



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2023년 2월
석사학위 논문

**HONO 배출 감소를 위한
구름버섯 Biochar-Mycelium
pellet(BC-MP) 제조 및 토양 관리**

조선대학교 대학원

화학공학과

김 정 수

HONO 배출 감소를 위한 구름버섯 **Biochar-Mycelium** pellet(BC-MP) 제조 및 토양 관리

**Manufacture of *Trametes versicolor* BC-MP for the
reduction of HONO emission with soil management**

2023년 02월 24일

조선대학교 대학원

화학공학과

김 정 수

**HONO 배출 감소를 위한
구름버섯 Biochar-Mycelium
pellet(BC-MP) 제조 및 토양 관리**

지도교수 이 중 현

이 논문을 공학 석사학위신청 논문으로 제출함

2022년 10월

조선대학교 대학원

화학공학과

김 정 수

김정수의 석사학위논문을 인준함

위 원 장 조선대학교 교 수 이재욱 (인)

위 원 조선대학교 교 수 이중현 (인)

위 원 조선대학교 교 수 신현재 (인)

2022년 12월

조선대학교 대학원

목 차

List of Tables	IV
List of Figures	V
ABSTRACT	VIII
제1장 서론	1
제1절 연구배경	1
제2절 이론적 배경	4
1. 토양 유래 HONO 생성 기작	4
가. 미세먼지	4
나. VOCs	6
다. HONO (Nitrous acid)	13
라. 토양 유래 HONO 생성 기작	14
마. 질산화 및 탈질산화	14
2. Biochar–Mycelial pellet (BC–MP)	16
가. 균사체	16
나. 구름버섯 (<i>Trametesversicolor</i>)	17
다. Mycelial pellet (MP)	18
라. Biochar (BC)	20

제2장 실험재료 및 방법	21
제1절 실험재료 및 기기	21
제2절 BC-MP 제조	23
1. 구름버섯 균사체 배양 (MP 제조)	23
2. BC-MP 제조	25
제3절 토양 유래 HONO 측정	27
1. HONO 측정 장치	27
가. 흡수액을 이용한 HONO 측정 장치	27
나. Mass flow controller	27
2. HPLC를 이용한 Nitrite, Nitrate 분석	30
3. Indophenol 방법을 이용한 Ammonium 분석	30
4. 비료 시비 유무 및 토양 깊이에 따른 질소원 분석	36
5. HONO 측정 및 토양 내 질소원 분석	37
가. 온도에 따른 HONO 배출량	37
나. 유속에 따른 HONO 배출량	37
다. Urea 농도에 따른 토양 내 질소원 농도 분석	37
라. 토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량	37
마. Soil, BC, BC-MP 토양 적용 시 HONO 배출량 비교	37
6. Matlab을 이용한 model식 simulation	38
제3장 결과 및 고찰	42

제1절 BC-MP 제조	42
1. Scanning electron microscopy (SEM) 측정	42
2. Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) 측정	44
제2절 비료 시비 유무 및 토양 깊이에 따른 질소원 분석	
47	
1. 비료 시비 유무에 따른 질소원 농도 분석	47
2. 토양 깊이에 따른 질소원 농도 분석	47
제3절 HONO 측정 및 토양 내 질소원 분석	51
1. 온도에 따른 HONO 배출량	51
2. 유속에 따른 HONO 배출량	51
3. Urea 농도에 따른 토양 내 질소원 농도 분석	54
4. 토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량	54
5. Soil, BC, BC-MP 토양 적용 시 HONO 배출량 비교	54
제4장 결론	59
References	61

List of Tables

Table 1. Media composition for mycelium culture	24
Table 2. HPLC method	31
Table 3. FT-IR peak and corresponding functional groups of MP, BC and BC-MP	46

List of Figures

Figure 1. Schematic illustration of HONO emission reduction using BC-MP	3
Figure 2. The composition of the fine dust	5
Figure 3. VOC reaction with OH and NO ₃	9
Figure 4. The mechanism of SOA formation by alkane-OH reactions	10
Figure 5. The mechanism of SOA formation by isoprene-OH reactions	11
Figure 6. Acid-catalyzed oligomerization via peroxyhemiacetal formation, hemiacetal formation and aldol condensation on aerosol surface	12
Figure 7. Chemical structure of HONO	13
Figure 8. The process of HONO emission and Nitrification	15
Figure 9. Image of <i>Trametesversicolor</i> (A) Fruitbody, (B) Mycelium	19
Figure 10. The process of BC-MP manufacturing	26
Figure 11. Schematic illustration of HONO absorption analysis	28
Figure 12. Standard curve for the flow rate by DC power supply	29
Figure 13. Standard curve for the determination of nitrite concentration	32
Figure 14. Standard curve for the determination of nitrate concentration	33
Figure 15. Chromatogram of a standard mixture	34

Figure 16. Standard curve for the determination of ammonium concentration 35

Figure 17. Soil Sample (A)-(D) College of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field 36

Figure 18. Process of changing nitrogen source in soil through nitrification 40

Figure 19. Matlab simulation : Change in nitrogen source concentration by time (A) Ammonium, (B) Nitrite, (C) Nitrate 41

Figure 20. Image of BC-MP after freeze drying 42

Figure 21. SEM image of (A) MP, (B) BC-MP 43

Figure 22. FT-IR spectra of (A) MP, (B) BC, (C) BC-MP 45

Figure 23. Concentration of nitrate by soil sample (average concentration by soil depth) (A)-(D) Collenge of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field 48

Figure 24. Concentration of ammonium by soil sample (average concentration by soil depth) (A)-(D) Collenge of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field 49

Figure 25. Concentration of nitrogen source by soil depth (A) Nitrate, (B) Ammonium 50

Figure 26. HONO emissions by soil temperature (20 °C, 30 °C) 52

Figure 27. HONO emissions by air flow rate (0.5 L/min, 0.75 L/min, 1 L/min) 53

Figure 28. (A) Change in ammonium concentration with urea concentration,
 (B) Matlab simulation : Change in ammonium concentration by time 56

Figure 29. (A) HONO emissions by ammonium concentration, (B) HONO
 emissions by nitrate concentration 57

Figure 30. Comparison of HONO emissions by soil conditioner (Soil, BC,
 BC-MP) 58

ABSTRACT

Manufacture of *Trametes versicolor* BC-MP for the reduction of HONO emission with soil management

Kim, Jeong Su

Advisor : Prof. Lee, Jung Heon, Ph.D.

Department of Chemical Engineering

Graduate School of Chosun University

The purpose of this study is to reduce the emission of HONO gas, which is the cause of fine dust, by using BC-MP prepared using biochar and mycelium as a soil conditioner. To measure HONO, we designed a device that can absorb and measure HONO gas in solution. The flow rate of air entering the device was constantly controlled using a mass flow controller. NO_2^- and NO_3^- present in the absorbent and soil were analyzed at 210 nm using a Phenomenex Spherclone sax column (HPLC).

In order to increase the detection sensitivity of trace amounts of HONO gas, the optimal detection conditions were selected by comparing HONO gas emissions according to soil temperature, air flow rate, and urea concentration. The detection amount of HONO was 0.52 ppm at 20 °C and 1.25 ppm at 30 °C. The air flow rate was detected as 0.34 ppm, 0.44 ppm, and 0.69 ppm at 0.5 L/min, 0.75 L/min, and 1 L/min, respectively. Therefore, the change in the amount of HONO gas generated according to the change in the concentration of urea was measured when the temperature was 30 °C and the flow rate was 1 L/min.

Changes in HONO production were measured for 84 hours using urea concentrations of 0.1 mg/g soil, 0.5 mg/g soil, and 1 mg/g soil. As a result, 0.63 ppm, 0.71 ppm, and 0.72 ppm were respectively detected. The higher the concentration of urea, the higher the concentration of NH_4^+ in the soil was detected. In addition, NH_4^+ concentration in the soil increased over time, showing characteristics similar to the results of model simulation using Matlab. The production of HONO was measured to increase proportionally with NH_4^+ concentration in the soil.

BC and BC-MP as soil conditioners were added to the soil to be 10 mg/g soil, and HONO emissions were compared for 60 hours. The concentration of HONO gas generated in the soil without soil conditioner was 0.75 ppm. On the other hand, the concentrations of HONO gas emitted from soils using BC and BC-MP as soil conditioners were 0.49 ppm and 0.45 ppm, respectively.

As a result, when BC-MP was used as a soil conditioner, the emission of HONO gas was lowest. This study presents the application of BC-MP as a soil conditioner in agriculture field.

제1장 서론

제1절 연구배경

미세먼지는 지름이 10 μm 이하의 먼지 입자로 호흡기, 심장 질환 및 눈병 등 각종 염증을 유발하는 물질로 1차 미세먼지와 2차 미세먼지로 구분된다. 1차 미세먼지는 오염원에서 미세먼지 형태로 직접 배출되는 것으로 검댕, 중금속 등이 있고, 2차 미세먼지는 오염원으로부터 재료가 되는 물질이 배출되고 공기 중에서 물리·화학적 반응을 통해 미세먼지로 전환되는 것으로 무기성 물질이나 유기탄소 등이 있다. [1]

이 중 비료의 사용으로 인한 토양 유래 HONO (Nitrous acid)가스의 배출은 미세먼지 원인으로 여름철 토양 유래 배출원의 17%나 차지하고 있다. 토양 유래 HONO 가스는 토양 내 미생물들에 의한 질산화 및 탈질산화 과정을 통해 대기로 배출되는 미세먼지 원인 물질이다. 대기로 배출된 HONO는 낮 시간 동안 광분해 반응을 통해 OH 라디칼로 분해가 되고, 이는 대기 중 휘발성유기화합물인 VOCs와 반응하여 2차 미세먼지인 SOA를 생성하게 된다. [2-9]

현대에 인구증가 및 소득증대와 도시화로 인해 식품 수요가 크게 증가하고, 이러한 수요를 충족시키기 위해 작물 생산량도 함께 증가해야 한다. 마찬가지로 작물 생장에 필수적인 비료의 사용량도 증가할 수 밖에 없다. 비료는 작물의 생장을 촉진시키고, 토양의 생산성을 높여 작물의 대량생산과 안정적 공급이 가능하다는 장점이 있다. [10]

하지만, 과도한 비료의 사용은 지구온난화의 주범인 이산화탄소 CO_2 와 온실효과가 300배 더 강력한 아산화질소 N_2O 를 발생시켜 기후변화를 촉진하며, 토양을 산성화시키는 단점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 토양 개량제로 바이오차 (Biochar)를 비료와 함께 시비하여 사용하고 있다. 바이오차는 토양의 pH를 증가시켜 토양 산성화를 방지하며 토양 내 수분 및 영양분을 흡착하여 작물이 쉽게 자랄 수 있도록 도와준다. 그뿐만 아니라 온실가스의 배출량도 감소시켜 기후변화 대응에 효과적인 방안으로 떠오르고 있다. [11-12]

또한, 대체가죽과 대체육 등 다양한 산업 및 식품소재를 만드는 친환경 연구로 주목 받고 있는 균사체 (Mycelium)는 내부의 다공성 특성을 이용하여 수질 내 중금속 물질 제거 및 미세먼지 흡착능력이 우수한 건축재료로 사용되고 있다. 이러한 균사체 내부에 바이오차를 흡착시켜 제조한 BC-MP를 새로운 토양 개량제로 활용하였을 때 토양에서 배출되는 HONO 가스의 양을 비교하고자 한다. [13-14]

미량으로 존재하는 HONO 가스를 검출하기 위해 mass flow controller를 이용하여 측정장치를 설계하였다. 토양의 온도와 유입되는 air의 유속, 비료 대신 토양에 뿌려 준 Urea의 농도에 따른 HONO 배출량을 비교하여 HONO의 검출량이 가장 많은 조건을 선정하여 실험을 진행하였다.

HONO 가스 검출의 최적 조건을 통해 토양개량제로 BC와 BC-MP를 사용하였을 때 배출되는 HONO 가스의 양을 비교하여 미세먼지를 저감할 수 있는 방안을 제시하고자 한다(Figure 1).

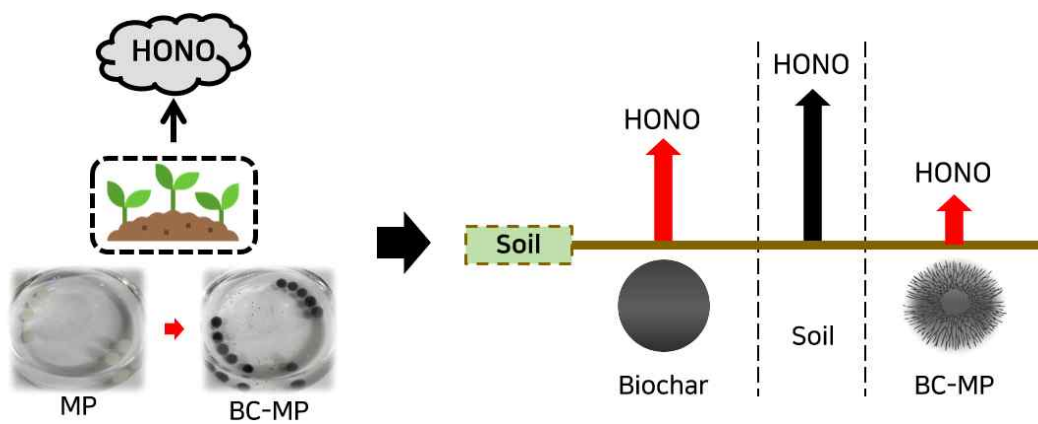


Figure 1. Schematic illustration of HONO emission reduction using BC-MP

제2절 이론적 배경

1. 토양 유래 HONO 생성 기작

가. 미세먼지

미세먼지는 지름이 10 μm 이하의 먼지 입자이며, 초미세먼지는 지름이 2.5 μm 이하의 먼지 입자로 호흡기에서 걸러지지 않고 체내에 침투하여 각종 질환 및 염증을 유발한다. 미세먼지에 장기간 노출 시 면역계 세포인 림프구와 호중구가 증가해 염증을 일으켜 천식이나 폐섬유증과 같은 호흡기 질환이 발생한다. 심한 경우엔 폐암까지도 유발할 수 있다. 또한, 미세먼지의 구성 성분 중 중금속 물질이 뇌의 전두엽에 축적될 경우 치매 유발 및 우울증과 조현병과 같은 정신질환의 유발 가능성이 대두되고 있다. 모공을 통해 피부로 침투한 미세먼지는 세포를 공격해 노화를 일으키는 활성산소를 생성하여 피부 노화를 유발하거나 두드러기, 아토피, 알레르기와 같은 피부 질환을 유발한다. 그뿐만 아니라 혈관에 침투한 미세먼지는 혈소판을 활성화하여 혈전을 생성한다. 이로 인해 망막 혈관이 막혀 시력이 저하되거나 뇌졸중, 심장마비, 급성 심근경색 등을 발생시킨다. 이러한 미세먼지를 세계보건기구 WHO에서 1급 발암물질로 지정하고 있다. [1, 15]

이처럼 은밀한 살인자라 불리는 미세먼지는 1차 미세먼지와 2차 미세먼지로 구분된다. 1차 미세먼지는 오염원에서 미세먼지 형태로 직접 배출되는 것으로 검댕, 중금속 및 지각 구성 물질이 대표적이며, 2차 미세먼지는 오염원으로부터 재료가 되는 물질이 배출되고 공기 중에서 물리·화학적 반응을 통해 미세먼지로 전환되는 것으로 무기성 물질이나 유기탄소 등이 있다.

미세먼지의 대표적인 구성 성분으로는 원소탄소 (Elementary carbon), 유기탄소 (Organic carbon), 무기성 이온 (Inorganic ions), 지각성분, 금속 입자 등이 있다. 원소탄소의 경우 자동차 배기가스 나 불완전 연소과정을 통해 배출된다. 유기탄소는 VOCs (Volatile organic compounds)로 석유나 화학공정 및 조리과정, 페인트, 염색과 같은 유기용제 사용으로 인한 인위적 배출과 식물을 통해 자연적으로 배출된다(Figure 2). [16]

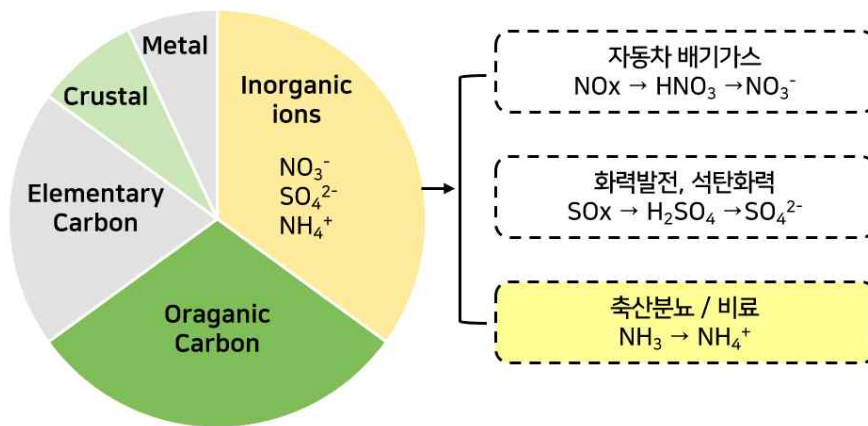


Figure 2. The composition of the fine dust

나. VOCs

VOCs는 휘발성 유기 화합물로 끓는점이 낮아 대기로 쉽게 증발하는 액체나 기체 상태의 탄화수소 화합물로 인위적 휘발성 유기화합물 (Anthropogenic volatile organic compound, AVOCs)과 자연적 휘발성 유기화합물 (Biogenic volatile organic compounds, BVOCs)로 구분된다. 이때, 주로 석유·화학 공장에서 발생하는 AVOCs의 물질로는 벤젠 (Benzene), 톨루엔 (Toluene), 자일렌 (Xylene), 알데하이드 (Aldehyde) 등이 있고, 식물을 통해 발생하는 BVOCs의 물질로는 이소프렌 (isoprene), 모노테르펜 (monoterpene)이 대표적이다. 이소프렌의 경우 식물의 대사 과정 중 다이메틸알릴 피로인산의 피로인산이 제거되어 생성되며 엽록소를 통해 바로 배출되며, 모노테르펜의 경우 초식동물로부터 방어하기 위해 식물 내 상피세포 에서 생성되며 잎에 저장된 후 대기로 배출된다. [17]

배출된 VOCs는 탄소에 OH나 NO₃가 더해지면서 R· (Alkyl Radical)이 생성되고, 여기서 R·는 O₂와 반응하여 ROO· (Peroxy radical)이 된다. ROO·는 NO₂와 반응하여 ROONO₂ (Peroxynitrate)로 생성되지만, 이 반응은 가역반응으로 다시 ROO·와 NO₂로 분해된다. 또한, ROO·는 NO와 반응하여 RONO₂ (Alkyl nitrate)로 생성되거나 RO· (Alkoxy radical)과 NO₂로 생성된다(Figure 3). 이때 RO·의 생성은 SOA 생성의 중요한 메커니즘이다. 여기서 SOA는 secondary organic aerosol 이차 유기 입자로 미세먼지를 의미한다. [18]

배출된 AVOCs가 단일결합으로만 이루어진 탄화수소인 경우 Figure 4와 같은 과정을 통해 SOA를 생성한다. 먼저, 기체 상태의 Alkane은 OH와 반응하여 H₂O가 빠져나오면서 R· (alkyl radical)이 되고 R·는 산소와 반응하여 ROO· (Peroxy radical)이 된다. ROO·는 NO와 반응하여 RONO₂ (Alkyl nitrate)가 되거나 RO· (Alkoxy radical)과 NO₂로 생성되는데 이때 RO·는 isomerization과 산소 및 NO와의 반응을 통해 1,4-hydroxynitrate로 생성되거나 ROOH· (Hydroperoxy radical)과 NO₂로 분해되어 생성된다. 이때 ROOH·은 isomerization과 OH와의 반응을 통해 1,4-Hydroxycarbonyl로 생성되고 가스 상태에서 입자 상태 (Aerosol phase)로 분배되면서 SOA가 생성된다. 에어로졸 표면에서 1,4-Hydroxycarbonyl은 acid catalyzed를 통해 cyclic hemiacetal이 되고, 다시 Dihydrofuran으로 되면서 기체 상태로 증발한다. 이때 기체 상태의 Dihydrofuran

은 대기 중 OH와 반응하여 2차 대기오염물질을 생성한다.

BVOCs 배출량 중 49 %나 차지하는 이소프렌의 경우 Figure 5와 같은 과정을 통해 SOA를 생성한다. 먼저, isoprene은 OH와 산소와의 반응으로 peroxy radical로 생성되고, NO와 반응하여 RO· (alkoxy radical)이 된다. 이때, RO·은 깨져 Fragment로 존재하기 때문에 isoprene의 경우 NO_x가 존재할 때 SOA의 수율이 감소하게 된다. 대기 중 NO가 없는 경우 ROO· (peroxy radical)은 HO₂와 반응하여 ROOH (Organic hydroperoxide)를 생성하고, OH와의 2차 반응을 통해 epoxide가 만들어 진다. 이 과정에서 OH는 재생산 된다. Epoxide는 산성의 에어로졸 표면에서 acid catalyzation을 통해 2-methyltetrol이 되고, epoxide와 2-methyltetrol은 쉽게 반응하여 oligomer가 되어 SOA를 생성한다. oligomer는 단량체 (monomer)로부터 얻어지는 반복 단위가 작은 저분자 생성물로 반복 단위가 두 개, 세 개인 경우 각각 dimer, trimer라고 한다. Figure 6은 에어로졸 표면에서의 peroxyhemiacetal과 hemiacetal의 형성 및 aldol condensation 반응을 통해 oligomer가 생성되는 과정을 보여주고 있다. 이때, 알돌은 알데하이드와 알코올의 합성어이며 알돌축합반응은 알돌의 물 분자가 빠져나오면서 α 탄소와 β 탄소 사이에 이중결합이 형성되는 반응이다.

유기탄소인 VOCs외에도 미세먼지 구성 성분 중 무기성 이온인 NO₃⁻는 자동차나 내연기관의 연소과정을 통해 배출된 질소산화물 NO_x이 산화되어 생성되며, SO₄²⁻의 경우 석탄에 있는 황 성분이 연소 시 대기로 배출된 이산화황 SO₂의 산화과정을 통해 생성된다. 또한, 무기성 이온 중 NH₄⁺의 경우 주로 농업 분야에서 화학비료의 시비나 가축분뇨의 보관 및 토양 살포처리 과정에서 발생한다. 이때, 발생한 암모니아는 대기 중 NO_x 및 SO_x와 결합하여 황산암모늄, 질산암모늄 등으로 변환되어 2차 미세먼지를 생성하는 원인 물질로 2010년부터 대기과학전문가들은 암모니아를 미세먼지 문제의 핵심 유해요인으로 여기고 있다.

이러한 다양한 원인으로부터 발생 되는 미세먼지를 저감하기 위해 국내에서 많은 정책들이 시행중이다. 먼저, 초미세먼지의 평균농도를 25 μg/m³을 목표로 하는 계절관리제도가 있다. 이 정책은 배출가스 5등급 차량의 제한적 운행 및 노후 기계의 사용을 제한하고, 대기오염물질 배출사업장의 불법 배출 집중 단속 및 영농폐기물 불법 소각 방지를 추진한다. 또한, 공사장 비산먼지 관리 및 다중 이용시설 실내 공기질 관

리를 통해 미세먼지 안심 공간을 마련할 계획이라고 한다. 해양수산부에서는 항만지역 대기질 개선 특별법 제정을 통해 항만 미세먼지를 50 % 감축할 계획이라고 한다. 선박연료유의 황 함유량 기준을 강화하고 (3.5 % → 0.5 %) 친환경 선박 설비 확충지원 및 배출규제해역과 저속운항해역을 지정하여 종합적인 미세먼지 관리 체계를 만들 계획이다. 그뿐만 아니라 포스코에서는 미세먼지 배출 35 % 감축을 목표로 SCR 설비를 확대할 계획이라고 한다. SCR은 선택적 촉매 환원 selective catalytic reduction 설비로 연소과정에서 발생하는 NO_x가 대기로 배출되기 전에 N₂와 O₂로 전환시키는 환경 설비이다. 이렇게 운송 및 산업 분야에서는 미세먼지 감축을 위한 다양한 정책이 시행 중이지만, 농업분야에서는 노후 된 농업기계의 폐차 보조금 지원 외엔 규제가 미비한 상태이다. 2차 미세먼지를 유발하는 암모니아 또는 토양 유래 HONO 가스를 줄이기 위한 농업분야에서의 다양한 정책 및 관리가 필요할 것으로 보인다.

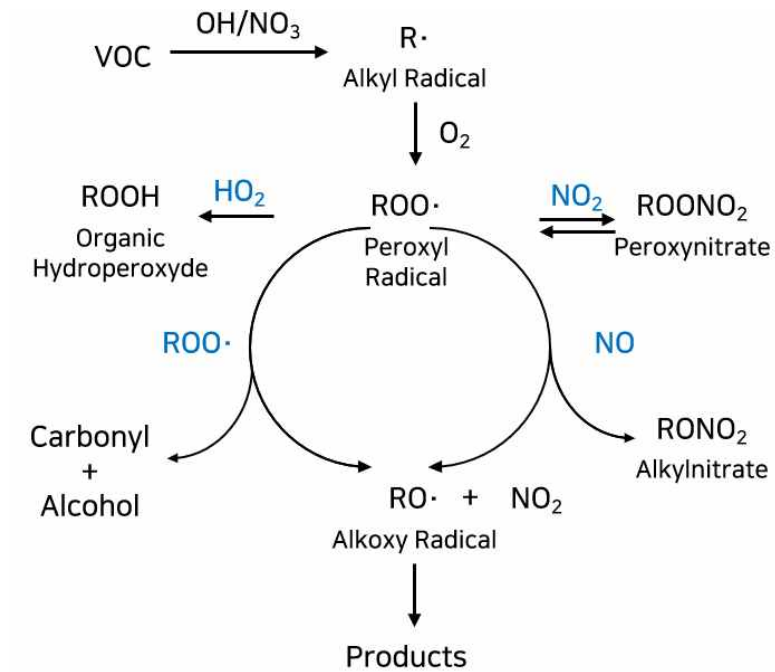


Figure 3. VOC reaction with OH and NO₃ [18]

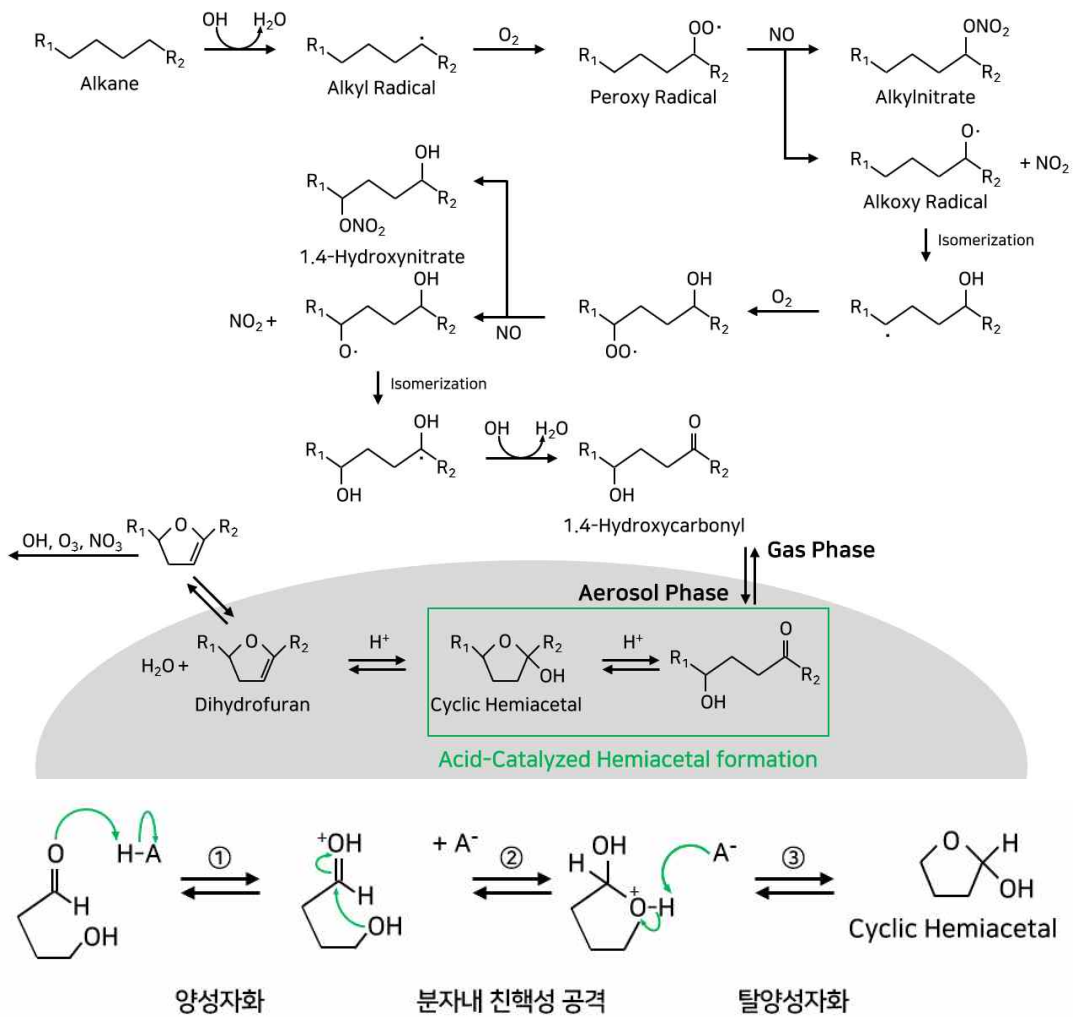


Figure 4. The mechanism of SOA formation by alkane-OH reactions [18]

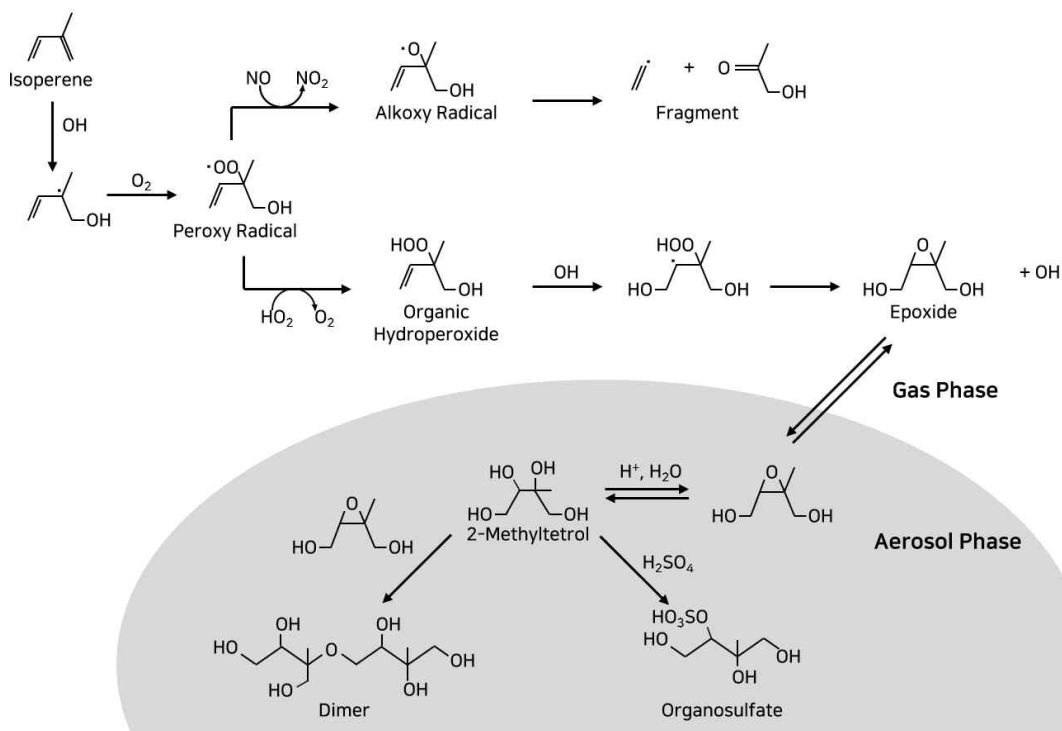


Figure 5. The mechanism of SOA formation by isoprene-OH reactions [18]

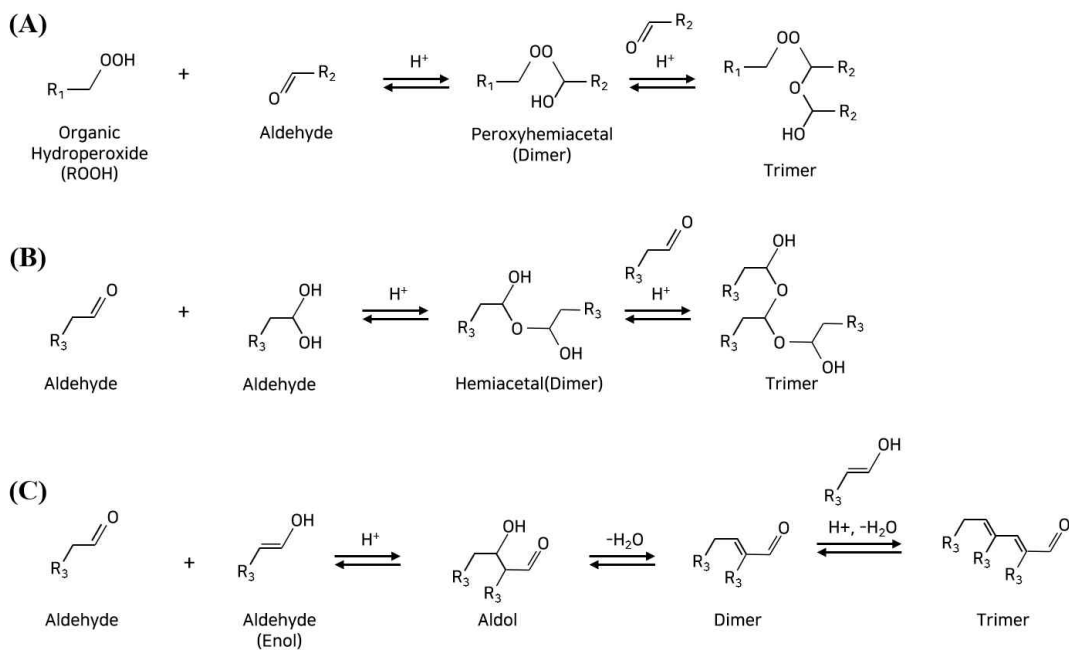


Figure 6. Acid-catalyzed oligomerization via peroxyhemiacetal formation, hemiacetal formation and aldol condensation on aerosol surface [18]

다. HONO (Nitrous acid)

HONO(Nitrous acid) 가스는 자동차 배기가스 또는 실내 주거공간에서의 취사 활동으로 배출된 일산화질소 (NO)나 아산화질소 (N₂O)와 같은 질소산화물에 의해 생산된다. 특히, 대기 중 습도가 높은 안개가 짙은 날이나 먼지 따위의 고체 입자가 바람에 날리는 연무현상이 발생하는 시기에 HONO 배출량이 더 높게 관찰된다. HONO는 낮 시간 동안 빛을 받게 되면 광분해 반응을 통해 OH 라디칼을 형성하게 된다. 이때 발생한 OH 라디칼은 대기오염물질과 반응하여 미세먼지를 유발한다. 그뿐만 아니라 HONO 가스는 사람의 호흡기 계통을 통해 유입 시 강력한 발암물질인 니트로사민(Nitrosamines)을 생성하여 눈의 점막이나 폐의 손상을 유발하는 인체에 유해한 물질이다(Figure 7). [2-3]

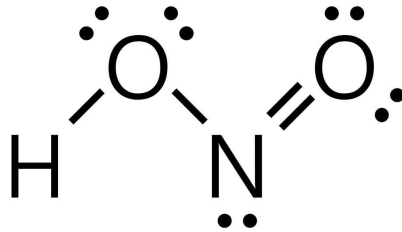


Figure 7. Chemical structure of HONO

라. 토양 유래 HONO 생성 기작

인구증가 및 소득증대, 도시화로 인해 식품 수요가 증가하고 이로 인해 작물재배에 필수적인 비료의 사용량도 증가하게 된다. 이때 비료는 토양 내 NH_4^+ (Ammonium) 이온으로 존재하게 되고, 질산화 과정을 통해 NO_2^- (Nitrite) 이온과 NO_3^- (Nitrate) 이온으로 산화된다. 이때, NO_2^- 는 산성조건에서 H^+ 와 반응하여 대기로 HONO 가스로 배출된다. HONO는 광분해 반응을 통해 OH 라디칼을 생성하고, 대기 중 VOCs나 1차 대기오염물질과 반응하여 SOA를 생성한다(Figure 8). [4-5]

마. 질산화 및 탈질산화

토양 내 NH_4^+ 이온은 *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* 및 *Nitrosospira*와 같은 암모니아산화균에 의해 NO_2^- (Nitrite) 아질산 이온으로 산화된다. 이 과정을 질산화 1단계라고 한다. 그리고 이때 NO_2^- 는 *Nitrobacter*, *Nitrococcus* 및 *Nitrospian*와 같은 아질산산화균에 의해 NO_3^- (Nitrate)로 산화된다. 이 과정을 질산화 2단계라고 한다. 이러한 질산화 반응에 관여하는 미생물들은 산소를 이용하는 호기성 독립영양계이다. 질산화 과정은 토양의 pH가 6.0~8.0 사이의 중성 조건에서 잘 일어나며, 질산화가 진행될수록 토양의 pH는 감소하게 된다(Figure 8). 이러한 질산화 과정을 통해 생성된 NO_3^- 는 영양분으로 식물이 흡수한다. [6-9]

탈질산화는 질산화 반응과는 반대로 NO_3^- 가 NO_2^- 을 거쳐 다시 N_2 로 전화되는 과정으로 탈질산화에 관여하는 미생물들은 SO_4^{2-} , NO_3^- 의 결합산소를 이용하는 혐기성 종속영양계이다. 이 과정은 산소에 민감하기 때문에 일반적으로 침수된 토양과 산소 수준이 낮은 환경에서 발생한다. 탈질산화가 진행될수록 토양의 pH는 증가하고 토양 내 질소원의 손실이 일어나 토양 비옥도가 감소한다.

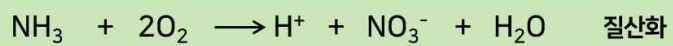
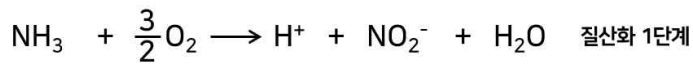
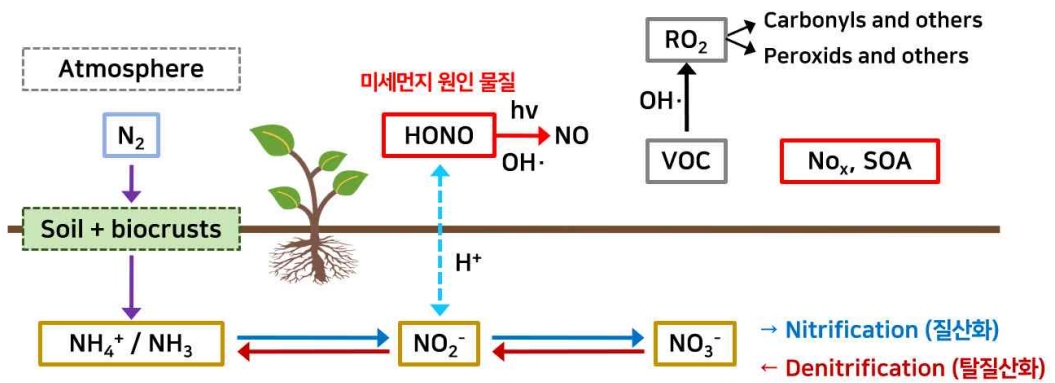


Figure 8. The process of HONO emission and Nitrification

2. Biochar-Mycelial pellet (BC-MP)

가. 균사체

버섯은 자실체와 균사체로 구분되는데 자실체는 갓 아래의 주름에 포자를 가지고 있는 번식기관이며, 균사체 (Mycelium)는 실 모양의 많은 파이프가 합하여 이루어진 것으로 β -글루칸, 단백질, 유기산, 테르페노이드 및 페놀 화합물 등이 풍부하게 함유되어 있는 버섯의 영양기관이다. 버섯의 번식은 자실체에서 포자가 방출되어 땅이나 기질에 떨어져 발아하고, 1차 균사가 자라게 된다. 이때 적당한 성장조건과 충분한 영양분 흡수를 통해 2차 균사가 되고 이것이 성장하면서 자실체인 버섯이 된다. 버섯의 자실체는 주로 식용이나 약용으로 사용되어 왔고, 최근에는 자실체뿐만 아니라 균사체 또한 polysaccharide나 아미노산 성분이 함유되어 있어 건강기능 식품 및 약품으로 많이 이용되고 있다. 그뿐만 아니라 최근 균사체는 대체가죽이나 대체육, 포장재 등 다양한 산업 및 식품소재를 만드는 친환경 연구로 주목받고 있다. 국내에서 버섯 수확 후 남은 배지의 양이 연간 80만 톤으로 이 중 16.9 %만 수거 후 가축의 사료나 퇴비 등으로 재활용되고 나머지는 폐기물로 처리되고 있다고 한다. 2022년 농촌진흥청에서는 버섯 수확 후 버려지는 배지를 이용하여 친환경 포장재를 만드는 기술을 개발했다. 남은 배지를 멸균처리하고 양분과 수분을 추가로 공급하여 특정 버섯의 균사체를 접종해 포장재 성형 틀에 채워 7일 동안 배양 후 모양을 굳히는 과정을 통해 만들어지는 친환경 포장재는 플라스틱 사용량도 줄이고 생분해가 가능하다는 장점이 있다. 균사체는 서로 얽혀 성장하여 배지와 함께 치밀한 그물망 구조를 이루는 특성이 있는데 이로 인해 모양과 부피가 일정하게 유지되는 장점이 있어 단열재나 건축자재 등 다양한 산업 소재로도 활용되고 있다. 또한, 전 세계적으로 비건에 대한 관심이 높아지면서 균사체를 이용한 대체가죽과 대체육 연구가 활발하게 진행 중이다. 자실체의 재배는 2~3개월 정도 소요되는 반면, 균사체는 발효기에서 7~10일 정도면 대량 배양이 가능하여 훨씬 경제적이며, 기후위기로 인한 식량 문제 및 환경문제의 해결방안으로 전망되고 있다. [13-14, 19, 26]

나. 구름버섯 (*Trametesversicolor*)

구름버섯 *Trametesversicolor*은 처음으로 항암 성분인 polysaccharide가 발견된 버섯으로 침엽수와 활엽수의 고목에서 자라나는 흑색 또는 회색의 버섯이다. 구름버섯은 운지버섯으로도 불리며, 전 세계에 골고루 분포되어 있다. 구름버섯은 주로 약재로 이용되며 이 버섯의 효능으로는 혈중 나쁜 콜레스테롤 및 중성지방을 제거하여 혈액순환을 개선시켜 동맥경화, 고혈압, 심근경색이나 뇌졸중과 같은 혈관 질병을 예방하고, 혈당 강하 작용으로 인한 당뇨병 예방 및 간세포 손상 억제 작용으로 인한 간 질환 예방이 있다. 특히, 구름버섯이 다량 함유하고 있는 polysaccharide는 체내에서 면역을 담당하는 대식세포를 자극하여 면역력을 활성화시켜 면역력 증진 및 항암작용이 우수하다. (Figure 9). [20]

다. Mycelial pellet (MP)

MP (Mycelial pellet)는 펠렛 모양의 균사체 집합체로 Figure 9의 (B)와 같이 자라며 배지 조성, pH, 접종 농도, 용존 산소 및 기타 환경요인 등이 MP 형성에 영향을 준다. 균사체의 종류에 따라 MP 형성의 최적 조건은 다르지만, 배지의 pH가 낮으면 MP 성장에 유리하고, pH가 높으면 MP 형성에 유리한 것으로 알려져 있다. 또한, 균사체의 접종 농도가 너무 높아 일정 수준에 도달하게 되면 분산된 균사 형태로만 자라 MP를 형성할 수 없고, 배지의 점도가 낮을수록 MP 형성에 유리한 것으로 알려져 있다. MP는 균사의 꼬임으로 인한 구조적 특성으로 큰 비표면적을 가지고 있으며 무독성에 생물학적 분해 가능하다는 장점이 있어 다양한 분야에서 적용이 가능하다. 특히, 중금속 폐수나 염료 폐수 처리에 효과적인 재료이며 유기 오염물질을 분해하는 능력이 뛰어나 유제품이나 양조장 육류 가공 폐수를 효율적으로 처리할 수 있다.

폐수에 함유된 중금속은 인체 건강에 해로울 뿐만 아니라 생태계를 위협하는 오염물질이다. MP는 이러한 중금속의 우수한 생체흡착 성능을 가지고 있어 저비용의 효율적인 흡착제로 연구되고 있다. *Rhizopus oryzae* 곰팡이로 제조한 MP의 경우 수질 내 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 제거에 효율적인 생체 흡착제로 연구되었다. 또한, *Aspergillus niger* 곰팡이로 제조한 MP는 수질 내 Pb^{2+} 를 균사 표면에 흡착하여 효과적으로 제거하는 흡착제로 연구되었다. 이러한 MP의 중금속 흡착 능력을 더 향상시키기 위해 Biochar를 이용하여 BC-MP라는 복합물질을 만들어 수질 내 Cd^{2+} 를 효과적으로 제거할 수 있는 연구가 진행되었다. 이때 Cd^{2+} 는 BC-MP 표면에 산소를 함유하고 있는 OH, C=O, -COO, C-O 작용기와의 complexation 복합화와 양이온 교환 및 $\text{Cd}(\text{OH})_2$ 염의 표면 침전 등의 메커니즘을 통해 효과적으로 흡착되었다.

폐수 처리뿐만 아니라 바이오 에너지를 생산하는 바이오매스 중 3세대 바이오매스인 미세조류의 쉬운 수확을 위해 미세조류와 MP를 공동 배양하는 연구도 진행되고 있다. 미세조류는 CO_2 를 고정하고, 유기화합물을 생성하여 균사의 성장을 촉진하고 MP 형성을 통해 미세조류를 쉽게 포획할 수 있다. 이때, MP에 수집된 미세조류는 기존의 화학 응집제보다 추출된 지질함량이 높아 바이오 연료 및 바이오 에너지의 지속적인 생산 가능성을 높여 줄 수 있다. [21-22, 27]

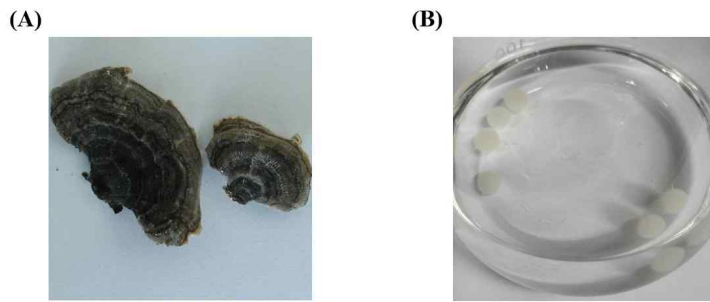


Figure 9. Image of *Trametesversicolor* (A) Fruitbody¹⁾, (B) Mycelium

1) 이미지 출처 : 국립생물자원관 한반도의 생물다양성

라. Biochar (BC)

바이오차는 바이오매스 (Biomass)와 숯 (Charcoal)의 합성어로 바이오매스를 산소가 없는 환경에서 열분해하여 만든 탄소 함량이 높은 고형물을 의미한다. 최근에는 음식물 쓰레기, 하수 슬러지, 가축의 분뇨나 농업 부산물과 산업 폐기물 등을 바이오매스로 사용하여 바이오차로 제조하고 있다. BC는 표면 및 내부의 작고 많은 구멍의 공극구조를 가지고 있어 흡착능력이 우수하여 필터 및 오염물질 정화에 활용되고 있다. 이러한 BC는 토양개량제로도 사용되고 있다. BC를 토양에 뿌려주게 되면 비료의 사용으로 산성화된 토양의 pH를 조절하여 작물이 잘 자랄 수 있는 환경을 조성하고, 토양의 수분과 영양분을 잡아두는 역할을 통해 토양의 비옥도를 향상시킨다. 그뿐만 아니라 탄소감축으로 불리는 BC는 지구온난화의 주범인 이산화탄소 CO₂와 아산화질소 N₂O를 격리하여 온실가스를 줄이는 효과가 있어 기후변화에 대응할 수 있는 기술로 주목받고 있다. [11-12]

제2장 실험재료 및 방법

제1절 실험재료 및 기기

본 연구에서 BC-MP를 제조하기 위해 균사체는 전라남도 산림자원 연구원에서 제공받은 구름버섯 *Trametes versicolor* 균사체를 사용하였고, 바이오차는 저온 탄화시킨 나무 숯으로 경동바이오차에서 구매하여 사용하였다. 또한, 균사체 배지를 제조하기 위해 Glucose (DAEJUNG), Potato starch (DAEJUNG), Yeast extract (Gibco bacto™) 시약을 사용하였다.

배지는 Autoclave (HANBAEK, HB-506)에서 멸균 후, Clean bench (HANBAEK, GHL-402CB) 내에서 접종하여 Shaking incubator (HANBAEK, HB-201SL) 및 고체 배양기 (HANBAEK, HB-101L)에서 배양하였다. 제조한 BC-MP는 동결건조기 (Mareuda, MLB-9003)를 사용하여 건조 후 냉장보관하였고, BC-MP의 표면과 특징을 분석하기 위해 SEM (HITACHI, FE-SEM)과 FT-IR (Thermo Elctron, FT-IR)을 사용하였다.

HONO 측정 및 토양 샘플 내 NO_2^- 와 NO_3^- 를 HPLC 장비를 이용하여 정량분석하기 위해 표준품으로는 Potassium nitrite (Sigma Aldrich), Potassium nitrate (JUNSEI)를 사용하였고, 이동상을 제조하기 위해 Potassium dihydrogen phosphate (JUNSEI)와 Phosphoric acid (JUNSEI)를 사용하였다. HONO 가스 흡수액과 HPLC 분석에 사용한 모든 용매는 HPLC grade water (DUKSAN)와 HPLC grade methanol (Fisher Scientific)를 사용하였다.

HPLC장비는 LC (SHIMADZU, LC-20AD with UV detector)를 사용하였고, 이동상의 pH를 3.0으로 맞추기 위해 pH meter (SANXIN, MP511)를 사용하였다. 제조한 이동상은 Sonicator (BRANSON, 3510)를 사용하여 탈기 후 사용하였다. HONO 가스를 흡수액에 용해 시키기 위해 mass-flow controller (BROOKS, 5850E)를 사용하여 일정한 유량으로 air를 흘려주었고, HPLC 분석을 위한 모든 샘플은 0.45 μm syringe filter (Whatman)를 사용하여 필터 후 분석해 주었다.

인도페놀 방법을 통해 UV/Vis spectrophotometer (Amersham, Ultrospec 2100 pro)장비를 이용하여 토양 내 NH_4^+ 를 정량하기 위해 표준품으로는 Ammonium sulfate (JUNSEI)를 사용하였고, Sodium nitroprusside (Sigma Aldrich), 9 % Sodium hypochlorite (DAEJUNG), Sodium hydroxide (DAEJUNG)와 Boric acid (JUNSEI) 시약을 사용하였다.

제2절 BC-MP 제조

1. 구름버섯 균사체 배양 (MP 제조)

구름버섯 균사체를 배양하기 위한 PSY 0.5 % 배지는 300 mL 삼각플라스크에 glucose 2 g, potato starch 0.7 g, yeast extract 0.5 g과 증류수 100 mL를 넣고 Autoclave에서 121 °C에서 15분 동안 멸균하여 제조 하였다(Table 1).

먼저, 고체배양에 경우 위의 배지에 Agar 1.5 g을 추가하여 제조하였고, 멸균한 배지를 clean bench에서 petry dish에 붓고 굳혀 주었다. 배지가 굳으면, 균사체를 직경 8 mm cork borer를 이용하여 찍어 절단하고, mycelium disk를 배지 중앙에 배치하여 parafilm으로 감아 주었다. 접종한 고체 배지는 25 °C 배양기에서 7일 동안 배양하였다.

액체배양에 경우 배양한 고체배지를 위의 방법대로 cork borer로 절단한 mycelium disk를 100 mL 배지에 5개 씩 접종하여 25 °C shaking incubator에서 3일 동안 배양하였고, 직경 3~5 mm 정도의 mycelial pellet을 얻었다. [23-25]

Table 1. Media composition for mycelium culture

Ingredients [g/L]	PSY 0.5 %	
	Plate culture	Flask culture
Glucose	20	20
Potato starch	7	7
Yeast extract	5	5
Agar	15	-

2. BC-MP 제조

BC-MP를 제조하기 위해 100 mL PSY 0.5 % 배지에 바이오차 분말 0.1 g을 첨가하여 사용하였다. 사용한 바이오차는 믹서기를 이용하여 분쇄하였고, 2 mm 체로 걸러서 사용하였다. 제조한 배지를 Autoclave를 이용하여 121 °C에서 15분동안 멸균 하고, clean bench에서 5 mL 스포이드를 이용하여 배지에 mycelial pellet을 포함한 액체 배양액 1 mL를 접종하였다. 접종 후 2일 동안 shaking incubator에서 배양 후 BC-MP를 얻었다(Figure 10).

제조한 BC-MP는 2 mm 체로 걸러서 500 mL 삼각플라스크에 수집하여 24시간 동안 증류수로 3회 washing해 주었다. washing한 BC-MP는 동결건조 후, 4 °C 냉장고에 보관하였다. [28-29]

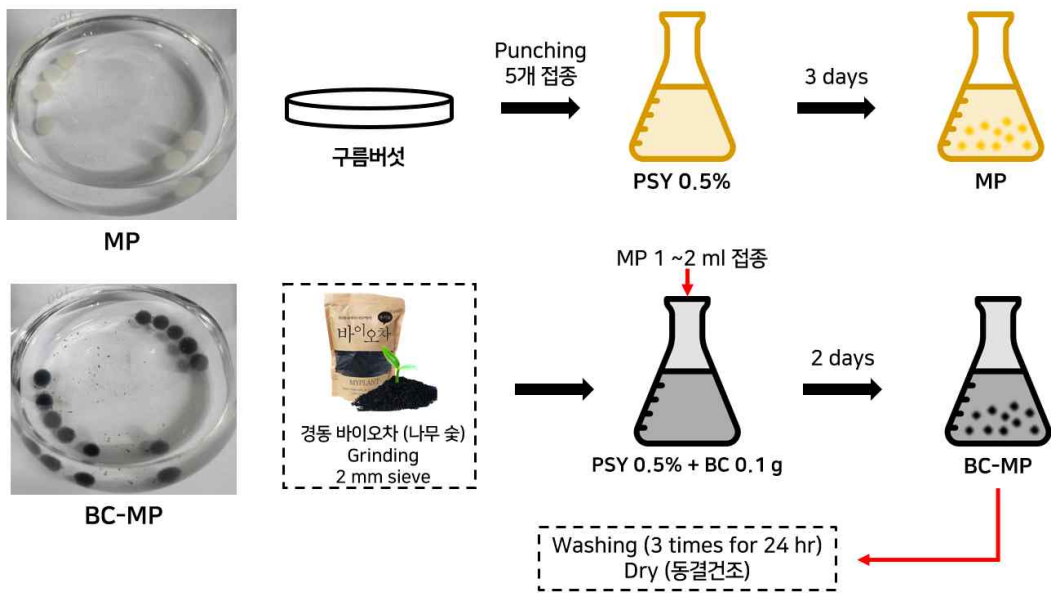


Figure 10. The process of BC-MP manufacturing

제3절 토양 유래 HONO 측정

1. HONO 측정 장치

가. 흡수액을 이용한 HONO 측정 장치

대기 중 미량으로 존재하는 토양 유래 HONO 가스를 분석하기 위해 HONO 가스 흡수 장치를 설계하였다. HONO 가스는 수용액 상태에서 NO_2 로 용해되어 NO_3^- 로 산화될 수 있으므로 흡수액 내 NO_2^- 와 NO_3^- 를 정량함으로써 HONO 가스를 측정하였다.

HONO 가스는 빛을 받으면, 광분해가 일어나 OH 라디칼로 분해되기 때문에 빛이 통과하지 못하는 부피 4 L의 검은색 플라스틱 빛드를 이용하였고, 직경 15 mm의 홀소로 빛드의 양 옆에 구멍을 뚫어 중간밸브를 연결해 주었다. 외경이 6 mm에 내경이 4 mm인 청색 에어호스를 227 cm의 길이로 중간밸브에 연결해 주었다. 이때 가스가 외부로 누출되지 않도록 모든 연결 부위는 테프론 테이프와 parafilm으로 감아주었다.

제조한 장치에 3일 동안 air-dry한 토양 300 g을 넣고, urea 농도가 1 mg/g soil이 되도록 수용액 상태로 30 mL 뿌려주었다. 토양에 urea가 균일하게 섞이도록 혼합해 주고, 뚜껑에 진공그리스를 발라 랩으로 밀봉 시켜 주었다. 에어컴프레서가 연결된 호스를 HONO 가스 흡수 장치의 air 유입 밸브에 연결하였고, mass flow controller를 통해 1 L/min의 유량으로 조절하여 air를 흘려주었다. 또한, HONO 가스의 흡수량을 늘리기 위해 air가 나오는 호스의 끝에 에어디퓨저를 연결하였다. 이때 흡수액은 HPLC grade water 15 mL로 실험하였다(Figure 11). [30-33]

나. Mass flow controller

3개의 Brooks 5850 e mass flow controller를 각각 직류공급 전원장치에 연결하고, 전압을 7.5~9.0 V로 조절하여 5초 동안 눈금실린더 내부에 채워진 가스의 부피를 측정하여 검량곡선을 작성하였다(Figure 12). HONO 가스 측정 시 전압을 설정하여 1 L/min의 유량으로 실험을 진행하였다.

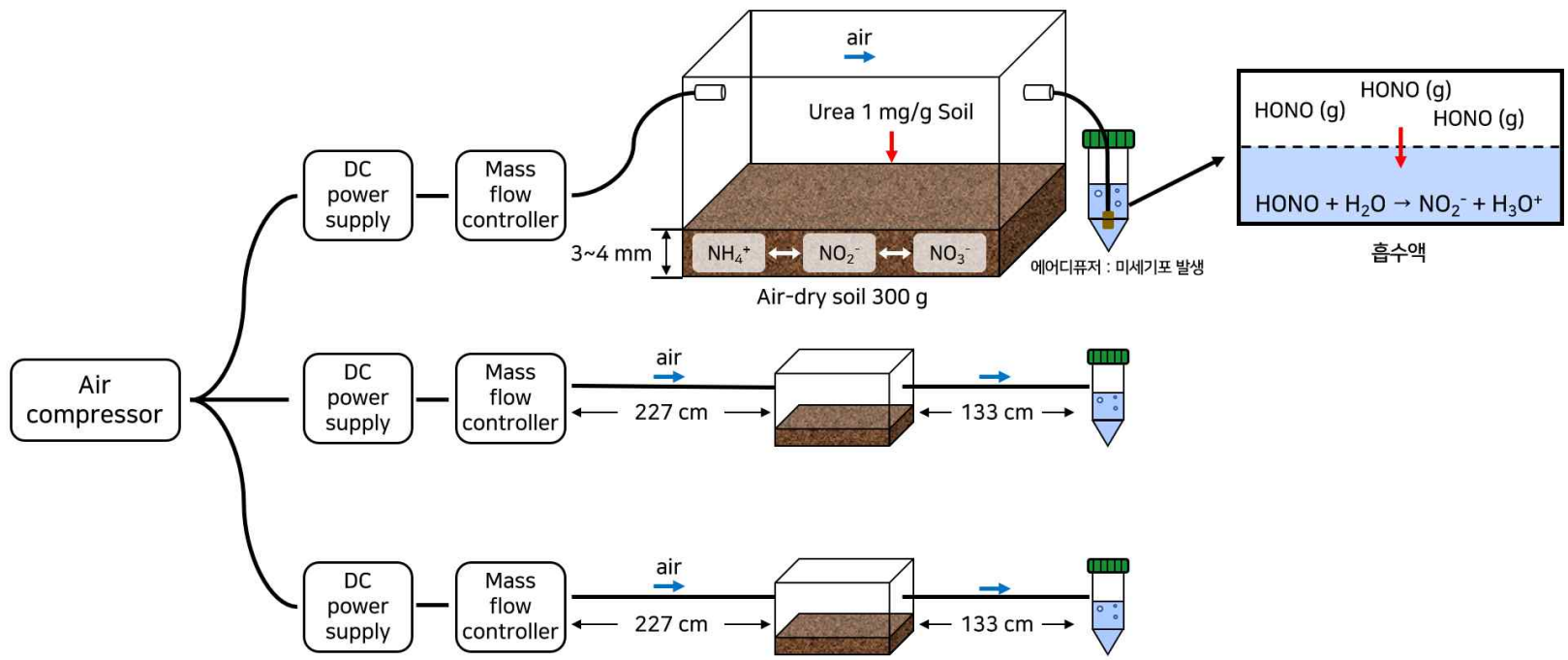


Figure 11. Schematic illustration of HONO absorpition analysis

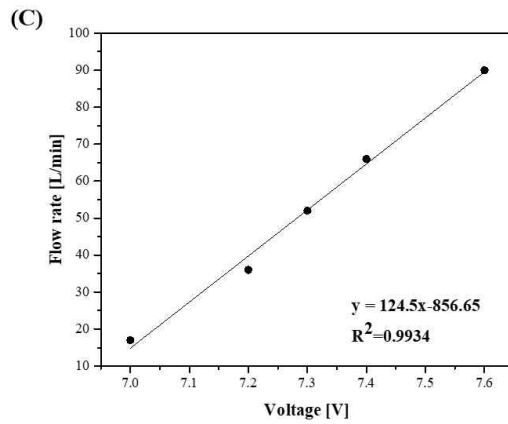
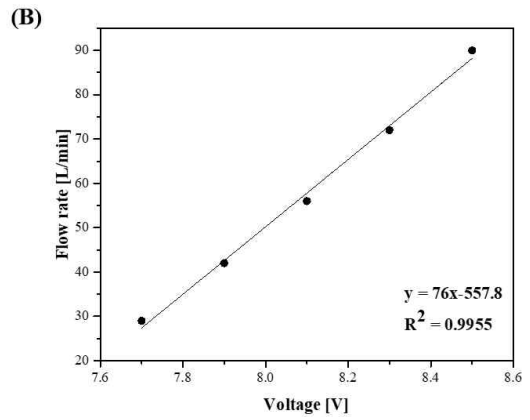
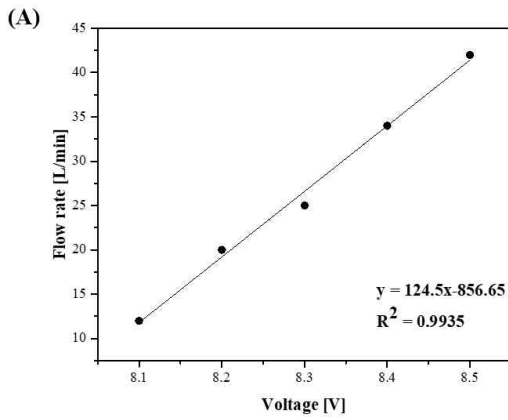


Figure 12. Standard curve for the flow rate by DC power supply

2. HPLC를 이용한 Nitrite, Nitrate 분석

SHIMADZU LC20AD with UV detector 장비를 이용하여 HONO 흡수액과 토양에 존재하는 NO_2^- 와 NO_3^- 를 분석하였다. Phenomenex Sphereclone Sax (250 x 4.6 mm, 5 μ m) 컬럼을 사용하였고, 이동상은 이온성 물질의 분리를 위해 KH_2PO_4 /Phosphoric acid buffer pH 3.0을 isocratic 조건으로 사용하였다. 검출기의 파장은 210 nm에서 측정하였고, flow rate는 0.8 mL/min, injection volume은 10 μ L로 분석하였다(Table 2). 표준원액은 KNO_2^- 와 KNO_3^- 를 각각 1000 ppm 으로 제조하고, 이를 100 ppm으로 1차 희석하여 표준용액을 제조하였다. NO_2^- 와 NO_3^- 의 혼합 표준용액의 농도는 0.1 ~ 1 ppm 으로 2차 희석하여 검량곡선을 작성하였다(Figure 13-15). [34-36]

3. Indophenol 방법을 이용한 Ammonium 분석

토양 내 존재하고 있는 NH_4^+ 를 분석하기 위해 Indophenol method을 통해 UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 640 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준원액은 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 100 ppm으로 제조하고, 이를 10 ppm으로 1차 희석하여 표준용액을 제조하였다. 발색시약으로 Phenol-Sodium Nitroprusside 용액은 500 mL 부피플라스크에 Phenol 4.67 mL와 Sodium Nitroprusside 0.025 g을 넣고 증류수를 채워 갈색병에 옮기고 4 °C에서 냉장보관하였다. 0.1 % Sodium hypochlorite 용액은 50 mL 부피플라스크에 9 % Sodium hypochlorite 0.625 mL와 NaOH 0.75 g을 넣고 증류수를 채워 준비하였다. 흡수액 Boric acid 용액은 100 mL 부피플라스크에 0.5 g을 넣고 증류수를 채워 준비하였다. [37-39]

검량곡선은 흡수액인 Boric acid를 이용하여 0.01 ~ 0.1 ppm으로 2차 희석하여 작성하였다(Figure 16). 실험 방법은 표준용액 또는 시료 1 mL에 발색시약 Phenol-Sodium Nitroprusside 용액 0.5 mL와 Sodium hypochlorite 용액 0.5 mL를 넣고 혼합하였다. 상온에서 30분 반응 후 640 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Table 2. HPLC method

	Condition
Column	Phenomenex Spherclone Sax column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
Mobile phase	Isocratic (KH ₂ PO ₄ /Phosphoric acid buffer pH 3.0)
Detector	UV detector (210nm)
Flow rate	0.8 mL/min
Injection volume	10 μL

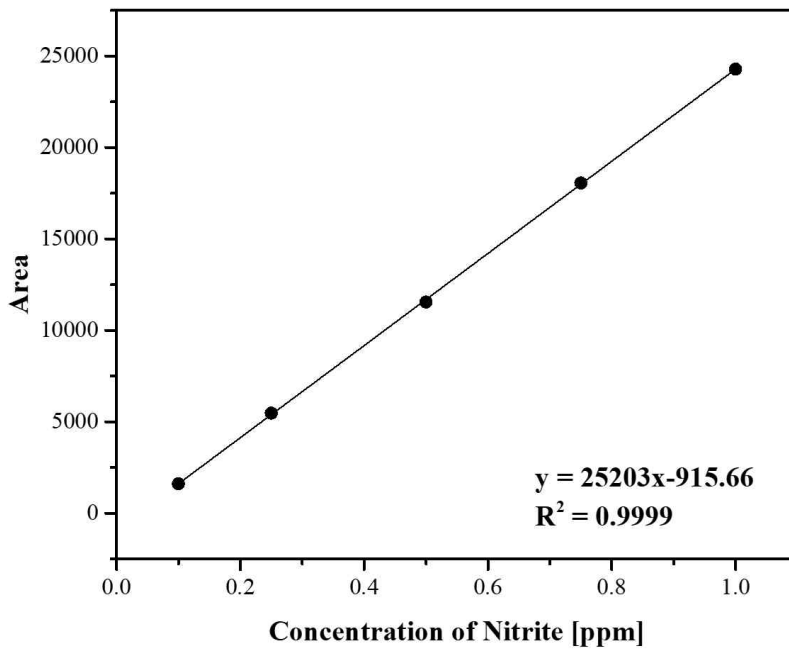


Figure 13. Standard curve for the determination of nitrite concentration

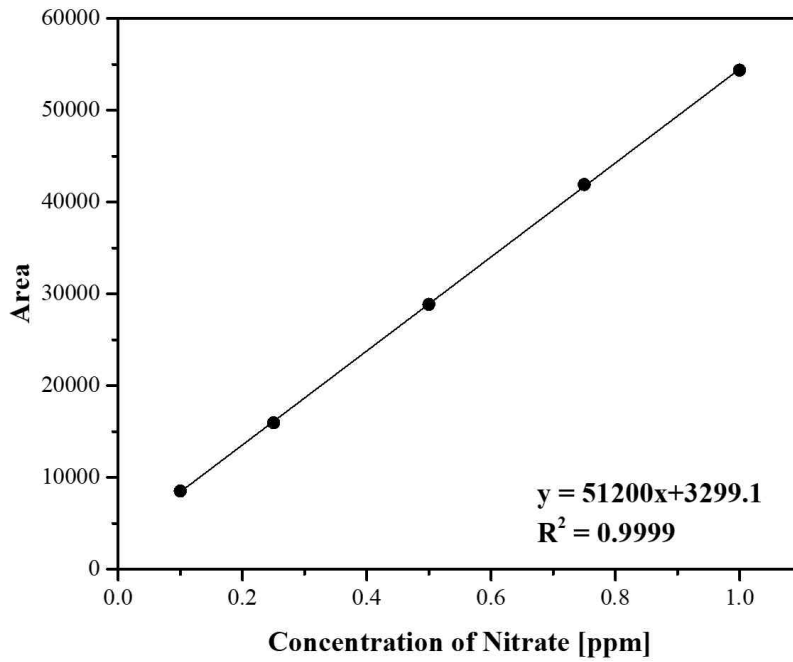


Figure 14. Standard curve for the determination of nitrate concentration

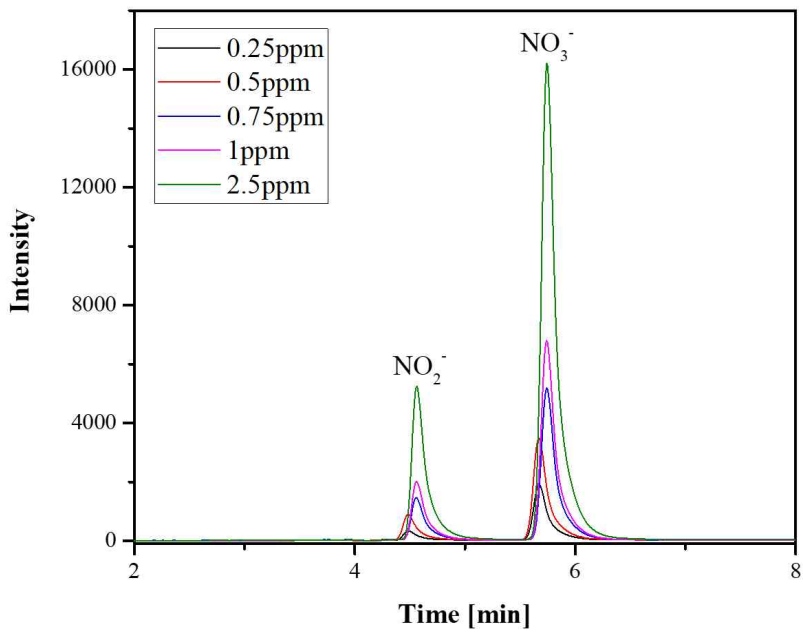


Figure 15. Chromatogram of standard mixture

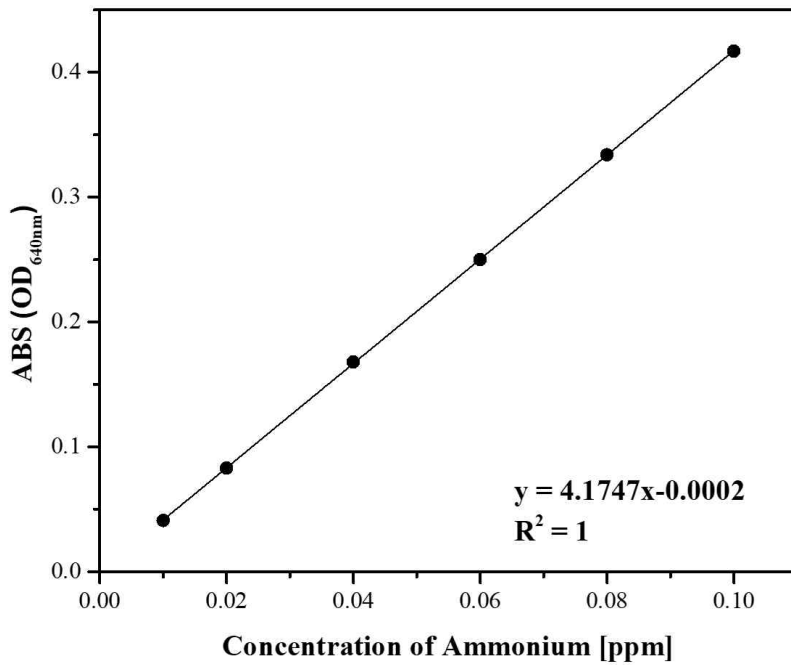


Figure 16. Standard curve for the determination of ammonium concentration

4. 비료 시비 유무 및 토양 깊이에 따른 질소원 분석

비료 사용에 따른 토양 내 질소원의 농도 분포를 파악하기 위해 전라남도 목포시와 무안군에서 채취한 텃밭용 흙과 콩밭 흙을 분석하였다. 또한, 비료를 사용하지 않은 토양은 광주광역시 조선대학교 공과대학 근처 토양과 대나무 숲 토양, 낙엽이 쌓인 토양을 채취하여 분석하였다(Figure 17). 토양은 각각 표면으로부터 0, 3, 5, 10 cm 깊이에서 채취하였다. 채취한 토양은 24시간 동안 air-dry한 후, 2 mm 체로 걸러 추출용매와 1:5의 비율로 혼합 후 10분 동안 shaking하여 토양 추출액을 준비하였다. 토양 내 NO_2^- 와 NO_3^- 분석을 위해 추출용매로 증류수를 사용하였고, NH_4^+ 분석을 위해 추출용매로 2 N KCl 용액을 사용하였다. 토양 추출액은 0.45 μm syringe filter를 이용하여 여과 후 분석하였다. [40-42]

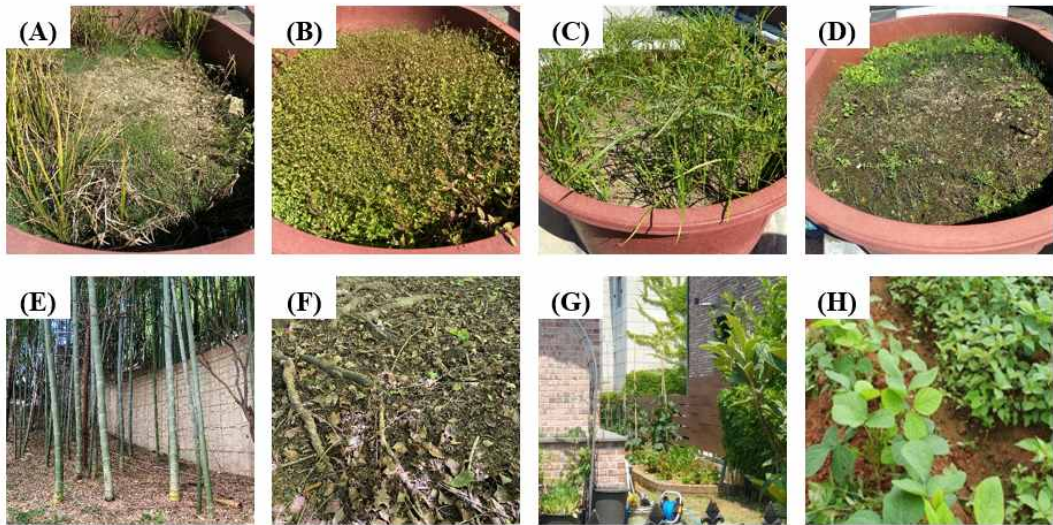


Figure 17. Soil Sample (A)-(D) College of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field

5. HONO 측정 및 토양 내 질소원 분석

가. 온도에 따른 HONO 배출량

여름철 HONO 가스 배출량이 겨울철에 비해 더 높은 것으로 알려져 있다. 평균적으로 여름철 토양의 온도는 30 °C이며, 겨울철 토양의 온도는 20 °C이다. 계절에 따른 토양의 온도 변화가 HONO 가스 배출에 미치는 영향을 알아보기 위해 온도를 20, 30 °C로 설정하여 incubator 내부에서 실험을 진행하였다. [43-46]

나. 유속에 따른 HONO 배출량

HONO 가스를 흡수액에 충분히 용해시키기 위한 flow rate를 결정하기 위해 HONO 측정장치에 연결된 직류공급 전원장치의 전압을 7.5~9.0 V로 조절하여 flow rate를 0.5 L/min, 0.75 L/min, 1 L/min에서 실험을 진행하였다. [47]

다. Urea 농도에 따른 토양 내 질소원 분석 분석

비료 사용량에 따른 토양 내 질소원의 농도를 비교하기 위해 urea의 농도를 0.1 mg/g soil, 0.5 mg/g soil, 1 mg/g soil로 다르게 하여 실험을 진행하였다. [48]

라. 토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량

토양 내 질소원의 농도에 따른 HONO 배출량을 비교하기 위해 urea의 농도를 0.01 mg/g soil, 0.1 mg/g soil, 1 mg/g soil로 다르게 하여 실험을 진행하였다.

마. Soil, BC, BC-MP 토양 적용 시 HONO 배출량 비교

제조한 BC-MP를 토양개량제로 사용하였을 때, 기존에 사용되던 BC와 비교하기 위해 실험을 진행하였다. BC와 BC-MP는 각각 10 mg/g soil이 되도록 뿌려주었고, HONO 가스 배출량을 비교하였다.

6. Matlab을 이용한 model식 simulation

Nitrite accumulation and nitrogen gas production model 및 추정 변수를 기반으로 matlab을 이용하여 시간에 따른 토양 내 질소원의 농도를 simulation 하여 실험 결과와 비교하였다(Figure 18). [49-54]

$$\frac{dNH_x}{dt} = k_{UH}U + NMR - [AmOR + k_{AmV}NH_3L] \quad (1)$$

여기서 UH, NM, AmO, AmV는 각각 요소 가수분해, 질소의 무기질화, 암모니아 산화, 암모니아 휘발을 의미한다. NMR, AmOR, $k_{AmV}NH_3L$ 는 각각 NM, AmO, AmV의 반응속도를 의미한다. NH_x 의 반응속도는 요소의 가수분해와 유기질소의 무기질화로 인해 생성되고, 암모니아 산화 및 암모니아 휘발로 인해 소모되므로 식(1)과 같이 나타낼 수 있다.

$$NMR = NMR_0 \exp(-d^*t) \quad (2)$$

$$\frac{dNO_2^-}{dt} = AmOR - [NiOR + k_{NO}NO_2^* + k_{N_2O}NO_2^* + k_fNO_2] \quad (3)$$

$$\frac{dNO_3^-}{dt} = NiOR \quad (4)$$

여기서 NO_2^- 의 반응속도는 질산화 1단계인 암모니아 산화로 생성되고, 질산화 2단계인 아질산 이온의 산화와 NO 및 N_2O 가스의 배출로 소모되어 식(3)과 같이 나타낼 수 있다. NO_3^- 의 반응속도는 아질산 이온의 산화로 생성되므로 식(4)와 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{dNO}{dt} = k_{NO}NO_2^* \quad (5)$$

$$\frac{dN_2O}{dt} = k_{N_2O}NO_2^* + b_{N_2O} \quad (6)$$

NO와 N₂O가스의 반응속도는 식(5)와 식(6)으로 나타내고, b_{N₂O}는 background N₂O로 요소가 첨가되지 않은 토양에서 배출 가능한 N₂O 가스를 의미한다.

$$AmOR = \frac{[NH_x]\mu_{AmO}}{[NH_x]\left(1 + \frac{[NH_3L]}{KI_{AmO}}\right) + K_{AmO}} \quad (7)$$

$$NiOR = \frac{[NO_2^-]\mu_{NiO}}{[NO_2^-]\left(1 + \frac{[NH_3L]}{KI_{NiO}}\right) + K_{NiO}} \quad (8)$$

Michaelis-Menten 방정식으로 나타낸 식(7)과 식(8)은 각각 암모니아 산화와 아질산 이온의 산화 반응속도를 의미한다. 여기서 μ_{AmO}와 μ_{NiO}는 각 반응의 최대 산화 속도 (maximum oxidation rates)를 의미하고, K_{AmO}와 K_{NiO}는 반포화상수 (half-saturation constants)로 각 반응의 최대 반응속도의 절반을 나타내는 기질의 농도를 의미한다. KI_{AmO}와 KI_{NiO}는 각 반응의 저해상수 (inhibition constants)를 의미한다.

$$\frac{dH^+}{dt} = \alpha_{AmOR}AmOR - [\alpha_{UH}k_{UH}U + \alpha_{AmV}k_{AmV}NH_3L] \quad (9)$$

토양의 pH 변화는 AmO를 통한 H⁺생성, UH와 AmV에 의한 H⁺소비로 식(9)와 같이 나타낼 수 있다. 위의 model식들을 기반으로 시간에 따른 토양 내 질소원의 농도 변화를 matlab을 이용하여 simulation 하였다(Figure 19).

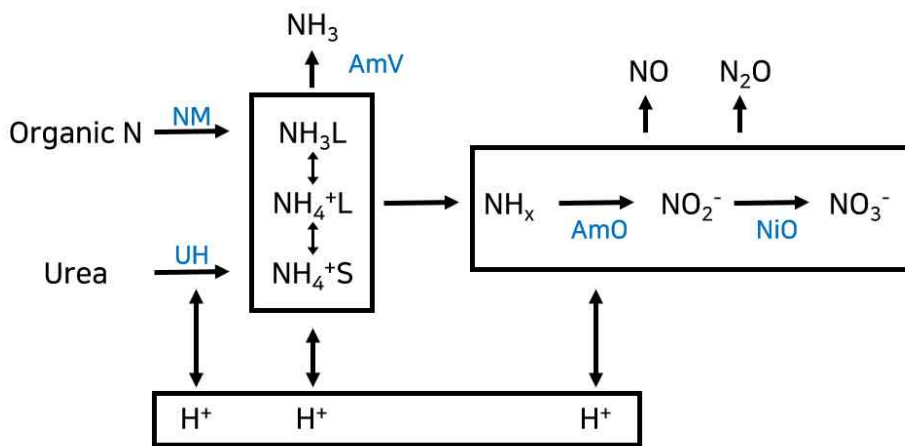


Figure 18. Process of changing nitrogen source in soil through nitrification

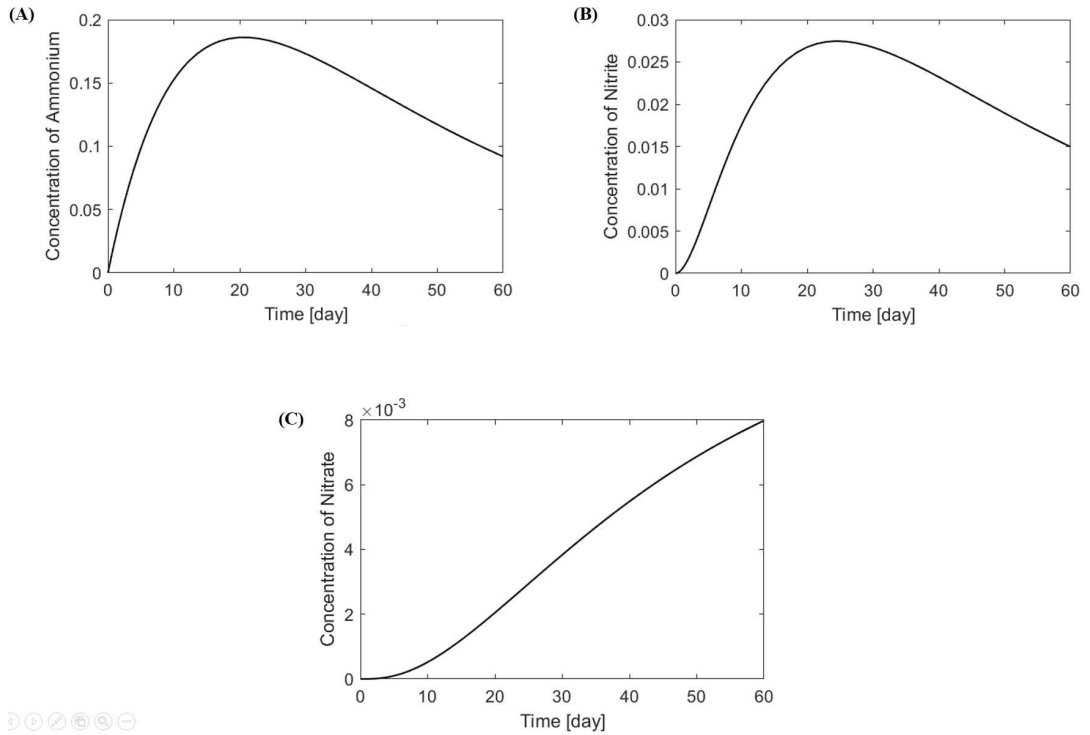


Figure 19. Matlab simulation : Change in nitrogen source concentration by time (A) Ammonium, (B) Nitrite, (C) Nitrate

제3장 결과 및 고찰

제1절 BC-MP 제조

1. Scanning electron microscopy (SEM) 측정

제조된 BC-MP를 관찰하기 위해 SEM image 분석을 하였다. BC-MP는 분석 전 24시간 동안 3회 증류수로 washing한 후 2일 동안 동결건조 후, 금 코팅을 하여 가속전압 15 kV에서 측정하였다(Figure 20). Figure 21 (A)는 BC를 흡착하기 전 구름버섯 MP의 표면을 측정하고, (B)는 BC를 흡착한 후 제조된 BC-MP의 표면을 측정하는 것으로 균사체의 hyphae에 둘러 쌓인 바이오차를 관찰할 수 있다.



Figure 20. Image of BC-MP after freeze drying

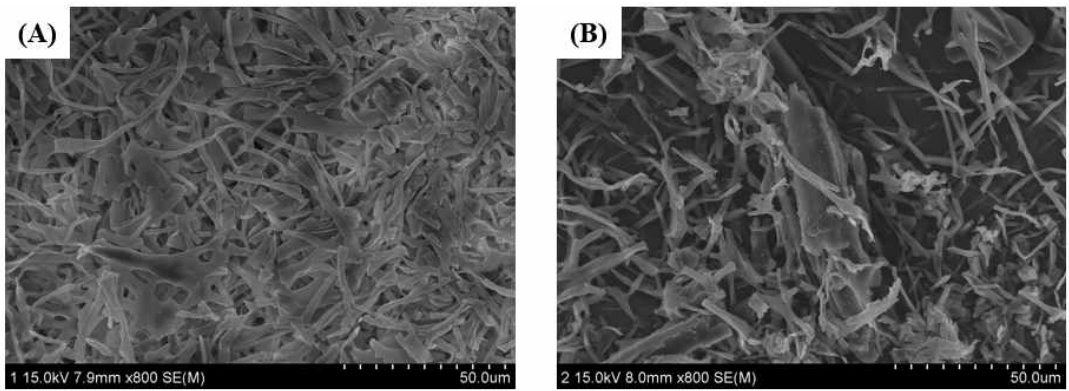


Figure 21. SEM image of (A) MP, (B) BC-MP

2. Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) 측정

제조된 BC-MP의 화학적 특성을 알아보기 위해 FT-IR 분석을 하였다. FT-IR 분석은 500~4000 cm^{-1} 에서 측정하였다. (A) MP, (B) BC, (C) BC-MP 모두 공통적으로 3423 cm^{-1} 에서 OH stretching peak가 확인되며, 2912 cm^{-1} 와 1647 cm^{-1} 에서 C-H stretching peak와 C=O stretching peak가 나타났다. 또한, 1461 cm^{-1} 와 1060 cm^{-1} 에서 C-H scissoring peak와 C-O stretching peak를 확인할 수 있었다. 파장 1500~1000 cm^{-1} 사이의 peak들 중 1374 cm^{-1} 와 1158 cm^{-1} peak는 MP에는 나타나지 않았지만, BC와 BC-MP에서는 peak가 나타났다. 또한, 1110 cm^{-1} 의 peak는 BC와 BC-MP에서 나타나는데 이는 BC 표면의 주성분인 Si-O-Si 작용기로 BC가 MP에 잘 흡착되었다는 것을 보여준다(Figure 22). [55-56]

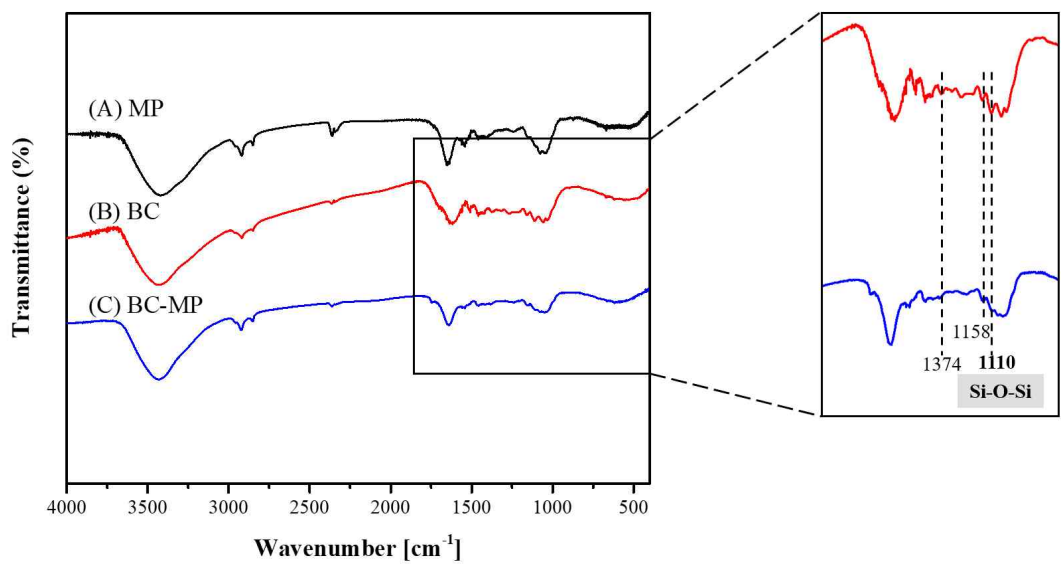


Figure 22. FT-IR spectra of (A) MP, (B) BC, (C) BC-MP

Table 3. FT-IR peak and corresponding functional groups of MP, BC and BC-MP

Spectrum	Wavenumber [cm⁻¹]	Functional group	Vibration mode
MP, BC and BC-MP	3423	O-H	Stretching
	2912	C-H	Stretching
	1647	C=O	Stretching
	1461	C-H	Scissoring
	1110	Si-O-Si	Stretching
	1060	C-O	Stretching

제2절 비료 시비 유무 및 토양 깊이에 따른 질소원 농도 분석

1. 비료 시비 유무에 따른 질소원 농도 분석

비료 시비 유무에 따른 토양 내 질소원 농도를 비교하기 위해 비료를 사용하지 않은 토양 샘플로 광주광역시 조선대학교 공과대학 근처의 대나무숲과 풀숲, 낙엽 밑의 토양을 채취하였다. 비료를 사용한 토양 샘플로는 전라남도 목포시 텃밭 토양과 무안군 콩밭에서 채취하였다. 각 토양은 표면으로부터 0, 3, 5, 10 cm 깊이로 채취하여 평균 농도로 비교하였다. Figure 23을 보면, 비료를 과량으로 사용한 Sample H 콩밭의 토양에서 NO_3^- 의 농도가 77.11 ppm으로 가장 크게 검출된 것을 알 수 있다. 마찬가지로 비료를 사용한 Sample G 텃밭 토양에서도 NO_3^- 의 농도가 24.06 ppm으로 다른 토양에서 보다 큰 것을 알 수 있다. Sample F의 경우 낙엽 속 유기질 질소가 풍부하여 질산화 과정으로 인해 NO_3^- 의 농도가 29.04 ppm으로 크게 검출된 것으로 보인다. Figure 24를 보면, NH_4^+ 의 농도는 비료를 시비하고 일정 기간이 경과한 상태로 대부분 NO_3^- 로 산화하여 0.38~0.66 ppm으로 미량 존재한 것으로 보인다.

2. 토양 깊이에 따른 질소원 농도 분석

비료를 과량으로 사용한 Sample H 콩밭 토양의 분석결과를 보면, 토양의 깊이가 깊어질수록 질소원의 농도가 감소하는 것을 알 수 있다(Figure 25). NO_3^- 농도의 경우 111.6 ppm에서 46.2 ppm으로 감소하였고, NH_4^+ 농도는 1.85 ppm에서 0.26 ppm으로 감소한 것을 알 수 있다. 이는 식물이 성장하는데 필요한 질소원인 NO_3^- 와 NH_4^+ 를 식물의 뿌리를 통해 흡수하기 때문에 깊이가 깊어질수록 뿌리의 표면적이 증가하여 감소한 것으로 보인다.

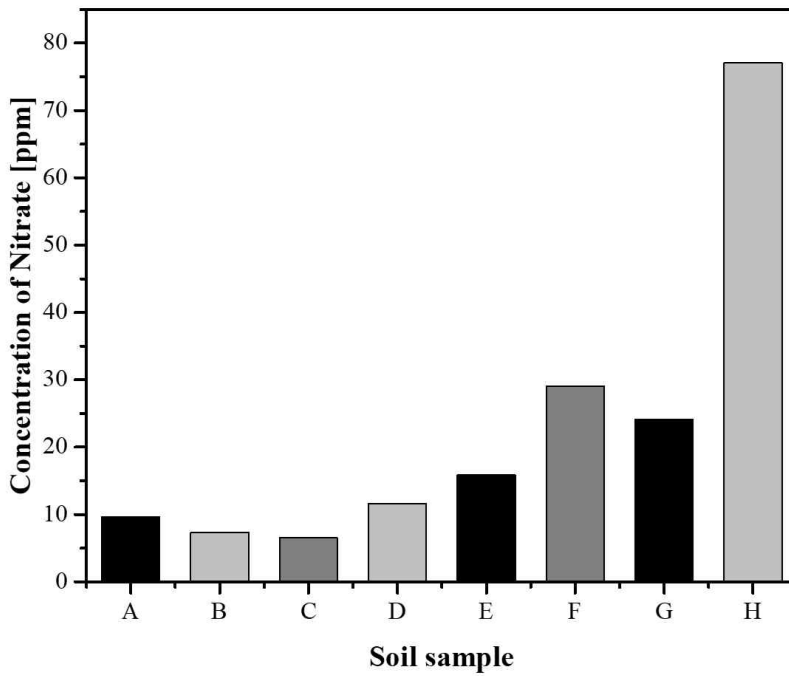


Figure 23. Concentration of nitrate by soil sample (average concentration by soil depth)
 (A)-(D) College of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field

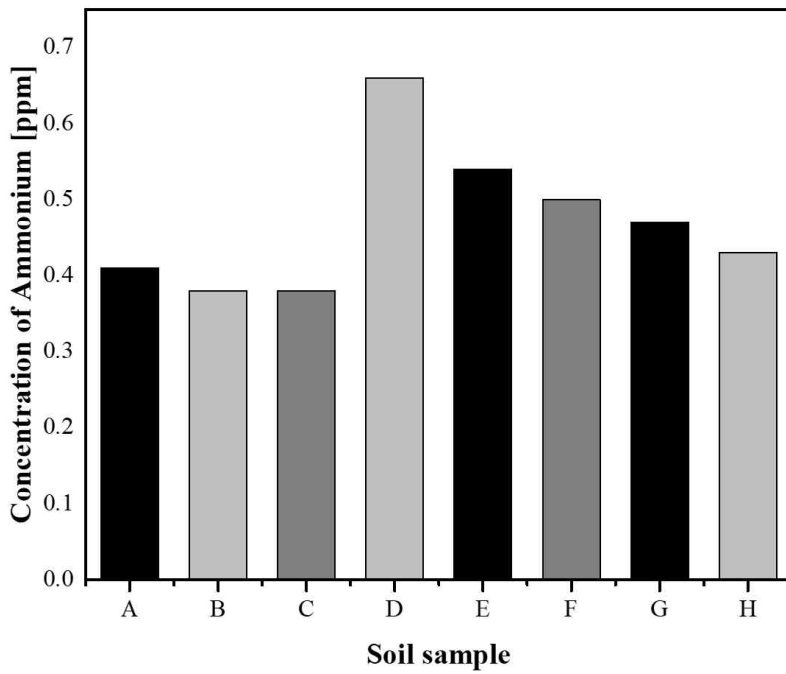


Figure 24. Concentration of ammonium by soil sample (average concentration by soil depth) (A)-(D) College of Engineering, (E) Bamboo grove, (F) Fallen leaves, (G) Vegetable garden, (H) Soybean field

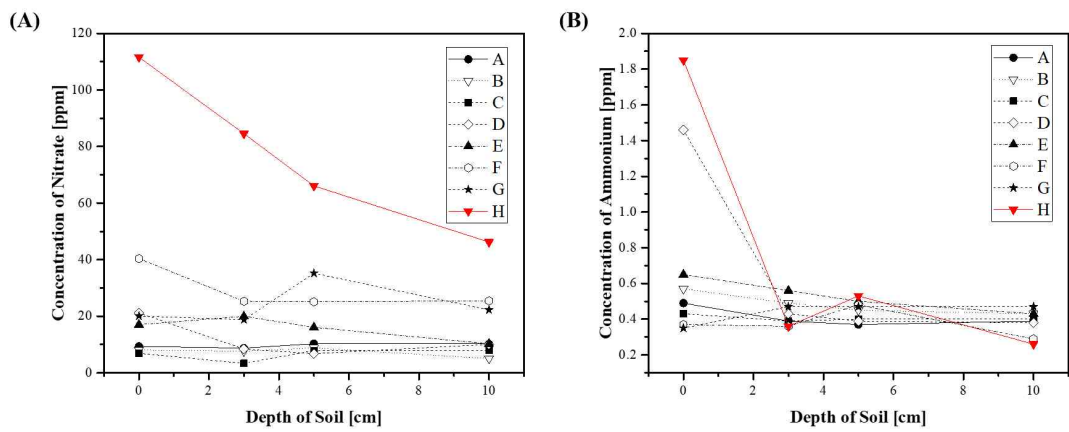


Figure 25. Concentration of nitrogen source by soil depth (A) Nitrate, (B) Ammonium

제3절 HONO 측정 및 토양 내 질소원 분석

1. 온도에 따른 HONO 배출량

여름과 겨울 동안 배출되는 토양 유래 HONO 가스량을 비교하기 위해 온도 조건을 20, 30 °C로 설정하여 실험을 진행하였다. 질산화에 기여하는 토양 미생물들의 최적 온도 조건은 25~30 °C로 알려져 있다. 토양에 urea를 뿌려 혼합하고 10시간이 지난 후 30 °C 온도에서의 HONO 배출량은 1.25 ppm으로 20 °C의 배출량인 0.52 ppm보다 더 많이 배출된 것을 알 수 있다(Figure 26). 이러한 결과는 토양의 온도가 20 °C일 때 보다 30 °C인 경우 미생물에 의한 질산화 반응이 활발하여 배출되는 HONO 가스의 양이 많은 것으로 보였다. 이는 여름철 HONO 가스 배출량이 증가하는 것과 동일한 결과로 나타났다.

2. 유속에 따른 HONO 배출량

HONO 측정장치로 유입되는 air의 유속을 0.5 L/min, 0.75 L/min, 1 L/min로 조절하여 흡수액에 용해되는 HONO 가스의 양을 비교하였다. mass flow controller의 전압을 각각 7.5 V, 8.4 V, 9.0 V로 조절하여 실험을 진행하였다. 토양에 urea를 뿌려 혼합하고 8시간이 지난 후 HONO 가스 배출량을 비교하였다. 유속이 0.5 L/min의 경우 HONO 배출량이 0.34 ppm이었고, 유속이 0.75 L/min의 경우 0.44 ppm으로 유속이 빨라질수록 배출되는 HONO 가스의 양이 증가하는 것을 알 수 있었다(Figure 27). 유속이 1 L/min의 경우 8시간 동안 배출된 HONO 가스의 양이 0.69 ppm으로 가장 크게 검출되었고, 뿐만 아니라 증가폭도 커서 미량으로 검출되는 HONO의 배출량을 비교하기 위한 유속으로 1 L/min으로 설정하여 실험을 진행하였다.

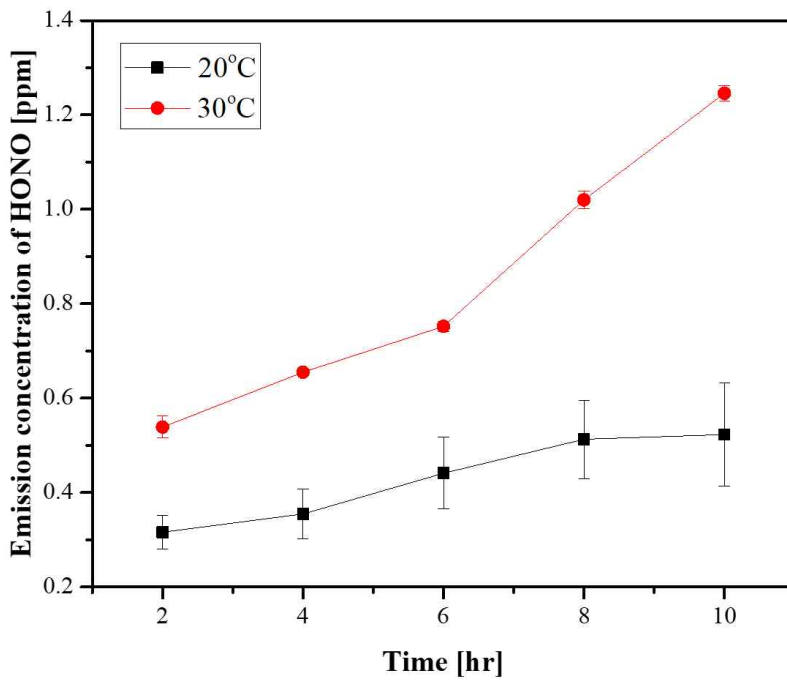


Figure 26. HONO emissions by soil temperature (20 °C, 30 °C)

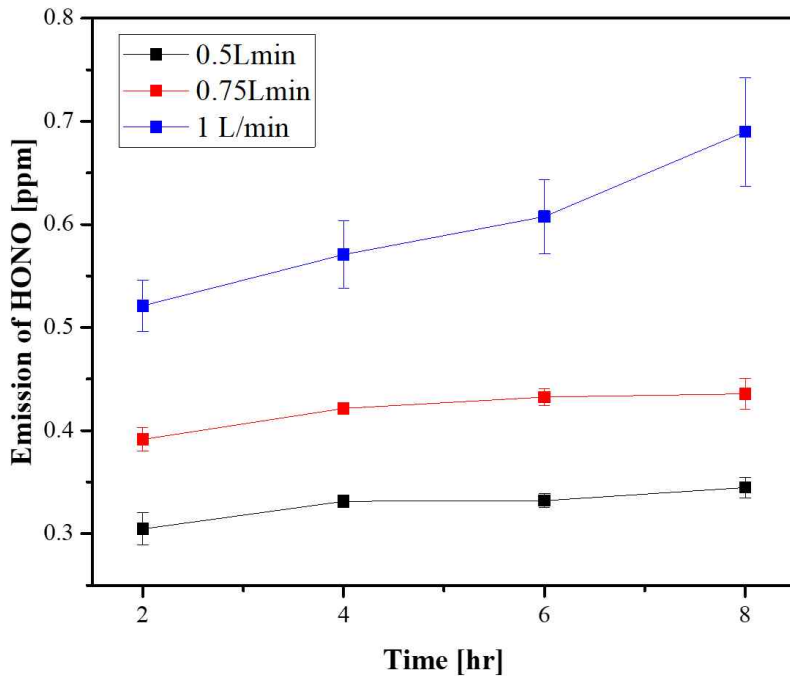


Figure 27. HONO emissions by air flow rate (0.5 L/min, 0.75 L/min, 1 L/min)

3. urea 농도에 따른 토양 내 질소원 농도 분석

비료 사용량에 따른 토양 내 질소원의 농도를 비교하기 위해 urea의 농도를 0.1 mg/g soil, 0.5 mg/g soil, 1 mg/g soil로 다르게 하여 실험을 진행하였다. 토양에 urea를 뿌리고 84시간이 지난 후 토양 내 NH_4^+ 의 농도는 각각 0.63, 0.71, 0.72 ppm으로 urea의 농도가 높을수록 크게 검출되었다. 또한, 토양 내 NH_4^+ 의 농도는 urea를 뿌리고 시간이 지날수록 증가하였는데 이는 Nitrite accumulation nitrogen gas production model을 기반으로 matlab을 이용하여 simulation한 결과와 유사한 특성을 보였다 (Figure 28).

4. 토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량

위에서 진행한 실험에 경우 urea가 과량으로 첨가되어 HONO 배출량의 차이가 크지 않은 것으로 나타났다. 토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량을 비교하기 위해 urea의 농도를 0.01 mg/g soil, 0.1 mg/g soil, 1 mg/g soil로 다르게 하여 실험을 진행하였다. 토양 내 질소원 중 NH_4^+ 의 경우 상관계수가 0.8454로 농도가 높을수록 HONO 배출량이 증가하는 경향을 보였지만, NO_3^- 의 경우 상관계수가 0.1357로 HONO 배출량 사이의 상관관계가 나타나지 않은 것으로 보인다. 토양 내 질소원 중 NH_4^+ 가 HONO 가스 배출에 영향을 주는 요인으로 판단된다(Figure 29).

5. Soil, BC, BC-MP 토양 적용 시 HONO 배출량 비교

토양개량제인 BC와 MP를 이용하여 제조한 BC-MP를 새로운 토양개량제로 사용하였을 때, 기존에 사용되던 BC와 비교하여 HONO 배출량의 변화를 관찰하였다. Figure 30은 토양개량제를 사용하지 않은 토양과 토양개량제로 BC와 BC-MP를 사용하였을 때 배출되는 HONO 가스의 양을 비교한 결과이다. BC와 BC-MP는 각각 10 mg/g soil이 되도록 뿌리고 60시간 동안 HONO 배출량을 분석하여 비교하였다. 토양개량제를 사용하지 않은 토양의 경우 0.50 ppm에서 0.75 ppm으로 가장 많이 배출되었으며, BC를 적용한 토양의 경우 0.30 ppm에서 0.49 ppm으로 배출되었다. 또한, BC-MP를 적용한 토양의 경우 0.25 ppm에서 0.45 ppm으로 HONO 가스 배출량이 가장 적게 배출된 것을 알 수 있었다. Figure 30을 보면 Soil, BC, BC-MP 순서로 60시

간 동안 배출된 HONO 가스의 양이 각각 0.75 ppm, 0.49 ppm, 0.45 ppm으로 검출된 것을 통해 BC-MP를 미세먼지 저감을 위한 토양개량제로서 활용할 수 있을 것으로 보인다.

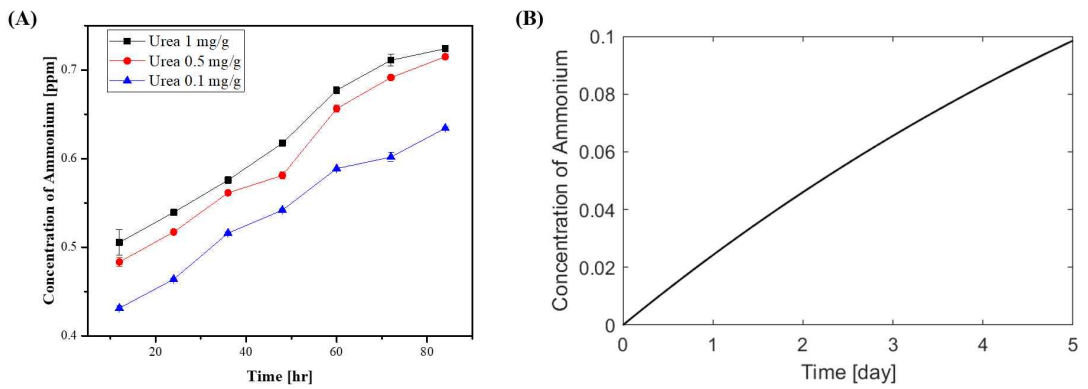


Figure 28. (A) Change in ammonium concentration with urea concentration, (B) Matlab simulation : Change in ammonium concentration by time

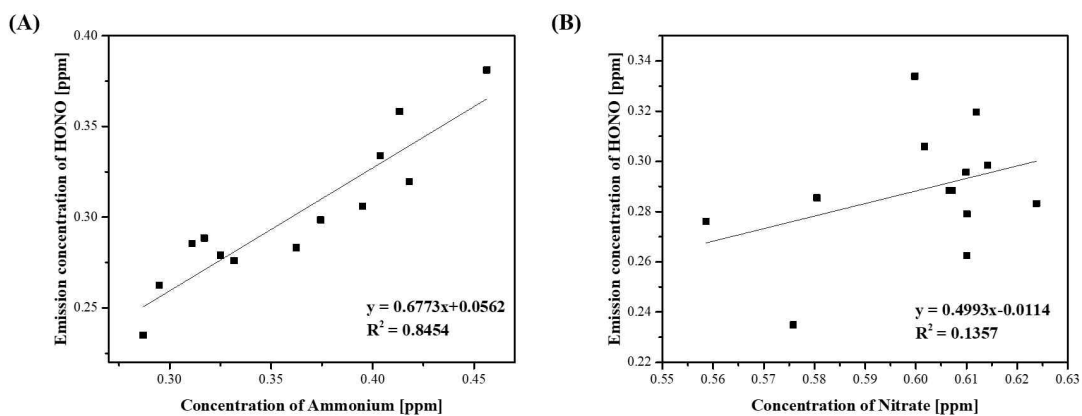


Figure 29. (A) HONO emissions by ammonium concentration, (B) HONO emissions by nitrate concentration

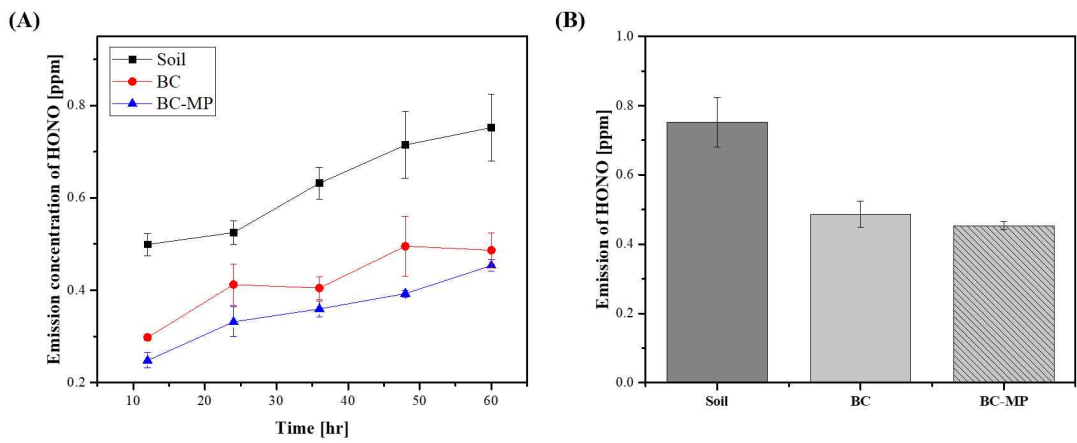


Figure 30. Comparison of HONO emissions by soil conditioners (Soil, BC, BC-MP)

제4장 결론

본 연구에서는 토양 유래 미세먼지 원인 물질인 HONO 가스 배출량을 줄이기 위한 방안을 제시하고자 토양개량제인 BC와 MP를 이용하여 제조한 BC-MP를 토양에 적용하여 배출되는 HONO 가스의 양을 비교하였다. HONO 가스를 용액에 흡수하여 측정할 수 있는 장치를 설계하였고, mass flow controller를 이용하여 장치에 유입되는 air의 유속을 일정하게 조절하여 실험을 진행하였다. 흡수액 내 존재하는 NO_2^- 와 NO_3^- 는 HPLC를 이용하여 분석하였다. 미량으로 존재하는 HONO 가스의 검출량을 늘리기 위해 토양의 온도, air의 유속, urea의 농도에 따른 HONO 가스 배출량을 비교하여 검출 최적 조건을 선정하였다.

토양의 온도는 20 °C일 때 0.52 ppm 검출된 반면 30 °C일 때 1.25 ppm으로 더 많이 검출되었다. 이는 토양 미생물의 최적 온도 조건이 25~30 °C인 점과 여름철 HONO 가스 배출량이 증가하는 것과 동일하게 나타났다. HONO 가스 측정을 위한 air의 유속은 0.5 L/min, 0.75 L/min, 1 L/min으로 조절하여 측정한 결과 각각 0.34 ppm, 0.44 ppm, 0.69 ppm으로 유속이 빠를수록 배출되는 HONO 가스의 양이 증가하는 것으로 나타났다. HONO 측정 조건으로 온도는 30 °C, 유속은 1 L/min으로 설정하여 실험을 진행하였다.

비료 사용량에 따른 토양 내 질소원의 농도를 비교하기 위해 urea의 농도를 0.1 mg/g soil, 0.5 mg/g soil, 1 mg/g soil로 다르게 뿌리고 84시간 동안 농도 변화를 측정한 결과 각각 0.63 ppm, 0.71 ppm, 0.72 ppm으로 urea의 농도가 높을수록 토양 내 NH_4^+ 의 농도가 크게 검출되었다. 또한, urea 농도에 상관없이 시간이 지날수록 토양 내 NH_4^+ 의 농도가 증가한 것으로 model식을 matlab으로 simulation한 결과와 유사한 특성을 보였다.

토양 내 질소원 농도에 따른 HONO 배출량을 비교하기 위해 urea를 0.01 mg/g soil, 0.1 mg/g soil, 1 mg/g soil로 뿌리고 측정한 결과 토양 내 NH_4^+ 의 경우 상관계수가 0.7454로 농도가 높을수록 HONO 배출량이 증가하는 경향을 보였다. 하지만, NO_3^- 의 경우 상관계수가 0.1357로 HONO 배출량 사이의 상관관계가 나타나지 않았다. 토양 내 질소원 중 NH_4^+ 가 HONO 가스 배출에 영향을 주는 요인으로 보였다.

토양개량제로 BC와 BC-MP를 토양에 10 mg/g soil이 되도록 뿌리고 60시간 동안 HONO 배출량을 비교한 결과 그냥 토양에서는 HONO 가스가 0.50 ppm에서 0.75 ppm으로 가장 많이 배출되었고, BC를 적용한 토양의 경우 0.30 ppm에서 0.49 ppm으로 HONO 배출량이 감소한 것을 알 수 있었다. 또한, BC-MP를 적용한 토양의 경우 0.25 ppm에서 0.45 ppm으로 HONO 가스 배출량이 가장 적게 검출되었다.

이러한 결과를 통해 BC-MP를 이용하여 새로운 토양개량제를 개발한다면 기존의 BC의 장점으로 땅심 개선 및 작물 수확량 증가뿐만 아니라 HONO 가스 배출량 감소를 통한 미세먼지 저감 효과도 기대된다.

References

- [1] Kang, D. and J.-E. Kim (2014). "Fine, ultrafine, and yellow dust: emerging health problems in Korea." Journal of Korean medical science **29**(5): 621-622.
- [2] Gligorovski, S. (2016). "Nitrous acid (HONO): An emerging indoor pollutant." Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry **314**: 1-5.
- [3] 홍상범, et al. (2003). "PA9 대기 환경에서 HONO (Nitrous acid) 형성에 관한 연구." 한국대기환경학회 학술대회논문집: 219-220.
- [4] Cui, L., et al. (2018). "An observational study of nitrous acid (HONO) in Shanghai, China: The aerosol impact on HONO formation during the haze episodes." Science of the total environment **630**: 1057-1070.
- [5] Gil, J., et al. (2021). "Characteristics of HONO and its impact on O₃ formation in the Seoul Metropolitan Area during the Korea-US Air Quality study." Atmospheric Environment **247**: 118182.
- [6] Sung, D. W., et al. (2002). "Effects of electron donors on nitrate removal by nitrate and nitrite reductases." Biotechnology and Bioprocess Engineering **7**(2): 112-116.
- [7] Mellor, R. B., et al. (1992). "Reduction of nitrate and nitrite in water by immobilized enzymes." Nature **355**(6362): 717-719.
- [8] Daniel Lim, (1998). Microbiology, 2nd edition, McGraw-Hill: 576~579.
- [9] Knowles, R. (1982). "Denitrification." Microbiological reviews **46**(1): 43-70.

[10] Shafiullah, M., et al. (2021). "Does meat consumption exacerbate greenhouse gas emissions? Evidence from US data." Environmental Science and Pollution Research **28**(9): 11415-11429.

[11] Weber, K. and P. Quicker (2018). "Properties of biochar." Fuel **217**: 240-261.

[12] Sohi, S. P., et al. (2010). "A review of biochar and its use and function in soil." Advances in agronomy **105**: 47-82.

[13] Lee, T. and J. Choi (2021). "Mycelium-composite panels for atmospheric particulate matter adsorption." Results in Materials **11**: 100208.

[14] Berger, R. G., et al. (2022). "Mycelium vs. Fruiting Bodies of Edible Fungi—A Comparison of Metabolites." Microorganisms **10**(7): 1379.

[15] Ritz, B., et al. (2019). "The effects of fine dust, ozone, and nitrogen dioxide on health." Deutsches Ärzteblatt International **116**(51-52): 881.

[16] Ito, A., et al. (2021). "30 years of air quality trends in Japan." Atmosphere **12**(8): 1072.

[17] 유성지 and 손윤석 (2021). “국내 주요 수종에서 배출되는 자연적 휘발성 유기화합물의 배출특성 고찰.” 한국대기환경학회지 (국문)**37**(5):695-709.

[18] 임용빈, et al. (2016). "스모그 챔버를 이용한 이차 초미세유기먼지의 최근 연구 동향." Journal of Korean Society for Atmospheric Environment **32**(2): 131-157.

[19] Singh, U., et al. (2020). "Mass production of *Pleurotus eryngii* mycelia under submerged culture conditions with improved minerals and vitamin D2." Lwt **131**: 109665.

[20] WA, E., et al. (2020). "Trametes versicolor and Dictyophora indusiata champions of medicinal mushrooms." Pharm Res **4**(1): 00019.

[21] De Souza, L., et al. (2016). "Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*." Rev Brazilian Journal of Microbiology.

[22] Li, L., et al. (2020). "A comprehensive review of the mycelial pellet: Research status, applications, and future prospects." Industrial & Engineering Chemistry Research **59**(39): 16911-16922.

[23] Park, J.-P., et al. (2001). "Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*." Letters in Applied Microbiology **33**(1): 76-81.

[24] Xiao, J. H., et al. (2004). "Optimization of submerged culture conditions for mycelial polysaccharide production in *Cordyceps pruinosa*." Process Biochemistry **39**(12): 2241-2247.

[25] Kim, H., et al. (2005). "Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*." Bioresource Technology **96**(10): 1175-1182.

[26] Vandeloock, S., et al. (2021). "Current state and future prospects of pure mycelium materials." Fungal biology and biotechnology **8**(1): 1-10.

[27] Kawaroe, M., et al. (2016). "Marine microalgae *Tetraselmis suecica* as flocculant agent of bio-flocculation method." HAYATI Journal of Biosciences **23**(2): 62-66.

[28] Zhang, Y., et al. (2022). "Self-assembled fungus-biochar composite pellets (FBPs) for enhanced co-sorption-biodegradation towards phenanthrene." Chemosphere **286**: 131887.

[29] Bai, S., et al. (2020). "Self-assembly biochar colloids mycelial pellet for heavy metal removal from aqueous solution." Chemosphere **242**: 125182.

[30] 이용근, et al. (1994). "서울대기중 아질산기체의 계절별 농도변화." 한국 대기보전학회지 **1**: 24-31.

[31] 정무현, et al. (2012). "2011 년 3 월 제주도 고산에서 대기중 HONO 의 농도 변화." 한국대기환경학회 학술대회논문집: 82-82.

[32] Crilley, L. R., et al. (2019). "Intercomparison of nitrous acid (HONO) measurement techniques in a megacity (Beijing)." Atmospheric Measurement Techniques **12**(12): 6449-6463.

[33] Kim, W. S., et al. (2021). "Gaseous Odor Absorption using Aqueous Chlorine Dioxide." Journal of Korean Society for Atmospheric Environment **37**(4): 600-611.

[34] Sharma, A., et al. (2008). "Determination of nitric oxide metabolites, nitrate and nitrite, in *Anopheles culicifacies* mosquito midgut and haemolymph by anion exchange high-performance liquid chromatography: plausible mechanism of refractoriness." Malaria Journal **7**(1): 1-9.

[35] Öztekin, N., et al. (2002). "Simultaneous determination of nitrite and nitrate in meat products and vegetables by capillary electrophoresis." Food chemistry **76**(1): 103-106.

[36] Moshoeshoe, M. N. and V. Obuseng (2018). "Simultaneous determination of nitrate, nitrite and phosphate in environmental samples by high performance liquid chromatography with UV detection." South African Journal of Chemistry **71**: 79-85.

[37] Scheiner, D. (1976). "Determination of ammonia and Kjeldahl nitrogen by indophenol method." Water research **10**(1): 31-36.

[38] Bolleter, W., et al. (1961). "Spectrophotometric determination of ammonia as indophenol." Analytical Chemistry **33**(4): 592-594.

[39] Kempers, A. and A. Zweers (1986). "Ammonium determination in soil extracts by the salicylate method." Communications in Soil Science and Plant Analysis **17**(7): 715-723.

[40] Singh, J. (1988). "A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extracts." Plant and soil **110**(1): 137-139.

[41] Nelson, D. W. (1983). "Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method." Communications in Soil Science and Plant Analysis **14**(11): 1051-1062.

[42] del Pino, J. N., et al. (2008). "Analysis of the 1: 5 soil: water extract in burnt soils to evaluate fire severity." Catena **74**(3): 246-255.

[43] Michoud, V., et al. (2014). "Study of the unknown HONO daytime source at a European suburban site during the MEGAPOLI summer and winter field campaigns." Atmospheric Chemistry and Physics **14**(6): 2805-2822.

[44] Lugo-Camacho, J. L., et al. (2009). "Soil temperature study in Puerto Rico." Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico **93**(3/4): 149-171.

[45] Taylor, A. E., et al. (2017). "Modeling of soil nitrification responses to temperature reveals thermodynamic differences between ammonia-oxidizing activity of archaea and bacteria." The ISME journal **11**(4): 896-908.

[46] 김준수, et al. (2020). "HONO Measurement in Seoul during Summer 2018 and its Impact on Photochemistry." Journal of Korean Society for Atmospheric Environment **36**(5): 579-588.

[47] Hong, J.-H., et al. (2007). "Application of an in-situ measurement system to determine HONO levels in an indoor environment." Journal of Korean Society for Atmospheric Environment **23**(2): 191-202.

[48] Wang, L., et al. (2021). "Effects of biochar aging in the soil on its mechanical property and performance for soil CO₂ and N₂O emissions." Science of the total environment **782**: 146824.

[49] Venterea, R. T., et al. (2020). "Nitrite accumulation and nitrogen gas production increase with decreasing temperature in urea-amended soils: Experiments and modeling." Soil Biology and Biochemistry **142**: 107727.

[50] Venterea, R. and D. Rolston (2000). Mechanistic modeling of nitrite accumulation and nitrogen oxide gas emissions during nitrification, Wiley Online

Library.

[51] Venterea, R. T., et al. (2015). "Ammonium sorption and ammonia inhibition of nitrite-oxidizing bacteria explain contrasting soil N₂O production." Scientific reports **5**(1): 1-15.

[52] Bates, R. G. and G. Pinching (1949). "Acidic dissociation constant of ammonium ion at 0 to 50 C, and the base strength of ammonia." Journal of Research of the National Bureau of Standards **42**(5): 419.

[53] Venterea, R. T. and D. E. Rolston (2000). "Mechanisms and kinetics of nitric and nitrous oxide production during nitrification in agricultural soil." Global Change Biology **6**(3): 303-316.

[54] Johnson, K. A. and R. S. Goody (2011). "The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis–Menten paper." Biochemistry **50**(39): 8264-8269.

[55] Wang, Y., et al. (2019). "Environmental effects of silicon within Biochar (Sichar) and carbon–silicon coupling mechanisms: A critical review." Environmental science & technology **53**(23): 13570-13582.

[56] Setyaningrum, D., et al. (2013). "Analysis of corn and soybean oils in red fruit oil using FTIR spectroscopy in combination with partial least square." International Food Research Journal **20**(4): 1977.