

돈분의 퇴비화를 위한 *Bacillus* sp.의 분리 동정 및 그 액체 비료의 악취 제거 연구

김규동 · 김기연 · 함영태*

중앙대학교 산업과학대학 생명공학과

돈분 고속발효에 적합한 미생물 제제를 개발하기 위하여 *Bacillus* 속을 돈분에서 분리한 후, 분리 균주의 성장능력, 효소활성 및 상호 균주에 대한 항균활성을 비교 분석하였다. 분리된 4종을 동정한 결과, *Bacillus cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3, *B. licheniformis* KD-4로 분석되었고, 분리균주 KD-1은 그 어떤 *Bacillus* 종들과도 높은 일치성을 보이지 않았다. 성장최고온도는 *Bacillus* sp. KD-1이 45°C, *B. cereus* KD-2가 50°C, *B. pumilus* KD-3는 53°C, *B. licheniformis* KD-4는 55°C이었다. 이들 균주 모두를 혼합한 미생물 제제의 효소활성은 protease와 amylase는 37-53°C 범위에서 그 활성도에 차이를 보이지 않았고, lipase는 37-42°C에서의 효소활성이 47-53°C에 비해 2배 이상 높았다. 혼합 미생물 제제에 사용된 균주들의 상호 항균활성은 *Bacillus* sp. KD-1, *B. cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3는 타 균주의 성장에 영향을 주지 않았고, *B. licheniformis* KD-4의 배양 상층액을 10% (v/v)의 농도로 첨가 시 다른 균주의 성장에 거의 영향을 주지 않았으나, 50% (v/v)로 혼합할 경우 다른 균주들의 성장을 억제하였다. 이 미생물 혼합 제제로 발효된 유기질비료의 성분은 유기물이 61.9%, 질소가 1.6%, C/N비가 22.4%, 인산이 0.21%, 칼리가 1.0%로 분석되었다. 발효 부산물인 액체비료의 암모니아 가스 농도는 12.35 mg/l로 낮게 검출되었다.

Key words □ *Bacillus* sp., compost, microbial additive, swine manure

축산 폐수는 가축에서 배설되는 배설물에 의하여 발생되며, 생활하수나 산업 폐수에 비하여 그 발생량은 적으나, 그 오염도가 BOD 25,000 mg/l 정도로 대단히 높고, 질소와 인 등의 영양염류를 다량 함유하고 있어 하천 및 호소의 부영양화를 초래함으로써 하천, 호소 오염의 심각한 요인으로 작용하고 있다. 또한, 축분뇨에서 발생하는 악취는 민간에 큰 불편을 초래하고 있다(12, 18).

근래에 와서 축산업의 고도성장으로 인한 집약화, 대규모화에 따라 가축분뇨의 생산량은 급증한 반면, 분뇨를 환원시킬 수 있는 초지나 경지면적의 증가는 제자리 또는 감소하는 추세이기 때문에 가축분뇨가 환경에 미치는 영향과 집약적인 축산 폐기물의 처리는 국내는 물론 세계적으로 침체의 관심이 되고 있다(5, 13).

한편, 돈분에는 식물이 필요로 하는 질소, 인산, 칼륨 및 미량 원소들이 다량 함유되어 있어 비료로서의 활용이 가능하며, 토양에 화학비료나 농약 등 화학물질의 장기 연용에 따라 생태계가 단순화되고 토양의 물성변화로 수질오염 등의 문제점을 야기하고 있는 시점에서 질 좋은 퇴비의 사용은 토양의 물리성, 화학성 및 미생물상을 개선시켜 작물이 생육하기에 좋은 환경을 만들 수 있다. 따라서 축분뇨를 퇴비화한 비료의 생산은 축산 폐기물

의 재활용과 화학비료의 대체로서 적극 추천되고 있다(11).

이러한 축분뇨의 퇴비화 과정은 축산 폐기물을 축적시키고 중온성 세균이 관여하여 퇴비 원료 중에 포함된 당류, 아미노산 등 분해되기 쉬운 물질들이 분해되어 부속온도가 상승하는 초기단계, 온도의 상승으로 인하여 고온성 미생물이 관여하고 cellulose, hemicellulose, pectin 등 난분해성 물질들이 분해 되는 퇴비화 지속단계, 끝으로 중온성 균들이 관여하여 퇴비 더미의 온도가 떨어지며 분해속도가 지연되는 숙성단계를 거치는 장기간(2-3개월)의 발효를 통한 축분뇨에 다량 함유된 유기물질을 안정화시키는 공정으로 이루어지나(17), 최근에는 기계적으로 호기적 조건 하에서 미생물에 의한 유기물의 분해과정을 고속발효를 통하여 단기간(24-48시간)에 퇴비화 하는 전용의 발효기가 개발되어 사용되고 있다(4, 20). 이러한 고속발효공정에서는 퇴비화 장치로서 온도조절기, 교반기, 송풍기 등의 기본 장치가 요구되지만, 퇴비화 과정은 미생물에 의한 유기물의 분해과정으로 이루어지므로 대부분 미생물 균주를 제제화 하여 첨가하여야 하고, 이러한 고속 발효기의 최종 발효산물로 고체비료와 액체비료가 생산된다. 그러나 액체비료의 경우 그 비료의 성능은 우수하나 외부 포장에 사용 시, 그 냄새가 심하여 사용에 제한을 받고 있다(10, 21). 돈분으로부터 발생하는 악취는 황화수소 및 암모니아가 그 주원 인이며(8), 악취 제거를 위해 최근에 biofiltration을 이용한 생물학적 처리시스템 연구가 활발히 진행되고 있다(7, 20). 그러나 돈분 발효 시 직접 미생물 첨가에 의한 황화수소 및 암모니아가스 제거 연구는 미흡한 실정이다(9, 15).

*To whom correspondence should be addressed.
Tel. 82-31-670-3064, Fax. 82-31-675-0406
E-mail: ythahm@cau.ac.kr

따라서 본 연구에서는 고체 발효기에 적합한 미생물 제제를 개발하기 위하여 중온에서 고온에 이르기 까지 퇴비화의 전 과정에 관여하고, 고온의 퇴비화 과정에서는 발견되지 않는 곰팡이나 효모에 비해 세포 증식 속도가 빠르며, 비록 고온성 세균이 아니더라도 포자를 형성할 수 있어 중온단계에서 다시 발아, 성장하여 발효에 관여할 수 있는 *Bacillus* sp.를 분리 동정하고자 하였으며(17), 이 균주들을 이용한 고속발효용 미생물 제제 개발 가능성을 분석하고자 하였다. 또한 돈분 발효 시 고체비료와 함께 생산되는 액체비료의 악취를 최소화할 수 있는 발효 균주의 탐색연구를 병행하여 수행하였다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 동정

돈분 발효를 위한 균주를 선별하기 위하여 경기도 안성시 인근 농가의 축사에서 돈분을 채취하였다. 돈분 시료를 멸균식염수(0.85% NaCl)에 현탁 시킨 후, 포자형성 균주를 분리하기 위하여 100°C에서 15분간 증탕하였다. 상층액을 LB agar medium (1% tryptone, 1% sodium chloride, 0.5% yeast extract, 1.5% agar)에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 형성된 콜로니들의 형태 차이로 1차 선별한 후 *Bacillus* 속들의 형태학적, 배양학적, 생리학적 특성을 Blanc 등(2)과 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(3)에 준하여 검토 및 참조함과 동시에 분리한 균주들은 Kit (API 50 CHB, bioMérieux Inc., France)를 사용해 49개의 당 발효성을 조사, 비교함으로써 그 종을 동정하였다.

온도에 따른 생장능 분석

1차적으로 분리한 균주들로부터 돈분 발효에 적합한 균주를 선별하기 위하여 LB broth 50 ml에 24시간 배양한 균주를 1 ml 접종한 후 각각 37°C, 42°C, 47°C, 50°C, 53°C에서 32시간동안 배양하여 550 nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 생장곡선을 비교 분석하였다.

효소활성 측정

분리한 균주들의 효소 활성 측정을 위하여 50 ml의 LB broth에서 각각 37°C, 42°C, 47°C, 50°C, 53°C에서 4시간 간격으로 1 ml를 취하여 12,000 × g에서 10분간 원심분리한 후, 그 상층액을 효소 활성 측정에 사용하였다.

Protease 효소활성은 casein을 0.05 M Tris-Cl buffer (pH 8.0)에 1%가 되도록 용해하여 기질용액으로 사용하고, 기질용액 1 ml에 분리한 상층액 1 ml를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 5 ml의 5% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) 용액을 가하여 반응을 정지시키고 실온에 30분간 정치하였다. Whatman filter (No. 2)로 여과하여 침전을 제거한 용액 중의 가용성 펩티드 양을 280 nm에서 흡광도로 측정하였다.

Amylase 효소활성은 6% (w/v) soluble starch (pH 5.0) 1 ml에 1 ml의 분리 상층액을 가하여 37°C에서 30분간 반응하였다. Alkaline 3,5-dinitrosalicylate reagent (DNS) 600 μl를 가하여 반응

을 정지시키고 100°C에서 10분간 발색하였다. 증류수를 가하여 5 ml로 정용한 후, 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Lipase 활성측정을 위한 기질은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 각각 olive oil 5% (v/v), gum arabic 5% (w/v) 넣은 것을 사용하였다. 기질용액에 분리 상층액 1 ml를 넣고 37°C에서 250 rpm으로 흔들며 주며 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 ethanol과 acetone을 1:1로 혼합한 용액 1 ml와 iso-octane 5 ml를 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 1,000 × g로 15분간 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 상층액에 5% (w/v) cupper reagent (cupric acetate를 pyridine으로 pH 6.1로 맞춤)를 1 ml 첨가하여 1분간 vortex한 후 약 30분간 정치시키고, 상층액을 분리하여 715 nm에서 흡광도를 측정하였다.

선별 균주들의 상호 항균활성 검사

32시간 배양한 각 균주의 배양 상층액을 12,000 × g로 원심분리 한 후 상층액을 0.2 μm filter로 여과하였다. OD_{550nm} ≈ 0.4에 이르도록 LB broth에서 배양한 다른 선별 균주와 여과액을 10% (v/v)에서 최고 50% (v/v)이 되도록 혼합한 후 37°C에서 4시간 배양하여 그 흡광도(OD_{550nm})를 측정하였다.

발효조 적용 실험

선별한 균주들의 혼합 제제를 사용하여 김포시에 있는 K사의 발효조(20루베)에서 돈분 25,000 kg과 생석회 150 kg을 혼합하여 10일 동안 고속 발효 적용 실험을 수행하였다. 돈분 발효의 진행 정도의 분석을 위하여 발효시간에 따른 발효조의 온도를 상, 중, 하의 위치에서 각각 측정 분석하였고, 선별된 균주 혼합 제제의 발효산물과 현 K사에서 사용 중인 수입 미생물 제제의 발효산물을 비교 분석하였다. 발효산물의 분석은 비료의 품질검사방법(농진청 고시 2003-18호)에 따라 수행하였다.

액체 비료의 암모니아 가스 농도 측정

발효산물인 액체비료의 암모니아 가스 농도는 진공법 가스검지기(Pump set GV-100S, GSTEC, Japan)를 이용하여 mg/l 단위로 정량하였다. 기체 채취기를 기체 검지단을 이용하여 검체 1회 흡입(100 ml)하여 1분을 기다렸다. 1분 후 손잡이에 있는 indicator로 흡입을 확인하였고, 결과는 온도, 습도, 보정 후 흡입 횟수의 보정, 기압의 보정 순으로 산출하였다.

결과 및 고찰

분리 균주의 동정

4개의 균주를 분리하여 각각 KD-1, KD-2, KD-3, 그리고 KD-4로 명명하였고, 그 형태학적, 생리학적, 배양학적 특징은 Table 1에 보였다. 분리된 균주 모두 포자를 형성하는 그람 양성균의 동정이 있는 통성호기성 간균이었다.

API 50 CHB kit를 사용하여 당 발효 실험을 한 결과는 Table 2와 같다. API 동정 프로그램을 이용해 분석한 결과, KD-2는 *Bacillus cereus*와 97.9%, KD-3는 *B. pumilus*와 99.9%, KD-4는

Table 1. General characteristics of the selected *Bacillus* sp. strains

Tested characteristics	Strains and results			
	KD-1	KD-2	KD-3	KD-4
Length (μm)	0.8-1.2	0.8-1.2	0.4-0.6	0.3-0.5
Gram stain	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+
Cell morphology	Rod	Rod	Rod	Rod
Spore formation	+	+	+	+
Growth in air	+	+	+	+
Catalase activity	+	+	+	+
Temperature limitation for growth (°C)	< 45	< 50	< 55	< 60

Symbols; +, positive; -, negative; <, less than

*B. licheniformis*와 99.9%의 신뢰도를 보였고, KD-1은 95% 이상의 높은 신뢰도를 보이는 *Bacillus* 종은 없었으나, 그 일반적인 형태나 생리적 특성은 *Bacillus*의 한 종으로 분석된다.

선별균주의 온도에 따른 생장능

돈분의 고속발효공정에 사용되는 미생물 제제는 퇴비화 과정 중의 중온 및 고온의 환경에서 생장에 적합한 균주가 모두 포함되어 있어야 하며, 또한 효소의 활성은 그 균주의 specific activity가 높더라도 전체적 효소활성은 그 균주가 분비하는 효소의 전체 양에 따라 다르므로 그 균주의 증식속도 및 세포 수 또한 중요하다(10, 21). 본 연구에서 분리한 균의 생장가능 최고온도는 각각 *Bacillus* sp. KD-1이 45°C, *B. cereus* KD-2가 50°C, *B. pumilus* KD-3는 53°C, *B. licheniformis* KD-4는 55°C로 선별 혼합하여 사용된 미생물 제제는 중온성과 고온성 모두를 포함하고 있고(Table 1), 증식속도 면에서도 효모나 곰팡이에 비해 상대적으로 매우 빠름을 알 수 있다(Fig. 1).

온도에 따른 선별균주의 효소활성

돈분 발효를 위한 미생물 제제는 돈분에 포함되어 있는 경질의 고분자 물질을 효율적으로 저분자 또는 수용성 물질로 분해시켜야 하므로 단백질, 지질, 탄수화물 등 고분자물질에 대한 각

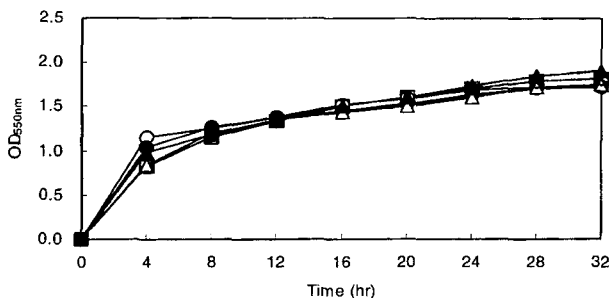


Fig. 1. Cell growth of microbial additive mixed with *Bacillus* sp. KD-1, *B. cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3, and *B. licheniformis* KD-4 at various temperatures. Symbols; ○, 37°C; ●, 42°C; △, 47°C; ▲, 50°C; ◻, 53°C.

Table 2. Results of carbohydrate fermentation of the selected *Bacillus* sp. strains

Tested carbon sources	Strains and results			
	KD-1	KD-2	KD-3	KD-4
Glycerol	+	+	+	+
Erythritol	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-
L-Arabinose	-	-	+	+
D-Ribose	+	+	+	+
D-Xylose	-	-	+	+
L-Xylose	-	-	-	-
D-Adonitol	-	-	-	-
Methyl-βD-Xylopyranoside	-	-	-	-
D-Galactose	-	-	+	+
D-Glucose	+	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	+
D-Mannose	-	-	+	+
L-Sorbose	-	-	-	-
L-Rhamnose	-	-	-	+
Dulcitol	-	-	-	-
Inositol	+	-	-	+
D-Mannitol	-	-	+	+
D-Sorbitol	-	-	-	+
Methyl-αD-Mannopyranoside	-	-	+	-
Methyl-αD-Glucopyranoside	+	-	+	+
N-Acetylglucosamine	+	+	+	+
Amygdalin	-	+	+	+
Arbutin	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+
D-Cellobiose	+	+	+	+
D-Maltose	+	+	+	+
D-Lactose	-	-	-	-
D-Melibiose	-	-	-	+
D-Saccharose	+	+	+	+
D-Trehalose	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-
D-Melezitose	-	-	-	-
D-Raffinose	-	-	-	-
Amidon	+	+	-	+
Glycogen	+	+	-	+
Xylitol	-	-	-	+
Gentiobiose	-	+	+	-
D-Turanose	+	-	-	+
D-Lyxose	-	-	-	+
D-Tagatose	-	-	+	-
D-Fucose	-	-	-	+
L-Fucose	-	-	-	-
D-Arabitol	-	-	-	-
L-Arabitol	-	-	-	-
Gluconate	-	-	-	+
2-Ketogluconate	-	-	-	-
5-Ketogluconate	-	-	-	-

Carbohydrate fermentation test was performed by API 50 CHB system (Biomérieux, Inc., France) as described in Material and Methods. Symbols; +, fermented; -, Not fermented in 24 hrs.

중 가수분해 효소의 활성이 뛰어나야 한다(1, 19). 또한 앞에서 언급한 바와 같이, 그 균주의 specific activity가 높더라도 전체적 효소활성은 성장 속도에 따라 각 균주의 세포 수가 다르므로 그 균주가 분비하는 효소의 전체 양 또한 다르기 때문에 배양액에 포함된 효소단백질 양에 대한 specific activity를 측정하지 않고, 시간 및 온도 별로 동일 부피의 배양액을 취하여 total activity를 측정하였다. 본 연구에 사용된 4 균주 모두를 혼합한 미생물 제제의 각 가수분해 효소활성은 Fig. 2에서도 볼 수 있는 바와 같이 protease와 amylase는 37-53°C 범위에서 세포의 성장과 유사한 양상을 보이며 배양 온도별로 차이가 없었고, lipase 활성 역시 세포의 성장과 유사한 양상을 보이나 37-42°C 범위의 효소활성은 47-53°C의 효소활성에 비해 16시간 경과 후 2배 이상 높았다.

선별 균주들의 상호 항균활성

유사균주를 같이 배양할 경우 타 균주가 내어놓는 bacteriocin 등에 의하여 성장을 저해 받을 수 있다(6). 만약 선별균주 중 어떠한 균주가 다른 균주의 성장을 억제한다면 혼합한 미생물 제제는 그 효과가 반감될 수 있다. 따라서 돈분 발효용 혼합미생물 제제의 개발을 위해서 성장과 효소활성에 의해 선별된 균주들의

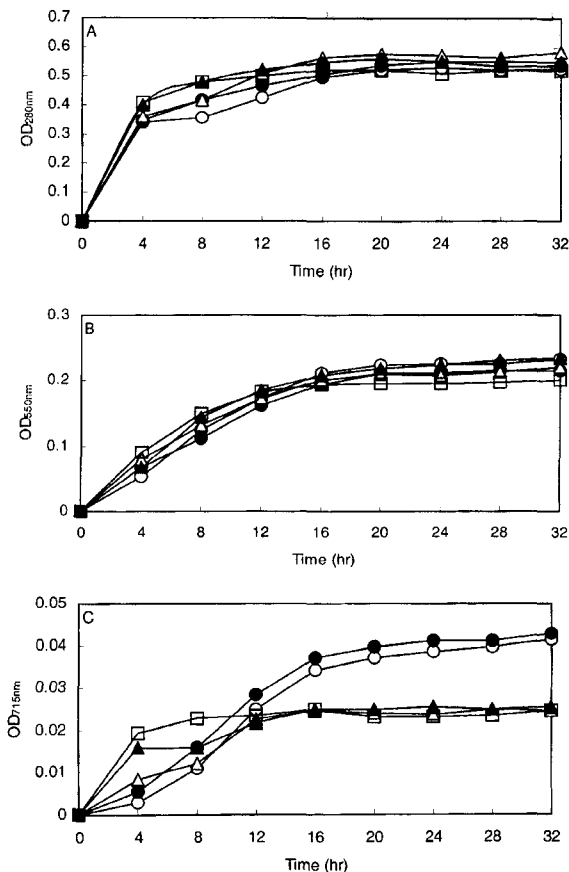


Fig. 2. Production of protease (A), amylase (B), and lipase (C) by microbial additive (mixture of *Bacillus sp.* KD-1, *B. cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3, and *B. licheniformis* KD-4). Symbols; ○, 37°C; ●, 42°C; △, 47°C; ▲, 50°C; □, 53°C.

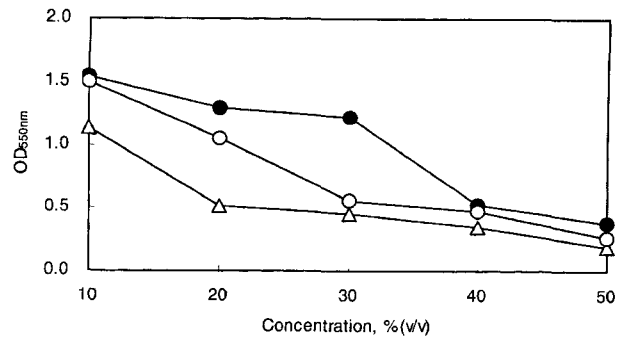


Fig. 3. Effect of the antibacterial activity with the culture media of *B. licheniformis* KD-4 against *Bacillus sp.* KD-1, *B. cereus* KD-2, or *B. pumilus* KD-3. *Bacillus sp.* were cultured at 37°C for 4hrs. Symbols; ○, *Bacillus sp.* KD-1; ●, *B. cereus* KD-2; △, *B. pumilus* KD-3.

상호 성장 저해능을 측정하였다(Fig. 3). 혼합 미생물 제제에 사용된 다른 균주들(*Bacillus sp.* KD-1, *B. cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3)은 타 균주의 성장에 영향을 주지 않았으나, *B. licheniformis* KD-4의 경우는 32시간 배양한 균주의 배양 상층액을 LB broth에서 배양한 다른 선별 균주와 최종 농도 50% (v/v)가 되도록 혼합할 경우 다른 균주들은 거의 성장하지 못하였으나, 10% (v/v) 농도에서는 거의 영향을 미치지 않는다는 것을 확인하였다. 또한 4가지 균주를 동시에 접종하여 plate count를 하였을 경우 각 균주들의 population에는 거의 영향을 주지 않았다. 이는 타 균주들의 초기 성장속도가 *B. licheniformis* KD-4에 비해 빠르며 *B. licheniformis* KD-4가 타 균주에 대해 항균 활성을 나타내기 위해서는 일정 농도 이상이 존재해야 되기 때문으로 사료된다(14). 따라서 이상의 결과에서 살펴본 바와 같이 본 연구에 사용한 미생물 제제는 발효기를 이용한 고속발효공정에 적합한 특성을 갖는 것으로 판단되었다.

미생물 제제를 통한 돈분 발효 시 발효조의 온도 변화

본 연구에서 분리 동정한 혼합 미생물 제제를 사용하여 발효조에서 돈분을 발효시킨 결과(Fig. 4), 발효조 내부의 온도는 10

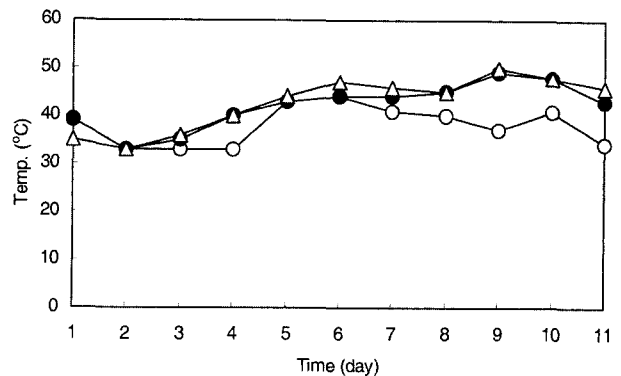


Fig. 4. Change in the temperature of the fermenter during the composting process of swine manure. Symbols; ○, top part of the fermenter; ●, middle part of the fermenter; △, bottom part of the fermenter.

일이 경과하기까지 내내 상부의 온도는 45°C 이하의 온도를 보였으며, 하부로 내려갈수록 45°C 이상의 높은 온도를 나타내어 10일 경과 후에 상부의 온도는 34°C인 반면, 중부 및 하부의 온도는 43°C와 46°C를 보여 10°C 이상의 차이를 보였다. 전체적 발효조의 온도변화를 분석하여 보면, 33-50°C 범위의 온도분포를 보였다. 결과적으로 발효조의 온도는 유기물 분해에 효율적이며 병원균 사멸과 잡초씨앗의 불활성화에도 중요한 온도 범위인 45-65°C 범위에 있었으며(16, 17), 퇴비화 과정의 온도변화와 일치하는 것으로 보아 거의 모든 퇴비화 과정이 이루어진 것으로 사료된다.

미생물 제제를 통한 돈분 발효 결과산물의 분석

K사의 수입 미생물 제제를 사용하여 얻은 비료와 본 실험에서 개발한 미생물 제제를 사용하여 얻은 비료의 성분분석 비교 시, K사의 미생물 제제를 사용한 발효산물에서 유기질과 칼리의 함량이 약간 높게 나타났고, 질소의 비율은 같았으나, C/N 비는 K사의 미생물 제제를 사용한 발효산물이 4.2% 정도 높았다. 인산은 본 연구 미생물 제제에서 높게 분석되었다(Table 3). 토양의 화학성과 물리성 및 생물성을 좋게 유지하기 위해서는 토양 중에 적절한 양의 유기물이 들어 있는 것이 중요하나 탄소 함량에 비해 질소 함량이 상대적으로 적은 유기물을 많이 주면 유기물이 분해되는 동안 토양 내 미생물들이 토양에 있는 질소를 이용하기 때문에 작물이 질소를 이용할 수 없게 되어 작물이 잘 자라지 못하게 된다. 또한 C/N율의 측면에서는 미생물이 유기물을 분해하여 탄소화물을 에너지원으로 사용하기 때문에 탄소원은 감소되고, 질소는 미생물의 몸체구성에 이용되기 때문에 질소함량은 증가하여 C/N율은 낮아지게 된다(13). 결과적으로 작물과 미생물간 질소의 경합이 일어나지 않은 경계가 20이기 때문에 퇴비의 부숙은 C/N율이 20 이하일 때 완속되었다고 할 수 있다. 따라서 발효산물의 분석결과로 볼 때 본 연구에서 개발되어 사용된 미생물 제제는 돈분 발효 시 충분히 K사의 미생물 제제를 대체할 수 있다고 사료된다.

돈분 발효 시 생산되는 액체비료의 암모니아가스 농도

일반적으로 축산 폐기물 처리에 있어 가장 큰 애로사항 중의

하나는 축사 내외에서 발생하는 악취로 인한 문제인데, 이 돈분 발효 시에도 고체비료와 함께 부산물로 생산되는 액체비료 역시 악취문제로 그 활용에 제약을 받는다. 돈분으로부터 발생하는 악취는 황화수소 및 암모니아가 그 주원인이며, 특히 암모니아가스 농도는 50 mg/L 보다 높을 경우 혐기성 부숙 및 한냉지에서 동결이 발생되게 한다(17). 본 연구에서 개발된 미생물 제제를 첨가한 발효산물의 암모니아 농도는 12.35 mg/L으로 K사의 미생물 제제를 첨가한 발효산물의 암모니아 농도인 24.70 mg/L보다 더 낮게 나타났다. 따라서 본 연구 결과는 돈분 발효균주의 선택에 따라 생산된 액체비료의 암모니아 가스양을 감소시킬 수 있음을 보여주고 있으며, 또한 악취의 또 다른 원인 물질 중에 하나인 황화수소 역시 감소시킬 수가 있었다(data not shown).

감사의 말

이 연구는 2002년도 중앙대학교 교내연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Atkinson, C.F., D.D. Jones, and J.J. Gauthire. 1996. Biodegradabilities and microbial activities during composting of municipal solid waste in bench-scale reactors. *Compost Sci. Util.* 4, 14-23.
2. Blanc, M., L. Marilley, T. Beffa, and M. Aragno. 1997. Rapid identification of heterotrophic, thermophilic, spore-forming bacteria isolated from hot composts. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 1246-1248.
3. Claus, D. and R.C.W. Berkeley. 1872. Genus *Bacillus* cohn, p. 1105-1139. In P.H.A. Sneath (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland.
4. Hong, O.P. and S.Y. Lee. 1999. Composting of organic waste by solid state fermentation reactor. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27, 311-319.
5. Hong, S.S. and N.H. Lee. 1993. Growth of *Spirulina platensis* in effluents from wastewater treatment plant of pig farm. *J. Microbiol. Biotechnol.* 3, 19-23.
6. Ishihara, H., M. Takoh, R. Nishibayashi, and A. Sato. 2002. Distribution and variation of bacitracin synthetase gene sequences in laboratory stock strains of *Bacillus licheniformis*. *Curr. Microbiol.* 45, 18-23.
7. Kim, N.J., M. Mitsuyo, and M. Shoda. 2000. Comparison of organic and inorganic packing materials in the removal of ammonia gas in biofilters. *J. Hazard. Mater.* B72, 77-90.
8. Kim, S.H., K.J. Oh, J.H. Moon, and D.G. Kim. 2000. Simultaneous removal of hydrogen sulfide and ammonia using *Thiobacillus* sp. IW in a three-phase fluidized-bed bioreactor. *J. Microbiol. Biotechnol.* 10, 419-422.
9. Kuroda, K., D. Hanajima, Y. Fukumoto, K. Suzuki, S. Kawamoto, J. Shima, and K. Haga. 2004. Isolation of thermophilic ammonium-tolerant bacterium and its application to reduce ammonia emission during composting of animal wastes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68, 286-292.
10. Lee, S.J, H.S. Kim, B.D. Yoon, and H.M. Oh. 1999. Advanced treatment of swine wastewater by *Botryococcus braunii* in a tubular bioreactor. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27, 153-158.

Table 3. Comparison of the nutrient content of compost products fermented by K company's microbial additive and the developed microbial additive

Composition	Content (% w/w)	
	K product ^a	D product ^b
Organic compound	73.50	61.90
N	1.60	1.60
C/N	26.60	22.40
P	0.18	0.21
K	1.20	1.00

^aThe product fermented by the microbial additive of K company.

^bThe product fermented by the developed microbial additive.

11. Lee, S.T., T.I. Mheen, H.U. Kim, and M.H. Han. 1978. Studies on Recycling of feedlot waste. (Part 1) Microbial and chemical changes during the fermentation of swine feces-corn meal mixture. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 6, 17-22.
12. Lee, Y.O., C.K. Cho, H.W. Ryu, and K.S. Cho. 2002. Removal of malodorous Gases from swine manure by a polyurethane biofilter inoculated with heterotrophic and autotrophic bacteria. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 30, 91-97.
13. Manios, T. 2004. The composting potential of different organic solid wastes: experience from the island of Crete. *Environ. Int.* 29, 1079-1089.
14. Mascher, T., N.G. Margulis, T. Wang, W.Y. Rick, and J.D. Hellmann. 2003. Cell wall stress responses in *Bacillus subtilis*: the regulatory network of the bacitracin stimulon. *Mol. Microbiol.* 50, 1951-1604.
15. Nakada, Y. and Y. Ohta. 1999. Purification and properties of hydrogen sulfide oxidase from *Bacillus* sp. BN53-1. *J. Biosci. Bioeng.* 87, 452-455.
16. Nakasaki, K., M. Shoda, and H. Kubota. 1985. Effect of temperature on composting of sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 1562-1530.
17. Ryckeboer, J., J. Mergaert, J. Coosemans, K. Deprins, and J. Swings. 2003. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *J. Appl. Microbiol.* 94, 127-137.
18. Sweeten, J.M. 1988. Odor measurement and control for the swine industry. *J. Environ. Health* 50, 282.
19. Tiquia, S.M., N.F.Y. Tam, and I.J. Hodgkiss. 1996. Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Bioresour. Technol.* 55, 201-206.
20. Tiwari, R.S., K.S. Cho, M. Hirai, and M. Shoda. 1992. Biological deodorization of dimethyl sulfide using different fabrics as the carriers of microorganisms. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 32, 135-148.
21. Veeken, A., V. de Wiled, H. Welders, and B. Hamelers. 2004. Advanced bioconversion of biowaste for production of a peat substitute and renewable energy. *Bioresour. Technol.* 92, 121-131.

(Received 27 May, 2004/Accepted 11 June, 2004)

ABSTRACT : Studies on the Isolation and Identification of *Bacillus* sp. for the Composting of Swine Manure and the Removal of Malodorous Gases from its Liquid Compost
Kue-Dong Kim, Ki-Yeon Kim, and Young-Tae Hahm* (Department of Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea)

Bacillus species were isolated from swine manure to develop the microbial additive suitable for the rapid composting. The 3 of 4 isolated strains were identified as *Bacillus cereus* KD-2, *B. pumilus* KD-3, and *B. licheniformis* KD-4. *Bacillus* sp. KD-1 was, however, not highly identical with any *Bacillus* sp. The isolated strains were analyzed their growth rates, enzyme activities, and antibacterial activities. The maximum growth temperatures of KD-1, KD-2, KD-3 and KD-4 were 45°C, 50°C, 53°C, and 55°C, respectively. The activities of protease or amylase in mixed culture of 4 strains were similar in the range of 37°C to 53°C and activities of lipase in the range of 37°C to 42°C were twice higher than those of lipase in the range of 47°C to 53°C. The antibacterial activity of KD-1, KD-2, or KD-3 against each other was not detected. That of KD-4 against KD-1, KD-2, or KD-3 was, however, detected. The organic compound and C/N ratio of compost fermented by the mixed culture were determined as 61.9% and 22.4%, respectively. The concentration of the ammonia gas was 12.35 mg/l in the liquid compost.