

## 익생균으로 발효시킨 닭배설물우림액에서 *Chlorella vulgaris* YH703의 생물질생산특성

윤철진, 황금옥

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《우리 나라에 없는 원료와 연료를 다른것으로 대용하기 위한 과학기술적문제도 풀어야 하겠습니다.》(《김정일선집》 증보판 제11권 135페이지)

오수는 영양이 풍부하고 자원이 많은것으로 하여 미세조류배양을 위한 값죽은 영양원천으로 리용되고있다.[7, 12]

집짐승배설물을 자연발효시켜 미세조류가 흡수리용할수 있는 형태의 질소와 가동성린 함량을 높이고 오염도 줄이며 보다 중요하게는 발효과정에 생성되는 유기산을 탄소원으로 효과적으로 리용함으로써 미세조류의 생물질생산성을 높이기 위한 연구들[2, 5, 9-11, 13, 14]이 진행되고있다. 그러나 아직까지 익생균을 리용하여 집짐승배설물을 인공적으로 발효시켜 그것의 영양학적가치를 높여 미세조류배양에 리용한 연구자료는 거의나 발표된것이 없다.

우리는 익생균으로 발효시킨 닭배설물우림액의 영양학적특성을 고찰하고 이 우림액에서 민물미세조류 *C. vulgaris* YH703을 배양하면서 그것의 생물질생산특성을 분석평가하였다.

### 재료와 방법

#### 1) 연구에 리용된 익생균과 그 특성

익생균은 전문연구소에 등록된 표준균그루들가운데서 소화관병원균에 대한 길항작용이 세고 산 및 열물견딜성, 장점막모형에 대한 부착성이 높은 3개의 균그루들인 *Lactobacillus helveticus* 1604, *Lac. delbrueckii* 1603, *Pseudomonas fluorescens* 1656을 선발하여 제조한 복합균으로서 현재 가금분야에서 생균제제로 널리 리용[1]되고있다.

#### 2) 닭배설물의 처리와 영양성분분석

6~7월에 채집한 마른 닭배설물 400g을 물 10L와 잘 섞은 후 하루에 3번 저어주면서 호기적조건에서 48h(온도 30~35°C)동안 우려낸 다음 상청액을 《와트만 4》러지로 려과하고 얻어진 누른밤색의 려액(원액)을 영양성분분석에 리용하였다.

닭배설물의 자연발효는 우와 같은 조건에서 혐기적조건을 보장해주면서 진행하였다.

익생균에 의한 닭배설물의 발효는 마른 닭배설물 400g에 물 9.5L, 익생균액체배양액 0.5L(총액량의 5% 되게 접종)를 넣고 잘 혼합한 다음 30~35°C의 조건에서 48h(우림액속의 전질소와 린함량이 최대로 되는 시간)동안 혐기적발효시키는 방법으로 진행하였으며 상청액을 《와트만 4》러지로 려과하여 얻어진 누른밤색의 려액(원액)을 영양성분분석과 조류배양에 리용하였다.

총질소(TN)함량, 총린(TP)함량, 탄소함량, 화학적산소요구량(COD), pH, 기타 나머지원소들의 함량은 선행연구[4]의 표준방법에 따라 《Hach DR5000》스펙트르측정기로 분석하였다. 초산 및 젖산농도는 선행방법[15]에 따라 기체크로마토그래프(Agilent 7820A)로 측정하였다.

### 3) 미세조류종과 배양방법

실험에 리용된 미세조류는 우리 나라에서 분리한 토착종 민물미세조류인 *Chlorella vulgaris* YH703[6]이다. *Chlorella vulgaris*는 기름생산성과 오수정화능력이 높아 세계적으로 생물디젤유생산과 오수정화에 광범히 리용되고있는 종이다.

각이한 농도로 희석(3, 5, 7, 10, 15, 20배)한 닭배설물우림액이 들어있는 시험구에 *C. vulgaris* YH703(세포밀도  $3 \times 10^7$ 개/mL)을 20% 되게 접종하고 25~30℃, 자연빛조건에서 매일 3번 흔들어주면서 8일동안 배양하였다. *C. vulgaris* YH703의 배양특성은 분광광도계 《DV730》를 리용하여 680nm에서 배양액의 흡광도를 일별로 측정하는 방법으로 평가하였다.

모든 시험은 3반복으로 진행하였다.

### 4) 세포마른질량(DCW)과 생물질생산성(BP)결정

DCW는 배양물을 5 000r/min에서 10min동안 원심분리하고 증류수로 세척한 다음 동결건조하여 측정하였다. 생물질생산성은

$$P = (X_2 - X_1) / (t_2 - t_1)$$

에 의하여 계산하였다. 여기서  $P$ 는 생물질생산성(mg/(L·d)),  $X_2$ ,  $X_1$ 은  $t_2$ ,  $t_1$ 시각의 마른질량(mg/L)이다.

### 5) 통계분석

시험값들은 통계처리프로그램 Infostat Software Package(2012)를 리용하여 처리하였으며 시험구들사이의 차이는 분산분석(ANOVA)을 진행하여 평가하였다. 유의수준  $p < 0.05$ 로 하여 시험값들을 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 1) 의생균으로 발효시킨 닭배설물우림액의 영양성분함량

일반적으로 닭은 먹이가 소화관에 머무르는 시간이 다른 동물에 비하여 훨씬 짧고 소화흡수율이 낮으며 짧은 시간에 배설하기때문에 배설물속에는 소화흡수되지 못한 영양물질들이 많이 포함되어있다. 물론 닭의 종류와 나이, 먹이조성과 주는 량, 계절에 따라 닭배설물의 영양성분에서 일정한 차이는 있지만 총체적으로는 영양학적가치가 높고 자원이 풍부하여 미세조류배양을 위한 값죽은 영양원으로 많이 연구, 리용[10]되고있다.

먼저 닭배설물우림액속에 들어있는 주요영양원소들의 함량을 분석하였다.(표 1)

표 1에서 보는바와 같이 닭배설물우림액속에는 미세조류의 성장에 필수적인 다량원소와 미량원소들이 적지 않게 풀려있지만 담수자원의 부영양화를 촉진하는 기본인자들인 질소와 린이 고형물속에 많이 남아있어 유기질비료로 리용되는 경우 영양원소들이 과잉축적되어 물자원의 2차오염을 일으킬수 있다.[3, 8]

표 1. 닭배설물우림액속의 주요영양원소함량

영양원소	함량/(mg·L <sup>-1</sup> )	영양원소	함량/(mg·L <sup>-1</sup> )
탄소(C)	165.4±7.9	규소(SiO <sub>2</sub> )	43.5±1.8
총질소(TN)	279.3±14.1	철(Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	36.2±1.2
총린(TP)	130.8±6.4	동(CuO)	27.3±0.9
칼리움(K <sub>2</sub> O)	90.4±2.6	마그네시움(MgO)	35.6±1.5

pH 7.4±0.3

이로부터 혐기적조건에서 자연발효시키는 방법으로 배설물속에 들어있는 질소와 린, 유기탄소원을 비롯한 영양원들을 보다 효율적으로 동원리용하기 위한 연구들[5, 13]이 진행되고 있다. 그러나 자연발효는 배설물속에 들어있는 혐기성세균에

의하여 자연발생적으로 진행되는것이므로 영양원의 재리용과 경쟁미생물억제 등 여러 측면에서 충분한 효과를 기대할수 없는 결함을 가지고있다.

따라서 우리는 여러가지 항생소와 리조짐, 유기산을 생성하며 병원성미생물에 대한 억제능력이 강하여 가금분야에서 미생물생균제제로 많이 리용되고있는 익생균으로 닭배설물을 발효시키고 주요영양원소들의 함량을 분석하였다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 익생균으로 발효시킨 우림액에서는 자연발효시킨 시험구에 비하여 탄소와 질소, 린함량이 각각 1.8, 2.1, 2.9배, COD는 1.3배, 유기산함량은 약 1.5배 높아졌으며 배설물냄새도 없어졌다. 이것은 익생균이 만들어내는 각종 효소들의 작용으로 유기물속에 결합되어있던 질소와 린이 분해되어 물풀림성물질로 전환되고 여러가지 항생소와 리조짐, 젖산이나 초산과 같은 항균물질들이 생성되면서 다른 미생물들의 성장이 억제되었다는것을 보여준다.

닭배설물을 미세조류배양기질로 리용할 때 자연발효시키는것보다 익생균으로 2일간 발효시키면 우림액의 영양학적가치가 높아져 영양원리용효률을 더 높일수 있다.

## 2) 익생균으로 발효시킨 닭배설물우림액에서 *C. vulgaris* YH703의 배양특성

미세조류는 빛합성을 하면서 자라기때문에 배양액의 투명도는 조류의 성장에 큰 영향을 미친다.

닭배설물우림액은 짙은밤색을 띠는데다가 또 영양원들의 농도도 높으므로 원액을 그대로 리용하면 조류의 성장속도가 떠질수 있다. 따라서 익생균처리한 닭배설물우림액을 각이한 농도로 희석하고 *C. vulgaris* YH703을 배양하면서 증식특성을 관찰하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 대조구(원액)와 3, 5배 시험구를 제외한 모든 시험구들에서 배양 4~6일만에 조류생물량을 반영하는 흡광도값이 최대로 되었다. 특히 10배 희석한 시험구에서 5일만에 제일 높은 흡광도값을 나타냈는데 이것은 이 시기에 생물질량이 최대값에 도달했다는것을 의미한다. 7배 희석한 시험구에서는 6일만에 최대값에 도달했는데 이것은 배양액의 색이 누른색을 띠었으므로 빛합성이 충분히 진행되지 못하여 미세조류의 초기생육이 저해된데 있다. 대조구와 3배 희석한 시험구에서 조류가 전혀 자라지 못한것은 영양원의 농도가 너무 높고 배양액의 색이 너무 진하여 빛투과률이 떨어진데다가 pH(4.8~5.4, 표 3)가 조류의 성장에 불리한 산성을 띠고있는데 기본원인이 있다고 본다. 따라서 익생균으로 발효시킨 배설물을 조류배양원으로 리용할 때에는 배양액의 pH

표 2. 발효된 닭배설물우림액속의 주요영양원소함량

측정지표	함량/(mg·L <sup>-1</sup> )	
	시험구 1	시험구 2
탄소(C)	856.3±39.8	1 541.9±55.3
총질소(TN)	1 357.2±68.3	2 895.6±137.8
총린(TP)	187.6±6.8	546.4±23.5
COD	1 036.4±47.2	1 346.8±47.3
유기산	젖산	486.3±22.7
	초산	778.5±23.4
pH	178.4±8.5	249.9±11.7
	6.2±0.3	4.8±0.3

시험구 1은 자연발효(온도 30~35℃, 48h)시킨 닭배설물우림액, 시험구 2는 익생균으로 발효(온도 30~35℃, 48h)시킨 닭배설물우림액

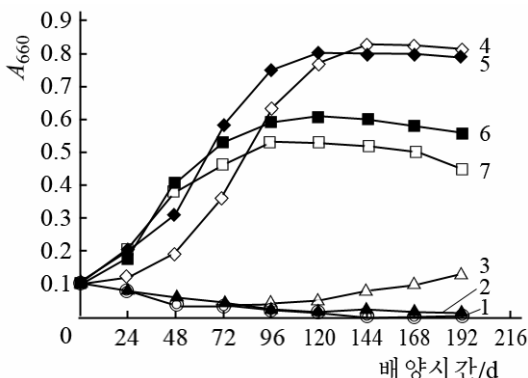


그림 1. *C. vulgaris* YH703의 성장에 미치는 희석배수의 영향

1-대조, 2-7은 희석배수가 각각 3, 5, 7, 10, 15, 20배인 경우

에 관심을 돌려야 한다. 그러나 이것은 배양을 처음 시작할 때뿐이고 클로렐라를 비롯하여 많은 조류들을 배양할 때 배양액의 pH가 알카리(pH 8~9)쪽으로 기울어져 pH를 떨어 주어야 하는 문제가 제기되는 조건에서 배설물을 익생균발효시켜 리용하는것은 영양원 보장과 pH조절문제를 동시에 해결할수 있는 좋은 방도라고 생각한다.

표 3. 희석배수에 따른 배양액의 pH

희석배수/배	0(대조)	3	5	7	10	15	20
pH	4.8±0.3	5.4±0.2	5.9±0.2	6.7±0.1	7.2±0.2	7.3±0.1	7.3±0.1

시험구별로 조류의 생장이 최대가 되었을 때의 생물질생산성을 측정하였다.(그림 2)

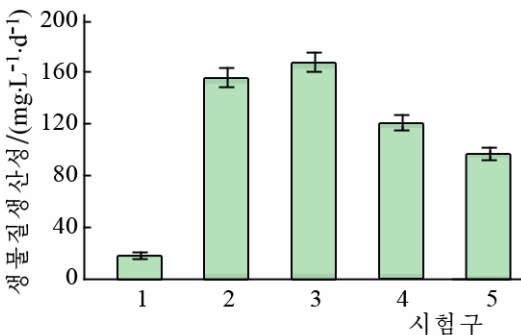


그림 2. 각이한 희석액에서 배양한

*C. vulgaris* YH703의 생물질생산성

1-5는 희석배수가 각각 5, 7, 10, 15, 20배일 때

그림 2에서 보는바와 같이 7, 10배 희석액에서 생물질생산성은 각각 157.2, 168.5mg/(L·d)로서 제일 높았으며 유의성검정결과 두 시험구사이에 유의한 차이가 인정되지 않았다. 15, 20배로 희석한 시험구에서 생물질생산성이 떨어졌는데 그것은 배설물이 너무 희석되어 조류성장에 필요한 영양원이 충분히 보장되지 못한다에 있다고 본다.

10배 희석액(영양원리용량의 견지에서 희석배수를 10배로 정함.)에서 생물질생산성이 제일 높았으므로 익생균을 넣어 발효시켰을 때와 똑같은 조건에서 자연발효시킨 닭배설물을 10배로 희석하고 5일동안 *C. vulgaris* YH703을 배양하면서 생물질생산성을 대비평가하였다.(표 4)

표 4에서 보는바와 같이 같은 량의 배설물을 가지고 만든 우림액이지만 발효시켜 리용하면 생물질생산성이 훨씬 높아진다.

생물질생산성은 배설물우림액에 비하여 자연발효시킨 시험구에서 약 1.4배, 익생균으로 발효시킨 시험구에서 약 1.9배 높아졌다. 발효시험구들에서 대조구에서보다 생물질

표 4. 자연발효액과 익생균발효액에서 *C. vulgaris* YH703의 생물질생산성

시험구	세포마른질량 (/mg·L <sup>-1</sup> )	생물질생산성 (/mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	상대비율 /%
배설물우림액	433.5±18.7	86.7	100
자연발효우림액	602.0±26.4	120.4	138.9
익생균발효우림액	844.0±41.5	168.5	194.1

생산성이 높아진것은 고형물속에 남아있던 유기태질소나 린을 비롯한 영양원소들이 발효세균들이 내보내는 각종 효소들에 의하여 분해되어 조류가 리용할수 있는 형태로 전환된 데 있으며 또 발효과정에 초산이나 젖산과 같은 유기산들이 생성되어 탄소원으로 리용된 데 있다. 익생균으로 발효시킨 시험구에서 자연발효시킨 시험구에서보다 생물질생산성이 1.4배 더 높아졌는데 그것은 병원균에 대한 높은 길항작용과 유기산생성능력, 린가동화능력이 높은 세가지 복합균을 인위적으로 넣어줌으로써 발효가 촉진되고 영양원리용효률이 보다 더 높아진데 있다고 생각한다.

이와 같이 익생균을 리용하여 집집승배설물을 발효시키면 병원균과 불필요한 미생물들의 증식을 억제하여 오염을 줄이고 유효영양성분들의 함량을 높여 미세조류배양에 보다 유리한 환경을 마련할수 있다.

## 맺 는 말

1) 닭배설물을 익생균으로 2일간 발효시키면 자연발효에 비하여 우림액속의 탄소, 질소함량은 1.8, 2.1배, 린함량은 2.9배로 높아진다.

2) 익생균으로 발효시킨 닭배설물우림액에서 *C. vulgaris*를 배양하면 생물질생산성(168.5mg/(L·d))이 자연발효(120.4mg/(L·d))에 비하여 1.4배 더 높아진다.

## 참 고 문 헌

- [1] 리창호; 생물학, 3, 43, 주체100(2011).
- [2] A. A. Pedroso et al.; Int. J. Environ. Res., 10, 4534, 2013.
- [3] Alessandra Otondo et al.; Journal of Environmental Chemical Engineering, 6, 3213, 2018.
- [4] Apha A. W. E. F.; Standard Methods for the Examination of Waters and Wastewaters, Washington, DC, 50~78, 2005.
- [5] Bing Hu et al.; Applied Energy, 107, 255, 2013.
- [6] Chol-Jin Yun et al.; Biomass and Bioenergy, 127, 232, 2013.
- [7] Giulia Samor et al.; Water Research, 47, 791, 2013.
- [8] Guanyi Chen et al.; Applied Energy, 137, 282, 2015.
- [9] Jongmin Park et al.; Bioresource Technology, 101, 8649, 2010.
- [10] Manjinder Singh et al.; Bioresource Technology, 102, 10841, 2011.
- [11] Nidhin Sreekumar et al.; Chinese Journal of Chemical Engineering, 26, 175, 2018.
- [12] J. K. Pittman et al.; Bioresource Technology, 102, 1, 17, 2011.
- [13] L. Wang et al.; Bioresour. Technol., 101, 8, 2623, 2011.
- [14] Zhenzhen Su et al.; Aquaculture, 450, 17, 2016.
- [15] W. Zhou et al.; Appl. Energy, 98, 433, 2012.

주체109(2020)년 7월 5일 원고접수

## **Biomass Production Characteristics of *Chlorella vulgaris* YH703 Cultivated in Poultry Litter Pre-Digested by Probiotics**

*Yun Chol Jin, Hwang Kum Ok*

The total amount of carbon, nitrogen and phosphorus in the extracts of poultry litter pre-digested by probiotics for 2 days were increased by 1.8, 2.1 and 2.9 times respectively compared to those in the extracts of anaerobically digested poultry litter. The biomass productivity and lipid content of *Chlorella vulgaris* YH703 in these extracts were increased by 1.4 and 1.15 times respectively compared to when using poultry litter anareobically digested, while 90% or more of N, P in these extracts were removed during the cultivation of 7~8 days.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, biofuel, poultry litter, probiotics, digestion, eutrophication