

ORIGINAL ARTICLE

액상 돈분에서 병원균과 가스 발생량을 감소시키기 위한 분 첨가제로서 생균제의 축산환경경영평가

최인학 · 이혁준¹⁾ · 김동현¹⁾ · 이용복¹⁾ · 김삼철^{1)*}

충부대학교 애완동물자원과, ¹⁾경상대학교 응용생명과학부(BK21Plus, 농업생명과학연구원)

Evaluation of Probiotics on Animal Husbandry and Environmental Management as Manure Additives to Reduce Pathogen and Gas Emissions in Pig Slurry

In-Hag Choi, Hyuk-Jun Lee¹⁾, Dong-Hyeon Kim¹⁾, Yong-Bok Lee¹⁾, Sam-Churl Kim^{1)*}

Department of Companion Animal & Animal Resources Sciences, Joongbu University, Geumsan 312-702, Korea

¹⁾Division of Applied Life Science (BK21Plus, Insti. of Agric. & Life Sci.), Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of probiotics as manure additives on pathogen, mineral, carbon dioxide and methane emissions in pig slurry as a function of time and provide information about the importance of pig slurry management to pig producers. An experiment was a completely randomized design and four treatments: CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales. All treatments were replicated three times. The results information that is analyzed includes the following: First, in spite of the lack of statistically significant differences, pH values and carbon dioxide were lowered ($P < 0.05$) in all probiotic treatments compared with the controls as a function of time. Second, all probiotic treatments had no effect on *Salmonella enterica*, mineral, and methane emission. The results of this study indicated that addition of 0.2% probiotic to pig slurry resulted in lower pH and carbon dioxide emissions, and carbon dioxide and methane emitted from pig slurry is not listed as noxious gases.

Key words : Probiotics, Pig slurry, *Salmonella enterica*, Carbon dioxide, Methane

1. 서론

우리나라의 양돈산업은 대규모 산업화·집적화 되면서 생산성 향상(성장율, 사료효율 및 면역 개선)을 위해 사료에 항생제와 성장촉진제 등을 사용하였다. 그러나, 항

생제와 성장촉진제의 사용은 축산물 내 잔류와 내성문제 발생으로 인해 국내·외에서는 금지되고 있다. 예를 들면 항생제 전면 금지는 1986년 스웨덴을 시작하여 유럽전역으로 확대 시행되어 2006년에 완전히 시행되었다(Anádón 등, 2006). 우리나라에서는 2011년에 항생제

Received 10 October, 2014; Revised 22 December, 2014;

Accepted 13 January, 2015

*Corresponding author : Sam-Churl Kim, Division of Applied Life Science (BK21Plus, Insti. of Agric. & Life Sic.), Gyeongsang National University Jinju 660-701, Korea
Phone: +82-55-772-1947
E-mail: kimsc@gnu.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© 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.

사용이 전면 금지되었다.

통계청(Statistics Korea, 2013)에 따르면 우리 나라 돼지 사육두수는 2009년 958만두, 2010년 988만두, 2011년에는 817만두로 감소하였지만, 2012년 991만두에서 2013년에는 1018만두로 증가하였다. 이는 양돈농가의 사양기술 발달과 정부정책의 노력으로 볼 수 있지만, 항생제 사용 금지 이후 사육규모의 증가로 인한 다두 사육이 확대되어 면역력 감소에 의한 질병 발생률이 더욱 높아질 가능성을 내포하고 있다. 또한 사육규모의 증가로 대두될 수 있는 또 다른 문제의 하나는 축사 내 돈분 증가이다. 이를 뒷받침 할 수 있는 증거는 2010년 연간 우리나라 가축분뇨 발생량 46,534천 톤 가운데 전체 38%인 17,843천 톤이 단일 축 종인 돼지에서 발생하는 돈분이 차지하고 있다는 것이다(Go 등, 2012). 더욱이 우리나라의 양돈 사육농가는 영세농으로 이루어진 가족기업의 형태라는 점이다. 돈사로부터 유발되는 악취와 유해가스에 의해 주변의 주민들에게 건강과 민원의 발생 소지가 있으며, 많은 양의 돈분이 영세농가에서 적절히 처리 못하고 농경지에 아무런 대책 없이 살포시켜 환경 오염을 가중시키고 있다. 이러한 이유로 항생제 대체물질에 대한 연구가 우리나라를 포함한 여러 나라에서 진행되고 있으며, 항생제 대체물질은 생균제, 효모제, 유기산제 및 천연 식물추출물 등이 여기에 포함된다. 특히, 생균제(Probiotics)는 Fuller(1989)에 의해 '장내 미생물 균형을 통한 숙주의 건강을 향상시키는 살아있는 미생물을 이용하는 사료첨가제'로 정의하였으며 이후 생균제의 기능과 활용범위가 확대되어 현재는 축사 환경개선제로 이용되고 있다. 생균제를 이용했을 경우 돈분에서 발생하는 암모니아(NH₃)와 황화수소(H₂S) 가스를 효과적으로 제거할 수 있으며 생균제의 종류에 따라 60% 이상 감소 된다고 보고되고 있다(Jang 등, 2004; Kang 등, 2006; Lee와 Lim, 2010). Goh 등(2005)의 연구에서도 육성돈과 비육돈의 사료에 생균제의 첨가 수준은 일당 증체량과 사료 요구율면에서 일부 개선효과가 있었다고 하였다. 이와는 대조적으로 다양한 효소제, 효모제와 생균제를 육성 비육돈에 적용한 연구에서는 증체량과 사료 효율의 경우 뚜렷한 차이를 보이지 않았다고 하였다(Kim 등, 1997). 전반적인 생균제에 관한 연구는 가축 생산성과 가스발생량에 대한 연구로 주를 이루고 있으나, 액상 돈분(pig slurry)을 중심으로 유해성 병원균과 메탄,

이산화탄소 등에 대한 사례는 보고되지 않았다. 또한 시중에 유통되고 있는 생균제의 수는 다양하지만 마찬가지로 효능면에서 차이가 크며, 이에 대한 정보도 일정하지 않다. 따라서 양돈경영자에게 축산환경 경영정보를 제공하는 데 있어 선택성의 폭을 감소시키고 있다.

본 연구는 고초균, 효모균 및 방선균을 포함한 각각의 생균제(축분첨가제)를 액상 돈분에 첨가하여 일정시간 동안 유해성 병원균, 무기물, 이산화탄소 그리고 메탄 발생량에 미치는 영향을 조사하여 실질적인 양돈 경영자에게 기초적인 정보와 자료를 제공하는데 그 목적을 두었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료준비와 실험설계

액상 돈분(pig slurry)은 경상남도 창원시 소재 양돈농가에서 80 L를 채취하였다. 시험에 사용된 미생물 4처리구는 액상 돈분에 미생물을 첨가하지 않은 대조구(Control, CON), 고초균(*Bacillus subtilis*, 6.7×10^7 , T1), 효모균(*Saccharomyces cerevisiae*, 7.7×10^7 , T2) 및 방선균 처리구(*Streptomyces griseus*, 2.0×10^6 , T3)였다. 각 처리구의 조건은 아래와 같다.

- 1) CON: no treatment (5 kg pig slurry)
- 2) T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*
- 3) T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast
- 4) T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales

처리구별로 액상 돈분을 5 kg 씩 3반복(처리구별 총 15 kg 사용)으로 통에 넣고, 폭기조를 이용하여 매일 폭기시켜 2주간 발효시켰다. 배양 직전(0일), 배양 후 12시간(0.5일), 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 14일에 각각 50 ml를 채취하여 분석에 이용하였다. 채취된 시료 10 ml은 병원성 미생물 균수 측정을 위해 즉시 분석되었으며, 나머지는 분석 시까지 냉동 보관하였다.

2.2. 분석

pH는 액상 돈분을 그대로 원심분리시켜 상층과 하층이 분리된 상태에서 상층부분을 pH meter (Seven Easy, Mettler Toledo, Switzerland)를 이용하여 0, 0.5, 1, 2,

4, 6, 8, 10, 12 및 14일에 측정하였다. 액상 돈분에 함유된 *Salmonella enterica* 분석은 액비 2 ml와 생리 식염수 18 ml를 잘 혼합한 후 10진법으로 희석하여 분석에 이용하였다. 병원성 미생물인 *Salmonella enterica*는 각각 Difco TM SS Agar (BD; Becton, Dickinson and Company, USA)를 이용하여 제조된 고체배지에 접종하여 35°C 배양기에서 48시간 배양 후 균수를 0, 0.5 및 1일에 측정하였다. 균수는 g당 cfu(colony forming units, log cfu/g manure)로 나타내었다. 액상 돈분의 칼륨, 칼슘 및 인 함량은 Elekes 등(2010)의 방법에 준하여 ICP-AES로 0과 14일에 측정하였다. 액상 돈분에서 발생하는 이산화탄소(CO₂)과 메탄(CH₄)가스 측정은 폭기조에서 연결되는 관에 가스 분석기(Yes Plus LGA, Critical Environment Technologies Canada Inc., Delta, Canada)

를 설치하여 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 14일에 측정하였다. 모든 분석은 3반복으로 측정되었다.

2.3. 통계처리

통계처리는 완전임의 배치법으로 설계되어 SAS(2000) package 프로그램을 이용하여 ANOVA 분산분석으로 실시하였다. 처리간 통계적 유의성 검정은 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range tests(Duncan, 1955)로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 액상 돈분의 pH, *Salmonella enterica* 및 무기물에 대한 영향

생균제를 액상 돈분에 첨가 시 pH, *Salmonella enterica*,

Table 1. Effects of probiotic to pig slurry on pH as a function of time

Day	Treatment ¹				SEM ²
	CON	T1	T2	T3	
0	6.43	6.42	6.46	6.41	0.095
0.5	6.83	6.71	6.68	6.67	0.077
1	6.81	6.63	6.62	6.62	0.079
2	6.71	6.62	6.56	6.54	0.074
4	6.88 ^a	6.70 ^{ab}	6.71 ^{ab}	6.64 ^b	0.085
6	6.93 ^a	6.57 ^b	6.59 ^b	6.59 ^b	0.078
8	6.90 ^a	6.75 ^{ab}	6.66 ^{ab}	6.64 ^b	0.097
10	6.94 ^a	6.70 ^b	6.59 ^b	6.58 ^b	0.075
12	6.78 ^a	6.61 ^{ab}	6.60 ^{ab}	6.60 ^b	0.070
14	6.75	6.61	6.57	6.67	0.089

^{a-b}Means on the same row followed by different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales.

²Values are means±SEM.

Table 2. Effects of probiotics to pig slurry on *Salmonella* as a function of time (log cfu/g)

Day	Treatment ¹				SEM ²
	CON	T1	T2	T3	
0	3.39	3.77	3.41	2.13	1.008
0.5	ND ³	ND	ND	ND	-
1	ND	ND	ND	ND	-

¹CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales.

²Values are means±SEM.

³ND stands for Not Detected

Table 3. Effects of probiotics to pig slurry on minerals as a function of time

Item	Treatment ¹				SEM ²
	CON	T1	T2	T3	
0 day (mg/kg)					
K	2280	2510	2350	2260	122.7
Ca	82	82	84	91	12.5
P	62.5	40.2	94.1	38.0	39.9
14 day (mg/kg)					
K	2390	2440	2440	2280	76.4
Ca	89	88	92	82	9.3
P	40.2	62.9	68.0	11.4	40.0

¹CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales.

²Values are means±SEM.

및 무기물에 대한 영향은 Table 1, 2 그리고 3에 제시하였다. 통계적 유의성 결과를 대조구와 비교하면 0, 0.5, 1, 2, 및 14일에서의 pH는 모든 처리구에서 인정되지 않았지만, 4, 6, 8, 10 그리고 12일에서는 차이가 있었다. pH는 생균제 처리구간에 아무런 차이가 없었으며, 생균제의 첨가 시 공통된 점은 시간이 지남에 따라 대조구와 비교할 때 pH가 감소되는 경향을 보여주었다. 전반적인 pH 감소는 효모균(T2) 및 방선균 처리구(T3)가 가장 컸고 이 두 처리구는 비슷한 경향이였다. 그 다음은 고초균 처리구(T1) 순이었다. 일반적으로 생균제를 축분에 첨가 하였을 때 pH가 감소하는 것은 산(acid)으로 작용하는 것에 기인한다. 예를 들면, Song 등(2014)은 돈분에서 pH가 감소되는 이유로 대나무분말이 산(acidification)으로서 작용했기 때문이라고 설명하고 있다. 본 연구에서도 생균제 처리 시 액상 돈분의 pH는 감소하는 경향이였다.

액상 돈분에서 분석된 *Salmonella enterica*의 결과를 보게 되면 통계적 유의성이 모든 처리구간에 0일에서는 없는 것으로 나타났다. 0.5일과 1일의 경우 *Salmonella enterica*는 모든 처리구에서 검출되지 않았다. 일부 보고에서는 가축에서 생균제의 이용이 장내 pH의 감소로 유해성 병원균인 *E.coli*, *Clostridia* 그리고 *Salmonella* 등의 독소 작용을 억제하는 효과가 있다고 하였다(Heyman과 Menard, 2002). 위의 자료와는 다르게, 본 연구의 결과는 생균제를 이용 시 액상 돈분의 유해성 병원균의 사

멸효과가 크지 않다는 것을 의미한다. 또한 생균제를 액상 돈분에 첨가 시 유해성 병원균의 총변화를 장기간 연구를 통해 관찰할 필요성을 가지고 있다.

생균제 첨가에 따른 무기물 변화를 측정된 결과 0일과 14일에 분석된 K, Ca 및 P 함량은 모든 처리구간에 통계적 유의성이 인정되지 않았다. 이는 사용된 균주의 종류에 따라 크게 영향을 주지 않았다는 것을 보여주는 것이다.

3.2. 액상 돈분의 이산화탄소와 메탄 발생량에 대한 영향

생균제를 액상 돈분에 첨가하여 시간에 따라 이산화탄소(CO₂)와 메탄(CH₄) 발생량에 미치는 영향은 Table 4와 5에서 나타내었다. 전반적으로 대조구와 비교한 이산화탄소 발생량의 경우 시간이 경과하면서 모든 생균제 처리구에서 감소는 경향이였고, 0.5, 1, 4, 및 14일에는 각 처리구간에 통계적 유의성이 있었다. 그러나 0, 2, 6, 8, 10 및 12일에는 모든 처리구에서 이산화탄소 발생량에 아무런 영향을 주지 않았다. 효모균(T2)과 방선균 처리구(T3)에서는 다른 처리구보다 이산화탄소 발생량이 크게 감소되었다. 일반적으로 이산화탄소 발생과정은 축분 내 미생물발효 과정을 통해 이루어지며 상대적으로 암모니아와 황화수소 발생량과는 달리 축사 내에서 발생량이 적으며 가축의 건강을 해치는 수준은 아니라고 보고되고 있다(Noblet 등, 1989; Lee와 Lim, 2010). Lee와 Lim(2010)의 연구결과를 근거로 할 때, 본 연구의 결

Table 4. Effects of probiotics to pig slurry on carbon dioxide emissions as a function of time (ppm)

Day	Treatment ¹				SEM ²
	CON	T1	T2	T3	
0	929.0	698.3	886.3	781.0	222.20
0.5	931.3 ^a	756.3 ^{ab}	698.0 ^b	592.3 ^b	80.63
1	746.7 ^a	613.7 ^b	626.0 ^{ab}	693.3 ^{ab}	46.51
2	632.7	627.0	629.3	587.7	34.07
4	585.7 ^{ab}	621.0 ^{ab}	560.7 ^b	627.3 ^a	23.32
6	584.3	597.0	563.0	629.3	28.93
8	603.7	597.0	586.7	565.3	23.38
10	596.0	567.3	574.7	837.7	111.44
12	670.0	589.0	552.7	541.3	87.35
14	783.0 ^a	633.0 ^b	571.0 ^b	566.3 ^b	41.50

^{a-b}Means on the same row followed by different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales.

²Values are means±SEM.

Table 5. Effects of probiotics to pig slurry on methane emissions as a function of time (%)

Day	Treatment ¹				SEM ²
	CON	T1	T2	T3	
0	0.9 ^a	0.8 ^{ab}	0.6 ^b	0.6 ^b	0.087
0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.000
1	0.6	0.6	0.6	0.6	0.000
2	0.6	0.6	0.6	0.6	0.000
4	0.6	0.6	0.6	0.6	0.000
6	0.6	0.6	0.6	0.2	0.173
8	ND ³	ND	ND	ND	-
10	ND	ND	ND	ND	-
12	ND	ND	ND	ND	-
14	ND	ND	ND	ND	-

^{a-b}Means on the same row followed by different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹CON: no treatment (5 kg pig slurry), T1: 5 kg pig slurry + 0.2% *bacillus subtilis*, T2: 5 kg pig slurry + 0.2% yeast, T3: 5 kg pig slurry + 0.2% actinomycetales.

²Values are means±SEM.

³ND stands for Not Detected

과는 생균제가 액상 돈분에서 적절한 발효과정을 통해 이산화탄소 발생량이 대조구보다 적게 발생되고 있다는 것을 보여주었다.

메탄은 0일에서 모든 처리구간에 통계적 유의성이 있었지만, 0.5, 1, 2, 4 그리고 6일에서는 차이가 없었다. 그 이후 8일에서 14일까지 측정된 메탄 발생량은 모든 처리

구에서 검출되지 않았다. 이 결과는 생균제의 액상 돈분에 첨가가 메탄 발생량에 크게 영향을 주지 않는다는 것으로 해석할 수 있다. 따라서 메탄가스는 축분의 혐기적 상태에서 발생되지만(Lee과 Lim, 2010), 액상돈분에서 발생 되는 유해가스의 주 요인이 아니라는 것을 나타내었다.

4. 결론

고초균, 효모균 및 방선균을 포함한 각각의 생균제 0.2%를 액상 돈분 첨가했을 때 일정시간 동안 pH, 유해성 병원균, 무기물, 이산화탄소 그리고 메탄 발생량에 미치는 영향을 조사하여 현장의 양돈 경영자에게 기초적인 정보와 자료를 제공하는데 있다. 본 연구에서 얻어진 결과는

첫째, 통계적 유의성에 상관없이 pH와 이산화탄소의 발생량은 시간이 지남에 따라 대조구보다 다양한 생균제 처리구에서 감소하였다.

둘째, 다양한 생균제의 액상 돈분에 첨가는 유해성 병원균인 *Salmonella enterica*, 무기물 및 메탄 발생량에는 아무런 영향을 주지 않았다.

결론적으로 본 시험에 이용된 생균제 0.2% 수준의 첨가는 pH와 이산화탄소 발생량을 감소시켰다. 또한 액상 돈분에서 발생하는 이산화탄소와 메탄이 유해가스의 주요인이 아니라는 점을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 생명산업기술개발사업 (No. 312058-03-3-WT012)의 연구비를 지원 받아 연구가 이루어진 것임.

REFERENCES

- Anádon, A., Rosa Martínez-Larranaga, M., Arañazu Martínez, M., 2006, Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment, Regul Toxicol Pharmacol., 45, 91-95.
- Duncan, D. B., 1955, Multiple range and multiple F-tests, Biometrics., 11, 1-42.
- Elekes, C. C., Dumitriu, I., Busuioc, G., Iliescu, N. S., 2010, The appreciation of mineral element accumulation level in some herbaceous plants species by ICP-AES method, Environ. Sci. Pollut. Res. Int., 17, 1230-1236.
- Fuller, R., 1989, Probiotics in man and animals, J. Appl. Bacteriol., 66, 365-378.
- Go, W. R., Kim, J. Y., Yoo, J. H., Lee, J. H., Kunhikrishnan, A., Lee, J. M., Kim, K. H., Kim, D. H., Kim, W. I., 2012, Monitoring of heavy metals in agricultural soils from consecutive applications of commercial liquid pig manure, Korean. J Environ Agric., 31, 217-223.
- Goh, Y. G., Jang, K. M., Oh, J. S., Hong, B. J., 2005, Effects of dietary supplementation probiotics (Biopowder^R) on growth performance of pig, Ann. Anim. Resour. Sci., 16, 6-12.
- Heyman, M., Menard, S., 2002, Probiotic microorganism: how they affect intestinal pathophysiology, Cell Mol Life Sci., 59, 1151-1165.
- Jang, Y. K., Song, K. P., Kim, H. J., You, Y. H., 2004, An investigation on the odor characteristics of livestock facilities, J Environ Impact Asses., 13, 33-40.
- Kang, K. H., Kim, S. K., Hu, C. G., 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.
- Kim, M. C., Choung, C. C., Song, D. K., Kim, Y. B., 1997, The effect of feed additives on performance and carcass composition of growing - finishing pigs, Korean. J Anim Nutri Feedstuffs., 21, 231-236.
- Lee, E. Y., Lim, J. S., 2010, Current status and perspectives of livestock environment improving agents for the characteristics and control of swine manure odor. J Microbiol Biotechn., 38, 244 - 254.
- Noblet, J., Dourmad, J. Y., Le Dividich, J., Dubois, S., 1989, Effect of ambient temperature and addition of straw of alfalfa in the diet on energy metabolism in pregnant sow, Livestock Prod Sci., 21, 309.
- SAS, 2000, SAT/STAT Software for PC. Release 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Statistics Korea, 2013, The size of housing and a head by livestock and provinces.
- Song, Y. M., Cho, J. H., Chu, G. M., Kim, H. Y., Lee, J. Y., Kim, S. C., Kim, S. C., 2014, Effects of bamboo powder supplementation on growth performance, blood metabolites and carcass characteristics of fattening pigs and gas emission and microbial populations in pig manure, J Environ Sci. Int., 23, 1429-1436.