

몇가지 기질전처리미생물을 리용한 저온메탄발효효과

문혜경, 김동률

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《풍력과 조수력, 생물질과 태양에너지에 의한 전력생산을 늘이며 자연에너지의 리용범위를 계속 확대하여야 합니다.》

겨울철과 같은 낮은 온도조건에서 메탄가스의 생산을 정상화하는것은 생물질에너지의 리용범위를 확대하는데서 큰 의의가 있다.

세계적으로 보다 합리적인 메탄발효공정 및 미생물을 리용한 저온메탄발효에 대한 연구[1, 2, 4, 5, 7, 8]가 활발하게 진행되는 속에 우리 나라에서도 저온성 유기질분해미생물을 분리하여 메탄발효에 적용하기 위한 연구[2, 3]가 진행되고있지만 혐유소분해세균을 리용한 자료는 알려진것이 없다.

우리는 혐유소분해활성이 높은 *Bacillus velezensis*[6]를 저온성 유기질분해미생물과 복합하여 기질전처리에 리용함으로써 낮은 온도에서의 메탄발효효과를 높이기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

실험에서는 메탄발효용기질전처리균그루로서 혐유소분해활성이 높은 *Bacillus velezensis* 2383, 농마분해활성이 높은 저온성 유기질분해미생물 *Aeromonas salmonicida* 1750, 단백질분해활성이 높은 저온성 유기질분해미생물 *Chryseobacterium gregarium* 1780, 유기태린분해활성이 높은 저온성 유기질분해미생물 *Pseudomonas mandelii* 1742, *Pseudomonas baetica* 1748을 리용하였다. 또한 메탄발효효과의 검토를 위하여 밀폐식비닐병과 점적관, 20mL 주사기를 리용하여 메탄발효과정에 발생하는 가스를 포집하고 가스의 량과 연소정도를 평가할수 있게 혐기성메탄발효장치를 제작하여 리용하였다.

선행방법[2]에 따라 기질전처리균그루들의 길항성을 검토한데 기초하여 두부순물에서 48h동안 진탕배양(180r/min, 15°C, 균수 10^9 CFU/mL)한 기질전처리균들의 배양액을 각이한 혼합비율로 섞어 각이한 접종량으로 메탄발효원료에 처리한 다음 메탄가스가 생성되고있는 메탄발효종균액을 20% 접종한 후 8~10°C에서 50일동안 발효시키면서 하루메탄가스생성량, 메탄함량, 총휘발산함량, 초산함량, pH 등을 조사[1, 7, 8]하는 방법으로 기질전처리미생물들의 효과를 검토하였다.

결과 및 논의

메탄발효에 리용되는 균종들사이의 길항성검토실험을 진행한 결과는 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 기질전처리에 리용한 모든 균종들사이에 길항관계가 나타나지 않았다. 이로부터 선발한 미생물들을 혼합하여 메탄발효에 리용할수 있다는것을 확인하였다.

표 1. 기질전처리미생물들사이의 길항관계

균 그루번호	<i>A. salmonicida</i> 1750	<i>C. gregarium</i> 1780	<i>P. mandelii</i> 1742	<i>P. baetica</i> 1748
<i>A. salmonicida</i> 1750		—	—	—
<i>C. gregarium</i> 1780	—		—	—
<i>P. mandelii</i> 1742	—	—		—
<i>P. baetica</i> 1748	—	—	—	
<i>B. velezensis</i> 2383	—	—	—	—

배양온도 25°C, 배양시간 48h, R2A배지, —: 길항관계 없음

다음 저온성유기질분해미생물들인 *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748의 배양액을 각각 1:1:1:1, 2:1:1:1, 1:2:1:1, 1:1:2:1, 1:1:1:2의 비율로 혼합하여 혼합비율에 따르는 가스생성량과 CH₄함량, 시동시간, 총취발산함량, 초산함량, 최종pH를 측정하였다.(표 2)

표 2. 저온성유기질분해미생물들의 각이한 혼합비율에 따르는 메탄발효효과

조사지표	대조	단독처리구				혼합처리구(Γ:ℓ:ㄷ:ㄹ)				
		Γ	ℓ	ㄷ	ㄹ	1:1:1:1	2:1:1:1	1:2:1:1	1:1:2:1	1:1:1:2
하루평균가스생성량 (mL·(L·d) ⁻¹)	3±1	60±2	40±1	50±2	40±3	138±3	154±2	149±2	138±3	137±2
CH ₄ 함량/%	—	27	25	28	30	49	64	57	51	53
시동시간/d	23	28	26	29	32	15	10	11	14	16
총취발산함량/(×10 ⁻⁴ %)	137.2	639.4	628.3	618.8	598.9	872.9	1398.6	1258.7	968.2	893.7
초산함량/(×10 ⁻⁴ %)	68.4	312.7	285.8	294.1	284.7	406.8	674.5	589.7	427.9	398.3
최종pH	5	7	7	7	7	7	7	7	7	7

발효온도 8°C, 접종량 0.05%, 발효원료 소배설물(TS 5%), 발효체적 1L, 발효기일 50d, $p<0.05$, $n=3$, Γ: *A. salmonicida* 1750, ℓ: *C. gregarium* 1780, ㄷ: *P. mandelii* 1742, ㄹ: *P. baetica* 1748, 대조는 균처리를 하지 않은 구

표 2에서 보는바와 같이 저온성유기질분해미생물들을 단독으로 접종한 구들에서는 시동시간이 길고 메탄가스생성량이 혼합접종한 구들에 비하여 훨씬 낮았다. 이것은 저온성유기질분해미생물들이 단독으로는 메탄생성균에 필요한 영양기질을 고르게 보장하지 못하고 서로 복합되어야 고분자유기물질을 빨리 분해하여 메탄생성균에 필요한 기질을 충분히 보장해주기때문이라고 볼수 있다.

한편 *A. salmonicida* 1750과 *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748균배양액을 2:1:1:1로 혼합하였을 때 메탄발효시동시간이 10일로서 제일 빨랐으며 하루평균가스생성량도 154mL/L로서 다른 시험구들에 비하여 훨씬 높았다. 이것은 농마분해능이 높은 *A. salmonicida* 1750의 미생물수가 많을수록 발효과정에 단당류와 두당류를 비롯한 올리고당함량이 늘어나고 그에 따라 유기산생성균의 증식이 활발해져 메탄생성균들의 기질로 되는 유기산이 많이 생기는것과 관련된다고 볼수 있다.

선행자료[5]에 의하면 저온메탄발효에서 호렐성미생물무리의 주되는 대사산물은 초산이며 추운 지역에서는 62~72%의 메탄이 초산분해에 의하여 생성되고 나머지 메탄은 H₂과 CO₂에 의하여 생성된다. 우의 실험에서는 균배양액의 혼합비율을 2:1:1:1로 할 때 초산함량이 제일 높았으며 이로부터 메탄발효효과가 제일 좋다고 볼수 있다.

저온성유기질분해미생물들을 각이한 비율로 혼합하였을 때 총고형물농도(TS)의 변화를 조사한 결과는 표 3과 같다.

표 3. 저온성유기질분해미생물들의 각이한 혼합비율에 따르는 총고형물농도(%)의 변화

구분	배양기일/d					
	0	3	15	25	35	45
대조	5	5	5	5	4.9	4.9
단독처리구	Г	5	5	4.9	4.3	3.6
	Л	5	5	4.8	4.0	3.1
	Г	5	5	4.7	4.1	3.5
	Г	5	5	4.8	4.2	3.1
	1:1:1:1	5	5	4.8	4.2	2.8
혼합처리구 (A:B:C:D)	2:1:1:1	5	5	4.2	3.4	2.2
	1:2:1:1	5	5	4.3	3.6	2.3
	1:1:2:1	5	5	4.7	4.3	2.9
	1:1:1:2	5	5	4.9	4	2.7

발효온도 8℃, 발효원료 소배설물, Г, Л, Г, Г는 표 2에서와 같음, 대조는 균처리를 하지 않은 구

표 3에서 보는바와 같이 발효를 시작하지 15일후부터 총고형물농도에서 변화가 생기기 시작하였는데 대조구에서는 크게 차이가 없지만 시험구에서는 총고형물농도가 많이 줄어들었다. 특히 *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748의 배양액을 2:1:1:1의 비율로 혼합하여 처리하였을 때 변화가 제일 뚜렷하였다. 이것은 *A. salmonicida* 1750의 유기질분해활성이 높고 균증식속도가 빠른것과 관련된다고 본다.

이에 기초하여 혐유소분해세균인 *B. velezensis* 2383을 *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748균배양액의 2:1:1:1비율혼합균액속에 각각 1:2:1:1:1, 2:2:1:1:1, 3:2:1:1:1의 비율이 되게 첨가하여 우와 같은 방법으로 메탄발효효과를 검토한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 혐유소분해세균과 저온성유기질분해미생물들의 각이한 혼합비율에 따르는 메탄발효효과

조사지표	대조	혼합비율		
		1:2:1:1:1	2:2:1:1:1	3:2:1:1:1
하루평균가스생성량 (mL·(L·d) ⁻¹)	149±3	159±2	164±3	167±1
CH ₄ 함량/%	61	64	66	67
시동시간/d	7	7	7	5
총휘발산함량/(×10 ⁻⁴ %)	1 386.2	1 490.9	1 521.4	1 537.8
초산함량/(×10 ⁻⁴ %)	651.1	696.8	754.5	763.4
최종pH	7	7	7	7

발효온도 10℃, 처리량 0.05%, 발효원료 닭배설물(TS 5%), 발효제적 5L, 발효기일 50d, 대조는 저온성유기질분해미생물들만 처리한 구, p<0.05, n=3

표 4에서 보는바와 같이 혐유소분해활성이 높은 *B. velezensis* 2383을 저온성유기질분해미생물과 혼합하여 적용할 때 10℃의 낮은 온도에서의 메탄발효효과가 그렇지 않은 경우보다 더 높았으며 특히 *B. velezensis* 2383, *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748의 혼합비율을 3:2:1:1:1로 하였을 때 하루평균가스생성량이나 메탄가스의 함량이 제일 많았다. 이것은 메탄발효에서 혐유소분해세균의 역할이 매우 높다는것을 보여준다.

이상의 실험을 통하여 기질전처리미생물들을 3:2:1:1:1의 비율로 혼합하여 리용하는것이 저온메탄발효에 가장 합리적이라는것을 확인하였다.

메탄발효에 적합한 기질전처리미생물배양액의 접종량을 검토하기 위하여 *B. velezensis* 2383, *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748의 배양액들을 각각 3:2:1:1:1의 비율로 섞은 혼합액을 기질에 각각 0.01, 0.05, 0.1, 0.15%의 농도로 처리하고 하루평균가스생성량과 메탄발효시동시간, 가스생성이 정상기에 들어갔을 때의 메탄함량, 초산함량을 측정하였다.(표 5)

표 5. 균접종량에 따르는 메탄발효특성

지 표	균접종량/%			
	0.01	0.05	0.10	0.15
하루평균가스생성량 ($L \cdot (L \cdot d)^{-1}$)	0.04±0.01	0.11±0.03	0.16±0.02	0.17±0.01
메탄함량/%	38	49	54	55
시동시간/d	14	13	8	8
초산함량/($\times 10^{-4}\%$)	1 397	4 216	6 432	6 619

발효온도 10℃, 발효원료 닭배설물+벼짚(배합비율 1:1, TS 5%), 발효기일 50d, $p<0.05$, $n=3$

표 5에서 보는바와 같이 기질전처리미생물혼합배양액의 접종량이 0.10~0.15%일 때 하루평균가스생성량은 0.16~0.17L/L, 메탄함량은 54~56%, 시동시간이 8일로서 효과가 제일 좋았다.

기질전처리미생물의 접종량을 0.10, 0.15%로 하였을 때 하루평균가스생성량과 메탄함량, 메탄발효시동시간에서 유의한 차이가 없었으므로 접종량을 0.10%로 정하였다. 선행연구[8]에서는 10℃조건의 메탄발효시험에서 미생물접종량을 1.8%로 할 때가 가장 좋았는데 그에 비하면 기질전처리미생물의 접종량을 0.1%로 하는것이 대단히 경제적이다.

맺 는 말

기질전처리미생물들인 *B. velezensis* 2383, *A. salmonicida* 1750, *C. gregarium* 1780, *P. mandelii* 1742, *P. baetica* 1748을 3:2:1:1:1의 비율로 혼합하여 원료에 0.1% 처리하고 메탄발효에 리용하면 8~10℃에서 시동시간을 8~10일로, 하루평균메탄가스생성량을 0.16~0.17L/(L·d)로 보장할수 있다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성 종합대학학보(자연과학), 63, 3, 133, 주체106(2017).
- [2] 림동휘 등; 크로마토그래프분석, 김일성종합대학출판사, 317~359, 1996.
- [3] 민정찬 등; 미생물학연구통보, 2, 6, 주체105(2016).
- [4] Xingyao Meng et al.; Bioresource Technology, 241, 1050, 2017.
- [5] R. K. Dhaked et al.; J. Bioresour. Techno., 87, 299, 2003.
- [6] C. A. Dunlap et al.; J. Syst. Evol. Microbiol., 66, 1212, 2016.
- [7] 孔维涛 等; 微生物学通报, 40, 9, 1590, 2013.
- [8] 丁福贵 等; 中国沼气, 32, 2, 36, 2014.

주체109(2020)년 1월 5일 원고접수

Low-Temperature Methane Fermentation Effect by Using Some Microorganisms for the Pre-Treatment on Organic Matter

Mun Hye Gyong, Kim Tong Ryul

By using some microorganisms for the pre-treatment on organic matter, *Bacillus velezensis* 2383, *Aeromonas salmonicida* 1750, *Chryseobacterium gregarium* 1780, *Pseudomonas mandelii* 1742, *P. baetica* 1748, at 8~10°C, the daily average methane production amount could reach 0.16~0.17L/(L·d).

Keywords: methane fermentation, pre-treatment, microorganism