

## *Spirulina platensis*를 이용한 축산 폐수처리 및 고단백 사료원의 생산

성기훈<sup>1</sup> · 이정호<sup>1</sup> · 박영식 · 김현규 · 유호금 · 오상집<sup>1</sup> · 이현용\*

강원대학교 식품공학과, <sup>1</sup>강원대학교 사료생산공학과

## The Treatment of Swine Wastes and the Production of High Protein Feedstocks from Photoheterotrophic Growth of *Spirulina platensis*

Sung, Ki-Heun<sup>1</sup>, Chung-Ho Lee<sup>1</sup>, Young-Shik Park, Hyun-Kyu Kim,  
Ho-Keum Yu, Sang-Jip Ohh<sup>1</sup> and Hyeon-Yong Lee\*

Department of Food Engineering,

<sup>1</sup>Department of Feed Science and Technology,

Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract** — Microalga, *Spirulina platensis* has been cultivated in a pilot scale photo-bioreactor to treat wastewater and to produce high protein feedstocks from swine waste containing medium. 0.31(1/day) of specific growth rate and 0.170 of bioenergetic yield were obtained from batch cultivation in 30% waste containing medium, compared to 0.71(1/day) and 0.545 from clean culture. An optimal dilution concentration was decided as 20% of working volume, based upon the cell growth and biomass productivity. The removal rate of nitrates in the wastewater was decreased as the adding concentration of wastewater was increased while the decrease of total phosphates was reversed, showing 0.33(1/day) and 0.30(1/day) of rate constants for nitrate removal in 10% addition and for phosphate removal in 30% addition, respectively. The chemical composition and amino acid profile of the biomass were superior to those of commercially available health food product, *Spirulina* sp.

동물자원 생산시 폐기물로 나오는 가축 분뇨의 양의 증가와 함께 이들의 불완전한 처리가 환경 피해의 주요인의 하나로 대두됨에 따라 축산 폐기물의 경제적이고 효과적인 처리가 중요한 문제점으로 인식되고 있다. 지금까지 축산 폐수 처리의 대부분은 화학 및 기계적인 처리가 가능한 정화조를 이용하는 방법을 채택하고 있다(1, 2). 생물학적 처리로는 미생물에 의한 폐기물 산화가 주로 고려 대상이나 폐기물 처리 공정의 지속성이 약하며 아직은 처리 비용이 높은 단점들 때문에 실용화가 안되고 있다(3, 4). 이와 함께 최근 생물학적 폐수 처리의 한 분야로서 조류(algae)를 이용한 축산 폐기물의 처리에 관해 많은 연구가 진행되고 있다(5-7). 일부 조류들은 폐수 내 존재하는 고농도의 nitrate, phosphate, ammonia 등의 유기물을

분해하는 능력이 있음이 확인되고 있으며(8), 이같은 공정의 경제적 타당성도 높은 것으로 평가되고 있다(9). 특히 조류를 이용하는 폐수 처리는 태양 에너지를 이용함에 따른 공정상의 장점이 있다. 하지만 이런 특징들이 있음에도 불구하고 옥외 처리에 따른 넓은 면적과 기후의 영향이 크며 상대적으로 높은 처리 비용등과 같은 해결해야 할 과제가 많다(10). 그러므로 조류를 이용한 폐수 처리공정은 단순한 폐수 처리 뿐만이 아니라 부산물로 생산되는 biomass를 고단백 사료원으로 이용 등의 방향으로 추진되어야 할 것이다(11). 이같은 공정은 경제성 증가의 효과를 기대할 수 있으며 새로운 고급 사료원의 개발로서 고육질 제품의 생산 및 수입 대체 효과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 따라서 본 논문은 광합성 조류로 부터 pilot 규모의 광 배양기를 이용해 축산 폐수의 처리에 관한 조업 성능 및 동력학적 연구와 이같은 공정에서 생산된 biomass의 사료원으로서의 가능성을 제시하고자 한다.

**Key words:** *Spirulina platensis*, photoheterotrophic growth, swine waste treatment, high protein feedstocks

\*Corresponding author

## 재료 및 방법

### 사용 균주 및 배지 조성

미세 조류인 *Spirulina platensis* 15-1715(Carolina Biological Supply, USA)를  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.042,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5, urea 2.5, NaCl 1.0,  $\text{NaHCO}_3$  0.42,  $\text{MgSO}_4$  0.2,  $\text{FeSO}_4$  0.01,  $\text{CaCl}_2$  0.04(g/L) 이 포함된 배지(pH 9.2)가 들어 있는 500 mL 삼각 flask에서 28°C 로 온도를 유지하며 50 rpm으로 교반하며 배양했다. 또한 20 W white cool 형광등을 이용해  $9 \times 10^4$  (Kcal/cm<sup>2</sup>/h)의 광도를 연속적으로 조사했다. 배양조에 조사되는 광도는 quantum sensor(LICOR, USA)를 이용해 측정했으며 매 6시간마다 자동으로 기록해 광도의 변화를 관찰했다. 이같이 배양된 조류가 축산 폐수에서 생육하는지의 여부를 확인하기 위해 돈사 목장에서 채취한 폐기물을 4시간 정치 후 상등액을 농도별로 배양조에 접종해 균체 양의 증가를 측정했다.

### 대량 배양 장치 및 배양 조건

Fig. 1과 같은 pilot 규모의 광 배양조(100×50×25 cm, 125 L)에 일정 농도의 축산 폐기물이 포함된 배지를 넣고 배양조 밑면의 hot plate를 이용해 28°C 로 일정하게 유지했다. 또한 배양조 위에 설치된 두개의 motor에 부착된 4개의 paddle agitator를 이용해 교반했으며, 교반 속도는 육안으로 배양조 내 사각 지대에도 충분히 교반되는 것이 확인될 때까지 유지했다. 조사되는 광도는 배양조 위에 설치된 8개의 형광등을 이용해 일정하게 유지되도록 조절했으며 삼각 flask에서 배양된 균체를 약 3%(v/v)이 되게 접종해 회분 배양법으로 배양하면서 정시적으로 균체 농도를 측정했다. 옥외 대량 배양 공정을 모사하기 위해 배지내 pH는 조절하지 않고 배양조 위에 부착된 on-line pH 측정기를 이용해 자동 기록했다. 또한 축산 폐기물의 직접 이용 가능성을 위해 배지의 높은 pH에 근거를 뒤 멸균하지 않은 배지를 사용해 배양하여 우세 균체가 목적 조류이며 낮은 오염도를 확인했다.

### 균체량과 조성 및 배지내 오염 성분 측정

배양조에서 매일 20 mL를 채취해 0.45 μm 구멍 크기를 가진 여과지로 여과 후 105°C dry oven에서 6시간 건조 후 건조 균체량을 측정했다. 또한 건조 균체와 현재 미국에서 시판되고 있는 *Spirulina* sp.를 HPLC(Waters, USA)를 사용해 아미노산 조성을 비교, 분석했다(12). 배양에 따른 수질 부영양화의 주 원인인 nitrate와 total phosphate 양 및 chemical oxygen

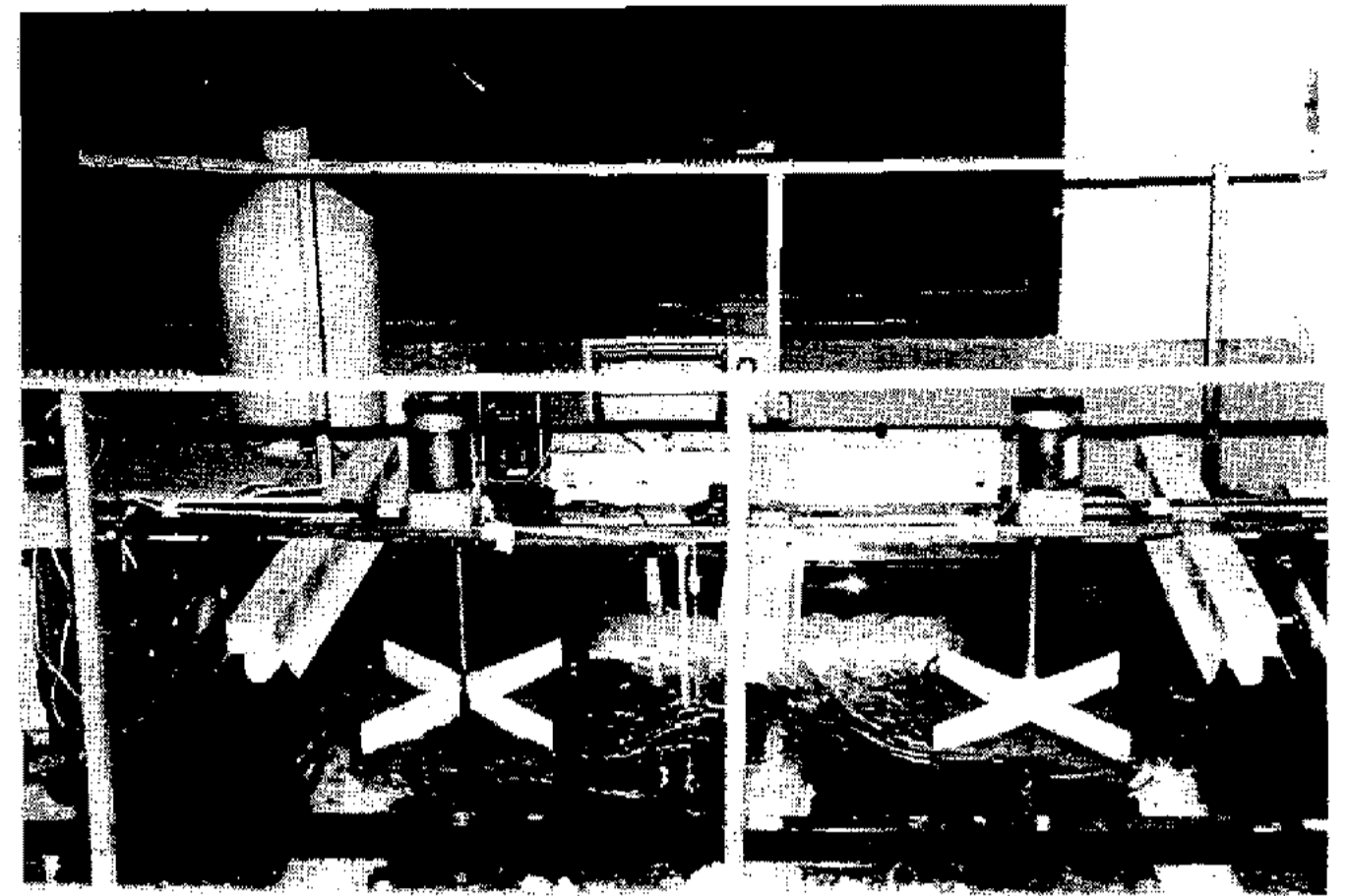


Fig. 1. A picture of a pilot scale photo-bioreactor.

demand(COD)의 감소를 측정하기 위해 매일 배양액 30 mL를 채취해 Autoanalyzer II(Technicon, USA)를 사용해 측정했다(13).

### 생산 biomass의 생체 에너지 전환 수율

광합성 조류인 *Spirulina plantensis*가 무기 탄소를 주 탄소원으로 하여 생육시 생산 균체(biomass)가 주산물이며 부산물이 없는 경우의 화학식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.



여기서 CHON은 균체의 조성식이며  $Y_c$ 는 균체로의 탄소 전환비다. 이와 함께 회분 배양시 대수 생육(exponential growth)기간 중 광 제한(light-limited) 생육의 경우 생체 에너지 전환 수율인  $\eta_{\text{kcal}}$ 와 maintenance coefficient,  $m_e$ 는 다음과 같이 표시될 수 있다(14).

$$\eta_{\text{kcal}} = \frac{(dX/dt)V\sigma\gamma Q}{12L_a A} \quad (2)$$

$$m_e = \frac{12L_a A}{XV\sigma\gamma Q} \quad (3)$$

여기서 X는 균체의 농도(g/L),  $\sigma$ 와  $\gamma$ 는 균체의 carbon fraction과 reductance degree이며  $L_a$ 와 A는 각각 배양조에 조사된 광도(kcal/cm<sup>2</sup>/h)와 조사 면적(cm<sup>2</sup>)이다. 또한 Q는 균체의 에너지 양(kcal/avil.eq. electron)이다(15).

## 결과 및 고찰

Fig. 2는 120 L 규모의 pilot 광 배양조에서 축산 폐수를 첨가하지 않은 순수 배지만을 사용해 회분

배양한 결과다.  $9 \times 10^{-4}$  (kcal/cm<sup>2</sup>/h)의 광도로 연속 조사하며 매일 균체량 및 배지 pH를 측정된 결과 배양 시간이 경과함에 따라 pH가 증가하는 전형적인

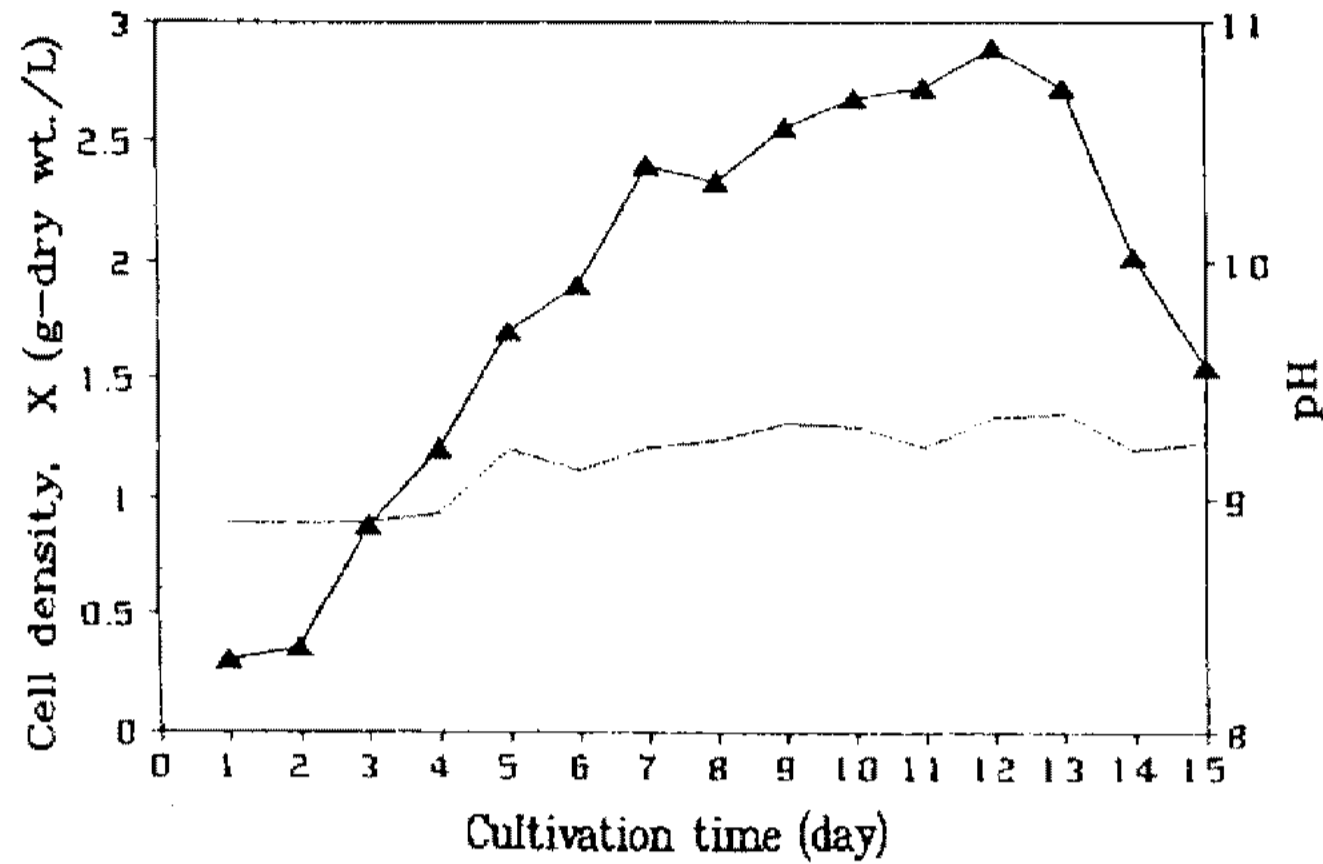


Fig. 2. The cell growth and pH change during batch cultivation of *Spirulina platensis* in clean medium. -▲- cell conc, ..... pH.

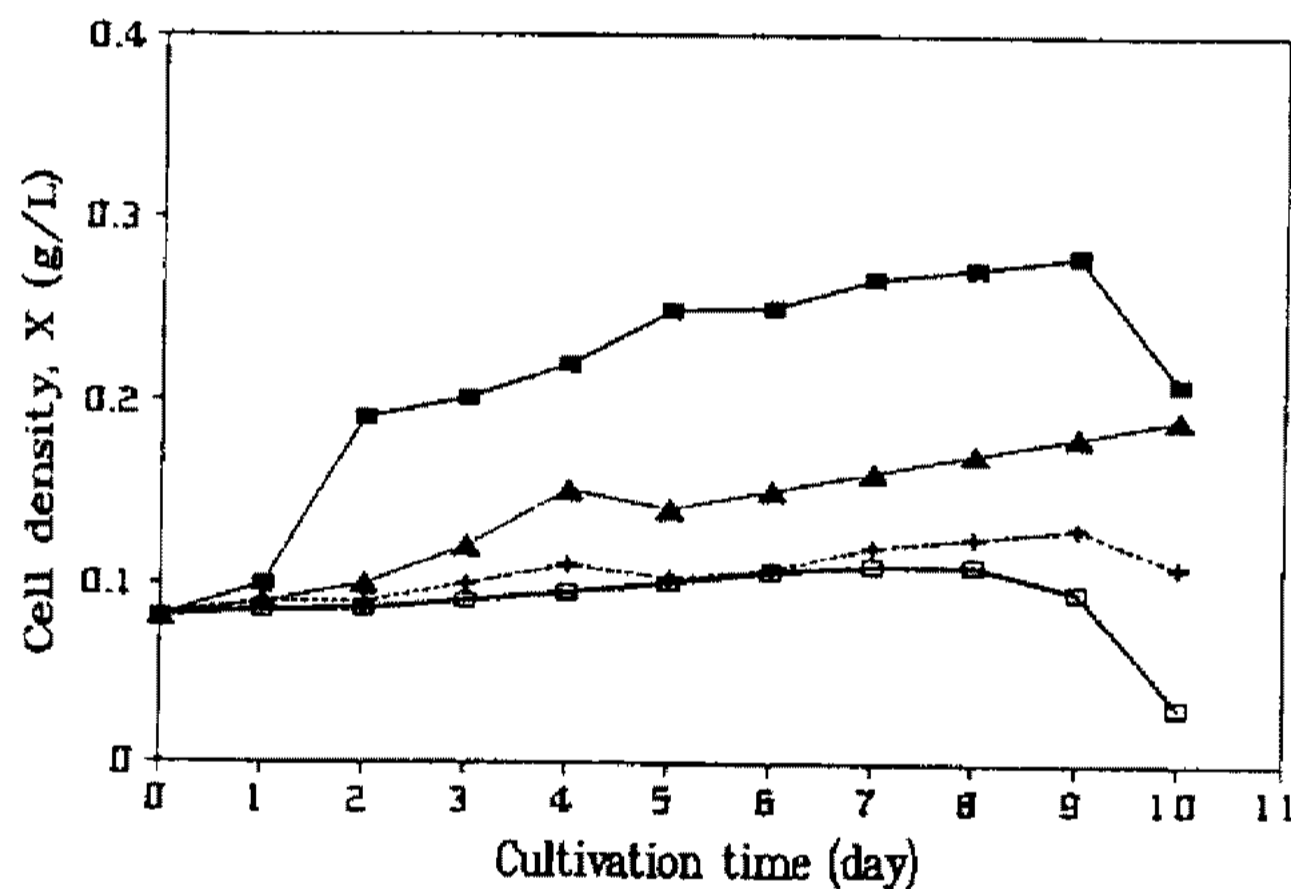


Fig. 3. Comparison of cell growth in adding several concentrations of swine wastes for batch cultivations of *Spirulina platensis* at  $9 \times 10^{-4}$  (kcal/cm<sup>2</sup>/h) of constant light intensity. -■- 10%, -▲- 20%, ..... 30%, -□- 60%.

조류배양 형태를 보이고 있다. 배양 약 12일째 2.8 (g/L)의 최대 건조 균체량을 유지한 후 감소하였으며 이에 따라 pH도 최대 9.39에서 서서히 감소하는 경향을 보였다. Fig. 3은 순수 배지에 일정 양의 축산 폐수를 첨가해 회분 배양한 결과로서, Fig. 2의 순수 배양 자료와 비교해 상대적으로 낮은 균체량을 유지하고 있다. 또한 전체 배양 시간도 약 10일 정도로 순수 배양에 비해 전반적으로 낮은 조업 성능을 나타냈다. 축산 폐수의 농도가 높을수록 균체 생육이 저해되며 30% 이상 함유된 경우는 생육이 극히 낮아 경제적 타당성이 없을 것이다.

Table 1은 첨가된 축산 폐수의 농도에 따른 균체 생육 속도 및 식 (2), (3)으로부터 산출된 생체 에너지 전환 수율을 나타낸 것이다. 순수 배양의 경우가 0.71 (1/day)로 생육 속도가 가장 빠르며 경제적 타당성이 있는 20% 첨가의 경우에 비해 약 절반에 해당되는 속도이다. 하지만 생체 에너지 전환 수율은 순수 배양의 경우인 0.545보다 낮고 mixotrophic 생육의 이론적 최대치인 0.76(15)에 비해서는 극히 낮을 뿐만

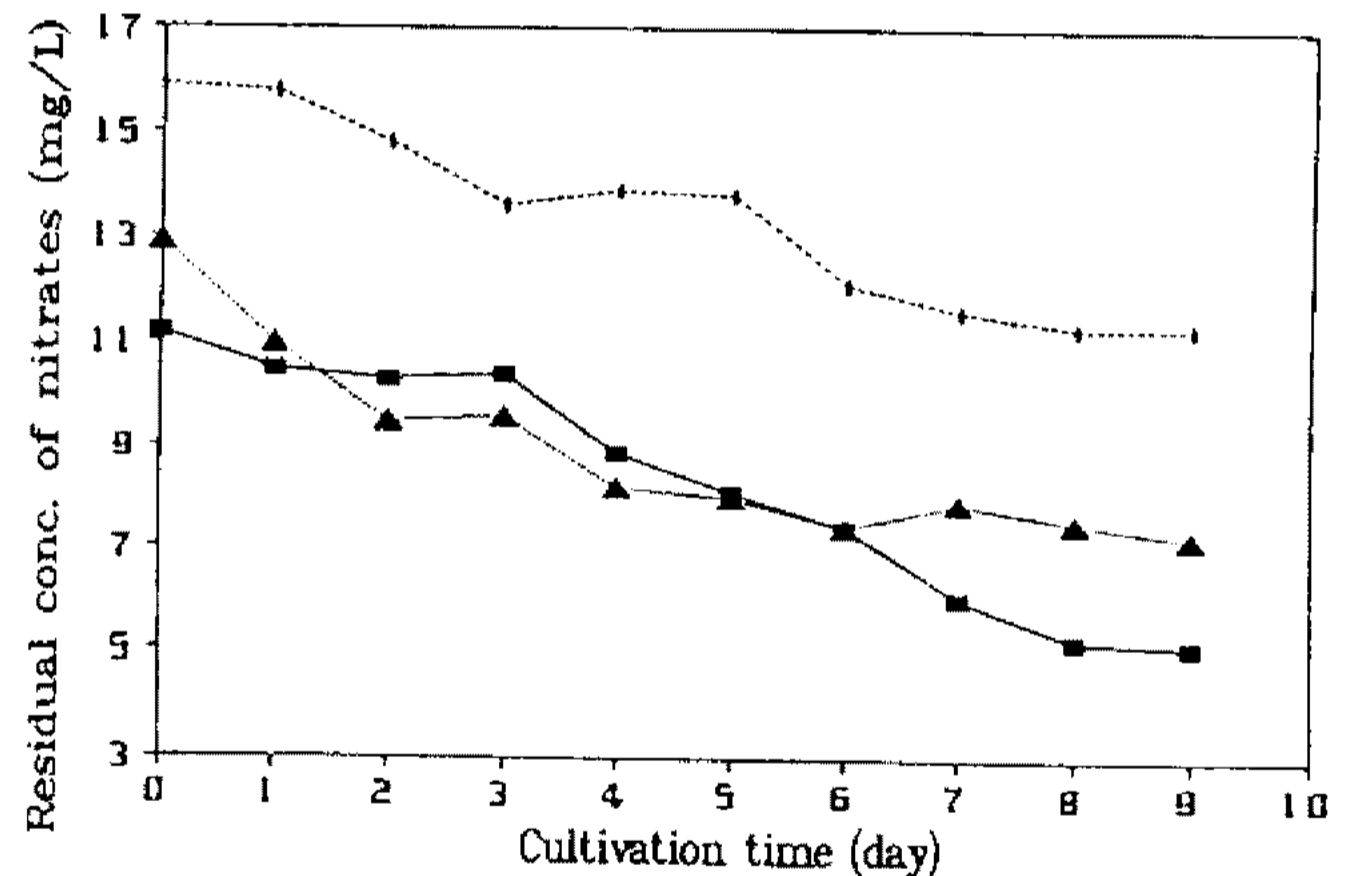


Fig. 4. Kinetics of removing nitrates in adding different concentrations of the wastes for batch growth of *Spirulina platensis*. -■- 10%, -▲- 20%, ..... 30%.

Table 1. Growth parameters from batch cultivations of *Spirulina platensis* in various concentrations of swine wastes\*.

Waste conc. (%)	Max. cell density X (g/L)	Specific growth rate $\mu_{max}$ (1/day)	True biomass energetic yield $\eta_{kcal}$	Maintenance coefficient $m_v$ (1/day)	Max. biomass productivity P (g/L/day)
Clean	2.81	0.71	0.545	0.0109	1.99
10	0.29	0.40	0.143	0.1222	0.12
20	0.20	0.31	0.170	0.1698	0.06
30	0.16	0.19	0.030	0.2350	0.03
60	0.07	0.15	0.011	0.6112	0.01

\*Supernants from swine wastes sedimented for five hours were added into basal medium for the growth of *Spirulina platensis* without being sterilized.

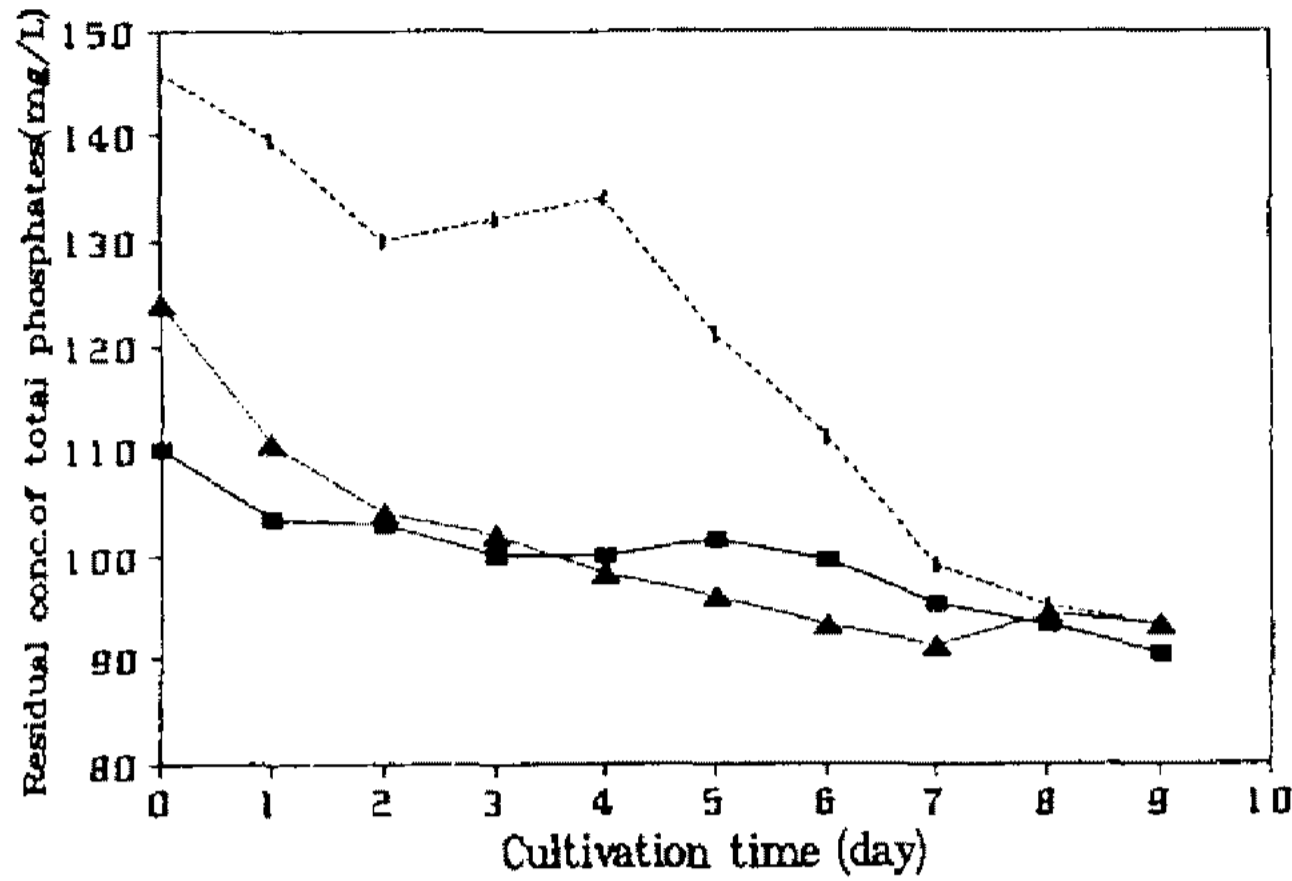


Fig. 5. Kinetics of removing total phosphates in adding different concentrations of the wastes for batch growth of *Spirulina platensis*.  
 -■- 10%, -▲- 20%, ····· 30%.

Table 2. Results of estimating rate constants\* for removing nitrates and total phosphates by cultivating *Spirulina sp.* in swine wastes.

Waste conc. (%)	Rate constant for removing nitrates, (1/day)	Rate constant for removing phosphates, (1/day)
10	0.32	0.30
20	0.11	0.10
30	0.33	0.15

\*First order removal rate constant, (1/day).

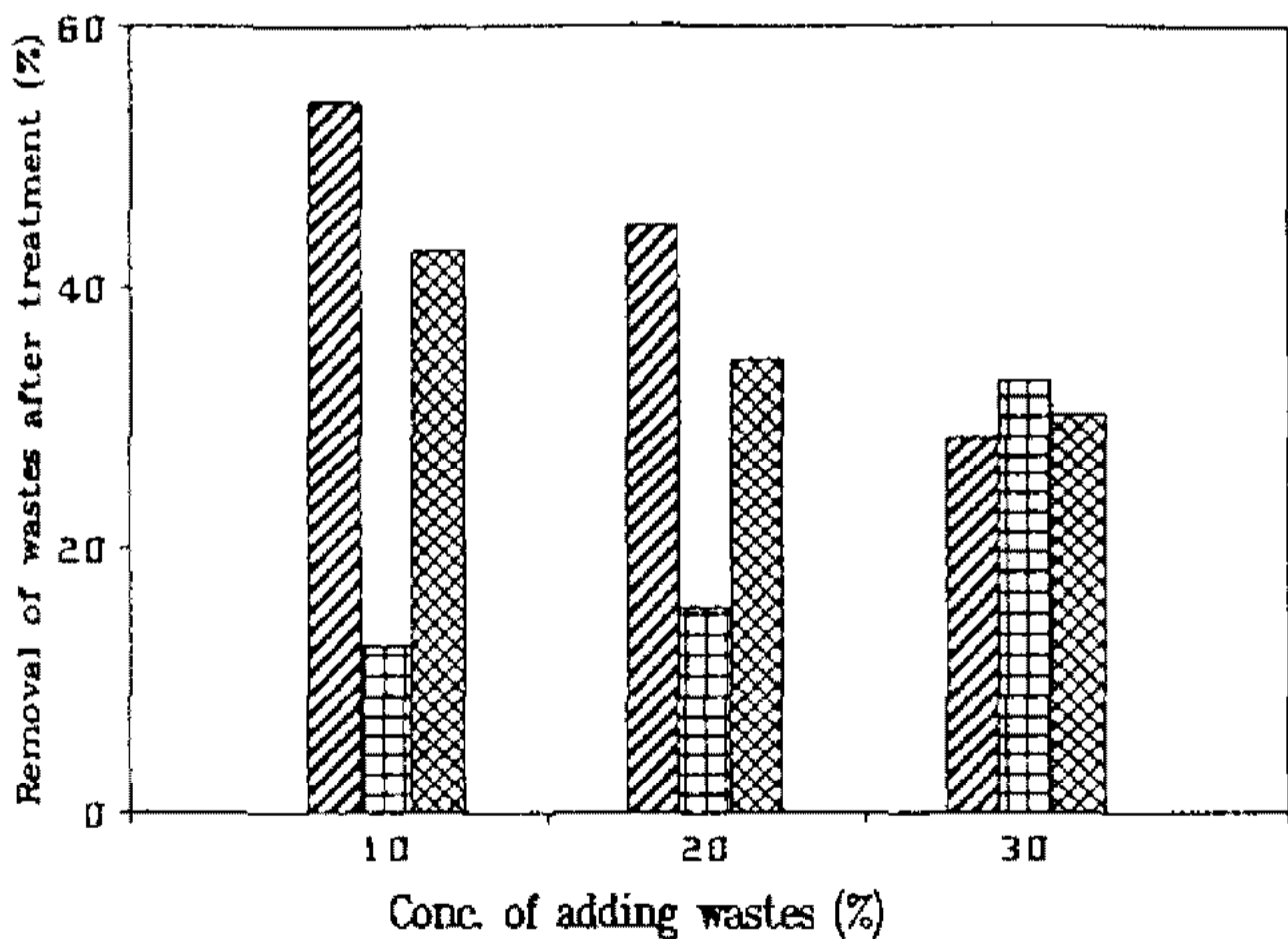


Fig. 6. The removal of nitrates, phosphates and COD after the treatment of swine wastes by the growth of photosynthetic microalga, *Spirulina platensis*.  
 ▨ Nitrates, ■ Total phosphates, ▩ COD.

아니라 생육시 요구되는 maintenance coefficient의 값은 월등히 높은 것을 알 수 있다. 또한 biomass의 사료원으로서의 사용을 위한 균체 생산성은 20% 정도

Table 3. Comparison of chemical composition of *Spirulina platensis* grown in swine wastes and a commercial health food.

Component (wt. %)	<i>Spirulina</i> grown in swine wastes	<i>Spirulina</i> for commercial health food*
protein	71.2	68.5
lipid	9.1	15.2
carbohydrates	10.9	4.9
ash	8.8	11.4

\*Data from Earthrise company which produces the health food from *Spirulina platensis*.

Table 4. Comparison of amino acid profile\* in *Spirulina platensis* grown from swine wastes and a commercial health food.

Amino acid	<i>Spirulina sp.</i> grown from swine wastes	Commercially available <i>Spirulina sp.</i>
Aspartic acid	10.20	5.37
Threonine	5.05	4.19
Serine	5.27	5.42
Glutamic acid	12.89	16.03
Proline	4.51	3.69
Glycine	5.03	4.89
Alanine	8.23	12.64
Half Cystine	0.80	1.41
Valine	4.40	6.46
Methionine	3.17	0.89
Isoleucine	3.69	5.94
Leucine	8.64	9.21
Tyrosine	5.54	4.29
Phenylalanine	5.02	5.02
Histidine	4.21	2.01
Lysine	4.13	5.39
Arginine	2.37	1.03
Ammonia	6.85	6.14

\*gram/100 g protein

까지 유지하는 경우 배양조의 scale-up에 따른 경제성 향상 등으로 그 이용 가능성이 클 것이다.

Fig. 4와 5는 *Spirulina sp.*를 여러 농도의 축산 폐수와 함께 배양시 폐수 내 존재하는 오염원들인 nitrate와 phosphate 양의 감소를 나타낸 동력학적 자료다. 균체 생육이 가능한 30% 폐수 함유의 경우까지만 조사한 결과로서 폐수 함유량이 낮은 경우는 nitrate보다 phosphate의 감소 속도가 빠른 것이 확인됐다. 하지만 20% 이상의 고농도 함유의 경우는 nitrate의 감소 속도가 빠른 것을 알 수 있다. 이같은

결과를 정리한 것이 Table 2로서 Fig. 4와 5의 자료를 이용해 1차 반응에 따른 감소 속도상수를 산출한 결과로서 10%의 함유의 경우 nitrate와 phosphate의 감소 속도가 유사한 반면 30% 함유의 경우는 nitrate의 감소 속도가 상대적으로 빠른 흥미로운 사실을 알 수 있다. 이와 함께 배양 후 폐수내 존재하는 오염원의 양 및 COD 수치를 비교한 것이 Fig. 6이다. 전반적으로 10% 함유의 경우가 nitrate와 COD 제거율이 높으나 phosphate의 경우는 30%의 폐수를 포함해 배양한 경우가 약 40%의 제거율을 나타내 제일 우수함을 알 수 있다. 특히 10%를 포함한 배지의 초기 COD는 약 250(mg/L)에서 10일 배양 후 110(mg/L)로 낮아지는 효율적인 폐수처리 공정임을 알 수 있다.

Table 3과 4는 축산 폐수에서 배양된 biomass의 사료원으로서의 영양학적 가치를 평가하기 위해, 기존에 식용으로 시판되는 *Spirulina* sp.와 화학 조성 및 아미노산 분석 결과를 비교한 것이다. 시판 제품에 비해 단백질 함량이 높으며 지질이 낮고 필수 아미노산 중 결핍되기 쉬운 lysine, methionine, arginine 등의 함유량이 높은 것을 알 수 있다. 이같은 biomass의 소화흡수율 등과 같은 사료 가치적 연구와 대량 연속 배양에 관한 scale-up에 관한 연구가 병행되면 축산 폐수의 처리 및 고단백 사료원의 경제적 생산이 가능할 것이다.

## 요 약

축산 폐수로부터 새로운 고단백 사료원의 생산 및 축산 폐기물 처리의 이중적 효과를 얻기 위해 pilot 규모의 광 배양조를 이용해 광합성 미세 조류인 *Spirulina plantensis*를 회분 배양했다. 30%의 폐기물이 있는 배지를 사용해 배양한 결과 0.31(1/day)의 비생육 속도와 0.170의 생체 에너지 전환 수율을 얻었다. 이는 순수 배양에서 얻을 수 있는 결과인 0.71(1/day)와 0.545의 전환 수율과 비교해 낮은 수치이나 폐수 처리가 가능하며 약 0.29(g-dry wt./L) 이상의 일정 농도를 유지할 수 있어 경제성이 높을 것으로 평가된다. 또한 최적 희석 배율은 배지 부피당 약 20%로 계산됐다. 부영양화의 주원인인 질산과 인산 염은 희석 농도에 따라 다르지만 COD와 함께 배양 처리 후 약 50% 이상 제거됐으며 제거 속도는 축산 폐기물의 희석 농도에 크게 영향받는 것을 확인했다. 이 같이 생산된 biomass는 70% 이상의 고단백질과 10% 이하의 낮은 농도의 지질을 함유하고 있으며, 일반 사료원에서 부족되기 쉬운 lysine, methionine 등과 같은 필수 아미노산을 풍부히 포함하고 있어 새로운

사료원으로서 그 가치가 클 것으로 평가된다.

## 감사의 말

본 연구는 한국과학기술처의 특정연구개발사업의 지원으로 수행된 결과로 이에 심심한 사의를 표하며, 본 연구를 도와 주신 김기은 박사께도 감사의 뜻을 전합니다.

## 참고문헌

1. Chow, V.T., R. Eliassen, and R.K. Linsley. 1979. Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse. 2nd ed., McGraw-Hill Co., New York.
2. Ifiguez, C.G. 1983. Utilization and management of piggery exertes. National Congress AMVEC-83. Puerto Vallarta, Mexico.
3. Moo-Young, M., D. Chahal, and B. Stickney. 1981. Pollution control of swine manure and straw by conversion to chaetomium celluitycum. *Biotechnol. Bioeng.* **23**: 2407-2475.
4. Oswald, W. 1965. Harvesting, and proceeding sewage-grown planktonic algae. *J. Water Poll. Control. Fed.* **37**: 471-480.
5. Tsai, P.S. 1980. Mass cultivation and utilization of *Spirulina platensis* grown on fermented hog manure. Pp. 102-107, Proc. Int. Symp. on Biogas and livestock wastes. Taipei, Taiwan.
6. Shelef, G., and C.J. Soeder 1980. Algal Biomass: production and use. Pp. 852-871, Elsevier Press, New York.
7. Lavoie, A., and de la J. Noue. 1985. Hyperconcentrated cultures of *Scenedesmus obliquus*. *Water Res.* **19**: 1437-1442.
8. Hashimoto, S., and K. Furukawa. 1989. Nutrient removal from secondary effluent by filamentous algae. *J. Fermt. Bioeng.* **67**: 62-69.
9. Redalje, D.J. 1989. Algae as ideal waste removers: biochemical pathway. Pp. 91-110. In M. Huntley (ed.), *Bioteatment of agricultural wastewaters*. CRC press, New York.
10. Pouliot, Y., and de la Noue. 1985. Mise au point d'une usine-pilote d'epuration des eaux uses apr production de microalgaues. *Rev. Frcse Sci. de l'Eau.* **4**: 207-222.
11. Modaky, S.M., S. Yannai, and Z. Berk. 1979. Agale grown on wastewater as a source of protein for young chicken. *Nutr. Rept. Intl.* **19**: 383-389.
12. Horwity, W. (ed.). 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Pp. 556, AOAC Pub., Washington, D.C.
13. American Public Health Association. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and

Wastewater, APHA, Whashington, D.C.

14. Lee, H.Y., S.Y. Lee, and B.K. Park. 1989. The estimation of algal yield parameters associated with mixotrophic and photoheterotrophic growth under batch cultivation. *Biomass*. **18**: 153-160.
15. Lee, H.Y., and L.E. Erickson. 1987. Theoretical and experimental yields for photoautotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic growth. *Biotechnol. Bioeng.* **29**: 476-482.

(Received December 13, 1993)