

Biological Treatment of Piggery Liquid Manure by Malodor Reducing Bacteria

Xiao-Tian Quan^{1†}, Jae-Hyeong Shin^{2†}, Yan-Qing Wang², Min-Gyung Choi², Sang-Min Kim³ and Soo-Ki Kim^{2*}

¹Department of Biological Sciences, School of Life Sciences, Nantong University, Jiangsu 226-019, P. R. China

²Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 05029, Korea

³Yeoju City Agricultural Technology Extension Center, Yeosu 12653, Korea

Received November 7, 2022 / Revised November 22, 2022 / Accepted November 25, 2022

Sulfur-oxidizing, ammonium-oxidizing, and nitrogen-oxidizing media were used to isolate bacteria to degrade malodor gas effectively in piggery manure or soil. Twelve different strains were isolated: *Paenibacillus amylolyticus*, *Rhodococcus jostii*, *Rhodococcus qingshengii*, *Rhodococcus opacus*, *Alcaligenes faecalis*, *Alcaligenes faecalis*, *Kastia adipate*, *Kastia adipata*, *Microbacterium oxydans*, *Halomonas campisalis*, *Acinetobacter oleivorans*, and *Micrococcus luteus*. By inoculating each strain in the piggery liquid manure by 1%, the pH in most strain treatments was maintained at 8.0. Total bacterial counts were maintained at 7.3~7.9 log CFU/ml until 15 days, and then they dropped dramatically down to 5.1~5.5 log CFU/ml. On the 30th day, the treatment group inoculated with *Rhodococcus opacus* SK2659 showed a relatively high level of ammonium nitrogen removal, which was 39% of that of the control group. When *Rhodococcus opacus* SK2659 was inoculated, H₂S concentration after 100 days was 3.23% compared with the control (no inoculation), suggesting that *Rhodococcus opacus* SK2659 is an excellent strain for removing malodor gas. The gas production of the treatments was lower than that of the control. The total accumulated amount of gas production in most strain treatments was a quarter of the gas production compared to the control throughout the experimental periods. *Acinetobacter oleivorans* SK2675 showed the lowest level at 12.39% compared to the control in gas production. In conclusion, the use of mixture strains, such as *Rhodococcus opacus* SK2659 and *Acinetobacter oleivorans* SK2675 isolated in this study could increase the efficacy of malodor gas reduction in the biological treatment of piggery manure.

Key words : Gas production, H₂S, malodor reducing bacteria, NH₄⁺-N, piggery liquid manure

서 론

가축분뇨를 저장하거나 부숙시키는 도중에 발생하는 악취는 사람과 주변환경을 오염시키기 때문에 친환경적 처리가 필요하다. 숙성된 가축분뇨로 처리된 퇴비는 경종 및 사료 작물포에 적용할 수 있고 친환경 순환농업을 하는데 중요한 역할을 하고 있다. 강우로 인한 표토유실과 장기간의 화학비료 사용으로 인하여 토양 비옥도가 매우 낮으므로 가축분뇨의 비료화는 이러한 문제를 해결하는 가장 좋은 해결책이다[19, 21, 32]. 그러나 축산분뇨는 악취로 인한 민원문제가 지속적으로 증가하고 있고, 돈분뇨

의 악취원인 물질로는 VFA (Volatile fatty acid), NH₃, H₂S, CH₄, amine 및 아산화질소(N₂O)류 등이 있는데 이들을 분해 이용할 수 있는 세균들을 이용하면 분뇨로 인하여 발생하는 악취를 현저하게 감소시킬 수 있다[5, 43, 48]. 돈분에는 sulphides, phenols, indoles 및 skatole과 같은 성분들이 악취를 유발시킨다. 이러한 성분들은 돼지의 대장이나 맹장에서 만들어지는데 이것을 억제하기 위하여 미생물 제제를 급여하기도 한다[16]. 돈분뇨의 악취발생물질 중 한 가지인 암모니아(NH₃)는 무색이면서 자극적이고 수용성 가스로 낮은 농도에서도 감지할 수 있다. 가축의 폐와 기관지 등의 직접 접촉되는 호흡기 조직과 신체장기에도 부정적 영향을 미친다[44]. 또 축산농가와 주변 농가에 많은 피해를 끼치므로 효율적인 암모니아 가스 제거가 매우 필요하다. 암모니아 생성에 관여하는 미생물 종으로 *Clostridium* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Streptococcus* sp. 등이 있고, 이 밖에 악취의 원인이 되는 황화수소와 아민을 생성한다[22]. 돈분 질소원의 79.5% 정도가 암모니아로 기화되는데[9], 37 ppm 농도에서 후각으로 감지할 수 있다[28]. 공기 중 140 ppm의 농도는 사람에게 참을 수 없는

†Authors contributed equally.

*Corresponding author

Tel : +82-2-450-3728, Fax : +82-2-458-3728

E-mail : sookikim@konkuk.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

자극이 되고[29], 5,000 ppm 이상의 농도에서는 호흡이 빠르게 정지된다[30]. 암모니아가스의 발생량은 계절적이면서도 시간적 영향을 많이 받는다[11, 34, 36]. 따라서 악취 저감을 위하여 물리적 처리, 화학적 처리, biofilter, 생화학적 습식 필터, ozone 처리법 및 미생물 등의 사료첨가제 연구들이 진행되었다[23, 45, 49]. 미생물은 돈분뇨에 악취를 발생시키기도 하고 감소시키기도 하는 두 가지 역할을 하는데, 주로 악취를 저감시키는 방향으로 연구되어 왔다[16, 42]. 미생물첨가제를 사용하면 돈분 내 암모니아를 60.7~68.2%까지 제거 가능하다고 하였다[47].

본 연구의 목적은 축산 농가에 활용할 수 있는 악취 제거용 미생물을 개발하기 위하여 돈분뇨 저장조와 토양 샘플에서 황, 질소 및 암모니아를 산화시키는 황산화균, 질소산화균 및 암모니아산화균의 선택배지를 이용하여 세균을 분리하고 동정한 후 양돈분뇨의 가스발생 저감 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

배지

악취제거용 균주를 분리하기 위하여 다음의 3종의 선택배지를 이용하였다[3]. 황산화균 분리용 배지 조성은 KH_2PO_4 2.0 g/l, K_2HPO_4 2.0 g/l, NH_4Cl 0.4 g/l, MgCl_2 0.2 g/l, FeSO_4 0.01 g/l, Na_2SO_3 8.0 g/l, Agar 15.0 g/l; 암모늄산화균 분리용 배지 조성은 Na_2HPO_4 13.5 g/l, KH_2PO_4 0.7 g/l, MgSO_4 0.5 g/l, FeCl_2 0.014 g/l, CaCl_2 0.18 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g/l, Agar 15.0 g/l; 질소산화균 분리용 배지 조성은 Na_2HPO_4 13.5 g/l, MgSO_4 0.1 g/l, KH_2PO_4 0.7 g/l, NaHCO_3 0.5 g/l, FeCl_3 0.014 g/l, CaCl_2 0.18 g/l, NaNO_2 0.5 g/l, Agar 15.0 g/l로, 121°C에서 20분간 멸균 후 각각의 평판배지를 사용하였다.

돈분뇨와 토양에서 세균의 분리 및 동정

돈분뇨와 토양을 각각 1 g씩 취하여 0.85% NaCl 용액으로 균질화 하였고, 연속 희석법으로 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$ 농도에 해당하는 샘플을 100 μl 씩 취하여 평판배지에 도말하였다. 30°C에서 24~36시간 배양 후 상이한 형태의 colony에 대하여 3회 연속으로 순수 분리하였다.

선발된 후보 균주를 동정하기 위하여 16S rDNA 유전자 서열을 분석하였다(SolGent, Korea). Primer로 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')을 사용하여 ABI PRISM 3730XL DNA analyzer로 분석하였다. Homology 검색은 NCBI의 BLAST를 이용하여 수행하였다.

돈분뇨의 pH, 미생물의 성장 및 가스 저감효과 측정

동일한 돈분뇨액을 균질하여 각 실험구별 3반복으로

2 l 플라스틱 병에 1 l씩 담고 분리 동정한 12종의 균주 배양액을 각각 1%씩 접종한 후 실험 기간 30일 동안 30°C 아크릴 수조에 넣어 측정하였다. 돈분뇨액의 pH는 AOAC 방법에 의해 15 ml tube에 표본을 5 ml 넣고 pH meter (HM-30R, DKK·TOA Co., Japan)를 이용하여 상온에서 pH를 3반복 측정하여 그 평균값으로 하였다. 총균수를 측정하기 위하여 플라스틱 병의 밑바닥까지 잠긴 관을 이용하여 시료를 채취한 후에 측정하였다. 암모니아 분석은 Indophenol 법[8]으로 돈분뇨액을 각 시간대별로 취하여 원심분리기(5415 D, EPPENDORF Co., Germany)로 상온에서 10,000 rpm, 3 min 원심분리 후 상층액에 phenol color reagent와 alkali-hypochlorite 반응액을 첨가하여 실온에서 20분간 반응시킨 후 96 well plate의 well당 샘플 200 μl 를 넣고, Micro plate reader (Synergy2, biotech Co., USA)로 3반복 측정된 수치를 blank 값으로 보정한 평균을 취하여 아래의 공식에 근거하여 계산하였다.

$$\text{NH}_4\text{-N} \text{ (mg/100 ml)} = \frac{\text{시료중 OD}}{\text{Standard OD}} \times \text{Standard 농도}$$

돈분뇨 발효액의 가스 생성량을 측정하기 위하여 플라스틱병에 장착된 가스 포집 주머니(Jensen, USA)로 발생하는 가스를 포집하고 유리주사기를 이용하여 측정하였다. 황화수소 가스 측정은 ODSA-P1 Sensor Gas Chromatograph (FIS Inc. Japan)로 악취기체 샘플 0.1 ml을 주변공기 0.9 ml과 혼합하여 측정하였다.

결과 및 고찰

악취제거 미생물 균주의 스크리닝 및 동정

본 연구에서는 돈분뇨와 토양을 분리원으로 하여 황산화균, 질소산화균, 암모늄산화균 선택배지에서 자라는 콜로니를 각각 분리한 후, LB 평판배지에서 상온에서 24시간에 잘 자라는 콜로니들을 다시 선별하였다. 돈분뇨에서 SK2654, SK2656, SK2657, SK2665, SK2672, SK2673, SK2675 및 SK2676 등 8개의 균주와 토양에서는 SK2658, SK2659, SK2660와 SK2662 등 4개를 포함하여 총 12개의 균주들을 확보하였다. 이중 황산화균 선택배지에서 SK2654, SK2656, SK2657, SK2658, SK2659, SK2660, SK2662, 질소산화균 선택배지에서 SK2665, 암모늄산화균 분리배지에서 SK2672, SK2673, SK2675, SK2676을 분리하여, 이들 균주들에 대하여 16S rDNA 유전자에 대한 염기서열로부터 Gene bank에서 상동성을 분석하였다(Table 1). SK2654 균주는 *Paenibacillus amylolyticus*와 99% 상동성을 나타내었다. *Paenibacillus amylolyticus*는 축분과 도축장에서 악취 성분이나 염색공장의 폐수에서 PVA (Polyvinyl alcohol)를 분해하는 것으로 보고되었다[4, 10]. SK2656과 SK2659 균주는 각각 *Rhodococcus jostii*와 *Rhodococcus opacus*와

Table 1. Strains isolated in this study

Strain	Media isolated	Source isolated	Identified by 16S rDNA	Query coverage (%)	Maximum identity (%)	Related reference
SK2654	Sulfur oxidizing	Piggery manure	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	100	99	[3, 10]
SK2656	Sulfur oxidizing	Piggery manure	<i>Rhodococcus jostii</i>	99	99	[40]
SK2657	Sulfur oxidizing	Piggery manure	<i>Alcaligenes faecalis</i>	100	99	[31]
SK2658	Sulfur oxidizing	Soil	<i>Rhodococcus qingshengii</i>	100	99	[13, 27]
SK2659	Sulfur oxidizing	Soil	<i>Rhodococcus opacus</i>	99	99	[20]
SK2660	Sulfur oxidizing	Soil	<i>Kaistia adipata</i>	98	99	[2, 14]
SK2662	Sulfur oxidizing	Soil	<i>Kaistia adipata</i>	99	99	[2, 14]
SK2665	Nitrogen oxidizing	Piggery manure	<i>Microbacterium oxydans</i>	100	99	[37, 38]
SK2672	Ammonium oxidizing	Piggery manure	<i>Alcaligenes faecalis</i>	99	100	[26]
SK2673	Ammonium oxidizing	Piggery manure	<i>Halomonas campisalis</i>	100	99	[12, 25]
SK2675	Ammonium oxidizing	Piggery manure	<i>Acinetobacter oleivorans</i>	100	99	[24]
SK2676	Ammonium oxidizing	Piggery manure	<i>Micrococcus luteus</i>	100	99	[6]

99% 상동성을 보였으며 각각 phenol 분해와 생물학적 탈황(Biodesulfurization)에 대하여 보고되었다[20, 40]. SK 2657과 SK2672 균주는 황화수소를 제거할 수 있는 균으로 알려진 *Alcaligenes faecalis*와 각각 99%, 100% 상동성을 나타내었다[26, 31]. SK2658 균주는 생물학적 탈황활성을 가지고 있는 *Rhodococcus qingshengii*와 99%[13, 27], SK2660과 SK2662 균주는 phenol 내성을 가지면서 산업지역 토양으로부터 분리된 *Kaistia adipata*와 99%의 유사성을 보였다[2, 14]. SK2665 균주는 유일한 질소원으로 탄화수소를 이용하는 균주이고 돈분에서 검출된 *Microbacterium oxydans*와 99% 상동성을 나타내었다[37, 38]. SK2673 균주는 암모니아와 질산염 제거균으로 알려진 *Halomonas campisalis*와 99% 상동성을 보였다[12, 25]. SK2675 균주는 탈질화 세균인 *Acinetobacter oleivorans*와 99% 유사성을 나타내었고[24], SK2676 균주는 암모니아 산화세균 *Micrococcus luteus*와 99%의 유사성을 나타내었다[6].

Bourque 등[7]에 의하면 양돈분뇨의 악취성분의 분해 연구에서 *Acinetobacter calcoaceticus* 균주는 phenol과 VFA (Volatile fatty acid)를, *Alcaligenes faecalis* 균주는 *p*-cresol과 VFA를, *Corynebacterium glutamicum*과 *Micrococcus* sp.는 phenol, *p*-cresol과 acetic acid와 propionic acid를 분해시키는데 매우 효과적이라고 하였다.

돈분뇨액의 pH 변화

분뇨액에 돈분뇨액에서 분리한 미생물들을 1%로 접종하여 시간이 경과함에 따라 pH의 변화를 측정하였다. 실험 중 pH는 7.8에서 시작하여 8.0까지 상승하였으나 모든 처리구에서 그 변동폭이 작게 나타났다(Fig. 1). 그 중 3일차 측정에서 미생물을 접종하지 않은 대조구에서 8.3으로 상승하였다가 다시 8.0으로 회복되는 것을 확인하였다. 전반적으로 세균을 접종한 돈분뇨액에서 비교적 낮은 pH를 나타내었다. Kang 등[18]의 연구에 의하면 돈분뇨액의

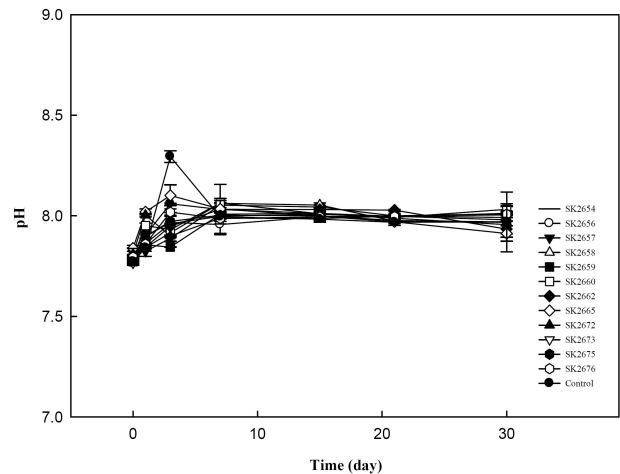


Fig. 1. Change of pH in piggery liquid manure.

pH는 8.4에서 부속을 거치면서 7.6까지 감소하는 경향을 보였다. Szanto 등[39]의 연구에 의하면 퇴비 처리과정을 통하면서 돈분의 pH는 8.3으로 낮아지는 경우와 8.5로 높아지는 경향이 있었는데 이는 본 실험 결과보다 pH가 조금 높은 편이다. 발효 초기 유기산 방출 등 원인으로 인해 낮아지다가 질소화합물에서 암모니아가 형성되면서 발효가 안정화되면 돈분뇨발효액의 pH가 중성 근처에서 안정화된다는 보고도 있다[15].

돈분뇨액의 총균수 변화

돈분뇨액에 SK2654, SK2656, SK2657, SK2658, SK2659, SK2660, SK2662, SK2665, SK2672, SK2673, SK2675 및 SK2676 등 12균주를 접종한 처리구와 균을 접종하지 않은 대조구에 있어서 0, 1, 3, 7, 15, 21 및 30일차 동안 총균수를 상용로그로 환산하여 변화과정을 Fig. 2에 나타내었다. 실험 7일차까지 *Rhodococcus jostii* SK2656 균주를 접종한 실험구를 제외한 모든 처리구와 대조구에서 7.3~

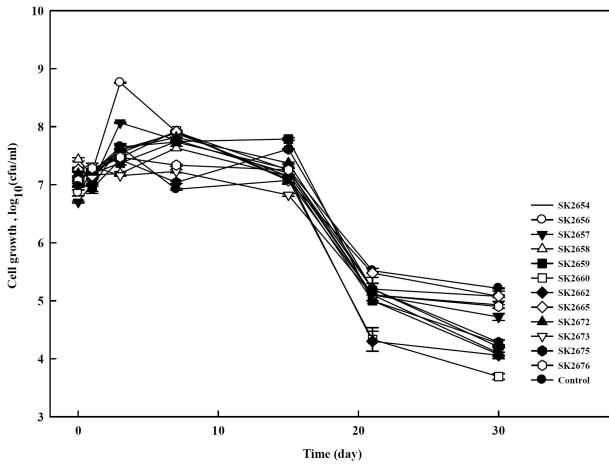


Fig. 2. Cell growth in piggery liquid manure.

7.9사이에서 총균수가 변화하였고, 실험 21일차부터 30일차까지 5.1~5.5사이로 급격히 감소하는 추세를 보였다. Tiquia 등[41]의 연구에 의하면 돈분 퇴비에서 상층, 중간 및 내부 균수의 평균을 살펴보면 0, 7, 14 및 35일차에 영양 중속균이 각각 8.28, 6.79, 6.80 및 8.12로 본 실험과 다른 성장 경향을 나타내었으나 최고 총균수는 비슷하게 나타내었다. 실험 21일차부터 돈분뇨액에서 미생물생장에 필요한 영양물질이 감소함으로 인한 결과로 판단된다.

돈분뇨액내 암모니아태질소 농도의 변화

처리구의 0, 1, 3, 7, 15, 21 및 30일차 암모니아태 질소 농도 변화는 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3A에서 나타낸 처리구간의 암모니아태 질소 농도변화는 발효 초기부터 15일차까지 거의 비슷한 변화량을 나타내었다. 실험 21일차부터 암모니아태 질소의 농도차이가 나타나기 시작하면서 시험 후반부인 30일차에는 *Rhodococcus jostii* SK2659 균주를 접종한 처리구가 대조구의 39% 수준을 나타내면

서 비교적 높은 암모니아태 질소 제거능을 보였다.

Fig. 3B는 전 실험구간 중 측정된 암모니아태 질소 농도를 누적한 결과를 나타내고 있다. *Rhodococcus jostii* SK2659를 접종한 처리구에서 대조구의 58%에 해당하는 발생량을 보였으며, 이를 통하여 Fig. 3A에서 나타낸 암모니아태 질소 제거능을 확인할 수 있었다. Aira 등[1]은 돈분뇨 실험개시 상태의 암모니아태 질소 농도가 2,400 ppm이라고 하였는데 본 실험보다 훨씬 높은 암모니아태 질소 농도이다. Yoon 등[46]의 연구에 의하면 암모늄 농도에 있어서 효모를 첨가한 처리구가 대조구보다 13.7% 감소하였다.

돈분액내 총 가스 발생량의 변화

돈분뇨에서 발생된 가스의 총량을 Fig. 4 A와 같다. 가스 발생은 발효 초기에 높은 발생량을 나타내다가 급격히 감소 후 15일차까지 비교적 작은 변화량을 나타내었다. 그러나 21일차부터 빠른 속도로 그 발생량이 늘어났다. 대조구의 가스발생량은 실험구에 비해서 높은 발생량을 기록하였는데, 이는 악취제거 미생물을 접종한 처리구에서는 유기물의 분해촉진 및 이용 효과로 가스발생량의 감소로 판단된다. Seo 등[35]은 고온조건에서 발효 초기 암모니아 가스농도가 4-6일차에 높아지다가 차츰 줄어든다고 하였다. 본 실험의 결과에서는 초기에 가스농도가 높으나 발효 중기에는 낮은 농도를 나타낸 후 21일차 이후부터 다시 높은 농도를 나타낸 것은 Fig. 2에서 나타낸 돈분뇨액 내의 총균수가 줄어든 이유로 판단된다.

Fig. 4B는 Fig. 4A에 동일한 샘플에서 누적된 가스 발생량을 나타내었다. 그림에서 대조구의 발생량인 2,050 ml에 비하여 *Rhodococcus jostii* SK2656과 *Halomonas campisalis* SK2673을 제외한 다른 10종의 처리구에서 그 발생량의 1/4수준 이하를 나타내었다. 특히 *Acinetobacter oleivorans* SK2675 균주를 접종한 처리구의 가스 발생량 합이

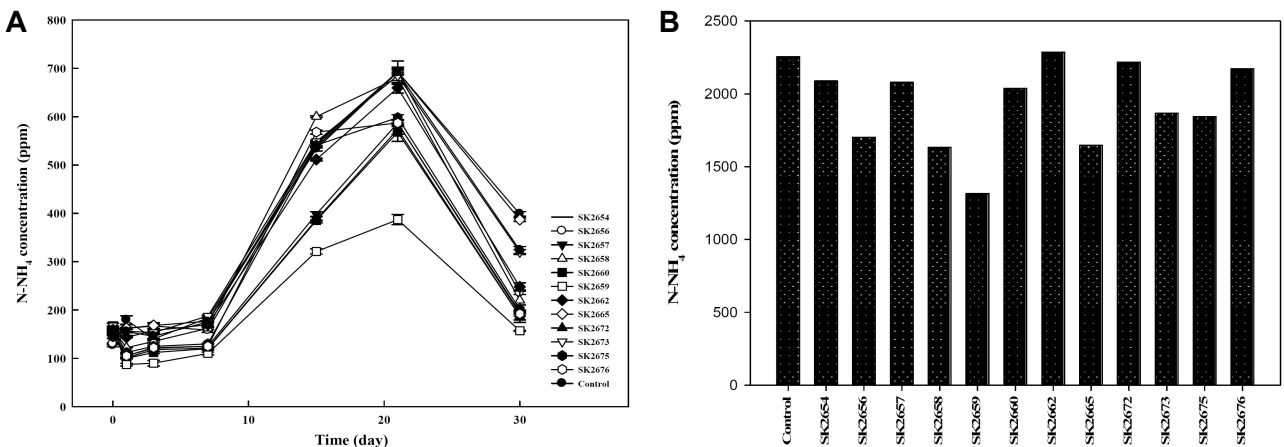


Fig. 3. Change of ammonium concentration in the piggery liquid manure. A) Ammonium concentration. B) Total volume of ammonia gas accumulation.

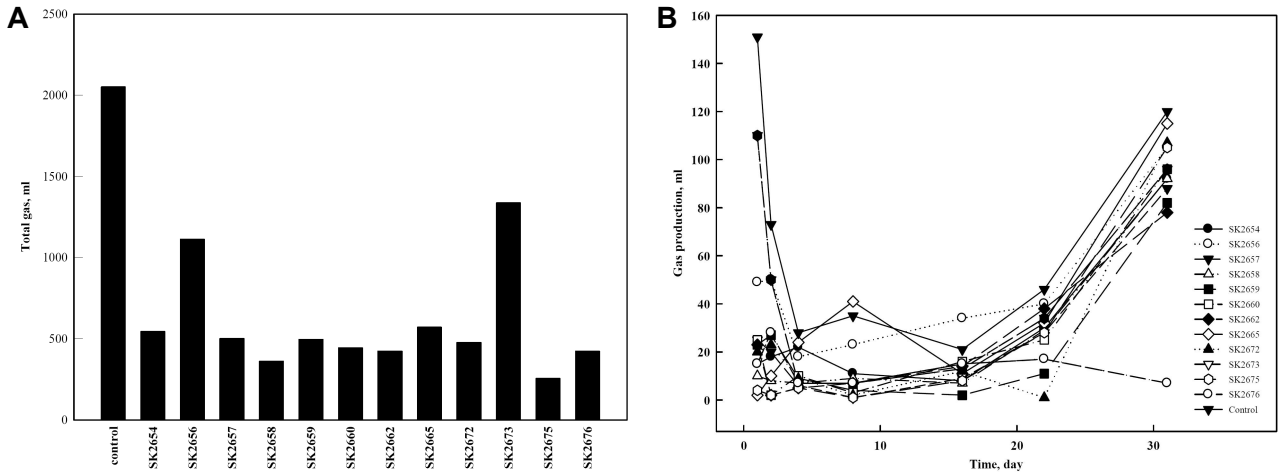


Fig. 4. Comparison of total gas production in piggery liquid manure. A) Total gas production. B) Total gas accumulation.

254 ml로 대조구의 약 12.39%로 가장 낮은 수준이었다. 본 실험에서 *Acinetobacter oleivorans* SK2675가 돈분뇨내의 가스 발생량을 가장 효과적으로 억제할 수 있는 균주로 판단되었다. 돈분뇨에서 분리된 *Acinetobacter calcoaceticus*는 악취와 VFA (Volatile fatty acid)를 줄이는 효과가 있으며[17], 또한 *Acinetobacter calcoaceticus*와 *Alcaligenes faecalis* 균주는 악취와 VFA 제거에 효과적인 균주라고 언급하였다[33].

한편, *Rhodococcus opacus* SK2659 균주에 대하여 황화수소(H₂S) 발생량에 대하여 GC로 측정된 결과, 0일차에서 균주를 접종하지 않은 대조구 43 ppm과 비교하여 처리구는 57 ppm이었으나, 15일차에는 대조구 104 ppm에 비하여 균을 접종한 처리구는 2.2 ppm으로 매우 감소됨을 보였다. 실험 시작 100일 후에 *Rhodococcus opacus* SK2659 균주를 접종한 처리구는 대조구의 3.23% 수준으로 악취 제거에 가장 효과적이었다. 따라서 본 연구에서 분리한 12개 균주들 중에서는 *Rhodococcus opacus* SK2659가 악취 제거능이 가장 우수한 것으로 판단되어 생물학적 돈분뇨 처리에 효과적으로 사용할 수 있을 것으로 기대되어진다.

감사의 글

본 결과물은 농림축산식품부 및 과학기술정보통신부, 농촌진흥청의 재원으로 농림식품기술기획평가원과 재단법인 스마트팜연구개발사업단의 스마트팜다부처패키지 혁신기술개발사업(421009042HD0702068207325)의 연구 결과입니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Aira, M., Monroy, F. and Domínguez, J. 2007. *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Lumbricidae) modifies the structure and physiological capabilities of microbial communities improving carbon mineralization during vermicomposting of pig manure. *Microb. Ecol.* **54**, 662-671.
- Alves, L. M. C., De Souza, J. A. M., de Mello Varani, A. and de Macedo Lemos, E. G. 2014. The family *rhizobiaceae*. by E. Rosenberg, EF DeLong, S. Lory, et al. Berlin, Heidelberg: Springer. 419-437.
- Atlas, R. M. 2004. Handbook of microbiological media. CRC press.
- Bagge, E., Persson, M. and Johansson, K. E. 2010. Diversity of spore-forming bacteria in cattle manure, slaughterhouse waste and samples from biogas plants. *J. Appl. Microbiol.* **109**, 1549-1565.
- Bajagain, R., Gautam, P., Le, T. T. N., Dahal, R. H., Kim, J. and Jeong, S. W. 2022. Isolation and screening of odor-reducing microbes from swine manure and its role in reducing ammonia release in combination with surfactant foam. *Appl. Sci.* **12**, 1806.
- Bollmann, A., Bär-Gilissen, M. J. and Laanbroek, H. J. 2002. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4751-4757.
- Bourque, D., Bisailon, J. G., Beaudet, R., Sylvestre, M., Ishaque, M. and Morin, A. 1987. Microbiological degradation of malodorous substances of swine waste under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 137-141.
- Chaney, A. and Marbach, E. 1962. Modified reagents for the determination of ammonium and urea. *Clin. Chem.* **8**, 130-132.
- Chapin, A., Boulind, C. and Moore, A. 1998. Controlling odor and gaseous emission problems from industrial swine facilities. *A Handbook for All Interested Parties*.
- Choi, K. K., Park, C. H., Kim, S. Y., Lyoo, W. S., Lee,

- S. H. and Lee, J. W. 2004. Polyvinyl alcohol degradation by *Microbacterium barkeri* KCCM 10507 and *Paenibacillus amylolyticus* KCCM 10508 in dyeing wastewater. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 1009-1013.
11. Evans, L., VanderZaag, A. C., Sokolov, V., Baldé, H., MacDonald, D., Wagner-Riddle, C. and Gordon, R. 2018. Ammonia emissions from the field application of liquid dairy manure after anaerobic digestion or mechanical separation in Ontario, Canada. *Agric. For. Meteorol.* **258**, 89-95.
 12. Guo, Y., Zhou, X., Li, Y., Li, K., Wang, C., Liu, J., Yan D., Liu, Y., Yang, D. and Xing, J. 2013. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Halomonas campisalis*. *Biotechnol. Lett.* **35**, 2045-2049.
 13. Hirschler, A., Carapito, C., Maurer, L., Zumsteg, J., Villette, C., Heintz, D., Dahl, C., Al-Nayal, A., Sangal, V., Mahmoud, H., Dorselaer, A. V. and Ismail, W. 2021. Biodesulfurization induces reprogramming of sulfur metabolism in *Rhodococcus qingshengii* IGTS8: Proteomics and untargeted metabolomics. *Microbiol. Spectr.* **9**, e00692-21.
 14. Im, W. T., Yokota, A., Kim, M. K. and Lee, S. T. 2004. *Kaistia adipata* gen. nov., sp. nov., a novel α -proteobacterium. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **50**, 249-254.
 15. Inbar, Y., Chen, Y. and Hadar, Y. 1990. Humic substances formed during the composting of organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**, 1316-1323.
 16. Johnson, N. C., Ogbamgba, V. M. and Mbachantim, J. T. 2021. The use of additives to control malodour generations in animal production, Particularly Swine. *Eur. J. Sci. Innov. Technol.* **1**, 68-71.
 17. Jolicoeur, P. and Morin, A. 1987. Isolation of *Acinetobacter calcoaceticus* strains degrading the volatile fatty acids of swine wastes. *Biol. Wastes* **19**, 133-140.
 18. Kang, K. H., Kam, S. K., Hu, C. G. and Lee, M. G. 2006. The effect of reduction of contaminants and odor according to the additives in the anaerobic maturation process of piggery slurry. *J. Environ. Sci.* **15**, 169-175.
 19. Kim, Y. H., Kong, M. S., Lee, E. J., Lee, T. G. and Jung, G. B. 2019. Status and changes in chemical properties of upland soil from 2001 to 2017 in Korea. *Kor. J. Environ. Agric.* **38**, 213-218.
 20. Kirimura, K., Furuya, T., Sato, R., Ishii, Y., Kino, K. and Usami, S. 2002. Biodesulfurization of naphthothiophene and benzothiophene through selective cleavage of carbon-sulfur bonds by *Rhodococcus* sp. strain WU-K2R. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 3867-3872.
 21. Koh, I. H., Yu, C., Park, M. J. and Ji, W. H. 2019. Reduction of soil loss from sloped agricultural Field by using hydrated lime. *J. Soil Ground Water Environ.* **24**, 1-7.
 22. Lee, E. Y. and Lim, J. S. 2010. Current status and perspectives of livestock environment improving agents for the characteristics and control of swine manure odor. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 244-254.
 23. Lee, M., Wi, J., Koziel, J. A., Ahn, H., Li, P., Chen, B., Meirkhanuly, Z., Banik, C. and Jenks, W. 2020. Effects of UV-A light treatment on ammonia, hydrogen sulfide, greenhouse gases and ozone in simulated poultry barn conditions. *Atmosphere* **11**, 283.
 24. Li, B., Lv, R., Xiao, Y., Hu, W., Mai, Y., Zhang, J., Lin L. and Hu, X. 2019. A novel nitrite-base aerobic denitrifying bacterium *Acinetobacter* sp. YT03 and its transcriptome analysis. *Front. Microbiol.* **10**, 2580.
 25. Li, W., Cai, Z. Y., Duo, Z. J., Lu, Y. F., Gao, K. X., Abbas, G., Zhang, M. and Zheng, P. 2017. Heterotrophic ammonia and nitrate bio-removal over nitrite (Hanbon): performance and microflora. *Chemosphere* **182**, 532-538.
 26. Liu, Y., Wang, Y., Li, Y., An, H. and Lv, Y. 2015. Nitrogen removal characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* C16. *Chin. J. Chem. Eng.* **23**, 827-834.
 27. Martzoukou, O., Glekas, P. D., Avgeris, M., Mamma, D., Scorilas, A., Kekos, D., Amillis, S. and Hatzinikolaou, D. G. 2022. Interplay between sulfur assimilation and biodesulfurization activity in *Rhodococcus qingshengii* IGTS8: Insights into a regulatory role of the reverse transsulfuration pathway. *mBio* **13**, e00754-22.
 28. Monsé, C., Sucker, K., Hoffmeyer, F., Jettkant, B., Berresheim, H., Bünger, J. and Brüning, T. 2016. The influence of humidity on assessing irritation threshold of ammonia. *BioMed Res. Int.* **2016**, 6015761.
 29. National Research Council (US) Committee on Acute Exposure Guideline Levels. 2008. Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Volume 6. Washington (DC): National Academies Press (US); PMID: 25032325.
 30. Padappayil, R. P. and Borger, J. 2022. Ammonia toxicity. In StatPearls [Internet] StatPearls Publishing.
 31. Rattanapan, C., Kantachote, D., Yan, R. and Boonsawang, P. 2010. Hydrogen sulfide removal using granular activated carbon biofiltration inoculated with *Alcaligenes faecalis* T307 isolated from concentrated latex wastewater. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **64**, 383-387.
 32. Rayne, N. and Aula, L. 2020. Livestock manure and the impacts on soil health: A review. *Soil Systems* **4**, 64.
 33. Ron, E. and Rosenberg, E. 2010. *Acinetobacter* and alkalindiges. In *Handbook of Hydrocarbon and lipid microbiology*.
 34. Schulte, H., Ammon, C., Hagenkamp-Korth, F. and Hartung, E. 2022. Investigating the time-dependent dose-response relationship of ammonia emissions reduction through the application of a urease inhibitor in pig fattening houses. *J. Biosystemseng.* **222**, 45-61.
 35. Seo, M. C., Kuroda, K., Hanajima, D. and Haga, K. 1998. Effect of thermophilic ammonium tolerant bacteria on malodors emission of composting of pig manure. *Kor. J. Soil Scie. Ferl.* **31**, 77-84.
 36. Singh, R., Kim, K., Park, G., Kang, S., Park, T., Ban, J., Park, T., Ban, J., Choi, S., Song, J., Yu, D., Woo, J., Choi, Y. and Lee, T. 2021. Seasonal and spatial variations of atmospheric ammonia in the urban and suburban environments of Seoul, Korea. *Atmosphere* **12**, 1607.
 37. Sorkhoh, N. A., Ali, N., Salamah, S., Eliyas, M., Khanafer,

- M. and Radwan, S. S. 2010. Enrichment of rhizospheres of crop plants raised in oily sand with hydrocarbon-utilizing bacteria capable of hydrocarbon consumption in nitrogen free media. *Int. Biodeterior. Biodegradation* **64**, 659-664.
38. Sun, S., Abdellah, Y. A. Y., Miao, L., Wu, B., Ma, T., Wang, Y., Zang, H., Zhao, X. and Li, C. 2022. Impact of microbial inoculants combined with humic acid on the fate of estrogens during pig manure composting under low-temperature conditions. *J. Hazard. Mater.* **424**, 127713.
39. Szanto, G. L., Hamelers, H. V. M., Rulkens, W. H. and Veeken, A. H. M. 2007. NH₃, N₂O and CH₄ emissions during passively aerated composting of straw-rich pig manure. *Bioresour. Technol.* **98**, 2659-2670.
40. Szököl, J., Rucká, L., Šimčíková, M., Halada, P., Nešvera, J. and Pátek, M. 2014. Induction and carbon catabolite repression of phenol degradation genes in *Rhodococcus erythropolis* and *Rhodococcus jostii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98**, 8267-8279.
41. Tiquia, S. M. 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *J. Appl. Microbiol.* **92**, 764-775.
42. Vanotti, M. B., Szogi, A. A., Millner, P. D. and Loughrin, J. H. 2009. Development of a second-generation environmentally superior technology for treatment of swine manure in the USA. *Bioresour. Technol.* **100**, 5406-5416.
43. Wang, G., Wang, M., Li, T., Liang, C. and Li, E. 2020. Isolation, identification and determination of dominant desulfurizing bacterial strains from chicken manure. *J. Bio-
tech. Res.* **11**, 66-72.
44. Wang, H., Zeng, X., Zhang, X., Liu, H. and Xing, H. 2021. Ammonia exposure induces oxidative stress and inflammation by destroying the microtubule structures and the balance of solute carriers in the trachea of pigs. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **212**, 111974.
45. Wang, Y. C., Han, M. F., Jia, T. P., Hu, X. R., Zhu, H. Q., Tong, Z., Lin, Y. T., Wang, C., Liu, D. Z., Peng, Y. Z., Wang, G., Meng, J., Zhai, Z. X., Zhang, Y., Deng, J. G. and His, H. C. 2021. Emissions, measurement and control of odor in livestock farms: A review. *Sci. Total Environ.* **776**, 145735.
46. Yoon, D. H., Kang, D. W. and Nam, K. W. 2009. The effect of yeast(*Saccharomyces exiguus* SJPAF1) on odor emission and contaminants reduction in piggery slurry. *Kor. J. Environ. Agric.* **28**, 47-52.
47. Zhu, F., Hong, C., Wang, W., Lyu, H., Zhu, W., Xv, H. and Yao, Y. 2020. A microbial agent effectively reduces ammonia volatilization and ensures good maggot yield from pig manure composted via housefly larvae cultivation. *J. Clean. Prod.* **270**, 122373.
48. Zhu, P., Shen, Y., Pan, X., Dong, B., Zhou, J., Zhang, W. and Li, X. 2021. Reducing odor emissions from feces aerobic composting: additives. *RSC Adv.* **11**, 15977-15988.
49. Zommiti, M., Chikindas, M. L. and Ferchichi, M. 2020. Probiotics – live biotherapeutics: a story of success, limitations and future prospects – not only for humans. *Probiotics Antimicrob. Proteins* **12**, 1266-1289.

초록 : 악취 저감용 세균에 의한 돈분뇨의 생물학적 처리

전효천^{1†} · 신재형^{2†} · 왕연칭² · 최민경² · 김상민³ · 김수기^{2*}

(¹남동대학교 생물학과, ²건국대학교 동물자원과학과, ³여주시농업기술센터)

본 실험은 축산분뇨의 악취제거 활성이 우수한 세균을 분리하기 위하여 돈분뇨와 토양으로부터 황산화균 분리용 배지, 암모늄산화균 분리용 배지 그리고 질소산화균 선택배지를 사용하여 12종의 세균들을 분리하였다. SK2654 균주는 *Paenibacillus amylolyticus*로, SK2656, SK2658, SK2659 균주들은 각각 *Rhodococcus jostii*, *Rhodococcus qingshengii*, *Rhodococcus opacus*로, SK2657과 SK2672 균주들은 *Alcaligenes faecalis*로, SK2660과 SK2662 균주들은 *Kastia adipata*로, SK2665 균주는 *Microbacterium oxydans*로, SK2673 균주는 *Halomonas campisalis*로, SK2675 균주는 *Acinetobacter oleivorans*로, SK2676 균주는 *Micrococcus luteus*로 동정되었다. 돈분뇨 액상원액에 상기 균주 배양액을 1% 접종하였을 때 발효액의 pH는 전반적으로 8.0을 유지하였다. 총균수는 실험 15일차까지 7.3~7.9 log CFU/ml 수준을 유지하다가 15일차 이후로 5.1~5.5 log CFU/ml 수준으로 급격히 감소하였다. 암모니아태질소 농도는 시험 후반부인 30일차에는 *Rhodococcus opacus* SK2659 균주를 접종한 처리구가 대조구의 39% 수준을 나타내면서 비교적 높은 암모니아태질소 제거능을 보였다. 실험 100일 후 *Rhodococcus opacus* SK2659 균주를 접종한 처리구는 대조구와 비교하였을 때에 황화수소 농도는 3.23% 수준으로 악취제거에 가장 효과적이었다. 가스발생량은 대부분의 처리구가 대조구에 비해서 낮았으며 실험기간 중 가스량의 측정 누계량은 대조구의 1/4 수준으로 나타났으며, 그 중 *Acinetobacter oleivorans* SK2675 균주를 접종한 처리구가 대조구에 비해서 12.39% 수준으로 가장 낮게 나타났다. 돈분뇨의 생물학적 처리시 본 연구에서 분리한 *Rhodococcus opacus* SK2659와 *Acinetobacter oleivorans* SK2675 균주들을 혼합하여 사용하면 악취저감 효과가 증대할 것으로 판단된다.