

# 메탄산화세균의 활성에 미치는 tobermolite, perlite 및 Polyurethane 담체의 영향

정소연, 윤희영, 김태관, 조경숙\*  
이화여자대학교 환경공학과

Received : January 9, 2013 / Revised : March 18, 2013 / Accepted : March 31, 2013

**Effect of Tobermolite, Perlite and Polyurethane Packing Materials on Methanotrophic Activity.** Jeong, So-Yeon, Hee-Young Yoon, Tae Gwan Kim, and Kyung-Suk Cho\*. *Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea*

Biofilters for the removal of methane using tobermolite, perlite and polyurethane as packing materials have been undergoing recent development. The effects of these packing materials on methane oxidation activity were evaluated in this study. Mixed methanotrophs (consortia A, B, C and D) from wetland and landfill soils were used as the inoculum sources. The influences of packing materials, consisting of tobermolite, perlite, and polyurethane, on the methane oxidation rate and methanotrophic biomass, were estimated. When perlite was added into the methanotrophic cultures, the methane oxidation rate was more than twice that of the control (without packing materials), and the methanotrophic biomass increased more than 10 fold. The ratio of methanotrophic bacteria to total bacteria under with tobermolite packing material was higher than the control and the other packing materials, indicating that tobermolite can serve as a specific packing material where dominance of methanotrophs is desired. Therefore, perlite and tobermolite provide habitats which increase the activity of methanotrophic bacteria, and these packing materials are promising for use in methane oxidation processes.

**Keywords:** Methane, methanotrophs, tobermolite, perlite, polyurethane

## 서 론

메탄은 생물적, 비생물적 과정에 의해 생성되는 기후변화를 초래하는 대표적인 온실가스로[22], 이산화탄소보다 20배 이상 높은 온실효과를 가지고 있다[5]. 메탄은 무색, 무취 가스로[14] 대기 중에 방출된 후 체류하는 시간이 다른 온실가스에 비해 짧으며 이산화탄소에 이어 두번째로 기여도가 높은 온실가스이다. 메탄의 주요 발생원은 매립지와 폐기물 처리 시설 등과 같은 인위적 발생원과 논 및 습지 등과 같은 자연적 발생원이며[7], 그 중 매립지는 전 지구적으로 인위적 발생에서 18%를 차지하고 있다[6]. 메탄은 에너지 생성을 위해 회수하거나 다양한 기술을 이용해서 현장에서 처리될 수 있다. 고농도로 배출되는 메탄은 회수하여 에너지원으로 활용할 수 있지만 소규모의 매립지나 저농도로 배출되는 메탄

은 자원으로 회수가 곤란하다. 온실가스인 메탄의 배출저감을 위해 자원으로 회수가 어려운 저농도 메탄의 처리 방법으로 메탄을 분해하는 미생물을 이용한 생물학적 기술에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다[2]. 생물학적 메탄 저감 방법은 경제적인 기술로 잘 알려져 있으며, 매립가스 배출량이 적거나 시간이 많이 경과한 매립지의 경우는 메탄산화세균 활성과 다양한 담체를 충전재로 사용한 바이오커버 혹은 바이오필터를 활용하여 메탄을 처리할 수 있다[9]. 메탄산화세균은 유일 탄소원과 에너지원으로 메탄을 활용하며 methane monooxygenase (MMO)라는 효소를 이용해 메탄을 메탄올로, 최종적으로는 이산화탄소로 산화시킨다[12]. 담체는 미생물의 농도와 특성을 향상시키며, 미생물이 밀집하여 성장할 수 있는 서식지를 제공해야 한다[16]. 충전재로 사용하는 담체는 넓은 표면적과 높은 수분보유능이 요구되며[8] 적절한 입경을 가지고, 가격이 저렴해야 한다. 현재 많이 사용되고 있는 생물유래 유기성 담체는 토양, compost 등이 대표적이며 쉽게 이용이 가능하고 미생물 성장에 필수적인 질소나 인과 같은 영양분이 함유되어 있는 장점이 있다[17]. 또

### \*Corresponding author

Tel: +82-2-3277-2393, Fax: +82-2-3277-3275

E-mail: kscho@ewha.ac.kr

© 2013, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

한 비표면적과 공극률이 크며, 수분보유량도 뛰어나지만 담체의 변형(막힘) 및 생분해될 수 있는 단점을 가지고 있다[1, 21]. 이러한 단점을 보완하기 위한 목적으로 최근에는 polyurethane, tobermolite 및 perlite와 같이 생분해에 견딜 수 있는 불활성 담체가 많이 사용되고 있다[15]. Tobermolite와 perlite는 다공질로서 넓은 표면적을 가지며, 수분 보유능이 뛰어난 특징을 가지고 있다[14, 19]. 또한, polyurethane 폼은 가볍고 고농도의 미생물이 부착, 성장 가능하며 공극의 크기를 조절할 수 있고 통기성이 우수하다[1]. 본 연구에서는 메탄산화세균을 이용하여 메탄산화세균의 활성과 증식에 미치는 tobermolite, perlite 및 polyurethane 담체의 영향을 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 담체 및 접종원

담체는 tobermolite (JawooBio, Korea), perlite (Hyuga pumice, Japan), polyurethane (Seilsponge, Korea)을 사용하였으며, 각각의 크기는 3-8 mm, 4-5 mm, 5×5×5 mm이다. 상기 담체를 autoclave 후 메탄에 대한 흡착율을 평가한 결과, 무생물학적 흡착에 의해 메탄이 제거되지 않는다는 것을 확인하였다(결과 미제시). 각 담체의 특성을 Table 1에 나타내었다. 담체를 수돗물로 세척한 후 3차 증류수로 마지막 세척하고 나서 tobermolite와 perlite는 105°C 오븐에서 24시간 건조시키고, polyurethane은 60°C 오븐에서 건조시켰다. 접종원은 충남 공주시 금강 유역의 습지 토양에서 분리한 메탄산화 혼합균 A와 혼합균 C, 가평매립지와 공주매립지 토양에서 분리한 메탄산화 혼합균 B와 혼합균 D를 사용하였다[13].

### 메탄산화능에 미치는 담체의 영향

접종원은 습지 토양과 매립지 토양에서 분리한 혼합 메탄산화세균을 nitrate mineral salts (NMS) 배지에서 유일 탄소원으로 메탄가스 5%(v/v)를 주입하여 배양하였다. NMS 배

Table 1. Property of packing materials.

Property	Tobermolite	Perlite	Polyurethane [20]
Water holding capacity (w/w, %)	109.5	64.6	5700
pH	7.0	6.0	7.0
Bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	0.276	0.470	0.015
Skeletal density (g/cm <sup>3</sup> )	2.281	2.084	-
Porosity (v/v, %)	72.1	70.4	98.8
Surface area (m <sup>2</sup> /g)	119.1	32.1	76.81
Intrusion volume (ml/g)	1.131	1.083	13.200

지 조성은 다음과 같다; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5 g·L<sup>-1</sup>, CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1 g·L<sup>-1</sup>, KNO<sub>3</sub> 5 g·L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.36 g·L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 3.585 g·L<sup>-1</sup>, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.75 g·L<sup>-1</sup>, Trace element solution(FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 200 mg·L<sup>-1</sup>, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 10 mg·L<sup>-1</sup>, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 3 mg·L<sup>-1</sup>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 30 mg·L<sup>-1</sup>, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 20 mg·L<sup>-1</sup>, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1 mg·L<sup>-1</sup>, NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 2 mg·L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 3 mg·L<sup>-1</sup>). 메탄산화능에 미치는 담체의 영향 실험은 2번에 걸쳐 수행하였는데, 첫 번째 실험은 혼합균 A와 B를 접종원으로 사용하였고, 두 번째 실험은 혼합균 C와 D를 접종원으로 사용하였다.

첫 번째 실험은 혼합균 A와 혼합균 B를 각각 3 ml, NMS 배지 17 ml을 혼합하여 만든 20 ml의 접종원용액에 15 g perlite, 10 g tobermolite, 0.5 g polyurethane 담체를 넣어 담체 표면에 미생물이 부착되도록 하였다. 멸균한 600 ml 혈청병에 filter paper를 넣고 접종원-NMS 배지 20 ml을 분주한 후 상기의 방법으로 준비한 담체를 넣었다. 대조군은 담체 첨가 없이 접종원-NMS 배지만 20 ml을 분주하였다. Perlite와 tobermolite 및 polyurethane 각각의 총 부피는 40 ml, 40 ml, 30 ml이었다.

첫 번째 실험 결과를 참고로 하여 더 정확한 담체별 비교를 위해 두 번째 실험에서는 모든 담체의 총 부피를 동일하게 맞추어 주었다. 혼합균 C와 혼합균 D를 각각 3 ml, NMS 배지 17 ml을 혼합하여 만든 20 ml의 접종원 용액에 10 g perlite, 8 g tobermolite, 0.5 g polyurethane 담체를 넣어 담체 표면에 미생물이 부착되도록 하였다. 멸균한 600 ml 혈청병에 filter paper를 넣고 접종원-NMS 배지 20 ml을 분주한 후 상기의 방법으로 준비한 담체를 넣었다. 대조군은 담체 첨가 없이 접종원-NMS 배지만 20 ml을 분주하고, 각 담체의 총 부피는 모두 30 ml로 동일하게 하였다. 이렇게 준비한 담체-접종원-NMS 배지 혼합물을 혈청병에 넣고, 고무마개로 밀봉한 후 탄소원으로 메탄가스(99.9%)를 최종농도가 10%(v/v) 되도록 주입해 주었다. 혈청병은 빛에 대한 영향을 차단하기 위해서 30°C 배양기 안에서 정지 배양하였다. 배양하면서 혈청병 상부 가스를 0.3 ml 채취하여 가스 크로마토그래피로 메탄의 농도를 측정하였다. 혈청병 상부의 메탄농도가 5000 ppm 이하로 떨어지면 혈청병의 고무마개를 열어 공기를 치환해 주었다. 다시 혈청병을 고무마개로 밀봉하고 메탄을 10%(v/v) 농도가 되도록 재주입 해주는 과정을 첫 번째 실험에서는 5회 반복하였다. 첫 번째 실험 관찰 시 메탄 재주입 과정에서 4회 이후 메탄산화속도가 감소하는 경향을 보여 두 번째 실험에서는 메탄 재주입을 3회 반복하였다. 모든 실험은 3반복으로 수행하였다.

### 일반세균과 메탄산화세균 정량 분석

각 담체별 메탄산화세균의 활성과 증식에 미치는 영향을

알아보기 위해 quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR)을 수행하여 메탄산화세균을 정량적으로 분석하였다. DNA 추출과 qRT-PCR을 수행하기 위해 담체에 0.9% NaCl 용액 부피비로 10배가 되도록 첨가한 후 초음파 처리를 하여 세균을 회수한 후, Nucleospin®Soil (Macherey-Nagel) Kit를 사용해 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA를 template로 하여 *pmoA*-specific primer A189f(5'-GGNGACTGGGACTTCTGG-3')와 mb661r(5'-CCGGMGCA-ACGTCYTTACC-3')을 이용하여 메탄산화세균을 검출하였다[11]. 총 박테리아는 16S rRNA 유전자를 증폭하는 340f(5'-TCCTACGGGAGGCAGCAG-3')와 805r(5'-GACTAC-HVGGGTATCTAATCC-3') primer를 사용하여 정량하였다[10]. 메탄산화세균 정량을 위해 다음과 같은 조건으로 qRT-PCR을 수행하였다. 95°C에서 3분 동안 pre-denaturation 후 95°C에서 15초 denaturation, 55°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension 과정을 40 cycles 반복한 후 82°C에서 30초 동안 final extension을 수행하였다. 총 세균 정량의 qRT-PCR 조건은 95°C에서 3분 동안 pre-denaturation 후 95°C에서 15초 denaturation, 50°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension 과정을 40 cycles 반복한 후 82°C에서 30초 동안 final extension을 수행하였다.

### 분석 방법

혈청병 내의 담체별 메탄산화속도를 계산하기 위해서 메탄 주입농도와 분해농도는 FID (Flame Ionization Detector)가 장착된 가스 크로마토그래피(Agilent 6850N, Santa Clara, US)로 측정하였다. 분석 조건은 Supelcowax column (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, Supelco Inc., Bellefonte, US)을 장착하였고, 오븐 온도 100°C, 주입부 온도 230°C, 검출기 온도 230°C에서 수행하였다. 유리주사기(gas-tight syringe)를 이용해서 혈청병 상부 가스를 0.3 ml 채취하여 메탄 주입농도와 혈청병 내 잔류농도를 측정하였다.

### 결과 및 고찰

첫 번째 실험의 메탄산화 혼합균 A를 각 담체별로 분주한 후 최초 메탄 주입 시 시간에 따른 메탄 농도의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 대조군(담체 미첨가)에서는 초기 메탄 주입 후 10%(v/v) 메탄을 모두 분해하는데 8.8일 이상이 소요되었다. Perlite를 첨가한 조건에서는 메탄을 최초 1회 주입 시 3.7일 만에 메탄농도 10%(v/v)를 분해하여 가장 빠른 속도로 메탄이 산화된 것을 확인할 수 있었다. Tobermolite를 첨가한 경우에는 약 6.9일 경과 시까지 다른 담체에 비해 산화속도가 느리게 나타났지만 약 7일이 지나면서 급속하게 빨라지는 것으로 나타났다. 혼합균 B도 tobermolite에서 시간이

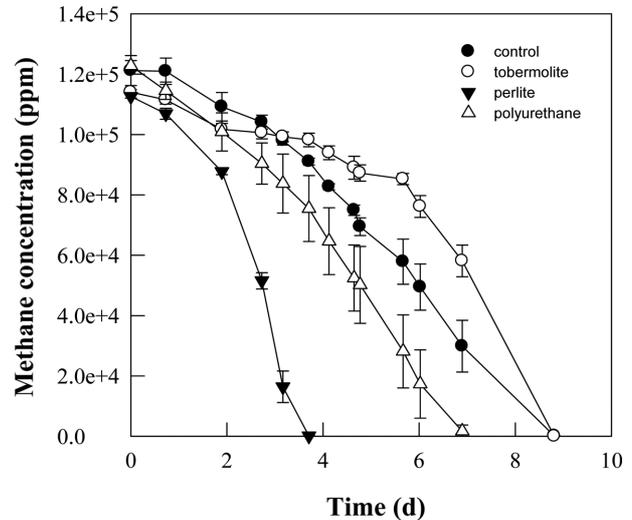
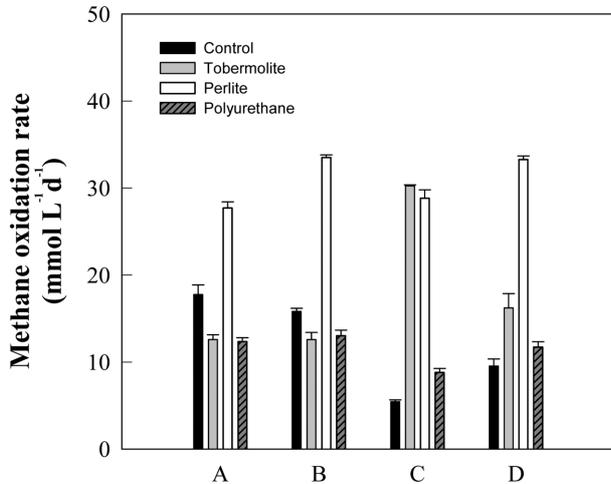


Fig. 1. Time profile of methane concentration in the consortium A culture supplemented with different packing materials (the first experiment).

경과함에 따라 속도가 빨라졌다. Tobermolite 첨가 시 초기 메탄산화속도는 다른 담체에 비해 느리게 나타나고 있지만 시간의 경과에 따라 속도가 빨라지고 있으며, 메탄을 두 번째 주입하여 관찰한 경우 혼합균 A는 약 1.2일, 혼합균 B는 약 2.8일 경과시점에 메탄이 모두 분해되었다(결과 미제시). 메탄산화세균이 tobermolite 담체에 적응하고 안정화 기간이 지나면 메탄산화 활성을 증가시키고, 메탄산화속도가 빨라질 것이라고 추측된다. Pawłowska[18]의 연구에 따르면 바이오필터의 메탄산화에 관한 실험에서 시간이 경과할수록 메탄산화세균의 산화능이 증가하며 제거량이 최대값에 도달함을 보여주었다. Polyurethane을 첨가한 경우에는 최초 주입 시 약 7일 만에 메탄이 모두 분해되어 perlite 다음으로 빠른 속도를 나타냈지만 시간이 경과할수록 속도가 느려지는 양상을 보여주었다.

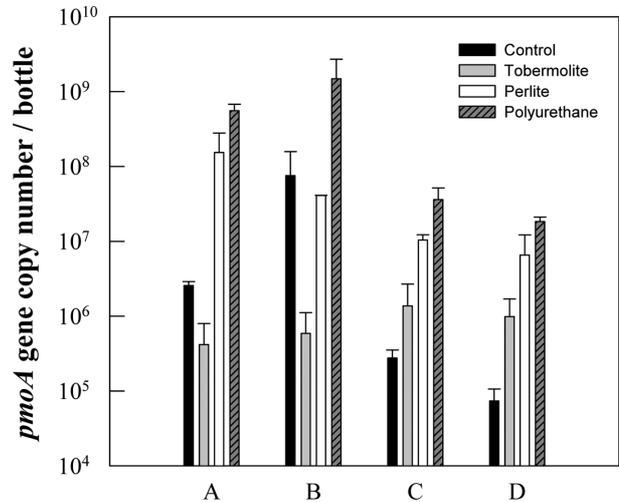
각 담체를 첨가한 조건에서 모든 혼합균의 메탄산화속도를 계산하여 Fig. 2에 나타내었다. 담체별 실험 종료 시간이 상이하여 동일한 조건의 결과값을 위해 메탄산화속도는 각 담체별 메탄산화세균의 메탄 분해량을 총 관찰 시간과 총 부피로 나누어 계산하였다. 혼합균 A는 담체를 첨가하지 않은 대조군에서  $17.8 \pm 1.10 \text{ mmol L}^{-1}\text{d}^{-1}$  메탄산화속도를 나타냈으며, perlite를 첨가한 경우의 메탄산화속도는  $27.7 \pm 0.71 \text{ mmol L}^{-1}\text{d}^{-1}$ 로 대조군과 비교 시 메탄산화율이 약 66% 증가하였다. 혼합균 B는 perlite 첨가 시  $33.5 \pm 0.30 \text{ mmol L}^{-1}\text{d}^{-1}$ 의 메탄산화속도를 보였으며, 다른 담체와 비교 시 2배 이상의 높은 값을 나타내었다. 혼합균 C의 메탄산화속도는 tobermolite를 첨가했을 시  $30.2 \pm 0.13 \text{ mmol L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , perlite를 첨가한 경우에는  $28.8 \pm 0.98 \text{ mmol L}^{-1}\text{d}^{-1}$ 의 값을 나타내어 poly-



**Fig. 2. Comparison of methane oxidation rates at different packing materials.** (A) and (C), methane-oxidizing consortia originating from wetland soil; and (B) and (D), methane-oxidizing consortia from landfill cover soil.

urethane 보다 3배 이상의 높은 값을 보여주고 있다. 혼합균 D 역시 perlite를 첨가했을 때  $33.3 \pm 0.41 \text{ mmol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 의 가장 높은 메탄산화속도를 나타내었으며, tobermolite에 비해 2배 이상의 속도를 보여주었다. 혼합균 C와 혼합균 D는 담체를 첨가하지 않은 대조군과 비교해 모든 담체에서 메탄산화속도가 증가하였다. 이와 같이 네 종류의 혼합균 모두 perlite 첨가 조건에서 메탄산화속도가 2배 이상 증가하였고, tobermolite 첨가 조건에서는 메탄산화속도가 대조군과 유사하거나 1.5-2배 정도 증가하였다. 그러나 polyurethane 첨가는 메탄산화속도를 항상 시키는데 크게 기여하지 않았다. 박테리아 접종원의 매개체로써 perlite 영향에 관한 연구에 따르면 perlite가 미생물의 높은 군집을 유지할 수 있다고 나타내고 있다[3]. 생물학적 메탄저감 기술에서 담체는 메탄산화 효율을 증진시키는 중요한 역할을 한다. 담체 이외에도 환경요인으로서 온도, 영양분, pH, 습도 등은 큰 영향을 미칠 수 있다[4, 14].

메탄산화세균의 메탄산화 유전자 중 하나인 *pmoA* 유전자를 타겟으로 하는 qRT-PCR을 수행하여 메탄산화세균 수를 측정하여 Fig. 3에 제시하였다. 혼합균 A의 각 담체별 *pmoA* 유전자 copy number는 perlite와 polyurethane에서 각각  $1.5 \times 10^8 \pm 1.3 \times 10^8$ ,  $5.5 \times 10^8 \pm 1.2 \times 10^8$ 로 가장 많은 수가 검출 되었으며, 대조군의  $2.6 \times 10^6 \pm 3.4 \times 10^5$ 에 비해 약 100배 많이 존재하였다. 혼합균 B와 혼합균 C의 qRT-PCR 결과는 polyurethane에서 각각  $1.5 \times 10^9 \pm 1.2 \times 10^9$ ,  $3.6 \times 10^7 \pm 1.5 \times 10^7$ 를 나타내 가장 많은 수를 확인하였고, 그 다음으로 perlite에서 많이 관찰되었다. 혼합균 D는 polyurethane 과 perlite에서 gene copy number가 각각  $1.8 \times 10^7 \pm 2.7 \times$



**Fig. 3. Comparison of methanotrophic population densities at different packing materials.** (A) and (C), methane-oxidizing consortia originating from wetland soil; and (B) and (D), methane-oxidizing consortia from landfill cover soil.

$10^6$ ,  $6.5 \times 10^6 \pm 5.6 \times 10^6$ 으로 가장 많은 메탄산화세균이 존재하였고, 대조군의  $7.4 \times 10^4 \pm 3.2 \times 10^4$ 와 비교해 100배 이상의 수를 나타내었다. 혼합균 C와 혼합균 D는 대조군과 비교해 모든 담체에서 더 많은 메탄산화세균이 서식함을 확인할 수 있었다. Polyurethane에서는 메탄산화세균 수는 증가 하였지만 메탄산화속도가 크게 증가하지 않았다(Fig. 2). Polyurethane 담체 첨가 시 메탄산화세균 수 증가와 활성 증가가 일치하지 않는 원인에 대한 연구가 향후 필요하다. 그러나 perlite는 메탄산화세균의 서식지 제공과 동시에 메탄산화 효율을 증가시키는 담체로 작용하였다.

Fig. 4는 일반세균의 qRT-PCR 결과를 나타내었다. 모든 혼합균이 polyurethane 담체에서 가장 많은 메탄산화세균이 존재한 것과 마찬가지로 일반세균 수도 가장 많이 검출되었다. Polyurethane을 담체로 첨가한 경우 메탄산화세균 수에 비해 메탄산화속도가 증가하지 않은 이유에는 일반세균 수의 비율이 상대적으로 높은 것도 하나의 원인이 되었을거라 판단된다. 특히, 혼합균 C와 D는 polyurethane에서 일반세균 수가 각각  $1.8 \times 10^{11} \pm 1.8 \times 10^{10}$ ,  $5.3 \times 10^{11} \pm 2.4 \times 10^{11}$ 를 나타내어 대조군과 비교해 100배 이상 많은 수가 확인되었다.

일반세균 수 대비 메탄산화세균 수의 비율을 Fig. 5에 제시하였다. 본 실험에 사용한 혼합균은 농화배양되어 최소 6개월 이상 안정적으로 유지 관리되었다. 따라서 비메탄산화세균 수와 메탄산화세균의 비율은 실험기간 동안 크게 변하지 않았을 것이며, 담체를 첨가하지 않은 대조군의 결과를 초기 접종원과 유사하다고 생각할 수 있다. 또한, 부유증식

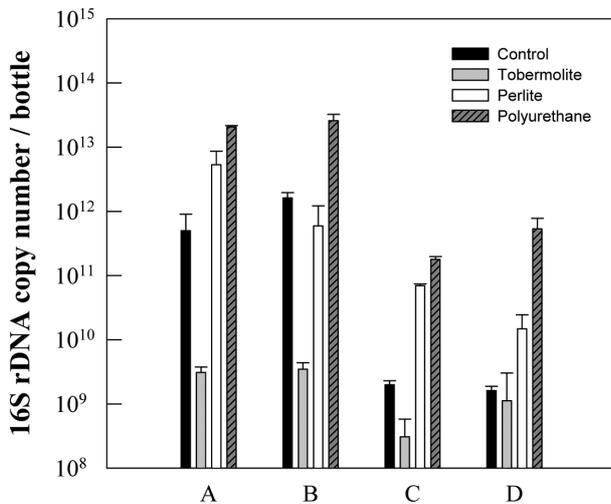


Fig. 4. Comparison of bacteria population densities at different packing materials.

(A) and (C), methane-oxidizing consortia originating from wetland soil; and (B) and (D), methane-oxidizing consortia from landfill cover soil.

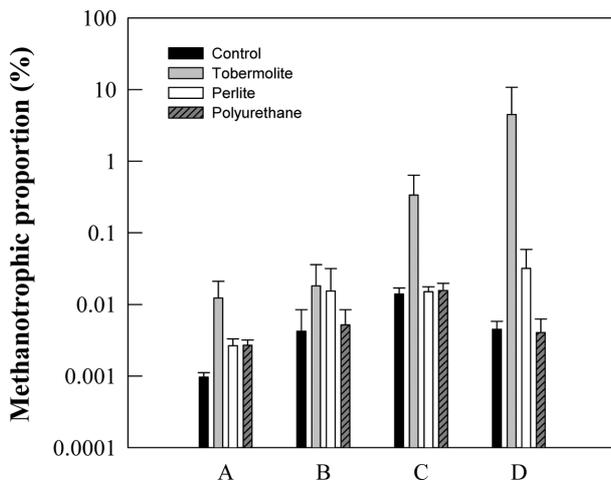


Fig. 5. Comparison of methanotrophic proportions (to total bacteria) at different packing materials.

(A) and (C), methane-oxidizing consortia originating from wetland soil; and (B) and (D), methane-oxidizing consortia from landfill cover soil.

에서 부착증식으로 전환 시 비메탄산화세균 수와 메탄산화세균의 비율은 시간의 경과에 영향을 받지 않았다[10]. 메탄산화세균의 비율을 각 담체별로 통계적 분석을 한 결과, 혼합균 B는 각 담체별로 유의미한 차이가 없었다. 혼합균 B를 제외하고 모든 혼합균이 tobermolite에서 메탄산화세균의 비율이 다른 담체에 비해 많음을 확인하였다. 혼합균 A는 tobermolite에서 다른 담체에 비해 10배 정도 메탄산화세균의 비율이 더 높았으며, 혼합균 C에서는 약 30배 높은 값을

보여주었다. 혼합균 D는 tobermolite에서 메탄산화세균 수의 비율이 약 4.5%로 대조군과 polyurethane에 비해 1,000배 더 높은 비율을 나타내었으며, perlite와 비교해 100배 이상의 비율이었다. 즉, tobermolite는 메탄산화세균의 메탄산화 활성을 향상시키지는 않았지만, 빠른 시간 내에 메탄산화세균이 우점할 수 있는 특이적 서식지를 제공할 수 있었다. 추후 메탄산화세균의 군집 분석 및 메탄산화세균과 비 메탄산화세균이 공존할 경우 메탄산화속도에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다. 또한 메탄산화 공정 시스템에서 perlite와 tobermolite를 담체로 적용 시 메탄산화세균의 서식지 역할과 메탄산화 효율을 관찰하기 위한 연구가 필요할 것이라 판단된다.

## 요 약

Tobermolite, perlite 및 polyurethane을 충전재로 이용한 바이오필터에 의한 메탄제거 기술이 개발되고 있다. 본 연구에서는 이들 충전재가 메탄산화능에 미치는 영향을 알아보았다. 습지토양과 매립지토양에서 분리한 혼합 메탄산화세균(consortium A, B, C and D)를 접종원으로 하고, 메탄산화속도와 메탄산화세균 수에 미치는 담체(perlite, tobermolite, polyurethane)의 영향을 조사하였다. Perlite를 첨가한 경우 메탄산화속도는 대조군(담체 미첨가)보다 두 배 이상 증가하였고, 메탄산화세균 수도 10배 이상 증가하였다. Tobermolite를 첨가한 경우에는 일반세균 수 대비 메탄산화세균의 비율이 대조군과 다른 담체에 비해 높았다. 이는 tobermolite가 메탄산화세균이 우점할 수 있는 특이적 담체로 작용함을 시사한다. 이상의 결과로부터 perlite와 tobermolite는 메탄산화세균의 활성을 증가시키는 서식지를 제공하며 메탄산화 공정시스템에 적용 시 좋은 담체의 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

## Acknowledgements

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (MEST) (NRL program, R0A-2008-000-20044-0).

## References

1. Cha, G. S. 2006. Estimation of biofilter media for removal of ammonia. *Korean J. Odor Res. Eng.* **5**: 146-150.
2. Cho, K. S. and H. W. Ryu. 2009. Biotechnology for the mitigation of methane emission from landfills. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 293-305.
3. Daza, A., C. Santamaria, D. Rodriguez-Navarro, M. Camacho,

- R. Orive, and F. Temprano. 2000. Perlite as a carrier for bacterial inoculants. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 567-572.
4. Gebert, J., A. Groenroeft, and G. Miehlich. 2003. Kinetics of microbial landfill methane oxidation in biofilters. *Waste Manage.* **23**: 609-619.
  5. Girard, M., P. Viens, A. A. Ramirez, R. Brzezinski, G. Buelna, and M. Heitz. 2012. Simultaneous treatment of methane and swine slurry by biofiltration. *J. Chem. Technol. Biot.* **87**: 697-704.
  6. He, R., J. Wang, F. F. Xia, L. J. Mao, and D. S. Shen. 2012. Evaluation of methane oxidation activity in waste biocover soil during landfill stabilization. *Chemosphere* **89**: 672-679.
  7. Hettiarachchi, V. C., P. J. Hettiaratchi, A. K. Mehrotra, and S. Kumar. 2011. Field-scale operation of methane biofiltration systems to mitigate point source methane emissions. *Environ. Pollut.* **159**: 1715-1720.
  8. Huber-Humer, M., J. Gebert, and H. Hilger. 2008. Biotic systems to mitigate landfill methane emissions. *Waste Manage. Res.* **26**: 33-46.
  9. Kettunen, R. H., J. K. M. Einola, and J. A. Rintala. 2006. Landfill methane oxidation in engineered soil columns at low temperature. *Water Air Soil Poll.* **177**: 313-334.
  10. Kim, T. G., T. Yi, E.-H. Lee, H. W. Ryu, and K.-S. Cho. 2012. Characterization of a methane-oxidizing biofilm using microarray, and confocal microscopy with image and geostatic analyses. *Appl. Microbiol. Biot.* **95**: 1051-1059.
  11. Kolb, S., C. Knief, S. Stubner, and R. Conrad. 2003. Quantitative detection of methanotrophs in soil by novel *pmoA*-targeted real-time PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 2423-2429.
  12. Kumaresan, D., M. Hry, L. Bodrossy, A. C. Singer, N. Stralis-Pavese, I. P. Thompson, and J. C. Murrell. 2011. Earthworm activity in a simulated landfill cover soil shifts the community composition of active methanotrophs. *Res. Microbiol.* **162**: 1027-1032.
  13. Lee, E.-H., T. Yi, K.-E. Moon, H. Park, H. W. Ryu, and K.-S. Cho. 2011. Characterization of methane oxidation by a methanotroph isolated from a landfill cover soil, south Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 753-756.
  14. Nikiema, J., L. Bibeau, J. Lavoie, R. Brzezinski, J. Vigneux, and M. Heitz. 2005. Biofiltration of methane: An experimental study. *Chem. Eng. J.* **113**: 111-117.
  15. Nikiema, J. and M. Heitz. 2010. The use of inorganic packing materials during methane biofiltration. *IJChER* **2010**: Article ID 573149.
  16. Ortiz, I., S. Revah, and R. Auria. 2003. Effects of packing material on the biofiltration of benzene, toluene and xylene vapours. *Environ. Technol.* **24**: 265-275.
  17. Pagans, E., X. Font, and A. Snchez. 2005. Biofiltration for ammonia removal from composting exhaust gases. *Chem. Eng. J.* **113**: 105-110.
  18. Pawłowska, M., A. Rożej, and W. Stępniewski. 2011. The effect of bed properties on methane removal in an aerated biofilter-Model studies. *Waste Manage.* **31**: 903-913.
  19. Philipoulos, A., J. Ruck, D. McCartney, and C. Felske. 2009. A laboratory-scale comparison of compost and sand-compost-perlite as methane-oxidizing biofilter media. *Waste Manage. Res.* **27**: 138-146.
  20. Ryu, H. W., K. S. Cho, and D. J. Chung. 2010. Relationships between biomass, pressure drop, and performance in a polyurethane biofilter. *Bioresour. Technol.* **101**: 1745-1751.
  21. Sene, L., A. Converti, M. Felipe, and M. Zilli. 2002. Sugarcane bagasse as alternative packing material for biofiltration of benzene polluted gaseous streams: a preliminary study. *Bioresour. Technol.* **83**: 153-157.
  22. Tate, K., A. Walcroft, and C. Pratt. 2012. Varying atmospheric methane concentrations affect soil methane oxidation rates and methanotroph populations in pasture, an adjacent pine forest, and a landfill. *Soil Biol. Biochem.* **52**: 75-81.