

(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. C12N 1/20 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년03월10일 10-0557900 2006년02월27일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호 (22) 출원일자	10-2003-0085393 2003년11월28일	(65) 공개번호 (43) 공개일자	10-2005-0051760 2005년06월02일
------------------------	--------------------------------	------------------------	--------------------------------

(73) 특허권자	학교법인 이화학당 서울 서대문구 대현동 11-1
	바이오세인트(주) 서울 동작구 상도동 501 동호빌딩 2층
	유희욱 서울특별시 서초구 방배동 764-16(15/3)
(72) 발명자	조경숙 서울특별시 서초구 방배동 764-16(15/3)
	유희욱 서울특별시 서초구 방배동 764-16(15/3)
	이태호 경기도 안양시 만안구 석수1동 석수대림아파트 111동 2504호
	유선경 서울특별시 동작구 상도1동 219-1
(74) 대리인	김원준

심사관 : 이충호

(54) 광온성 악취 / VOC 분해미생물군의 수득방법과 상기 분해미생물군을 포함하는 미생물 제제 및 이를 이용한 악취 / VOC의 생물학적 처리방법

요약

본 발명은 넓은 온도범위에서 작동 가능한 ①악취/VOC 제거용 분해미생물군과 ②상기 분해미생물군을 손쉽게 수득하는 방법 및 ③상기 분해미생물군이 포함된 미생물 제제 그리고 ④일일 배출온도의 변동폭이 큰 악취/VOC 배출설비에 적용 가능한 신규의 생물학적 처리방법에 관한 것이다.

본 발명이 제공코자 하는 광온성 악취/VOC 분해미생물군은, 작동온도가 다른 적어도 둘 이상의 악취/VOC 분해미생물을 혼합·배양하되 최저설정온도와 최고설정온도 사이에 다수의 온도스텝을 두어 각각의 온도스텝에서 소정시간동안 배양함으로써 얻을 수 있다.

또한, 상기 방법에 따라 수득된 광온성 악취/VOC 분해미생물균은 생물학적 처리시스템의 요구사양에 따라, 액체나 고형물 또는 분말 형태의 미생물 제제로 가공될 수 있다.

또한, 본 발명에 따른 악취/VOC의 생물학적 처리방법은, 악취/VOC가 생물학적인 처리방법으로 분해되는 생물학적 제거 장치에 광온성 악취/VOC 분해미생물균을 접종하는 접종단계; 상기 접종단계의 완료 후 생물학적 제거장치에 냄새강도 1000~3000 OU/m<sup>3</sup> 범위의 악취/VOC를 소정기간동안 공급하여 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물균이 상기 악취/VOC를 분해하면서 안정화되도록 하는 과도단계; 상기 과도단계의 완료 후, 상기 생물학적 제거장치에 임의농도 및 임의온도의 악취/VOC를 공급하여 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물균의 분해작용에 의해 상기 악취/VOC가 무해/무취한 물질로 분해되게 하는 정상운전단계;로 이루어질 수 있다.

**대표도**

도 6

**색인어**

악취/VOC, 광온성, 분해미생물균, 미생물 제제, 생물학적 처리방법, 고효율, 폐가스, 무해, 무취, 분해, 바이오필터

**명세서**

**도면의 간단한 설명**

도 1은 본 발명의 수득방법에 따라 얻어진 광온성 악취/VOC 분해미생물균의 DGGE(Denaturing gradient gel electrophoresis)분석결과그래프.

도 2는 본 발명의 광온성 악취/VOC 분해미생물균이 접종된 생물학적 처리장치(바이오필터 타입)의 운전결과그래프.

도 3은 음식물 쓰레기 건조설비에서 배출되는 악취/VOC 함유 폐가스의 일일 온도변화를 보여주는 그래프.

도 4는 광온성 악취/VOC 분해미생물균이 접종된 생물학적 처리장치에 도 3의 폐가스를 공급하여 분해처리 했을 때의 취기농도변화 및 악취/VOC 제거효율의 일일 변화를 보여주는 그래프.

도 5는 음식물 쓰레기 건조설비에서 배출되는 악취/VOC 함유 폐가스의 온도변화를 20일 간격으로 측정하여 나타낸 그래프.

도 6은 도 5의 폐가스를 생물학적 처리방법에 따라 중장기에 걸쳐 분해처리 했을 때의 취기농도변화 및 제거효율의 변화를 보여주는 그래프.

**발명의 상세한 설명**

**발명의 목적**

**발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

본 발명은 슬러지건조설비, 퇴비화설비, 사료화설비, 식품가공설비(공정), 도장설비(공정) 및 각종 화학설비 등의 많은 산업설비에서 배출되는 넓은 온도범위의 악취/VOC 폐가스를 높은 효율로 처리할 수 있는 ①광온성 악취/VOC 분해미생물균과 ②그를 이용한 미생물 제제 그리고 ③상기 미생물 제제를 활용한 새로운 생물학적 처리방법에 관한 것이다.

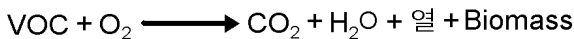
각종 산업시설이나 환경기초시설에서 배출되는 악취/VOC는 불쾌감 등의 심리적인 문제뿐만 아니라 사업장에서 근무하는 근로자와 인근 주민들의 건강에 직접적인 해를 미치는 보건학적 문제를 유발시키며, 산업재해 및 생산효율 저하 등과 같은 경제적인 손실을 야기한다.

특히, VOC(Volatile Organic Compound : 휘발성 유기화합물질)는 대기 중의 질소화합물과 광화학 반응에 의해 오존 및 광화학산화물을 형성하는 전구물질로서 광화학스모그를 유발하는 유해물질이며, 대부분 악취성 물질이다.

근래 들어, 악취/VOC에 관련된 많은 민원이 빈번하게 발생하고 있으며, 경제수준 향상에 따라 쾌적한 주거환경을 추구하게 되었고, 환경규제도 강화되어 악취/VOC의 제어기술 및 체계적인 관리기술이 매우 중요하게 대두되고 있는 실정이다.

일반적으로 연소법, 흡착법, 세정법과 같은 물리·화학적 방법에 의한 악취/VOC 제어기술(제거기술)은 제거 효율은 높으나 시설비와 재료비 및 조업비가 많이 소요되고 낮은 농도의 폐가스(오염가스)를 배출허용기준까지 저감시키는데 비경제적이며 2차 오염물질이 발생하는 단점이 있다.

이에 비해, 아래와 같이 미생물의 대사작용으로 악취/VOC를 상온/상압 하에서 무취/무해한 화합물인 CO<sub>2</sub>, 물, 미생물 및 무기물로 분해하는 생물학적 처리방법은 환경 친화적인 차세대 악취/VOC 제어기술로 인정받고 있다.



한편, 각종 산업현장이나 환경기초시설 등에서 발생하는 악취/VOC 폐가스의 온도/성상/농도는 매우 다양하므로, 배출원 별로 악취/VOC 폐가스의 특성에 따라 적절히 대응할 수 있는 다양한 악취/VOC 제거용 생물자원의 확보와 생물학적 처리 장치(특히, 바이오필터)의 운전 및 설계기술의 확보가 필요하다.

주지하다시피, 다양한 산업시설에서 배출되는 악취/VOC 폐가스의 배출온도는 20~250℃의 범위로 매우 넓은 온도분포를 가지며, 20~40℃뿐만 아니라 40~250℃의 고온가스가 배출되는 경우도 많다. 또한, 악취/VOC 배출시설의 조업특성이나 공정특성에 따라 폐가스의 일일 배출온도의 변화가 심하다.

그러나, 종래 생물학적 처리기술(특히, 바이오필터 타입)에서는 작동온도가 20~40℃인 중온성 미생물을 이용하여 좁은 온도범위의 폐가스만을 처리할 수 있었기 때문에, 상기 악취/VOC 폐가스의 배출온도에 따라 처리효율이 심하게 변동하여 안정적인 시스템 운영이 어려웠다.

따라서, 배출온도가 40℃ 이상인 폐가스를 정화하기 위해서는 상기 폐가스의 온도를 40℃ 이하로 낮춰야 하는데, 이 경우 냉각시설의 설치 및 운전에 추가로 비용이 들어 저렴한 처리비용을 자랑하는 생물학적 처리기술의 장점이 없어진다.

참고로, 40℃ 이상의 고온성 악취/VOC 폐가스를 처리하는 가장 간단한 방법으로는 ①종래 활성탄을 이용한 흡착법 또는 흡수법 등이 알려져 있지만, 상기 방법에서는 폐가스의 배출온도가 증가할수록 흡착제(또는 흡수제)의 흡착/흡수능이 저하되어 처리효율이 감소하는 문제점이 있다.

또한, ②고온성 악취/VOC 폐가스의 처리방법 중 하나인 소각법(RTO/RCO)을 이용하는 경우에도, 축열연소장치(RTO) 또는 축열식 촉매산화 연소장치(RCO)의 농축부 성능이 저하되어 시설비와 운전비가 급증하는 문제점이 있다.

이처럼, 현재까지 알려진 어떠한 방법에 의하더라도 배출온도 40℃ 이상의 폐가스를 처리하는데 예는 많은 문제점이 있으며, 특히 배출온도의 일일 변동폭이 큰 악취/VOC 배출설비에 안정적으로 대처할 수 있는 처리방법은 전무한 상태이다.

따라서, 20~40℃ 범위의 중온성 악취/VOC 폐가스는 물론 40℃ 이상의 고온성 악취/VOC 폐가스도 저렴한 비용으로 정화할 수 있으며, 배출온도의 일일 변동폭이 넓은 경우에도 처리효율이 저하되지 않는 새로운 생물학적 처리기술을 개발할 필요가 있다.

### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 ①20~70℃의 넓은 온도범위에서 활동 가능한 광온성 악취/VOC 분해미생물군(consortium)을 획득하는 방법과 ②상기 방법에 의해 획득된 광온성 미생물군으로 이루어진 악취/VOC 폐가스 분해용 미생물 제제를 제공하는 데에 일 목적이 있다.

또한, 본 발명은 상기 미생물 제제를 이용하여 ③일일 배출온도의 변화가 심한 악취/VOC 폐가스를 저렴한 비용으로 정화할 수 있는 신규의 생물학적 처리방법을 제공하는 데에 다른 목적이 있다.

**발명의 구성 및 작용**

상기한 첫 번째 목적을 달성하기 위한 본 발명은, 작동온도가 다른 적어도 둘 이상의 악취/VOC 분해미생물을 혼합·배양하되 최저설정온도와 최고설정온도 사이에 다수의 온도스텝을 두어 각각의 온도스텝에서 소정시간동안 배양하는 것을 특징으로 한다.

여기서, "작동온도"란 상기 악취/VOC 분해미생물이 생존에 필요한 탄소원과 에너지를 상기 악취/VOC의 분해를 통하여 얻을 수 있는 온도인 것으로 정의한다.

또한, "최저설정온도"란 희망하는 분해미생물군의 배양 시 생산자가 상정한 가혹환경 하에서의 최저온도로 대개의 경우 10~20℃ 사이의 온도이다.

또한, "최고설정온도"란 생산자가 컨트롤할 수 있는 가혹환경 하에서의 최고온도로 대개의 경우 70℃ 안팎의 온도이다.

또한, "온도스텝"이란 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 배양온도를 상기 최저설정온도에서 최고설정온도까지 승온(昇溫)하거나 반대로 감온(減溫)하는 경우에 있어서의 온도변동폭으로, 예컨대 5℃나 10℃이다. 온도스텝은 전 구간에 걸쳐 똑같을 수도 있지만, 각 온도스텝 사이의 간격 즉 온도차가 다르게 설정될 수도 있다.

이러한 구성에 따르면, 예컨대 20~70℃의 넓은 온도범위에서 작동하는 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 손쉽게 수득할 수 있는데, 본 출원인이 아래의 실시예를 통해서 얻은 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 DGGE(변성제 농도기울기 겔 전기영동법)으로 분석한 바에 따르면, 상기의 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 a) *Psychrobacter* sp. IC008과; b) Uncultured bacterium clone F2-70, Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-24, Uncultured bacterium WkB3, Uncultured soil bacterium clone C0102 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 악취/VOC 분해미생물과; c) *Rubrobacter xylophilus*, *Mycobacterium buckleyi* 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 악취/VOC 분해미생물; 로 이루어져 있는 것을 확인할 수 있었다.

한편, 두 번째 목적을 달성하기 위한 본 발명은 ①자당과 스킴밀크와 효모추출액과 물이 소정비율로 혼합된 용액에, 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 첨가하여 만든 액체 형태 또는 ②벤토나이트나 셀라이트에 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 흡착한 고형물 형태 또는 ③상기 고형물을 분쇄한 분말 형태의 미생물 제제로 가공될 수 있다.

상기의 세 번째 목적을 달성하기 위한 본 발명은, 악취/VOC가 생물학적인 처리방법으로 분해되는 생물학적 제거장치에 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 접종하는 접종단계와; 상기 접종단계의 완료 후 예를 들면 냄새강도 1000~3000 OU/m<sup>3</sup> 범위의 악취/VOC를 생물학적 제거장치에 소정기간 동안 공급하여 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 상기 악취/VOC를 분해하면서 안정화되도록 하는 과도단계; 및 상기 과도단계의 완료 후 상기 생물학적 제거장치에 임의농도 및 임의 온도의 악취/VOC를 공급하여 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 분해작용에 의해 악취/VOC가 무해/무취 한 물질로 분해되게 하는 정상운전단계; 를 포함하는 형태로 구성될 수 있다.

이하, 본 발명의 기술적 사상을 도면에 의거하여 더욱 구체적으로 설명한다.

우선, 본 발명의 광온성 악취/VOC 분해미생물군은 본 출원인이 시도했던 아래의 과정을 통해 손쉽게 수득할 수 있다.

하수처리장에서 배출되는 중온성 악취/VOC 폐가스(작동온도 15~40℃)를 처리하기 위해 6개월 이상 운전한 중온 바이오필터와 음식물 쓰레기 건조시설에서 배출되는 고온성 악취/VOC 폐가스(작동온도 40~70℃)를 처리하기 위해 6개월 이상 운전한 고온 바이오필터로부터 담체(擔體)를 취해서 물로 세정하고, 그 물을 원심분리 하여 균체를 회수한다.

이어서, 상기 균체를 무기염 배지 (pH 7.0)에 접종한 후, 악취/VOC 폐가스를 불어넣으면서 배양한다. 이때, 배양온도는 10℃(최저설정온도)에서 70℃(최고설정온도)까지 10℃(온도스텝) 간격으로 올린 후, 다시 70℃에서 10℃까지 10℃ 간격으로 내리고, 각 설정온도에서의 배양시간은 5시간으로 한다.

이와 같이 배양온도의 승온 및 감온을 반복하며 6개월 동안 배양(특히 농화배양)하면, 넓은 작동온도 범위에서 활성화되는 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 얻을 수 있다.

상기 방법으로 수득한 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 조성을 분자생물학적 방법인 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)방법에 의해 조사한 결과, *Psychrobacter* sp. IC008과 같은 저온성 분해미생물, Uncultured bacterium clone F2-70, Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-24, Uncultured bacterium WkB3, Uncultured soil bacterium clone C0102 등과 같은 중온성 분해미생물, 그리고 *Rubrobacter xylanophilus*, *Mycobacterium buckleii* 등과 같은 고온성 분해미생물로 구성되어 있음을 확인할 수 있었다.(실시예 1)

상기 방법으로 수득한 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 폴리우레탄 바이오필터에 접종하여 중온/고온성 악취/VOC 분해능을 조사한 결과, 악취/VOC 폐가스의 온도가 30℃와 60℃로 급변하는 가혹한 조건 하에서 평균 80% 이상의 높은 제거효율을 얻을 수 있었다.

또한, 공간속도 200 h<sup>-1</sup>(체류시간: 18초)조건에서는 냄새강도 3,000 OU/m<sup>3</sup>이상의 고농도 악취/VOC 폐가스를 매우 효율적으로 처리할 수 있었다.

따라서, 본 발명의 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 포함된 미생물 제제를 활용하면, 중온과 고온의 넓은 온도범위에서 상기 악취/VOC 폐가스를 안정된 상태에서 효율적으로 처리할 수 있다.(실시예 2)

한편, 상기 방법으로 수득한 광온성 악취/VOC 분해미생물군은 액체 배양액, 동결건조 균체 또는 이들 분해미생물군을 이용하여 만든 액체나 고형물 또는 분말 형태의 미생물 제제로 제공될 수 있다.

액체 형태의 미생물 제제는 이들 균주(분해미생물군)의 균체에 자당, 스킴밀크 및 효모추출액을 첨가한 다음 물을 첨가하여 제조하고, 고형물(고체) 형태의 미생물 제제는 이들 균주의 균체를 벤토나이트나 셀라이트에 흡착하여 제조할 수 있다. 또한, 분말 형태의 미생물 제제는 상기 고형물 형태의 미생물 제제를 볼 밀로 갈아 제조할 수 있다.

상술한 바와 같이 본 발명의 두 번째 목적은, 조업특성 또는 공정특성에 따라 폐가스 배출온도의 일일 변동폭이 심한 중온/고온의 악취/VOC 폐가스를 냉각공정 없이 정화할 수 있는 환경 친화적이고 경제적인 생물학적 처리방법을 제공한다.

본 발명에 따른 중온/고온성 악취/VOC 폐가스의 생물학적 동시 처리방법은, 통상 구조의 생물학적 제거장치(바이오필터, 생물여상장치(bio-trickling filter), 생물살수장치(bio-scrubber), 토양탈취장치 등)에 본 발명의 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 액체 배양액, 동결건조 균체 또는 이들 균주를 이용하여 만든 액체 또는 고형물 형태의 미생물 제제를 접종하는 접종단계; 각종 시설에서 배출되는 20~70℃ 범위의 악취/VOC 폐가스를 냉각공정 없이 곧바로 생물학적 제거장치에 주입되되 냄새강도를 조절하여, 상기 접종단계에서 접종된 악취/VOC 분해미생물군이 상기 생물학적 제거장치에 정착되게 하는 과도단계; 및 상기 생물학적 제거장치에 주입된 악취/VOC 폐가스를 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 함유된 배양액의 살수층과 고정화 담체층 사이로 통과시켜, 악취/VOC를 살수액 또는 고정화 담체층의 물과 생물막에 용해한 후 상기 살수액 중에 현탁되어 있거나 담체에 고정되어 있는 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 분해작용에 의해 무해/무취 한 물질로 전환하는 정상운전단계; 로 구성되어 있다.

배출가스의 온도가 일일 20~65℃ 사이에서 급변하는 음식물 건조시설에 본 발명의 광온성 분해미생물군 또는 미생물 제제가 접종된 생물학적 제거장치를 채용해 4개월 동안 처리한 결과, 운전 초기(약 10일 동안)에는 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 안정화되지 않아 제거효율이 낮게 나타났으나, 10일 경과 후부터는 제거효율이 증가하면서 15일경부터는 85% 이상의 제거효율을 유지하였고 20일 이후에는 90% 이상의 제거효율을 나타내었다.

또한, 생물학적 제거장치(바이오필터)에서 처리된 악취/VOC의 휘기농도는 공기희석배수로 100~250배를 유지하여 대기관리법 상의 규제치를 만족하였다.

따라서, 본 발명의 미생물 제제가 접종된 생물학적 제거장치(정화장치)를 이용하여 악취/VOC를 처리할 경우, 조업특성 또는 공정특성에 따라 악취/VOC 폐가스의 배출온도가 시시각각 변하는 배출시설에서도 상기 악취/VOC 폐가스를 안정된 상태에서 효율적으로 처리할 수 있다.(실시예 3)

이하, 본 발명의 실시예를 상세히 설명하면 다음과 같다. 하지만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예의 범위 내로 제한되는 것은 아니다.

**실시예 1 : 광온성 미생물 제제의 제조방법 및 분해미생물군의 균집 특성**

본 실시예의 광온성 미생물 제제는 다음과 같은 방법에 의해 제조되었다.

하수처리장에서 배출되는 악취/VOC 중온가스(15~40℃)를 처리하기 위해 6개월 이상 운전한 중온 바이오필터와 음식물 쓰레기 건조시설에서 배출되는 악취/VOC 고온가스(40~70℃)를 처리하기 위해 6개월 이상 운전한 고온 바이오필터로부터 담체를 각각 500 g씩 채취하였다.

악취/VOC 분해미생물이 달라붙어 있는 상기 담체들을 증류수로 세정하여 중온/고온성 분해미생물이 혼합된 현탁액을 얻고, 이 현탁액을 원심분리 하여 아래와 같은 조건 하에서 배양시킬 분해미생물들의 균체를 회수하였다.

10ℓ들이 통에 무기염 배지 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 9g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3g, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.01, MgSO<sub>4</sub> 0.15g, 증류수 1리터) 7ℓ를 넣고, 여기에 배양시킬 분해미생물들의 균체를 접종한 후, 온도조절(10~70℃)이 가능한 항온기에 넣었다.

합성수지(아크릴)로 만든 탱크(용량 10ℓ)에 썩은 음식물 쓰레기를 넣고 공기를 불어넣어 악취/VOC를 발생시키고, 이 악취/VOC를 무기염 배지(또는 배양액)에 공급하였다(유속 500 ml/min).

광온성 분해미생물(균)을 배양하는 동안 항온기의 온도는 10℃에서 70℃까지 10℃ 간격으로 올린 후 반대로 70℃에서 10℃까지 10℃ 간격으로 내렸다. 또한, 각 온도에서 배양시간은 5시간으로 설정하였다.

이와 같은 방식으로 배양온도를 10~70℃ 범위 내에서 변화시키면서 6개월 동안 농화배양 하여 소망하는 광온성 악취/VOC 분해미생물군 또는 미생물 제제를 제조하였다.

한편, 본 출원인은 광온성 분해미생물군(또는 미생물 제제)으로부터 genomic DNA를 UltraClean<sup>TM</sup> Soil DNA isolation kit(Mo Bio Laboratories, Inc., CA, USA)로 추출하여, 광온성 분해미생물군의 균집 특성을 조사하였다. 이때, Genomic DNA는 template로 이용하고, bacterial 16S rDNA primer를 이용하여 아래 표 1과 같은 조건으로 PCR을 수행하였다. Bacterial universal primer로는 341f(5`-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3`)과 907r(5`-CCC CGT CAA TTC ATT TGA GTT-3`)을 이용하였다.

**표 1. 1st PCR 조건**

Condition	Temp. (°C)	Time	Cycles
Pre-denaturation	95	5 min	-
Denaturation	95	1 min	16cycles(annealing temp.: -1°C/2cycles down to 56°C)
Annealing	63	1 min	
Extension	72	1 min	
Denaturation	95	1 min	14cycles
Annealing	55	1 min	
Extension	72	1 min	
Final Extension	72	5 min	-
Hold	4		-

PCR product는 commercial kit로 QIAquick PCR purification kit(QIAGEN GmbH, ilden, Germany)를 이용하여 정제 한 후, 이를 template로 하여 아래 표 2의 조건으로 2nd PCR을 수행하였다.

2nd PCR에 사용한 primer는 bacterial primer 341fGC(5`-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3`)과 518r(5`-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3`)이었다.

**표 2. 2nd PCR 조건**

Condition	Temp. (°C)	Time	Cycles
Pre-denaturation	95	5 min	-
Denaturation	95	30 sec	28
Annealing	60	30 sec	
Extension	72	30 sec	
Final Extension	72	5 min	-
Hold	4		-

2nd PCR product는 DGGE(Dcode<sup>TM</sup> System, BIO-RAD, USA)를 이용하여 다음과 같이 전기영동 하였다.

**조건** : 8% acrylamide/bis gel에 대해 40%에서 60%까지 formamide와 urea로 변화를 주기 위해 총 volume 25ml에서 40% acrylamide/bis 5ml, 50×TAE buffer 0.5ml, formamide와 urea는 40% denaturation에 대해서 formamide 4ml, urea 4.2 g, 60% denaturation에 대해서는 formamide 6ml, urea 6.3g을 더하였으며, 10% ammoniumphosphate와 TEMED의 최종농도가 각각 0.2%와 0.15%가 되도록 넣어준 뒤 gel을 만들어서 이용하였다.

여기서, 도 1의 그래프는 Dcode<sup>TM</sup> system의 운전조건을 60°C에서 50V하여 12시간에서 16시간 전기영동한 결과를 나타낸 것이다.

이어서, 광온성 미생물 제제 시료의 DGGE gel로부터 도 1에 표시한 부분의 band를 절단하여 1.5ml microcentrifuge tube에 넣고 멸균수를 20µl 첨가해 -20°C에서 10분간 얼렸다 65°C에서 3분간 녹이는 것을 3회 수행한 후, 원심분리 (10,000 rpm, 10min)하여 상등액 15µl을 회수하였다.

이렇게 해서 얻은 DNA시료를 template로 사용하고 341f와 518r primer를 이용하여 상기 표 2의 조건으로 PCR을 수행 하였다.

PCR products를 pGEM-T easy vector system(Promega, Madison, WI, USA)로 cloning 하였다.

Ligation mixture는 PCR product 1µl, T4 DNA Ligase 2×Buffer 2.5µl, pGEM-T easy vector 0.5µl 및 T4 DNA ligase 1µl으로 제조하였고, 반응조건은 상온에서 1시간으로 하였다.

Ligation 반응 후, ligation mixture을 *E. coli DH5a*에 transformation 하였다.

또한, Transformation시킨 광온성 분해미생물(균체)의 현탁액을 LB plate (100µg/ml ampicilline, X-Gal 0.1 mM, IPTG 0.2 mM 첨가)에 도말하여 37°C에서 12시간 배양하고, White colony를 선별하여 LB 배지(100µg/ml ampicilline 첨가)에서 12시간동안 37°C를 유지하면서 진탕배양 해 plasmid를 추출하였다(Wizard<sup>®</sup> Plus SV Minipreps DNA Purification System, Promega, Madison, WI, USA).

추출된 plasmid DNA를 EcoRI 제한효소로 절단하여 DNA insert를 확인하였는데, 반응용액의 조성은 plasmid DNA 5µl, 10×H buffer 1µl, EcoRI 0.5µl, 멸균수 3.5 µl이고, 반응조건은 37°C에서 1 시간이었다.

염기서열을 분석하기 위하여, 상기 추출된 plasmid DNA를 template로 하고 T7(5'-TAA TAC GAC TCA CTA CAG GG-3')과 SP6(5'-ATT TAG GTG ACA CTA AGA AT-3') primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR product의 염기서열은 ABI Prism 373A automated DNA sequencer(Perkin Elmer, Foster, CA)를 이용하여 분석하였다.

각 clone의 염기서열은 BLAST algorithm을 이용하여 GenBank database와 비교·분석하였다.

아래의 표 3은 GenBank database에서 검색된 가장 유사도가 높은 미생물 종을 정리한 것으로서, 본 발명에서 제공하는 광온성 약취/VOC 분해미생물군이 저온성, 중온성 및 고온성의 다양한 온도영역에서 생육하는 미생물로 구성되어 있음을 확인할 수 있다.



**표 3. 광온성 분해미생물군을 구성하는 각종 미생물의 동정 결과**

Clone 번호	동정결과	특성
BT-1	<i>Psychrobacter</i> sp. IC008	저온성 미생물
BT-2	Uncultured bacterium clone F2-70	중온성 미생물
BT-3	Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-24	중온성 미생물
BT-4	Uncultured bacterium clone F2-70	중온성 미생물
BT-5	Uncultured bacterium WkB3	중온성 미생물
BT-6	<i>Sporolactobacillus laevas</i>	고온성 미생물
BT-7	Uncultured soil bacterium clone C0102	중온성 미생물
BT-8	Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-24	중온성 미생물
BT-9	<i>Rubrobacter xylanophilus</i>	고온성 미생물
BT-10	<i>Rubrobacter xylanophilus</i>	고온성 미생물
BT-11	<i>Mycobacterium buckleii</i> ( <i>Mycobacterium hassiacum</i> sp. nov.)	고온성 미생물

**실시예 2 : 광온성 미생물 제제(또는 광온성 약취/VOC 분해미생물군)를 이용한 실험실 규모의 바이오필터에 의한 중온/고온성 약취/VOC의 처리**

본 발명의 광온성 미생물 제제를 이용한 중온/고온성 약취/VOC 폐가스 처리실험은 온도조절이 가능한 항온실에서 수행되었다.

먼저, 처리실험을 수행하기 위해 사각형의 아크릴 칼럼(바이오필터, 150mm × 150mm × 900mm H)에 폴리우레탄 담체 (1×1×1 cm)를 높이 550mm까지 충전한 다음, 액상 형태로 제조된 본 발명의 미생물 제제 10ℓ를 순환펌프로 상기 칼럼에 공급하여 분해미생물(균주)들을 상기 폴리우레탄 담체에 고정화하였다.

이어서, 썩은 음식물 쓰레기를 넣은 아크릴 재질의 탱크(용량 10ℓ)에 공기를 불어넣어 약취/VOC를 발생시키고, 이 약취/VOC를 바이오필터에 공급하였다.

항온실의 온도는 60℃와 30℃로 교대로 설정하여 바이오필터의 온도가 조절되게 하였다.

한편, 본 출원인은 약취/VOC의 처리실험을 수행하는 동안, 상기 바이오필터의 입 출구를 통과하는 폐가스와 정화가스를 각각 테들러 백에 채취하여 공기희석법으로 냄새강도를 측정해 보았는데, 그 결과는 도2와 같았다.

도 2에서 보는 바와 같이 본 발명의 기술적 사상이 구현된 생물학적 제거장치(예컨대, 바이오필터 타입)는 운전 초기부터 80% 이상의 높은 제거효율을 얻을 수 있었으며, 공간속도 200 h<sup>-1</sup>(체류시간: 18초)조건에서는 냄새강도가 3,000 OU/m<sup>3</sup> 이상의 고농도 약취/VOC 폐가스를 매우 효율적으로 처리할 수 있었다. 특히, 온도가 30℃와 60℃로 급변하는 조건 하에서도 제거효율이 일정수준을 유지하였다.

**실시예 3 : 광온성 미생물 제제를 이용한 파일럿 규모의 바이오필터에 의한 약취/VOC 폐가스의 처리**

파일럿 규모의 바이오필터에 본 발명의 광온성 미생물 제제를 접종하여 약취/VOC 폐가스의 처리효율을 조사하였다.



바이오필터는 STS304 재질로 직경 2m × 높이 5m로 제작하였으며 수직 2단으로 배치하여 그 내부에 20 × 20 × 20mm (W x H x D)크기의 폴리에틸렌 담체를 각각의 단에 1m 높이까지 채워 담체의 충전부피가 총 5m<sup>3</sup>가 되게 하였다.

이어서, 순환펌프로 액상의 광온성 미생물 제제 100ℓ를 바이오필터 상단에 공급하여 분해미생물들을 담체에 고정화한 후 악취/VOC 폐가스가 분진 제거용 소형 스크리버를 통해서 4m<sup>3</sup>/min로 유량으로 공급되게 하였다.

한편, 본 출원인은 처리실험을 수행하는 중에 악취/VOC 폐가스의 온도/성상/농도 변화에 따른 처리효율의 변동을 하루동안 조사하여 각각 도 3과 도 4의 그래프를 얻게 되었는데, 동 도면에서 나타나 있는 바와 같이 악취/VOC의 배출온도가 최저 25℃에서 최고 65℃까지 변동되고 취기농도가 최소공기희석배수로 800에서 3000배까지 변동하는 경우에도 90~96% 이상의 안정적인 처리효율을 나타내었다.

그 결과, 바이오필터에서 배출되는 처리가스의 악취희석배수는 악취방지법 상의 규제치인 500배보다 훨씬 낮은 100~250배 정도를 항상 유지하여 부하변동에도 불구하고 규제치를 만족하였다.

상기 바이오필터를 4개월 간 운전한 결과가 도 5와 도 6에 도시되어 있다.

도면에서 보는 바와 같이, 4개월 운전하는 동안 바이오필터로 유입되는 악취/VOC 폐가스의 온도는 20~65℃로 변동이 매우 심했다(도 5).

한편, 운전기간 중에 지속적으로 현장에서 샘플을 채집하여 실험실에서 공기희석에 의한 관능검사방법으로 바이오필터의 처리효율을 측정하였는데, 약 4개월의 기간동안 바이오필터 입구에서의 취기농도는 공기희석배수로 1000배에서 5000배까지 변화가 있었으며 평균적으로는 2500배 정도였다(도 6).

운전 초기 약 10일 동안은 미생물의 안정화 기간으로 제거효율이 낮게 나타났으나, 10일 경과 후부터는 제거효율이 증가하면서 15일경부터는 85% 이상의 제거효율을 유지하였고 20일 이후에는 90% 이상의 제거효율을 나타내었다.

또한, 바이오필터에서 처리된 처리가스의 취기농도는 공기희석배수로 100~ 250배로 법적 규제치를 만족하였다.

### 발명의 효과

이상에서 상세히 설명하고 입증하였듯이, 본 발명에 의하면 20~70℃의 넓은 온도범위에서 작동하는 광온성 미생물 제제 또는 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 손쉽게 수득할 수 있다.

또한, 본 발명의 광온성 미생물 제제를 통상의 생물학적 제거장치에 적용하여 악취/VOC의 분해처리에 활용한다면, 온도/성상/농도가 일간 또는 월간 별로 크게 변동하는 경우에도 단일장치에서 안정적으로 그리고 고효율로 처리할 수 있다.

특히, 본 발명에서 제공하는 광온성 분해미생물군(consortium)은 20~70℃의 중·고온에서 활동이 가능하고 악취/VOC 분해활성의 최적온도가 다른 특수한 분해미생물들로 구성되어 있어 온도변화가 심한 경우에도 냉각설비 등의 전처리 설비 없이 안정적으로 악취/VOC를 정화처리 할 수 있으며, 냉각에너지가 필요 없어 유지관리가 용이하고, 생물학적인 처리방법으로 중온/고온성의 악취/VOC 폐가스를 무해/무취 한 물질로 분해하므로 2차 오염물질이 발생되지 않는다.

### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1.

작동온도가 다른 적어도 둘 이상의 악취/VOC 분해미생물을 혼합·배양하되 최저설정온도와 최고설정온도 사이에 다수의 온도스텝을 두어 각각의 온도스텝에서 소정시간동안 배양하는 것을 특징으로 하는 광온성(廣溫性) 악취/VOC 분해미생물군의 수득방법.

#### 청구항 2.

제 1항에 있어서,

상기 온도스텝이 증가하는 승온(昇溫)과정과 상기 온도스텝이 감소하는 감온(減溫)과정을 반복적으로 적용하되, 인접하는 두 온도스텝 사이의 온도차를 일정하게 유지하면서 상기 둘 이상의 악취/VOC 분해미생물을 배양하는 광온성(廣溫性) 악취/VOC 분해미생물군의 수득방법.

### 청구항 3.

삭제

### 청구항 4.

제 1 항의 방법으로 수득한 광온성 악취/VOC 분해미생물군으로서,

a) *Psychrobacter* sp. IC008와;

b) Uncultured bacterium clone F2-70, Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-24, Uncultured bacterium WkB3, Uncultured soil bacterium clone C0102 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 악취/VOC 분해미생물과;

c) *Rubrobacter xylanophilus*, *Mycobacterium buckleyi* 중에서 선택된 적어도 하나 이상의 악취/VOC 분해미생물;

로 이루어진 것을 특징으로 하는 광온성 악취/VOC 분해미생물군.

### 청구항 5.

제 4 항 기재의 광온성 악취/VOC 분해미생물군으로 만든 악취/VOC 분해용 미생물 제제.

### 청구항 6.

제 5항에 있어서,

상기 악취/VOC 분해용 미생물 제제는

자당과 스킴밀크와 효모추출액과 물이 소정비율로 혼합된 용액에, 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 첨가하여 만든 액체인 것을 특징으로 하는 악취/VOC 분해용 미생물 제제.

### 청구항 7.

제 5항에 있어서,

상기 악취/VOC 분해용 미생물 제제는

벤토나이트 또는 셀라이트에 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 흡착한 고형물인 것을 특징으로 하는 악취/VOC 분해용 미생물 제제.

### 청구항 8.

제 5항에 있어서,

상기 악취/VOC 분해용 미생물 제제는

광온성 악취/VOC 분해미생물군이 흡착된 고형물을 분쇄하여 된 분말인 것을 특징으로 하는 악취/VOC 분해용 미생물 제제.

**청구항 9.**

악취/VOC가 생물학적인 처리방법으로 분해되는 생물학적 제거장치에 광온성 악취/VOC 분해미생물군을 접종하는 접종 단계;

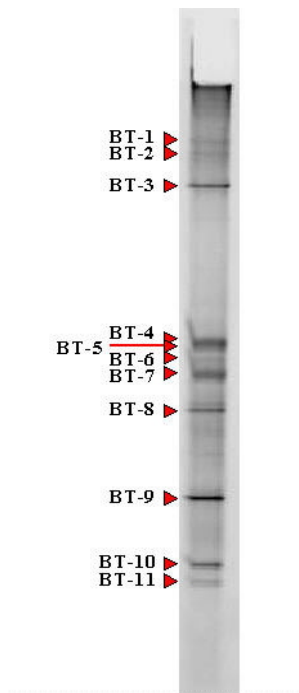
상기 접종단계의 완료 후, 상기 생물학적 제거장치에 냄새강도 1000~3000 OU/m<sup>3</sup> 범위의 악취/VOC를 소정기간동안 공급하여, 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물군이 상기 악취/VOC를 분해하면서 안정화되도록 하는 과도단계;

상기 과도단계의 완료 후, 상기 생물학적 제거장치에 임의농도 및 임의온도의 악취/VOC를 공급하여 상기 광온성 악취/VOC 분해미생물군의 분해작용에 의해 상기 악취/VOC가 무해/무취한 물질로 분해되게 하는 정상운전단계;

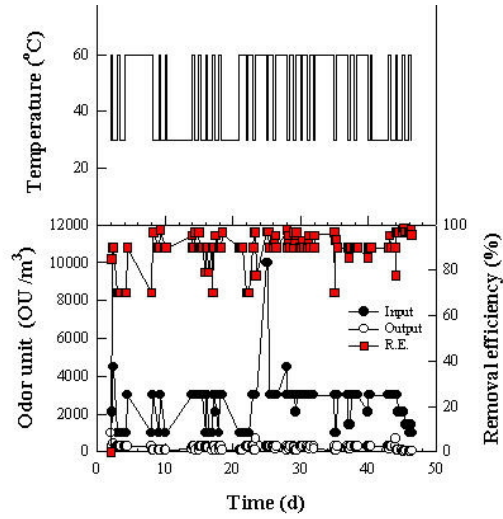
를 포함하는 악취/VOC의 생물학적 처리방법.

**도면**

도면1

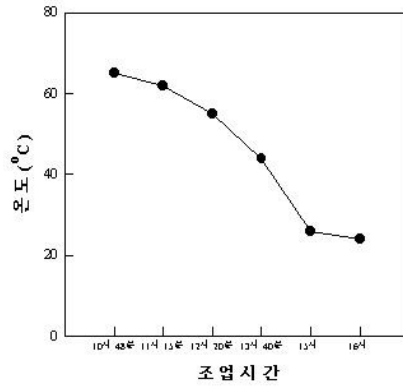


도면2

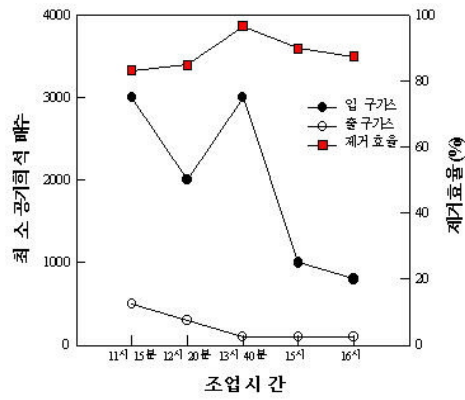


□, 바이오필터 배출수의 pH ; —, 바이오필터 내부온도  
 ●, input gas의 악취강도 ; ○, output gas의 악취강도 ; ■, 제거효율

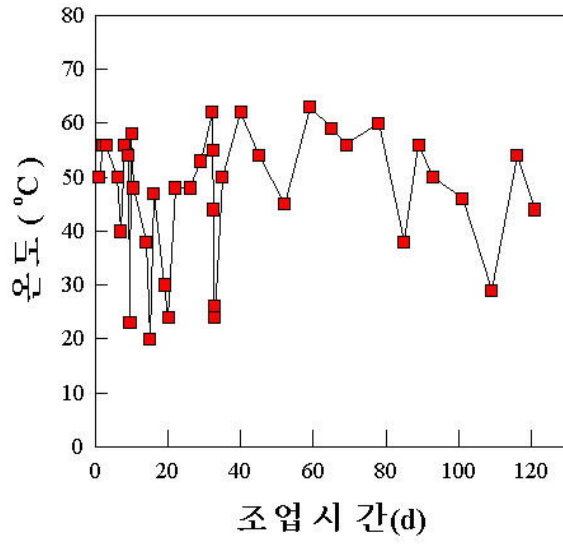
도면3



도면4



도면5



도면6

