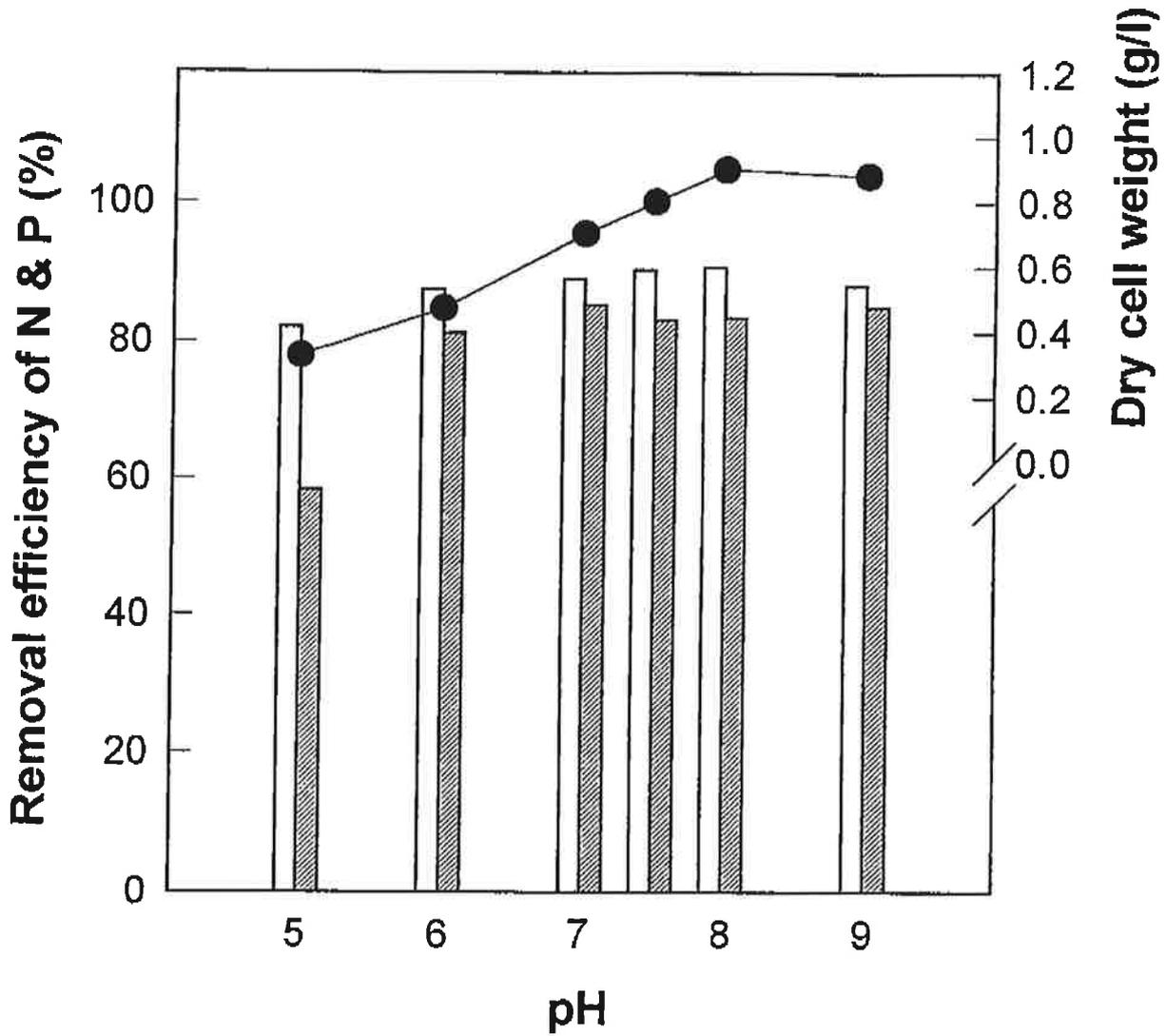


Fig. 2-6. Effect of pH on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in 25% swine wastewater. Cultivation was done for 13 days at each pH on a rotary shaker under a light intensity of  $50 \mu E/m^2/s$ . Dry cell weight (●), Total nitrogen removal efficiency (□), Total phosphorus removal efficiency (▨).

### 3) 광도

*C. vulgaris*의 생장과 폐수내 질소와 인의 제거에 미치는 광도의 영향을 조사하기 위하여 25% 희석된 돈폐수에 접종한 후  $5 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서  $160 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 까지 다양하게 광을 공급하면서 9일간 배양하였다. Table 2-7 및 Fig. 2-7에서 보는 바와 같이  $40 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이하에서는 미세조류의 생육이 저해를 받았다.

Table 2-7. Summary of cell growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen or phosphorus removal under different culture conditions

Light-intensity ( $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ )	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
13	16.1	1.26	45.5	0.38	76.3
40	35.1	2.39	91.0	0.68	88.3
90	27.2	2.44	88.2	0.87	89.6
160	34.9	2.29	90.0	0.99	90.7

광도가 40, 90, 160  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 으로 공급된 실험구에서는 미세조류의 생장은 35.1, 27.2, 34.9 mg/l/day 질소는 90% 정도로 제거되었으며, 인의 제거효율은 80-90%로 비슷하였다. 따라서 돈폐수 처리에서 최소한  $40 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이상의 광이 공급되어야 한다는 결론을 내릴 수 있었다. 그러나  $40 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이상의 광도에서도 높은 광도에서 생육이 우수하였으며 낮은 광도에서 생육은 낮았다. 그러므로 높은 광도하에서 미세조류의 생육이 왕성한 것으로 판단되었다.

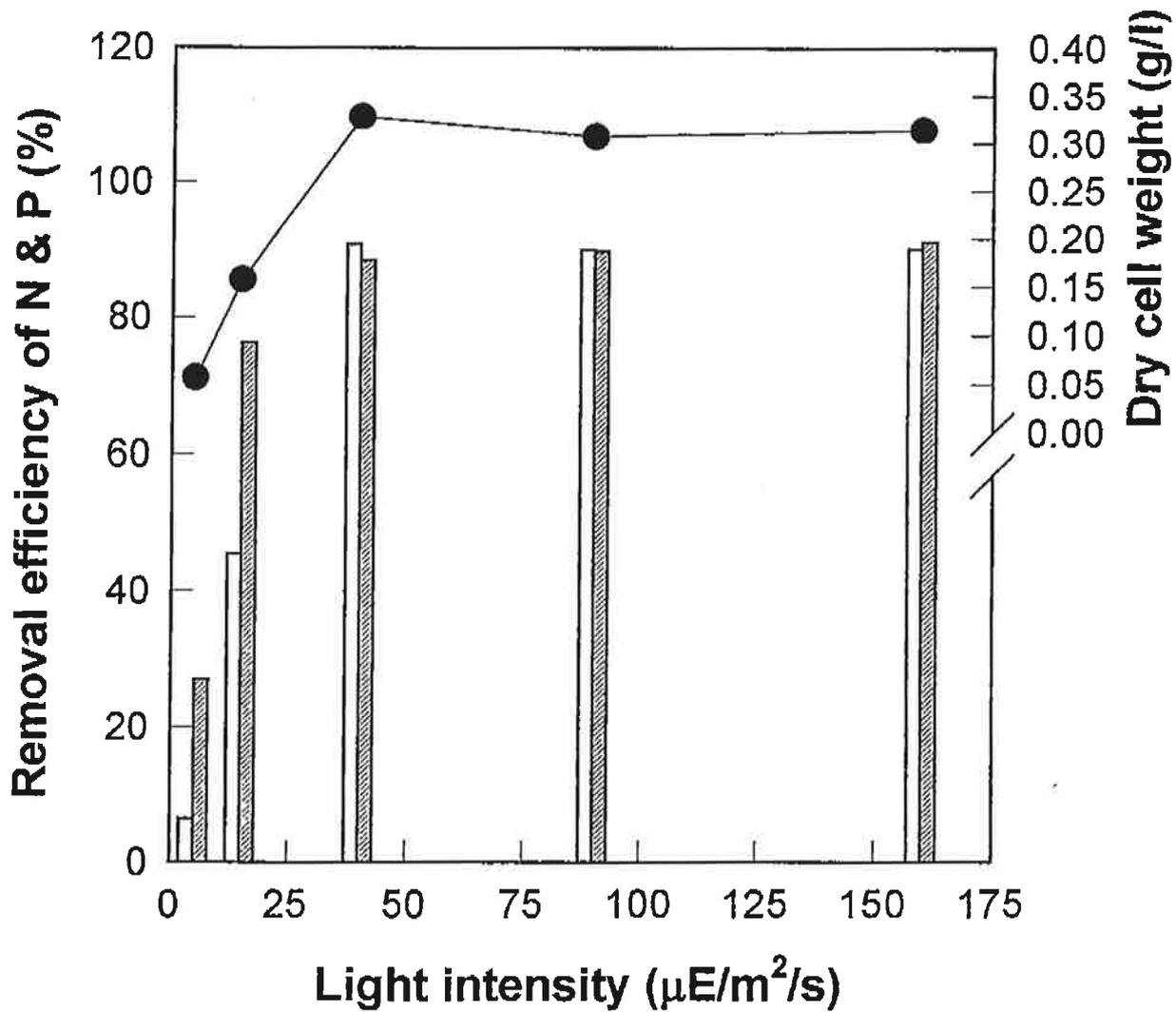


Fig. 2-7. Effect of light intensity on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in 25% swine wastewater. Cultivation was done for 9 days at room temperature under each light intensity.

Dry cell weight (●), Total nitrogen removal efficiency (□), Total phosphorus removal efficiency (▨).

#### 4) 축산폐수의 농도

돈폐수의 희석정도에 따른 *C. vulgaris*의 성장과 총질소, 총인의 제거효율을 조사한 결과는 Table 2-8과 Fig. 2-8에서 보여주고 있다. 30℃와 pH 8.0에서 14일간 배양하였을 때, 돈폐수 75%(돈폐수 : 지하수 = 3 : 1)에서 최대 조류성장(53.5 mg/l/day)과 질소와 인의 제거효율이 각각 85.0%, 94.8%로 비교적 높았다. 그러나 100% 돈폐수에서도 긴 lag time후에 조류의 생장이 이루어져, 돈폐수를 희석하지 않고도 처리할 수 있음을 보였다. 돈폐수의 농도가 높을수록 lag time이 길어지는 것은 암모니아성 질소의 독성으로 미세조류의 생장이 억제되기 때문으로 사료된다(24). 즉 폐수의 처리 시간을 길게 하면서 돈폐수 내에서 질소와 인을 안정적으로 제거할 수 있을 것으로 판단된다.

Table 2-8. Summary of cell growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen or phosphorus removal under different culture conditions

Percentage of swine waste-water(%)	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
25	33.0	1.92	82.5	0.38	84.5
50	50.9	3.21	85.4	0.79	92.7
75	53.5	3.63	85.0	1.32	94.8
100	38.4	2.07	55.3	1.21	92.5

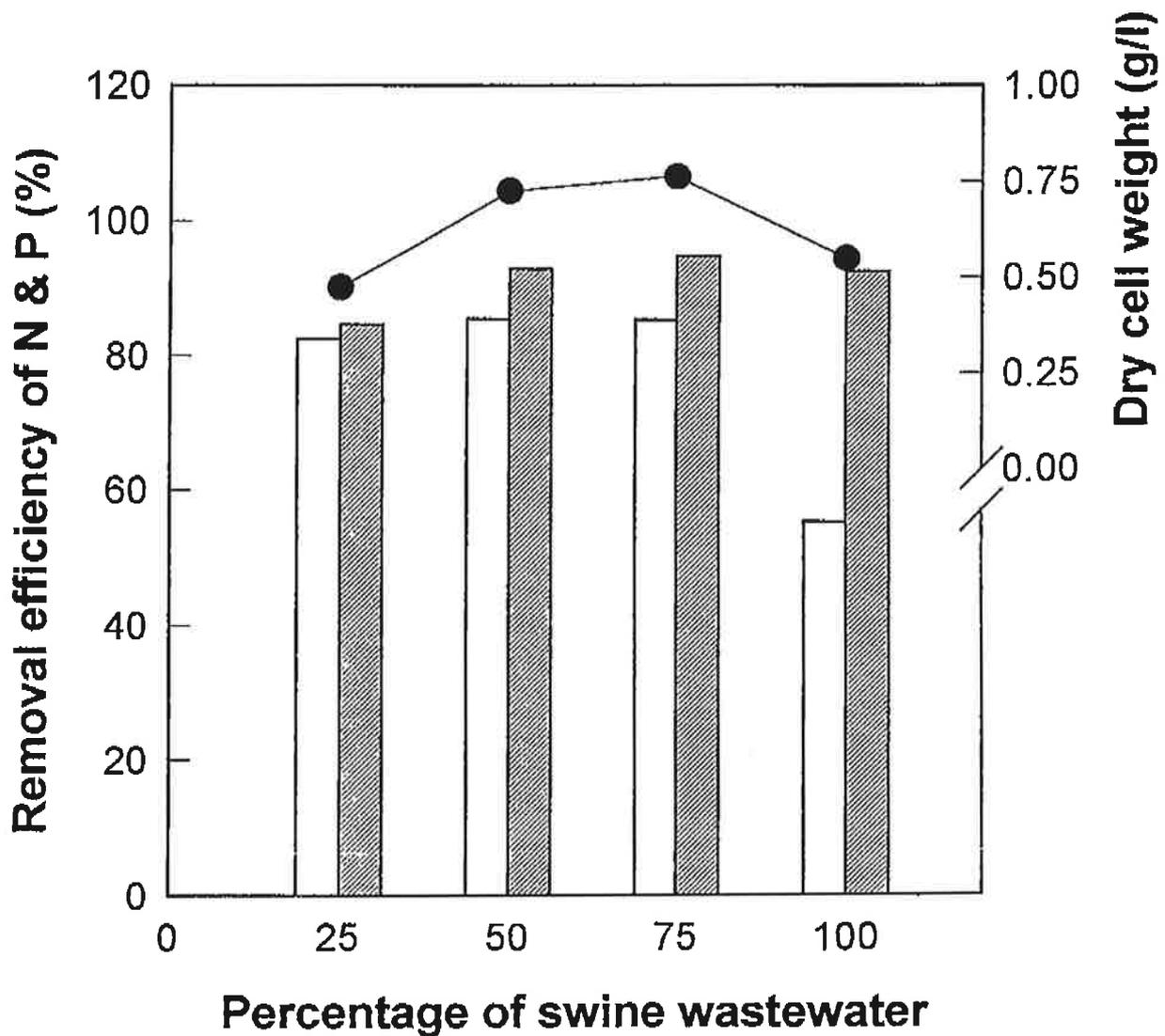


Fig. 2-8. Effect of percentage of swine wastewater on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in swine wastewater. Cultivation was done at 30°C, pH 8.0 for 14 days on a rotary shaker under a light intensity of 50  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ .

Dry cell weight (●), Total nitrogen removal efficiency (□), Total phosphorus removal efficiency (▨)

#### 라. 축산폐수 처리의 최적조건하에서 질소와 인의 제거 특성

본 실험에서 조사된 돈폐수 처리의 최적조건을 바탕으로 3-1 photobioreactor에서 수온은 35℃, pH 8.0, 광도는 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 조절하고 25% 희석된 돈폐수를 처리한 결과를 Fig. 2-9에 나타내었다. 초기 유입수에서 총질소는 21.5 mg/l, 총인은 4.83 mg/l이었으나, 4일 배양후 폐수내 총질소가 1.00 mg/l, 총인이 0.194 mg/l로 감소하였다. 즉, 접종후 4일 동안에 총질소와 총인은 각각 95.3%, 96.0%의 높은 제거효율을 보였다. 이와 같은 결과는 Li 등(25)이 미세조류를 배양한 못에서의 영양염류제거에 관한 연구로서 유입수중 총질소는 29.8 mg/l, 총인은 9.3 mg/l이었으나, 유출수에서 총질소는 11.1 mg/l, 총인은 3.10 mg/l이 포함되어 각각 72.6%, 48.1%가 제거되었다는 보고에 비하여 제거효율이 매우 높은 것이다. 따라서 이와 같은 시스템을 이용하여 축산폐수의 고차처리를 효과적으로 달성할 수 있다고 사료된다.

한편 미세조류의 생육에 따른 pH는 초기 7.5에서 4일 후 9.7까지 증가하다가 이후에 감소하였다. 그리고 엽록소-a 농도는 배양 2일 후 최대값인 1,928  $\mu\text{g}/\text{l}$  이었으나 이후에 감소하였다. 결과적으로 *C. vulgaris*를 이용한 돈폐수의 고차처리는 질소와 인의 제거효율이 매우 높아 현장적용에 의한 방류수 수질개선이 기대되며, 이와 같은 처리기술은 우리 나라의 호소와 하천, 그리고 해양수질보전에 많은 기여를 할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 마. 수리학적 체류시간에 따른 축산폐수의 처리

수리학적 체류시간에 따른 폐수처리에 관한 연구는 선행의 실험을 기초로 하여 수온은 35℃, pH 8.0, 광도는 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 별균하지 않은 2차 처리된 폐수를 3-ℓ working volum인 광생물반응기에서 *C. vulgaris*를 접종하여 처리시간에 따라 돈폐수중의 질소와 인을 제거하였다. 유입되

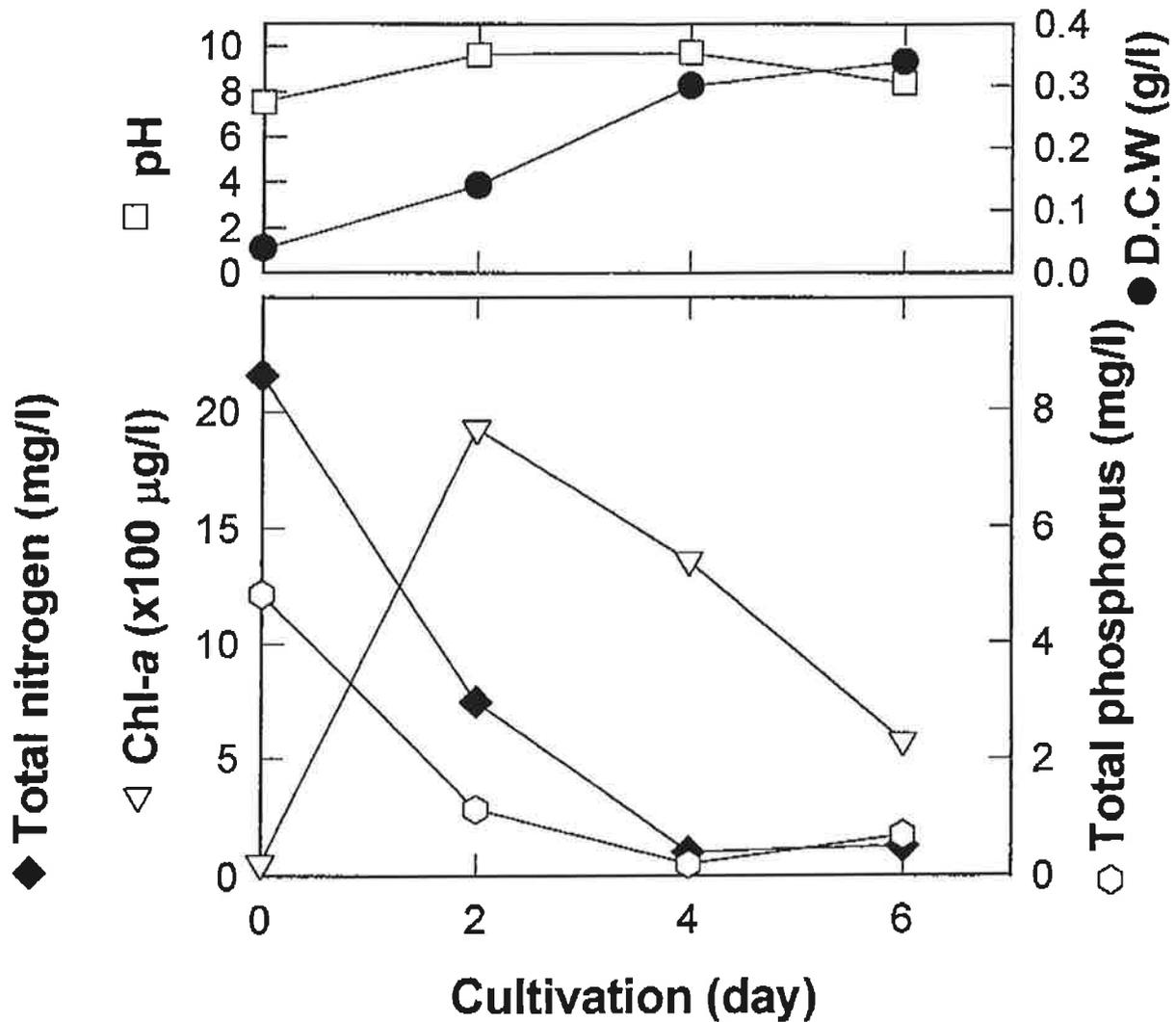


Fig. 2-9. Cell growth of *Chlorella vulgaris* and the removal of nitrogen or phosphorus at 25% swine wastewater. Cultivation was done for 6 days at 35°C in a 3-l photobioreactor under a light intensity of 150  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ .

는 총질소와 총인은 58.6 mg/l, 14.7 mg/l이었다. 수리학적 체류시간을 14일, 10일, 7일, 5일로 단축시키면서 질소와 인의제거를 조사하여 본 결과 5일까지 질소와 인이 안정적으로 처리되는 것을 Table 2-9와 Fig. 2-10에서 보여주고 있다.

Table 2-9. Comparison of the effect of hydraulic retention time (HRT) on cell growth and nitrogen or phosphorus removal in continuous culture

HRT (days)	Productivity (g/l/day)	N removal		P removal	
		removal rate	removal %	removal rate	removal %
		(mg/l/day)		(mg/l/day)	
14	0.518	10.79	87.39	2.91	92.52
10	0.685	14.58	82.93	3.94	89.46
7	0.509	23.03	91.65	6.78	91.04
5	0.493	33.41	94.94	8.86	84.81

조류 생산량은 HRT 10일에 0.685 g/l/day로 가장 높았다. 이는 이때 가장 안정적으로 처리가 이루어지고 있음을 보여주는 것으로, 7일, 5일로 수리학적 체류시간이 줄어들면서 조류 생산량 또한 줄었다. 질소는 각각의 체류시간에서 85%이상 제거되었으며 인도 안정적으로 제거됨을 보여주었다. 그러나 35°C의 고온에서 처리하다보니 녹조류인 *C. vulgaris*보다 남조류가 훨씬 빨리 성장하여 조류종의 천이가 있었다. 이를 해결하기 위하여 온도를 낮은 상태에서 *C. vulgaris*의 성장이 우수하도록 최적화하는 실험을 수행하였다.

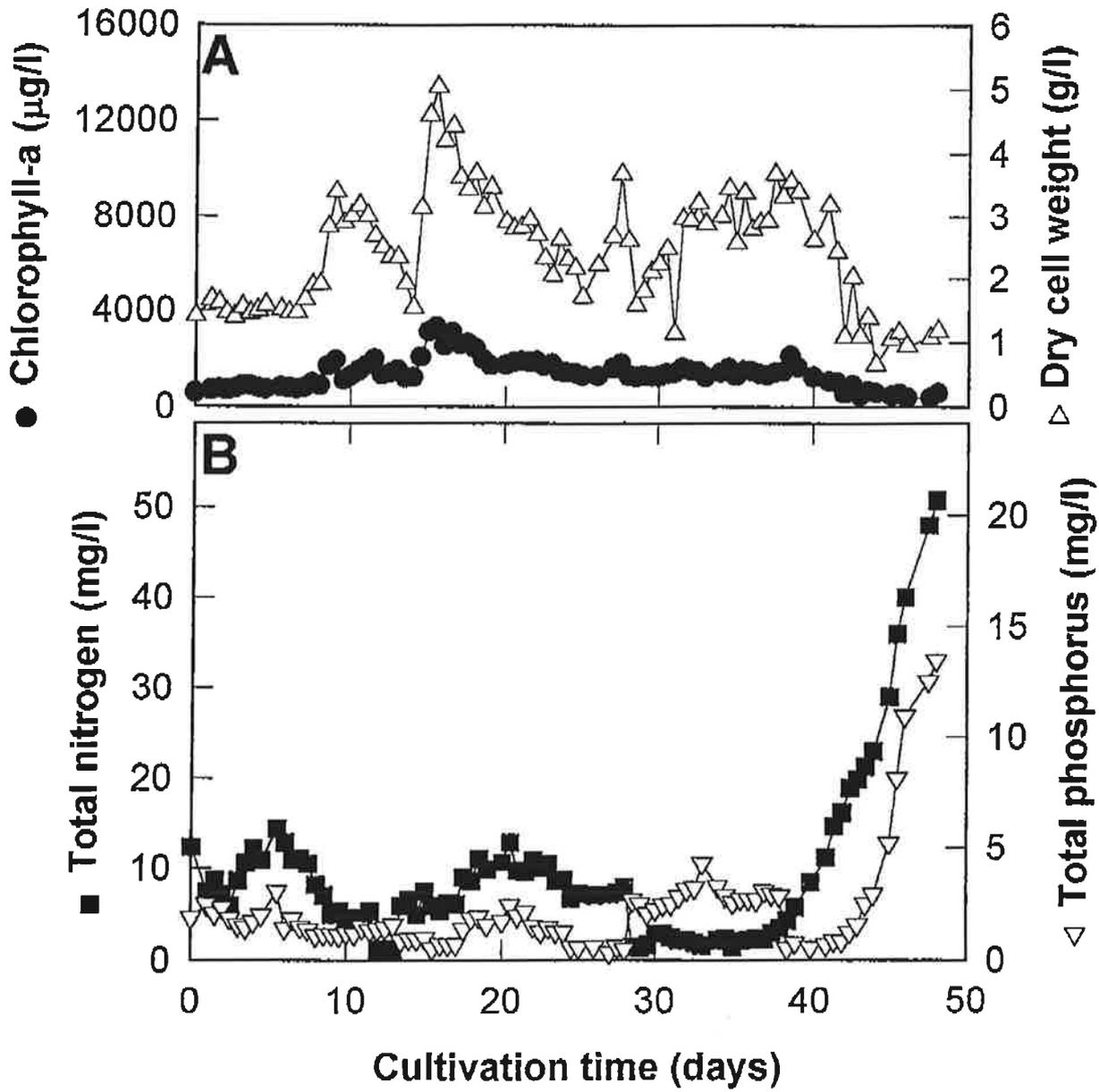


Fig. 2-10. Effect of hydraulic retention time (HRT) on cell growth, chlorophyll-a (A), and nitrogen or phosphorus removal (B) in 100%-swine waste water.

## 바. 요약

축산폐수는 과량의 질소와 인을 함유하고 있어서 호소의 부영양화로 수질을 악화시키기 때문에, 본 연구에서는 2차 처리된 돈폐수를 대상으로 조류를 이용하여 폐수내 질소와 인을 효율적으로 제거하고자 조류의 선별 및 배양의 최적화 실험을 수행하였다. *Chlorella vulgaris*, *Chlorella* sp. GE 21, *Botryococcus braunii*, *Botryococcus* sp. GE 24, *Scenedesmus quadricauda*, *Phormidium* sp. GE 2, 그리고 *Spirulina maxima*의 7종을 대상으로 조사한 결과 *C. vulgaris*가 질소와 인의 제거뿐만 아니라 조류의 생산량도 우수하였다. 실험균주로 선별된 *C. vulgaris*는 수온 35℃에서 생장이 가장 좋았으며, 약 알칼리인 초기 pH 8.0에서 생장이 우수하였다. 조류의 생산 및 질소와 인의 제거에 있어 광도의 영향을 조사한 결과 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이하에서는 미세조류의 생장이 억제 받았으나, 그 이상의 광도에서는 비슷한 결과를 얻었다. 시료로 사용된 돈폐수의 질소와 인 농도는 각기 58.7 mg/l과 14.7 mg/l로 조사되었으며, 대상 폐수를 75%(돈폐수 : 지하수 = 3 : 1)로 희석하였을 때 질소와 인의 제거효율과 조류의 생산이 우수하였고, 희석하지 않은 경우 lag time은 길어졌으나 점차로 질소와 인이 제거되었다. 본 실험에서 얻어진 최적 조건하에서 25%의 돈폐수를 처리한 결과 4일 후 폐수중의 총질소는 95.3%가 총인은 96.0%가 제거되었다.

## 2. *C. vulgaris* 유지를 위한 폐수의 최적화

### 가. 온도의 영향

선행의 실험에서 축산폐수처리에 적합한 온도는 35°C이었으나, 이 온도에서는 녹조류의 생육보다 남조류의 생육이 활발하여 장기간 축산폐수를 처리하면 초기 접종조류인 *C. vulgaris*가 남조류의 종으로 바뀌었다. 그래서 본 실험에서는 20, 25, 30°C에서 폐수를 멸균한 상태에서 순수 *C. vulgaris*의 최적 생장온도를 조사하였으며, 그 결과를 Table 2-10과 Fig. 2-11에 나타내었다.

Table 2-10. Effect of temperature on the productivity of *C. vulgaris* and the removal of TN and TP in swine wastewater

Temperature (°C)	Productivity (mg/l/day)	TN		TP	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
20	6.22	0.73	13.43	0.48	21.86
25	10.00	2.16	39.52	0.78	34.90
30	16.66	3.16	57.34	0.83	35.60

질소나 인의 제거효율 뿐만 아니라 미세조류의 생육도 30°C에서 16.66 mg/l/day로 가장 우수하였고, 20°C에서 질소와 인의 제거효율은 13%, 21%정도로 30°C에서의 57%, 35%와 비교해서 많은 차이를 보여주고 있다. 즉 고온에서 *C. vulgaris*가 생육이 우수하다는 선행의 실험의 결과와 일치한 결과를 보였다.

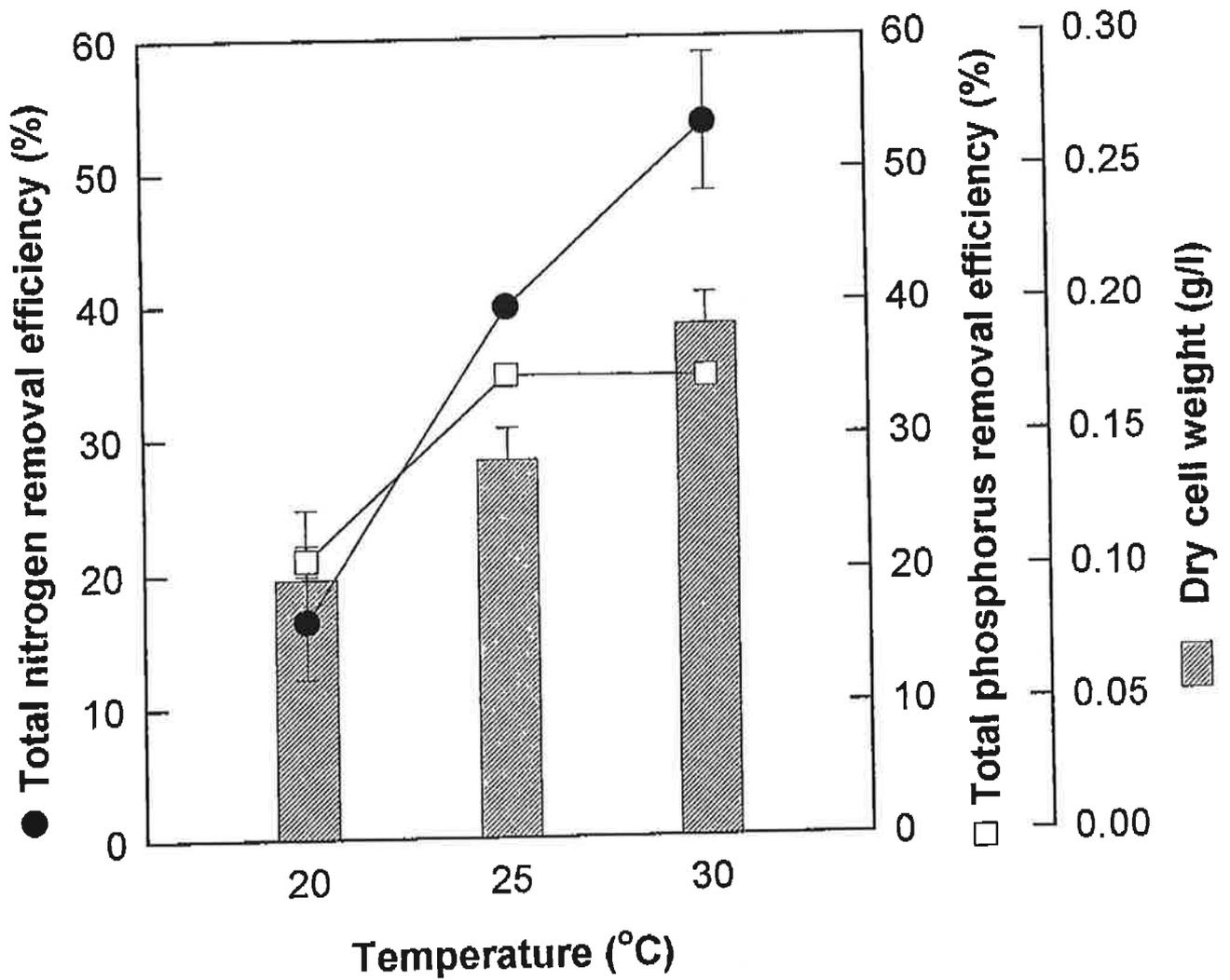


Fig. 2-11. Effect of temperature on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in non-diluted swine wastewater. Cultivation was done for 9 days.

### 나. MgSO<sub>4</sub>의 영향

광합성 생물은 빛을 모으는 역할을 하는 chlorophyll이란 물질을 포함하는데 구조적으로 heme과 유사하지만 중심부에 Mg<sup>2+</sup>이온이 자리를 잡고있는게 틀린 점이다. 따라서 미세조류가 고농도로 성장하기 위해서는 배지류의 Mg이온 농도에 크게 영향을 받는다. 2차 처리된 돈폐수를 멸균한 후 190 μE/m<sup>2</sup>/s의 shaking incubator에 9일간 배양한 결과를 Fig. 2-12에 나타내었다. MgSO<sub>4</sub> 농도를 0.0025, 0.005, 0.0075, 0.01%로 넣어 주었으며 Table 2-11에서 보여주는 바와 같이 0.0075%에서 질소의 제거효율은 62%, 인의 제거효율은 49%로 최고이었으며, 0.0025%에서는 질소의 제거효율은 32%, 인의 제거효율은 41%로 0.0075%의 MgSO<sub>4</sub>와 비교하면 인의 제거보다는 질소의 제거에 큰 영향을 미치는 것으로 보여주고 있다. 그리고 건조세포중량증가율은 MgSO<sub>4</sub> 0.0075%에서 40.77 mg/l/day로 조사되었다.

Table 2-11. Effect of concentration of MgSO<sub>4</sub> on the productivity of *C. vulgaris* and the removal of TN and TP in swine wastewater

Conc. of MgSO <sub>4</sub> (%)	Productivity (mg/l/day)	TN		TP	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
0.0025	17.00	1.79	32.59	0.95	41.96
0.005	18.22	2.34	43.62	1.09	47.27
0.0075	40.77	3.44	62.32	1.15	49.36
0.01	26.00	3.22	58.14	1.04	46.26

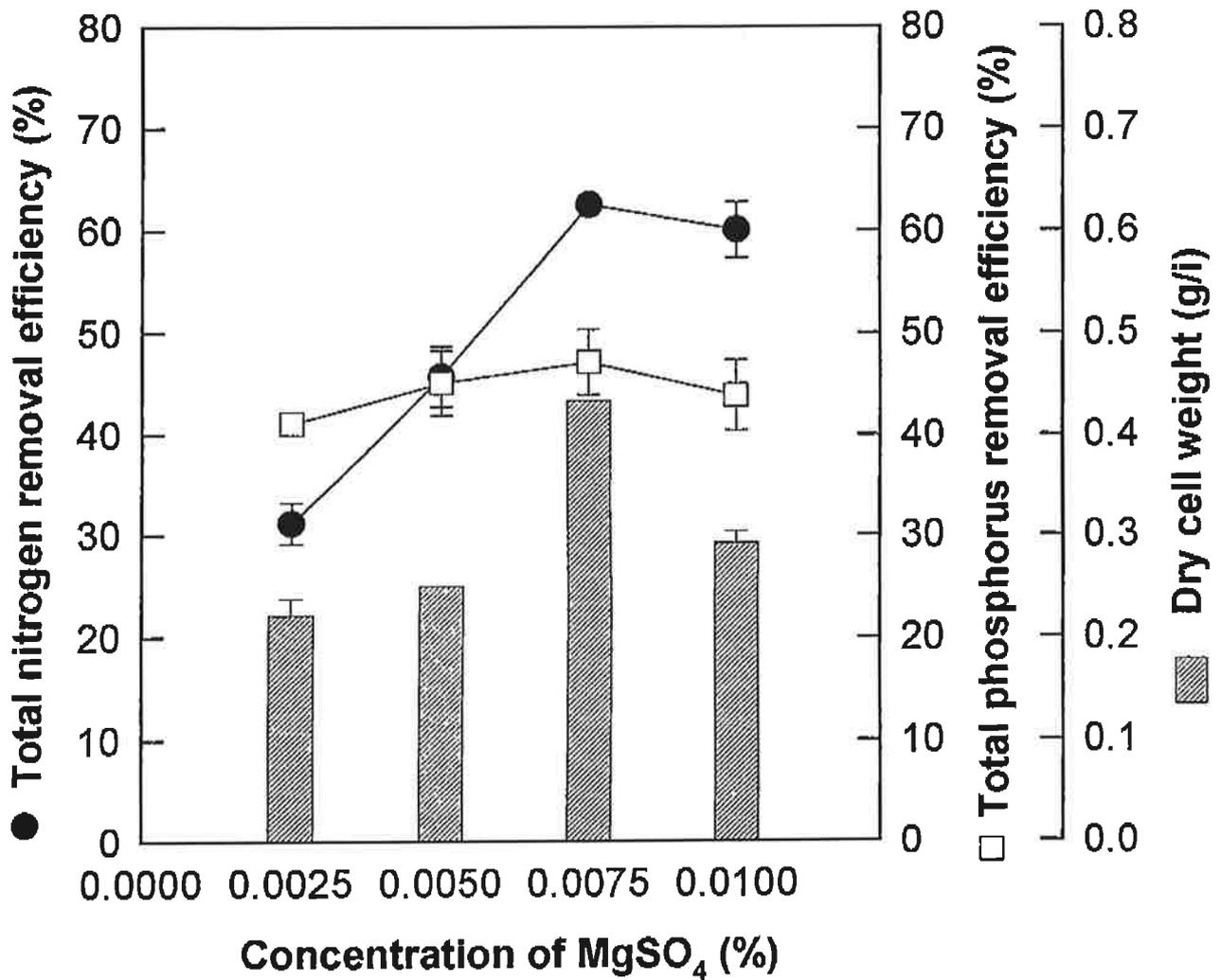


Fig. 2-12. Effect of MgSO<sub>4</sub> on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in non-diluted swine wastewater. Cultivation was done at 30°C, pH 7.8 for 9 days on a rotary shaker under a light intensity of 190  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$

다. CaCO<sub>3</sub>의 영향

광합성 생물은 CO<sub>2</sub>를 탄소원으로 이용하여 현재 문제가 되어지고 있는 대기중의 CO<sub>2</sub>양을 감소시킬수 있다. 조류의 생육에 큰 영향을 미치는 요소가 탄소원인데 수중에는 대개 0.03%의 CO<sub>2</sub>가 용해되어 있으므로 자연 상태에서는 조류의 생장에 큰 영향을 미치지 않으나, 폐수처리에서 미세조류가 급속히 성장하는 경우에는 CO<sub>2</sub>가 제한요인으로 작용하여 조류의 생육을 저해할 것이다. 그래서 CaCO<sub>3</sub>가 조류의 생육에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 배지에서 CaCO<sub>3</sub>의 농도를 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1%로 조절하여 *C. vulgaris*의 생육과 질소와 인의 제거율을 조사하여 보았다. *C. vulgaris*를 3% 접종한 후 190 μE/m<sup>2</sup>/s의 광조건하에서 배양한 결과는 Fig. 2-13과 같다.

Table 2-12. Effect of concentration of CaCO<sub>3</sub> on the productivity of *C. vulgaris* and the removal of TN and TP in swine wastewater

Conc. of CaCO <sub>3</sub> (%)	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
0.005	7.33	1.86	33.48	0.66	29.58
0.01	11.11	2.11	37.55	0.83	35.39
0.025	12.88	2.53	45.03	0.92	38.21
0.05	22.22	2.75	49.46	0.96	43.13
0.1	31.44	3.04	55.45	1.35	57.72

CaCO<sub>3</sub>의 농도가 증가할수록 질소와 인의 제거효율은 증가하였고 흡수한 질소와 인을 이용하여 조류의 biomass 또한 증가하였다. 여기서는 CaCO<sub>3</sub>가 소량만이 용해되기 때문에 biomass의 증가는 *in vivo* fluorescence값으로 표시하였다.

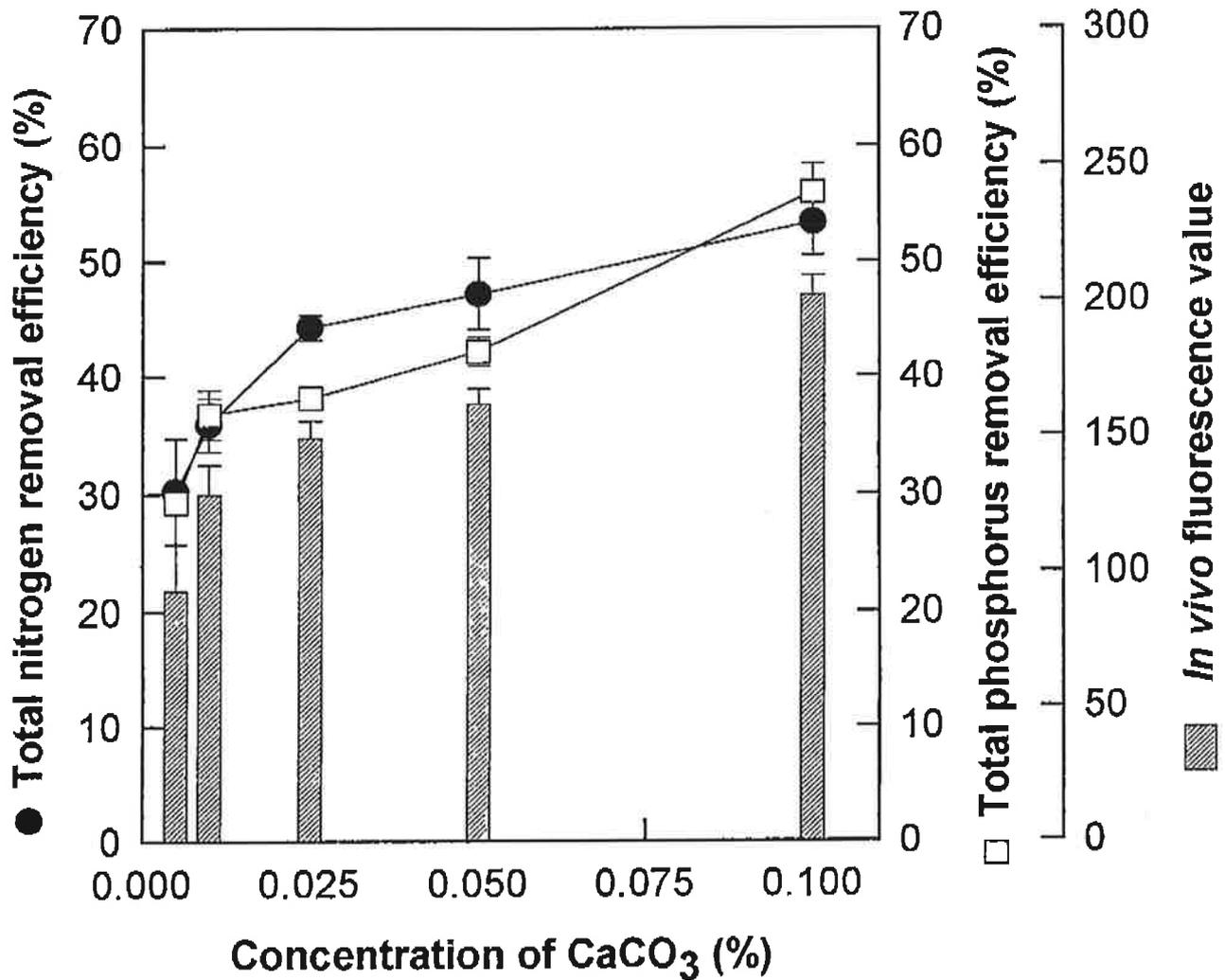


Fig. 2-13. Effect of CaCO<sub>3</sub> on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in non-diluted swine wastewater. Cultivation was done at 30°C, pH 7.8 for 9 days on a rotary shaker under a light intensity of 190  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$

Table 2-12에서 보면 0.1%의  $\text{CaCO}_3$ 에서 질소의 제거효율은 55%이었고 인은 57%이었으나, 0.005%의  $\text{CaCO}_3$ 에서는 질소가 33%, 인이 29% 제거된 것과 비교해서 상당히 큰 영향을 주었다. 즉  $\text{CaCO}_3$ 의 양이 증가할수록 건조세포중량의 증가와 총질소와 총인의 감소에 많은 영향을 주었으나,  $\text{CaCO}_3$ 가 조금만 첨가되었을 때도 백탁현상을 일으켜 광공급을 차단하는 단점을 보였다.

#### 라. Glucose의 영향

일부 조류종이 종속영양적 성장을 하는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에 사용한 *C. vulgaris*는 glucose를 탄소원으로 이용하는 것으로 밝혀졌다. 그래서 glucose를 2차 처리된 돈폐수에 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%씩 넣어 주고 30°C에서 7일간  $190 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  조건으로 배양한 결과는 Fig. 2-14와 같다. Table 2-13은 30°C에서 탄소원으로 glucose가 첨가되었을 때 돈폐수의 처리를 조사한 것으로 glucose를 첨가하였을 때는 첨가하지 않았을 때보다 월등히 높은 활성을 보이고 있으며 glucose양이 증가할수록 미세조류의 성장과 질소와 인의 제거는 우수하다는 것을 보여주고 있다. 그러나 glucose 0.1%와 0.5%를 비교해 보면 0.1%의 glucose에서 질소와 인은 각각 73%와 69%가 제거되었고 0.5%에서는 81%와 88%가 제거되었다. 농도에 비해 큰 차이는 아니지만 biomass의 증가를 보면 0.1%의 glucose에서는 109.42 mg/l/day, 0.5%에서는 338.14 mg/l/day로 많은 차이를 보여주고 있다. 그리고 지금까지 연구에서 glucose가 없을 때 건조세포중량 증가율이 53.5 mg/l/day 이었던 것과 비교하면 glucose 존재 하에서 급격히 생장이 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 폐수 중의 질소와 인의 제거는 0.1% glucose로도 가능하며 그 이상의 농도에서는 cell mass의 증가를 가져오는 것으로 판단되었다. 한편 온도를 낮춘 상태에서 glucose는 어떤 영향을 미치는지 알아

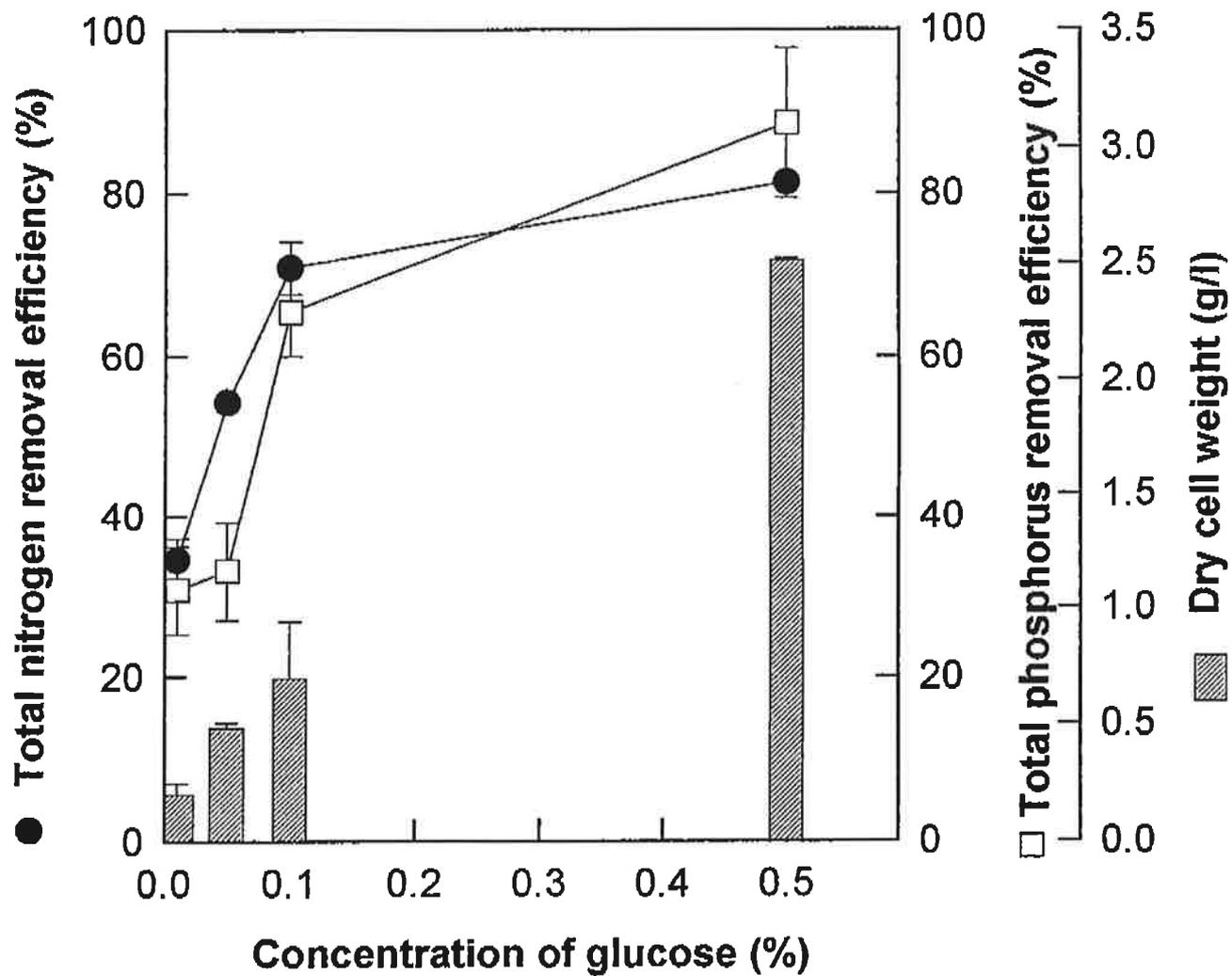


Fig. 2-14. Effect of the concentration of glucose on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in non-diluted swine wastewater. Cultivation was done for 7 days at 30°C, pH 7.8 under  $190 \mu \text{E/m}^2/\text{s}$ .

Table 2-13. Effect of the concentration of glucose at 30°C on the productivity of *C. vulgaris* and the removal of TN and TP in swine wastewater

Conc. of glucose (%)	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
0.01	11.85	2.68	36.48	1.01	34.62
0.05	54.71	3.85	54.79	1.11	37.49
0.1	109.42	5.21	73.01	2.08	69.42
0.5	338.14	5.75	81.39	2.62	88.56

보기 위해 배양온도를 20°C로 낮추어 실험한 결과는 Fig. 2-15와 Table 2-14에서 보여주는 바와 같다. Glucose농도에 따른 질소와 인의 제거효율을 보면 30°C와는 상당히 다른 양상을 보였다. 30°C에서는 0.5% glucose까지 농도가 증가할수록 질소와 인의 제거효율 또한 증가하였으나 20°C에서는 0.1% glucose에서 최고의 제거효율을 보이고 0.5%의 glucose에서는 감소하였다. 0.1% glucose에서 질소와 인은 배양 후 7일 후 각각 67%, 62%가 제거되었으나 0.5%에서는 질소와 인은 7.9%와 39.3%로 질소와 인의 제거효율은 감소하였다. 온도별 차이를 보면 glucose 0.1%에서 30°C와 20°C를 비교해 보면 30°C에서 질소와 인의 제거가 73%, 69%로 20°C의 67%, 62%보다 우수하였다. 그러나 온도별 영향을 조사한 실험과는 달리 glucose영향에 따른 질소와 인의 제거는 30°C나 20°C에서 많은 차이를 보이지 않았다. 즉 glucose를 첨가함으로써 온도의 영향을 완화시킬 수 있었으며, 이로 인하여 고온에서 생육이 빠른 *C. vulgaris*를 저온에서도 생육을 활발하게 유지시켜 겨울철 수온이 떨어졌을 때 질소와 인 제거의 목적으로 폐수처리에 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

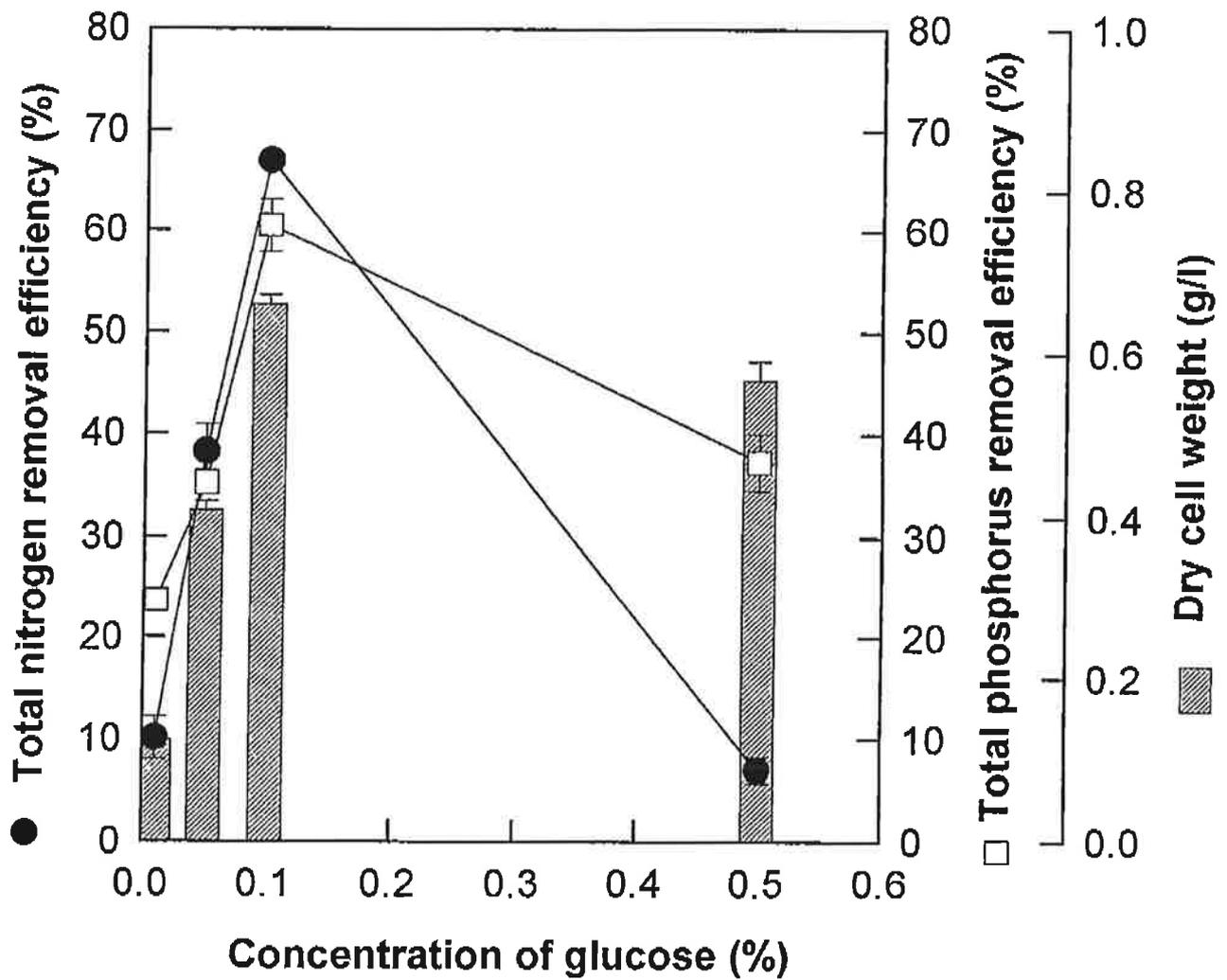


Fig. 2-15. Effect of the concentration of glucose on cell growth and the removal of nitrogen and phosphorus in non-diluted swine wastewater. Cultivation was done for 7 days at 20°C, pH 7.8 under 190  $\mu$  E/m<sup>2</sup>/s.

Table 2-14. Effect of the concentration of glucose at 20°C on the productivity of *C. vulgaris* and the removal of TN and TP in swine wastewater

Conc. of glucose (%)	Productivity (mg/l/day)	N		P	
		removal rate (mg/l/day)	removal (%)	removal rate (mg/l/day)	removal (%)
0.01	7.57	0.84	11.54	0.72	24.05
0.05	50.85	2.81	40.14	1.04	35.93
0.1	81.42	4.82	67.17	1.81	62.37
0.5	52.42	0.57	7.92	1.17	39.30

마. 연속배양조건에 따른 질소와 인의 제거

5-ℓ photobioreactor에 working volume를 3ℓ로 하여 56일간 배양조건을 바꾸어 가며 연속배양을 실시하였다. 먼저 배양초기에는 *C. vulgaris*를 sodium alginate에 고정화하여 수리학적체류시간(HRT)을 7일로 하여 실험을 실시하였으며, 배양 12일째 glucose를 0.01%, MgSO<sub>4</sub>를 0.01% HRT를 7일로 하여 23일까지 운전하였으며, 24일째는 glucose 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, HRT-7로 실험을 실시하였다. 43일째는 glucose 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, HRT-5로 배양조건을 바꾸었고, 52일째 glucose 0.01%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, HRT-5로 했다. 위의 조건에 따른 결과는 Fig. 2-16과 Table 2-15에서 잘 보여주고 있다. 초기 *C. vulgaris*를 sodium alginate에 고정화시켜 축산폐수를 처리하였을 때 12일까지 총질소와 총인이 증가하고 있으며 agitation으로 인해 alginate bead가 깨지는 결과를 가져왔다. 그래서 이런 bead의 사용은 기존의 alginate에 의한 mixing방법에서 쓰이는 것보다 air-lift형의 다른 배양법에 사용하는 것이 효율적일 것으로 판단된다. 12일째 glucose를 0.01% 넣어

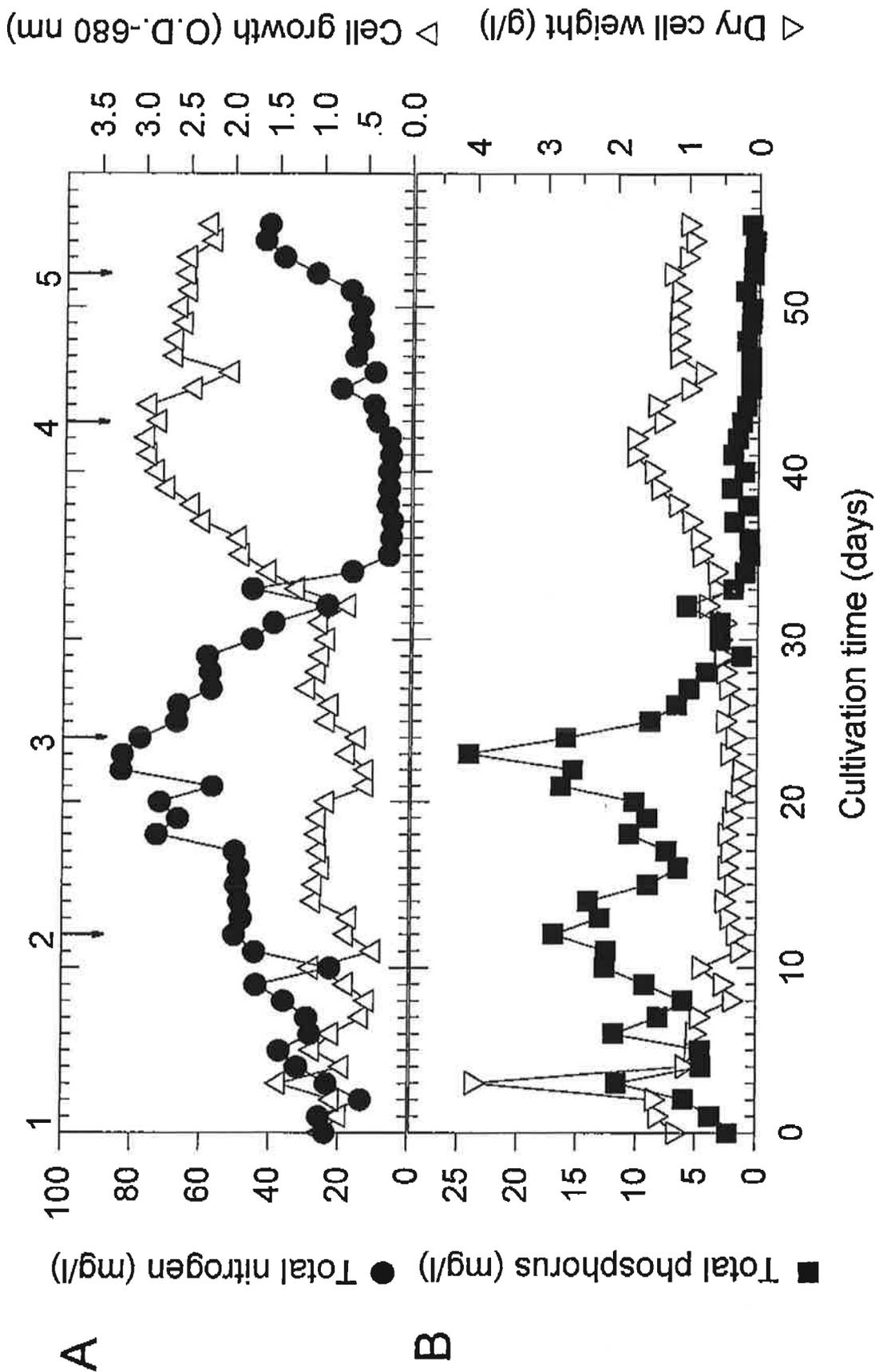


Fig. 2-16. Continuous removal of nitrogen and phosphorus according to hydraulic retention time (HRT) and the concentration of glucose.

Table 2-15. Comparison of average TN, TP and DCW of each culture condition in continuous culture

Conditions	Ave. TN (mg/l)	Ave. TP (mg/l)	Ave. DCW (g/l)
Immobilization HRT-7	30.14	7.76	0.65
Glu-0.01%, MgSO <sub>4</sub> -0.01% HRT-7	58.73	11.61	0.36
Glu-0.1%, MgSO <sub>4</sub> -0.01% HRT-7	6.58	1.37	1.22
Glu-0.1%, MgSO <sub>4</sub> -0.01% HRT-5	14.97	0.81	1.13
Glu-0.01%, MgSO <sub>4</sub> -0.01% HRT-5	47.3	4.55	0.85

주었을 때 배양조에 *C. vulgaris*가 많은량 존재하지 않아 낮은 농도의 glucose에서는 폐수의 질소와 인을 효과적으로 제거하지 못하고 계속 증가하였다. 그러나 24일째 glucose를 0.1%로 증가시켰을 때 질소와 인의 제거가 활발히 일어나 조건을 바꾸어 준 후 11일째 되는 34일경 거의 완전히 질소와 인이 제거되어진 것을 보여준다. 배양 44일째 HRT를 7일에서 5일로 바꾸었다. 이때 biomass생산은 줄었고 총질소는 약간 증가하나 20 mg/l내외로 잘 처리되었으며, 총인은 2 mg/l이하로 안정적으로 제거되었다. 배양 52일째 glucose농도를 0.01%로 낮추었다. 배양조에는 많은 수의 *C. vulgaris*가 있기 때문에 glucose농도를 낮추어도 계가 유지될 것으로 생각되어 glucose농도를 낮추었으나 총질소가 급격히 증가하는 것을 보여주었으나 총인은 안정적으로 제거되는 것을 보여주고 있다. 이것으로 보아도 조류의 생육에 있어 질소가 인보다 소비량이 많기 때문에 조건에 따라 큰 영향을 받는 것으로

로 사료되었다. Fig. 2-17은 56일까지 배양하면서 우점하는 조류를 살펴본 사진으로 초기의 사진은 sodium alginate에 *C. vulgaris*가 고정화 된 것을 보여주고 있으며, 그 이후 bead가 깨져서 wash-out되어 나가고 single cell 형태로 자라게 되어 56일까지 *C. vulgaris*가 안정적으로 우점하게 된 사진을 보여주고 있다.

#### 바. 요약

2차 처리된 돈폐수내 질소와 인을 제거할 목적으로 3-ℓ photobioreactor에서 연속적으로 처리하였으나 초기 접종조류인 *C. vulgaris*가 다른 종으로 변화하여 본 실험에서는 폐수처리 과정에서 접종한 조류종이 변화하지 않도록 배양의 최적화 실험을 실시하였다. Mg이 chlorophyll-a의 필수 구성분이므로 MgSO<sub>4</sub>의 영향을 조사한 결과 0.0075%에서 조류의 생육이나 질소와 인의 제거효율이 높았다. 폐수 중에 CO<sub>2</sub>의 포화도는 0.03% 정도로 CO<sub>2</sub>의 공급원으로 CaCO<sub>3</sub>의 영향을 조사한 결과, CaCO<sub>3</sub>을 공급할 때 chlorophyll-a의 농도가 증가하였으나, 폐수의 백탁현상으로 인하여 광공급을 차단하는 저해 효과를 보였다. 유기 탄소원으로 glucose의 영향을 조사한 결과 *C. vulgaris*는 glucose를 탄소원으로 이용하는 종속영양적 성장을 보였으며, 30℃에서는 0.1%에서 0.6%까지의 glucose 농도에서 조류의 생장이 조금씩 증가하였으나, 20℃에서는 0.1% glucose 농도에서 조류의 생장이 가장 활발하였다. 연속배양에서 초기 접종조류인 *C. vulgaris*는 폐수 최적화 조건에서 배양 56일까지 종의 변화는 관찰되지 않았다.

1. Before experiment



초기

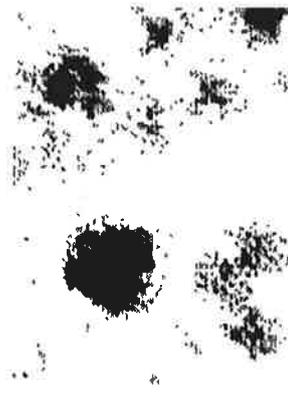


중기



말기

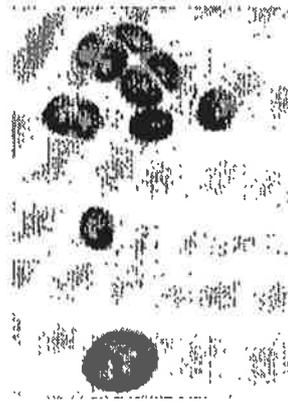
2. This experiment



초기



중기



말기

Fig. 2-17. Photograms of dominant algae according to culture times and conditions.

### 3. 해수를 이용한 미세조류의 회수

#### 가. pH의 영향

*C. vulgaris* 배양액 100 ml에 10 M NaOH을 첨가하여 pH 9, 10, 11, 12, 12.5가 되게 각각 조절한 다음 바닷물 2 ml를 첨가하여 응집활성을 측정 한 결과는 Fig. 2-18에서 보여주는 바와 같다.

Table 2-16. Effect of pH on the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

pH	Flocculant activity (1/0.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)
9	1.05	0.9	19.65
10	1.04	0.87	22.33
11	1.26	0.58	48.22
12	16.66	0.05	95.54
12.5	21.27	0.08	92.86

pH가 강알칼리인 12이상일 때 응집활성이 높았으며 Table 2-16에서 보는바 와 같이 pH 12와 pH 12.5일 때를 비교하면 pH 12.5일 때 응집활성은 21.27로 pH 12일 때의 16.66보다 높으나 잔류하는 건조세포중량에서는 pH 12.5일 때가 0.08 g/l이었고 pH 12일 때는 0.05정도로 건조세포중량의 90% 이상이 제거되었다. 그래서 다음 실험에서는 pH 12로 조절한 후 응집실험을 실시하였다.

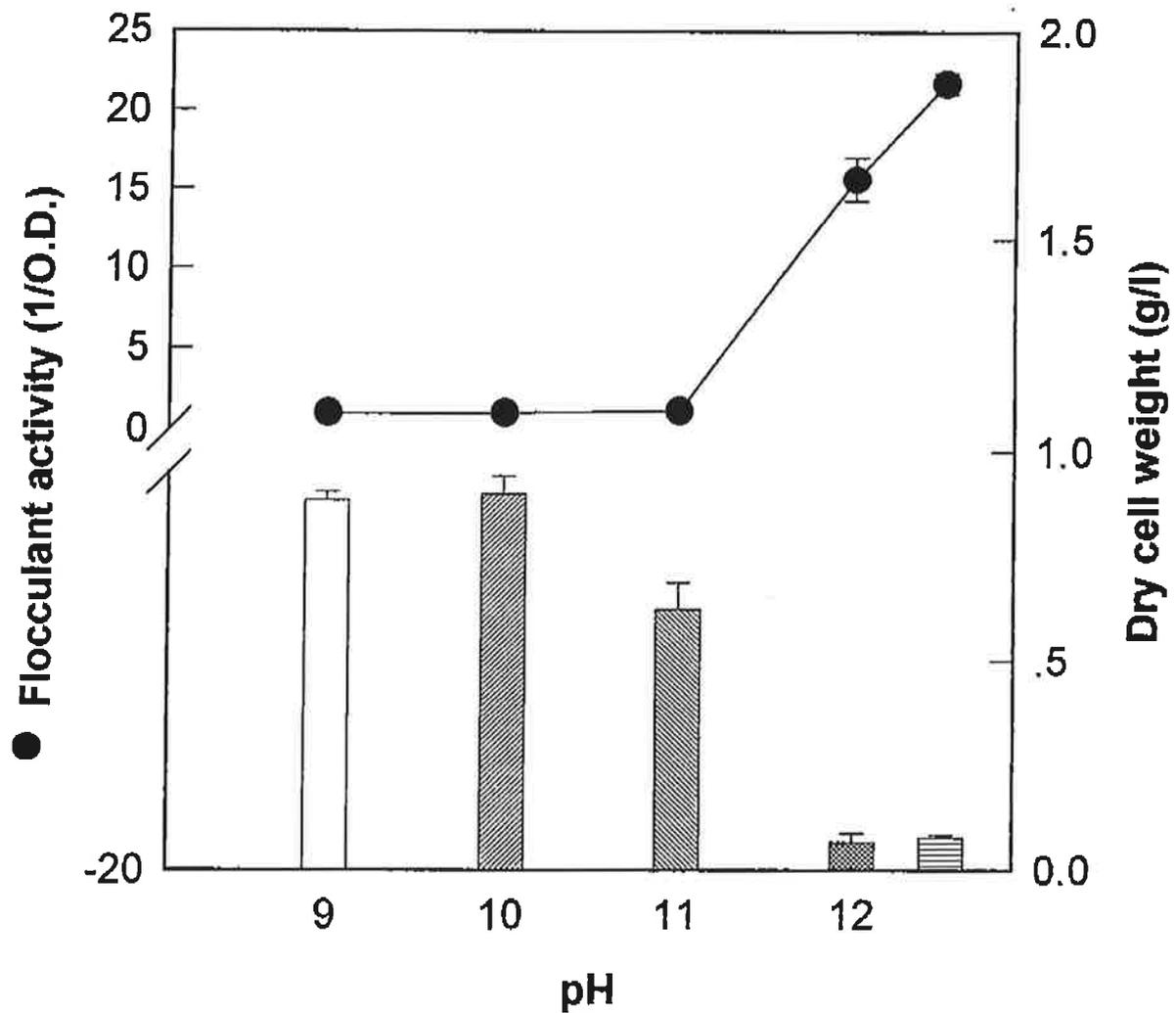


Fig. 2-18. Effect of pH on the flocculation of culture solution of *C. vulgaris*. 2 ml of seawater was added to 98 ml of culture solution which was adjusted to pH 9, 10, 11, 12 and 12.5, respectively.

### 나. 바닷물의 영향

바닷물에는 많은 양의 무기염류가 있고 특히 NaCl과 CaCl<sub>2</sub>가 많이 포함되어 있다. 특히 CaCl<sub>2</sub>는 보조응집제로 널리 사용되고 있다. 이와같은 이유로 바닷물을 이용한 응집실험이 많이 연구 되고 있으며, 가정에서도 흔히 두부제조 공정중에 바닷물로 두부를 고정시키는데 착안하여 *C. vulgaris*의 응집제로 바닷물을 사용하였다.

Table 2-17. Effect of seawater on the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

Conc. of Seawater	Flocculant activity (1/O.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)
none	1.01	0.85	24.11
SW-1%	8.92	0.07	93.75
SW-2%	25.00	0.09	91.97
SW-3%	22.22	0.08	92.86
SW-4%	83.33	0.07	93.75

Table 2-17과 Fig. 2-19에서는 바닷물의 농도에 따른 응집활성을 조사한 결과로 바닷물 1%-4%에서 건조세포중량은 0.1 g/l 이하로 감소하였으며, 응집활성을 보면 1%의 바닷물에서는 8.92를 보였고, 2%에서는 25.00이었고 3%에서도 비슷한 응집활성능을 보여주었다. 4%의 바닷물에서 응집활성은 83.33으로 급격히 증가하나 이때 O.D.를 비교하면 2%일 때 0.048이고 4%일 때 0.015로 O.D.값에서는 큰 차이가 없었다. 따라서 2%의 바닷물에서 *C. vulgaris*의 응집활성이 우수하다는 것을 알 수 있었다.

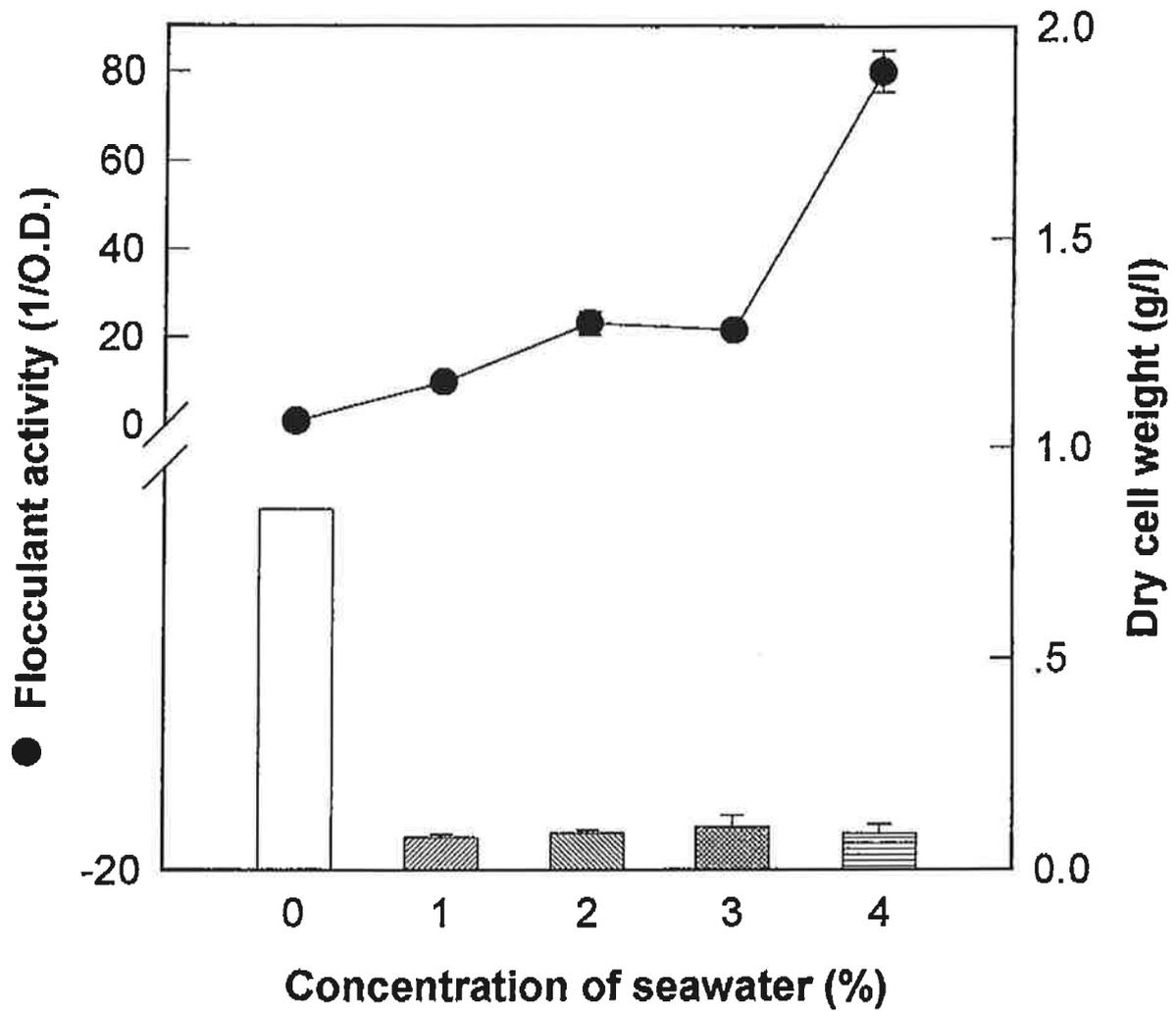


Fig. 2-19. Effect of concentration of seawater on the flocculation of culture solution of *C. vulgaris*. The concentration of final seawater was 0, 1, 2, 3, and 4% of culture solution in which pH was adjusted to 12.

다. CaCl<sub>2</sub>의 영향

보조응집제로 alum이외에 CaCl<sub>2</sub>가 많이 쓰이는데 이것은 특별한 독성을 가지고 있지 않아서 *C. vulgaris*의 보조응집제로서 사용여부를 조사하게 되었다. 배양액의 pH를 12로 맞추고 해수를 1%되게 첨가한 후 CaCl<sub>2</sub>를 각각 0, 1, 10, 100 mg/l 되게 첨가한 후 응집활성을 조사하였다. Table 2-18과 Fig. 2-20에서와 같이 처리구나 비처리구에서 같은 정도의 활성을 보여 처리구간에 유리한 차이가 없었다. 따라서 CaCl<sub>2</sub>는 *C. vulgaris*의 응집에는 별 영향을 미치지 못하는 것으로 판단되었다.

Table 2-18. Effect of the concentration of CaCl<sub>2</sub> on the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

Conc. of CaCl <sub>2</sub> (mg/l)	Flocculant activity (1/0.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)
0	2.61	0.22	80.36
1	2.66	0.19	83.04
10	2.50	0.23	79.47
100	2.59	0.24	78.58

라. NaCl의 영향

해수의 주성분은 NaCl로 약 2% 정도를 차지하고 있다. 해수중 어떤 성분에 의해 응집활성을 보이는지 알아보기 위하여 해수대신 NaCl을 농도별로 첨가하여 응집활성을 조사하였다. Table 2-19와 Fig. 2-21에서 보듯이 각각의 NaCl 농도에서는 응집활성을 보이지 않는 것으로 보아 해수중 NaCl이 응집활성의 주성분이 아니던가 다른 양이온과 NaCl이 상호작용해서 응집활성

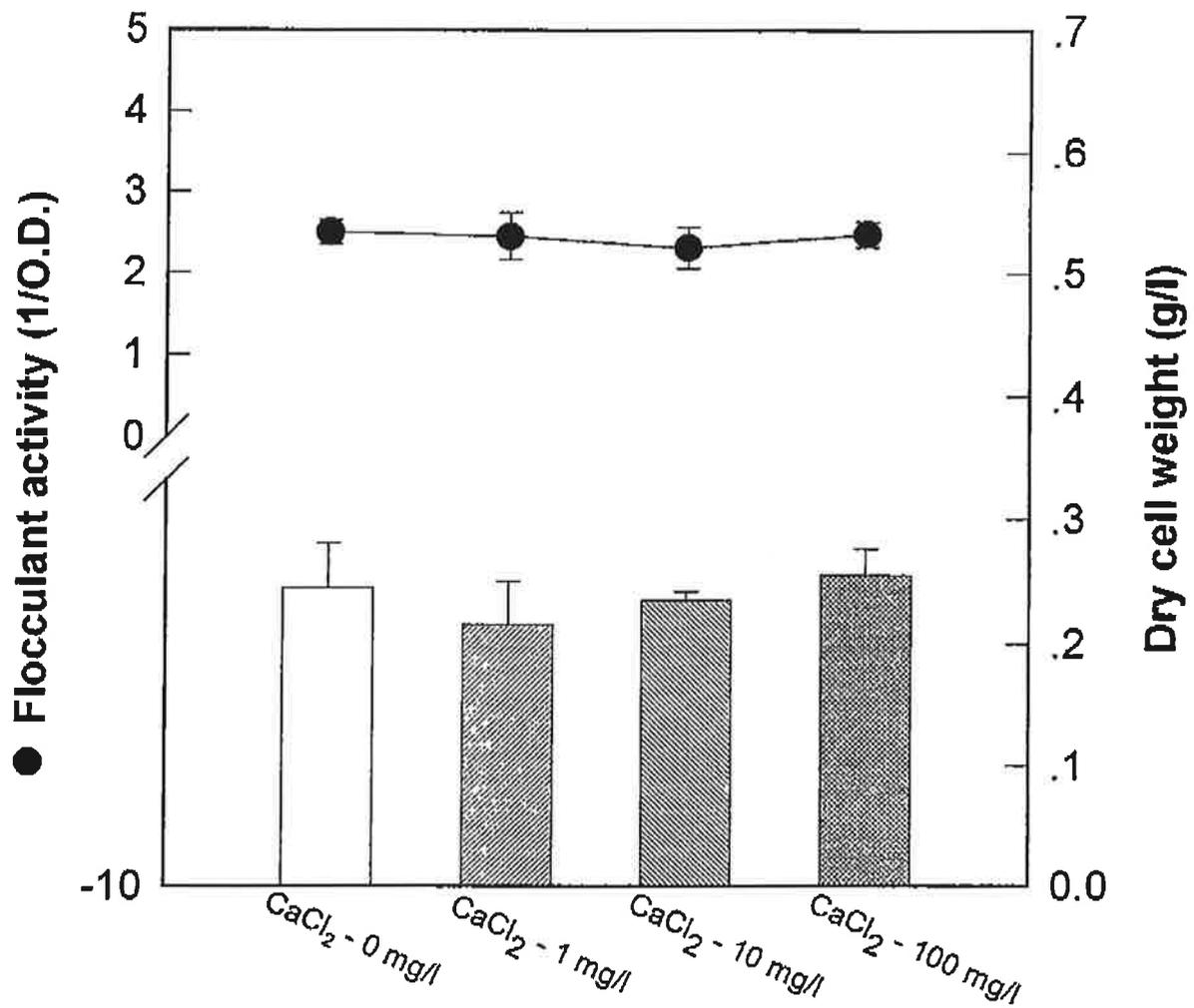


Fig. 2-20. Effect of CaCl<sub>2</sub> on the flocculating activity and dry cell weight of culture solution of *C. vulgaris*.

The final concentration of CaCl<sub>2</sub> was 0 mg/l (□), 1 mg/l (▨), 10 mg/l (▩) and 100 mg/l (▣), respectively. pH was 12 and 1% seawater was used as a flocculant.

을 나타내는 것으로 보여진다.

Table 2-19. Effect of the concentration of NaCl on the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

Conc. of NaCl	Flocculant activity (1/0.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)
pH 12 S.W-2 ml	15.87	0.14	87.5
pH 12 2%NaCl-2 ml	1.02	1.01	9.83
pH 12 4%NaCl-2 ml	1.02	0.85	24.11
pH 12, 2%NaCl-2 ml CaCl <sub>2</sub> -200 mg/l	1.00	1.08	3.58

#### 마. Alum과 바닷물과의 응집활성비교

지금까지 실험한 바닷물의 응집활성이 alum과 비교해서 어느 정도 활성을 가지고 있는지 알아보기 위한 실험을 실시하였다. 먼저 alum의 최적 응집조건을 조사하기 위해 pH와 alum양을 조절하여 실험을 실시한 결과 Table 2-20과 Fig. 2-22와 같이 pH 7.2에서 alum의 최종농도 20 mg/l에서 좋은 활성을 보였다. 이때의 건조세포중량의 응집효율은 94.65%로 매우 높았으며, 응집활성은 45.45로 조사되었다. 그런데 해수의 응집활성을 조사할 때 pH가 12로 강 알카리에서 활성을 보였으나 alum의 경우 배양액의 pH를 조절하지 않은 상태인 7.2에서 응집활성이 강했으며 pH 12에서는 활성을 보이지 않았다. 이런 alum의 최적 응집조건은 해수를 이용한 응집활성능과 비교하기 위하여 실험을 실시하였다. 이 조건을 앞에서 결정된 해수의 응집조건과 비교해 본 결과 Table 2-21과 Fig. 2-23에서와 같이 alum을 처리한 경우 상등액의 건조세포중량은 0.05 g/l 정도였고 응집활성은 55정도로 높았다.

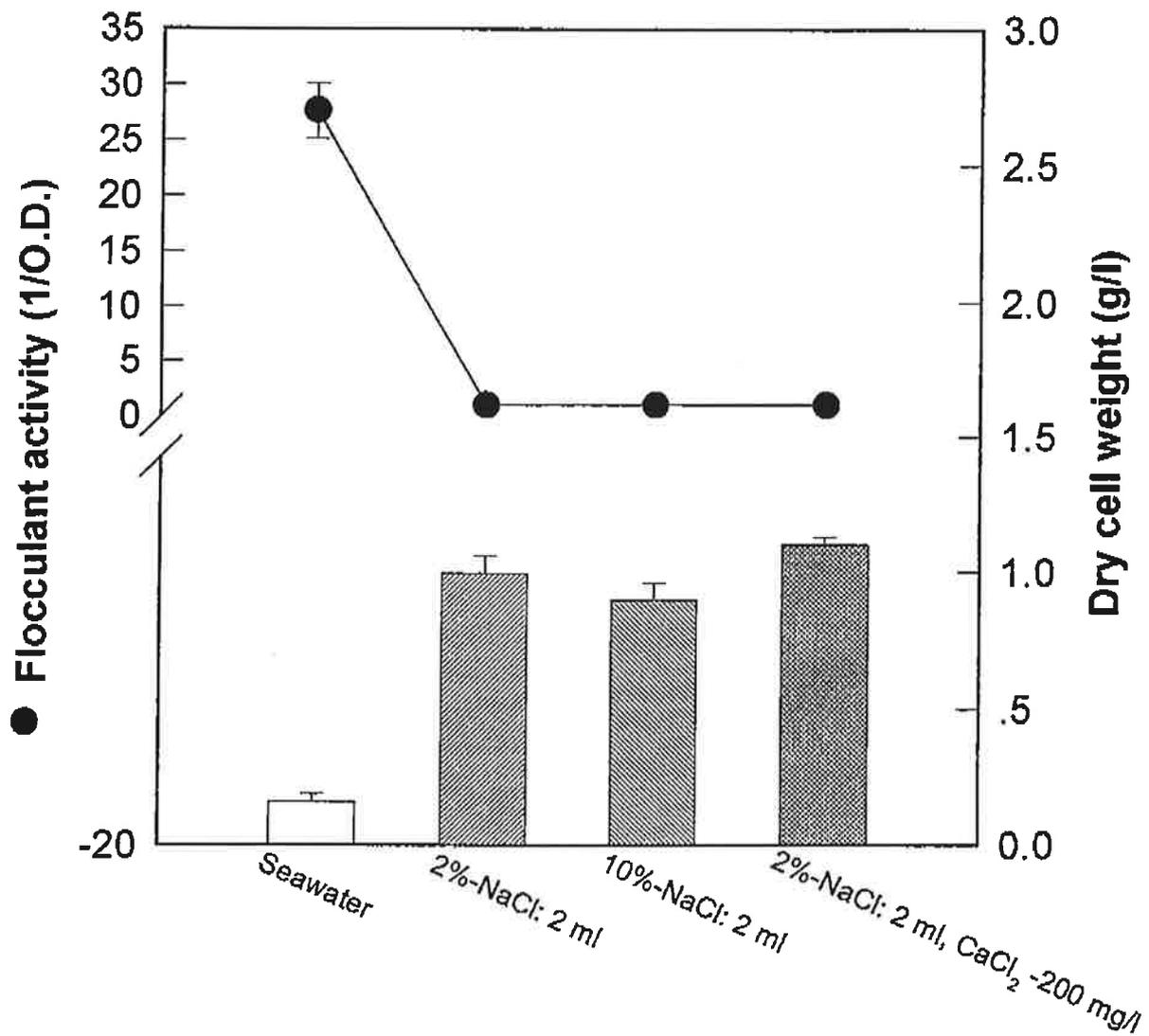


Fig. 2-21. Effect of NaCl on the flocculating activity and dry cell weight of culture solution of *C. vulgaris*.

□ pH 12, seawater 2 ml; ▨ pH 12, 2% NaCl 2 ml; ▩ pH 12, 4% NaCl 2 ml; ▤ pH 12, 2% NaCl 2 ml and CaCl<sub>2</sub>-200 mg/l.

Table 2-20. Optimization of the condition of alum on the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

Treatment	Flocculant activity (1/O.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)	
pH 7.2	Alum- 20 mg/l	1.03	0.82	26.79
	Alum-200 mg/l	45.45	0.06	94.65
pH 12	Alum- 20 mg/l	1.02	0.97	13.40
	Alum-200 mg/l	1.02	0.87	22.33

해수를 이용한 응집의 경우 건조세포중량이 0.16 g/l 정도 이었으며 응집활성은 20이었다. 그러나 둘 사이의 차이는 육안으로 쉽게 구분할 수 없을 정도로 작았다.

Table 2-21. Comparison of alum and seawater in the flocculation of *C. vulgaris* and the removal efficiency of dry cell weight

Treatment	Flocculant activity (1/O.D.)	Dry cell weight (g/l)	D.C.W. removal efficiency (%)
pH 7.2	1.03	0.93	16.97
Alum	50.00	0.04	96.43
Seawater	20.83	0.14	87.50

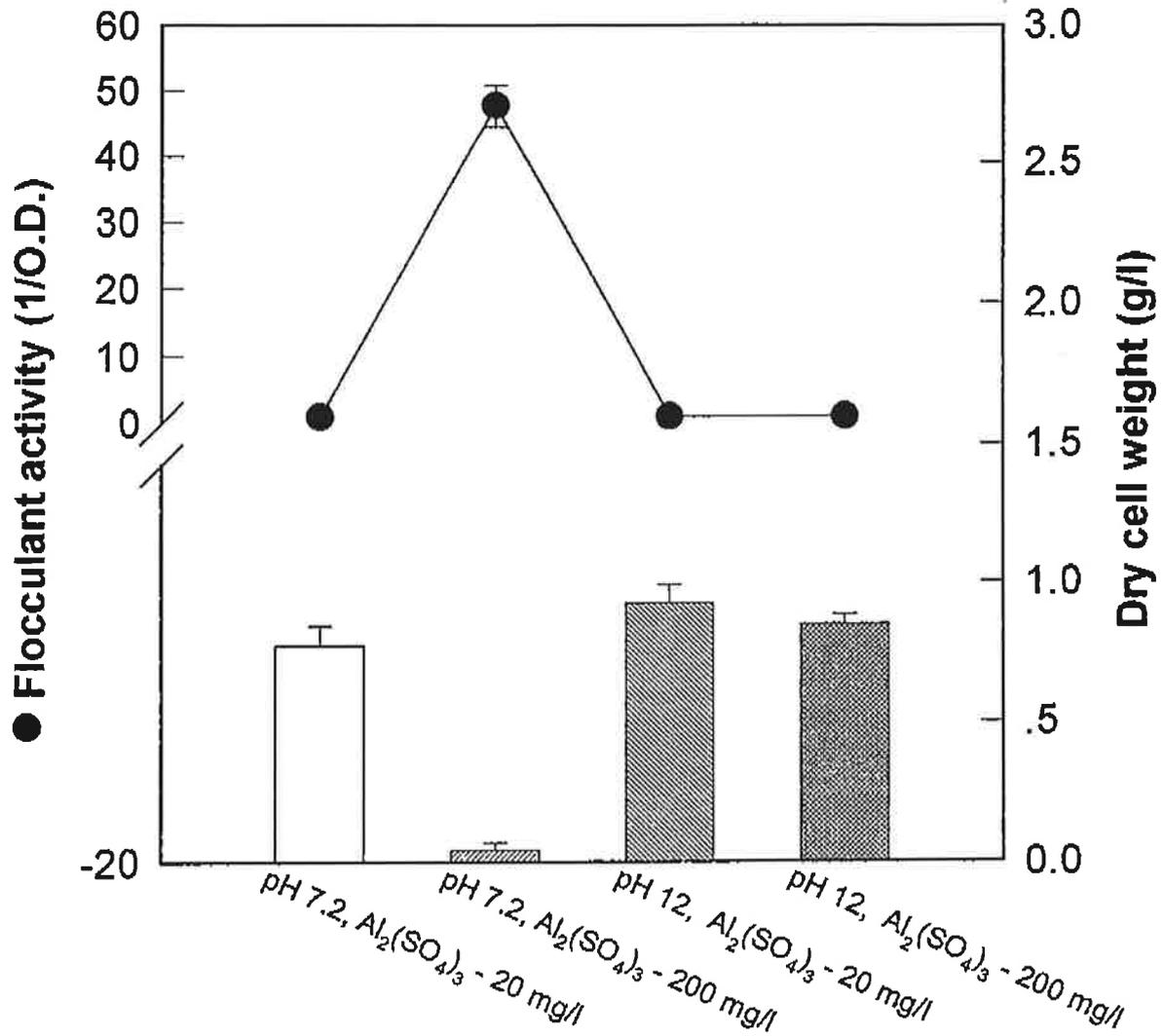


Fig. 2-22. Effect of alum on the flocculating activity and dry cell weight of culture solution of *C. vulgaris*.

□ pH 7.2, final alum conc. 20 mg/l; ▨ pH 7.2, final alum conc. 200 mg/l; ▩ pH 12, final alum conc. 20 mg/l; ▤ pH 12, final alum conc. 20 mg/l

## 바. 요약

바닷물에는 다량의 무기염류가 존재하고 특히 NaCl과 CaCl<sub>2</sub>가 많이 포함되어 있다. CaCl<sub>2</sub>는 보조응집제로 많이 사용되고 있으며 이외에도 다량의 양이온을 포함하고 있다. 그러므로 바닷물을 이용한 응집실험이 많이 연구되고 있으며, 가정에서도 흔히 두부를 만들 때 바닷물로 두부를 고정시키는데 썼다. 이에 착안하여 *C. vulgaris*의 응집제로 바닷물을 사용하였다. 응집활성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과 pH 12 이상일 때 응집효과가 뛰어났다. 응집활성은 pH 12일 때 16.66이었으며, pH 12.5에서는 21.27이었다. 이때 잔류배양액의 건조세포중량은 pH 12 일 때가 0.05 g/l이었고, pH 12.5 일 때가 0.08 g/l로 거의 차이가 없었다. pH를 12로 고정된 후 바닷물의 최종농도가 0-4%되게 하였을 때 2%에서 응집활성이 25이었고 3%일 때도 비슷한 결과를 얻었다. 즉 바닷물의 농도가 최종 2% 되었을 때 우수한 응집활성을 보여준다는 것을 알았다. 보조응집제로 alum이외에도 CaCl<sub>2</sub>가 많이 쓰이는데 CaCl<sub>2</sub>는 alum과 비교해서 독성이 거의 없어서 폐수처리에 이용된 *C. vulgaris*를 가축사료로 사용하기 위하여 보조응집제로 더욱 이용가치가 높아서 응집실험을 실시한 결과 CaCl<sub>2</sub>는 *C. vulgaris*에 대한 응집능이 없었다. 바닷물의 어떤 성분이 응집활성을 가지는지 알아보기 위해 바닷물의 주 성분인 NaCl의 농도에 따른 응집활성능을 조사한 결과 NaCl이 응집에는 효과가 없었다. 즉 NaCl에 의해서 응집이 일어나지 않던가 바닷물의 다른 이온들과의 상호작용에 의해 응집이 일어난다는 것을 추측할 수 있었다. 보조응집제로 활성이 우수한 alum과 바닷물과의 상대적 비교를 해보았다. Alum의 최적조건은 pH 7.2에 최종농도가 20 mg/l이었을 때 응집활성이 우수하였고, 이때의 응집활성능은 55이었다. 이와 비교해서 바닷물의 응집최적조건에서는 응집활성이 20이었다. 상등액의 건조세포량은 alum의 경우 0.05 g/l이었고 바닷물에서는 0.16 g/l로 alum이 응집활성이 우수하였으나 바닷물도 우수한 응집제로 쓰일 수 있다는 것을 보여주었다.

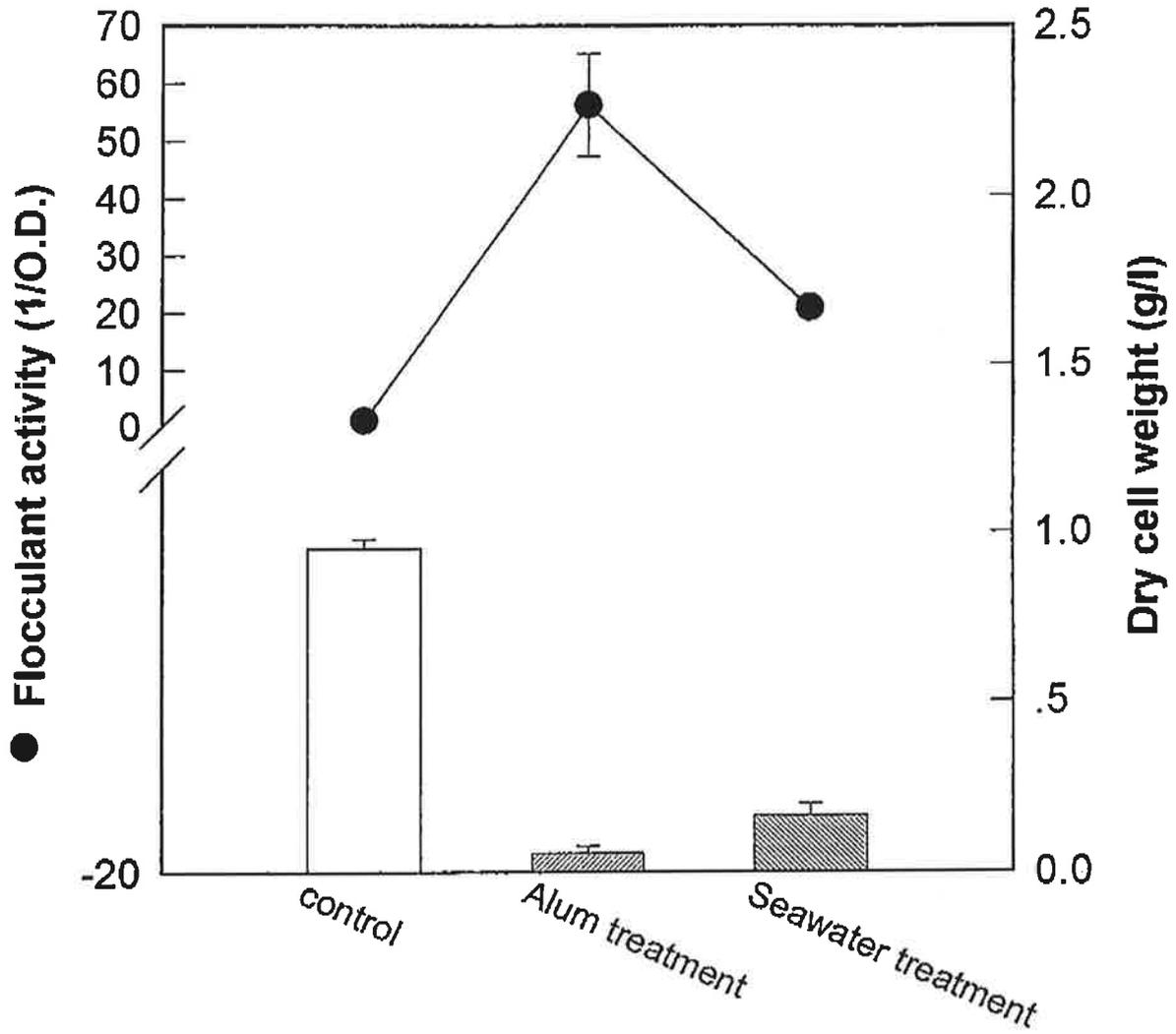


Fig. 2-23. The comparison of seawater and alum on the flocculating activity and dry cell weight of culture solution of *C. vulgaris* in optimal culture conditions.

□ original culture solution: ▨ optimized condition of seawater: ▩ optimized condition of alum

## 제 4 절 결론

지금까지의 실험을 통하여 축산폐수의 처리에 적합한 미세조류인 *Chlorella vulgaris*를 선별하였고 축산폐수 처리에 적합한 최적조건을 조사하였으며, 미세조류의 종이 바뀌지 않도록 폐수의 성분을 최적화 하였으며 축산폐수를 처리하고 생기는 조류를 사료로 제 사용하기 위하여 분리하는 방법으로 바닷물을 이용하는 연구를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 2차 처리된 돈폐수 중에 총질소는 58.65 mg/l, 총인은 14.7 mg/l이 존재하였다.

2. 7종의 미세조류를 대상으로 돈폐수 처리에 적합한 균주 선별 실험을 통하여 *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*가 질소와 인의 제거에 적합한 균주로 밝혀졌으며, 본 실험에서는 초기 생장이 우수한 *C. vulgaris*를 선별하였다.

3. 돈폐수 처리에 적합한 *C. vulgaris*의 배양조건을 조사한 결과 수온은 35°C, pH는 8.0에서 미세조류의 성장 뿐 아니라 질소와 인 제거도 우수하였다.

4. 미세조류의 성장과 질소 및 인의 제거에 미치는 광도의 영향을 조사한 결과 40  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  이하에서 *C. vulgaris*는 성장에 저해를 받았다.

5. *C. vulgaris*는 2차 처리된 100% 돈폐수에서도 성장에 따라 질소와 인이 제거되었으나, 75% 돈폐수에서 미세조류의 성장과 질소와 인의 제거효율이 가장 우수하였다.

6. Batch-culture로 실험한 결과 *C. vulgaris*에 의해서 총질소는 91.7%, 총인은 89.3%가 제거되어 유출수에서 총질소와 총인의 양은 4.9 mg/l, 1.6 mg/l 정도 되었다.

7. 연속배양 실험에서 수리학적 체류시간을 14, 10, 7, 5일로 점점 짧게 하였을 때 5일까지 총질소와 총인은 안정적으로 제거되었으며, 체류시간이 5의 경우 총질소와 총인의 제거율은 33.41 mg/l/day, 8.86 mg/l/day로 조사되었다.

8. 온도에 대한 영향을 20-30℃의 범위에서 재조사한 결과 30℃에서 *C. vulgaris*의 생육이 가장 활발하였으며, 질소나 인의 제거도 우수하였다. 그러나 이와 같은 고온에서 접종한 *C. vulgaris*가 남조류로 조류의 천이가 일어나 배양온도를 낮출 필요가 있다.

9. Chlorophyll-a의 성분으로  $Mg^{2+}$ 가 요구되므로  $MgSO_4$ 에 대한 영향을 조사한 결과 0.008%의  $MgSO_4$ 에서 *C. vulgaris*의 생육과 질소와 인의 제거가 활발하였다.

10. 조류가 성장할 때 탄소원으로 무기탄소를 이용하는데 수중에 녹아있는 양은 극히 낮으므로 탄소원으로  $CaCO_3$ 을 첨가한 결과 0.1%에서 생장이 좋았다. 그러나  $CaCO_3$ 의 첨가에 따른 백탁현상으로 빛 공급에는 단점이 있었다.

11. 조류의 성장과 glucose와의 영향을 조사한 결과 *C. vulgaris*는 탄소원으로 glucose를 이용하는 heterotrophic 성장을 보였다. 낮은 온도(20℃)에서도 glucose를 이용하여 조류를 이용한 겨울철 폐수처리에 이용이 가능할 것으로 추측된다. 30℃에서 최적 농도는 0.1%에서 0.5%까지 높은 성장과 함께 질소와 인의 제거가 우수하였으나, 20℃에서는 0.1%에서만 뛰어났고 그 이상의 농도에서는 질소와 인의 제거는 감소하는 양상을 보여주었다.

12. 연속배양을 통하여 배양조건에 따른 조류의 성장과 질소와 인의 제거에 대한 영향을 조사한 결과 *C. vulgaris*를 sodium alginate에 고정화하여 배양시 bead가 깨지는 단점을 알았으며, glucose 0.1%와  $MgSO_4$  0.01%의 농도에서는 HRT 5(day)에서 질소와 인의 제거효율이 높았다.

13. 응집활성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과 pH 12 이상일 때 응집효과가 뛰어났다. 응집활성은 pH 12일 때 15이었으며, pH 12.5에서는 23이었다.

14. pH를 12로 고정한 후 바닷물의 최종농도가 0-4%되게 하였을 때 2%에서 응집활성이 20이었고 3%일 때도 비슷한 결과를 얻었다. 즉 바닷물의 농도가 최종 2% 되었을 때 우수한 응집활성능을 보여준다는 것을 알았다.

15. 보조응집제로 alum이외에도  $\text{CaCl}_2$ 가 많이 쓰이는데  $\text{CaCl}_2$ 는 alum과 비교해서 독성이 거의 없어서 폐수처리에 이용된 *C. vulgaris*를 가축사료로 사용하기 위하여 보조응집제로 더욱 이용가치가 높아서 응집실험을 실시한 결과  $\text{CaCl}_2$ 는 *C. vulgaris*의 응집에는 효과가 없었다.

16. 바닷물의 어떤 성분이 응집활성을 가지는지 알아보기 위해 바닷물의 주성분인 NaCl의 농도에 따른 응집활성능을 조사한 결과 NaCl이 응집에는 효과가 없었다. 즉 NaCl에 의해서 응집이 일어나지 않던가 바닷물의 다른 이온들과의 상호작용에 의해 응집이 일어난다는 것을 추측할 수 있었다.

17. 보조응집제로 활성이 우수한 alum과 바닷물과의 상대적 비교를 해보았다. Alum의 최적조건은 pH 7.2에 최종농도가 20 mg/l이었을 때 응집활성이 우수하였고, 이때의 응집활성은 55이었다. 이와 비교해서 바닷물의 응집 최적조건에서는 응집활성이 20이었다. 상등액의 건조세포중량은 alum의 경우 0.05 g/l 이었고 바닷물에서는 0.16 g/l로 alum이 응집활성이 우수하였으나 바닷물도 우수한 응집제로 쓰일 수 있다는 것을 보여주었다.

## 제 5 절 참고문헌

1. Shelef, G. and C.J. Soeder. 1980. Algal Biomass: Production and use. Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
2. Kapur, K. 1987. Effect of certain organic wastes on the periphyton levels of the treated waters. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 15: 409-412.
3. Chevalier, P. and J. de la Noüe. 1985. Efficiency of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and orthophosphate removal from wastewaters. *Biotechnol. Lett.* 7: 395-400.
4. Tam, N.F.Y. and Y.S. Wong. 1990. The comparison of growth and nutrient removal efficiency of *Chlorella pyrenoidosa* in settled and activated sewages. *Environ. Pollut.* 65: 93-108.
5. Guterstam, B. and J. Todd. 1990. Ecological engineering for wastewater treatment and its application in new England and Sweden. *Ambio* 19: 173-175.
6. Hendricks, F. and J. Bosman. 1980. The removal of nitrogen from an inorganic industrial effluent by means of intensive algal culture. *Prog. Wat. Tech.* 12: 651-665.
7. Aziz, M.A. and W.J. Ng. 1993. Industrial wastewater treatment using an activated algae-reactor. *Water Sci. Technol.* 28: 71-76.
8. De la Noüe, J. and A. Basseres. 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae. *Biological Wastes* 29: 17-31.
9. Tarifeno-silva, E., L.Y. Kawasaki, D.P. Yu and M.S. Gordon. 1982.

- Aquacultural approaches to recycling of dissolved nutrients in secondarily treated domestic wastewater III. Uptake of dissolved heavy metals by artificial food chains. *Water Res.* **16**: 59-65.
10. De la Noüe, J. and D. Proulx. 1988. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**: 292-297.
  11. Nora, F.Y.T. and W.Y. Shan. 1994. Feasibility of using *Chlorella pyrenoidosa* in the removal of inorganic nutrients from primary settled sewage, Pp 291-299. In S.M. Phang (eds.), *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*, Institute of Advanced Studies, University of Malaya, Kuala Lumpur.
  12. 성기돈, 안주희, 이준엽, 오상집, 이현용. 1995. 옥외 광배양조에서 광합성 미세조류인 *Spirulina platensis*의 대량배양에 관한 동력학적 연구. *한국생물공학회지* **10**: 401-405.
  13. Menzel, D.W. and N. Corwin. 1965. The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fraction of persulfate oxidation. *Limnol. Oceanogr.* **10**: 280-282.
  14. D'Elia, C.F., P.A. Steudler and N. Corwin. 1977. Determination of total nitrogen in aqueous samples using persulfate digestion. *Limnol. Oceanogr.* **22**: 760-764.
  15. Murphy, J and J. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* **27**: 31-36.
  16. Wynne, D. and G-Y. Rhee. 1986. Effects of light intensity and

- quality on the relative N and P requirement (the optimum N:P ratio) of marine planktonic algae. *J. Plankton Res.* **8**: 91-103.
17. APHA, AWWA, WPCF. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
  18. 김종택. 1992. 환경오염공정시험법해설. 신광출판사, 서울
  19. Miernik, A. 1983. The quality of protein from algae used in the purification of wastewater from the nitrogen fertilizer industry. *Acta Microbiol. Polon.* **32**: 269-274.
  20. Przytocka-Jusiak, M., M. Duszota, K. Matusiak and R. Mycielski. 1984. Intensive culture of *Chlorella vulgaris* as the second stage of biological purification of nitrogen industry wastewater. *Water Res.* **18**: 1-7.
  21. Chen, F. and M.R. Johns. 1991. Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*. *J. Appl. Phycol.* **3**: 203-209.
  22. Veber, K., V. Votapek, K. Livanskiy, Y. Zagradnik and B. Prokesh. 1984. Growth of *Chlorella vulgaris* in wastewater. *Hydrobiol. J.* **20**: 32-40.
  23. Gordon, D.M., P.B. Birch and A.J. McComb. 1981. Effects of inorganic phosphorus and nitrogen on the growth of an Estuarine *Cladophora* in culture. *Bot. Mar.* **24**: 93-106.
  24. Przytocka-Jusiak, M. 1976. Growth and survival of *Chlorella vulgaris* in high concentration of nitrogen. *Acta Microbiol.* **25**: 287-289.

25. Li, J., J. Wang and J. Zhang. 1991. Removal of nutrient salts in relation with algae in pond. *Water Sci. Technol.* **24**: 75-83.

## 제 3 장 축산폐기물의 고기능성 비료화

### 제 1 절 서론

국민식생활의 향상으로 육류의 소비가 증가됨에 따라 축산업의 발달과 함께 축산폐기물이 다량으로 발생하게 되었다. 생산된 가축분뇨는 농촌 노동력의 부족과 처리의 미숙으로 새로운 농촌환경의 오염원이 되고 있다. 과거에는 노동력이 풍부하고 소규모로 가축을 길러왔기 때문에 가축분뇨를 부숙시켜 유기질비료로 농토에 환원하여 지력을 증진시켜 왔으나(1), 산업발달과 경제발전으로 식생활이 개선됨으로서 육류의 소비량이 증대되고 축산업이 점차 대형화되어 가축분뇨가 누적되면서 새로운 환경오염원으로 부각되어 토양, 대기 및 수질을 오염시켜 새로운 사회적 문제를 야기시키고 있다.

따라서 유기물을 많이 함유하고 있는 가축분뇨를 유기질비료자원으로 활용할 경우 자원의 재활용과 환경오염을 경감시킬 수 있다는 두 가지 측면에서 바람직하다고 하겠다. 특히 토양 비옥도가 낮은 현실에서 가축분뇨를 양질의 유기질비료로 전환한다는 것은 그 의의가 매우 크다고 할 수 있다(2). 한편, 전세계적으로 농작물의 수출·입에 따른 우루과이 라운드(UR)에 의한 농가 작물까지 개방화 압력을 받고 있는 현재의 상황에서 농가의 주요 소득작물인 채소류 및 전작류 생산의 저해요인으로 병해 등에 의한 역병균의 토양내 존재로 인하여 작물로의 전염이 가능하기 때문에 농약 살포에 의한 방제효과가 매우 낮아 현재까지 효과적인 방제방법이 없는 실정으로 매년 그 피해가 증가하고 있다(3). 특히 국내의 작물생산체계는 주년생산체계, 주산단지지정, 경지면적의 영세성으로 인하여 소득작물의 연작이 불가

피한 실정이며, 이에 따른 작물체의 병원균이 토양내 잠식으로 인한 토양병해가 계속 증가하여 생산량의 절대적인 감소 등의 연작장해요인으로 지목되고 있다. 따라서 연작장해를 근본적으로 해결하기 위한 방법중 유기합성 농약에 의한 환경오염, 인체독성을 해소할 수 있는 무공해 방제기술 즉, 길항미생물을 이용한 농작물의 병해를 해결할 수 있는 기술을 개발함으로써 소득작물의 안정적인 생산에 기여할 수 있다(4). 이를 위한 일련의 방법중 각종 환경오염원으로 지목되고 있는 축산폐기물의 고형분을 이용하여 각종 미생물을 첨가해 발효를 유도한 부숙퇴비를 생산(2, 5, 6, 7), 이를 각종 작물에 시비함으로써 이들이 요구하는 영양원을 충족시키고 생육을 촉진키는 고기능성 생물비료로의 사용을 위한 비료화 과정에서 각종 요소들의 최적화 방안을 검토하고 축산폐기물의 냄새를 제거할 수 있는 생물학적인 방법을 알아보며(8), 기존의 화학비료에 대한 대체시비에 따른 수확량의 증대와 더불어 병해충에 의한 수확량 감소를 방제하기 위해 각종 작물에 따른 역병균에 대해 활성이 높은 길항미생물을 부숙비료에 첨가하여 각종 병해충에 강한 작물로 생육하게되어 생물학적 방제도 가능한 기능성 비료를 시비하여 수확량의 증대를 목표로 고기능성 비료 개발을 위한 연구를 수행하였으며 이에 따른 결과를 보고하고자 한다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 길항미생물의 분리, 탐색 및 동정

#### 가. 길항미생물의 분리 및 탐색

충남일원의 시설재배토양 및 자연발효퇴비에서 항진균활성을 나타내는 세균을 일차분리하였고, 이를 다시 potato dextrose agar 배지상에서 공시균주 *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* 등의 식물 병원성균과 대치배양하여 항진균력이 있다고 판단되는 세균 13균주와 방선균 2균주 등 15균주를 2차 분리하였다. 분리된 세균은 nutrient agar 배지에 계대 보존하여 항진균활성 유무를 지속적으로 검토하였으며, 이중 공시병원성균주에 대해 동시활성을 갖고 있고 지속성이 뛰어난 2개 균주를 본 실험의 공시균주로 사용하였다.

#### 나. 부속활성미생물의 분리 및 탐색

자연발효퇴비와 양질의 토양으로부터 시료를 채취하고 이를 세균분리용 배지(Table 3-1)에 희석평판배양하여 순수분리가 될 때까지 반복하여 실시하였다. 분리된 세균들은 다시 효소활성 검정용 배지(Table 3-2)에 배양하여 amylase, protease, lipase, cellulase 등의 생성 유무를 확인한 후 29균주를 1차 선별하였으며, 그중 2가지 이상의 효소를 동시에 생산하고 내열성을 가지고 있는 3개 균주를 최종선별하여 본 실험에 사용하였다.

#### 다. 미생물의 동정

분리 선별된 미생물은 “Manual for the identification of medical bacteria”(9)와 “Bergey’s manual of systematic bacteriology”(10)를 이용해 생리, 화학적 분석과 광학현미경을 통한 형태적 관찰로서 동정하였다.

Table 3-1. Isolation medium for bacteria

Beef extract	5.0 g
Peptone	3.0 g
Tetraene KM-A	0.3 g
Bacto agar	15.0 g
D.W.	1.0 L

Table 3-2. The composition of media for the detection of enzyme activity

	Amylase	Protease	Lipase
	1% starch		
Nutrient agar		10% skim milk	
+			0.01% CaCl <sub>2</sub>
			0.1% tween80

Cellulase activity detection medium: cellulose powder(DIFCO) 10g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 1g, Yeast ext. 0.5g, D.W. 1L.

## 2. 미생물 담체화 및 Composting

### 가. 미생물고정화 담체 선정

분리 선별된 미생물을 순수배양 후 원심분리하여 균체만 회수하여 0.2 M 인산완충용액(pH 7.2)에 혼합하였다. 혼합된 미생물은 vermiculite, zeolite, perlite 등의 무기광물에 24시간 동안 실온에서 침적시킨 후 여과지(GF/C)로 걸러내어 이를 30℃ 항온기에서 건조한 후 균주 흡착의 효율성을 조사하였다. 또한 균주 흡착의 지속성 여부를 검토하기 위해 5일 간격으로 시료를 채취해 nutrient agar 배지상에서 생균활성을 조사하였다.

### 나. Pilot scale compost

돈분의 퇴비화 실험을 위해 실험실 규모의 Pilot (50×50×70cm)에 높이 50 cm의 퇴적물로서 퇴비화 실험을 수행하였다. Pilot 내에 air는 강제 송풍방식으로 10 L/min/m<sup>2</sup> 내외의 풍량으로 오전과 오후 각 1회 1시간씩 송풍하였으며(11, 12), 5일 간격으로 뒤집기를 시도하여 퇴적시료 전체가 퇴화될 수 있게 하였다. 대조구는 관행구로 돈분에 톱밥을 1 : 1 비율로 조합하여 수분함량을 65%로 조절하였으며, 실험구는 돈분과 톱밥을 조합한 것에 고정화된 미생물담체 KSC-1을 1 : 1 : 0.1의 비율로 첨가하였고 대조구에 대한 비교구로 완숙퇴비를 톱밥대신 첨가하여 퇴비화 과정을 조사하였다.

### 다. Plant scale compost

퇴비화 실험의 규모를 실질적 양산단계로 올려서 실시하였는데, 충남 논산 소재의 대규모 양돈단지에서 발생하는 축산폐기물을 처리하고 있는 유기질비료 생산공장의 협조를 얻어 30 m<sup>3</sup> 규모의 처리장에 20 m<sup>3</sup> 규모의 퇴비를 시험 생산하였다. 축산폐기물은 양돈농가에서 발생하는 돈분을 이용하였고, 조절제는 육송을 곱게 간 톱밥을 이용하였다. 시험기간의 단축을 위

해 돈분과 톱밥을 이용한 1차 부숙퇴비(20여일 경과)를 조절제로 이용하여 다시 돈분을 살포한 후 대조구와 부숙미생물 처리구를 각각 약 20 m<sup>3</sup>(1m×4m×5m) 규모로 조성한 후 표면에서 각 30 cm, 60 cm, 90 cm 지점의 시료를 채취하여 각종 성상을 분석하였다. 퇴비 부숙기간동안 통풍은 강제통풍방식을 사용하였으며 7~9일 간격으로 뒤집기를 실시하였다.

대조구와 부숙미생물 처리구 각각의 깊이에서 온도를 측정하였으며 채취된 시료는 각 성상분석에 따른 방법을 이용하여 분석하였다(13). pH는 시료와 D.W.를 혼합(1:5)하여 측정하였고, 함수율은 채취시료의 초기 무게와 건량과의 차이를 측정하여 백분율로 나타내었으며(14), 유기탄소(Total Organic Carbon: TOC)는 Tyurin method에 의해 측정하였고(14, 15, 16), 총 질소(Total Nitrogen: TN)는 토양중 질소함량을 측정할 때 사용되는 Kjeldahl method를 이용하였으며(17, 18), 총인(Total & Organic Phosphorus: TP)은 채취된 시료를 HCl을 넣고 가열한 뒤에 Vanado-molybdophosphoric acid colorimetric method를 이용하여 색도 변화에 따른 비율을 이용해 시료내의 인 성분 함량을 측정하였다(19, 20).

효소활성(Amylase, Cellulase, Protease activity analysis)은(18, 21, 22) 각 시료에서 효소를 완충요액으로 분리시킨 후 각각의 기질이 분해되는 양을 측정하여 단위 시간으로 환산해 unit로 계산하였다. 이러한 성분 및 효소활성은 부숙기간과 온도에 따른 변화를 각 시기에 채취된 시료에서 조사하였다. 또, 미생물상은 각각의 채취시료를 가지고 3가지 배지(Table 3-3)에서 종수 및 생균수를 측정하였다. 증균속은 photometer SQ 118(Merck)로 측정하였다.

Table 3-3. The composition of each isolation medium

	PCA	PDA	SCA
Component (g/l, ml/l)	Tryptone	5	Potato 200 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.5
	Yeast ext.	2.5	Dextrose 20 MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 1
	Glucose	1	Agar 15 Starch 10
	Agar	15	Chloramphenicol 0.025 Casein 1
			Cyclohexamide 0.025
			Agar 15
pH	7.0	pH 5.1	pH 7.0

### 3. 작물 검정 및 길항력 검정

#### 가. 작물검정

부숙이 완료된 퇴비는 2종(메론, 고추)의 식물포장실험에 사용하였다. 멜론의 경우는 pot에서 발아시킨 개체들을 2곳의 경작토양 15(1.5×10) m<sup>2</sup>에 각각 부숙퇴비와 부숙미생물을 첨가해 부숙시킨 부숙미생물을 첨가한 퇴비를 각각 동일한 비율로 시비하여 동일한 조건에서 각 40개체를 실험에 사용하여 성장도를 측정하고 개화시기 등을 비교 조사하였다.

Table 3-4. The mixture rate of agriculture soil component

	Control	Experiment
Vermiculite	1	1
Peat moss	1	1
Compost	8	0
Microbe compost	0	8

고추의 경우는 pot 실험과 포장실험을 동시에 실시하고 대조구와 실험구에서 토양과 퇴비의 비율은 Table 3-4와 같이 조합한 후 묘종하여 성장도와 수확량을 비교 조사하였다.

#### 나. 길항미생물의 활성검정

길항미생물의 활성에 대한 연구는 대전 및 충남일대 고추재배지에서 토양을 채취하고 토양회석법으로 회석하여 40여개의 균주를 분리하였고, 고추역병균은 고추의 이병부위에서 분리하여 병원성을 확인한 *Phytophthora*를 본 실험에 공시하였다(4). 토양에서 분리된 균주들은 길항력이 있는지를 알아보기 위해 PDA배지가 있는 petridish중양에 5 mm의 paper disc에 고추역병균을 접종하고, 약 2~3 cm 떨어진 곳에 세균을 접종하여 25℃ 항온기에서 5일간 암상태로 배양한 후 세균과 병원균 사이의 clear zone 폭을 측정하여 고추역병에 길항력을 나타내는 3개의 균주를 선별하였다. 분리된 길항미생물은 PDB배지를 500-ml 삼각플라스크에 각각 200 ml씩 넣어 멸균한 후 접종하여 30℃ 항온기에서 3일간 배양하였고, 고추역병균은 V-8배지(Table 3-5)에 접종하여 25℃에서 5일간 배양하였다. 5일간 배양한 고추역병균은 homogenizer로 마쇄한 후 10배 회석하여 실험에 사용하였다.

Table 3-5. The composition of each isolation medium

	V-8		KB	
	V8 juice	200 ml	Tryptone	10 g
	CaCl <sub>2</sub>	4 g	Peptone	10 g
Component	Agar	18 g	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g
			MgSO <sub>4</sub>	1.5 g
	D. W	800 ml	Agar	18 g

고추의 포장실험에서 길항미생물이 고추의 발아율에 영향을 주는지를 알아보기 위해 길항미생물의 KB 배양액(Table 3-5)에 고추종자를 2 시간동안 침지한 후 pot에 파종하여 10일 간격으로 발아율을 조사하였고, 고추역병균과 길항미생물이 동시에 투여된 경우와 성장하는 고추에 고추역병균이 감염된 후 길항미생물이 얼마나 작용하는지를 알아보기 위하여 고추역병균을 접종하고 24 시간 이후에 길항미생물을 처리하여 길항력 여부를 관찰하였다. 또 길항미생물의 배양현탁액을 액상과 입상으로 만들어 각각에 대해 실험하였다. 액상의 경우 배양현탁액을 원심분리한 후에 1% sodium alginate 용액 400 ml을 첨가하여 멸균수로 10배 희석하여 일주일에 20 ml을 사용하였고, 입상의 경우는 1% sodium alginate 용액을 첨가한 후 구조토와 kaolin : 배양현탁액의 비율을 5:1로 처리한 후 사용하였다. 고추를 경작하기 1주일 전에 길항미생물을 포함하고 있는 부숙퇴비를 살포하여 고추가 성장하는 과정에서 고추역병균이 감염되었을 경우 미리 살포된 길항미생물이 길항능력을 소유하고 있는지를 알아보기 위해 1주일 간격으로 2회에 걸쳐 고추역병균을 처리하여 길항력을 알아보았다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 미생물 분리 및 동정

##### 가. 길항미생물의 분리 및 선별

연작토양 및 시설재배 토양으로부터 공시균주 *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* 등의 식물병원균에 대한 2개 병원균주 이상의 동시 길항력을 나타내는 세균 13균주와 방선균 2균주 등 15균주를 1차 분리하였다(Table 3-6).

분리균주중 5개 균주 모두에 강력한 길항작용을 나타내는 SC2214, SC2218 균을 길항미생물로 최종 선별하여 사용하였다.

충남 일원의 농가퇴비 및 돈사부근 토양을 채취하여 부속활성 미생물을 순수분리한 후 이들의 효소학적 활성과 고온에 대한 내성을 조사한 결과는 Table 3-7과 같다. 분리된 미생물 가운데 K116, K215, K324 균주가 cellulase, amylase, protease, lipase 등의 효소를 동시에 혹은 2가지 이상을 분비하는 것으로 나타나 효소활성이 높게 나타났으며, 80℃ 정도의 고온에서도 내성을 가지는 것으로 판단되어 이들 균주를 돈분퇴비화 작업의 부속 촉진 미생물로 최종 선별하였다.

#### 나. 미생물동정

선별된 미생물의 생리, 화학적 특성과 형태학적 특성을 조사한 결과 (Table 3-8) SC2214는 Gram 양성이며, spore를 형성하는 *Bacillus pumilus* 와 유사한 특성을 나타내는 것으로 판단되어 이를 *Bacillus pumilus* 2214로 명명하였고, SC2218은 Gram 음성의 편모를 가지고 있으며 oxidase 양성반응의 전형적인 *Pseudomonas* 속과 일치하였으며 부속활성 미생물로 분리된 K116, K215, K324 등은 Gram 양성의 spore를 형성하는 *Bacillus* 속과 유사한 특성을 나타내고 있는 것으로 조사되었다.

Table 3-6. Inhibition of phytopathogenic fungi by isolated bacteria

Pathogen*	A	B	C	D	E
Strain No.					
SC2201	++**	+++	++	++	++
SC2202	++	+++	-	+++	+
SC2209	++	++	++	++	+++
SC2214	+++	+++	+++	+++	+++
SC2218	+++	+++	+++	+++	+++
SC2220	+++	++	++	+++	+++
SC2312	++	+	+	+	++
SC2318	+++	+	+	+	++
SC2320	-	-	++	++	+++
SC2330	-	+	+++	+	+
SC2335	-	++	++	+++	++
SC2405	-	++	+++	+++	++
SC2406	++	++	+	+	+
SC2417	+	++	+++	+++	++
SC2426	-	+	++	++	-

\*Pathogen

A: *Botrytis cinerea*, B: *Pythium ultimum*, C: *Rhizoctonia solani*,  
D: *Phytophthora infestans*, E: *Fusarium oxysporum*

\*\*Inhibition activity

-: none inhibition, +: 50%>, ++: 50-90%, +++: 90-100%

Table 3-7. Selection of compost activation strain

Strain No.	Enzyme activity				Thermo-tolerance at 80°C for 10 min.
	Cellulase	Amylase	Protease	Lipase	
K11	+	++	-	-	+
K28		+	-	++	-
K29		+	-	+	-
K37	+	+++	+	+	-
K45	++	-	-	++	-
K45-1	-	++	-	-	-
K66	-	+++	-	-	-
K102	-	+	+++	-	+
K112	-	-	+++	+++	-
K116	+++	+++	++	+	+
K142	+	+	++	-	+
K186	+	-	-	+	-
K188	++	+++	++	-	-
K191	-	-	+++	-	-
K192	-	-	++	+	+
K196	++	++	+++	-	+
K202	-	-	+++	+	-
K211	-	+++	-	-	-
K215	-	+++	+++	+++	+
K310	+	-	-	+++	-
K315	++	++	-	++	-
K316	++	-	++	-	-
K324	+	+++	+++	+++	+
K431	+	-	++	-	-
K433	+	++	-	++	-
K476	-	-	+	-	-
K480	-	+++	-	+	+
K520	-	+	+++	+++	-
K522	-	+	+	+	-

Table 3-8. Characteristics of isolated strains

Characteristics	Species	Antagonistic bacteria		Composting activation bacteria		
		SC2214	SC2218	K116	K215	K324
Shape		R	R	R	R	R
Gram staining		+	-	+	+	+
Spore formation		+	-	+	+	+
Motility		+	+	+	-	-
Growth in aerobic condition		+	+	+	+	+
Growth in anaerobic condition		+	+	+	+	+
Growth at	25°C	+	+	+	+	+
	45°C	+	+	+	+	+
	65°C	+	+/-	+	+	+
Growth at pH 5.7		+	+	+	+	-
Growth in NaCl	0%	+	+	+	+	+
	3%	+	+	+	+	+
	7%	+	-	+	+	-
Catalase		+	+	+	+	+
Oxidase		+	+	+	+	-
Nitrate reduction		-	+	-	+	+
H <sub>2</sub> S production		-				
Indole production		-		-	-	-
VP		+		+	+	+
Starch hydrolysis		+	-	+	+	-
Casein hydrolysis		+	+	+	+	+
Gelatin hydrolysis		+	+	+	+	+
Urease		-	+	+	+	+
Carbohydrate, acid from	glucose	+	+	+	+	-
	arabinose	+	+	+	-	-
	mannitol	+	+	-	-	-
	xylose	+	+	+	-	+
	maltose	+	+	+	+	+
	lactose	+	+	+	-	-

## 2. 미생물의 담체화 및 Composting

### 가. 미생물의 담체화

미생물의 담체화는 특정 미생물을 흡착, 고정, 혹은 부착등의 방법을 이용하고 있다. 담체의 재질은 zeolite, perlite, vermiculite 등의 다공성 광물이 있으며, active carbon, white carbon 등도 흡착여재로 이용되고 있다. 이러한 담체에 혼용되는 고정재로는 sodium alginate, starch, xanthan gum 등이 미생물과 혼합하여 미생물 고정재로 사용하고 있는데 본 실험에서는 시설토양에서 이전부터 토양개량제로 사용되고 있는 규산질 광물을 대상으로 미생물 흡착여재를 선정하고 이의 지속적인 보존활성을 알아보았다.

미생물 흡착실험은 zeolite, perlite, vermiculite를 각각 단독 혹은 동일 부피비의 병용 형태로 K116, K215, K324 등의 균주와 SC2214, SC2220의 균주를 원심분리 후 0.2 M 인산완충용액에 현탁시킨 혼합 현탁액에 침적시켜 침적시간 동안 담체내 흡착된 균체를 제외한 현탁액상의 균체밀도로 균체 흡착량을 역으로 산정하였으며, 담체내 흡착된 균체를 담체만 회수하여 건조시킨 후 다시 0.2 M 인산완충용액에 1시간 정도 교반시켜 용출된 생균수를 측정하였다(Table 3-9).

흡착실험결과 흡착여액은 조사한 균체밀도에 비해 흡착제에서 재용출시킨 균체밀도가 낮게 나타난 것은 흡착된 균체가 완전히 용출되지 않았을 것으로 판단되며, zeolite는 순간 흡착력은 우수하나 재용출은 vermiculite에 비해 떨어지는 것으로 조사되었다. 그러나 zeolite와 vermiculite를 동일 부피비로 혼용하였을 때 흡착률은 32%로 가장 높게 조사되었다. 따라서 본 실험의 미생물 담체는 zeolite와 vermiculite를 1:1로 혼용한 형태로 하여 실험을 진행하였다.

Table 3-9. Adsorption rate of several adsorbents

Adsorbent	Adsorption rate (%) <sup>a</sup>	Adsorption rate (%) <sup>b</sup>
Zeolite	21	0.160
Perlite	14	0.008
Vermiculite	18	0.280
Zeolite : Perlite (1 : 1)	20	0.140
Zeolite : Vermiculite (1 : 1)	32	0.300
Perlite : Vermiculite (1 : 1)	14	0.050

※ 초기 균체밀도는  $1.8 \times 10^9$  CFU/ml

a : 흡착률(a)은 초기 균체밀도에서 침적반응 후 남은 여액의 균체밀도를 제외한 균체밀도

b : 건조 후 재용출시킨 균체밀도

보존기간별 균체밀도를 조사하기 위해 zeolite와 vermiculite를 동일 부피비로 혼용한 담체에 균체 현탁액을 침적시킨 후 다시 건조시켜 함수율 5-10%인 건조담체를 만들고 이를 보존기간별로 용출시켜 균체밀도의 지속성을 관찰하였다(Table 3-10).  $2.0 \times 10^9$  CFU/ml의 균체를 흡착시킨 후 건조시켜 재용출되었을 때  $1.2 \times 10^8$  CFU/g의 균체밀도가 있음을 확인한 후 5-10일간격으로 실온에 보관시킨 담체를 정량하여 용출시킨 결과 20일까지 균체밀도 감소의 양상을 나타내었으나 20일 이후 더 이상 감소없이  $0.2 \times 10^8$  CFU/g의 cell을 유지하는 것으로 나타났다. 결국 초기 흡착여액의 cell 밀도를 높인다면 흡착담체내 균체밀도는 충분히 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Table 3-10. Variation of viable cell density during preservation time

Preservation time (day)	Cell density ( $\times 10^8$ CFU/g)
0	1.20
5	0.98
10	0.42
15	0.26
20	0.22
25	0.21
30	0.20

나. 축산폐기물의 부숙화

충남 일원의 축산농가에서 채취한 돈분시료의 성상을 분석한 결과는 Table 3-11과 같다. 퇴비화 과정중 물리 화학적 변화에 대해 조사한 결과를 보면, 부숙기간은 4개 처리구 모두 20~25일이 소요되는 것으로 파악되었으며 4개 처리구간의 차이는 크게 나타나지 않았으나 부숙활성제 KSC-1 처리구에서 초기 온도가 가장 높게 나타났으며 pH는 중성에서 약알칼리를 유지하였다(Fig. 3-1).

Table 3-11. Characteristics of pig dung

	pH	water content (%)	T-N (%)	T-P (%)	TOC (%)	K (mg/l)	Ca (mg/l)
Pig dung	6.81	78	1.96	1.21	38	118	16
Dry pig dung	6.43	27	2.74	1.36	44	209	23

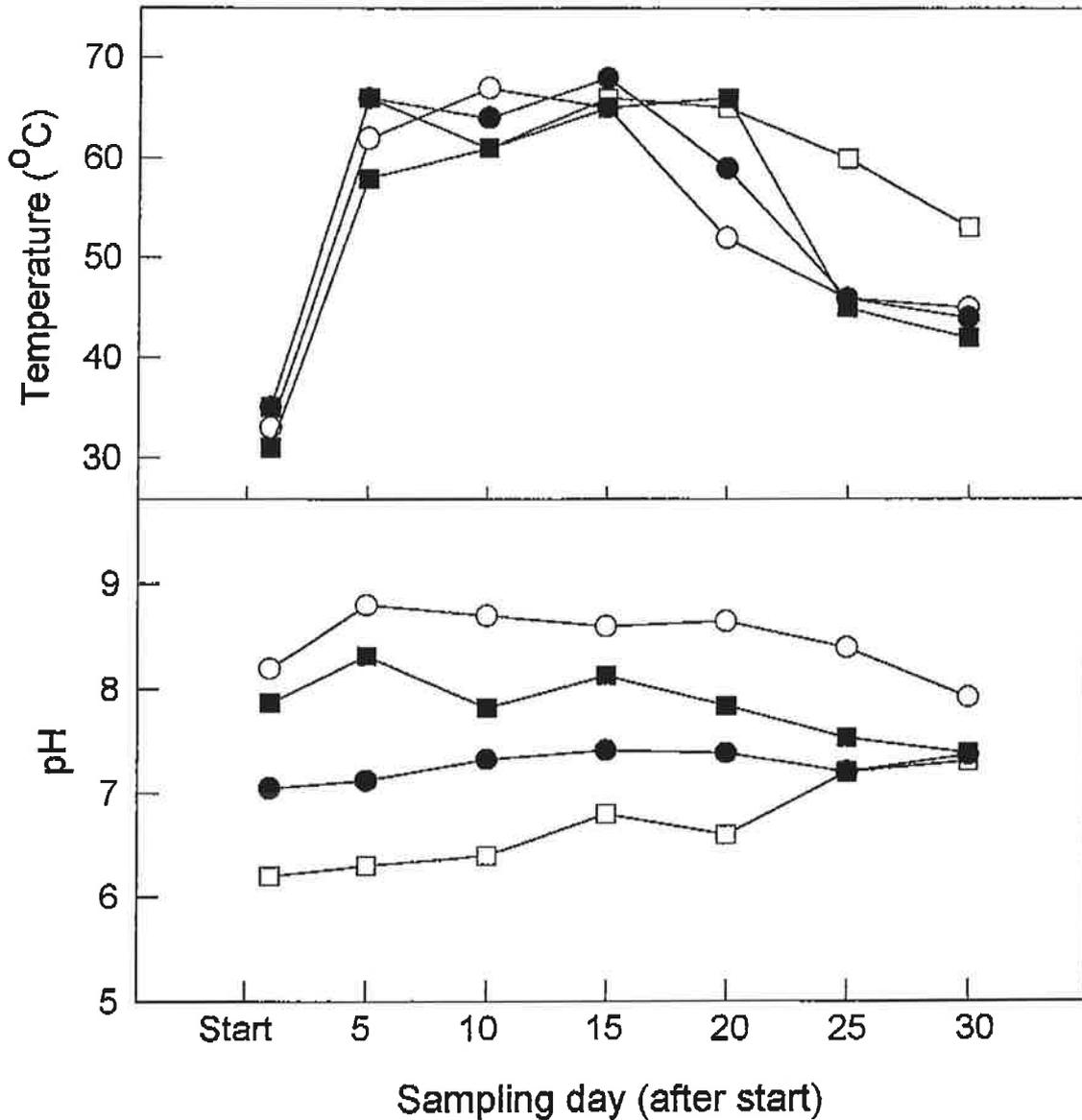


Fig. 3-1. Variation of temperature and pH during the composting period.

- pig dung + matured saw dust fertilized (1:1.5)
- pig dung + saw dust + rice mill (1:1:0.1)
- pig dung + saw dust + composting activator KSC-1 (1:1:0.1)
- pig dung + saw dust (1:1).

함수율의 경우는 부속 완료시기에 50% 정도를 유지해 KSC-1 처리구가 가장 낮은 함수율로 부속과정을 마쳤고, C/N 비율도 가장 낮게 나타나 퇴비화 과정에서 상당한 효과를 미친 것으로 사료된다(Fig. 3-2).

Pilot 규모의 퇴비화과정 중에 일어나는 미생물의 변화를 조사한 결과 세균의 변화는 모든 처리구에서 온도가 상승된 5~20일간의 부속기간 중에  $10^2$  cell/ml 정도의 감소가 나타나고 있는데 비해 곰팡이의 변화는 오히려 이기간 중에 미세하나마 증가하거나 큰 변화가 없는 것으로 나타났다(Fig. 3-3). 세균의 경우 부속중기(고온기)에 나타나는 균주는 대부분 Gram 양성인 *Bacillus* 속으로 조사되었으며, 또한 부속활성제 KSC-1을 첨가한 처리구의 경우 부속중기에  $10^8$  cell/ml을 유지하고 있는 것으로 조사되었으며 KSC-1의 첨가균주 중에서 3균주가 처리구에 우점하고 있음을 확인할 수 있었다.

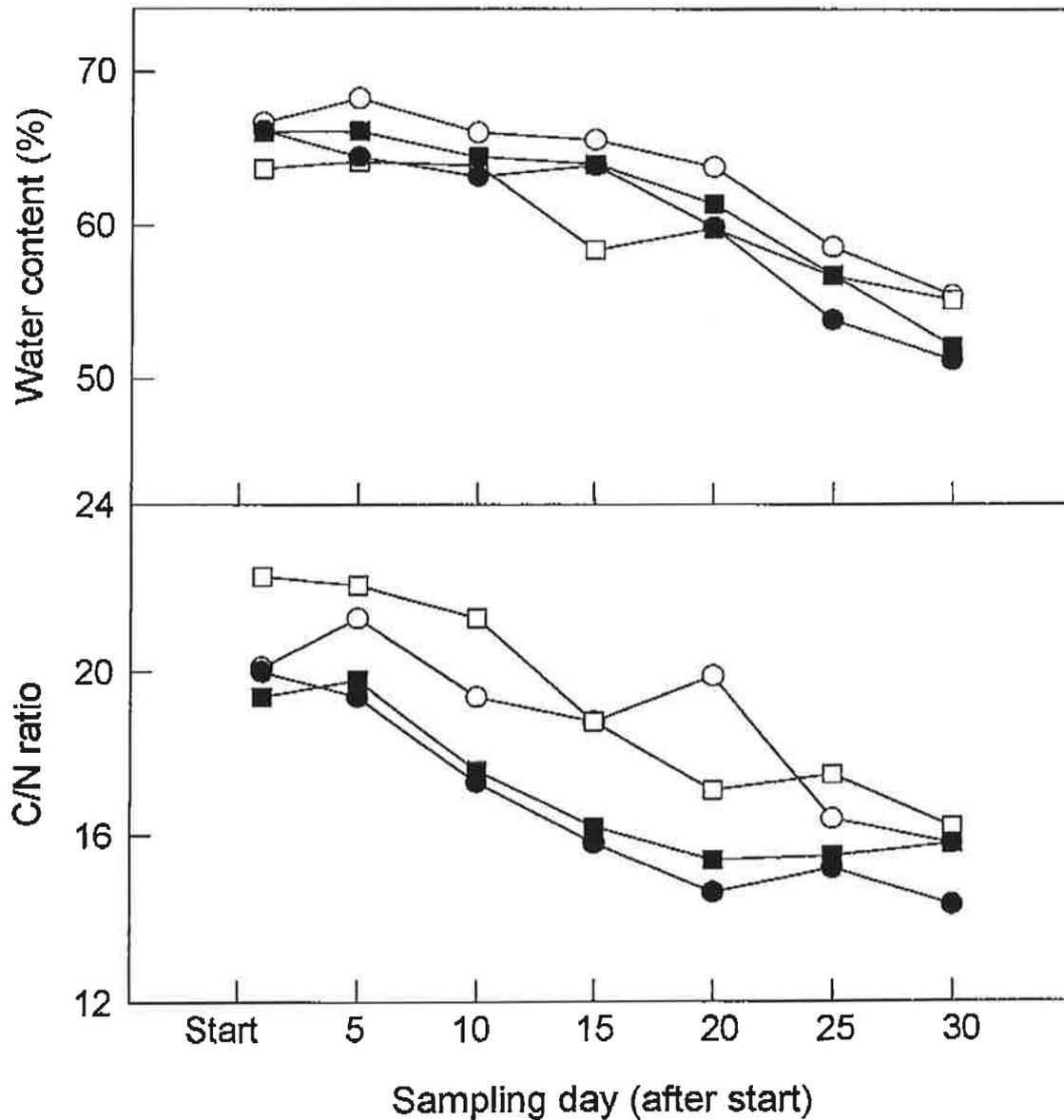


Fig. 3-2. Variation of water content and C/N ratio during the composting period.

- pig dung + matured saw dust fertilized (1:1.5)
- pig dung + saw dust + rice mill (1:1:0.1)
- pig dung + saw dust + composting activator KSC-1 (1:1:0.1)
- pig dung + saw dust (1:1).

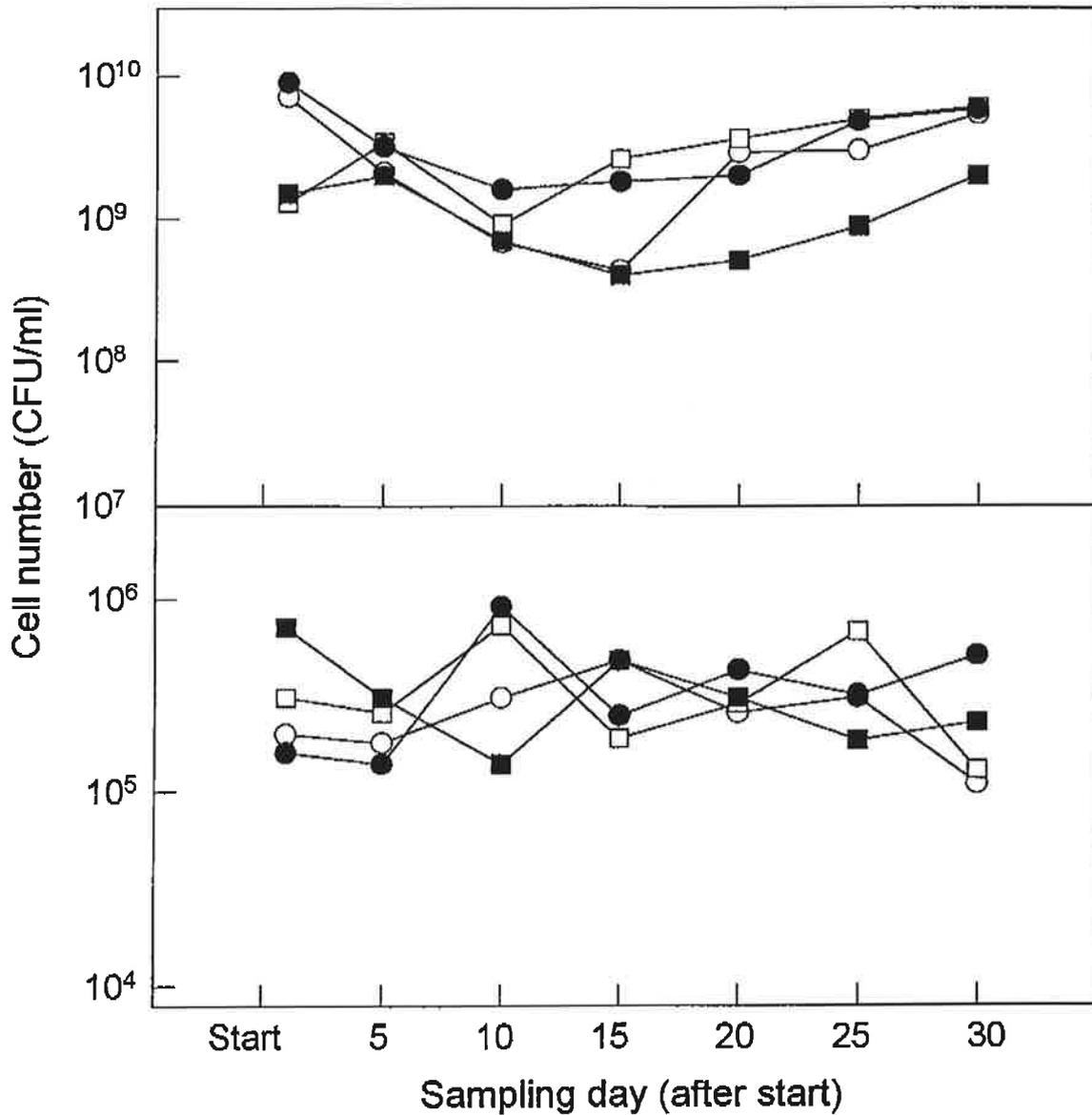


Fig. 3-3. Variation of aerobic bacterial (up) and fungal (down) diversity during the composting period.

- pig dung + matured saw dust fertilized (1 : 1.5)
- pig dung + saw dust + rice mill (1 : 1 : 0.1)
- pig dung + saw dust + composting activator KSC-1 (1 : 1 : 0.1)
- pig dung + saw dust (1 : 1).

#### 다. Plant scale compost

부숙미생물을 첨가한 퇴비와 대조구로 사용된 미생물 미처리 퇴비의 성상은 매 5일 간격으로 분석하였고, 온도의 변화는 매일 측정하였다. 먼저 부숙과정에서 발생하는 온도의 변화를 보면 Fig. 3-4에 나타난 바와 같다. 초기의 온도는 모든 깊이에서 26℃를 유지하였으나 2일째 되면서는 대조구는 깊이에 따라 35~60℃의 분포를 형성한 반면 실험구에서는 76~62℃의 상반된 온도분포를 하면서 시간이 지남에 따라 깊이별 온도가 급격히 변화하는 것을 보였다. 약 일주일 후에 온도의 급격한 하강은 1차 부숙의 완료를 의미하며 이러한 단계에서 최고 온도에 도달하는 시기도 실험구에서 빠르게 나타났고 고온의 유지 기간은 오히려 대조구에서 더 길게 나타났다. 그리고 두번째로 고온에 이르는 시기는 실험구가 약간 빨리 발생하였으나 온도의 전체적 분포는 대조구가 높은 온도를 유지하였다. 세번째 고온에 이르는 시기는 오히려 대조구가 빨랐으며 온도도 매우 높게 형성되었으나, 실험구의 경우는 낮은 온도에서 안정화 과정에 들어간 것으로 보여진다. 즉 대조구의 경우는 온도분포로 볼 때에는 약 일주일 정도 늦게 안정화되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 부숙미생물을 첨가한 경우 빠르게 분해가 일어나 단기간에 높은 온도를 유지한 것으로 사료된다.

실험실 규모에서 대량 생산체제로의 변화에서 부숙기간 동안의 함수율은 시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 3-5). 대조구의 초기 함수율은 68.6%로 실험구의 64.3%보다 약 4.3% 높게 시작되었다. 5일 후의 함수율은 대조구에서 표층이 57.2%로 초기 함수율보다 9% 정도 감소한 반면 90 cm 깊이에서는 63.3%로 5%의 감소를 나타냈다. 그러나 실험구의 경우 표층은 60%로 4.3%가 감소한 반면에 90 cm 깊이에서는 54.7%로 10% 가량 감소되어 대조구와 반대의 양상을 나타냈다.

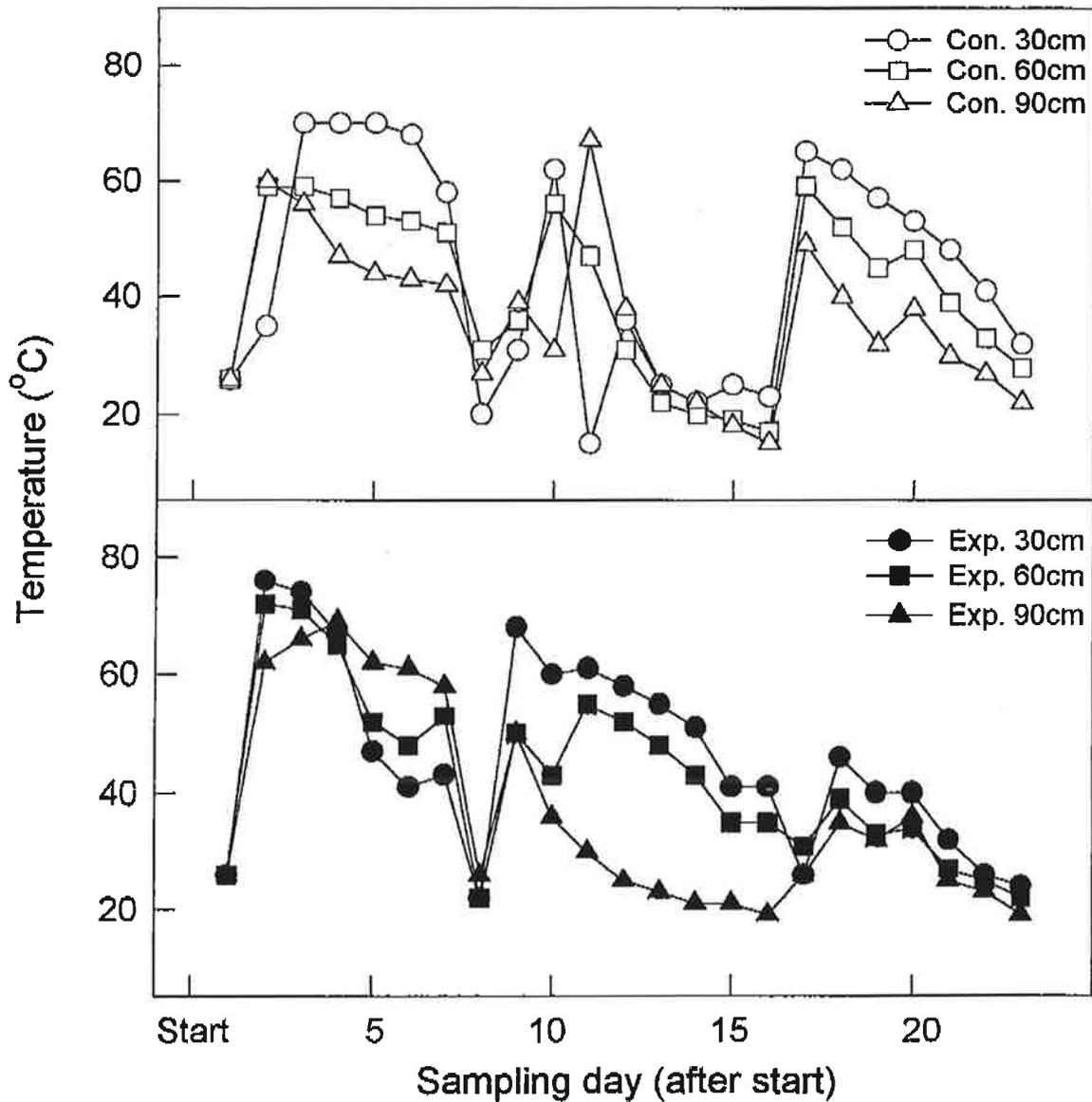


Fig. 3-4. Variation of temperature during the composting period.  
 open symbol : none treatment (control)  
 closed symbol : microbe treatment (experiment).

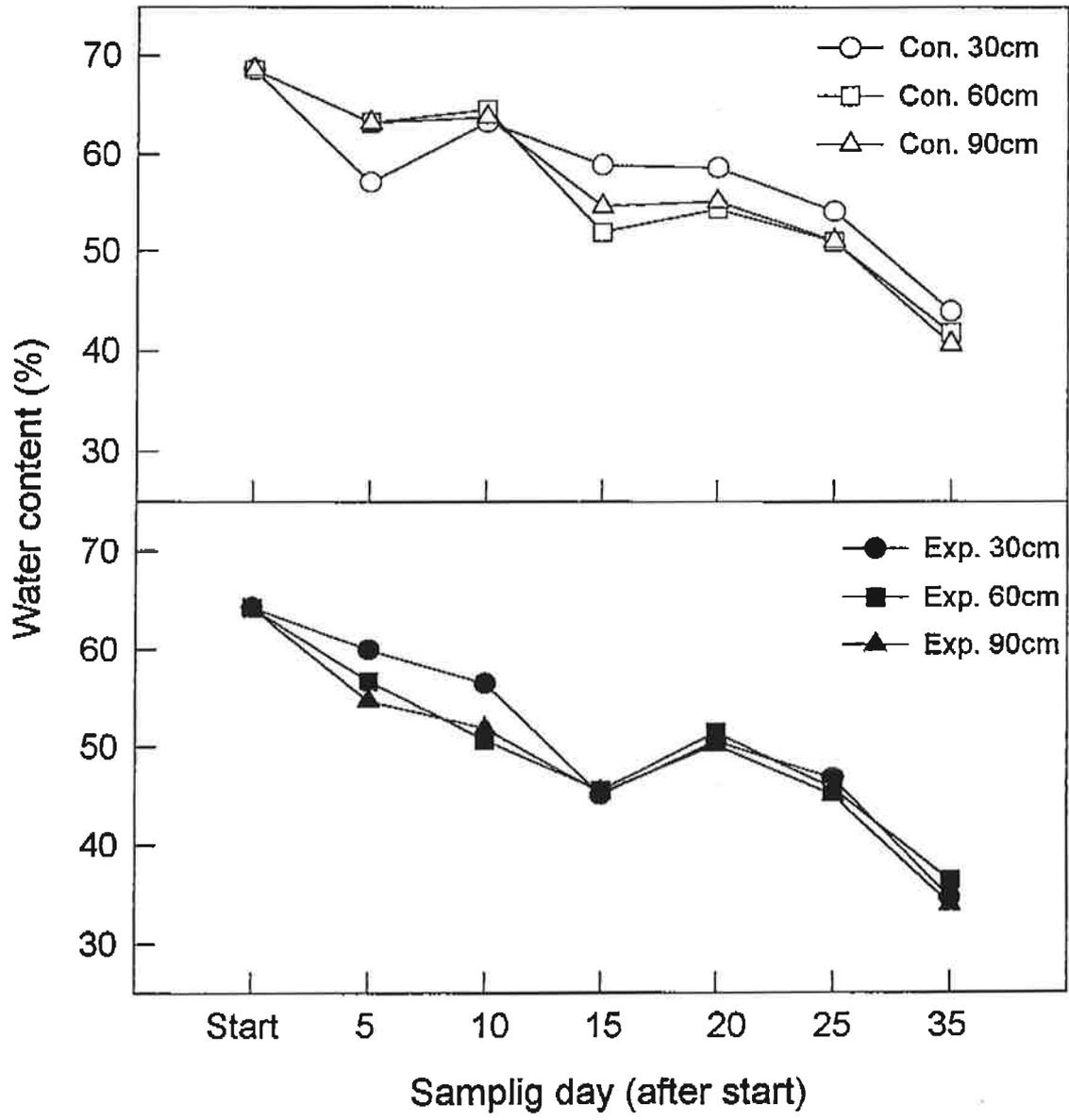


Fig. 3-5. Variation of water content during the composting period.  
 open symbol : none treatment (control)  
 closed symbol : microbe treatment (experiment).

15일 전까지는 대조구의 함수율이 깊이에 따라 불규칙했는데 이는 뒤집기를 통해 상층부와 하층부의 함수율이 서로 뒤섞여 나타난 일시적 현상으로 보여지며 실험구의 경우는 완만한 감소의 경향을 유지하므로 함수율이 증가하는 경우가 나타나지 않았다. 대조구의 경우 15일이 지난 후부터는 표층의 함수율이 항상 높게 나타났지만 실험구의 경우는 전체적으로 유사한 함수율을 나타내 부속의 안정화 단계에 있음을 나타내고 있다. 15일을 전후해서 일시적인 증가와 감소가 나타난 것은 뒤집기로 인해 나타난 일시적 현상으로 볼 수 있다. 최종단계의 함수율을 보더라도 대조구의 경우는 40.7~43.9%를 보인 반면에 실험구는 34.0~36.4%로 낮게 나타나 초기의 함수율 차이를 감안하더라도 실험구의 부속미생물이 부속을 촉진시켜 빠르게 안정화를 이루는 것으로 볼 수 있다.

부속기간 동안 실험구와 대조구에서의 pH 변화는 약알칼리에서 중성으로 변화하는 양상을 나타냈다(Fig. 3-6). 실험이 시작된 시기에 pH는 실험구가 9.28로 대조구의 9.05보다 다소 높게 나타났었다. 15일 정도 경과한 후에는 대조구의 pH는 8.29~8.44로 실험구의 pH 8.17~8.35보다 높게 나타났다. 즉 부속의 촉진으로 알칼리에서 중성이나 약산성으로 넘어오는 시기가 앞당겨져 나온 현상으로 볼 수 있다. 최종단계에서의 pH는 대조구가 7.7 정도를 유지하였고 실험구에서는 pH 6.6~6.8 정도의 중성이나 약산성의 범위를 나타냈다. pH는 깊이에 의해서 많은 변화를 나타내지 않으나 실험구의 25일을 전후해서 측정된 자료는 깊이별 차이가 다소 나타났지만 부속단계의 안정화에 크게 영향을 미칠 정도는 아닌 것으로 사료된다.

총질소(TN)의 경우 부속기간 동안 전체적으로 감소하는 경향을 나타내 부속과정중 미생물의 에너지원으로 사용됐음을 알 수 있다(Fig. 3-7). 초기 단계에서 총질소가 급속히 감소했으나 대조구에서는 60 cm 깊이에서 그 감소량이 둔화되었지만 실험구에서는 30 cm 깊이에서 감소의 둔화를 보였다.

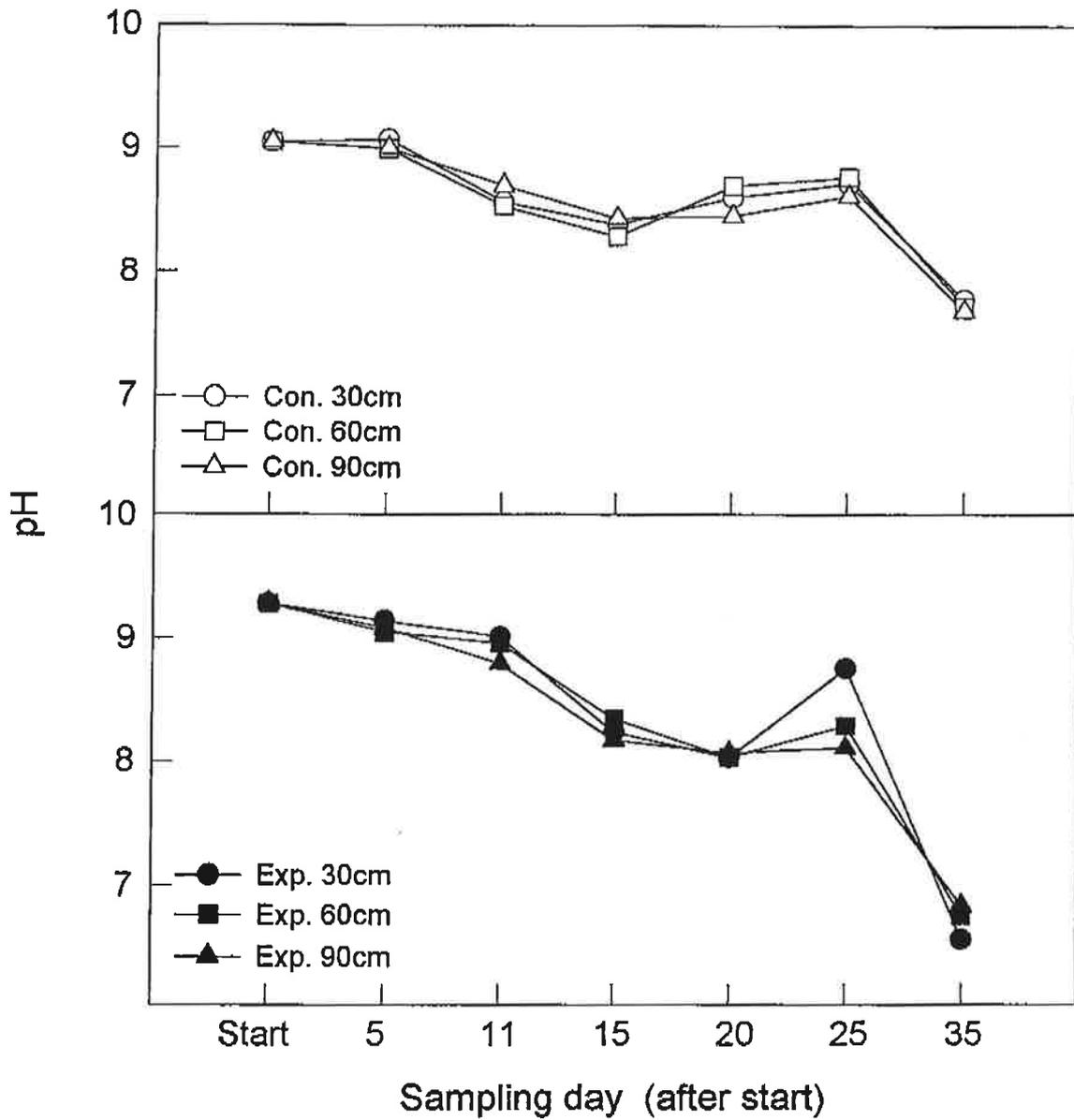


Fig. 3-6. Variation of pH during the composting period.  
 open symbol : none treatment (control)  
 closed symbol : microbe treatment (experiment).

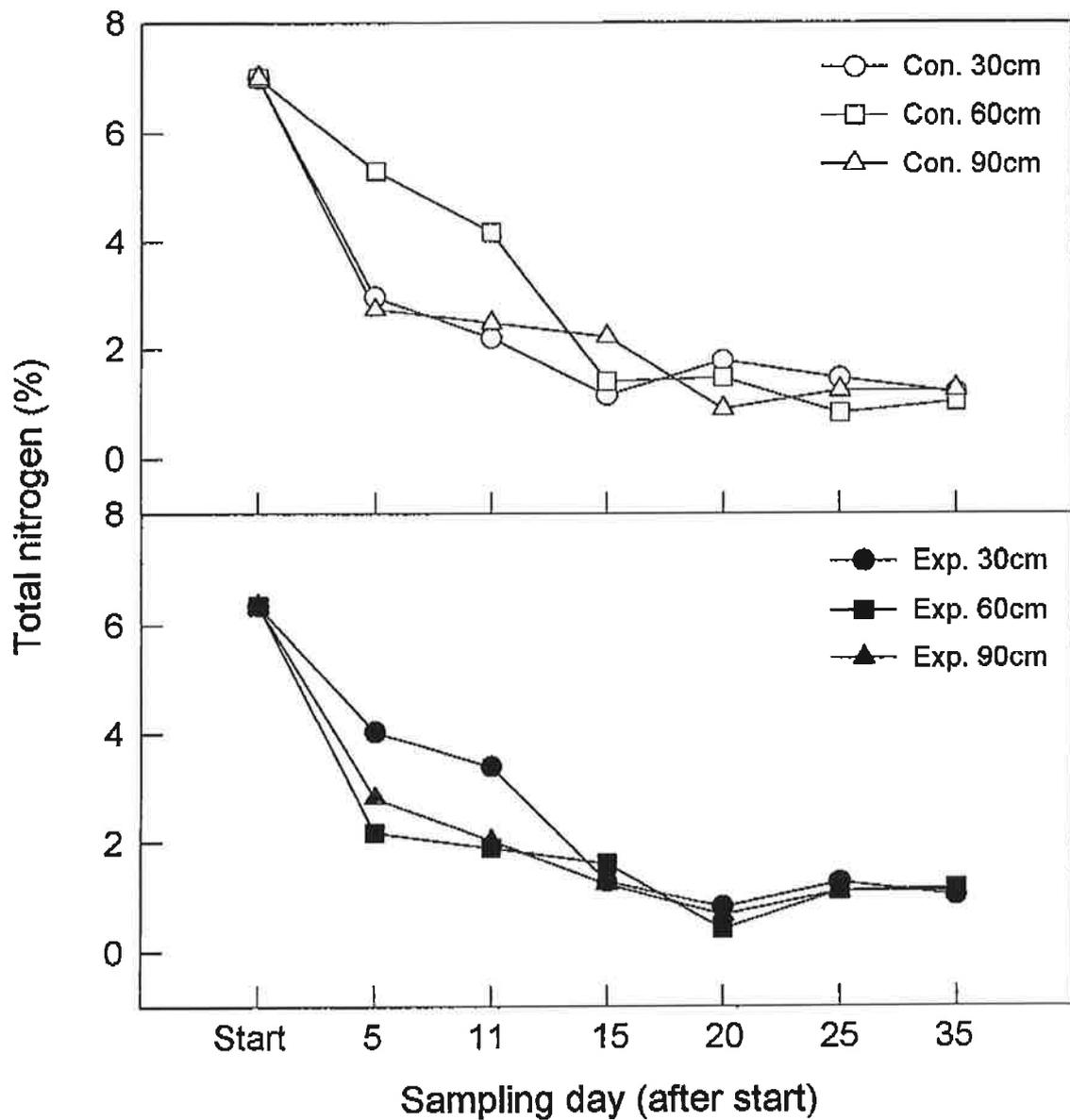


Fig. 3-7. Variation of total nitrogen during the composting period.  
 open symbol : none treatment (control)  
 closed symbol : microbe treatment (experiment).

5일 이후부터는 실험구가 깊이에 별다른 영향을 받지 않는 것처럼 감소했지만 대조구의 경우는 깊이에 영향을 받은 듯하며, 뒤집기 과정에서 깊이별 층이 유지되지 않음으로 인해서 이와 같은 결과가 나온 것으로 사료된다.

TOC의 경우도 TN과 마찬가지로 점차 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 3-8). 실험구의 경우는 깊이에 관계없이 일정한 수준으로 감소한 반면에 대조구의 경우는 깊이별로 미미한 차이를 나타냈지만 TN과 같은 두드러진 차이점은 발견되지 않았다. 다만 온도의 변화에 따라 TOC 감소의 폭이 달라지는 점을 발견할 수 있다. 온도가 1차로 내려가는 지점인 9일과 2차로 내려가는 20일 경에 TOC의 감소 폭이 대조구와 실험구 모두에서 나타난 점으로 미루어 중온성 미생물에 의한 탄소원 소모가 일어나고 있음을 알 수 있다.

총인(TP)의 경우도 TN과 TOC처럼 시간이 지남에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 3-9). TP 역시 부속초기에 많은 양이 감소하는 점으로 미루어볼 때 초기 부속과정에 미생물에 의해 많이 소모되는 것으로 사료된다.

부속시간이 경과함에 따라 미생물의 종류도 변화를 나타냈는데, 부속을 시작할 당시 PCA 배지에서 출현한 종 수는 13종으로 나타났으나 대조구의 경우는 부속 시작과 동시에 온도가 상승함에 따라 5~8 종으로 감소하였고, 실험구의 경우는 8~9종으로 감소하여 감소의 폭이 대조구보다는 적게 나타났다. 또 시간의 경과에 따른 온도변화에 종 수의 변화도 같이 일어난 것으로 사료된다. PDA 배지에 출현한 종은 부속 초기에 나타난 대조구 7종, 실험구 8종이 시간이 경과하면서 감소하는 경향을 보이다가 부속이 완료되는 시기에 다시 증가되는 경향을 나타냈다(대조구 10, 실험구 10). SCA 배지의 경우는 온도의 변화에 따라 고온인 경우는 종 수가 다소 감소하고 온도가 중온으로 회복되면 다시 증가하는 경향을 보였는데, 특히 대조구의 경

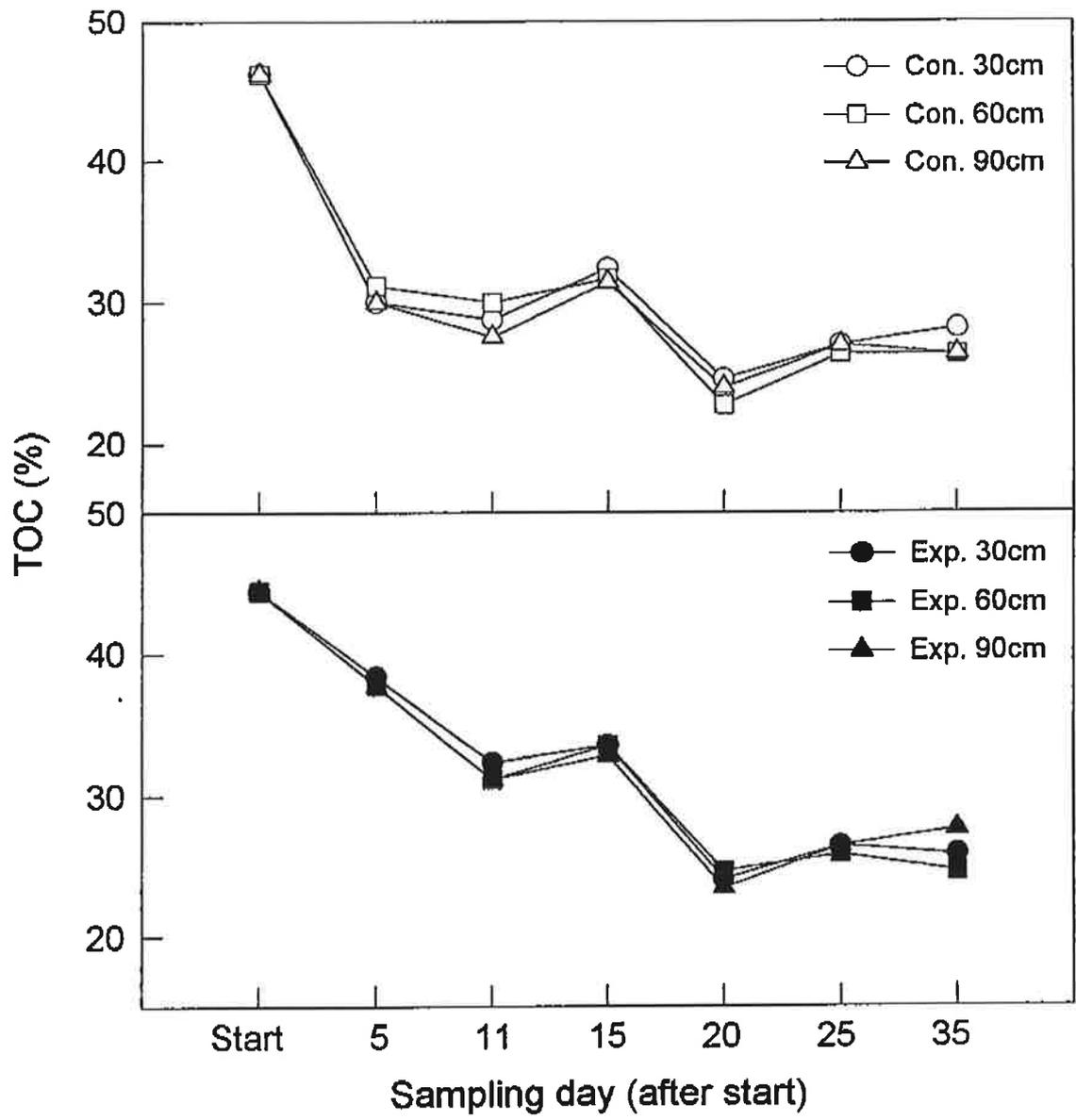


Fig. 3-8. Variation of total organic carbon during the composting period.

open symbol : none treatment (control)  
 closed symbol : microbe treatment (experiment).

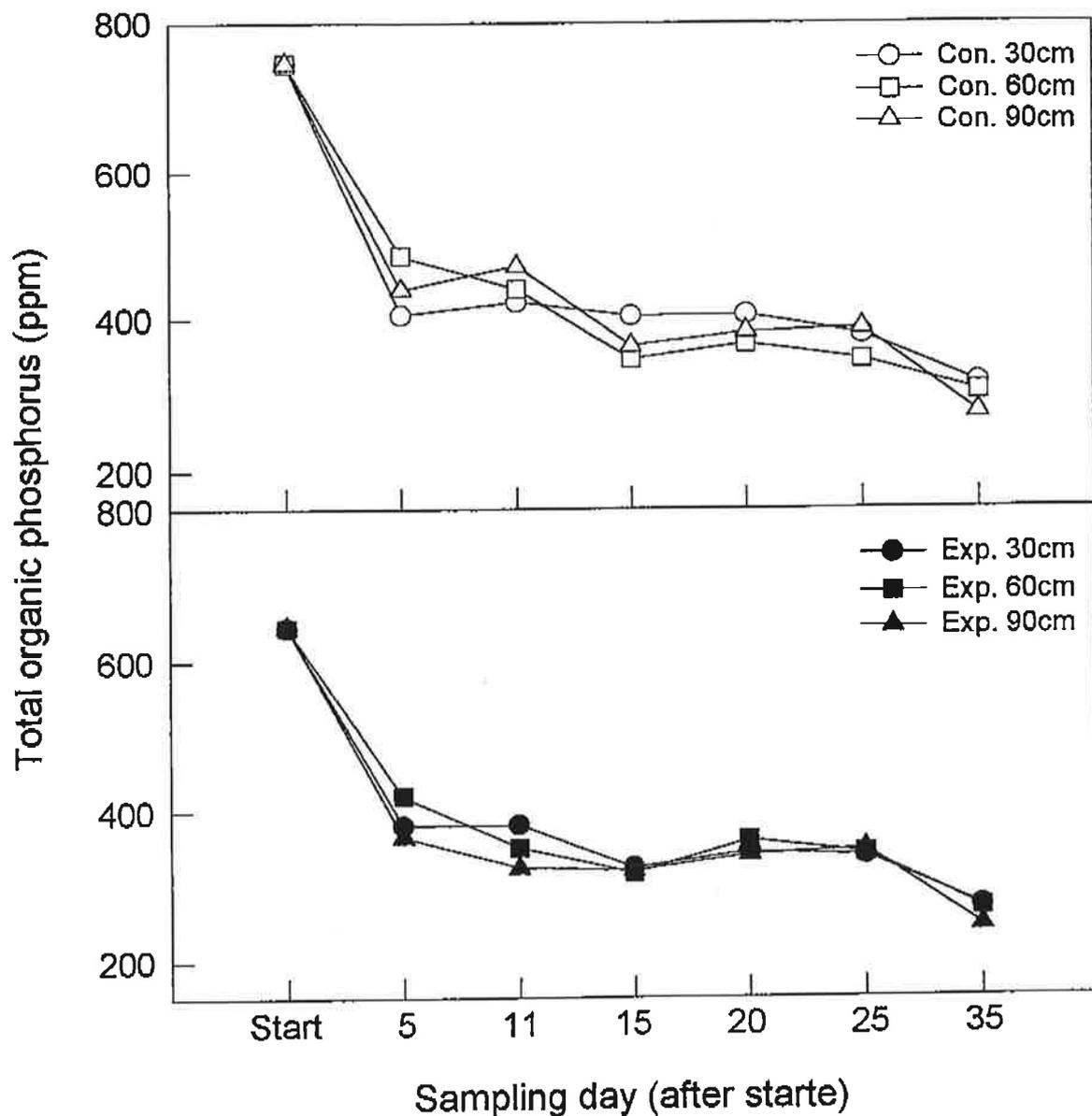


Fig. 3-9. Variation of total organic phosphorus during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

우 1차 온도 상승에 많은 종이 감소를 보였고(12종에서 8종), 2차 온도 상승에는 실험구와 대조구 모두 감소의 경향을 나타내 출현종들이 높은 온도에 매우 민감한 반응을 보이는 것으로 나타났다.

각종 배지별로 출현한 생균수를 측정된 결과는 온도와 시간 변화에 따라 증가와 감소를 반복하는 경향을 나타냈다(Fig. 3-10, 3-11, 3-12). PCA 배지에 나타난 초기의 생균수는 대조구보다는 실험구에서 모든 깊이에서 높게 나타났고, 실험구의 경우는 표층을 제외하고는 거의 일정한 수를 유지하다가 최종 제품에서 다소 높게 나타났다. PDA 배지의 경우는 초기에 대조구에서 약간 높게 나타났고 시간이 지남에 따라 실험구에 나타난 개체수가 증가하는 경향을 나타냈다. SCA의 경우에는 초기에 다소 실험구에 나타난 생균수가 증가하다가 시간이 지남에 따라 깊이별 차이가 생겨났지만 실험구에서는 많은 생균수를 보유하고 있었다.

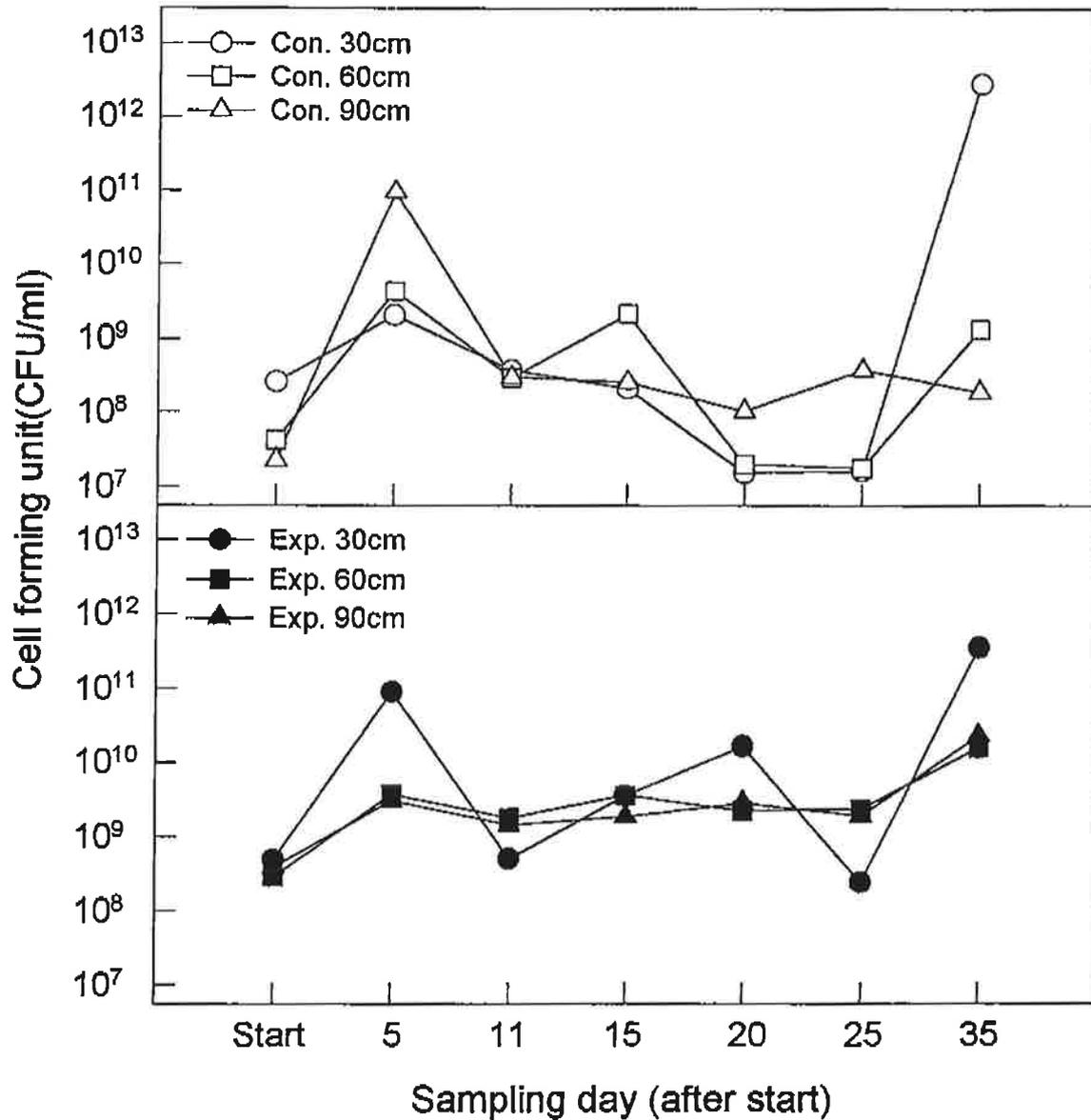


Fig. 3-10. Variation of cell forming unit (CFU/ml) on PCA medium during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

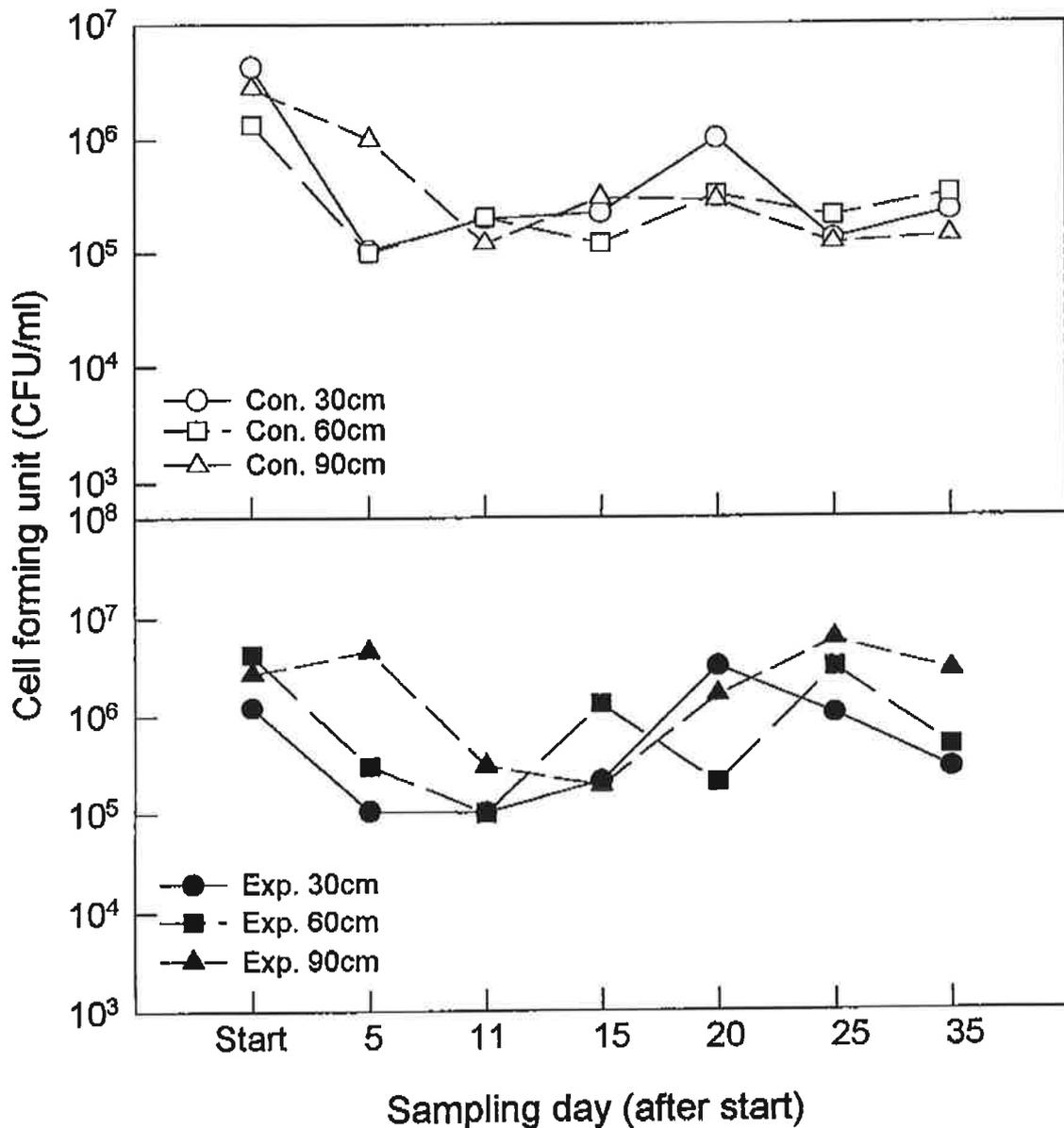


Fig. 3-11. Variation of cell forming unit (CFU/ml) on PDA medium during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

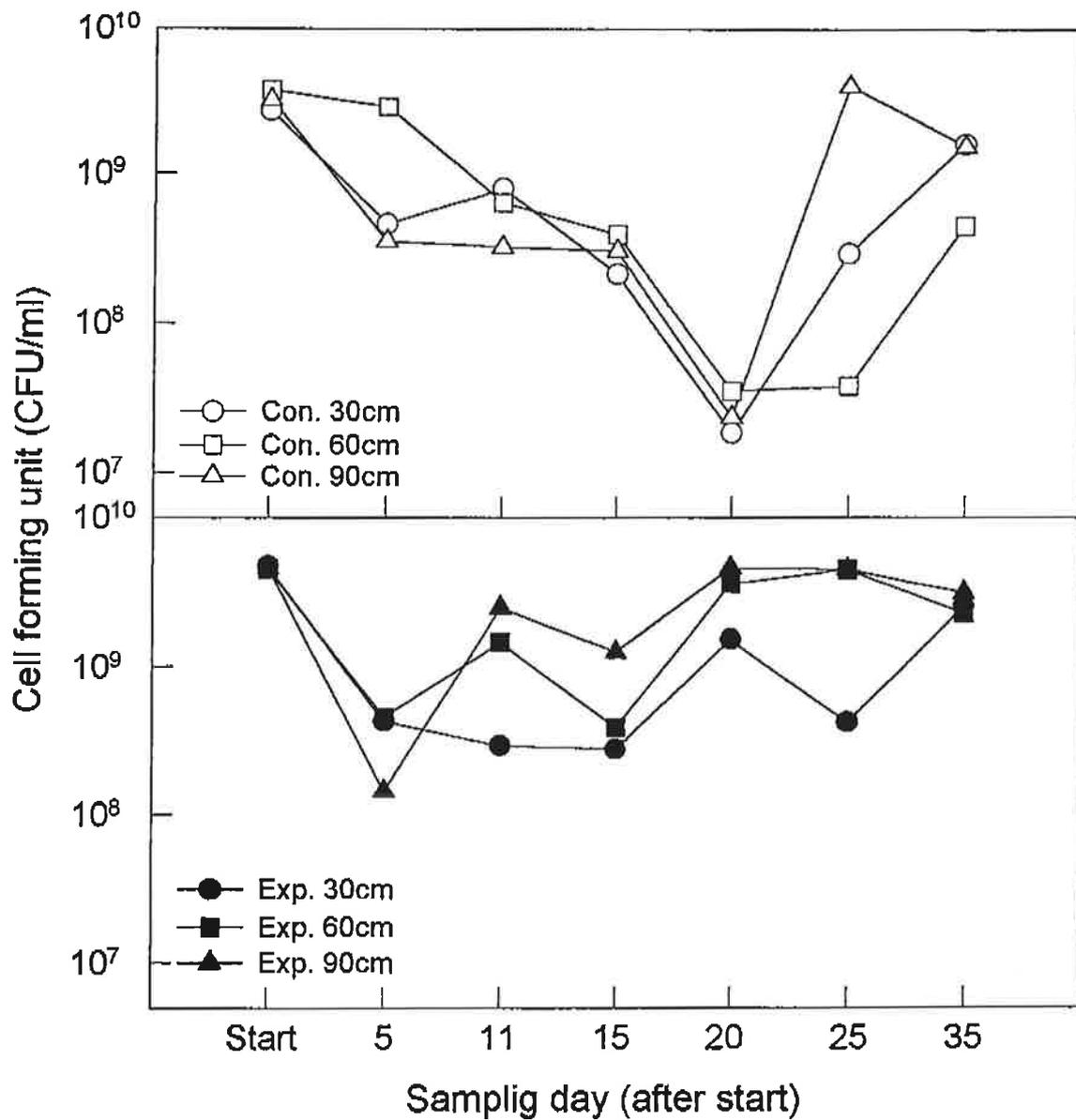


Fig. 3-12. Variation of cell forming unit (CFU/ml) on SCA medium during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

효소활성에 관한 조사에서 온도의 변화가 amylase 활성화에 영향을 주는 것으로 나타났다(Fig. 3-13). 부숙초기의 효소활성은 대조구가 약 495unit로 실험구의 396unit보다 더 높게 나타났지만 1차 온도상승 시기에 실험구가 1137~1355unit로 증가한 반면 대조구는 972~1285unit로 오히려 실험구의 활성을 넘지 못했으며, 그 이후의 온도상승 시점에 이르는 동안은 점진적으로 증가하여 대조구에서는 최고 약 1744unit를 나타냈고 실험구의 경우는 약 1876unit까지 효소활성이 증가되었다. 최종단계에서 대조구는 실험구의 580unit보다 높은 866unit를 나타내 완전부숙이 늦어짐을 보였다.

Cellulase의 활성화는 초기에 실험구가 8.9unit로 대조구의 4.8unit보다 높게 시작되었다(Fig. 3-14). 일차 온도상승 시점에서 cellulase의 활성화는 대조구가 최고 30unit로 나타난 반면 실험구는 38unit로 높게 형성되었고, 이차 온도상승시기에는 대조구보다 5일정도 빠른 시기에 실험구에서 효소활성이 높게 나타나고 5일 후 대조구에서의 cellulase 활성화는 실험구보다 더 높게 나타났다.

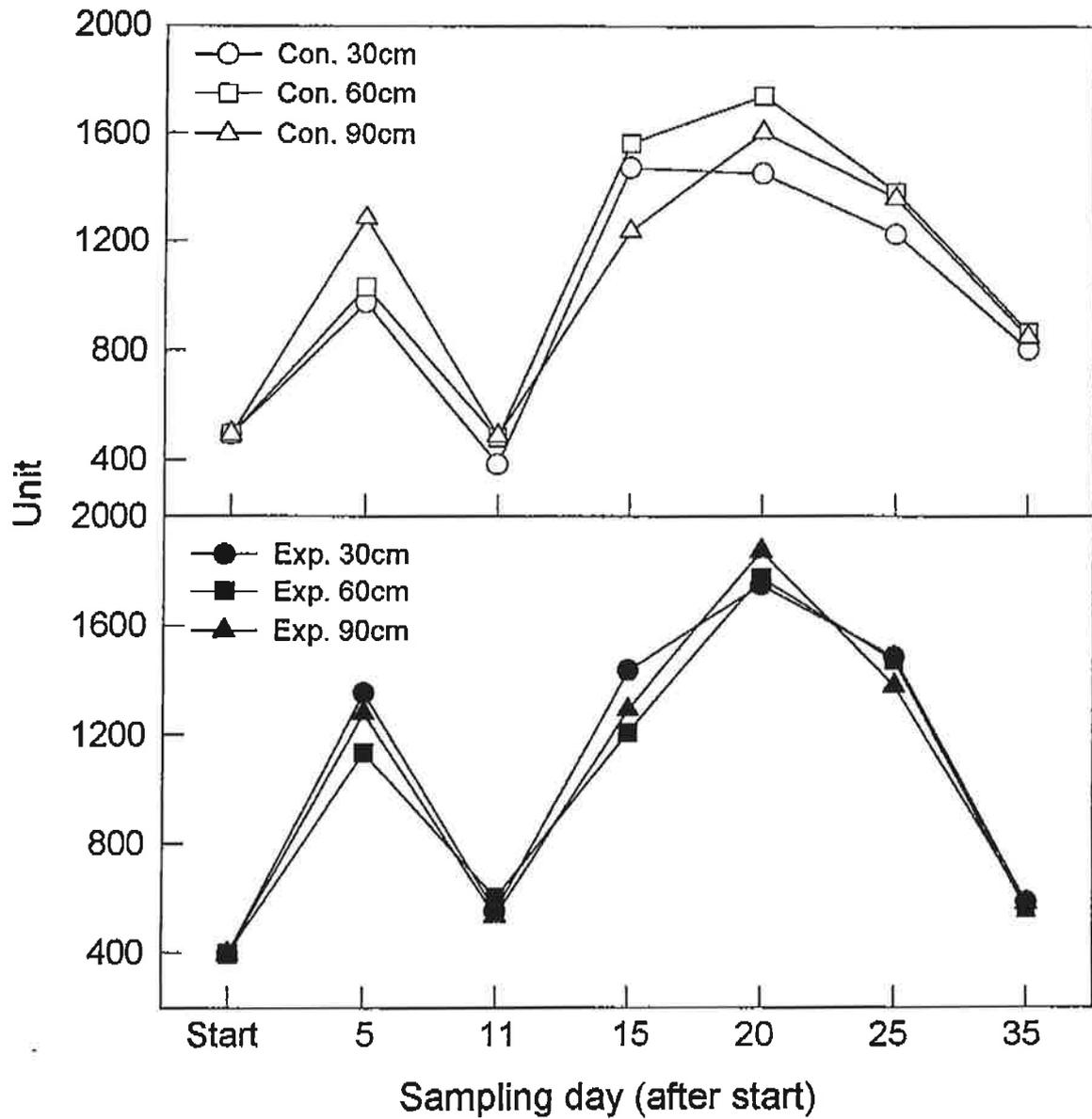


Fig. 3-13. Variation of amylase activity during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

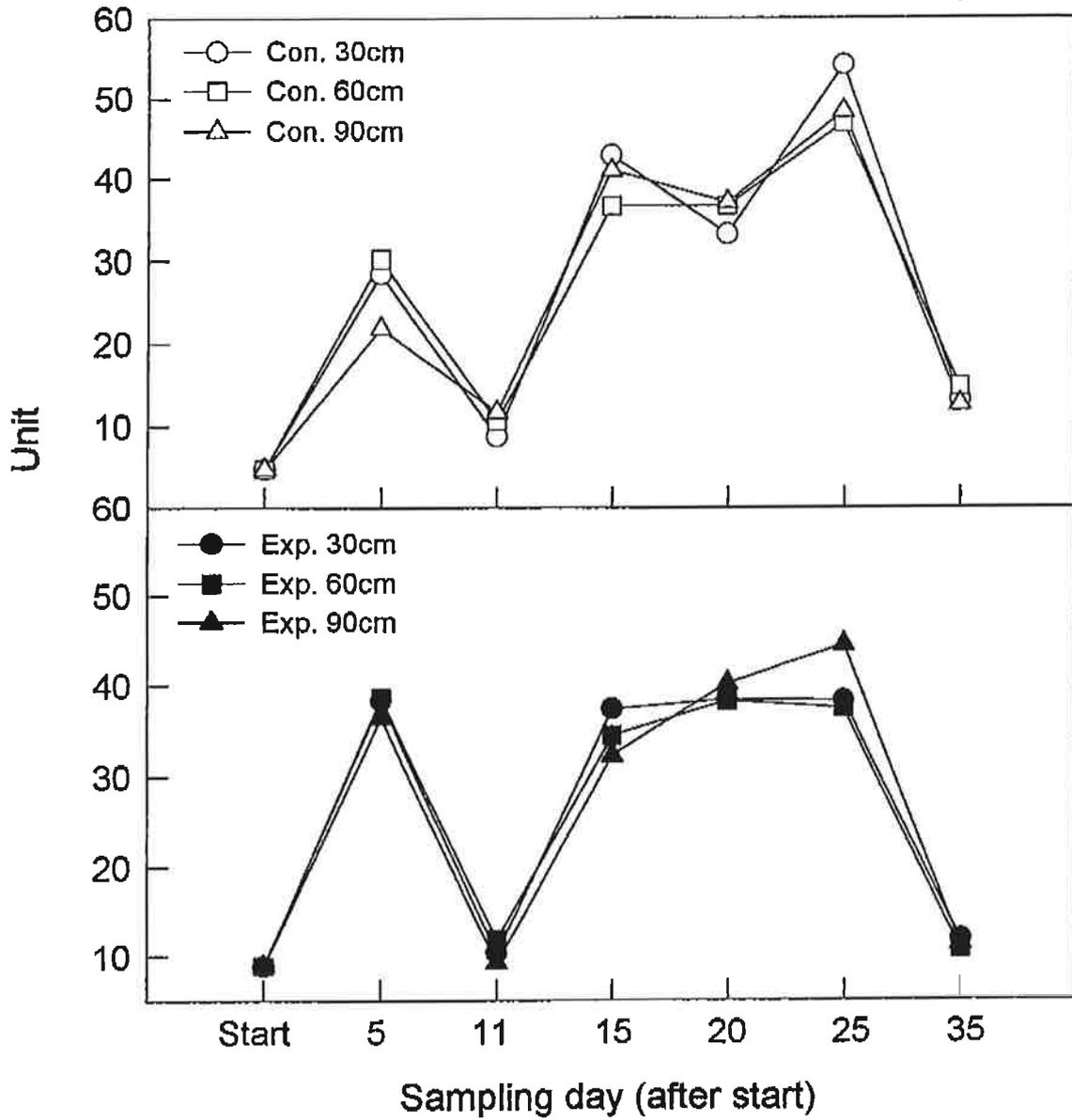


Fig. 3-14. Variation of cellulase activity during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

Protease 활성 역시 온도가 상승하는 경우에 활성이 높게 나타나고 온도가 내려갈 때에는 활성이 둔화되는 것으로 나타났다(Fig. 3-15). 이러한 전반적인 경향을 실험구와 대조구 모두가 잘 나타냈지만, 실험구의 경우는 25일이 지난 후에 30 cm 깊이에서 채취한 시료에서 활성이 저하된 것은 이때의 온도가 높지 않았고 부숙이 거의 끝난 상태의 퇴비가 채취되었기 때문으로 보인다.

본 실험에 사용한 퇴비의 중금속 함유여부를 조사한 결과(Table 3-12)를 일본의 토양기준과 비교할 때 Cd의 경우는 기준치가 0.01 mg/ℓ 인 반면 대조구와 실험구 모두에서 검출되지 않았으며, Cr은 독일 토양기준에 따른 허용치 100 mg/ℓ 보다 매우 낮은 0.40 mg/ℓ 가 검출되었다. Cu의 경우는 독일의 60 mg/ℓ, 일본의 125 mg/ℓ 보다 훨씬 적은 9.40 mg/ℓ 와 8.40 mg/ℓ 가 검출되었다. 유럽연합(EU)의 토양 잠정 정화기준값에 따른 Pb의 허용기준치는 375 mg/ℓ 인데 반해 대조구와 실험구에서 검출된 Pb의 양은 각각 110.00 mg/ℓ 와 120.50 mg/ℓ 로 기준치에 훨씬 밑도는 수치였으며, Zn의 경우는 허용치가 200 mg/ℓ 인 반면 본 실험에 사용된 퇴비의 경우는 대조구 47.20 mg/ℓ, 실험구 31.80 mg/ℓ 로 각각 나타나 허용기준치를 모두 넘지 않은 것으로 나타났다(23).

Table 3-12. The list of detected heavy metals in the compost

	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn
Control (mg/ℓ)	0.00	0.40	9.40	110.00	47.20
Experiment (mg/ℓ)	0.00	0.40	8.40	120.50	31.80

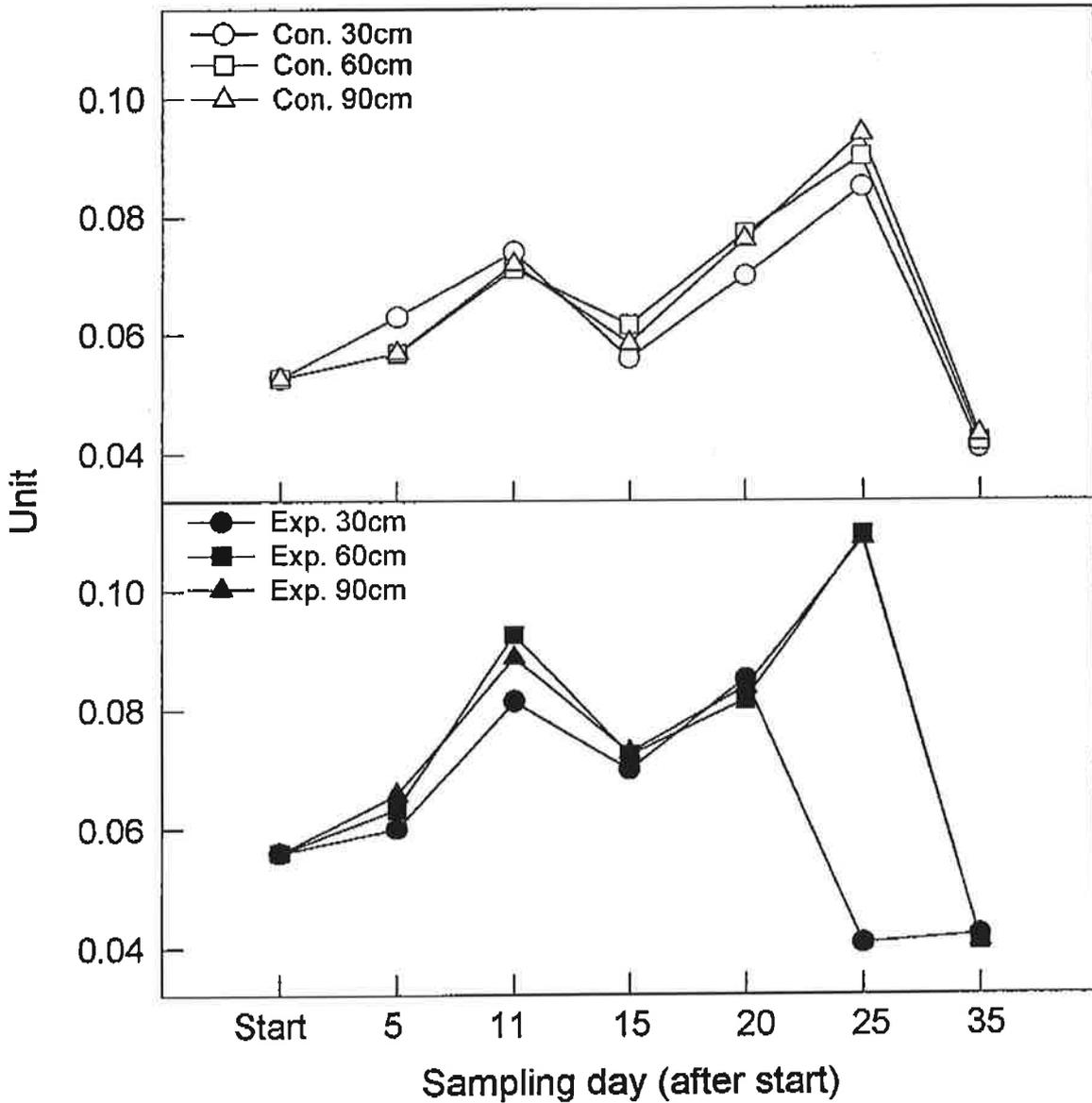


Fig. 3-15. Variation of protease activity during the composting period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

### 3. 작물 검정 및 길항력 검정

#### 가. 멜론을 이용한 작물 검정

멜론 포장실험의 경우 경작을 하지 않은 토양에 온실을 만들고 발아가 된지 1주일 후 온실에 옮겨 심고 지상부의 길이와 잎의 수를 기록하였다 (Fig. 3-16). 지상부의 길이는 30일 이전인 초기 성장에는 큰 차이는 나타나지 않았으나 30~60일 사이에는 약 70~80 mm의 차이가 나타났고 이후에는 그 격차가 다소 감소되었다. 멜론의 경우는 격차가 가장 많이 나타난 시기인 30~60일 사이에 가장 많은 성장을 보이는 것으로 나타났는데 이때의 실험구와 대조구와의 차이는 멜론의 떨어진 잎이나 주변의 잡초제거에서 발생한 부산물들의 부숙을 투여한 미생물이 촉진시킨 경우와 뒤늦게 부숙되는 경우로 경작되었던 토양이었다면 더욱 큰 격차가 일어날 수도 있을 것으로 사료된다.

잎의 수에서는 25~35일 사이에 가장 많은 증가를 보이며 실험구와 대조구가 약간의 차이를 보이며 위에서와 같은 성장기로 나타났다. 하지만 잎의 수에서는 실험구와 대조구가 많은 차이를 나타내지 않아 길이 성장에도 큰 차이를 보이지 않았음을 다시 한번 설명할 수 있게 되고 잎 지름의 경우는 거의 유사한 크기인 100 mm 내외를 유지하였다.

멜론의 개화시기를 비교해 보면 부숙퇴비만을 사용한 경우 31일만에 수꽃이 개화를 하였고 미생물을 투여한 부숙퇴비의 경우는 28일로 3일 빨리 개화하여 동일조건에서도 일반적인 부숙퇴비보다는 부숙미생물을 첨가한 퇴비가 개화에 도움을 주는 약간의 차이를 보였다(Table 3-13). 이러한 미미한 차이는 온실이라는 조건과 기존의 경작토양이 아니라는 면에서 나타난 결과로 보여진다. 특히 멜론 수확에 영향을 주는 암꽃의 경우는 수꽃이 개화한 이후 10~13일 정도 지난 후에 개화하였으며, 실험구와 대조구에서 수꽃에서 보였던 3일보다는 많은 약 6일 정도의 격차를 보였다. 결국 수확에

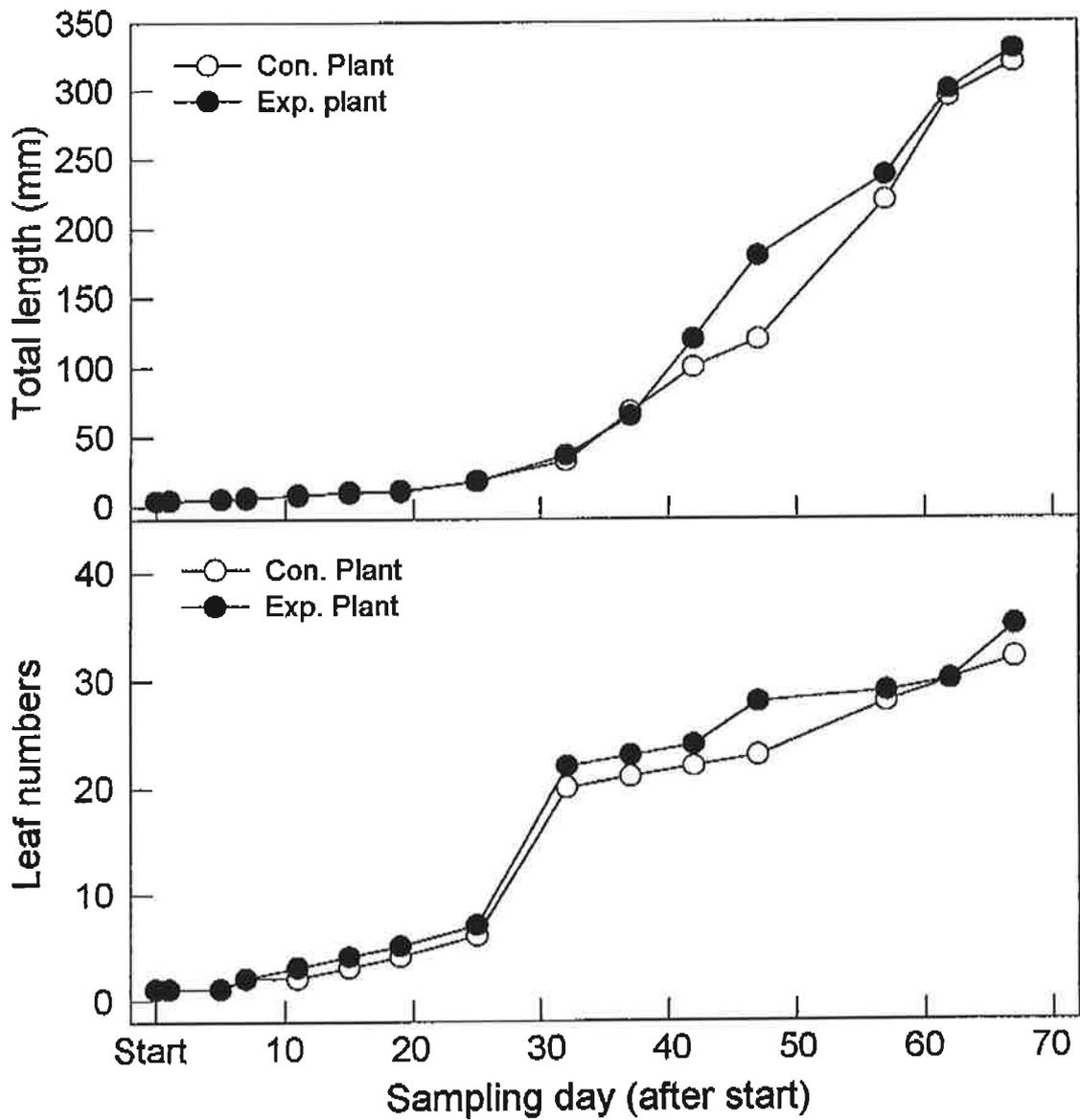


Fig. 3-16. Variation of melon's total length and leaf numbers during the experimental period.

open symbol : none treatment (control)

closed symbol : microbe treatment (experiment).

영향을 미치는 암꽃의 경우가 약 1주일정도 빨리 개화함으로써 일반적인 퇴비보다는 부숙미생물을 첨가한 퇴비가 유용한 것으로 사료된다.

Table 3-13. Flowering time of melon after germination

Item	Control plant	Experiment plant
First flowering time	31 days	28 days
First fistil flowering time	44 days	38 days

#### 나. 고추를 이용한 작물 검정

부숙미생물을 첨가한 퇴비와 일반 퇴비에 대한 비교 실험중 고추의 성장률에 대한 실험은 동일한 크기의 개체만을 골라 실험을 시작하여 각 개체들의 성장을 30일 단위로 측정하였다(Table 3-14).

대조구의 경우 60일까지의 성장률은 하루에 2.7 mm정도 성장하였고 90일경에 최고의 성장률을 보인 이후에는 성장이 크게 둔화되었다. 하지만 실험구의 경우는 60일까지는 4~5 mm/day의 성장을 보여 대조구에 비해 두배의 차이를 나타냈으며 이는 멜론의 성장에서의 차이와는 대조를 이루는 것으로 나타났다. 또 60일 이후에서 90일 사이에는 최고 6.5 mm/day의 성장을 나타내 이 시기가 고추의 생육이 가장 왕성한 것으로 나타났다. 결국 부숙미생물을 투여한 퇴비의 경우가 고추의 경우에는 특히 노상에서 재배하는 경우가 일반적인 부숙퇴비를 사용하는 경우보다 더 좋은 효과를 거둘 수 있는 것으로 나타났다.

Table 3-14. Variation of growth rate of red pepper during the experimental period

Item	10 days	30 days	60 days	90 days	120 days
Control growth (mm)	175	228	311	466	483
Growth rate (mm/day)	0	2.65	2.77	5.17	0.57
Experiment growth (mm)	175	264	423	618	715
Growth rate (mm/day)	0	4.45	5.30	6.50	3.23

부속미생물을 첨가한 퇴비와 일반 퇴비의 비교 실험중 고추의 생육에서 실질적 수확에 영향을 미치는지를 알아보기 위해서 수확량 조사를 실시하였는데 실험구와 대조구에서 많은 차이가 나타났다(Table 3-15).

Table 3-15. Comparison of yield of red pepper

Condition	90 days	120 days	Total
Control (ind.)	282	102	384
Experiment (ind.)	414	788	1202

개체수 : 96개체

수확량 조사를 위해서 부속미생물을 첨가한 퇴비와 일반적인 퇴비에 각각 96개체의 동일한 조건에서 발아시켜 성장한 고추를 노상에 옮겨 심었다. 포장실험을 실시한지 90일이 경과한 후에 모든 개체에서 수확된 고추의 양을 보면 일반 퇴비를 사용한 경우 282개로 실험구의 414개에 68%에 해당되는

수준으로 많은 수확량의 차이를 보이고 있다. 초기성장에서 보여진 바와 같이 60여일이 지난 후부터 그 차이가 크게 나타나는 것과 동일하게 수확량에서도 많은 차이가 발생하였다. 또 120일 후에 다시 수확했을 때에는 각각 102개와 788개로 일반적인 퇴비를 사용한 경우가 부숙미생물을 첨가한 퇴비의 13%에 지나지 않아 그 차이가 계속해서 증가함을 보여줬다. 결국 120일간의 포장실험에서 일반퇴비를 사용한 경우가 부숙미생물을 첨가한 퇴비를 사용한 경작지 수확량의 32%에 그쳐 부숙미생물을 첨가한 퇴비가 고추의 수확에 매우 유효한 것으로 나타났다. 따라서 시간이 경과할 수록 멜론과 더불어 고추에서도 부숙미생물을 첨가한 경우가 일반적인 부숙퇴비만을 사용한 경우보다 작물의 성장이나 수확에 매우 유용하게 작용하는 것으로 나타났다.

부숙미생물을 처리한 퇴비가 고추의 발아에 영향을 주는지를 알아보기 위해 각각 16개체를 이용해 각각의 발아상태를 조사하고 초기성장을 비교하였다(Table 3-16).

Table 3-16. Effect of compost and microbe compost on the germination and growth of red pepper

Condition	Control	Compost	Microbe compost
Growth			
Seeding (ind.)	16	16	16
Germination (ind.)	16	14	13
Germination rate (%)	100	87.50	81.25
Growth (40 days after seeding, mm)	75	73	112
Growth rate (mm/day)	1.875	1.825	2.800

대조구의 경우는 퇴비를 사용하지 않고 발아상태를 조사하였는데 16개체 모두 발아하였고, 일반 퇴비를 사용한 경우는 16개체중 14개체가 발아해 87.5%의 발아율을 나타냈으며 부숙미생물을 첨가한 퇴비에 사용된 16개체중 13개체가 발아하여 약 81.3%의 발아율을 나타냈다. 이러한 결과는 부숙미생물을 첨가한 퇴비가 발아율을 다소 낮추는 영향을 주고 있다고 볼 수 있다. 하지만 발아 후 40일까지의 초기생장을 보면 아무런 퇴비도 사용하지 않은 토양에서 식물의 지상부 길이가 75 mm로 일반적인 부숙퇴비를 첨가한 경우의 73 mm보다 미미한 차이를 나타냈다. 또 하루 성장률을 보면 대조구의 경우는 1.875 mm/day로 나타났고 일반 퇴비를 사용한 경우는 1.825 mm/day로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 하지만 부숙미생물을 첨가한 퇴비를 사용한 경우는 초기생장이 112 mm로 이는 대조구의 초기생장보다 약 50%정도 더 성장한 결과이며 일일 평균 성장률 2.800mm는 대조구보다 약 49%를 초과한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 부숙미생물을 첨가한 퇴비에 직접 씨앗을 파종하는 것보다는 일반적인 토양에서 발아를 시킨 후 초기성장 과정에 옮겨 심는 것이 작물의 성장에 유용한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 고추의 재배에서 발아 후 옮겨 심는 과정과 동일하므로 부숙미생물을 첨가한 퇴비가 해롭게 작용하지 않음을 나타내고 있다.

고추에서 질병의 자연적 감염 여부를 알아보기 위해 길항미생물이나 병원성균을 별도로 처리하지 않고 일반 퇴비와 미생물 부숙퇴비만을 첨가한 상태의 각 pot에 96개체의 고추묘종을 키워 30일 간격으로 120일간 4회에 걸쳐 발병률을 조사하였다(Table 3-17). 대조구(일반퇴비)의 경우 모종 후 30일까지는 2개체만이 질병에 감염되었고, 90일이 지나면서 25개체로 증가하여 전체 모종개체의 약 26%가 감염되었고, 120일이 경과하면서 약 29%의 감염율을 나타냈다. 이러한 결과는 특별한 방제나 발병원이 부가되지 않더라도 30%는 질병에 감염될 수 있다는 것을 나타내고 있다. 하지만 부숙미생

물을 처리한 부숙퇴비를 사용한 실험구는 30일과 60일이 경과한 후에는 오히려 대조구보다 각각 한 개체가 더 많게 나타났지만, 90일과 120일이 경과한 후 질병에 감염된 개체는 대조구보다 약 60%가 더 적은 25개체와 약 57% 더 적은 16개체가 각각 발병하여 시간이 경과할 수록 발병률은 대조구보다 낮게 나타남을 알 수 있다. 이러한 결과는 다른 요인이 관여하지 않았다면 부숙미생물을 처리한 부숙퇴비가 일반퇴비보다 고추의 발병률은 시간이 지남에 따라 억제되고 있음을 보이는 것이다.

Table 3-17. Aattack rate of red pepper grown with or without antagonic microbe

Condition	10 days	30 days	60 days	90 days	120 days
Control (96 individuals)	0.00	2.00	5.00	25.00	28.00
Attack rate (%)	0.00	2.08	5.21	26.04	29.17
Experiment (96 individuals)	0.00	3.00	4.00	15.00	16.00
Attack rate (%)	0.00	3.13	4.17	15.63	16.67

고추의 초기생육에서 길항미생물을 처리하였을 때 어떤 영향을 주는지 알아보기 위하여 부숙퇴비를 사용하지 않은 pot-용 토양에 파종 전에 길항미생물을 처리하고 파종 후 40일이 지난 개체들에 대해 지상부의 길이와 일일 성장률을 계산하였다(Table 3-18). 부숙퇴비와 길항미생물을 처리하지 않은 대조구의 경우는 가장 높은 81mm의 성장과 2.03 mm/day의 성장률을 나타낸 반면 길항미생물 202를 처리한 개체의 성장도를 보면 78 mm로 성장률이 1.95 mm/day로 가장 작았고, SC2220의 경우는 79 mm 성장하여 1.98 mm/day의 성장률을 나타냈다. 길항미생물 509를 처리한 결과는 대조구와 같은 성

장을 보였으며 세 가지의 길항미생물을 혼합하여 사용한 경우는 80 mm 성장에 2.00 mm/day의 성장률을 기록해 고추의 초기성장에 영향을 적게 미치는 509나 세 균주를 혼합하여 사용하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

Table 3-18. Growth and growth rate of red pepper treated with each microbe

Item	Microbe				
	202	509	SC 2220	M*	Control
Growth (40 days after seeding, mm)	78.0	81.0	79.0	80.0	81.0
Growth rate (mm/day)	1.95	2.03	1.98	2.00	2.03

\*M: mixture of microbe 202, 509, and SC2220

부숙퇴비만을 pot용 토양과 1 : 1 비율로 혼합하여 대조구로 이용하고 고추역병균과 부숙퇴비를 혼합하여 사용하는 경우와 길항미생물과 부숙퇴비를 혼합하여 사용하는 경우, 그리고 고추역병균+길항미생물+부숙퇴비를 혼합하였을 때 발아율에 어떠한 영향을 주는지, 그리고 초기성장에 지장을 주는지를 조사하였다(Table 3-19). 대조구의 경우 발아율은 36개체를 파종한 결과 30개체가 발아하여 83.3%의 발아율을 나타냈고, 고추역병균과 부숙퇴비를 혼합한 경우는 36개체중 19개체만이 발아가 일어나 52.8%의 발아율을 나타냈다. 길항미생물과 부숙퇴비를 혼합하여 조사한 결과는 36개체중 35개체가 발아하여 가장 높은 97.2%의 발아율을 나타냈으며 세 가지를 모두 혼합한 경우는 36개체중 34개체가 발아하여 94.4%의 발아율을 보여 길항미생물을 처리한 토양이 발아율을 증대시킴을 알 수 있다. 또 성장률의 경우 부숙퇴비와 길항미생물을 혼합한 경우가 가장 높은 4.53 mm/day로 나타났고 다음으로는 대조구로 4.48 mm/day로 나타났으며, 세가지를 혼합한 경우는

3.45 mm/day, 고추역병균만을 처리한 경우가 가장 낮은 1.98 mm/day로 나타나 길항미생물을 포함하는 경우가 대조구와 유사하며 역병균의 투여는 발아와 생육에 많은 영향을 미치는 것으로 나타나 길항미생물을 혼합하여 파종하는 것이 유리한 것으로 판단된다.

Table 3-19. Germination and growth with a mixture of compost and pathogenic microbes

Item	Compost	C + PM*	C + AM**	C + PM + AM
Seeding	36	36	36	36
Germination	30	19	35	34
Germination rate (%)	83.33	52.78	97.22	94.44
Growth (40 days after seeding, mm)	179	79	181	138
Growth rate (mm/day)	4.48	1.98	4.53	3.45

\*PM: Pathogenic Microbe, \*\*AM: Antagonic Microbe

발아과정에서 길항미생물이 역병균을 억제하는지는 앞서 본 바와 같고, 성장과정중에 길항미생물이 투여됐을 때의 영향을 알아보기 위해 발아 후 40여일이 지난 개체들에 역병균과 길항미생물을 처리하여 5일 경과 후 조사된 생존률은 Table 3-20과 같다. 대조구는 역병균과 길항미생물 모두를 처리하지 않은 상태로 16개체중 15개체가 생존하여 자연생존률은 93.8%로 나타났다. 반면 발아 후 40일이 지난 개체들에 역병균을 처리한 처리구에서는 3회 평균 생존률이 16.7%로 나타나 성장중에 감염되면 더 큰 피해를 주는 것으로 나타났다. 길항미생물을 투여하는 방법에 두 가지 방법을 이용하였는데 하나는 입자상으로 만들어 사용하였고 다른 하나는 액체상태로 살포

하였다. 입자상태로 살포한 경우 3회 평균 생존률은 60.4%로 최고 75%까지 생존률이 높은 경우도 있었다. 액화상태로 살포한 경우는 평균 52.1%로 나타났다고 최고 62.5%의 생존률을 기록해 입자상태의 평균치와 유사한 결과가 나타나 입자상태보다 효율이 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 3-20. Survival rate of red pepper examined at 5 days after treatment of a mixture of pathogenic and antagonic microbes.

Red pepper was grown for 40 days

Item	Control		PM*		PM + PAM**			PM + LAM***	
Beginning (individuals)	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Survival (individuals)	15	0	4	4	8	9	12	8	10
Survival rate (%)	93.8	0.0	25.0	25.0	50.0	56.3	75.0	50.0	62.5
Av. survival rate (%)	93.8		16.7		60.4		52.1		

\*PM: Pathogenic Microbe, \*\*PAM: Particular Antagonic Microbe,

\*\*\*LAM: Liquid Antagonic Microbe

결국 고추역병균은 성장과정중에 감염되면 많은 피해를 주고, 역병균과 길항미생물이 동시에 투여된다면 더욱이 길항미생물을 입자상으로 만들어 살포하면 좋은 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

또 발아 후 50일이 지난 고추 모종에 고추역병균이 먼저 살포된 이후 2일 후에 길항미생물을 살포하고 5일 후에 조사된 생존률은 Tble 3-21과 같다. 먼저 역병균만을 처리한 경우는 평균 27.1%의 생존률을 나타냈고, 입자상으로 만들어진 길항미생물을 살포한 경우는 최고 87.5%의 생존률과 평균 81.3%의 생존률을 보였고, 입체상태의 길항미생물을 투여한 결과는 최고

68.8%의 생존률을 나타냈고 58.3%의 평균 생존률을 나타내 감염 후에도 길항미생물을 입자상태로 만들어 살포하는 것이 액체상태보다 약 20% 이상의 생존률 상승효과를 볼 수 있는 것으로 사료된다.

Table 3-21. Survival rate of red pepper examined at 5 days after treatment of pathogenic microbes and then antagonistic microbes 2 days later.

Red pepper was grown for 50 days

Item	PM*			PM + PAM**			PM + LAM***		
Beginning (individuals)	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Survival (individuals)	4	5	4	11	14	14	8	11	9
Survival rate (%)	25.0	31.3	25.0	68.8	87.5	87.5	50.0	68.8	56.3
Average survival rate (%)	27.08			81.25			58.33		

\*PM: Pathogenic Microbe, \*\*PAM: Particular Antagonic Microbe,

\*\*\*LAM: Liquid Antagonic Microbe

## 제 4 절 결론

지금까지의 실험을 통해 축산폐기물 고형분의 분해 촉진을 위한 미생물의 선별과 선별된 미생물을 이용한 부숙과정의 단축을 조사하였으며, 이를 작물에 시비하여 작물의 성장도를 비교 조사하였고, 역병균에 대한 활성이 높은 길항미생물을 선별하고, 이를 부숙퇴비와 혼합하여 시비한 결과를 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 연작토양 및 시설 재배토양으로부터 공시균주 *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* 모두에 길항작용을 나타내는 SC2214, SC2218균을 길항미생물로 최종 선별하였다.

2. 높은 효소활성(cellulase, amylase, protease, lipase)과 고온(80°C)에도 내성을 갖는 K116, K215, K324균주를 부숙 촉진 미생물로 선별하였다.

3. SC2214는 Gram 양성으로 spore를 형성하는 *Bacillus pumillus*와 유사한 특성을 나타내 이를 *Bacillus pumillus* SC2214로 명명하였고, SC2218은 Gram 음성의 편모를 가지고 있으며 *Pseudomonas* 속과 유사한 특성인 oxidase 양성반응을 나타냈다. 또한 부숙활성 균주로 분리된 K116, K215, K324의 3개 균주는 모두 그람양성의 *Bacillus* 속의 특징을 나타내었다

4. 길항미생물과 부숙활성 미생물의 제형화를 위해 토양개량제로 쓰이고 있는 vermiculite, zeolite 등의 규산질 무기광물을 담체로 선정하였으며 적정 혼합비율을 결정하였고 (zeolite 1 : vermiculite 1), viability를 조사한 결과 안정적인 균종수 및 균체밀도를 유지하는 것으로 조사되었다.

5. 축산폐기물인 돈분의 성상은 생돈분의 경우 TOC 38%, T-N 1.96%, T-P 1.21%, K 118 mg/l, Ca 16 mg/l로 조사되었다.

6. 실험실 규모의 Pilot (50×50×70 cm)에 돈분과 톱밥을 1 : 1 비율로 조합

한 대조구와, 돈분과 톱밥을 조합한 것에 고정화된 미생물담체를 1 : 1 : 0.1의 비율로 첨가한 실험구로 부숙기간은 4개 처리구 모두 20-25일이 소요되는 것으로 조사되었고 실험구에서 초기온도가 가장 높게 나타났으며 pH는 중성영역에서 약알칼리영역으로 또한 C/N율이 가장 낮은 것으로 나타났다.

7. Pilot 실험의 결과를 토대로 대규모 양돈단지를 대상으로 실제 부숙활성 미생물을 대규모 축산폐기물 퇴비구에 투입한 결과 실험구의 미생물 초기 활성이 대조구에 비해 높게 유지되었으며 대조구에 비해 온도 변화의 폭이 크지 않음을 알 수 있었다.

8. pH 변화는 대조구와 실험구 모두 pH 9에서 시작하여 pH 8로 완만하게 진행되었으며 부숙이 완료된 시점에서 실험구만 약산성으로 진행되었다.

9. 함수율은 퇴적깊이에 상관없이 거의 일정한 감소율을 나타내었으나 실험구가 대조구에 비해 함수율 감소가 빠르게 나타났다.

10. 부숙기간동안 화학적 성상 변화는 TOC의 경우 퇴적깊이에 크게 영향을 받지 않았으며 대조구와 실험구의 TOC 감소경향은 거의 유사한 양상을 나타내었다. 총질소와 총인은 대조구와 실험구 모두 부숙초기 5일간 급격한 감소현상을 나타내고 이후에는 거의 안정된 양상을 나타내어 결국 부숙초기에 질소와 인산이 biomass로 전환한 것으로 판단할 수 있다.

11. 부숙기간중의 효소활성의 변화는 amylase와 protease의 경우 부숙기간 중 고온보다 중온으로 이행되는 시기에 높은 활성을 유지하는 것으로 조사되었고 대조구에 비해 실험구의 경우 단위활성이 높게 조사되었으며, cellulase의 경우 대조구는 amylase의 활성변화와 유사한 양상을 나타내고 있으나 실험구의 경우 고온에서도 높은 활성을 유지하는 것으로 조사되었다.

12. 부숙기간중 진균성 병원균에 대한 길항력의 존재 유무를 조사한 결과 부숙시간이 경과할수록 항균활성이 거의 나타나지 않는 것으로 조사되었으며, 완숙된 퇴비에 재차 길항미생물 담체를 첨가하여 작물의 pot재배로 조사한 결과 병원균에

감염된 작물의 발아율에서 약 50%정도의 높은 활성을 나타내었으며 발병률에서 약 25%의 감소율을 나타내었다.

13. 부속활성미생물과 길항미생물을 이용한 기능성 퇴비에 대한 작물의 생육 정도와 발병률등 비효 및 비해의 정도를 조사한 결과 고추, 멜론 등의 생육정도는 관행비료와 큰 차이는 없었으나 초기발육이 양호한 것으로 조사되었으며, 생육 기간중 작물에 대한 병해발생이 거의 나타나지 않아 관행처리구와 비교 검토하기 어려웠다.

## 제 5 절 참고문헌

1. Levi-Minzi, R. and R. Riffaldi. 1988. Chemical differences between fresh and composted municipal waste. *Agricoltura Mediterranea* 188: 273-279.
2. 임동규, 심제성. 1991. 우분의 유기질 비료화 연구 I. 부숙조건에 관한 연구. *한토비지* 24: 130-136.
3. Julia M. D., J. R. Hanson, and A. Truneh. 1995. Metabolites of some biological control agents. *Pestic. sci.* 44: 389-393.
4. 김충희, 지형진, 박경석, 이은종. 1990. 고추역병에 대한 생물학적 방제연구 V. 길항균의 농가포장 시용효과. *한국식물병리학회지* 6: 201-206.
5. Wilson, D. G. 1977. Handbook of soil waste management. Van Nostrand Reinhold Co., New York. pp. 197-225.
6. 배두, 고영희, 김문석. 1981. 퇴비부식에 관한 연구. *한국과학기술원* pp. 1-57.
7. 임동규, 문윤호, 심제성, 우기대. 1991. 우분의 유기질 비료화 연구 II. 속성 부숙방법. *한토비지* 24: 192-199.
8. Zucconi, F., A. Pera and M. Forte. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle*. 5: 54-57.
9. Cowan, S. T. 1974. Manual for the identification of medical bacteria - 2ed edition. Cambridge University Press, London.
10. Noel, R. K. and J. G. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. Chrometzka, P. 1968. Determination of the oxygen requirement of maturing compost. International Research Group on Refuse Disposal, Inf. Bull. No. 33.

12. Anon. 1993. Composting Facility Operating Guide. The Composting Council Alexandria, Verginia.
13. Riffaldi, R., R. Levi-Minzi, A. Pera, and M. de Betoldi. 1986. Evaluation of compost maturity by means of chemical and microbial analysis. *Waste Management & Reserch* 4: 387-396.
14. Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeny. 1978. Method of soil analysis Part II. *Inc.*, Madison, Wisconsin.
15. Black, C. A., D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger and F. E. Clark. 1965. Methods of soil analysis Part II. *Amer. Soc. Agron. Inc.*, Madison, Wisconsin.
16. Heck, A. F. 1929. A method for the determination of total carbon and also for the estimation of carbon dioxide evolved from soils. *Soil Sci.* 28: 225-232.
17. Bremner, J. M. 1960. Determiration of nitrogen in soil by Kjeldahl method. *J. Agr. Sci.* 55: 11-33.
18. Jackson, M. L. 1958. Soil chemical analysis. Constable and Company Ltd., London.
19. Bray, R. H. and L. T. Kurtz. 1945. Determiration of total organic and available form of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.
20. Fraps, G. S. 1906. Availability of phosphoric acid of the soil. *J. Amer. Soc. Agron.* 28: 823-834.
21. Tabatabal, M. A. 1982. Soil enzymes. In A. L. Page (ed.) Method of Soil Analysis Part II. *Agr. Amer. Sci. of Agr.* p. 903-947
22. Burns, R. G. 1978. Soil Enzymes, Academic Press, New York.
23. 한국환경보호협의회. 1996. 환경 대백과·총람 (지구환경·자연생태·환경오염). 이조기획, 서울.

## 제 4 장 축산폐기물의 탈취

### 제 1 절 서론

#### 1. 연구의 배경

최근 남해안에서 일어나는 적조 현상이 가축분뇨에 의해 생긴다는 보도가 있었다. 무책임하게 방류된 가축분뇨에 함유된 유기물이 강의 정화 능력을 초과하여 그대로 바다에 유입되기 때문에 바다물 속에 유기물이 다량으로 포함되고 그로 인해 용존 산소의 양이 감소하여 물고기가 폐사하게 된다. 가축분뇨는 이와같이 수질 오염을 야기시킬 뿐만 아니라 대기 또한 오염시켜 혐오감을 유발하고 국민 건강에 악영향을 미치고 있다. 대기 오염의 문제는 돼지 사육이 점차 대 규모화 되어가고 있으며 또한 실내에서 이루어지는 경향으로 나아가고 있어 더욱 심각해 질 것으로 예상된다. 돼지분뇨가 혐기상태에서 발효되면 유독성 가스가 발생하여 돼지 및 축사 관리인들의 호흡기에 심각한 질환을 일으킬 수 있다. 또한 NIMBY (Not In My Back Yard)현상이 두드러져가는 상황에서 악취에 대한 적절한 대처 없이는 기존 축사의 계속 사용 및 새로운 입지선정에도 많은 제약을 받게 될 것이다. 이미 구미 등에서는 이러한 문제점을 인식하고 환경 보호국 (EPA)을 중심으로 축산 폐기물의 악취를 통제하기 위한 보다 강력한 규정이 실시되고 있다.

#### 2. 연구목적

폐쇄된 돼지 축사에서 발생하는 가스중에서 황화수소와 암모니아가 가장 유독하다. 특히 황화수소는 돼지분뇨 저장시 발생하는 가장 유독한 가스이다. 이러한 문제를 해결하고자 하는 현존하는 방법중에는 화학적인 처리

로 황화수소를 생성하는 미생물의 성장을 억제하는 방법, 호기처리에 의해 황화수소를 발생시키는 혐기 세균의 성장을 억제하는 방법, 그리고 biofiltration이 있다. 화학적인 처리법은 사용하는 화학물질에 의한 추가 환경 피해가 우려되어 바람직한 방법이 아니다. 호기처리에 의한 방법은 공기(산소)의 공급을 충분히 해야 하므로 소모가 높은 단점은 있으나 단시간 내에 효과적으로 돼지분뇨를 처리할 수 있는 장점이 있다. 기존의 탈취방법은 크게 활성탄 흡착, 약액세정, 연소 등 물리화학적 처리와 토양탈취, 포기층탈취등 생물학처리로 나눌 수 있다. 물리화학적인 탈취방식은 악취의 부하변동에 대응하기 쉽다는 장점을 가진 반면, 설비비가 비싸며 활성탄, 약액, 연료 등 소모성 재료를 필요로 하며, 소모된 재료의 재생, 2차처리의 필요 등 기술적 경제적인 면에서 불리한 점을 안고 있다. 생물탈취는 물리화학적 탈취에 비해 유지관리가 용이하며 운영비가 싸다는 장점을 갖고 있어 물리화학적 처리의 대체기술로서 주목되고 있다. 그러나, 기존의 생물탈취방법은 설치면적 및 압력손실로 인한 동력비의 증가, 처리용량의 제한 등의 문제점을 안고 있다.

이에 본 위탁과제의 연구개발 목표는 anaerobic digestion 및 composting 처리에 의해 발생하는 가스중에서 특히 인간과 돼지에게 모두 유해한 황화수소와 암모니아 혼합가스를 제거하기 위해 경제적이며 가볍고 신축성 및 보수성이 양호하며 재생이 용이하고 특히 황화수소에 대한 제거 능력이 높은 활성탄 섬유를 이용하여 탈취 column을 제작하고 활성탄 섬유 내의 수분의 영향, 주입가스종의 악취가스(황화수소 등)의 농도 및 주입속도의 영향 그리고 온도의 영향을 연구하여 보다 최적의 탈취 효과를 얻을 수 있는 조건을 찾아내어 효과적으로 악취가스를 제거하여 국민건강에 악영향을 미치지 않도록 하여 수질오염과 대기오염의 문제를 저지시키는데 본 연구의 목표가 있다.

### 3. 연구방향

탈취용 매질로는 토양에서부터 peat, 세라믹, 활성탄섬유에 이르기까지 다양하게 연구되고 있다. 그 중 활성탄 섬유는 최근 연구되고 있는 새로운 탈취재료로서 가볍고 신축성 및 보수성이 양호하며 재생이 용이하기 때문에 유지관리비가 저렴하고, H<sub>2</sub>S 에 대해 높은 제거능력이 있을 뿐만 아니라 미생물 성장재료로서도 양호한 것으로 보고되고 있다.

활성탄섬유를 이용한 탈취 연구사례는 그다지 많지 않으며 아직은 고밀도의 단일 악취성분에 대한 활성탄섬유 제거특성을 조사한 정도의 연구가 진행되어 있다. 활성탄 섬유에 의한 H<sub>2</sub>S 제거 특성을 보면 유입농도 200ppm, 부하 11.01 g-H<sub>2</sub>S · kg-dry ACF<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, SV 100h<sup>-1</sup>에서 주입시킨 H<sub>2</sub>S 단독가스는 1.5 개월 이상 유효하게 제거되었다고 한다. 활성탄에서는 H<sub>2</sub>S가 미세공내에 무기 황 형태로 축적되는 것이 일반적이나 활성탄섬유에서는 H<sub>2</sub>S가 온도, 습윤 상태에서 pH 저하와 함께 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 까지 산화되었다고 한다. 또한 흡착능이 상실된 활성탄 섬유를 물로서 세정시킨 결과 pH와 H<sub>2</sub>S 제거능력이 회복되었다고 한다.

본 연구의 착안점인 습도와 주입속도와 농도 그리고 온도의 영향을 기본으로 하여 문헌에서 나오는 건조상태와 습윤상태를 비교 연구하였으며 주입 속도의 영향을 알아보기 위하여 공간속도 900h<sup>-1</sup>에서 100h<sup>-1</sup>로 변화시키면서 실험하였다. 온도의 영향은 water jacket을 이용하여 15, 25, 35℃로 각각 고정하여 실험하였다.

## 제 2 절 실험방법

H<sub>2</sub>S 156ppm(in N<sub>2</sub>) 와 NH<sub>3</sub> 112ppm(in N<sub>2</sub>)을 각각 포함한 두개의 gas bomb에서 나오는 gas를 air로 희석하여 2차의 mixing chamber를 통과시킨 후 유입농도를 H<sub>2</sub>S 15ppm, NH<sub>3</sub> 20ppm으로 반응기내에 주입시켰다. 반응기는 이중관으로 내부의 glass column(25mm $\phi$ ×250mmHg)내에는 활성탄 섬유(日本 Carbon Co. F-20) 4g을 단로류의 발생확률과 압력손실을 줄이기 위해 10mm×10mm로 잘라서 105g/l의 밀도로 충전시켰다. 반응기 외부에는 이미 setting된 온도의 water로 circulation을 통해 반응기 내부온도를 25℃로 유지시켰다. 반응기에 유입되는 혼합가스의 유량은 900mL/min으로 하여 공간속도는 900h<sup>-1</sup>으로 하였으며 100mL/min의 유량으로 공간속도 100h<sup>-1</sup>의 실험을 하였다. 습윤상태와의 비교를 위해 먼저 건조상태로 실험을 하였고 후에 습도를 증가시키면서 습윤상태의 실험을 수행하였다.

본 연구에 관한 장치도와 설명은 다음과 같다.

### 1. make-up gas 만들기

황화수소 156ppm(in N<sub>2</sub>), 암모니아 113ppm(in N<sub>2</sub>)의 gas bomb를 표준 과학 연구소에서 제작하였으며 이를 air로 희석하여 H<sub>2</sub>S 28ppm, NH<sub>3</sub> 20ppm으로 mixing chamber에 주입한다.

→ Fig. 4-1의 장치# 1~5

2. 2차의 mixing chamber를 통과시켜 완전 혼합 gas를 만든다. 두 번째 mixing chamber 는 glass beads를 packing했다. → Fig. 4-1의 장치# 6,7

3. 활성탄섬유를 채운 반응기는 내부온도 유지를 위해서 이미 setting된 온도의 water로 외부의 circulation을 통해 항온을 유지하고 내부의 온도측정을 위해 sensor를 장착했다. 습식과 건식의 비교를 위해 처음 실험은 물을 통과시키지 않고 수행하고 다음은 물을 주입하여 분사되도록 장치를

setting 했다. → Fig. 4-1의 장치# 8~13

4. 최종배출구를 GC와 연결시키기 위해 gas와 liquid의 분리가 필요하다. 이 작업을 위해 2차에 걸친 condenser 장치를 제작하였다. → Fig. 4-1의 장치# 14

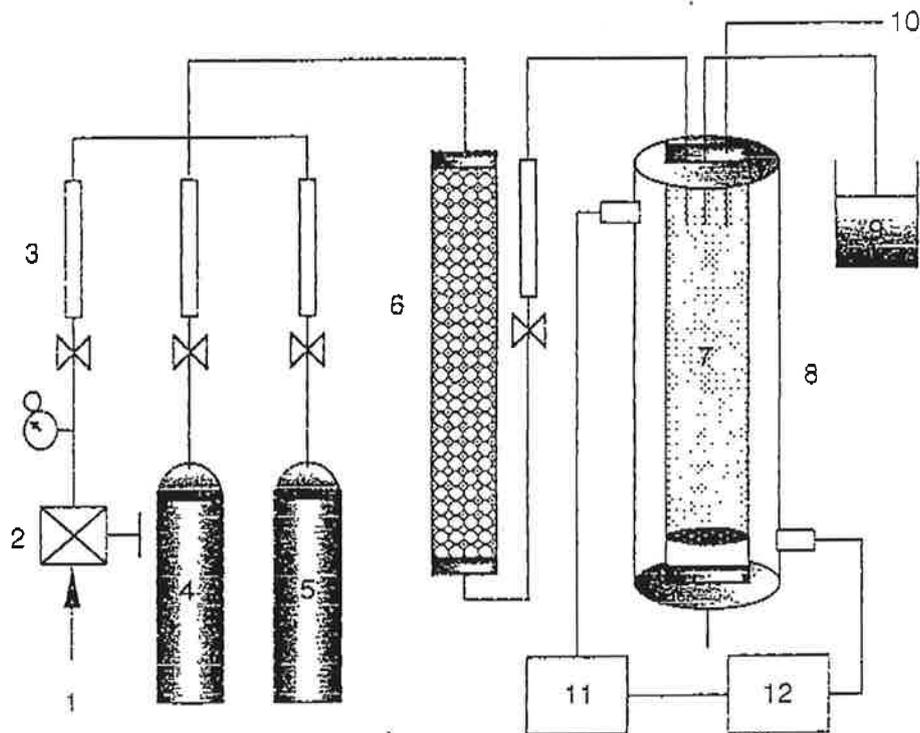
5. 활성탄 섬유(日本 Carbon Co. F-20)는 短路流의 발생확률과 압력손실을 줄이기 위해 1cm × 1cm 잘라서 칼럼내에 충전시켰다. → Fig. 4-1의 장치# 8

6. 분석은 Thermal conductivity detector를 이용한 Gas chromatography (GC-TCD)를 사용하며 column의 packing material은 HAYESP, P 60-80mesh를 고정시킨 것을 사용하여 탈취입구와 출구에서의 sampling을 통해 농도변화를 비교분석한다.

7. 실험에 사용할 제반조건은 아래 Table 4-1에 표시되어 있다.

Table 4-1. Experimental condition for the removal of H<sub>2</sub>S and NH<sub>4</sub>

유입가스	충전무게 (g)	충전높이 (cm)	충전밀도 (g/l)	유량 (ml/min)	공간속도 (h <sup>-1</sup> )	유입농도 (ppm)	함수비 (%)
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	900	900	15+20	0
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	900	900	15+20	50-90
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	500	500	15+20	0
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	500	500	15+20	50-90
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	100	100	15+20	0
H <sub>2</sub> S+NH <sub>3</sub>	4	10	105	100	100	15+20	50-90



- 1: air
- 2: regulator
- 3: flowmeter
- 4: Hydrogen sulfide gas bomb
- 5: Ammonia gas bomb
- 6: gas mixer (glass beads packed)
- 7: absorber-reactor (activated carbon fiber filled)
- 8: water jacket
- 9: water
- 10: thermocouple
- 11: water bath
- 12: pump

Fig. 4-1. Schematic diagram of deodorization process.

분석은 적정법과 Gas Chromatography를 병행하였다. 적정법에서는 암모니아는 붕산용액을 흡수액으로하는 인도페놀법을 사용하여 640nm에서의 흡광도를 측정하였으며 황화수소는 메틸렌 블루법을 사용하여 670nm에서 흡광도를 측정하여 calibration curve를 만들어 분석하였다. 황화수소는 광화학반응을 하기 때문에 모든 실험과정은 빛을 차단하고 실험하였다.

Fig. 4-2와 Fig. 4-3은 검량선 용액으로 부터 구한 각각의 암모니아와 황화수소의 양에 따른 spectroscopy의 absorbance를 나타낸 calibration curve이다. Fig. 4-2의 암모니아 calibration curve에서는 암모니아 검량선 용액으로 부터 얻은 암모니아의 양 0.004mL에서 0.02mL의 범위내에서 linear하게 나타났으며 Fig. 4-3의 황화수소의 경우는 검량선용액으로 부터 얻은 황화수소의 양 0.002mL에서 0.015mL의 범위내에서 linear하게 나타났다.

G.C.를 사용한 분석은 Thermal conductivity detector를 이용한 Gas chromatography(GC-TCD)를 사용하며 column의 packing material은 HAYESP, P 60-80mesh를 고정시킨 것을 사용하여 탈취입구와 출구에서의 sampling을 통해 농도변화를 비교분석하였다.

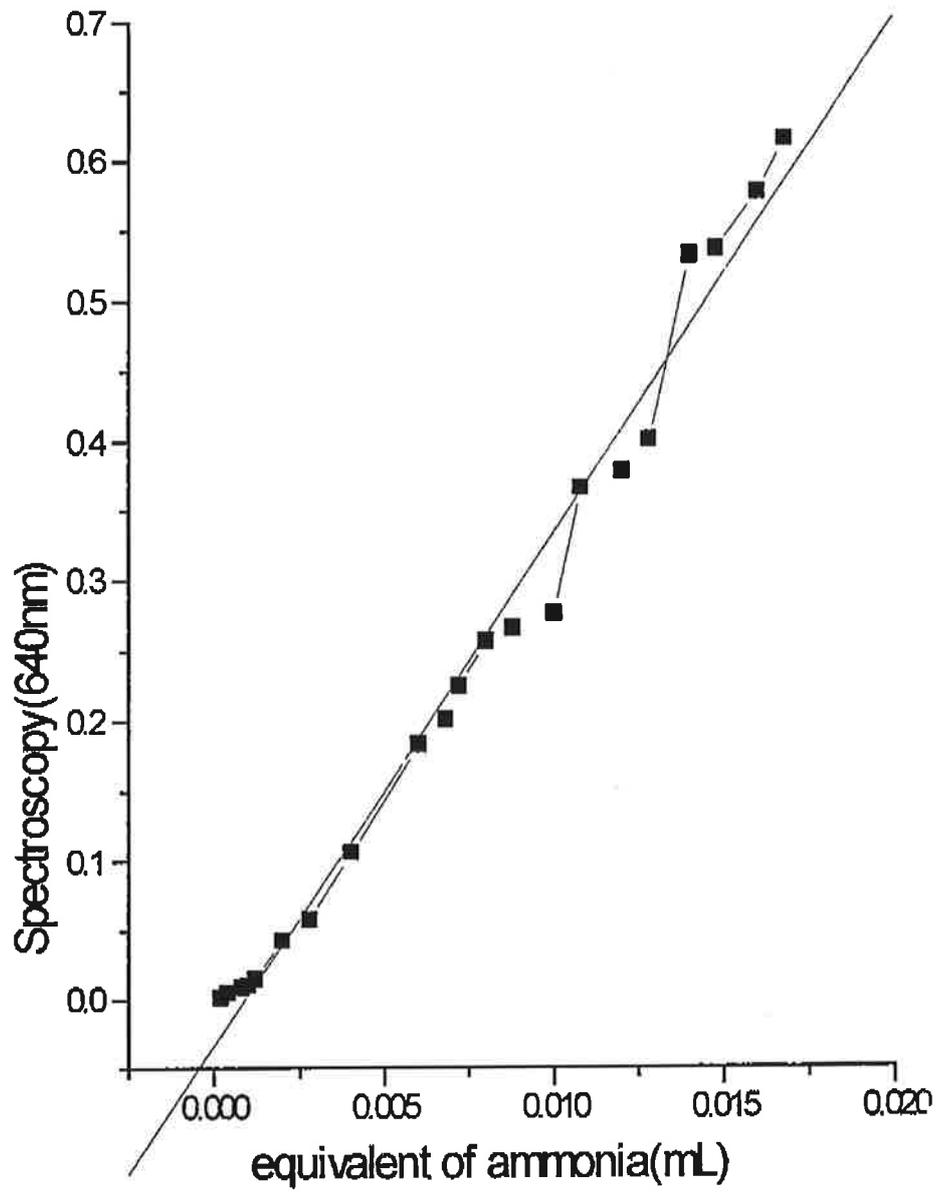


Fig. 4-2. Ammonia calibration curve.

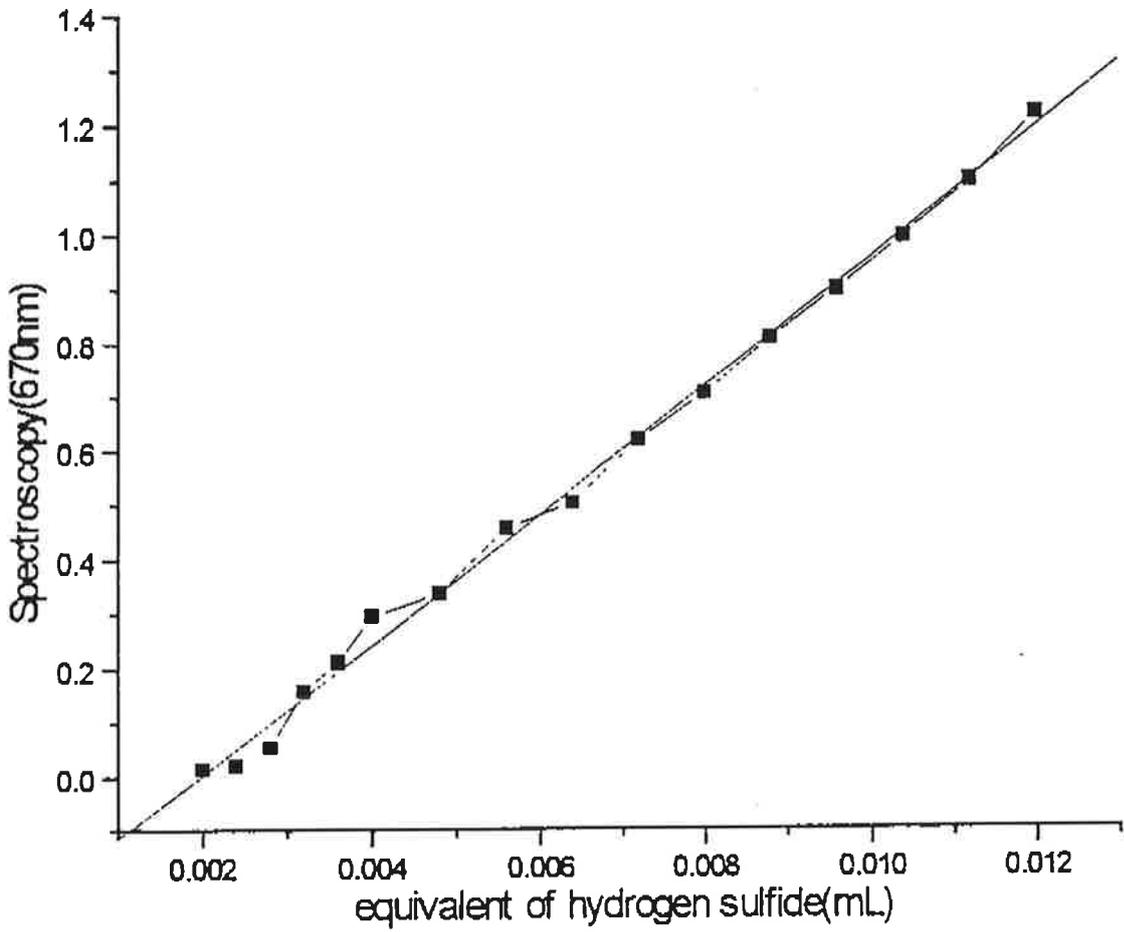


Fig. 4-3. Hydrogen sulfide calibration curve.

### 제 3 절 실험결과

#### 1. 건조상태에서의 공간속도 변화에 관한 영향

활성탄 섬유가 물을 함유하지 않은 건조상태에서의 활성탄 섬유의 탈취능력은 Fig. 4-4와 Fig. 4-5에 나타내었다. 건조상태에서  $100\text{h}^{-1}$  공간속도로  $\text{NH}_3$ 는 20ppm으로 column에 주입되어 8~12ppm 으로 column을 나온다. 또한  $\text{H}_2\text{S}$ 는 15ppm으로 주입되어 활성탄섬유 층에서 제거된후 6ppm 정도로 감소한다. 즉  $\text{NH}_3$ 는 40~60%의 제거율을 보였으며  $\text{H}_2\text{S}$ 는 60%의 제거율을 보였다. 또한 공간속도  $900\text{h}^{-1}$  에서 출구의 농도는  $\text{NH}_3$ 는 12ppm,  $\text{H}_2\text{S}$ 는 8ppm 이었다. 즉 공간속도  $900\text{h}^{-1}$ 에서  $\text{NH}_3$ 는 40%의 제거율을 보였으며  $\text{H}_2\text{S}$ 는 47%의 제거율을 보였다. 이러한 결과로 보아 공간속도가 낮을수록 제거율이 높았으며 활성탄 섬유는  $\text{NH}_3$  보다  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율이 더욱 높은 것을 알 수 있었다. 그러나 건조상태에서는 높은 제거율을 보이지는 않았다.

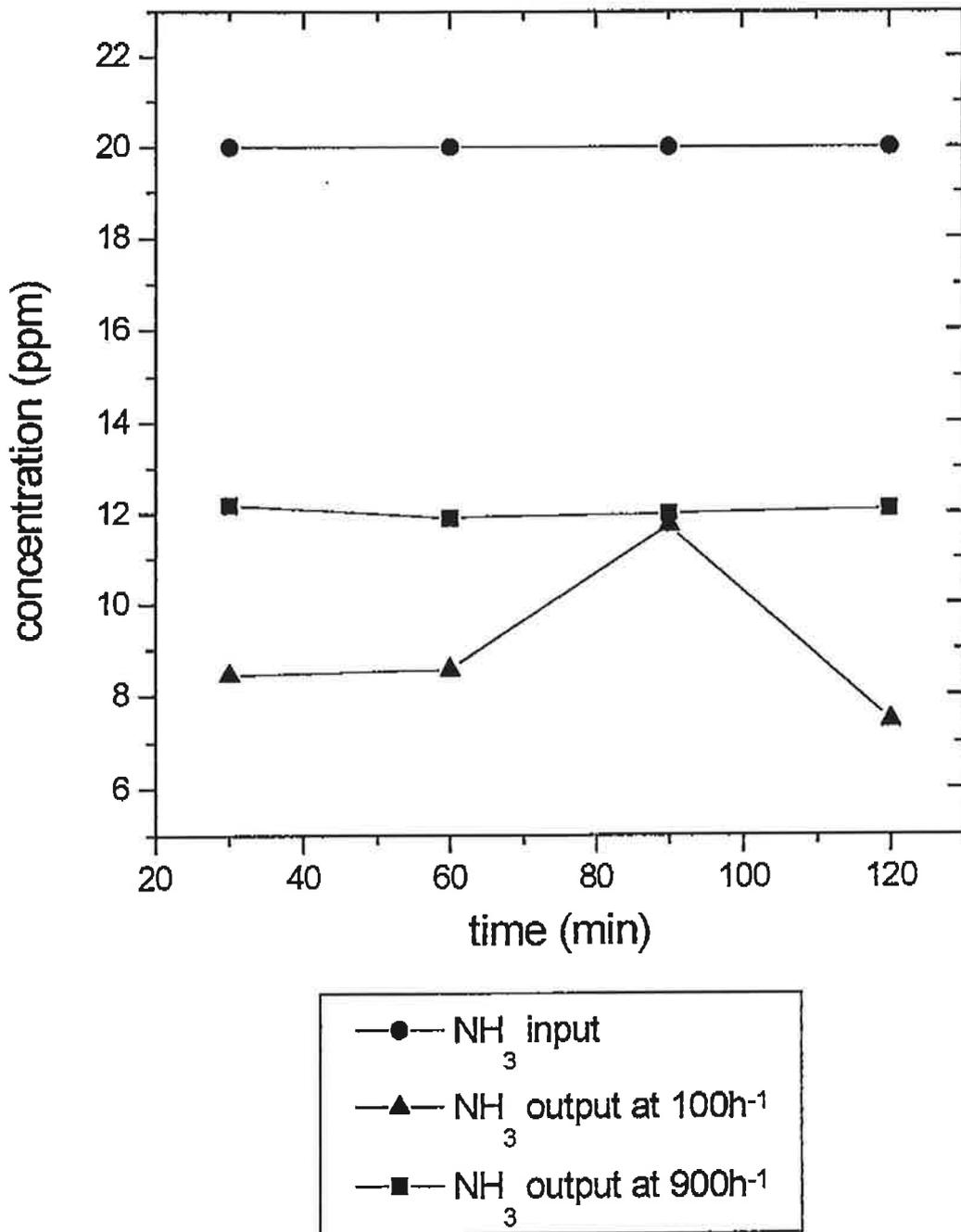


Fig. 4-4. Effect of space velocity on the removal of NH<sub>3</sub> by activate carbon fiber at dry condition.

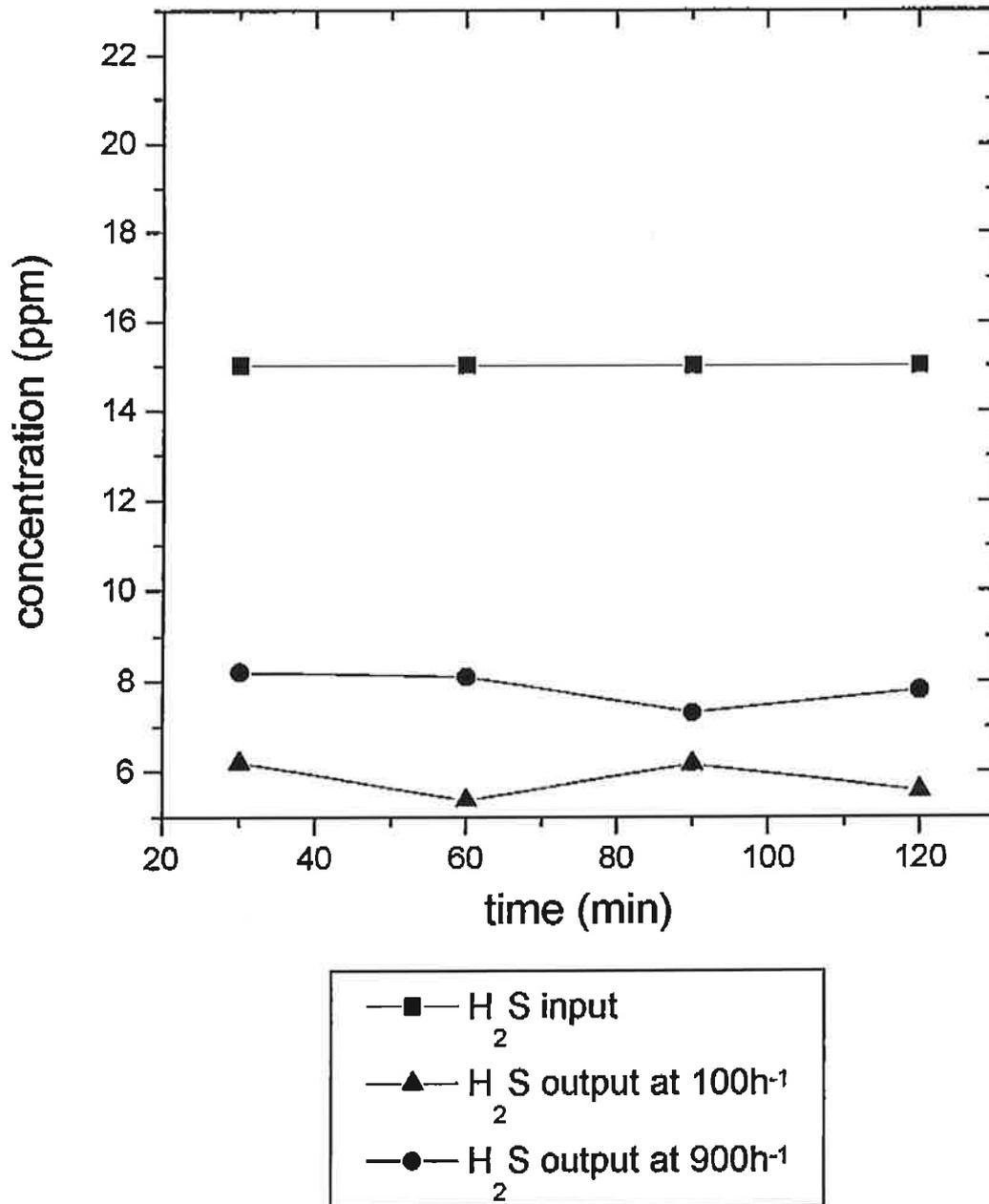


Fig. 4-5. Effect of space velocity on the removal of H<sub>2</sub>S by activate carbon fiber at dry condition.

## 2. 습식상태에서 공간속도 변화에 관한 영향

활성탄 섬유에 탈취에 영향을 미치는 중요한 인자중의 하나는 공간속도이다. 습윤상태(50~90%)에서 공간속도를 변화시키면서  $\text{NH}_3$  와  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율을 알아 보았다.

### 가. 습윤상태에서 공간속도의 변화에 따른 $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거

습윤상태에서 공간속도를  $100\text{h}^{-1}$  뿐만 아니라  $500\text{h}^{-1}$  및  $900\text{h}^{-1}$ 로 증가시켰을 때 입구에서의  $\text{H}_2\text{S}$  농도 20ppm정도에 대해 활성탄 섬유층 통과후 출구에서의  $\text{H}_2\text{S}$  농도는 각각 0.2, 0.8 및 1.2ppm으로 공간속도가 클수록 출구에서의 농도가 증가하였다(Fig. 4-6). 이는 활성탄 섬유층에서 제거되는 양이 감소되기 때문이다. 각 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ ,  $500\text{h}^{-1}$ ,  $900\text{h}^{-1}$ 에서의 제거율은 각각 99, 95, 92% 였다. 이 결과는 동일한 공간속도의 건조상태에 비해 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ 에서 습윤상태의 제거율은 64% 증가함을 알 수 있다.

### 나. 습윤상태에서 공간속도의 변화에 따른 $\text{NH}_3$ 의 제거

습윤상태에서 입구에서의 암모니아 농도 15ppm정도에 대해 활성탄 섬유층 통과후 출구에서의 암모니아 농도는 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ ,  $500\text{h}^{-1}$  및  $900\text{h}^{-1}$ 에 대해 각각 2, 5.1 및 6.3ppm으로  $\text{H}_2\text{S}$ 와 마찬가지로 공간속도가 클수록 출구에서의 농도가 증가하였다(Fig. 4-7). 각 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ ,  $500\text{h}^{-1}$ ,  $900\text{h}^{-1}$ 에서의 제거율은 각각 90%, 75%, 69% 였다. 이 결과는 동일한 공간속도의 건조상태에 비해 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ 에서 습윤상태의 제거율은 80% 증가함을 알 수 있다. 이 결과를 비교해 볼 때 활성탄 섬유에서 암모니아의 제거량은 건조상태나 습윤상태에서 상대적으로  $\text{H}_2\text{S}$ 에 비해 적으나 건조상태에서의 제거율에 대한 습윤상태의 제거율의 증가는  $\text{H}_2\text{S}$ 에 비해 커짐을 알 수 있다.

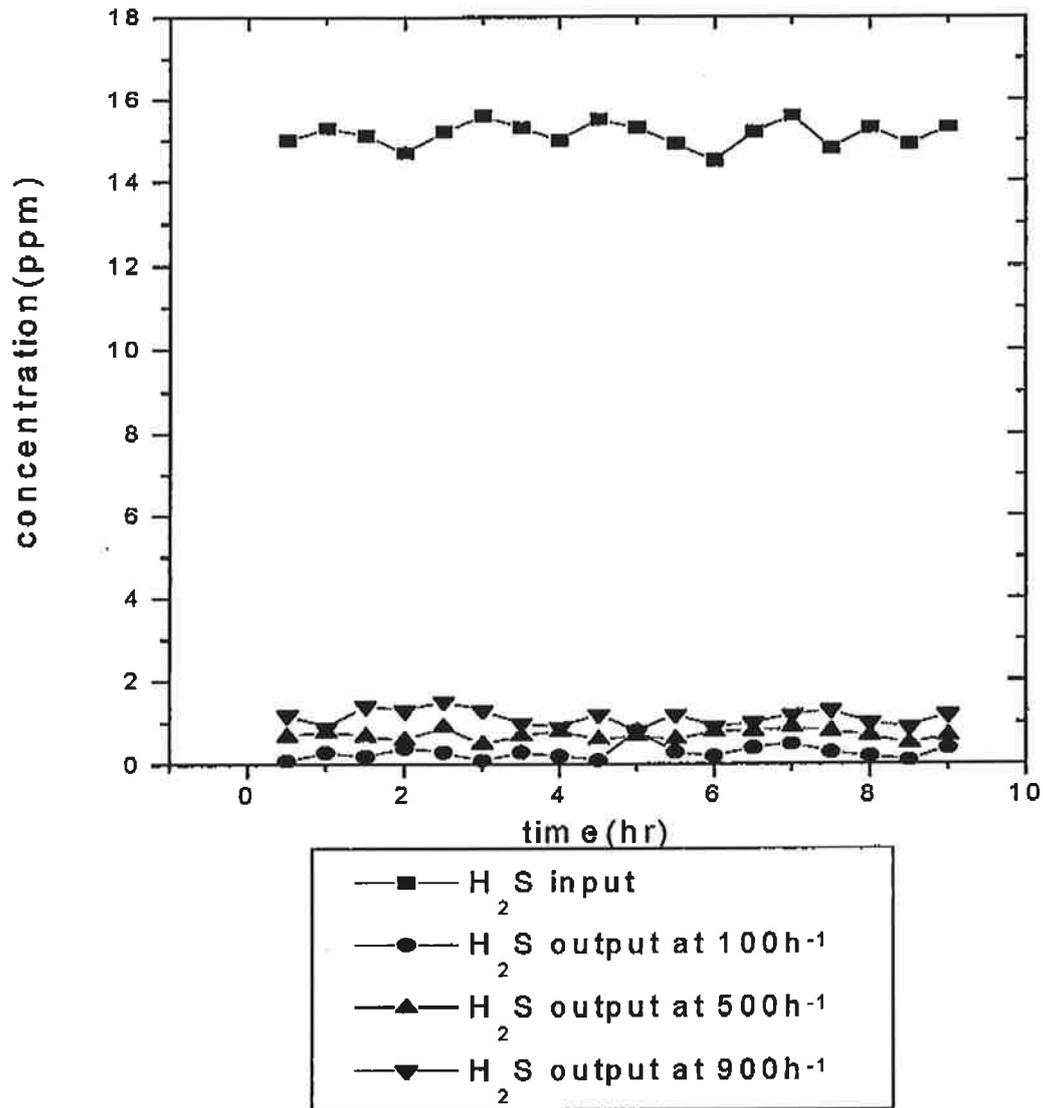


Fig. 4-6. Effect of space velocity on the removal of H<sub>2</sub>S at wetted condition.

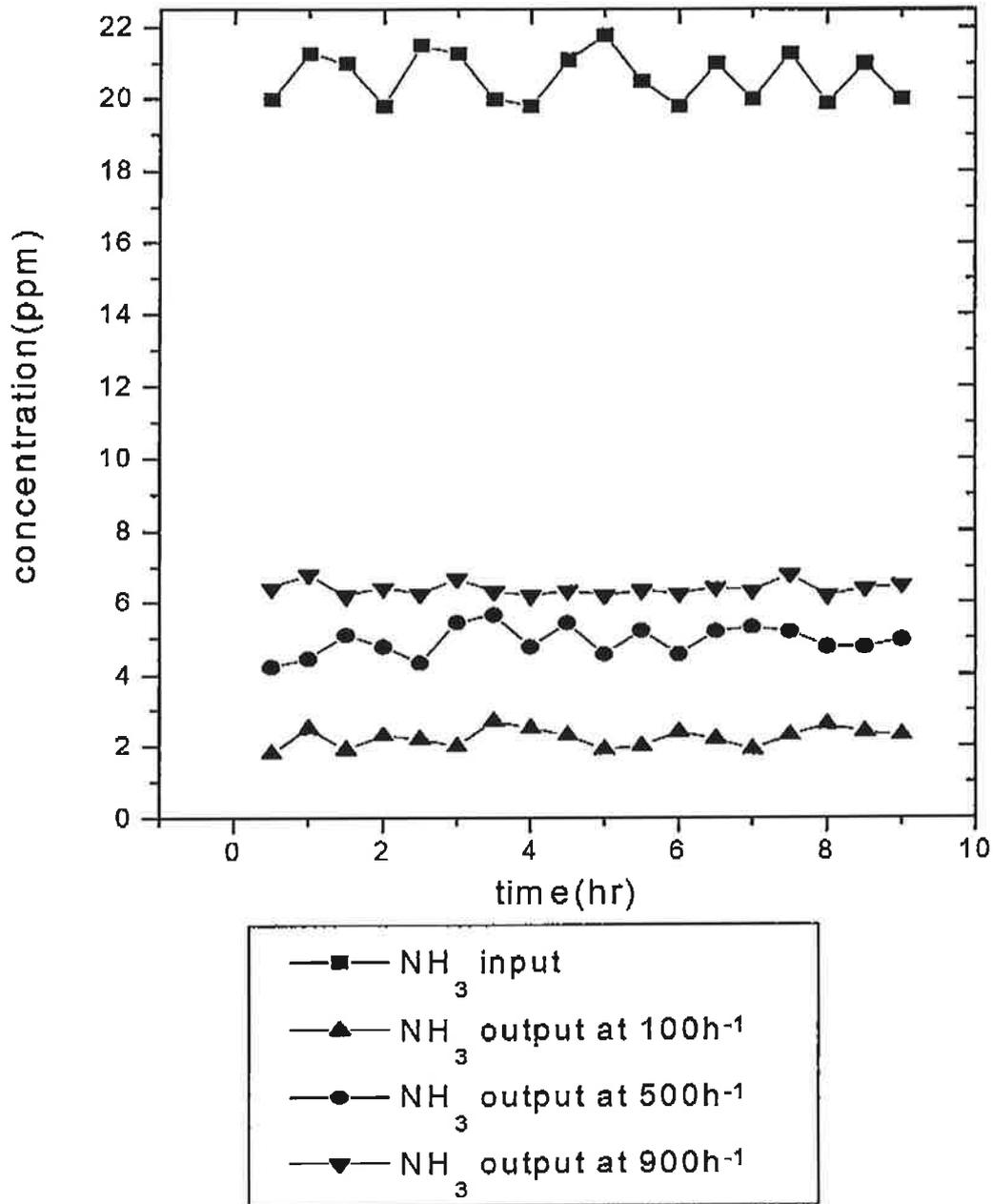


Fig. 4-7. Effect of space velocity on the removal of NH<sub>3</sub> at wetted condition.

### 3. 습식상태에서 온도 변화에 관한 영향연구

활성탄 섬유에 탈취에 영향을 미치는 중요한 인자중의 하나는 온도이다. 습윤상태 (50~90%), 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ 에서 온도를 변화시키면서  $\text{NH}_3$  와  $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거율을 알아 보았다.

#### 가. 습윤상태에서 온도변화에 따른 $\text{NH}_3$ 의 제거

습윤상태, 공간속도  $100\text{h}^{-1}$  의 조건에서 입구의 암모니아 농도 20ppm 정도에 대해 활성탄 섬유층 통과후 출구에서의 암모니아 농도는 온도 15, 25, 35℃ 에 대해 각각 2.8, 2, 1.8ppm으로 온도가 높을수록 출구의 농도가 감소하였다(Fig. 4-8). 제거율은 각 온도 15, 25, 35℃에서 각각 86%, 90%, 91% 였다. 온도가 상승함에 따라 제거율이 증가 된 것은 활성탄 섬유에 대한 암모니아의 흡착이 단순흡착이 아니라 화학흡착 때문이라 사료된다.

#### 나. 습윤상태에서 온도변화에 따른 $\text{H}_2\text{S}$ 의 제거

습윤상태, 공간속도  $100\text{h}^{-1}$  의 조건에서 입구의  $\text{H}_2\text{S}$  농도 15ppm 정도에 대해 활성탄 섬유층 통과후 출구에서의  $\text{H}_2\text{S}$ 의 농도는 온도 15, 25, 35℃ 에 대해 각각 1, 0.2, 0.1 ppm으로 암모니아와 마찬가지로 온도가 높을수록 출구의 농도가 감소하였다(Fig. 4-9). 제거율은 각 온도 15, 25, 35℃에서 각각 93%, 99%, 100% 였다. 공간속도  $100\text{h}^{-1}$ , 온도 35℃에서  $\text{H}_2\text{S}$ 는 거의 100% 제거됨을 알았다.

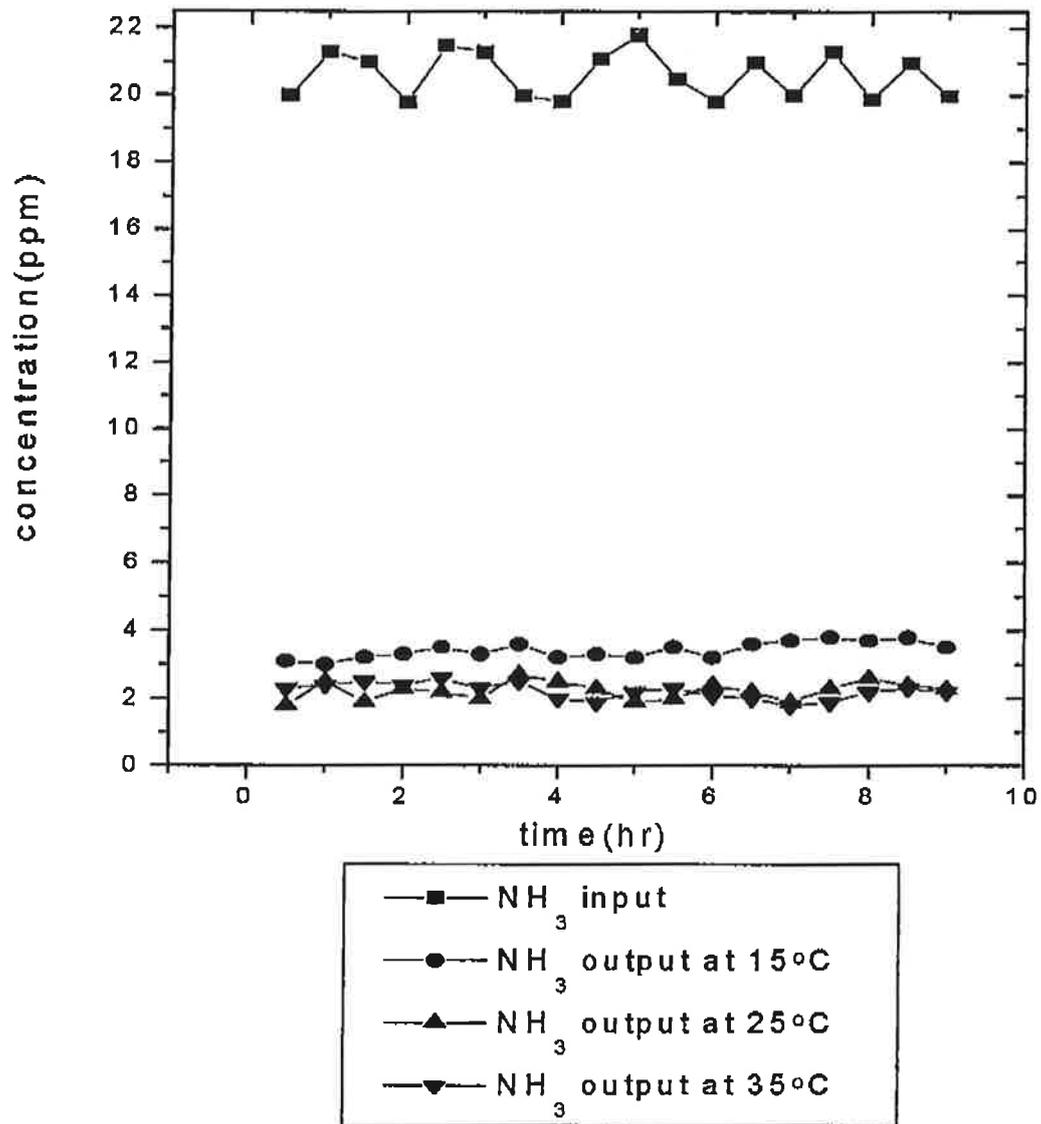


Fig. 4-8. Effect of temperature on the removal of NH<sub>3</sub> at wetted condition.

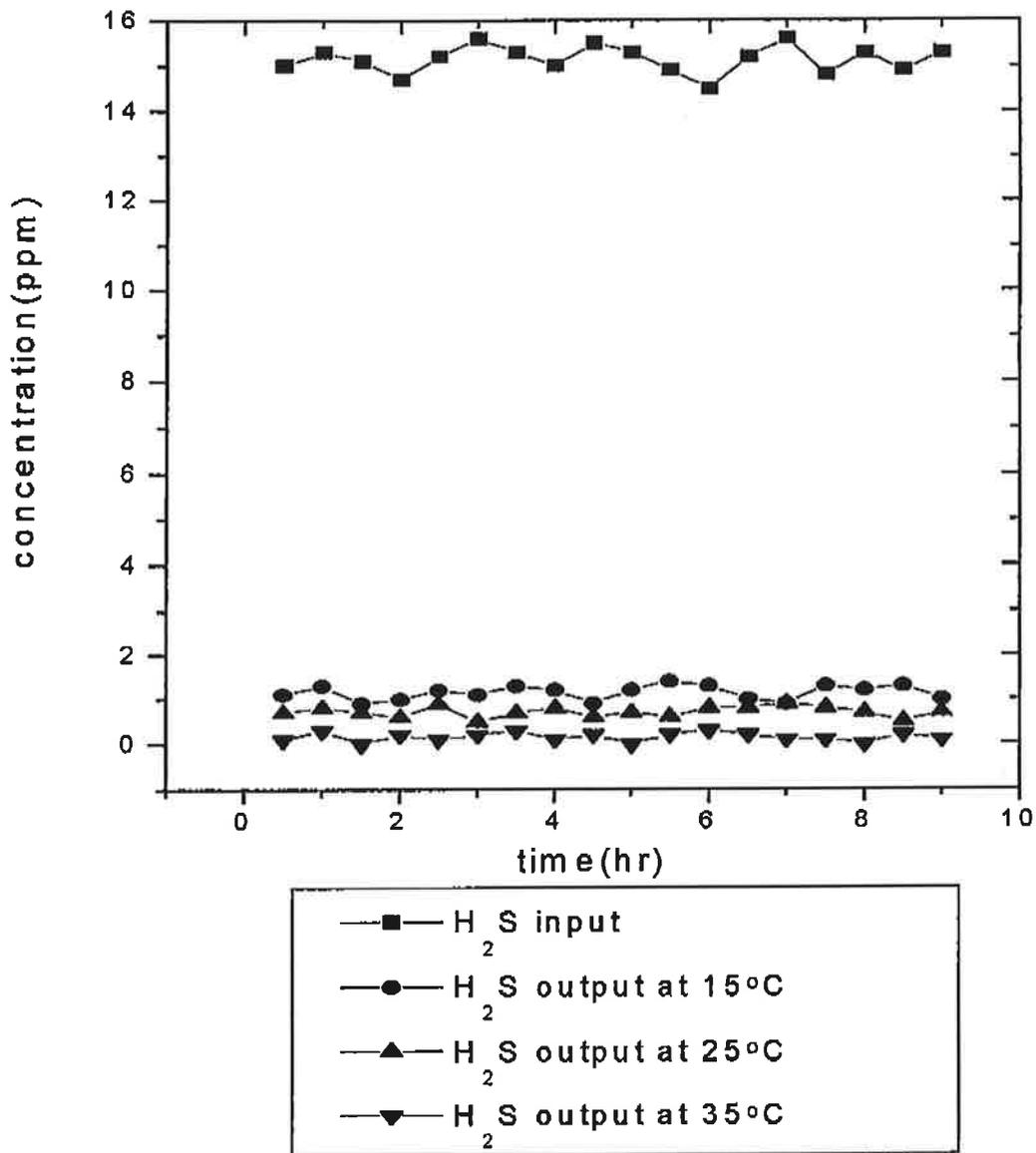


Fig. 4-9. Effect of temperature on the removal of H<sub>2</sub>S at wetted condition.

## 제 4 절 결론 및 활용방안

활성탄 섬유를 사용한 H<sub>2</sub>S와 암모니아의 제거는 위의 결과에서 보듯이 효과적이라고 할 수 있었다. 특히 H<sub>2</sub>S에 대한 제거율은 일정한 수분을 유지한 상태에서 공간속도 100h<sup>-1</sup>, 39℃에서는 거의 100% 제거됨을 알 수 있었다. 또한 활성탄 섬유에서 일어나는 흡착은 온도의 상승을 통해서 더욱 많은 양의 H<sub>2</sub>S 나 암모니아를 제거 할 수 있을 것으로 보아 화학적 흡착으로 사료된다. 또한 물로 세정을 하면 수명이 다한 활성탄 섬유를 재활용할 수 있다는 보고도 있다.

탈취 능력이 뛰어난 이러한 활성탄 섬유를 이용하여 농촌의 양돈, 양계 등의 집중사육시설에서 동물 및 사육인의 건강증진을 위해 활용될 수 있을 뿐만 아니라 최근 많은 문제가 되고 있는 음식물 쓰레기의 유해가스 제거와 산업용 폐기가스를 정화하는데 활용 할 수 있다. 또한 폐수처리시설이 급증하고 있는 국내 여건으로는 기존의 탈취방법보다 유지관리가 용이하며 경제성을 갖춘 탈취방법이 요구되고 있다. 이러한 폐수처리 시설의 탈취에도 활성탄 섬유의 활용이 크게 기대된다.