



## 양돈분뇨배지를 이용한 광합성세균 균체생산의 기초연구

이명규, 이수경, 이재영, 구자용  
상지대학교 환경공학과

### A basic study for the production of phototropic bacteria using hog excretion culture medium

Myung-Gyu Lee, Soo-Kyeoung Lee, Jae-Young Lee, Ja-Yong Koo  
Department of Environmental Engineering, Sangji University

#### 1. 서론

축산폐기물은 부패하기 쉽고 악취가 심하여 여러 환경문제의 원인이 되고 있다. 이러한 축산폐기물은 원료특성에 따라 정화처리, 매립 및 소각과 자원화등이 다양하게 적용되고 있으나, 일반적인 방법은 퇴비화로서 부산물의 장점을 중심으로 많은 기술이 개발되고 있다. 이런 축산폐기물 중 양돈폐수가 54% 이상 차지하며, 이런 양돈폐수는 지역적으로 발생량이 편중되어있어 퇴비화나 부산물을 생산하여 이용하기에는 운송료 등이 추가적으로 부담된다. 이런 여분의 양돈분뇨를 퇴비화가 아닌 유효한 미생물의 생산에 이용하면 양돈분뇨의 고부가가치화를 이룰 수 있다.

광합성세균은 영양요구성이 다른 미생물보다 단순하고, 증식특징이 매우 다양하여 호기적 명조건(Aerobic light), 호기적 암조건(Aerobic dark), 혐기적 명조건(Anaerobic light), 혐기적 암조건(Anaerobic dark)의 어떤 환경조건에서도 산소의 확산속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있다. 광합성 세균의 이용시 얻을 수 있는 효과로는 작물에 시용 하였을 때 작물의 수량 및 품질 저장성을 향상시킬 수 있으며, 토양내에 토양 유용미생물과 공존함으로써 토양을 활성화 시키며, 작물의 연작으로 일으킬 수 있는 피해를 격감시킨다. 축산에서 사용하였을 때 양돈장등지에서 발생하는 악취를 저감시키며, 광합성세균이 가지고있는 항바이러스 물질에 의해 바이러스병을 방지하기도 한다.

이러한 광합성세균을 배양하는데 있어서 현재는 값비싼 외국인 화학약품을 수입하여 그 배양배지로 이용하고 있으며, 이는 생산원가의 증가를 가져와 제품의 원활한 생산에 애로점으로 작용하고 있다. 따라서 본 연구는 양돈폐수를 이용 광합성세균을 생산하여, 양돈폐수의 고부가가치화와 광합성세균의 생산원가 감소를 기대할 수 있어 양돈폐수에서 광합성세균의 균체생산방법을 연구하였다.

#### 2. 실험 재료 및 실험 방법

##### 2.1 균주분리 및 선별

광합성세균은 경기도 일원과 강원도 및 충청도 일원을 중심으로 채취한 시료를 균원 시료로 하여 자연계에서 분리하였다. 채취한 시료를 멸균한 생리식염수로 희석하여 광합성세균용 분리배지가 든 cap tube에 접종한 후 고체배지에 도말하여 적자색을 나타내는 colony를 1차로 선별하였다. 1차로 분리한 균주들을 액체배양을 실시한 후 생육도와 유기산의 자화도를 측정하여 가장 활성이 높은 균주를 선별하여 본 실험의 균주로 사용하였다.

##### 2.2 대상폐수의 성상

본 연구에 사용한 양돈분뇨시료의 초기 이화학적 성상은 다음과 같다

[Table 1] 연구에 사용한 폐수와 배양에 사용된 배지의 이화학적 성상

구분		원수
pH		8.2
COD		54155
휘발성 저급지방산	T-VFAs	4293
	Acetic acid	2500
	Propionic acid	600
	iso-Butyric acid	242
	n-Butyric acid	436
	iso-Valeric acid	429
	n-Valeric acid	87
NH <sub>4</sub> -N		4005
PO <sub>4</sub> -P		528

### 2.3 분석 방법 및 실험 방법

#### 2.3.1 실험 방법

본 실험에 사용된 시료는 강원도 원주시에 위치한 S농장에서 분과 노를 함께 수거하여 실험에 사용 하였으며, 48Hour의 폭기공정을 거친 후 이용하였다. 산발효 공정도입시 강원도 원주시 하수종말처리장의 혐기성 처리조에서 식중슬러지를 이용하여 10%식중후 산발효공정을 실시하였다. 광합성세균의 배양에 있어 필수적인 요소가 빛으로서, 빛의 투과율을 증가시키기 위하여 산발효 이후 산발효액의 고액분리를 위해 분리 여과막 공정을 실시하여 빛 투과율을 높게 하여 광합성세균 배양에 사용하였다. 이때 막의 부하를 줄이기 위하여 산발효액을 200mesh Screen 처리를 한 후 1.5배 희석하여 분리 여과막(0.4µm 평막) 공정에 사용하였다. 광합성세균의 배양은 2.5l Jar-Fermento를 이용하였고, 막 투과수를 세 가지로 분리하여 배양하였으며 그 내용은 [Table 2]와 같다. 중화는 0.5N의 HCl을 사용하여 실시하였다.

#### 2.3.2 유기산 분석

유기산 분석은 Gas chromatography (Shimadzu

[Table 2] 양돈분뇨배지를 이용하여 광합성세균의 배양방법

	Run-1	Run-2	Run-3
배양 방법	여과막 투과수	Run-1 2배 희석수(COD)	Run2 중화

[Table 3] VFAs 분석시 G · C 운전조건

구분	내용
G · C	Shimadzu GC-14
Column	Shimalite TPA 60-80
Carrier gas	N <sub>2</sub> 40 ml/min
H <sub>2</sub>	50kpa
Air	50kpa
Detector	FID
Det. Temp.	200℃
Inj. Temp.	200℃
Col. Temp.	125℃

14A)를 이용하여 분석 하였으며, 채취한 시료를 원심분리하여 균체를 제거한 후 상등액을 이용하여 실험하였다. 시료 20ml를 원심분리관에 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1ml와 함께 넣고 pH를 1~2로 맞춘 후, 10000rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액을 15ml취하여 35ml 스크류시험관에 Ethyl-Ether 15ml와 함께 넣고 -6℃~-12℃에서 4시간 이상 보관 후 Ethyl-Ether층만 10ml 취하여 이를 시료로 이용하였다. 내부표준물질로는 Iso-Carproic acid를 사용하였다. G.C분석 조건은 다음과 같다.([Table 3])

#### 2.3.3 폐수의 기초분석

광합성세균 배양시 발생하는 시료는 5,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 균체를 제거한 후 상등액을 취하여 분석을 실시하였다. 산발효조와 M/F여과액에서 처리된 양돈분뇨배지는 수질공정시험법에 의하여 실시하였다.

#### 2.3.4 Bacteriochlorophyll 분석

폐수중의 광합성세균 생육도를 알아보기 위해 Bacteriochlorophyll을 측정하였는데 이는 5,000rpm에서 원심분리 후 pellet을 acetone : methanol (7:2) 혼합용매로 4℃ 암상태에서 24시간 추출 하였다. 추출액을 12,000rpm에서 20분동안 원심분리후 상등액의 흡광도를 770nm에서 측정하였다.

O.D값의 측정은 상기방법으로 원심분리 후 상등액을 제거한 후 pellet을 60% Sucrose에 현탁시켜 흡광도를 측정하였다.

### 3. 결과

[Table 4] 양돈분뇨배지의 분리 여과막 전·후 이화학적 성상

구분		여과막 투과 전	여과막 투과 후
pH		6.9	8.2
COD		54071.2	17002
휘발성 저급지방산	T-VFAs	9001	5536
	Acetic acid	5612	3184
	Propionic acid	1747	1125
	iso-Butyric acid	353	258
	n-Butyric acid	587	412
	iso-Valeric acid	620	490
	n-Valeric acid	84	68
NH <sub>4</sub> -N		3789	1836
PO <sub>4</sub> -P		366.8	83.8
Cl		-	494
Ca		592.2	30.4
Mg		570.8	1.6
Na		273.6	143.8
K		2218.8	610.2

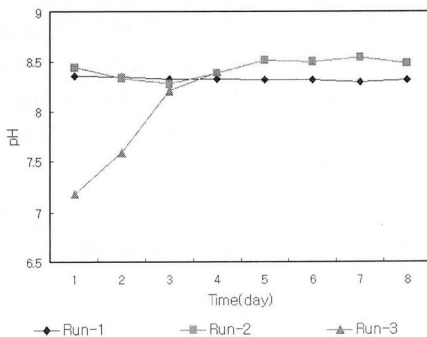
### 3.1 양돈분뇨배지의 전처리 공정

산발효 과정에서 VFAs의 변화를 초기 4일간은 VFAs 농도가 증가하는 경향을 보였으며, 초기 4000mg/l에서 최고 10000mg/l까지 증가하였고 이후 점차 감소하는 경향을 보였다. 광합성세균이 주로 이용하는 탄소원인 Acetic acid, Propionic acid, 의 비율을 보면 초기 58%, 14%에서 VFAs의 농도가 최고가 되는 4일차에는 76%와 21%로 증가하였다. 광합성세균의 배양에 사용될 배지는 산발효 후 HRT4일인 시료를 사용하는 것이 광합성세균을 생육하는데 탄소의 이용에 가장 유리할 것으로 생각된다. [Table 4] 에서와 같이 분리 여과막 투과시 유기산의 투과율은 약 90% 가 투과되어지며, PO<sub>4</sub>-P는 약 70%가

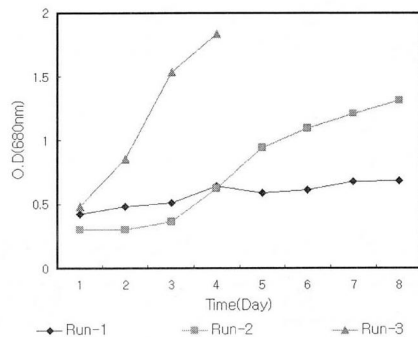
제거되었다. 이는 고형물성분인 인 계열이 거의 제거가 되는 것으로 보아 고액분리 효율이 우수하였고, 분리 여과막 pore size가 0.4 $\mu$ m로 일정량의 미생물의 제거효과도 기대된다. 고액분리의 효율이 우수하여 광합성세균의 생육에 가장 중요한 인자인 빛의 투과 중 고형물에 의한 빛의 산란을 제거할 수 있었다.

### 3.2 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 배양

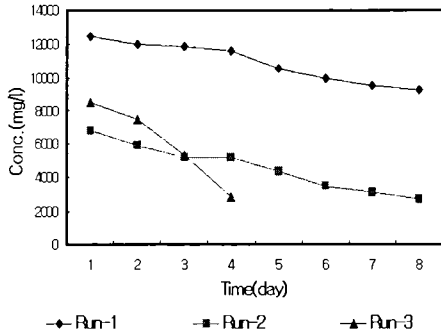
대체배지를 이용하여 광합성세균을 세 가지 조건으로 배양한 결과 분리 여과막 투과수를 2배 희석한 후 중화하여 배양한 것(Run-3)이 다른 두 조건보다 생육이 약 3배 이상 빠른 것으로 나타났다.



[Fig. 1] 처리구별 pH 변화



[Fig. 2] 처리구별 O.D변화



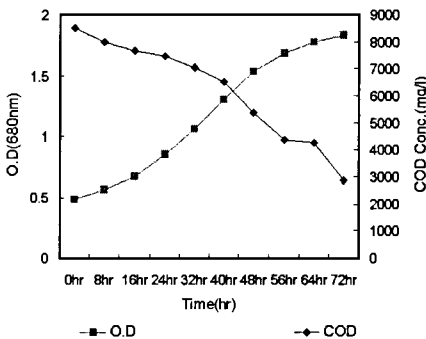
[Fig. 3] 처리구별 COD 농도변화

이는 분리 여과막 투과수를 바로 이용하였을 시 분리 여과막 투과수 자체의 색도 문제로 인해 빛 투과율의 문제와 분리 여과막 공정시 증가되는 pH의 상승 때문에 광합성세균의 생육에 영향을 미친 것으로 생각된다. 이는 다른 문헌에서 말하는 광합성세균의 최적생육 pH인 pH7.0와 일치함을 보였다.

COD의 감소 비율도 3일째기준으로 살펴보았을 때 Run-3에서 68%로 가장 많은 감소를 보였으며, Run-2에서는 33%, Run-1에서는 8%감소하였다.

[Fig.4]에서 보면 광합성세균이 성장하면 COD의 농도가 현저히 줄어드는 것을 볼 수 있었다.

균 증가가 가장 많은 시간은 24hr에서 48hr에서 이고, 이후 점차 감소하기 시작하였다. COD 감소는32hr째부터 COD가 급격히 감소하기 시작하였다. 광합성세균의 생육도를 알아보기 위해 실시한 Bacteriochlorophyll은 최대 흡광도가 770nm, 600nm, 474nm에서 나타났다. 광합성세균의 성장에 따른 pH와 Bacteriochlorophyll의 변화를 측정할 결과 [Fig. 5]와 같이 배양 기간동안 계속 증가



[Fig. 4] Run-3에서 O.D와 CODcr의 변화

하였으며, 24hr부터 48hr까지 흡광도값이 급격히 증가하고, 이후 증가폭이 현저히 줄어드는 경향이 나타났는데 계속적인 배양을 위해서는 배지의 교체가 필요할 것 이다.

#### 4. 결론

1. 양돈분뇨배지를 이용하여 광합성세균을 배양하기 위해 전처리한 결과 산발효 후 VFAs중 Acetic acid 는 58%에서 76%로, Propionic acid는 14%에서 21%로 증가 하였다. 분리막을 이용하여 고형물의 제거는 유기산 투과율이 90%, 고형물성분인 PO<sub>4</sub>-P 는 70%가 제거되었다.

2. 양돈분뇨액을 이용한 광합성 세균 배양시 각 처리구별 광합성세균의 성장은 Run-3에서 다른 처리구보다 약 3배이상 빠른 성장을 나타냈다.

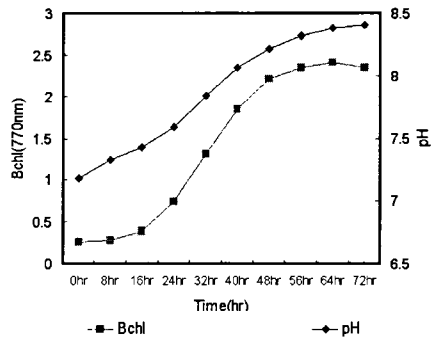
3. 본 연구를 기초로 양돈폐수를 이용한 광합성세균의 생산을 Pilot-Scale로 Scale-up을 하면 현재 화학배지로 생산되는 광합성세균의 생산단가를 감소 효과를 얻을 수 있을 것이라 사료된다.

4. Bacteriochlorophyll와 균체의 농도, O.D값의 상관성에 연구가 추가로 진행되면 광합성세균의 배양에 재현성을 확립할 수 있을 것으로 사료된다.

5. 양돈분뇨배지에서 광합성세균배양에 촉진물질 추가로 투입시 효과의 추가적인 연구가 필요하다.

#### 사사

본 연구는 농림부 첨단기술개발사업의 연구비를 받아 수행된 바 이에 감사드립니다.



[Fig. 5] Run-3에서 pH와 Bacteriochlorophyll의 변화

### 참고문헌

1. 강성옥(1993) “두부공업폐수를 이용한 광합성세균 *Rhodospirillum rubrum*의 균체생산”, 석사학위논문, 고려대학교 대학원.
2. 김 장 석 (1991) “광 합 성 세 균 *Rhodocycclus gelatinosus*에 의한 전분공업폐수 처리에 관한 연구” 석사학위논문, 고려대학교 대학원.
3. 오일웅(1990) “광합성세균이 생성하는 항생물질에 관한 연구” 석사학위논문, 경북대학교 대학원.
4. 김범석 “광합성세균과 응집제생산균주에 의한 돈분 폐수처리에 관한 연구” 석사학위논문, 고려대학교 대학원.