최종연구
보고서

양식장바닥 저질개선을 위한 바이오그래뉼의 대량생산 및 적용

Mass production and application of biogranule for remediation of polluted bottom of aquaculture farm

연구기관

경 상 대 학 교

농림수산식품자료실

0014453

해 양 수 산 부

0732

편집순서 2

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “양식장바닥 저질개선을 위한 바이오 그래뉼의 대량생산 및 적용 ” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 일

주관연구기관명 : 경상대학교
총괄연구책임자 : 강 석 중
연 구 원 : 최 병 대
연 구 원 : 정 태 성

참여기업기관명 : (주)M&&바이오
참여기업책임자 : 이 정 열

편집순서 3

요 약 문

Ⅰ. 제 목

양식장바닥 저질개선을 위한 바이오그래뉼(biogranule)의 대량생산 및 적용

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

양식어장의 환경개선을 위해서는 준설을 하가거나 바닥 저질을 개선하는 것이 가장 효과적인 방법이다. 하지만, 현재로서는 경운방법, 소석회, 황토투입방법, 일부 화학물질 등으로 저질을 개선하고 있으나, 저질정화에 많은 효과를 보지 못하거나, 이들의 사용으로 인한 해양생태계의 악영향에 대한 우려가 고조되고 있다. 이에 본 연구에서는 기존의 수질정화제와는 다른 그 해역에 서식하는 유용해양미생물을 입상화 시킨 바이오그래뉼을 개발하여 해양생태계에는 해를 주지 않는 자연친화적인 방법으로 양식장 바닥의 저질을 개선을 통하여 지속적인 양식생산량을 유지하고자 하는데 그 목적을 둔다. 그 목적을 위하여 바이오그래뉼의 대량생산 방법과 간석지패류인 바지락 양식장과 새우양식장 저질개선에 그것의 이용에 관한 연구까지 포함한다.

2. 연구개발의 중요성

우리나라 패류양식의 경우 해양환경의 악화와 어장바닥의 노화에 의한 것으로 이들의 어장바닥의 저질개선이 시급하다. 간석지패류인 바지락은 지금까지는 제1종 공동어업에서 자연 발생된 치패에서 성장한 성패만을 어촌계 대다수 어민이 참여하여 채취하여 어민의 제1소득원으로 하고 있다. 그러나, 각 해역의 매립간척사업과 연안오염의 증가로 인하여 어장상실 및 오염에 의한 대량폐사가 반복되고 있으므로 이들의 생육환경인 간석지의 저질개선이 시급하다. 패류양식뿐만 아니라, 새우양식에서도 이와 같은 현상이 발생하고 있으므로 연안해역의 전반적인 저질개선이 시급하다.

우리나라는 세계 2위의 수산물 소비국으로 부족한 수산물을 양식생산으로 충당해야하며, 양식산업은 식량안보차원에서 보호 육성되어야 한다. 앞으로의 어떠한 산업도 환경을 오염시키면서 생산만을 기대할 수는 없다. 지금까지의 양식생산 방식은 자연을 희생한 대가로 생산물을 얻었으나, 앞으로는 환경을 유지 시키면서 지속적인 생산량을 유지해나가는 방식으로 전환하지 않으면 안된다. 21세기 세계무역시장의 쟁점이 될 환경친화적인 양식산업으로 육성하기 위해서는 지금 오염이 심화된 연안해역의 양식장 바닥의 저질개선을 서둘러야 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 자연친화형 저질정화 미생물 대량생산의 최적화

1) 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리
2) 유용 유산균의 분리
3) 광합성 세균의 분리
4) 분리균주의 내염성 측정
5) 분리균주를 이용한 바이오그래뉼 제조
   (1)코팅제에 따른 미생물 활력측정
   (2)점착제 종류별 침강도의 측정
   (3)그래그래뉼화 시간에 따른 침강도 측정

2. 바이오그래뉼의 효과규명 및 현장적용실험

1) 바이오그래뉼을 이용한 새우양식장 현장실험
   (1)대상양식장의 선정
   (2)대하의 성장과 생산량
2) 바이오그래뉼을 이용한 바지락양식장 현장실험
   (1)바지락양식장의 선정
   (2)바지락 성장도
   (3)바지락 생산량

3.양식대상종별(대하) 생리・생화학적 특성분석

1)대상양식생물의 생리・생화학적 분석
   (1)일반성분
   (2)지질(lipid) 및 cholesterol 함량
   (3)지방산조성(fatty acid composition)

Ⅳ. 연구개발결과

1 . 연구개발 결과

1) 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리

공시 균주는 경남, 전남, 충남 연안의 저질에서 분리 한 450여종의 균주에서 활력이 뛰어나고 성장 속도가 빠른 유용미생물 균주 11종을 최종 선별하였으며, 각 선택된 균주별 종류는 *Bacillus* sp. 5종, *Streptomyces* sp. 4종, *Cellulomonas* sp. 1종, *Saccharomyces* sp. 1종이었다.

2) 유용 유산균의 분리

48개의 coclony 중 젖산생성능력이 뛰어난 균주 *Lactobacillus* sp. ML-101. 1종을 본 연구의 공시균주로 사용하였으며 본 균주의 젖산 생산 능력은 Skim milk powder 13%, Glucose 3%배지에서 30℃ 24시간 배양으로 1.8%정도로 상당히 높은 수준을 나타냈다.

3) 광합성 세균의 분리

연안 갯벌의 퇴적물에서 분리한 21개의 colony 중 성장속도가 빠르고, 황화수소 및 암모니아의 분해력이 뛰어난 균주 *Rhodobacter* sp. 2종을 본 연구의 공시균주로 사용하였다.

특히, *Rhodobacter* sp. MR-101 균주는 해수에서 암모니아 분해능력 (12 ppm/hr)과 황화수소 분해능력 (11 ppm/hr)이 뛰어나, 분리·동정을 실시하였다. 그 결과 *Rhodobacter sphaeroides*로 판명되어 *Rhodobacter sphaeroides* M102로 명명하여 최종 특허 균주로 등록하였다.

4) 분리균주의 내염성 측정

분리된 균주의 내염성 측정결과는 표8.에서와 같이 모든 균주에서 4%의 염농도까지 정상적으로 성장하였으며, 6%까지도 50%정도의 성장을 보여 내염성이 뛰어난 것으로 나타났다.

5) 분리균주를 이용한 바이오그래뉼 제조

(1) 코팅제에 따른 미생물 활력측정

미생물의 활력유지를 위한 방법으로 배양된 미생물을 코팅하기위한 코팅재료로서 2종의 물질을 사용하여 코팅한 결과 가장 양호한 미생물의 코팅제로는 코팅제 maltodextrin 40%, gelatine 60%의 혼합제제가 가장 양호한 것으로 나타났다.

(2) 점착제 종류별 침강도의 측정

미생물생육에 필요한 영양분이 함유된 침강제를 수심 20m 이하의 저층까지 도달시키기

위한 점착제의 개발을 위하여 총 6종의 점착제별 침강도를 측정한 결과, maltodextrin 40%, gelatine 60%의 비율로 사용한 혼합제제에서 미생물 활력은 7일 후 99%를 유지한 후 30일 후에도 93%의 높은 활성을 나타내었다.

코팅제 maltodextrin 100%를 사용했을때는 30 일후 미생물 활성이 65%, gelatine 100%를 사용했을 때는 78%의 활성을 나타내었다. 두 재료의 혼합비율에 따른 미생물 활성 측정에서는 maltodextrin 40%와 gelatine 60%의 혼합 비율이 가장 양호한 미생물의 코팅제로 측정되었다.

(3) 그래뉼화 시간에 따른 침강도 측정

코팅제, 점착제 및 침강제를 이용하여 제조되는 그래뉼의 강도조정을 위하여 그래뉼화 기계에서의 그래뉼 시간별 침강도를 측정한 결과, 30분의 그래뉼이 적절한 침강도를 보였으며, 50분 이상의 그래뉼은 강도가 너무강하여 저층바닥에 도달 후 분산도가 많이 떨어지는 현상이 나타났으며, 상업적 측면에서는 소요시간이 길어 대량생산시 불리한 것으로 나타났다.

이상의 실험결과에 의하여 수심 20m의 침강도를 가지며, 90일 이상 상온 보존시 미생물의 활력이 80%이상 유지되는 그래뉼형태의 저질개선용 미생물제재를 개발하였으며 이 미생물 제재를 M-1001이라 명명하였다.

2. 바이오그래뉼의 효과규명 및 현장적용실험

1) 바이오그래뉼을 이용한 새우양식장 현장실험

(1)대상양식장의 선정

현장실험 장소는 충남 당진군 신평면 거산리 C씨 소유 새우양식장으로 각각의 면적은 12,000평으로 대조구와 실험구로 나누어 실험하였다. 치하 방류량은 150만미/12,000평 기준으로 실시하였다.

(2)대하의 성장과 생산량

대조구에서는 19톤을 생산하였으나, 실험구에서는 25톤을 생산하여 현저한 생산량 증가를 나타냈다. 이 때 실험구에서는 대조구에 비하여 연중 안정적인 수질상태를 나타냈다.

2) 바이오그래뉼을 이용한 바지락양식장 현장실험

(1) 바지락양식의 선정

현장실험에 활용한 바지락양식장은 경남 남해군 강진만 해역내 위치한 마을어장이다. 실험해역은 대조시 노출시간이 4-6시간이며, 소조시 노출시간은 1-2시간으로 간조시 실험구 하단 가장자리로부터 20 m까지 노출되는 전통적으로 바지락 양식을 많이 하는 간석지였다.

(2)바지락 성장도

실험구와 대조구의 바지락 육중량은 2004년 5월 살포당시 평균 2.30 g/개체였으며, 7-9월에는 실험구와 대조구 2.4-2.53 g이었다. 그후 수온 하강기에 접어들면서 오히려 육중량이 감

소하였다. 수온이 상승하기 시작하는 다음해 2월부터 육중량이 증가하기는 하였으며 2005년 4월에는 실험구 2.53 g, 대조구 2.40 g 으로 나타났다.

(3)바지락 생산량

2004년 5월부터 2005년 4월까지 4반복으로 설정한 대실험구 (10 m × 10 m)와 대조구 (10 m × 10 m)의 바지락 최종생산량은 Fig. 34에 나타내었다. 실험구와 대조구의 살포시 각장은 31.7 cm 였으며 2005. 4월 채취시 실험구 평균 36.3 ± 0.29 cm, 대조구 평균 36.2 ± 0.44 cm로 성장차이는 없었다. 2004년 5월 살포시 중량은 6.0 g, 채취시 실험구 평균 10.8 ± 0.30 g, 대조구 평균 10.2 ± 0.41 g으로 실험구가 대조구에 비해 더 높은 생존율로 인한 높은 생산량을 나타내었다.

3.양식대상종별(대하) 생리・생화학적 특성분석

1) 일반성분

일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 양 시료간에 큰 차이는 없었으며, 단백질 및 지질의 함량은 처리구가 높았고, 에너지 값은 대조구가 91kcal, 처리구가 98kcal로 계산되었다.

Table 1. Proximate composition (%) of prawn muscle

Sample	Moisture	Protein	Lipids	Ash	Energy(kcal)
Control	76.9	20.5	1.0	1.6	91
Treatment	75.9	21.2	1.5	1.4	98

2) 지질 및 cholesterol 함량

대하의 총 지질(TL), 인지질(PL), 중성지질(NL) 및 총 콜레스테롤 함량은 표 2.와 같다.. 대조구와 처리구 사이의 총 지질 함량에는 변화가 없었으나, 처리구의 인지질 함량은 90.5%를 차지하였으며, 중성지질 함량은 9.7%로 나타났다. 대조구의 인지질 함량은 88.0%이고, 중성지질의 함량은 12.0%로 처리구의 인지질 함량이 높았다.

Table 2. Lipid and cholesterol content of prawn muscle

(mg/100g tissue)

Sample	Lipid			Cholesterol
	TL	PL	NL	
Control	1024	901	123	190
Treat	1541	1392	149	150

3) 지방산조성

대하로부터 총 지질(TL)을 추출하고 이를 극성(PL) 및 비극성(NL) 지질로 분획 한 후의 지방산조성 변화를 관찰한 결과 대조구와 실험구간에 큰 차이는 없었으나, 불포화지방산의 함량이 대조구에 비하여 높은 값을 보여주어 처리에 따른 지질대사의 원활함을 나타내는 것으로 여겨진다.

Ⅴ. 연구개발결과의 활용계획

1) 바이오그래듈에 의한 바지락 양식장의 저질개선에 의한 생산력 회복으로 바지락생산량을 증대시킬 계획이며 어류양식장에 대해서도 어장정화효과에 대한 홍보를 강화하여 어장정화개선을 보다 적극적이고 환경친화적인 방법 중의 하나로 활용할 수 있다.

2) 또한 실험결과를 활용하여 정부부문에서 추진하고 있는 어장정화사업에서도 본 방법을 도입하여 환경친화적인 바다정화사업에도 효율적으로 활용할 수 있다.

3) 본 제품의 새우양식장에 적용하므로서 지금까지 대량폐사를 일으키고 장기노화에 의한 생산력의 감소 양식장에 획기적으로 생산성을 증대시킬 수 있는 방안으로 제시할 것이며, 본 제품의 사용으로 보다 나은 환경친화형 고품질의 생산에 활용할 수 있을 것이다.

편집순서 4

S U M M A R Y

Ⅰ. Subject

Mass production and application of biogranule to improve the low quality of bottom of fishery farm

Ⅱ. Purpose and importance of the research and development (R & D)

1. Purpose of the R & D

Dredging or the improvement of the low quality bottom of fishery farm are the most effective method to facilitate the environmental improvement. However, currently the lower quality is being improved by cultivating method, limestone, clay pouring, and partial chemical compound but is not effective or rather there occur more concerns for worsening the bad effects on ocean biology. Therefore, the purpose of this research is to maintain the amount of constant farming production through the improvement of lower quality bottom of farms by developing biogranule that makes useful ocean microorganism living in the ocean area as grains apart from the existing water purifying materials. To accomplish the purpose, this research includes mass production method of biogranule as well as its utilization for the improvement of lower quality of farms of Manila clam and shrimp.

2. Importance of the R & D

In case of shellfish farms in our country, the improvement of lower quality bottom of fishing ground due to the deterioration of ocean environment and aging of the bottoms of the ground is urgent. Manila clam which is a tideland shellfish is the number one source of income for fishermen as most fishermen are participating in collecting grown shellfishs from seed shellfishs generated

naturally in the class 1 common fishery industry until now. However, since mass dying of shellfishs is repeated because of loss of fishery area and contamination by land reclamation by drainage and increased coastal contamination of each ocean area, it is urgent to improve the lowe quality of the tideland which is the environment for the growth of shellfishs. In addition, as the same phenomena are taking place in shrimp farms, the overall improvement of the lower quality of coastal areas is urgent too.

Korea is the second consuming country of marine products in th world and as we have to supplement the shortage of marine products by farm production, the farm industry must be protected and nurtured for the security of food. In the future, no industry can expect only production by polluting the environment. Farm production method until now has obtained the products in return of sacrificing the environment but now it must be changed to the methods of maintaining the production by protecting the environment in the future. In order to grow as environment friendly farm industry that can be a focal debating point of the world trade market of the 21st century, it is urgent to improve the lower quality of the bottom of severly polluted coastal ocean areas currently.

Ⅲ. Contents and scope of the R & D

1. Optimization of mass production of microorganism through cleaning of lower quality in the nature friendly type

1) Separation of useful microorganism with excellent enzyme activity
2) Separation of useful *Lactobacillus* sp.
3) Separation of photosynthetic bacteria
4) Measurement of salt-resistance of separated colony
5) Biogranule manufacturing using separated colony
   (1)measurement of activity of microorganism according to coating material.
   (2)Measurement of sedimentation degree by kind of adhesives.
   (3)Measurement of sedimentation degree per the time of granule.

2. Verification of the effect of biogranule and site application test.

1) On-site test of shrimp farms using biogranule.

(1)Selection of objects of farms.

(2) Growth and production of prawn.

2) On-site test of Manila clam using biogranule.

(1)Selection of Manila clam farm.

(2)Growth map of Manila clam.

(3)production amount of Manila clam.

3. Analysis of bio and biochemical characteristics per kind of objects of farm. (prawn)

1)Analysis of bio and biochemical characteristics per kind of objects of farm.

(1)General component

(2)Content amount of Lipid and cholesterol

(3)Fatty acid composition

Ⅳ. Result of the R & D

1 . Result of the R & D

1) Separation of useful microorganism with excellent enzyme activity

For official colony, I have finally selected 11 kinds of useful micro organism colonies with excellent energy and fast growing out of 450 kinds of colonies separated from the lower quality in the coasts of Gyeongnam, Jeonnam, and Chungnam and the kind of each selected colony is 5 kinds of *Bacillus* sp., 4 kinds of *Streptomyces* sp., 1 kind of*Cellulomonas* sp., and 1 kind of *Saccharomyces* sp.

2) Separation of useful *Lactobacillus*

I have used, as an official colony in this research, one kind of the colony *Lactobacillus* sp. ML-101. with excellent production force of lactic acid out of a total 48 colonies and the production capacity of lactic acid of this colony showed relatively high at 1.8% in culturing of 24 hours in 30℃ with 13% of skim milk powder and glucose 3% media.

3) Separation of photosynthetic bacteria

As an official colony of this research, I have used 2 kinds of colonies of *Rhodobacter* sp. out of 21 colonies with fast growing and excellent decomposition ability of sulphur

hydrogen and ammonia separated from the sediment of coastal foreshore.

In particular, since the colony of *Rhodobacter* sp. MR-101 is excellent in decomposing ammonia in salt water (12 ppm/hr) and in decomposing sulphur hydrogen (11 ppm/hr), I have separate observation. As the result, It was turned out as *Rhodobacter sphaeroides* and I have registered as final patented colony by naming it as *Rhodobacter sphaeroides* M102.

4) Measurement of salt-resistance of separated colony

The result of measuring salt-resistance of separated colony showed normal growth up to 4% of salt density as indicated in table 8 and also showed about 50% of growth up to 6% of density proving high salt-resistance.

5) Manufacturing of biogranule using separated colony

(1) Measurement of activity of microorganism per coating materials

The best coating material of microorganism as the result of using 2 kinds of materials for coating microorganism cultured for maintaining energy of microorganism was turned out as the mixture of 40% of maltodextrin and 60% of gelatine.

(2) Measurement of sediment degree per kind of adhesive materials

The result of measuring sediment degree of a total 6 kinds of sediment materials in order to develop the adhesive materials containing necessary nutrition for growing microorganism that can lower the sediment materials to 20m under the sea showed that the energy of microorganism of the mixed materials used at the ratio of 40% of maltodextrin and 60% of gelatine maintained a very high degree of activation of 93% in 30 days after maintaining 99% after 7 days.

When we used 100% of a coating material of maltodextrin, 65% of activation of microorganism after 30 days and 78% of activation was shown when we used 100% of gelatine. In a Measurement of activation of microorganism according to the mixture ratio of the two materials, the mixing ratio of 40% of maltodextrin and 60% of gelatine was measures as the best effective mixing ratio for coating materials of microorganism.

(3) Measurement of sediment degree per the time of granule

The result of measuring of sediment degree per the time of granule at the machine of granule for adjusting the strength of granule manufactured by using coating material, adhesive material, and sediment material, granule at 30 minutes showed proper sediment degree and granule at over 50 minutes showed excessive strength so that the

distribution degree is deteriorated a lot after arriving at the bottom and also it showed disadvantageous for the mass production in commercial terms because of longer time required.

By the result of aforementioned experiments, I have developed materials of microorganism to improve the lower quality in granule type that can maintain over 80% of activation of microorganism with sediment degree at 20m under the sea while maintaining over 90 days at normal temperature and we I have named this microorganism material as M-1001.

2. Effect verification and the field application tests of biogranule

1) Field test at shrimp farms using biogranule

(1)Selection of objects farms

The field test place was at the shrimp farm owned by Mr. C and located at Seosan-Ri, Dangjin-Gun, Chungnam and each area was 12,000 Pyeong respectively. The test was carried out by dividing comparison section and test section. Stocking quantity of juvnile prawn was carried out with the basis of 1,500,000/12,000 Pyeong(3.3㎡).

(2)Growth and production quantity of prawn

In the comparison section, 19 tons were produced but the test section produced 25 tons showing a significant increase in production quantity. At the time, the test section showed stable water quality compared to the comparison section.

2) The field test at Manila clam farm using biogranule

(1) Selection of Manila clam farm

The Manila clam farm used in the field test was a village farm located in the ocean region of Gangjin Bay of Namhae-Gun, Gyeongnam province. The test ocean region had 4-6 hours of exposure time during high tide and 1-2 hours of exposure time during low tide. The region is a tideland with many traditional Manila clam farms with the exposure up to about 20m from the edge of the lower part of test section at the time of tide.

(2)Growth map of Manila clam

The meat weight of Manila clam at the test section and comparison section in May 2004 of stocking time was average 2.30 g/piece and the weight were each 2.4g and 2.53 g respectively in July-September in the test section and comparison section. Afterward, the meat weight was rather reduced following the reduction of water temperature. From

February of the next year when the water temperature was rising, the meat weight started to increase and the weight were 2.53 g in the test section and 2.40 g in the comparison section in April 2005.

(3)Production quantity of Manila clam

The four times of repetition tests conducted from May 2004 to April 2005 in each large test section (10 m × 10 m) and comparison section (10 m × 10 m) of the final production quantity of Manila clam is shown in Fig. 34. At the time of stocking at the test section and comparison section, each farm was 31.7 cm and at the time of collection in April 2005, the average of the test section was 36.3 ± 0.29 cm and the average of the comparison section was 36.2 ± 0.44 cm. And therefore, there was no difference in the growth. The weight at the time of stocking in May 2004 was 6.0 g and the average weight of the test section at the time of collection was 10.8 ± 0.30 g and it was average 10.2 ± 0.41g in the comparison section. The test section showed higher production quantity due to higher survival rate than the comparison section.

3. Analysis of bio and biochemical characteristics per object of farm per kind (prawn)

1) General components

The result of analyzing the general components is as Table 1. There is no significant difference between the two specimen. The content of protein and lipid was high in treatment section and the value of energy was calculated as 91kcal in control section and 98kcal in treatment section.

Table 1. Proximate composition (%) of prawn muscle

Sample	Moisture	Protein	Lipids	Ash	Energy(kcal)
Control	76.9	20.5	1.0	1.6	91
Treatment	75.9	21.2	1.5	1.4	98

2) Content of lipids and cholesterol

The total TL, PL, NL, and total cholesterol of prawn are the same as in Table 2. There is no difference in content of total lipids between the control section and

treatment section but the content of PL in the treatment section was 90.5% and its NP content was 9.7%. The PL content of the treatment section was 88.0% and its NP content was 12.0%. Also the PL content of the treatment section was higher than the control section.

Table 2. Lipid and cholesterol content of prawn muscle

(mg/100g tissue)

Sample	Lipid			Cholesterol
	TL	PL	NL	
Control	1024	901	123	190
Treat	1541	1392	149	150

3) Composition of fatty acid

The result of observing the change of formation of fatty acid by dividing into as PL and NL after extracting the TL from prawn, there was no big difference between the comparison section and test section but it is considered to show the smoothness of lipid metabolism according to the treatment as the content of unsaturated fatty acid showed higher number compared to the comparison section.

V. Result and utilization plan of the R & D

1) The production quantity of Manila clam is planned to be increased by restoring the production force through the improvement of the lower quality of Manila clam farm using biogranule and for the marine farms, more positive improvement of cleaning fishing grounds can be utilized as one of environment friendly methods by reinforcing the public relations effect of purifying marine farms.

2) In addition, by utilizing the result of test, we can utilize it effectively in environment friendly cleaning project of ocean by introducing this method in the cleaning project of fishing ground that is carried out by the government sector.

3) By applying this product to shrimp farms, we present this as a method of increasing productivity drastically of marine farms suffering the production reduction due to mass perishment up to now and old aging of farms and we will be able to utilize in the production of environment friendly high quality by using this product.

편집순서 5

CONTENTS

Chapter 1 Introduction ····· 25

Clause 1 Need for the R & D ····· 25

1. Need for the R & D ····· 25

Chapter 2 Status of foreign and domestic development of technology ····· 27

Clause1 Status and issues of the related foreign and domestic researches ····· 27

1. Technology status of current improvement of the lower quality of coastal areas ·· 27

2. Future prospect ····· 28

3. Feasibility of the introduction of technology ····· 29

Chapter 3 Manufacturing and mass production of biogranule ····· 30

Clause 1 method of the research implementation ····· 30

1. Optimization of the mass production of microorganism for cleaning the lower quality in nature friendly type ····· 30

1) Separation of useful microorganism with excellent enzyme activity ····· 30

2) Separation of useful *Lactobacillus* ····· 31

3) Separation of photosynthetic bacteria ····· 31

4) Measurement of salt-resistance of separated colony ····· 32

2. Manufacturing, activity and sinking of biogranule ····· 30

1) Manufacturing of biogranule using separated colony ····· 32

2) Activity of microorganims depending on coating material ····· 31

3) Measurement of sinking rate of biogranule ····· 32

Clause 2 Result of the R & D ····· 34

1. Optimization of the mass production of microorganism for cleaning the lower quality in nature friendly type ····· 34

1) Separation of useful microorganism with excellent enzyme activity ····· 34

2) Separation of useful *Lactobacillus* ····· 41

3) Separation of photosynthetic bacteria ····· 41

4) Measurement of salt-resistance of separated colony ····· 45

2. Manufacturing, activity and sinking of biogranule ····· 30

1) Manufacturing of biogranule using separated colony ····· 32

2) Activity of microorganims depending on coating material ····· 31
3) Measurement of sinking rate of biogranule ····· 32
Chapter 4 Verification test at the actual shrimp farm ····· 49
Clause 1 Method of the research implementation ····· 49
1. Growing test in a small water tank ····· 49
2. Verification test at the actual shrimp farm ····· 49
1) Preliminary of experiment for amount of treatment ····· 49
2) Experiment of shrimp production in actual shrimp farm ····· 49
3. Analysis of bio and biochemical characteristics of shrimp ····· 51
Clause 2 result of the R & D ····· 53
1. Growing test in a small water tank ····· 53
2. Verification test at the actual shrimp farm ····· 54
1) Preliminary of experiment for amount of treatment ····· 49
2) Experiment of shrimp production in actual shrimp farm ····· 49
3. Analysis of bio and biochemical characteristics of shrimp ····· 59
Chapter 5 Application of Manila clam farm to the field ····· 63
Clause 1 Method of research implementation ····· 63
1. Growing test in a small water tank ····· 63
2. Improvement of bottom of Manila clam pond ····· 63
1) Analysis of the water quality ····· 63
2) Analysis of the environment of bottom of pond(Surface layer and lower layer) 65
3) Growth of Manila clamower layer ····· 68
4) Production quantity of Manila clam ····· 69
3. Treatment of statistics ····· 69
Clause 2 Result of the R & D ····· 70
1. Growing test in a small water tank ····· 70
2. Improvement of bottom of Manila clam pond ····· 70
1) Analysis of the water quality ····· 74
2) Analysis of the environment of bottom of pond(Surface layer and lower layer) 85
3) Growth of Manila clamower layer ····· 102
4) Production quantity of Manila clam ····· 113
Chapter 6 Plan to utilize the result of R & D ····· 119
Chapter 7 Literature ····· 121

편집순서 6

목 차

제 1 장 서 론 ····· 25
제1절 연구개발의 필요성 ····· 25
1. 연구개발의 필요성 ····· 25
제 2 장 국내외 기술개발 현황 ····· 27
제1절 국내·외 관련연구의 현황과 문제점 ····· 27
1. 현재의 연안역 저질개선 기술 현황 ····· 27
2. 앞으로 전망 ····· 28
3. 기술도입의 타당성 ····· 29
제 3 장 바이오그래뉼의 제조 및 대량생산 ····· 30
제1절 연구수행 방법 ····· 30
1. 자연친화형 저질정화 미생물 대량생산의 최적화 ····· 30
가. 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리 ····· 30
나. 유용 유산균의 분리 ····· 31
다. 광합성 세균의 분리 ····· 31
라. 분리 균주의 내염성 측정 ····· 32
2. 바이오그래뉼의 제조, 활력 및 침강도 ····· 32
가. 분리균주를 이용한 바이오그래뉼의 제조 ····· 32
나. 코팅제에 따른 미생물 활력 측정 ····· 33
다. 그래뉼의 침강도 측정 ····· 33
제2절 연구개발의 결과 ····· 34
1. 자연친화형 저질정화 미생물 대량생산의 최적화 ····· 34
가. 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리 ····· 34
나. 유용 유산균의 분리 ····· 41
다. 광합성 세균의 분리 ····· 41
라. 분리 균주의 내염성 측정 ····· 45
2. 바이오그래뉼의 제조, 활력 및 침강도 ····· 45
가. 분리균주를 이용한 바이오그래뉼의 제조 ····· 45
나. 코팅제에 따른 미생물 활력 측정 ····· 46
다. 그래뉼의 침강도 측정 ····· 47
제 4 장 새우양식장에의 현장적용 ····· 49

제1절 연구수행 방법 ····· 49
1. 소형수조내에서의 사육실험 ····· 49
2. 현장 새우양식장에의 실증실험 ····· 49
가. 처리량 결정을 위한 예비실험 ····· 49
나. 새우 생산량 비교실험 ····· 49
3. 새우의 생리·생화학적 특성분석 ····· 51
제2절 연구개발의 결과 ····· 53
1. 소형 수조내에서의 사육실험 ····· 53
2. 현장 새우양식장에의 실증실험 ····· 54
가. 처리량 결정을 위한 예비실험 ····· 54
나. 새우 생산량 비교실험 ····· 54
3. 새우의 생리·생화학적 특성분석 ····· 59
제 5 장 바지락양식장에의 현장 적용 ····· 63
제1절 연구수행 방법 ····· 63
1. 소형 수조내에서의 저질개선 효과 ····· 63
2. 바지락 양식장의 저질개선 효과 ····· 63
가. 수질환경 ····· 63
나. 저질환경(표층과 저층) ····· 65
다. 바지락 성장도 ····· 68
라. 바지락 생산량 ····· 69
3. 통계처리 ····· 69
제2절 연구개발의 결과 ····· 70
1. 소형 수조내에서의 저질개선 효과 ····· 70
2. 바지락 양식장의 저질개선 효과 ····· 70
가. 수질환경 ····· 74
나. 저질환경(표층과 저층) ····· 85
다. 바지락 성장도 ····· 102
라. 바지락 생산량 ····· 113
제 6 장 연구결과활용 계획 ····· 119
제1절 활용방안 ····· 119
제 7 장 문 헌 ····· 121

List of Tables

Table 3-1. Sample sites of isolated bacteria species · · · · · · · · · · · · · · 35
Table 3-2. Results of lipase activity of isolated species · · · · · · · · · · · · 36
Table 3-3. Results of amylase activity of isolated species · · · · · · · · · · · 37
Table 3-4. Results of protease activity of isolated species · · · · · · · · · · · 37
Table 3-5. Results of cellulase activity of isolated species · · · · · · · · · · · 38
Table 3-6. Results of identification and isolation on *Bacillus* sp. MB-103 · · · 38
Table 3-7. Identification and isolation of *Rhodobacter* sp. MR-101 · · · · · · · 42
Table 3-8. Identification and isolation of *Rhodobacter sphaeroides* MH-1002 · · 42
Table 3-9. Salt tolerance of isolated bacteria species · · · · · · · · · · · · · 46
Table 3-10. Microbial activity of different coating materials · · · · · · · · · · 47
Table 3-11. Sinking rate of different adhesives · · · · · · · · · · · · · · · · 49
Table 3-12. Sinking rate of time · 49
Table 4-1. Selection of sampling shrimp culture ponds · · · · · · · · · · · · 51
Table 4-2. Amount of biogranule treatments depending on monthly period · · 51
Table 4-3. Amount and time of biogranule treatments on the experimental ponds · 55
Table 4-4. Bacterial load of experimental ponds depending on the season · · 56
Table 4-5. pH changes in the different zones of the experimental ponds depending on the season · 57
Table 4-6. DO changes in the different zones of the experimental ponds · · 58
Table 4-7. Comparison of shrimp production · · · · · · · · · · · · · · · · 59
Table 4-8. Proximate composition (%) of prawn muscle · · · · · · · · · · · 61
Table 4-9. Lipid and cholesterol content of prawn muscle · · · · · · · · · · 61
Table 4-10. Fatty acid compositions (%) of muscle lipids in control prawn · 62
Table 4-11. Fatty acid compositions (%) of muscle lipids in treat prawn · · 63
Table5-1. Changes in the ignition loss and sulfide of experimental aquaria · 72
Table 5-2. Water quality of experimental farm area · · · · · · · · · · · · · 76
Table 5-3. Monthly changes in the average sulfide at the small experiments in large scale experiments · 93
Table 5-4. Monthly changes in the average sulfide in large and small scale experiments · 94
Table 5-5. Monthly changes in the average ignition loss at the small experiments in large scale experiments · · · · · · · · · · · · · · · · · 99
Table 5-6. Monthly changes in the average ignition loss in large and small scale experiments · 102
Table 5-7. Variation in the average total weight, shell length, meat weight and condition factor of the Manila clam from May 2004 to April 2005 · · · · 105

List of Figures and Photo

Fig.3-1. Isolation of functional microorganisms from sandbar. · · · · · · · · 34
Fig.3-2. Cultivation of photosynthetic bacteria. · · · · · · · · · · · · · · · · 34
Fig.3-3. Biogranule and storage container(18㎏/container) · · · · · · · · · · · 35
Fig. 3-4. 16s rRNA sequence of *Bacillus thuringiensis* M101 · · · · · · · · · 39
Fig. 3-5. Phylogenetic tree of *Bacillus* sp. M101 based on 16s rRNA. · · · · 40
Fig. 3-6. Phylogenetic tree of *Bacillus* sp. M101 based on 16s rRNA. · · · · 41
Fig. 3-7. 16s rRNA sequence of *Rhodobacter sphaeroides* M102. · · · · · · · · 43
Fig. 3-8. Phylogenetic tree of *Rhodobacter* sp. M102 based on 16s rRNA · · 44
Fig. 3-9. Phylogenetic tree of *Rhodobacter* sp. M102 based on 16s rRNA. · · 45
Fig. 4-1. Experimental ponds treated with biogranule(M-1001) · · · · · · · · · 52
Fig. 4-2. Growth rate of shrimp in the indoor aquarium · · · · · · · · · · · · 54
Fig. 4-3. Survial rate of shrimp in the indoor aquarium · · · · · · · · · · · · 54
Fig. 4-4. Decomposition capability of different microorganism from the biogaragule · 59
Fig. 4-5. Experimental shrimp pond and shrimp samples from different culture ponds. · 59
Fig. 5-1. Location of experimental shell farm · · · · · · · · · · · · · · · · · 65
Fig. 5-2. Ocular inspection of surf clam conditions in the experimental area. · 67
Fig. 5-3. Schematic diagram of experimental site. · · · · · · · · · · · · · · · 68
Fig. 5-4. Weekly changes in the sulfide of experiments in aquaria · · · · · · · · 71
Fig. 5-5. Weekly changes in the ignition loss of experimental aquaria. · · · · 74
Fig. 5-6. Monthly changes in the water temperature at the experimental farm · 75
Fig. 5-7. Monthly changes in the specific gravity at the experimental farm. · 77
Fig. 5-8. Monthly changes in the pH at the experimental farm. · · · · · · · · 79
Fig. 5-9. Monthly changes in the dissolved oxygen at the experimental farm. · 80
Fig. 5-10. Monthly changes in the COD at the experimental farm · · · · · · · 81
Fig. 5-11. Monthly changes in the PO_4-P at the experimental farm. · · · · · 82
Fig. 5-12. Monthly changes in the DIN at the experimental farm. · · · · · · · 83
Fig. 5-13. Monthly changes in the chlorophyll-a at the experimental farm. · · 84
Fig. 5-14. Monthly changes in the sulfide at the large experimental farm. · · 86
Fig. 5-15. Variation in the average sulfide during three months at the large experimental farm. The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control ($P<0.05$). · 87
Fig. 5-16. Monthly changes in the sulfide at the small experimental farm. · · 89
Fig. 5-17. Variation in the average sulfide during three months at the four small groups in large scale experiments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control ($P<0.05$)]. · · · · · · · · · · 90
Fig. 5-18. Variation in the average sulfide during three months at the small scale

experiments in large scale experriments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control (P<0.05)]. · · · · · · 91
Fig. 5-19. Monthly changes in the ignition loss at the large scale experiments · 96
Fig. 5-20. Variation in the average ignition loss during three months at the large experimental farm. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control(P<0.05)]. · · · · · · · · · · · · · · 97
Fig. 5-21. Monthly changes in the ignition loss at the small scale experiments. · 98
Fig. 5-22. Variation in the average ignition loss during three months at the four small groups in large scale experiments. [The lettersk (a, b, c) above bars indicate statistical differences (P<0.05)]. · · · · · · · · · · · · · 100
Fig. 5-23. Variation in the average ignition loss during three months at the small scale experiments in large scale experiments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control (P<0.05)]. · · 101
Fig. 5-24. Monthly changes in the average total weight at the experimental farm. · 104
Fig. 5-25. Monthly changes in the average shell length of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm. · · · · · · · · · · 106
Fig. 5-26. Monthly changes in the average shell height of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm. · · · · · · · · · · 108
Fig. 5-27. Monthly changes in the average shell width of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm. · · · · · · · · · · 109
Fig. 5-28. Monthly changes in the average meat weight of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm · · · · · · · · · · 110
Fig. 5-29. Monthly changes in the average shell weight of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm. · · · · · · · · · · 111
Fig. 5-30. Monthly changes in the condition index of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm · · · · · · · · · · · · · · · 112
Fig. 5-31. Total production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* from experimenta l · 114
Fig. 5-32. Weight gain rate of Manila clam, *Ruditapes philippinarum i*n small farm. · 115
Fig. 5-33. Total production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in the small scale experiments. · 116
Fig. 5-34. Survival rate of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at small scale experiments. · 117

편집순서 7

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

현재, 내만의 생태계는 과다한 외부 및 자가오염 부하량으로 인하여 양식생산량이 크게 감소하고 있으며, 점차 자정능력마저 잃어가고 있어 양식어장으로서의 기능마저 상실한 상황에 놓여 있다. 이로 인하여 패류양식의 경우, 우리나라 피조개양식은 1970년대 중반 이후 경남 진해만을 중심으로 하여 개발된 이래 수출대상 품종으로 각광을 받기 시작하여 1986년에는 58,393톤까지 생산이 이루어져 양식 어업인들에게 많은 소득을 올려주는 주요품종이었다. 그러나, 1989년도부터 서서히 양식어장의 생산력이 떨어지기 시작하여 1995년에는 연간 총생산량이 9,375톤으로 현저하게 감소하였다. 이러한 원인은 바다 어패류 양식장바닥 저질의 노후화에 기인된 것으로 피조개 양식어장의 환경개선을 통한 자연친화적인 저질개선제 개발이 시급한 실정이며, 본 연구 과제를 현장 적용화 했을 때 현재 피조개 양식장의 종패 생존율을 현재의 1%에도 미치지 못하는 것(장, 2002)을 4-5% 까지 향상시킬 것으로 기대된다. 어장의 환경개선을 위해서는 준설을 하가거나 바닥 저질을 개선하는 것이 가장 효과적인 방법이다. 하지만, 현재로서는 경운방법, 소석회, 황토투입방법, 일부 화학물질 등으로 저질을 개선하고 있으나, 저질정화에 많은 효과를 보지 못하거나, 이들의 사용으로 인한 해양생태계의 악영향에 대한 우려가 고조되고 있다. 이에 주관연구기관에서는 그 해역에 서식하는 유용해양미생물을 입상화 시킨 바이오그래뉼을 이용하여 해양생태계에는 전혀 해를 주지 않는 자연친화적인 방법으로 양식장 바닥의 저질을 개선을 통하여 지속적인 양식생산량을 유지하고자 한다.

나. 경제·산업적 측면

천해패류의 경우, 생산량의 거의 전량을 수출하는 피조개는 1980년대부터 본격적으로 개발되기 시작하여 1987년에는 외화소득이 1억4천만달러 이상을 기록하였으나, 1995년에는 연간 총생산량이 9,375톤으로 현저하게 감소하였다. 천해패류인 굴양식에 의한 경제적인 소득은 25개국 이상 수출하는 수출액 외

에도 국내산업에서 차지하는 위치는 막대하다. 굴양식수협의 자체조사에 의하면 굴양식산업에 직간접으로 종사하는 연인원은 4백만명 정도로 추산하고 있다. 그러나, 굴양식의 경우에도 생산량의 저하와 세균 및 원충류의 감염으로 인한 생산량의 저하와 함께 상품품질의 저하를 가속화시키고 있다. 이러한 원인은 피조개의 경우와 같이 해양환경의 악화와 어장바닥의 노화에 의한 것으로 이들의 어장바닥의 저질개선이 시급하다. 간석지패류인 바지락은 지금까지는 제1종 공동어업에서 자연 발생된 치패에서 성장한 성패만을 어촌계 대다수 어민이 참여하여 채취하여 어민의 제1소득원으로 하고 있다. 그러나, 각 해역의 매립간척사업과 연안오염의 증가로 인하여 어장상실 및 오염에 의한 대량폐사가 반복되고 있으므로 이들의 생육환경인 간석지의 저질개선이 시급하다. 패류양식뿐만 아니라, 해산어류양식, 우렁쉥이양식, 새우양식에서도 이와 같은 현상이 발생하고 있으므로 연안해역의 전반적인 저질개선이 시급하다. 이에 그 해역에 서식하는 유용해양미생물을 입상화시킨 바이오그래뉼을 이용하여 해양생태계에는 전혀 해를 주지 않는 자연친화적인 방법으로 양식장 바닥의 저질을 개선을 통하여 지속적인 양식생산량을 증가하고자 한다.

다. 사회·문화적 측면

우리나라는 세계 2위의 수산물 소비국으로 부족한 수산물을 양식생산으로 충당해야하며, 양식산업은 식량안보차원에서 보호 육성되어야 한다. 앞으로의 어떠한 산업도 환경을 오염시키면서 생산만을 기대할 수는 없다. 지금까지의 양식생산 방식은 자연을 희생한 대가로 생산물을 얻었으나, 앞으로는 환경을 유지 시키면서 지속적인 생산량을 유지해나가는 방식으로 전환하지 않으면 안된다. 21세기 세계무역시장의 쟁점이 될 환경친화적인 양식산업으로 육성하기 위해서는 지금 오염이 심화된 연안해역의 양식장바닥의 저질개선을 서둘러야 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 관련연구의 현황과 문제점

미국 환경청에서 1998년부터 2001년까지 3년간에 걸쳐서 330,000$의 연구비를 투입하여 일본과 한국에서 적조방제를 위하여 사용하고 있는 황토와 이들이 환경에 미치는 영향 등을 연구해오고 있으며, 바이오그래뉼을 이용한 저질개선 방법은 미국, 일본 유럽 등지에서 개발 진행중에 있으나, 아직 실용화는 되지 않은 상태이고, 환경친화적인 양식장바닥의 저질개선에 대하여는 아직 연구가 되지 않고 있는 실정이다.

1. 현재의 연안역 저질개선 기술 현황

가. 소석회 투입방법

수중의 환경적 요인과 가두리양식장과 연승식 패류양식장의 경우에는 양식시설물을 옮긴 후에 처리를 해야하는 어려움으로 인하여 현장에 현실적으로 접목이 어려운 상태임.

나. 경운방법

현재 정부에서 바다정화사업의 일환으로 시행하고 있는 경운은 피조개양식장에서 사용하는 형망선을 이용해 바닥의 쓰레기를 치우고 바닥갈이를 함으로서 개펄의 자정능력을 향상시키는데 목적을 두고 시행하고 있다. 황토살포를 하여 객토를 병행하나 그 효과는 의문시되며 주목적은 쓰레기치우기와 바닥갈이일 것이다. 유기물의 분해나 제거 없이 단순히 물리적인 쓰레기제거에 한하기 때문에 그 효과에 대하여 의문을 많이 갖고 있다. 바다정화사업의 형망선을 이용한 바닥갈이는 오염된 바다를 정화하는 유일한 대안으로 인식되고 있다. 피조개양식장은 어민 스스로 형망선을 이용한 바닥갈이를 최소 1년에 한번은 하게 된다. 살포전 청소작업과 채취시 형망선을 이용한 청소 및 채취작업이다. 20년 이상 꾸준히 살포를 한 피조개 양식장과 그렇지 않고 자연상태로 둔 바닥과의 오염정도를 비교, 분석한 자료도 없는 상태이다.

다. 황토투입방법

바다에 황토를 살포하는 목적은 두 가지로 볼 수 있다. 하나는 바다정화사업의 일환으로 악화된 저질에 객토를 함으로서 저질 환경을 개선하려는 목적으로 살포하는 경우와 또 하나는

적조생물을 퇴치하기 위하여 살포하는 경우이다. 바다 정화사업으로서 형망선으로 바닥갈이를 하고 객토를 하는 것은 주위의 저질환경이 개선됨으로서 양식장에 긍정적인 효과를 기대할 수도 있다. 그러나, 적조퇴치를 위한 황토살포는 보통 8월 중순부터 9월 하순사이에 발생하게 되는데, 황토를 살포하는 목적이 적조생물을 흡착시켜 바닥에 가라앉히는 것이다. 이 시기는 저층 수온이 1년중 가장 높아, 수심 15m내외인 바다의 저층 수온이 26~28℃ 까지 상승하는 시기이다. 적조생물을 흡착한 황토입자는 서서히 가라앉으면서 고수온과, 장마철을 지나면서 쌓인 각종 오염물질 등과 함께 복합적인 작용을 일으켜 저층의 생물에 심각한 영향(2차 환경오염)을 미칠 수 있다.

2. 앞으로 전망

가. 시장의 특성

산업화와 간척사업이 계속됨에 따라 연안해역의 오염은 가속화되고 있으며, 장기간에 걸친 연작으로 양식장의 노후화로 인하여 양식장바닥의 저질은 매년 악화되고 있다. 이로 인하여 수산업의 경제성, 작업성, 기타 환경적인 문제점을 발생시키고 있음에도 기존의 황토살포방법, 경운방법 등이 사용되고 있는 것은 새로운 기술이 개발되지 못했기 때문이며, 저질의 악화에 따라 환경친화적인 바이오그래뉼에 의한 저질개선 제품의 수요는 계속 늘어 날것으로 추정된다.

나. 국내외시장 규모(년간)

- 국내 어패류양식장 시장(43,879ha) : 59억(해양수산부 수산통계자료)
- 국외 어패류양식장 시장 : 7억7천만㎡ : 3400억(FAO통계자료)

(1) 국내시장

43,879ha의 어패류 양식장과 새우양식장에 공급될 바이오그래뉼의 20,000톤 가량으로 추정된다.

(2) 국외시장

국내시장 개척 후 2005년이후 중국, 동남아시아의 새우양식장과 연안양식장에 공급할 예정이며, 경쟁력있는 가격으로 공급된다면 시장규묘는 무한정으로 추정된다.

3. 기술도입의 타당성

국내에서 연구개발하는 대신 기술도입을 한다면 가능한가? 아니오. 현 단계에서는 국외기술은 유용미생물을 이용한 probiotics(유익세균)제품은 어느 정도 개발되어 있으나, 이를 세균을 대량으로 배양한 액체상태의 제품으로 본 연구과제와는 성격이 다르다. 양식장바닥의 저질개선을 위해서는 오염이 진행되고 있는 바로 그 장소에 미생물을 번식시켜야 하고, 이들 미생물은 그 해역에서 생존하는 유용미생물이어야 하므로 생태환경이 다른 외국에서 개발된 제품은 검정이 필요할 뿐만 아니라, 아직 이러한 제품은 개발되어 있지 않기 때문에 기술도입의 타당성은 매우 낮다.

제 3 장 바이오그래뉼의 제조 및 대량생산

제 1 절 연구수행 방법

1. 자연친화형 저질정화 미생물 대량생산의 최적화

가. 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리

(1) 갯벌로부터 유용미생물의 분리

우리 나라의 연안 경남 남해군, 고성군, 전남 목포시, 무안군, 충남 당진군, 서산군의 유기질 퇴적물이 풍부한 해안 저질을 각각 100 kg씩 채취하여 미생물 분리용 시료로 사용하였다. 수조 (1 m^3)에 해수를 500 kg 투입하여 NaClO (유효염소량 1.5 mg/L)로 해수를 소독한 후, 포기를 통해 잔류염소를 완전 소멸시킨 후 상기 시료를 수조에 투입하고, 추가로 단백질 함량이 높은 어류용 배합사료 2 Kg를 수조에 투여한 후 3일간 계속 교반하여 인위적으로 미생물을 배양시켰다. 이렇게 배양된 해수를 일정량 취하여 제품의 PCA표준한천배지(DIFCO, USA, Tryptone 5.0 g, Yeast Extract 2.5 g, Dextrose 1.0 g, Agar 15.0 g/D.W. 1 L, pH 7.0 ± 0.2)에 도말하고, 30℃에서 3일간 배양하여 초기 450개의 colony를 얻어 각각의 효소 활성 및 특성을 조사하였다.

(2) Lipase activity 측정

Nutrient agar (DIFCO, USA, Bacto tryptone 5 g, Yeast extract 2.5 g, Glucose 1g, Agar 15 g/D.W. 1 L)를 멸균한 후 Tributyrin (Sigma Co., St. Louis, USA)을 3% 첨가시킨 배지에 상기 분리된 균주와 비교균주인 *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 2513)를 도말하여 30℃에서 3일간 배양시켜 주위에 형성된 투명대 크기를 측정하여 투명대가 크게 형성된 균주를 지방분해효소 활성이 양호한 균주로 선별하였다.

(3) Amylase activity 측정

뉴트리언트 한천배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g, Agar 15g/ Water 1ℓ)배지에 전분을 1% 첨가시켜 멸균한 후 상기 분리된 균주와 비교균주 *Bacillus subtilis*(KCTC 1028)를 도말하여 30℃에서 3일간 배양시킨 후 그 배양된 배지상에 I_2 용액을 분무하여 형성된 투명대의 크기를 측정하여 투명대가 크게 형성된 균주를 전분분해효소 활성이 양호한 균주로 선별하였다.

(4) Protease activity 측정

뉴트리언트 한천배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g, Agar 15g /

Water 1ℓ)배지에 탈지분유(Skim milk powder)를 1% 첨가시켜 멸균한 후 상기 분리된 균주와 비교균주인 *Bacillus subtilis*(KCTC 1028)를 도말하여 30℃에서 3일간 배양시킨 후 그 배양된 배지상에 형성된 투명대의 크기를 측정하여 투명대가 크게 형성된 균주를 단백질분해효소 활성이 양호한 균주로 선별하였다.

(5) Cellulase activity 측정

PYG한천배지에 CMC를 2% 첨가시켜 멸균한 후 상기 분리된 균주와 비교균주인 *Cellulomonas celurance*(KCTC 1771)를 도말하여 30℃에서 3일간 배양시킨 후 그 배양된 배지를 멸균증류수로 세척한 후 1% 콩고레드(congo red) 수용액에 충분히 침지시킨 후 1M NaCl 용액으로 콩고레드를 세척한 후 형성된 투명대의 크기를 측정하여 투명대가 크게 형성된 균주를 셀룰로오스 분해효소 활성이 양호한 균주로 선별하였다.

나. 유용 유산균의 분리

유산균의 분리를 위하여 소금농도 4%로 조정된 김치를 담구어 30℃에서 10일간 발효 시킨 후 그 발효액을 유산균 선택배지 (DIFCO, USA, Yeast Extract 2.5 g, Peptone 5.0 g, Dextrose 1.0 g, Tween80 1.0 g, L-Cysteine 0.1 g, Agar 15 g/D.W. 1 L, pH 6.8-7.0)로 조정한 후 BCP (Brom cresol purple)을 0.004-0.006%가 되도록 가하고 121℃에서 15분간 멸균한 것에 도말하였다. 이렇게 도말한 것을 30℃에서 3일간 배양한 후 주변이 노란색을 띄는 colony를 유산균 군으로 추정하여 나타난 각각의 colony를 미리 준비한 skim milk powder (Busan milk Co., Korea) 13%, glucose 3%의 멸균배지에 접종시켜 30℃에서 24시간 정체 배양하여 커드가 형성되고, 젖산이 생성되는 균을 유산균으로 확정하였다.

다. 광합성 세균의 분리

(1) 공시균주의 분리

고기능성의 광합성세균을 분리하기 위하여 경남 통영시 인평동 해안가에서 수심3m 이상의 저층에 퇴적된 유기물층에서 퇴적물을 채취하여 뉴트리언트 한천배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g,Agar 15g /Water 1ℓ)배지에 도말한 후 백열등 조사상태로 30℃에서 5일간 배양하여 붉은색을 띄는 균주를 선별하였다.

(2) 황화수소 분해능력 측정

완전 밀봉이 가능한 20㎖ 시험관에 반고체상의 뉴트리언트배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g, Agar 5g / Water 1ℓ)5㎖을 투입하여 멸균 후 분리된 균주를 각각 접종하여 5일간 배양한 후 각각의 균들이 배양된 시험관에 황화수소가스를 100ppm의 농도로 주입하여 완전히 시험관을 밀봉하여 8시간동안 방치시킨 후 시험관에 잔

존하는 황화수소의 량을 가스크로마토그래퍼로 정량분석하여 황화수소잔존량이 가장적은 시험관의 균주를 황화수소 분해능력이 양호한 균주로 선별하였다. 이때 표준구로 미생물을 접종하지않은 시험관과 동시에 실시한다.

(3)암모니아 분해능력 측정

완전 밀봉이 가능한 20㎖ 시험관에 반고체상의 뉴트리언트배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g, Agar 5g / Water 1ℓ)5㎖을 투입하여 멸균 후 분리된 균주를 각각 접종하여 5일간 배양한 후 각각의 균들이 배양된 시험관에 암모니아가스를 100ppm의 농도로 주입하여 완전히 시험관을 밀봉하여 8시간동안 방치시킨 후 시험관에 잔존하는 암모니아가스의 량을 가스크로마토그래퍼로 정량분석하여 암모니아가스 잔존량이 가장적은 시험관의 균주를 암모니아 분해능력이 양호한 균주로 선별하였다. 이때 표준구로 미생물을 접종하지않은 시험관과 동시에 실시한다.

라. 분리균주의 내염성 측정

뉴트리언트 한천배지(Bacto tryptone 5g, Yeast extract 2.5g, Glucose 1g, Agar 15g / Water 1ℓ)배지에 NaCl 농도를 0%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7% 되게 한 후 멸균하여 상기 분리된 균주를 각각 도말하여 3일간 배양시킨 후 생성된 colony의 크기를 농도별로 비교하여 내염성을 측정하였으며,고염의 농도에서도 NaCl 농도 0%에서 자란 colony의 크기를 비교하여 내염성의 정도를 확인하였다.

2. 바이오그래뉼의 제조, 활력 및 침강도

가. 분리균주를 이용한 바이오그래뉼의 제조

저층바닥에 존재하는 유기물 퇴적층까지 쉽게 도달하며, 미생물 생육에 필요한 영양성분이 함유된 고체상태의 미세분말 침강제를 이용하여 그래뉼의 형태로 제조하므로서 미생물의 활력이 장기간동안 유지하며, 분산도가 뛰어나고, 투입시 수심 20m이하의 유기물 퇴적층까지 쉽게 침투하여 수면바닥의 저층에서 서서히 용해되어 미생물이 물의 흐름에 의한 유실을 최대한 방지하며, 수면바닥 저층에서의 미생물 생존율이 높은 그래뉼을 제조하기 위하여는 우선 미생물의 활력을 장기간 유지하기 위하여 생육 최적온도 보다 5-10℃ 정도의 낮은 온도로 6-7일 이상 장기간 배양하였으며 특히 각 균주별 생육저해를 방지하기 위하여 혼합배양 하지 않고 각각의 균주별로 별도 배양하여 각각의 배양액에 적당량 미생물 코팅제를 첨가하여 미생물을 코팅하였다.

그래뉼화를 위하여 우선 미세분말 침강제와 미세분말 점착제를 혼합하여 자동 그레뉼화

기계에 투입하여 잘 혼합시킨 다음 코팅된 미생물액을 서서히 분사시키면서 그래뉼화시킨다. 이렇게하면 그래뉼화 되는 과정에서 미생물은 그래뉼의 내부에 들어가게 된다.

1차 그래뉼이 완성되면 그래뉼 기계를 계속 가동시켜 그래뉼의 강도를 조정한다. 그래뉼 강도가 조정되면 다시 미세분말 코팅제로 그래뉼의 표면을 2차 코팅한다. 이렇게 코팅이 완료되면 냉암소에서 그래뉼을 건조시켜 본 연구를 위한 공시재료로 사용하였다.

나. 코팅제에 따른 미생물의 활력측정

코팅재료에 따른 미생물의 시간경과별 활력측정은 코팅이 완료된 미생물을 30℃의 항온기에서 0일, 7일, 15일, 30일 보관하여 생존하는 균수를 측정하여 미생물의 활력을 측정하였다.

다.. 그래뉼의 침강도 측정

그래뉼의 침강도는 길이 30m, 직경 50mm의 배관용 엑셀파이프를 설치하고 내부에 해수를 채운후 침강제와 점착제를 이용하여 제조된 그래뉼을 투입하여 그래뉼의 형태를 유지하면서 침강되는 깊이를 측정하여 침강도로 하였다.

Fig.3-1. Isolation of functional microorganisms from sandbar.

Fig.3-2. Cultivation of photosynthetic bacteria.

Fig.3-3. Biogranule and storage container(18㎏/container)

제 2 절 연구개발의 결과

1. 자연친화형 저질정화 미생물 대량생산의 최적화

가. 효소활력이 우수한 유용미생물의 분리

이상의 실험방법에 의하여 분리된 450종의 균주별 효소활성도 및 특성을 조사한 결과 본 연구에 적합한 11종의 균주를 최종 선별하였으며, 각 균주별 종류는 *Bacillus* sp. 5종, *Streptomyces* sp.4종, *Cellulomonas* sp.1종, *Saccharomyces* sp.1종 이었다(Table 3-1). 각 균주별 효소 활성도 및 내염성결과는 다음의 표와 같다.

Table 3-1. Sample sites of isolated bacteria species

Species	Isolate station
Bacillus sp. MB-101	Gyeongnam Goseong
Bacillus sp. MB-102	Gyeongnam Goseong
Bacillus sp. MB-103	Chungnam Dangjin
Bacillus sp. MB-104	Chungnam Seosan
Bacillus sp. MB-105	Jeonnam Muan
Streptomyces sp. MS-101	Gyeongnam Goseong
Streptomyces sp. MS-102	Gyeongnam Namhae
Streptomyces sp. MS-103	Chungnam Dangjin
Streptomyces sp. MS-104	Chungnam Seosan
Cellulomonas sp. MC-101	Jeonnam Mokpo
Saccharomyces sp. MS-101	Chungnam Dangjin

(1) Lipase activity 측정

Lipase activity의 활력은 공시균주인 *Psedomonas aeruginosa* (KCTC2513)와 비교하여 *Bacillus* sp MB-105균주가 가장 양호하였으며, *Bacillus* sp MB-102 및 *Streptomyces* sp MS-102가 비슷한 활력을 나타내었다(Table 3-2).

Table 3-2. Results of lipase activity of isolated species

균주명	활성도(cm)	배양온도	비고
Psedomonas aeruginosa(KCTC2513)	1.7		비교 공시균주
Bacillus sp MB-101	1.2		
Bacillus sp MB-102	1.9		
Bacillus sp MB-103	0.9		
Bacillus sp MB-104	0.8		
Bacillus sp MB-105	2.0	30℃	
Streptomyces sp MS-101	0.2		
Streptomyces sp MS-102	1.9		
Streptomyces sp MS-103	0.5		
Streptomyces sp MS-104	0.9		
Cellulomonas sp. MC-101	0.3		
Saccharomyces sp MS-101	0.1		

다. Amylase activity의 측정

Table 3-2에서와 같이 Amylase activity의 활력은 공시균주인 *Bacillus subtilis* (KCTC1028)와 비교하여 *Bacillus* sp MS-105 균주가 가장 높은 활력을 나타냈으며, *Bacillus* sp MB-101, 및 *Bacillus* sp MB-103, *Streptomyces* sp MS-102 균주도 비교적 높은 활력을 나타내었다.

(2) Protease activity의 측정

Table 3-3의 실험결과에서와 같이 protease activity의 활력은 공시균주인 *Bacillus subtilis*(KCTC1028)와 비교하여 *Streptomyces* sp MS-101 균주가 가장 높은 활력을 나타냈으며, *Bacillus* sp MB-103 및 *Bacillus* sp MB-102 균주도 비교적 높은 활력을 나타내었다.

마. Cellulase activity 측정

Table 3-4의 실험결과에서와 같이 cellulase activity의 활력은 공시균주인 *Cellulomonas cellulance*(KCTC1771)와 비교하여 *Cellulomonas* sp. MC-101 균주가 가장 높은 활력을 나타냈으며, *Bacillus* sp MB-101, *Bacillus* sp MB-103 및 *Bacillus* sp MB-104 , *Streptomyces* sp MS-102균주도 비교적 높은 활력을 나타내었다.

특히 *Bacillus* sp MB-103균주는 거의 모든 효소활성이 뛰어났으며, 성장속도 및 내염성

Table 3-3. Results of amylase activity of isolated species

균주명	활성도(cm)	배양온도	비고
Bacillus subtilis(KCTC1028)	1.1		비교 공시균주
Bacillus sp MB-101	1.1		
Bacillus sp MB-102	0.9		
Bacillus sp MB-103	1.0		
Bacillus sp MB-104	0.8		
Bacillus sp MB-105	1.7	30℃	
Streptomyces sp MS-101	0.7		
Streptomyces sp MS-102	1.0		
Streptomyces sp MS-103	0.9		
Streptomyces sp MS-104	0.8		
Cellulomonas sp. MC-101	0.9		
Saccharomyces sp MS-101	0.9		

등이 모두 양호한 특이성을 나타내어 특허균주로 등록하기 위하여 분리동정을 실시하였으며 그 결과는 표5. 및 별첨1. *Bacillus thuringiensis*.MH-1001의 16s rRNA 분석결과와 같다.

Table 3-4. Results of protease activity of isolated species

균주명	활성도(cm)	배양온도	비고
Bacillus subtilis(KCTC1028)	1.2		비교 공시균주
Bacillus sp MB-101	0.7		
Bacillus sp MB-102	0.9		
Bacillus sp MB-103	1.3		
Bacillus sp MB-104	1.5		
Bacillus sp MB-105	0.8	30℃	
Streptomyces sp MS-101	1.8		
Streptomyces sp MS-102	0.5		
Streptomyces sp MS-103	0.8		
Streptomyces sp MS-104	0.4		
Cellulomonas sp. MC-101	0.8		
Saccharomyces sp MS-101	0.7		

Table 3-5. Results of cellulase activity of isolated species

균주명	활성도(cm)	배양온도	비고
Cellulomonas cellulance(KCTC1771)	0.5		비교 공시균주
Bacillus sp MB-101	0.6		
Bacillus sp MB-102	0.2		
Bacillus sp MB-103	0.6		
Bacillus sp MB-104	0.5		
Bacillus sp MB-105	0.3	30℃	
Streptomyces sp MS-101	0.2		
Streptomyces sp MS-102	0.6		
Streptomyces sp MS-103	0.3		
Streptomyces sp MS-104	0.2		
Cellulomonas sp. MC-101	0.8		
Saccharomyces sp MS-101	0.1		

Table 3-6. Results of identification and isolation on *Bacillus* sp. MB-103

균 주 명	형태학적 특성
Bacillus thuringiensis.MH-1001	포자형성 간균 30 - 55℃의 생육온도 범위 그람양성 유기물 분해능력 탁월 호기성

>M101

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGC

GAATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT

AACCTGCCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACATTTT

GAACCACATGGTTCGAAATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGT

CGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAG

AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA

GGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCT

TTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACC

TTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT

AGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGT

CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTG

CAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACA

CCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAG

CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAG

GGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCC

GCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT

AATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTAGAGAT

AGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCG

TGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCATCATTAA

GTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAA

TCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGCTG

CAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCA

ACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATAC

GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCG

GTGGGGTAACCTTTTTGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTG

Fig. 3-4. 16s rRNA sequence of *Bacillus thuringiensis* M101.

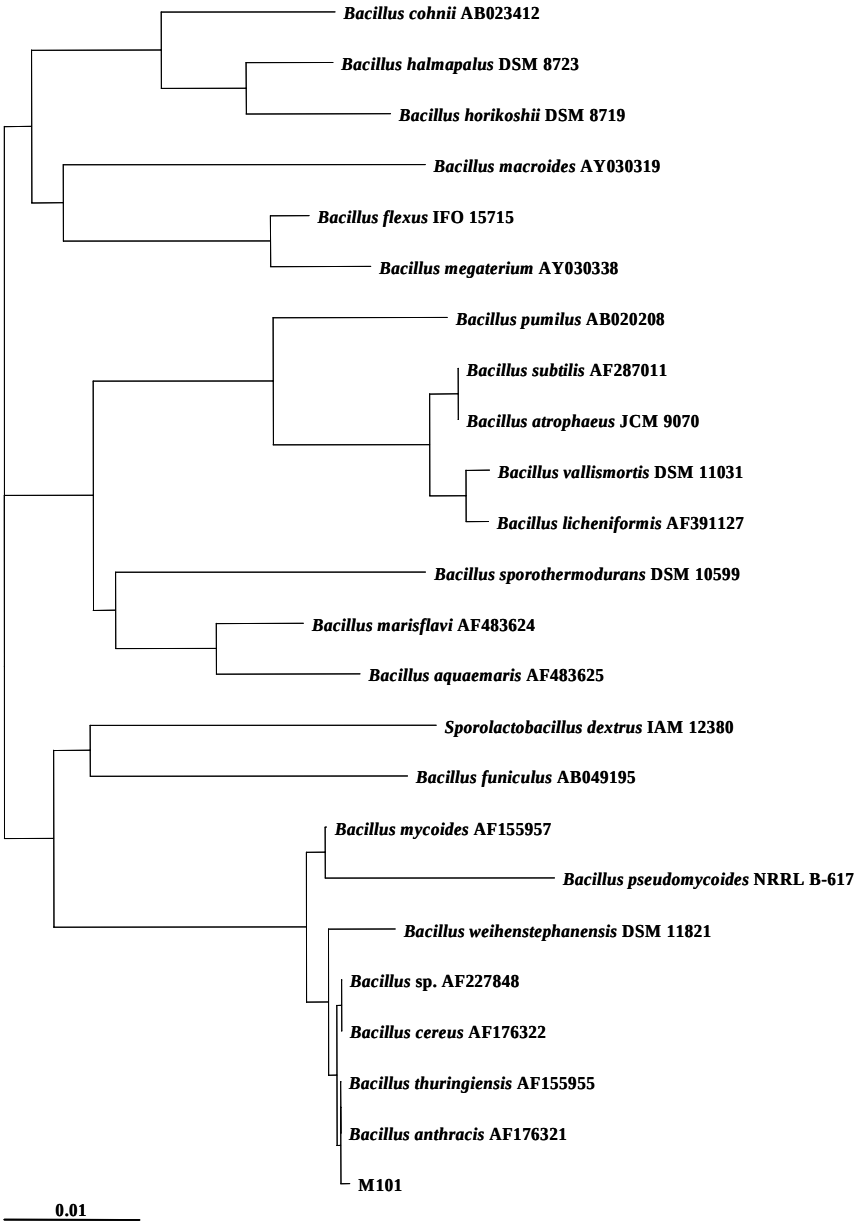

Fig. 3-5. Phylogenetic tree of *Bacillus* sp. M101 based on 16s rRNA.

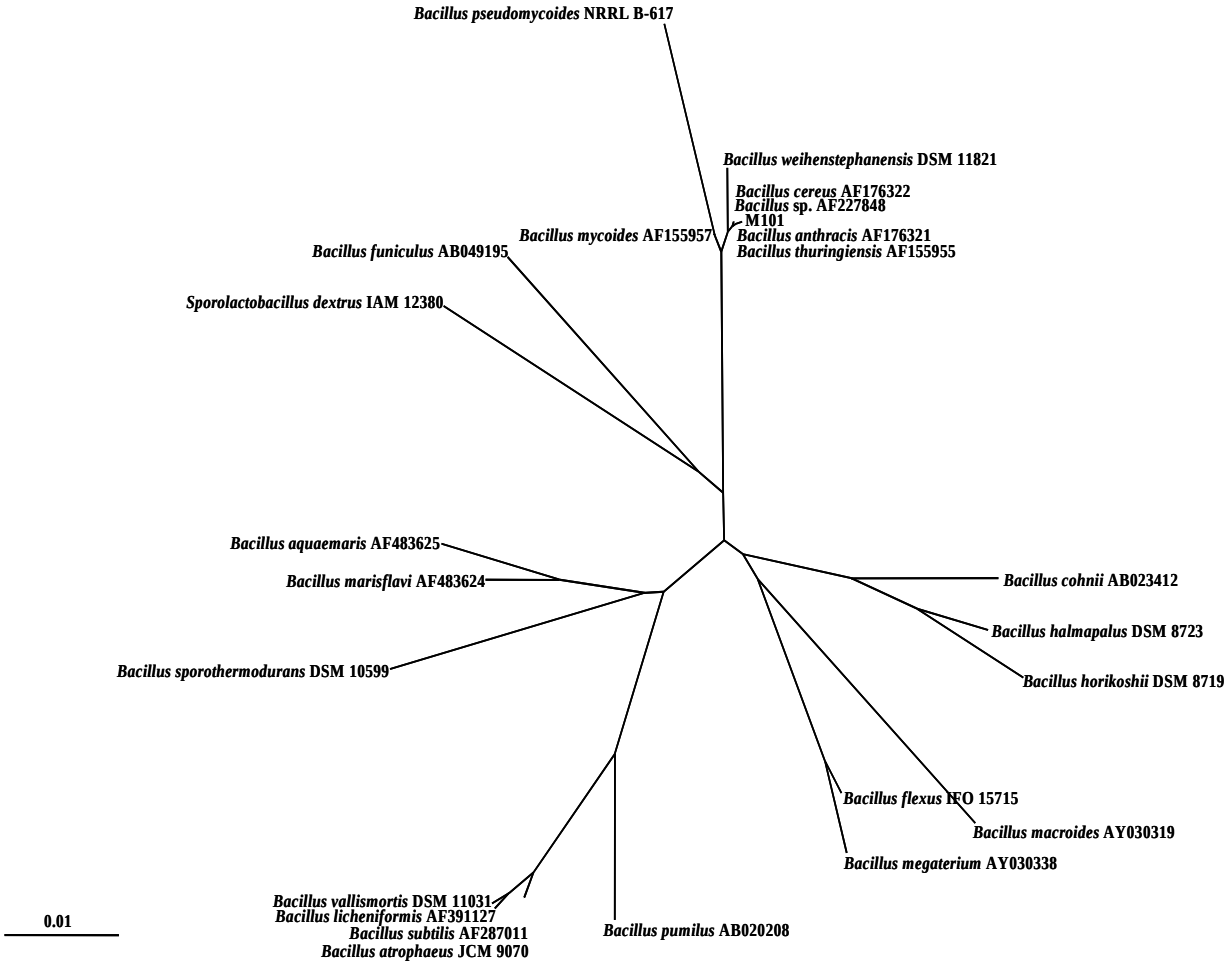

Fig. 3-6. Phylogenetic tree of *Bacillus* sp. M101 based on 16s rRNA.

나. 유용 유산균의 분리

이상의 실험방법에 의하여 형성된 48개의 coclony 중 젖산생성능력이 뛰어난 균주 *Lactobacillus* sp. ML-101. 1종을 본 연구의 공시균주로 사용하였으며 본균주의 젖산 생산능력은 Skim milk powder 13%, Glucose 3%배지에서 30℃ 24시간 배양으로 1.8%정도로 상당히 높은 수준을 나타냈다.

다. 광합성 세균의 분리

이상의 실험방법에 의하여 형성된 21개의 coclony 중 성장속도가 빠르고, 황화수소 및 암모니아의 분해력이 뛰어난균주 *Rhodobacter* sp.2종을 본 연구의 공시균주로 사용하였으며, 그 특성은 표6.과 같다. 특히 *Rhodobacter* sp MR-101균주는 해수에서의 번식능력이 뛰어나며, 특히 황화수소와 암모니아의 분해능력이 뛰어나 특허균주로의 등록을 위하여 분리동정을 실시하였으며 그 결과는 표7. 및 별첨2. Rhodobacter sphaeroides MH-1002균주의 16s rRNA 분석결과와 같다.

Table 3-7. Identification and isolation of *Rhodobacter* sp. MR-101

균주명	배양온도	암모니아분해력	황화수소분해력	비고
Rhodobacter sp.MR-101	30℃	12ppm/hr	11ppm/hr	
Rhodobacter sp.MR-102		9ppm/hr	0.7ppm/hr	

Table 3-8. Identification and isolation of *Rhodobacter sphaeroides* MH-1002

균 주 명	형태학적 특성
Rhodobacter sphaeroides MH-1002	홍색 유황세균 간균 20 - 30℃생육온도 범위 통성 혐기성 항생물질 생산 광합성 작용

>M102C

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACAT
GCAAGTCGAGCGAAGTCTTCGGACTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGC
GTGGGAACGTGCCCTTTGCTTCGGAATAGCCCCGGGAAACTGGGAGTAA
TACCGAATGTGCCCTTTGGGGGAAAGATTTATCGGCAAAGGATCGGCCC
GCGTTGGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGCCGACGATC
CATAGCTGGTTTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGC
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATCTTAGACAATGGGCGCA
AGCCTGATCTAGCCATGCCGCGTGATCGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAA
AGATCTTTCAGGTGGGAAGATAATGACGGTACCACCAGAAGAAGCCCCG
GCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGGGCTAGCGTTAT
TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATCGGAAAGTCAGAG
GTGAAATCCCAGGGCTCAACCCTGGAACTGCCTTTGAAACTCCCGATCT
TGAGGTCGAGAGAGGTGAGTGGAATTCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCG
TAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGCTCGATA
CTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATGCCAGTCGTCGGGCAGCATGCTG
TTCGGTGACACACCTAACGGATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCC
GCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGA
GCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAACCCTTGAC
ATGGCGATCGCGGTTCCAGAGATGGTTCCTTCAGTTCGGCTGGATCGCA
CACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTCGGTT
AAGTCCGGCAACGAGCGCAACCCACGTCCTTAGTTGCCAGCATTCAGTT
GGGCACTCTAGGGAAACTGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATG
ACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGGTTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCAGTGACAATGGGTTAATCCCAAAAAGCTGTCTCAGTTCGGATTG
GGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGTAA
CAGCATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACACCATGGGAATTGGTTCTACCCGAAGGCGGTGCGCCAACCTCGCAAG
AGGAGGCAGCCGACCACGGTAGGATCAGTGACTGGGGTG

Fig. 3-7. 16s rRNA sequence of *Rhodobacter sphaeroides* M102.

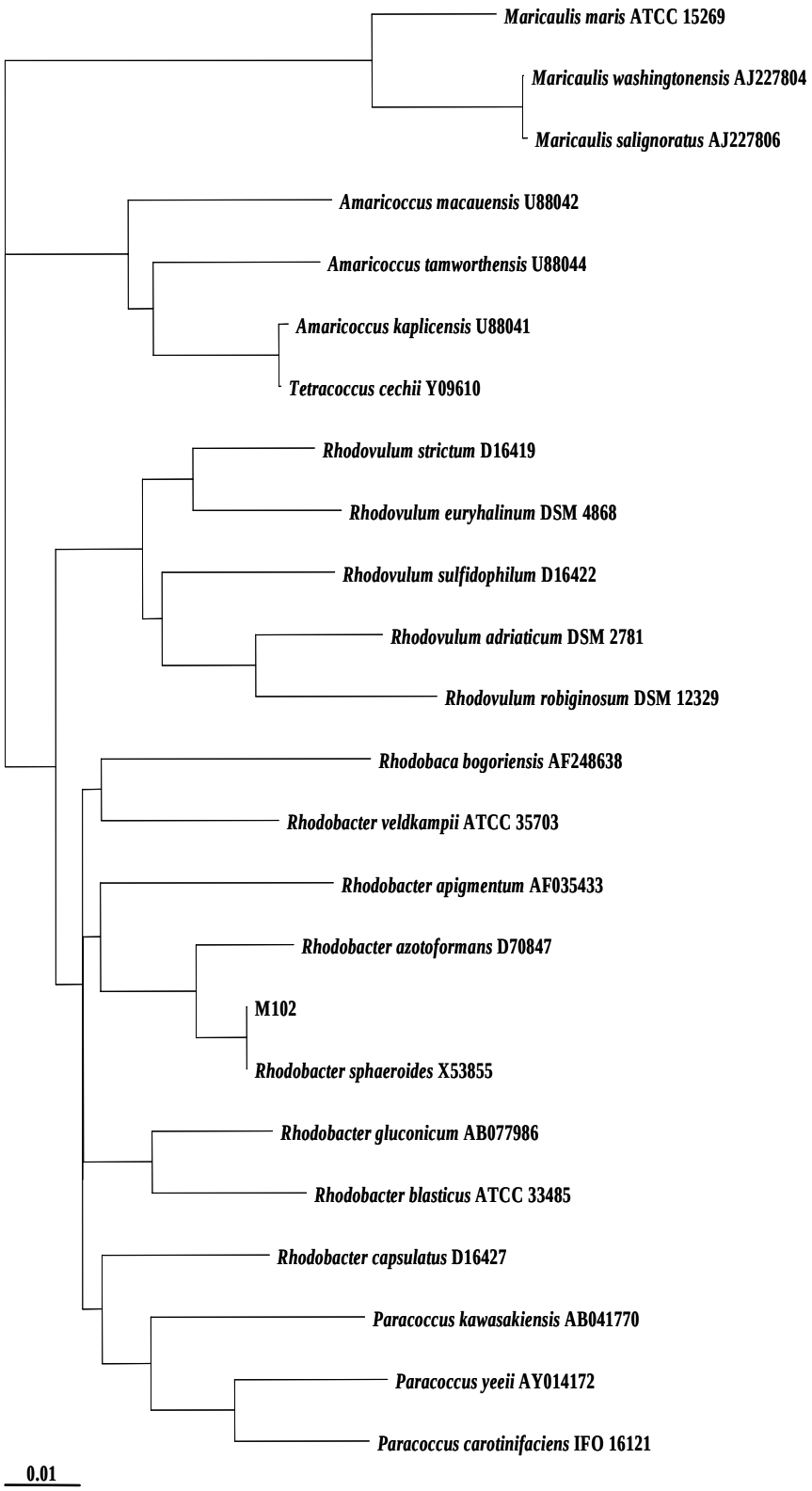

Fig. 3-8. Phylogenetic tree of *Rhodobacter* sp. M102 based on 16s rRNA.

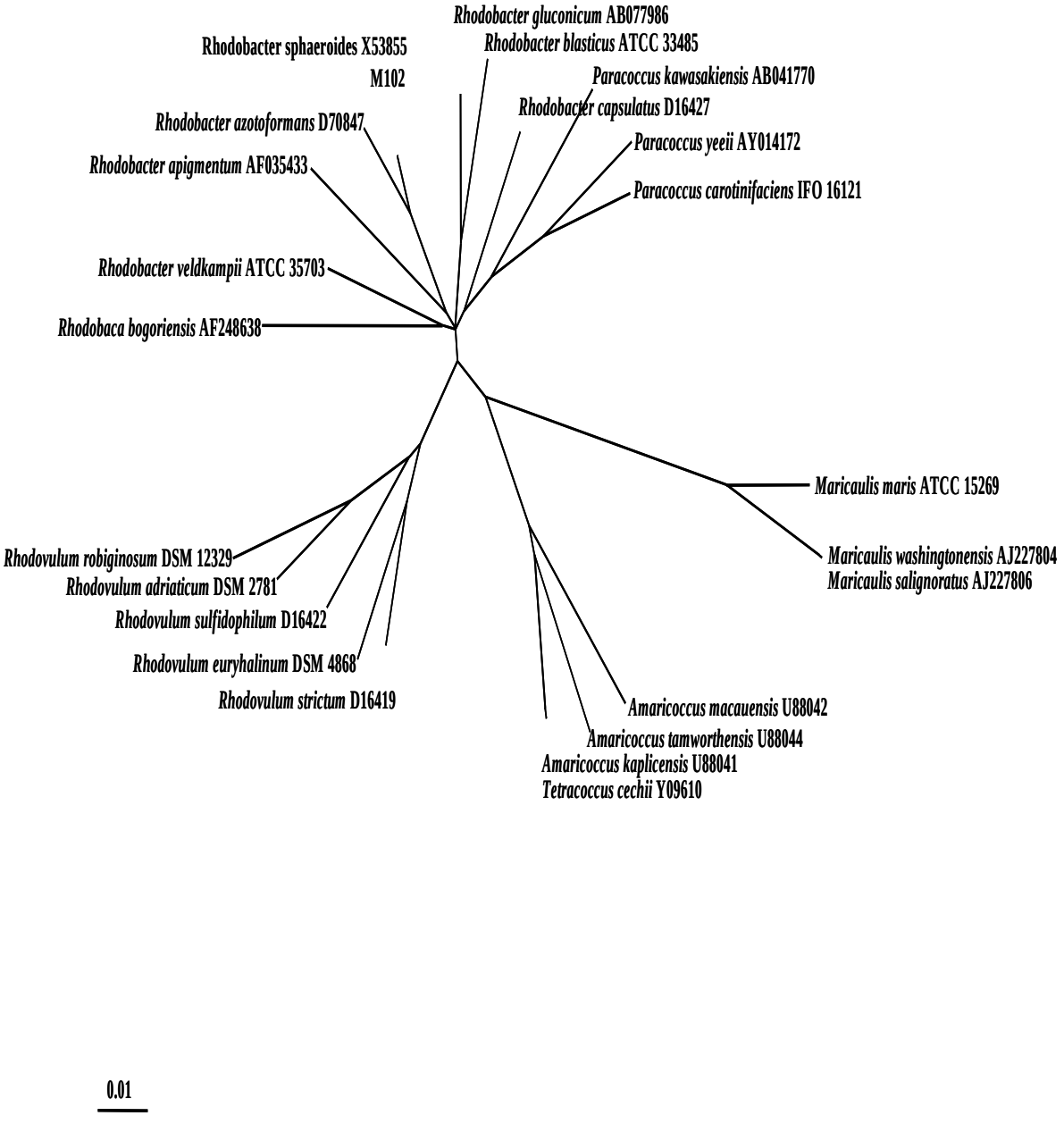

Fig. 3-9. Phylogenetic tree of *Rhodobacter* sp. M102 based on 16s rRNA.

라. 분리균주의 내염성 측정

이상의 방법에 의하여 분리된 균주의 내염성 측정결과는 표8.에서와 같이 모든 균주에서 4%의 염농도까지 정상적으로 성장하였으며, 6%까지도 50%정도의 성장을 보여 내염성이 뛰어난 것으로 나타났다.

Table 3-9. Salt tolerance of isolated bacteria species

균주명	염농도						비고
	0	3	4	5	6	7	
Bacillus sp MB-101	100	100	100	85	60	30	염농도 0을 100기준시의 활력 측정
Bacillus sp MB-102		100	100	80	50	25	
Bacillus sp MB-103		100	100	95	70	50	
Bacillus sp MB-104		100	100	75	40	20	
Bacillus sp MB-105		100	100	70	40	20	
Streptomyces sp MS-101		100	100	80	50	20	
Streptomyces sp MS-102		100	100	80	50	20	
Streptomyces sp MS-103		100	100	70	45	20	
Streptomyces sp MS-104		100	100	70	50	20	
Cellulomonas sp. MC-101		100	100	75	60	30	
Saccharomyces sp MS-101		100	100	80	70	30	
Lactobacillus sp. ML-101		100	100	65	50	10	
Rhodobacter sp.MR-101		100	100	65	50	30	
Rhodobacter sp.MR-102		100	100	50	30	5	

마. 분리 균주를 이용한 바이오그래뉼의 제조

바이오그래뉼은 해양 저층의 유기물 퇴적층까지 쉽게 도달하며, 퇴적유기물의 분해능력이 뛰어난 미생물의 생육에 필요한 영양성분이 함유된 고체상태의 미세분말 침강제를 이용하여 그래뉼의 형태로 제조하였다. 미생물은 상온에서도 장기간 보존 가능토록하기 위하여 미생물 고유의 생육적온보다 낮은 온도에서 배양한 것을 수용성 물질로 코팅한 후 maltodextrin과 gelatine을 이용하여 점도를 강화하였다. 이후 입상화 단계에서 자동그래뉼화기계에 투입하여 잘 혼합시켜 그래뉼내 미생물의 활력을 장기간동안 유지하면서, 투입시 수심 20 m 이하의 유기물 퇴적층까지 쉽게 침투하여 수면 바닥의 저층에서 서서히 용해되어 미생물이 물의 흐름에 의한 유실을 최대한 방지하며, 수면바닥 저층에서의 미생물 생존율이 높은 그래뉼을 제조하여, 이 연구의 바지락양식장 저질개선제로 사용하였다.

나. 코팅제에 따른 미생물 활력 측정

미생물의 활력유지를 위한 방법으로 배양된 미생물을 코팅하기 위한 코팅재료로서 2종의 물질을 사용하여 코팅한 결과 코팅제 maltodextrin 40%, gelatine 60%의 비율로 사용한 혼합제제에서 미생물 활력은 7일 후 99%를 유지한 후 30일 후에도 93%의 높은 활성을 나타내었다.

코팅제 maltodextrin 100%를 사용했을때는 30 일후 미생물 활성이 65%, gelatine 100%를 사용했을 때는 78%의 활성을 나타내었다. 두 재료의 혼합비율에 따른 미생물 활성 측정에서는 maltodextrin 40%와 gelatine 60%의 혼합 비율이 가장 양호한 미생물의 코팅제로 측정되었다 (Table 11).

Table 3-10. Microbial activity of different coating materials

(unit : %)

Mixture rate	Storage period			
	0	7 days	15 days	30 days
c.m. A 100%	100	83	72	65
c.m. A 60% + c.m. B 40%		92	84	73
c.m. A 40% + c.m. B 60%		99	97	93
c.m. A 50% + c.m. B 50%		95	83	89
c.m. A 30% + c.m. B 70%		97	93	90
c.m. A 70% + c.m. B 30%		96	89	80
c.m. B 100%		93	88	78

※ c.m. : coating material, A : maltodextrin, B : gelatine

다. 그래뉼의 침강도 측정

미생물 생육에 필요한 영양분이 함유된 침강제를 수심 20 m 이하의 저층까지 도달시키기 위한 점착제의 개발을 위하여 총 6종의 점착제별 침강도를 측정한 결과 점착제의 종류에 따라 침강도는 다양하게 나타났다. 침강도 실험에 사용한 그래뉼 시간은 이번 연구에서 얻은 결과인 그래뉼시간은 30분으로 설정하였다. 이 실험에서 사용한 점착제 중 maltodextrin 이 22.7 m 까지 형태를 갖추면서 침강하여 가장 양호한 침강도를 나타내었다 (Table 12).

코팅제에 의한 미생물 활력과 점착제의 종류에 따른 침강도의 측정에서 얻은 실험 결과에 의하여 결정된 그래뉼화 기계에서의 그래뉼 시간별 침강도를 측정한 결과는 30분의 그래뉼 작업시간이 22.7 m의 침강도를 나타내어 가장 적절한 침강도로 조사되었으며, 40-50분 이상 그래뉼화 한 것은 침강도는 조금 더 깊지만 강도가 너무 강하여 저층바닥에 도달 후 분산도가 많이 떨어지는 현상을 나타내었다 (Table 13).

이와 같이 코팅제의 처리에 따라 실온에서 30일 이상 보존시에도 93% 이상, 90일 이상 상온 보존시에도 미생물의 활력이 80% 이상 유지되는 높은 생존율을 나타내었을 뿐만 아니라, 다양한 점착제를 이용한 침강도 실험 결과에서도 수심 20 m의 침강도를 나타내는 그래뉼 형태의 저질개선제 바이오그래뉼을 개발하였다.

Table 3-11. Sinking rate of different adhesives

A kind of adhesive	Sinking rate (m)
Adhesive A (potato starch)	5.6
Adhesive B (maltodextrin)	22.7
Adhesive C (S. M. P.)	2.8
Adhesive D (C. M. C.)	15.6
Adhesive E (corn starch)	9.6
Adhesive F (acetic acid starch)	18.4
Adhesive G (wheat powder)	8.6

※ Granule time: half an hour

Table 3-12. Sinking rate of time

Granule time	Sinking rate (m)
10 min.	2.9
20 min.	10.5
30 min.	22.7
40 min.	25.6
50 min.	27.4
60 min.	29.5

제 4 장 새우양식장에의 현장 적용

제 1 절 연구수행 방법

1. 소형 수조내에서의 사육실험

유익세균의 효과에 대한 연구를 검증하고자 동일 조건인 실내 유리수조 (60 cm × 30 cm × 30 cm)에서 바이오그래뉼 살포에 따른 수조내 바지락의 피해여부 및 저질환경에 미치는 영향을 조사하고자 체중 3g의 치하를 사용하여 10주간 사육하였다. 급이는 하루 2회 하였으며, 성장도는 매 2주마다 무게를 측정하여 비교실험하였다.

2. 현장 새우양식장에의 실증실험

가. 처리량 결정을 위한 예비실험

위에 언급한 방법에 의하여 제조된 M-1001을 이용한 새우양식장의 저질개선 현장실험을 위하여 Table 4-1과 같이 우리나라의 새우 양식산업이 가장 활발한 충남 태안지역과 전남 목포지역의 10개 새우양식장을 선정하여 M-1001의 살포구로 하였으며, 2개의 양식장을 대조구로 하였다. M-1001의 살포시기 및 살포량은 표13.과 같이 실시하였으며, 살포구 및 대조구의 결과치 분석은 저층토양의 pH변화, 미생물 변화, DO, 투여된 잔여사료의 분해정도, 암모니아가스 발생정도, 악취발생유무로서 저층토양의 상태를 판정하였으며, 상층수의 pH, DO, 물의 탁도, 녹조류 및 적조류의 번식정도, 물의 안정화 정도, 암모니아가스 발생정도로 양식장의 물의 상태를 판정하였다.

나. 새우 생산량 비교 실험

현장실증실험은 충남 당진군 신평면 거산리 C씨 소유 양어장으로서 10년 이상의 새우 양식 경험이 풍부한 양식장을 선택하였다. 생산량 실험을 위한 실험구에서는 먼저 대상양식장을 선정하여 예비실험을 거친 후 수질변화의 추이를 감안하여 본 실험을 행하였다.

양식장의 규모는 대조구 12,000평, 실험구 12,000평으로 치하방류량은 150만/12,000평 기준으로 하였다(Fig. 4-1). 그 외의 조건은 일반새우양식장의 설비와 사육관리 방법을 택하였다.

Table 4-1. Selection of sampling shrimp culture ponds

구분	양식장 위치	대표자	새우입식일	비고
처리구	충남 태안군 남면 진산2리	허승	2003.5.19	LT-101
	충남 보령시 청소면 내리2구	이경운	2003.5.11	LT-102
	충남 서천군 비인면 장포리	박강래	2003.5.17	LT-103
	충남 당진군 신평면 매산리	손희철	2003.5.11	LT-104
	충남 당진군 신평면 거산리	최은제	2003.5.13	LT-105
	전남 신안군 장산도 다수리	고영우	2003.5.1	MT-101
	전남 신안군 장산도 다수리	박현상	2003.5.9	MT-102
	전남 해남군 문래면	박명수	2003.5.4	MT-103
	전남 무안군 병풍도	김광호	2003.5.9	MT-104
	전남 신안군 장산도 다수리	최용환	2003.5.10	MT-105
대조구	전남 신안군 장산도 다수리	정병훈	2003.5.18	MN-101
	전남 신안군 장산도 다수리	주영기	2003.5.10	MN-102

Table 4-2. Amount of biogranule treatments depending on monthly period

처리시기	M-1001 18Kg당 처리면적(평)	비고
양식장 물소독 후 20일경과	1,200 - 1,500	첫 살포 후 1개월 단위로 살포
새우입식후 1개월 이내	1,000 - 1,200	
5월 - 6월	800 - 1,000	
7월 - 8월	600 - 800	
9월 - 수확기	800 - 1,000	

Fig. 4-1. Experimental ponds treated with biogranule(M-1001)

3. 새우의 생리·생화학적 특성분석

가. 일반성분의 분석

시료는 AOAC법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조회분은 건식회화법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 분석하였으며, 탄수화물은 위의 성분함량에서 감하여 구하였다. 에너지는 단백질x4.0 kcal, 지질x9.0kcal로 환산하여 계산하였다.

나. 육질부의 지질 생화학적 조사

(1) 지질 class의 조성

지질의 class는 Iatroscan(TH-10, Iatron Lab. Inc., Japan)에서 지질조성을 구했다. 분획과정은 먼저 Chroma Rod-SⅢ(0.9 x 150 mm, 석영봉 규산 코팅)를 5분간 수세한 후, 다시 증류수 10 ml로 헹군 다음 수분을 증발시키기 위하여 아세톤 10 ml로 씻고 50℃로 조정한 Rod-Dryer (TK-5, Iatron Lab. Inc., Japan)에서 5분간 건조시킨 후 Iatroscan내에서 수소

염이온화불꽃상에서 3회 이상 반복하여 유기물을 완전히 제거시켰다. Rod에 시료 1μl를 microdispenser(Drummond Sci., U.S.A)로써 점적하여 전개조(NaCl로 포화시킴)에서 10min 간 포화시켰다. 비극성지질은 전개용매(1,2-dichloroethane:chloroform:acetic acid, 46:4:0.05, v/v/v)로 포화시킨 전개조에 Rod를 넣어서 전개하였다. 약 10cm까지 전개시킨 후, rod를 전개조에서 꺼내고 Rod-Dryer에서 5분간 건조시켜서 Iatroscan으로 분석하여 지질획분의 조성비를 구하고 그 함량을 산출하였다. 비극성지질의 동정은 triglyceride, free cholesterol, free fatty acid, diglyceride, monoglyceride 및 cholesterol ester 등의 표품과 시료유의 Rf치와 비교하였다.

(2) 지질 및 지방산조성의 분석

Folch(1957)법에 따라 실험어의 육과 머리 지질을 추출하였다. 총지질의 극성 및 비극성의 분획은 Juaneda and Rocquelin(1985)방법에 준하여, SEP-PAK silica cartridge(Waters Association, Milford, MA)를 사용하였다. 지방산 조성은 약 100㎎의 총지질을 정평하여 1N KOH 95% ethanol용액으로 검화한 다음, 검화물에 10% BF_3-methanol을 3㎖ 가하여 95℃에서 30분간 환류가열하여 지방산 methylester 시료를 조제하였다. 이것을 capillary column(Supelcowax-10 fused silica wall-coated open-tubular column, 30m x 0.25㎜ i.d.Supelco Japan Ltd., Tokyo)이 장착된 GC(Shimadzu GC-14A)로써 분석하였다. 지방산 조성의 분석조건은 injector 및 detector(FID) 온도 각각 250℃, column 온도는 210℃로 하였고, carrier gas는 헬륨(1.5㎏/㎠)을 사용하였으며, split ratio는 1:50으로 하였다. 각 지방산의 동정은 표준품의 retention time(RT)과 비교하였으며, 표준품이 없는 지방산은 GC-MS로서 동정된 Menhaden fish oil를 2차 표준품으로 사용하여 동정하였다.

제 2 절 연구개발의 결과

1. 소형 수조내에서의 사육실험

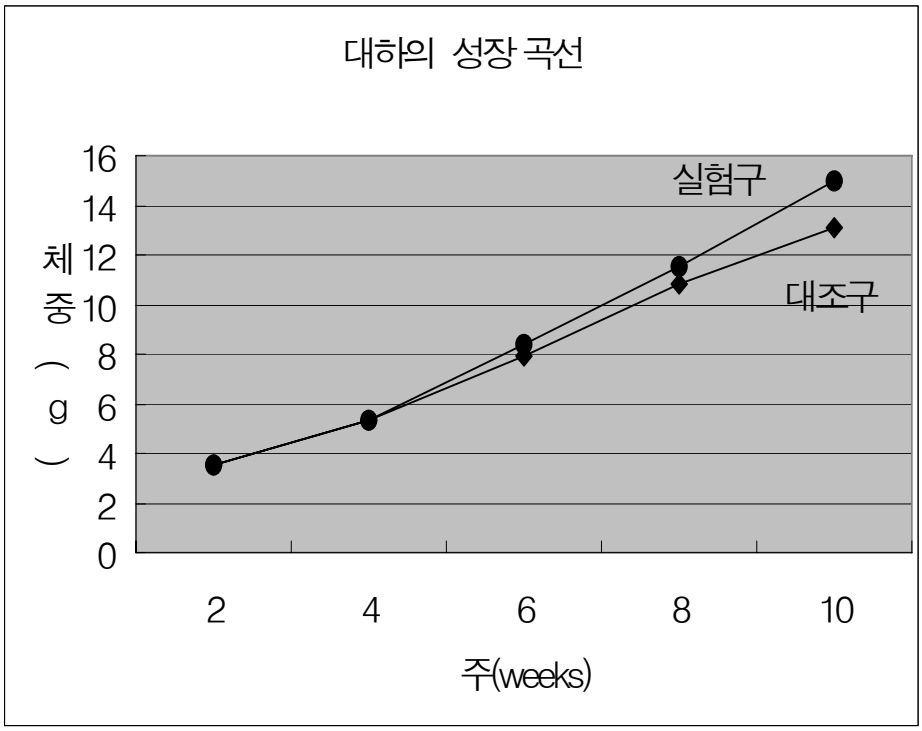

Fig. 4-2. Growth rate of shrimp in the indoor aquarium

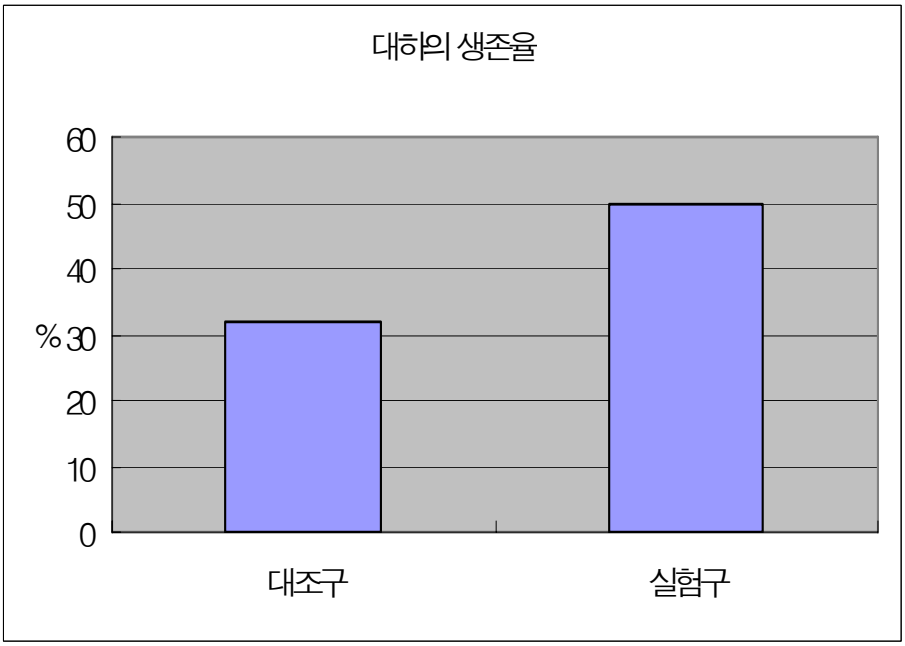

Fig. 4-3. Survial rate of shrimp in the indoor aquarium

2. 현장 새우양식장에의 실증실험

가. 처리량 결정을 위한 예비실험

본 연구의 현장실험을 위하여 새우양식장별 M-101의 처리시기 및 처리량은 표14.에서와 같다. 각 양식장별 물잡기 및 물소독 시기와 새우의 입식 시기가 다르고 초기의 양식장바닥 토양상태가 다르기 때문에 M-101의 처리시기 및 처리량도 각각 다르게 실시하였다.

Table 4-3. Amount and time of biogranule treatments on the experimental ponds

구분	처리시기(월/일)				처리량(평/18Kg)				비고
	1차	2차	3차	4차	1차	2차	3차	4차	
LT-101	5/10	6/13	7/15		1,200	900	900		
LT-102	5/1	6/5	7/5		1,200	800	800		
LT-103	5/10	6/13	7/15		1,200	900	800		
LT-104	5/2	6/4	7/10		1,000	800	800		
LT-105		6/20	7/20			900	900		
MT-101	4/20	5/20	6/21	7/21	1,200	900	800	800	
MT-102	5/1	6/5	7/15	8/1	1,200	900	800	800	
MT-103	4/22	5/22	6/22		1,000	900	800		
MT-104		5/10	6/14	7/20		900	800	700	
MT-105		5/15	6/14	7/20		800	800	700	
-									
-									
MN-101	대조구								
MN-102									

(1) 처리에 따른 새우양식장 바닥의 미생물균수변화

M-101 처리에 따른 새우양식장 저층 바닥의 미생물 균수변화를 측정하기 위하여

샘플 채집기를 이용하여 양식장 바닥의 토양을 취한다음 50g의 샘플을 100g의 생리식염수에 투여한 다음 30분동안 잘 교반하여 분석시료로 사용하였으며, 결과치 분석시 희석배수로 환산하였다. 이때 미생물의 배양 배지로는 PCA표준한천배지 (Tryptone 5.0g, Yeast Extract 2.5g, Dextrose 1.0g, Agar 15.0g /D.W 1,000m*l*, pH 7.0±0.2)를 사용하였으며 30℃에서 3일간 배양하여 나타난 colony를 측정하였으며 표15.와 같이 M-101 투여구에서 미생물의 번식속도가 빠르게 나타나는 것을 볼수 있다. 또한 1차분석치비교 2차 분석치에서 균수의 격감 이유는 새우입식전 모든 양식장이 차아염소산 소다로 물을 소독하기 때문인 것으로 추정된다.

Table 4-4. Bacterial load of experimental ponds depending on the season

구분	측정시기(월/일)				균수(X 10^4 CFU/㎖)				비고
	1차	2차	3차	4차	1차	2차	3차	4차	
LT-101	5/7	6/5	7/10		121	105	321		
LT-102	4/20	5/29	6/28		36	115	312		
LT-103	5/2	6/5	7/10		42	153	416		
LT-104	4/20	5/27	7/1		180	102	295		
LT-105		6/10	7/11		264	116	315		
MT-101	4/10	5/10	6/13	7/11	388	14	264	596	
MT-102	4/22	5/28	7/6	7/20	490	116	298	624	
MT-103	4/11	5/15	6/17		290	129	220		
MT-104		5/3	6/9	7/11	14	116	311	528	
MT-105		5/10	6/9	7/11	212	129	272	627	
MN-101	5/15	6/20	7/25		725	206	267		
MN-102	5/10	6/20	7/25		528	247	298		

(2) 처리에 따른 새우양식장 바닥 및 상층수의 pH변화

M-101 처리에 따른 새우양식장 저층 바닥의 pH변화를 측정하기 위하여 샘플 채집기를

이용하여 양식장 바닥의 토양을 취한다음 50g의 샘플을 100g의 생리식염수에 투여한 다음 30분동안 잘 교반하여 분석시료로 사용하였으며 그 결과는 표16.과 같다. 또한 본 실험은 pH의 변화를 최대한 방지하기 위하여 현장 양식장에서 즉시 측정하였다.

표16.에서와 같이 M-101 투여구에서는 사료퇴적에 따른 부패진행의 측도인 pH 저하 현상은 대조구에 비하여 많은차이를 보여 M-101이 사료퇴적층의 부패진행을 효과적으로 방지하는 것으로 추정되었다. 그러나 상층수의 pH 변화는 상층수의 각종 미세조류의 정도에 따라 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. 즉 미세조류량이 많을수록 오후의 pH가 점차적으로 높아 오전, 오후의 변화가 심하게 일어났으며, 이와 같은 현상은 미세조류의 광합성 작용으로 추정되어진다. 표16.에서 보는바와 같이 M-101의 투여구에서는 상층수의 물이 안정되어 미세조류의 량이 일정수준 계속 유지되어 대조구에 비하여 pH의 변화가 적게 발생하였다.

Table 4-5. pH changes in the different zones of the experimental ponds depending on the season

구분	바닥				상층수				비고
	1차	2차	3차	4차	1차	2차	3차	4차	
LT-101	6.9	6.9	6.6		8.0	8.5	8.9		
LT-102	7.3	7.2	6.8		8.1	8.3	8.7		
LT-103	7.3	7.0	6.7		8.2	8.5	8.9		
LT-104	7.1	7.0	6.8		8.3	8.7	9.1		
LT-105	7.0	7.0	6.8		8.2	8.7	9.0		
MT-101	6.9	6.8	6.5	5.9	8.2	8.6	9.0	9.1	
MT-102	6.8	6.8	6.3	5.6	8.1	8.7	9.3	9.1	
MT-103	6.9	6.7	6.5		8.3	8.8	9.2		
MT-104	7.1	7.0	6.5	5.8	8.2	8.7	9.0	9.0	
MT-105	6.8	6.9	6.6	5.8	8.0	8.7	9.1	9.2	
MN-101	6.7	6.6	5.9		8.3	9.3	9.8		
MN-102	6.8	6.6	5.4		8.1	9.2	9.9		

*측정시기는 미생물균수 측정시기와 동일함.

*측정시간:18:00 - 20:00사이

(3) 처리에 따른 새우양식장 저층수 및 상층수의 DO변화

M-101 처리에 따른 새우양식장 저층수 및 상층수의 DO 변화 측정결과는 표17.과 같다.

Table 4-6. DO changes in the different zones of the experimental ponds

구분	바닥				상층수				비고
	1차	2차	3차	4차	1차	2차	3차	4차	
LT-101	4.0	3.7	3.5		4.2	5.5	7.1		
LT-102	4.1	3.7	3.3		4.2	5.0	6.6		
LT-103	4.2	3.7	3.5		4.3	6.3	7.2		
LT-104	4.1	3.8	3.8		4.3	6.0	7.0		
LT-105	3.9	3.7	3.7		4.2	5.9	6.6		
MT-101	3.4	3.9	3.9	4.1	4.4	6.2	7.2	8.7	
MT-102	3.4	3.7	3.9	4.0	4.0	5.5	6.7	8.7	
MT-103	3.6	3.9	3.7		4.0	6.3	6.9		
MT-104	4.3	4.0	4.0	3.7	4.4	6.2	7.3	8.2	
MT-105	4.0	4.1	4.0	3.9	4.2	5.9	6.8	8.2	
MN-101	3.5	3.1	2.1		4.0	7.1	8.9		
MN-102	3.7	3.1	1.6		4.2	6.9	8.6		

depending on the season

*측정시기는 미생물균수 측정시기와 동일함.

*측정시간:18:00 - 20:00사이

(4) 육안적 판단에 의한 새우양식장 바닥 및 상층수의 변화

거의 대부분의 양식장에서 실험구 대비 대조구에서 암모니아가스 발생정도는 없었으며, 잔여사료의 분해정도도 50%이상 빠르게 나타났다. 물의 안정도 측도인 녹조류 또는 규조류의 번식정도가 실험구에서는 지속적으로 일정한 밀도를 유지하였고 규조류에서 녹조류 또는 녹조류에서 규조류로의 변화가 거의 발생하지 않았으나, 대조구에서는 규조류와 녹조류의 번식속도가빠르게 진행되며, 또한 녹조류에서 규조류로 또는 규조류에서 녹조류로의 변화가 자주 일어나는 현상을 보였다.

(5) 바이오그래뉼의 저층 및 유기물분해능력

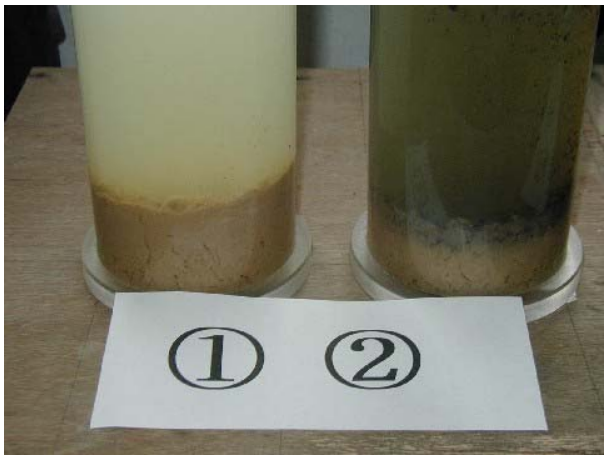

Fig. 4-4. Decomposition capability of different microorganism from the biogaragule
① control ②Treated with biogranule

Fig. 4-5. Experimental shrimp pond and shrimp samples from different culture ponds.

나. 새우생산량 비교실험

Table 4-7. Comparison of shrimp production

대조구(무첨가구)	실험구(바이오그래뉼 첨가구)
19ton/12,000평/년	25ton/12,000평/년
-치하:150만미 방류 -2002년도 생산량 19-20 ton생산 -충남 당진군 신평면 거산리 C씨 소유 양어장	- 치하:150만미 방류 -새우양식 이래 최대 생산량 -년중 새우양식장의 수질은 안정된 상태를 유지하였음.

3. 양식대상종별(대하) 생리·생화학적 특성분석

가. 일반성분

일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 양 시료간에 큰 차이는 없었으며, 단백질 및 지질의 함량은 처리구가 높았고, 에너지 값은 대조구가 91kcal, 처리구가 98kcal로 계산되었다.

나. 지질 및 cholesterol 함량

갑각류의 정상적인 성장과 생존을 위해서는 sterols(Kanazawa et al., 1971; Teshima, 1972; Castell et al., 1975)과 인지질(Kanazawa et al., 1976; Conklin et al., 1980)은 필수적이고, 20:5n-3와 22:6n-3 등의 고도불포화지방산도 필수지방산으로 식이 내에 공급되어야 한다(Kanazawa et al., 1979; Teshima et al., 1989).

Table 2는 대하의 총 지질(TL), 인지질(PL), 중성지질(NL) 및 총 콜레스테롤 함량을 나타낸 표이다. 대조구와 처리구 사이의 총 지질 함량에는 변화가 없었으나, 처리구의 인지질 함량은 90.5%를 차지하였으며, 중성지질 함량은 9.7%로 나타났다. 대조구의 인지질 함량은 88.0%이고, 중성지질의 함량은 12.0%로 처리구의 인지질 함량이 높았다.

지질 class 분석결과 총 콜레스테롤 함량은 총 지질의 약 10-19%(w/w)에 이르고 있어 대조구가 190 mg/100g tissue, 처리구가 150 mg/100g tissue로 처리구의 콜레스테롤 함량이 약간 낮게 나타났다. 이와 같이 PL의 함량이 높은 처리구가 콜레스테롤의 함량도 낮아 처리에 따른 효과가 있는 것으로 여겨진다. Teshima et al. (1986)은 ^{14}C cholesterol을 인지질(PL)과 함께 급이하였을 때 새우 육 중 PL 첨가구가 무첨가구보다 콜레스테롤 대사가 원활하였고, PL 무첨가구에서는 PL에 의한 콜레스테롤의 세포내 이동이 원활하지 못하여 성장이 둔화되었다고 하였다.

다. 지방산조성

대하로부터 총 지질(TL)을 추출하고 이를 극성(PL) 및 비극성(NL) 지질로 분획 한 후의 지방산조성 변화를 Table 3, 4에 각각 나타내었다.

대조구의 TL, PL 및 NL 중 대표적인 지방산 성분은 16:0, 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3 등 이었다. TL 중 포화지방산, 모노엔산 및 포화지방산의 함량은 각각 27.38%, 33.55% 및 39.07% 였으며, PL 중 이들의 함량은 각각 29.88%, 23.80% 및 50.32% 였고, NL 중 이들 함량은 각각 25.82%, 27.50% 및 46.69% 였다. TL에 대한 PL 및 NL의 함량을 비교해 보면 PL은 모노엔산의 함량이 낮고 PUFA의 함량이 높은 반면, NL은 반대의 경향을 보였다. 그리고 PUFA 중 n-3계열의 비도 높았다.

처리구의 TL, PL 및 NL 중 대표적인 지방산 성분도 대조구와 비슷하여 16:0, 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:5n-3 및 22:6n-3 였다. PL 중 포화지방산, 모노엔산 및 불포화지방산의 함량은 23.25%, 28.53% 및 48.22%로 대조구에 비하여 포화지방산의 함량이 약간 낮게 나타났다. 그러나 TL의 경우 이들 함량이 각각 27.64%, 27.62% 및 44.74%로 볼포화지방산의 함량이 대조구에 비하여 높은 값을 보여주어 처리에 따른 지질대사의 원활함을 나타내는 것으로 여겨진다.

인지질은 생체막의 주성분이며 높은 농도의 PUFA가 함유되어 생체막의 유동성을 증가시키며, 생체막 지질의 지방산조성은 수온에 직접적 영향을 받으며(Cossins et al., 1978), 높은 수온에서는 단쇄 PUFA의 농도가 증가된다고 하였다(Martin and Ceccaldi, 1977). 생체막의 유동성은 콜레스테롤 함량에 의해서도 변화되므로(Deenan, 1965), 추출물의 첨가 함량이 많은 Diet 4, Diet 5에서의 콜레스테롤 함량도 함께 증가되었으므로, 저수온에 대한 내성도 높아질 것으로 생각된다.

Teshima et al. (1986) 등은 대두 lecithin 을 3% 첨가한 구와 첨가하지 않은 구로 사육하였을 때 첨가구가 성장, 생존율이 높았을 뿐만 아니라 20:5n-3 및 22:6n-3 함량이 무첨가구에 비하여 높았고, PL 및 콜레스테롤 함량도 월등히 높았다고 하였다.

Table 4-8. Proximate composition (%) of prawn muscle

Sample	Moisture	Protein	Lipids	Ash	Energy(kcal)
Control	76.9	20.5	1.0	1.6	91
Treatment	75.9	21.2	1.5	1.4	98

(mg/100g tissue)

Table 4-9. Lipid and cholesterol content of prawn muscle

Sample	Lipid			Cholestero
	TL	PL	NL	
Control	1024	901	123	190
Treat	1541	1392	149	150

Table 4-10. Fatty acid compositions (%) of muscle lipids in control prawn

	Muscle		
Fatty acids	TL	PL	NL
14:0	2.06	0.85	2.32
15:0 anteiso	0.10	0.22	tr
15:0	0.26	1.04	1.76
16:0	16.77	13.86	13.59
16:1n-7	3.62	3.59	3.10
16:0 7Me	0.22	0.11	0.13
16:1n-5	0.20	0.08	0.13
16:2n-7	0.63	0.71	0.24
17:0 iso	0.12	tr	0.11
16:2n-4	0.84	0.19	0.74
17:0	0.21	1.24	1.19
16:3n-4	0.21	2.50	2.99
16:4n-3	0.10	1.76	0.18
16:4n-1	0.29	0.49	0.53
18:0	6.66	6.93	7.67
18:1n-9	14.87	12.81	14.58
18:1n-7	4.77	3.15	3.53
18:2n-6	4.39	5.76	4.72
18:2n-4	0.23	0.22	0.31
18:3n-6	0.23	0.29	0.69
18:3n-4	0.28	0.20	0.21
18:3n-3	0.24	0.81	1.53
18:4n-3	2.31	1.24	3.34
18:4n-1	0.20	0.17	0.13
20:0	0.21	0.28	0.24
20:1n-7	1.58	1.62	1.41
20:3n-9	0.19	0.25	0.17
20:3n-6	0.34	0.31	0.19
20:4n-6	4.03	5.96	5.05
20:3n-3	0.21	0.19	0.19
20:4n-3	1.43	1.39	1.28
20:5n-3	11.68	17.21	13.29
22:0	0.18	0.21	0.16
22:1n-7	0.19	0.51	0.20
22:1n-5	0.11	tr	0.36
22:2n-6	0.25	tr	0.24
21:5n-3	0.18	0.17	0.19
22:4n-6	0.28	0.32	0.19
22:5n-6	0.71	0.83	0.37
22:4n-3	0.11	0.13	tr
22:5n-3	4.36	5.42	4.58
24:0	0.66	0.85	tr
22:6n-3	11.68	17.21	13.29
ΣSaturates	27.38	23.88	25.82
ΣMonoenes	33.55	23.80	27.50
ΣPolyenes	39.07	50.32	46.69

*tr:trace.

Table 4-11. Fatty acid compositions (%) of muscle lipids in treat prawn

	Muscle		
Fatty acids	TL	PL	NL
14:0	1.46	1.25	2.70
15:0 anteiso	0.11	0.18	tr
15:0	1.84	1.09	2.06
16:0	16.79	13.99	14.39
16:1n-7	3.31	4.48	3.84
16:0 7Me	0.21	0.09	0.13
16:1n-5	0.31	0.08	0.10
16:2n-7	0.18	0.47	0.36
17:0 iso	0.18	tr	0.10
16:2n-4	0.84	0.54	0.95
17:0	1.41	1.78	1.28
16:3n-4	2.82	1.78	3.95
16:4n-3	1.12	1.21	0.46
16:4n-1	0.71	0.33	0.64
18:0	7.96	4.68	5.18
18:1n-9	14.88	13.97	13.09
18:1n-7	3.31	2.77	5.05
18:2n-6	4.34	5.06	6.05
18:2n-4	0.32	0.27	0.41
18:3n-6	0.51	0.63	0.72
18:3n-4	0.11	0.16	0.25
18:3n-3	0.37	0.10	0.35
18:4n-3	3.42	2.49	4.21
18:4n-1	0.09	0.14	0.12
20:0	0.22	0.32	0.20
20:1n-7	0.79	0.99	0.58
20:3n-9	0.15	0.19	0.11
20:3n-6	0.27	0.33	0.12
20:4n-6	4.65	6.31	3.02
20:3n-3	0.18	0.20	0.29
20:4n-3	1.16	1.41	1.48
20:5n-3	14.58	16.46	13.17
22:0	0.18	0.16	tr
22:1n-7	0.23	0.29	0.12
22:1n-5	0.33	0.36	0.31
22:2n-6	0.25	0.29	tr
21:5n-3	0.15	0.11	0.17
22:4n-6	0.28	0.35	0.12
22:5n-6	0.58	0.66	0.12
22:4n-3	0.11	0.11	0.12r
22:5n-3	4.62	5.14	3.87
24:0	0.12	0.15	tr
22:6n-3	15.42	14.77	14.23
ΣSaturates	27.64	23.25	21.67
ΣMonoenes	27.62	28.53	35.55
ΣPolyenes	44.74	48.22	42.78

*tr:trace.

제 5 장 바지락 양식장에의 현장 적용

제 1 절 연구수행 방법

1. 소형 수조내에서의 저질 개선효과

유익세균의 효과에 대한 연구를 검증하고자 동일 조건인 실내 유리수조 (60 cm × 30 cm × 30 cm)에서 바이오그래뉼 살포에 따른 수조내 바지락의 피해여부 및 저질환경에 미치는 영향을 조사하고자 2004년 6월 4일부터 7월 17일까지 43일간 실시하였다.

실내 유리수조의 사육 실험에 사용된 저질은 3종류를 이용하였다. 대조구로는 유기물 오염이 비교적 덜 된 깨끗한 마사토를 이용하였으며, 저질은 통영 인평동 연안의 저질을 실내로 옮겨 한 곳에서 골고루 섞은 후 수조에 담은 뒤 각 수조당 바지락 20 마리 (≒115 g)씩 수용하고 대조구인 마사토구, 바이오그래뉼 살포구, 미살포구로 나누어 각각 3반복 설정하였다.

수조내에는 적당량 포기를 해 주면서 사육수는 순환시키지 않고 매주 시료채취 후 수량의 10%씩 환수시켰다.

바이오그래뉼의 살포농도는 6.48 g/수조, 1회/주 단위로 5회 저질시료 채취 후 살포하였다. 바지락 종패 살포 후 설치한 실험구와 대조구의 저질환경 상태를 파악하기 위하여 황화물 (H_2S)과 강열감량 (Ignition loss)을 측정하였다.

2. 바지락양식장 저질개선 효과

가. 수질환경

현장실험에 활용할 바지락양식장은 경남 남해군 강진만 해역내 위치한 마을어장이다. 실험해역은 대조시 노출시간이 4-6시간이며, 소조시 노출시간은 1-2시간으로 간조시 실험구 하단 가장자리로부터 20 m까지 노출된다(Fig. 5).

바지락 종패 살포 후 어장주변의 수질 변화상태를 파악하기 위하여 2004년 5월부터 2005년 4월까지 대조시 실험어장의 표층과 저층의 수질환경을 매월 정기적으로 조사하여 실험해역의 수질특성 및 변화상태를 현장조사하고 시료를 채수하여 실험실에서 수질환경을 분석하였다.

매월 채수한 시료는 Chlorophyll-a, 부유물질, 인산염, 용존무기질소, 수질 화학적산소요구량을 측정하였다.

수온과 용존산소, pH, 비중은 현장에서 측정하였고, 화학적산소요구량, 영양염류, 클로로필

-a, 용존무기질소, 부유물질, 인산염은 실험실에서 해양환경공정시험방법 (국립수산과학원, 2002)에 따라 분석하였다.

(1) 수온 및 비중

수온은 수질측정기 (680QS, YSI, USA)를 사용하여 측정하였고 비중은 비중계를 이용하였다. 실험해역에서 측정한 수온과 비중은 평년과 2003년 자료는 인근에 위치한 남해 지족지선에서 매일 측정한 남해해양수산사무소의 연안정지관측 자료를 활용하였다.

(2) 수소이온 농도 (pH)

현장에서 수질측정기 (600QS, YSI, USA)를 이용하였다.

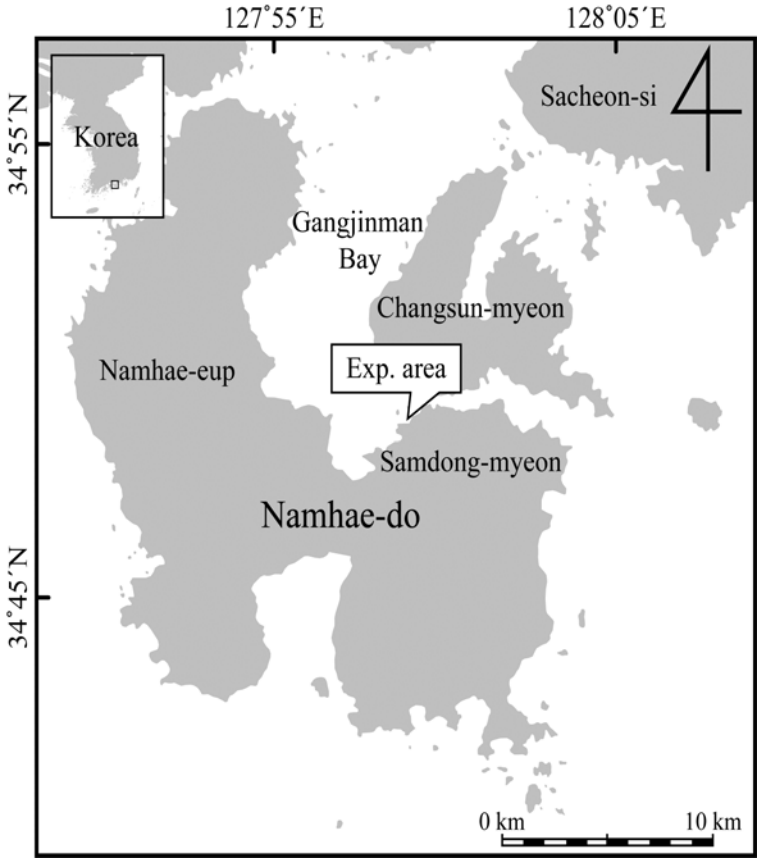

Fig. 5-1. Location of experimental shell farm.

(3) 용존산소 (Dissolved oxygen)

현장에서 수질측정기 (600QS, YSI, USA)를 이용하였다.

(4) 화학적산소요구량 (Chemical oxygen demand)

현장에서 시료를 채취하여 실험실로 옮겨 시료 일정량을 알카리성으로하여 과망간산칼륨 일정량을 넣고 항온수조에서 1시간 가열 반응시킨 후 과잉량의 과망간산칼륨을 티오황산나트륨으로 역적정하여 mg/L로 표시하였다 (국립수산과학원, 2002).

(5) 인산염 (PO_4-P)

조사지점에서 월별로 시료를 채취하여, 유리섬유여과지 (0.45 um membrane filter)로 여과하여 영양염류 분석용 시료를 이용하여 ascorbic acid 환원법에 의해 비색 정량하였다 (Menzel, 1965).

(6) 용존무기질소 (Dissolved inorganic nitrogen)

암모니아 질소 (NH_4-N)는 Indophenol 법에 의해 비색 정량하였고, 아질산 질소는 (NO_2-N)는 sulfanilamide-NED법, 질산 질소 (NO_3-N)는 cadmium reduction 법에 의해 비색 정량하였다.

(7) Chlorophyll-a

현장에서 시수를 채취하여 실험실로 옮겨 여과지 (0.45 um, membrane filter)에 여과시킨 후 90% 아세톤 용액으로 추출한 것을 원심분리시켜 분광광도계 (Genesys5, USA)의 630, 647, 664 및 750nm에서 측정하여 분석하였다.

나. 저질환경

저질환경 개선 효과를 파악하기 위하여 자체 개발한 바이오그래뉼을 살포하여 각 실험구간별 저질환경의 변화를 2004년 5월부터 2005년 3월까지 매월 1회 간조시에 저질을 채취하여 조사하였다

바지락양식장에서 실험구와 대조구의 설정은 4반복구로 대실험구(10 m×10 m)를 조성하였으며, 각 대실험구 내에는 다시 3반복으로 사각 플라스틱 상자(31 cm × 53 cm × 16 cm) 6개씩을 저면에 매몰 소실험구를 설정하였다. 대실험구간의 간격은 5 m로 하였다 (Fig. 5-3).

바지락 양식장의 저질개선효과를 구명하기 위한 저질개선제 (바이오그래뉼)는 3.6 kg/100

m^2 농도로 살포하였다. 이 비율은 폐쇄식 양식장인 축제식 새우양식장 (1.8 kg/100 m^2)보다 실험장소가 개방식 해양에서 이루어지고 있는 환경 특성을 감안하여 두배로 많은 그래뉼을 살포하였다..

바이오그래뉼은 매월 간조시 바지락 개체와 저질시료 채취 후 대실험구(10 m × 10 m)에 3.6 kg/100 m^2를 살포하고, 대실험구내에 설치된 소실험구인 사각플라스틱상자 (31 cm × 53 cm × 16 cm)에도 같은 비율인 5.7 g/0.16 m^2을 각각 살포하였다.

바이오그래뉼은 살포 후 실험어장내 바닷물이 밀려들기 전 바닥에 남아있는 소량의 물에 희석되어 저질에 흡수될 수 있도록 시간적 여유를 두고 살포하였다. 바이오그래뉼은 2004년 5월말 바지락을 살포한 후 부터 1회/월 주기로 7회 살포하였으며, 2004년 12월부터는 그래뉼을 살포하지 않고 실험구와 대조구의 저질환경 변화 상태를 2005년 3월까지 측정하였다.

바지락 종패 살포 후 실험구와 대조구의 저질환경 변화 정도를 파악하기 위하여 저질의 황화물 (H_2S)과 강열감량 (I.L)을 매월 조사하였다. 저질시료 채취는 실험구 (10 m × 10 m)와 대조구 각 4개소 및 각 실험구내에 각각 3반복으로 설치한 사각 플라스틱 상자 (31 cm × 53 cm × 16 cm)에서 저면 5 cm 깊이까지의 저질 40-50 g을 채취하여 실험실로 운반 후 분석하였다.

Fig. 5-2. Ocular inspection of surf clam conditions in the experimental area.

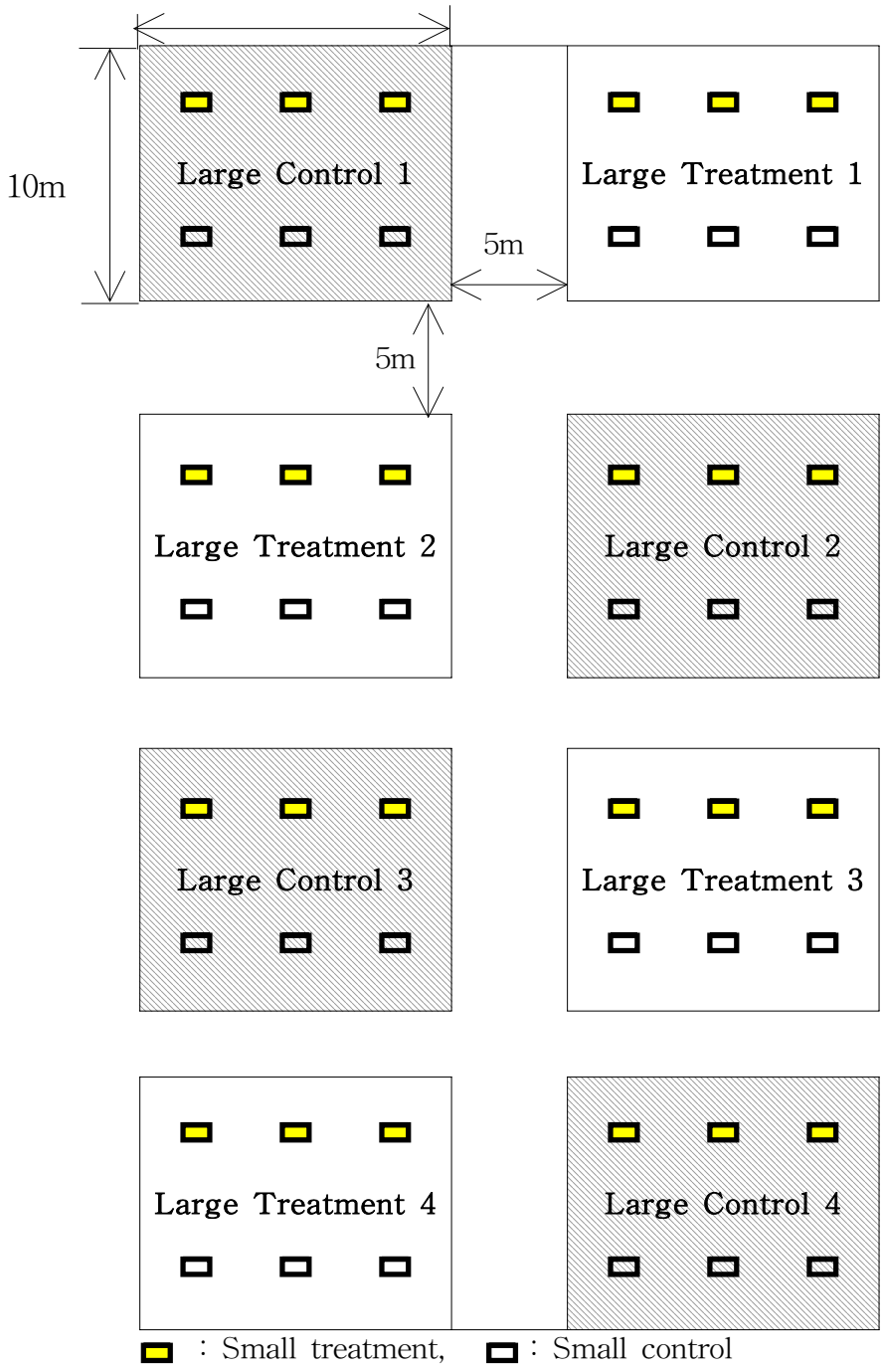

Fig. 5-3. Schematic diagram of experimental site.

(1) 황화물 (Sulfide)

습시료 적량을 정확히 달아 황화수소 발생관에 넣고 검지관을 부착시킨 후 황산을 넣어 발생한 황화수소를 펌프로 흡입하여 검지관의 변색 범위로써 황화물량을 계산하였다.

$$S(mg/g, \text{dry base}) = \text{검지관의 눈금} \times \frac{100}{S1 \times S2}$$

S1: 시료량 (g), S2 : 건조백분율 (%)

(2) 강열감량 (Ignition Loss)

저질시료 20 g을 도가니에 취하여 무게를 1 mg 단위까지 측정한 후, 100℃ 건조기에서 24시간 동안 완전히 건조시켜 무게를 측정한 다음 550℃ 전기 회화로에서 2시간 동안 항량이 될 때까지 강열하였다. 데시케이타 속에서 방냉한 다음 무게를 측정하여 채취한 시료에 대한 감량을 백분율로 나타내었다.

다. 바지락 성장도

바이오그래뉼을 바지락 시험어장에 살포하여 저질개선 효과에 따른 바지락의 성장차이를 파악하고자 2005년 4월 채취시까지 매월 1회 대조시 때 대실험구와 소실험구의 실험구 (바이오그래뉼살포구)와 대조구에 임의구획자 (30 cm × 30 cm)를 조사위치에 놓은 후 삽과 호미를 이용하여 10-15 cm 깊이까지 저질을 파내어 보관용기에 담은 후 손으로 바지락을 선별 선별·채취하였다. 채취된 바지락은 실험실로 옮긴 후 패각에 묻어있는 뻘을 제거한 뒤 성장도 조사에 사용하였다.

바지락의 각장, 각고, 각폭은 vernier calipers를 이용하여 0.01 cm 단위까지 측정하였고, 각부중량과 육중량은 전자 직시 천평을 이용하여 0.01 g까지 측정하였다. 월별 비만도 (condition index) 변화상태는 Momoyama and Ishmoto(1979)의 비만도 계산식 (비만도=육중량×1000/(각장 × 각고 × 각폭)을 이용하여 월별 변화상태를 조사하였다.

라. 바지락 생산량

바이오그래뉼 살포 후 저질환경 변화 및 효과를 비교하고자 실험구 (바이오그래뉼살포)와 대조구 (미살포)를 같은 지선에 각 4반복 설정하였다.

실험구와 대조구의 크기는 각각 10 m × 10 m 크기로 8개구역으로 설정하였는데, 실험구간의 경계는 3 mm 로프를 이용하여 표시하였으며, 각 구간의 경계는 5 m를 유지하였다.

각 실험구별 바지락 살포량은 대실험구는 80 ㎏/100 ㎡, 소실험구는 116 g/0.16 ㎡ 비율로 각각 살포하였다.

바지락 종패는 2004년 5월 전남 순천에서 생산된 것을 구입하여 남해군 삼동지선의 바지락양식장에 대실험구 (10 m × 10 m)의 실험구와 대조구에 4반복으로 살포하고, 살포시 6.0 g되는 종패를 대실험구의 각 구획마다 80 ㎏/100 ㎡씩 살포하였다. 2005년 4월 채취는 어촌계원들이 호미를 이용하여 직접채취 하였으며, 채취한 바지락은 망사에 담아 흙을 깨끗이 제거한 후 구획별로 무게를 측정하였다.

3. 통계 처리

각 그룹간의 차이를 분석하기 위하여 실시한 모든 통계 분석은 SPSS 10.0k (SPSS, USA) 통계 프로그램을 사용하여 두 그룹간 비교에서는 T-test를 실시하였고, 네 그룹간 비교에서는 일원배치 분산분석을 실시하였다. T-test와 일원배치 분산분석 유의수준을 0.05이내로 지정하였으며 일원배치 분산분석의 사후검정에서는 Duncan´s multiple range test (Nie et al., 1975)방법으로 유의성 검정하였다 ($P<0.05$).

제 2 절 연구개발의 결과

1. 소형 수조내에서의 저질 개선효과

동일조건의 실내 (유리수조, 60 cm × 30 cm × 30 cm)에서 바이오그래뉼의 살포에 따른 수조내 바지락의 상태 및 저질환경 변화를 조사하고자 2004년 6월 4일부터 7월 17일까지 43일간 실시한 결과는 Fig. 7, 8 및 Table 14와 같다.

1) 황화물 (Sulfide)

바지락을 유리수조에 수용한 후 기간에 따른 각 실험구와 대조구의 황화물 농도는 마사토구에서 0-0.012 (평균 0.004 ± 0.004)mg/g・dry였다. 실험 초기 저질 황화물 농도는 그래뉼살포구 0.13 mg/g・dry, 미살포구 0.14 mg/g・dry였다. 그래뉼 살포구는 0.103-0.202 (평

균 0.154 ± 0.04) mg/g・dry로 미살포구 0.145-0.365 (평균 0.291 ± 0.09) mg/g・dry에 비해 낮은 황화물 농도를 나타내었다 (Table 14).

바이오그래뉼 살포구의 황화물 농도는 실험기간 동안 서서히 증가하여 최고 농도 0.20 mg/g・dry였다. 미살포구는 살포구에 비해 급격한 황화물 농도 증가를 보인 후 최고농도 0.36 mg/g・dry를 나타내었다 (Fig. 7). 실내수조 실험기간동안 살포구는 미살포구에 비해 유의성 있는 낮은 황화물 농도를 나타내었다 ($P<0.05$).

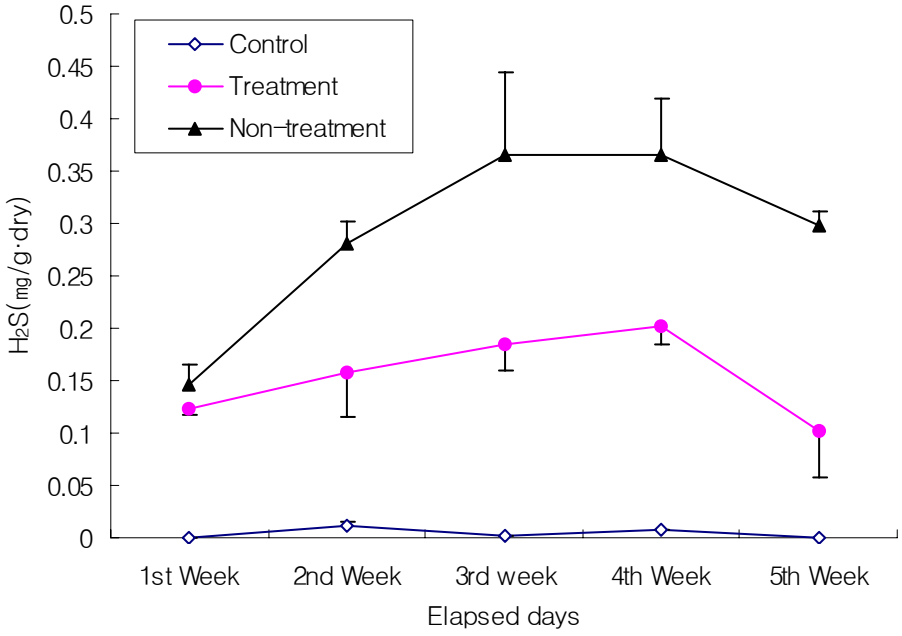

Fig. 5-4. Weekly changes in the sulfide of experiments in aquaria.

Table 5-1. Changes in the ignition loss and sulfide of experimental aquaria

		´04. 6/9	6/18	6/24	7/5	7/17
Sulfide (mg/g · dry)	Control (Kaoline)	0^{c}	0.012^{c}	0.002^{c}	0.007^{c}	0^{c}
	Treatment (Mud)	0.124^{a}	0.157^{b}	0.185^{b}	0.202^{b}	0.103^{b}
	Non-Treatment (Mud)	0.145^{a}	0.280^{a}	0.365^{a}	0.365^{a}	0.298^{a}
Ignition Loss (%)	Control (Kaoline)	2.85^{b}	3.04^{b}	2.64^{c}	2.66^{b}	2.25^{b}
	Treatment (Mud)	6.09^{a}	6.32^{a}	4.94^{b}	5.88^{a}	5.36^{a}
	Non-Treatment (Mud)	6.52^{a}	6.79^{a}	6.06^{a}	6.57^{a}	6.03^{a}

※ The lettersk (a, b, c) above numbers indicate statistical differences ($P<0.05$).

2) 강열감량 (Ignition Loss)

바지락을 저질이 담긴 실내 유리수조에 바지락을 수용한 후 저질의 강열감량을 측정하였다. 마사토를 담은 대조구는 2.25-3.0% (평균 2.69%)의 낮은 강열감량을 나타내었다.

바이오그래뉼 살포구와 미살포구는 대조구에 비해 더 높은 강열감량을 나타내었다. 실험기간 동안 강열감량의 큰 변화는 생기지 않았으나 살포구 5.35-6.32% (평균 5.72 ± 0.56%)가 미살포구 6.02-6.79% (평균 6.40 ± 0.34%)에 비해 강열감량이 더 감소하였다 (Fig. 8). 대조구는 그래뉼살포구와 미살포구에 비해 낮은 강열감량으로 유의성 있는 차이를 나타내었다 ($P<0.05$). 세 그룹을 대상으로 통계분석시 그래뉼살포구와 미살포구 간에는 유의성 있는 차이를 나타내지 않았지만, 살포구와 미살포구 간의 유의성 검증에서는 살포구의 강열감량이

미살포구보다 유의성 있게 낮게 나타났다 ($P<0.05$).

실내 유리 수조에 바지락을 수용한 후 포기(aeration)를 하면서 30일 정도 지난 후 마사토 구를 제외한 저질을 수용한 대부분 수조에서 수질상태가 좋지 않아 시료를 채취하고 난 뒤 수량의 1/2정도를 환수해 주었다. 1주일 지난 뒤 강열감량은 모든 실험구에서 환수 전의 강열감량 보다 낮게 나타났다.

실험기간 동안 바이오그래뉼 살포구는 미살포구보다 강열감량이 지속적으로 낮게 나타났다.

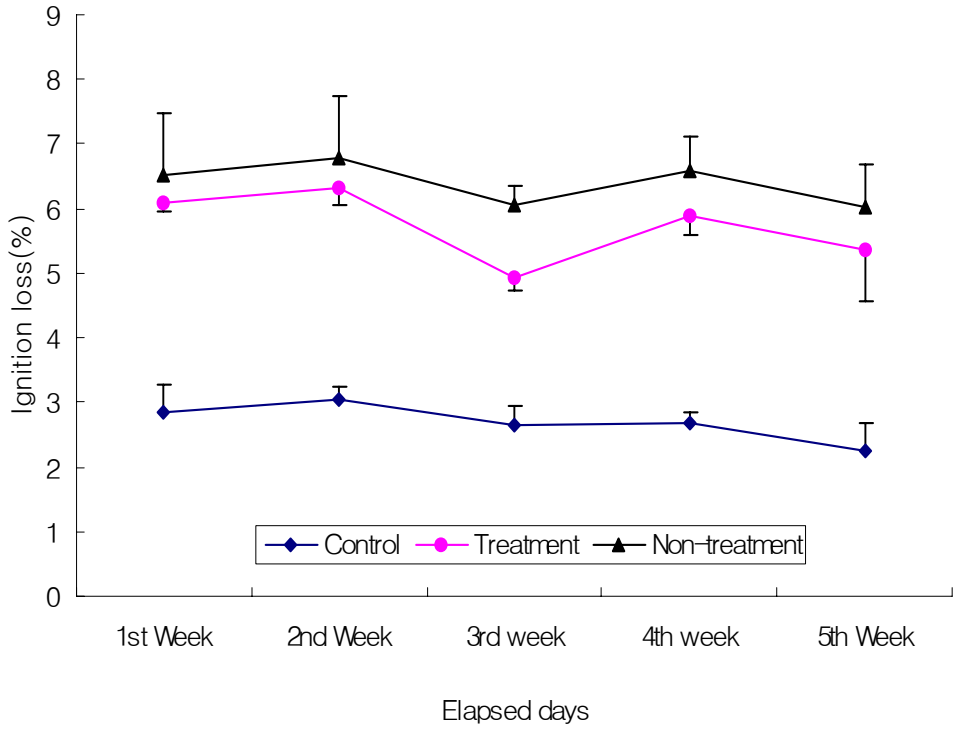

Fig. 5-5. Weekly changes in the ignition loss of experimental aquaria.

2. 바지락양식장 저질개선 효과

가. 수질환경

실험어장이 위치한 해역의 수질변화를 관측하기 위하여 2004년 5월부터2005년 4월까지 매월 수온 (℃), 비중 (1.0-), pH, 용존산소 (mg/L), 화학적산소요구량 (mg/L), 인산염 (mg/L), 용존무기질소 (mg/L), 클로로필-a (㎍/L)을 조사하였으며, 이에 대한 월별 측정값은 Fig. 9-16 및 Table 15에 각각 나타내었다.

(1) 수온 및 비중

실험어장과 인접한 남해군 지족지선의 월별 수온 변동은 Fig. 9와 같다. 2004년 5월 바지락 살포시 수온은 18.2℃로 평년과 비슷하였으며, 8월 평균 25.6℃까지는 수온이 증가하여 9월부터 낮아지는 전형적인 우리나라 해역의 수온 분포를 나타내었다. 5월부터 12월까지 수온은 대부분 평년과 비슷하였으나, 7월 중순과 9월 중순은 무더운 날씨로 인하여 평년보다 0.5-0.7℃높게 나타났다.

조사 기간동안 최고 수온은 8월 상순 28℃이상 높게 관측되었으며, 간조시 기온의 영향을

받는 곳은 이보다 훨씬 높았다. 일부 바지락개체는 이 무렵이 지난 9월 중순 이후부터 소량씩 폐사가 발생하였다. 9월 이후부터의 수온은 월간 5-6℃씩 낮아졌다.

실험어장의 비중(1.0-)은 비중계를 이용하여 측정하였고, 월별 비중은 Fig. 10에 나타내었다. 조사기간 동안의 월별 평균 비중은 1.0189-1.0256의 범위를 나타내었으며, 다른 해역에서와 마찬가지로 실험어장에서의 비중도 수온이 낮은 시기인 겨울철이 높게 나타났으며, 강우가 많은 9월에는 평균 1.0189로 다른 해역에 비해 낮게 나타났다. 실험기간 동안 비중의 변화에 따른 바지락의 폐사 징후는 발견 되지 않았다.

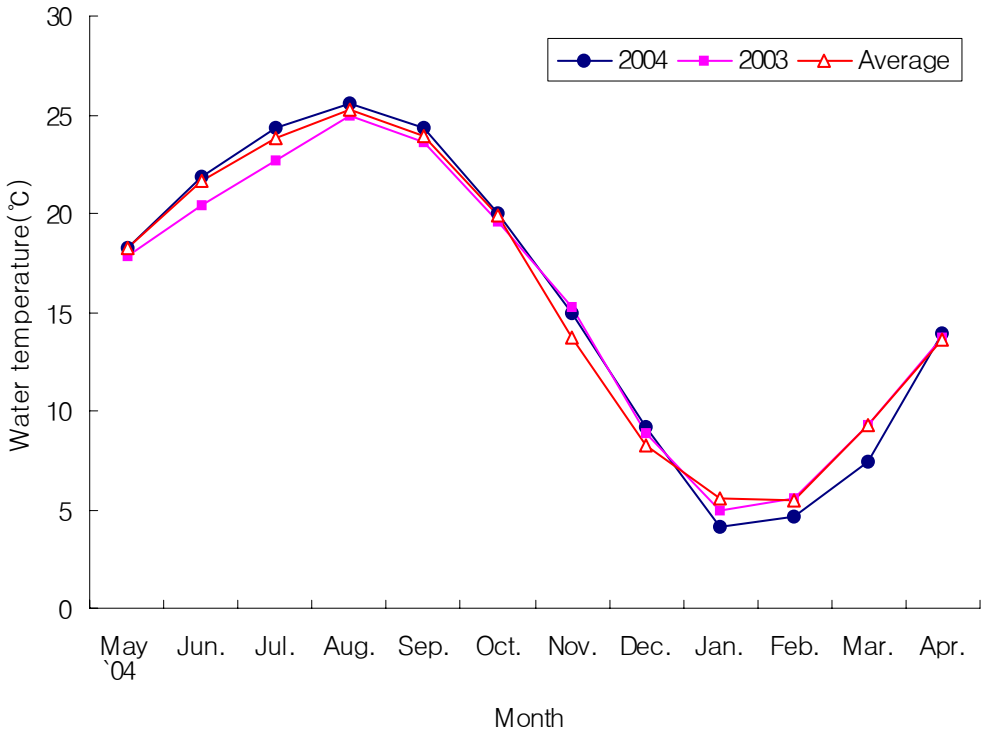

Fig. 5-6. Monthly changes in the water temperature at the experimental farm.

Table 5-2. Water quality of experimental farm area

	Depth	Temp. (℃)	S. G (1.0-)	pH	DO (mg/ℓ)	W.COD (mg/ℓ)	DIN (mg/ℓ)	PO_4-P (mg/ℓ)	Chlo.-a (μg/ℓ)
May ´04	Surface	18.2	243	8.07	8.13	1.66	0.019	0.008	5.84
	Bottom			8.10	7.98		0.019	0.008	7.19
Jun.	Surface	21.9	220	8.22	11.6	2.38	0.025	0.005	7.61
	Bottom			8.0	6.0		0.025	0.006	7.38
Jul.	Surface	24.3	203	8.03	8.24	1.90	0.084	0.004	7.87
	Bottom			8.14	10.48		0.060	0.001	8.66
Aug.	Surface	25.6	196	7.94	8.18	2.09	0.034	0.014	7.46
	Bottom			7.91	6.39		0.025	0.014	4.51
Sep.	Surface	24.3	189	8.20	8.81	1.32	0.033	0.024	11.44
	Bottom			8.10	8.59		0.034	0.021	12.59
Oct.	Surface	20.0	216	8.06	8.47	2.01	0.033	0.015	12.12
	Bottom			8.08	8.66		0.030	0.016	9.20
Nov.	Surface	15.0	241	8.04	9.63	1.72	0.033	0.024	4.89
	Bottom			8.05	9.89		0.034	0.021	4.73
Dec.	Surface	9.2	256	8.10	9.80	1.70	0.030	0.012	5.10
	Bottom			8.10	9.80		0.030	0.013	4.60
Jan. ´05	Surface	4.1	262	8.16	12.45	0.94	0.063	0.014	-
	Bottom			8.22	12.30		0.055	0.021	-
Feb.	Surface	4.6	265	8.14	13.10	1.01	0.084	0.010	-
	Bottom			8.20	12.88		0.117	0.015	-
Mar.	Surface	7.4	264	8.15	12.01	1.41	0.079	0.012	-
	Bottom			8.08	9.58		0.095	0.018	-
Apr.	Surface	13.9	257	8.10	9.10	0.48	0.052	0.007	-
	Bottom			8.10	8.89		0.055	0.010	-

※ S. G(1.0-) : Specific gravity; W. COD (Water chemical oxygen demand).

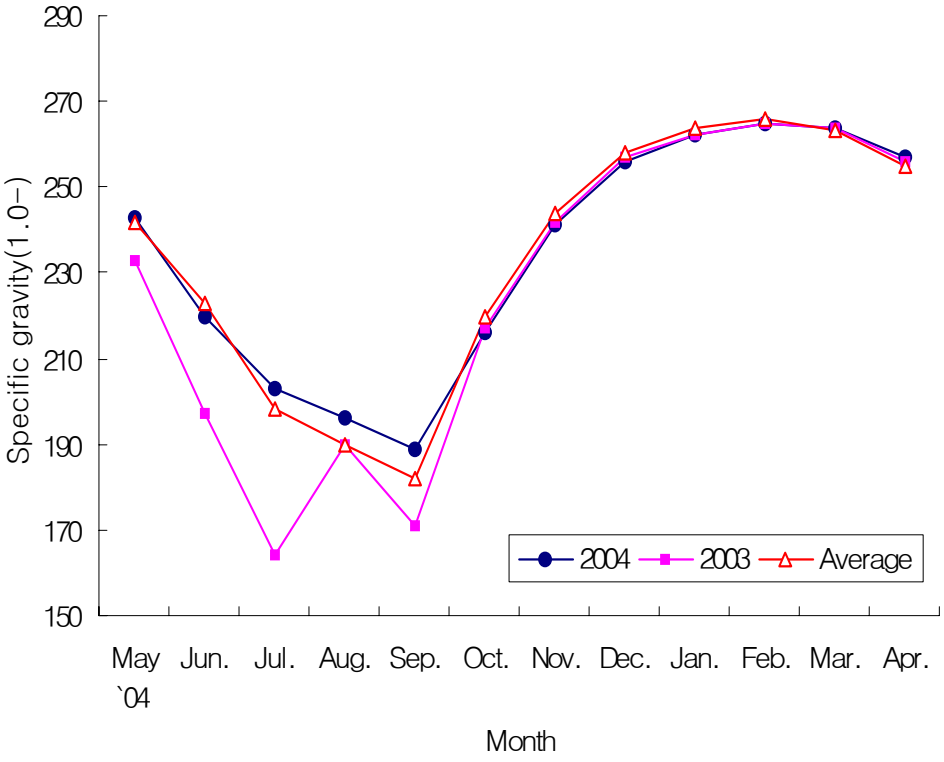

Fig. 5-7. Monthly changes in the specific gravity at the experimental farm.

(2) 수소이온농도 (pH)

pH는 실험기간동안 표층이 7.94-8.22, 저층이 7.91-8.22 범위로 저층의 pH가 일부 낮았으나, 표·저층 모두 7.9-8.2 범위내에서 큰 차이를 나타내지는 않았다 (Fig. 11). 실험기간중 표층과 저층의 pH 변화를 보면 표층의 경우 2004년 6월이 8.22로 가장 높았고 8월이 7.9로 가장 낮았으며, 저층은 2005년 1월이 8.22로 가장 높았고 8월이 7.91로 가장 낮았으나 표층과 저층의 pH 차이는 확인 되지 않았다

(3) 용존산소 (Dissolved oxygen)

용존산소는 표층에서 식물성플랑크톤이 대량으로 발생한 2004년 6월 11.6 mg/L, 수온이 낮은 2005년 1-3월은 과포화 이상의 농도를 나타내었다. 실험기간 동안 표층은 8.1-13.1 mg/L, 저층에서도 6.0-12.9 mg/L로 높게 나타났다 (Fig. 12). 수온이 낮은 시기에는 표층과 저층 모두 포화도에 가까운 높은 용존산소 농도를 나타내었다. 조사기간 동안 실험어장이 위치한 해역의 용존산소는 해역수질기준 Ⅰ등급에 해당하였다.

(4) 화학적산소요구량 (Chemical oxygen demand)

수질 COD는 1.32-2.38 mg/L로 6월, 8월의 COD값을 제외하고는 해역Ⅱ등급인 2.0 mg/L보다 낮게 나타났으며, 월별 변화 양상은 Fig. 13에 나타내었다. 계절에 따른 뚜렷한 차이는 없었으나, 수온이 낮은 겨울철이 다른 계절에 비해 낮은 화학적산소요구량을 나타내었다.

(5) 인산염 (PO_4-P)

인산염 농도는 표층 0.004-0.024 mg/L, 저층 0.001-0.021 mg/L였다. (Fig. 14). 가장 낮은 인산염 농도는 2004년 7월 저층에서 0.004 mg/L를 나타내었다. 표층과 저층간 유의성 있는 차이는 없었다 ($p > 0.05$). 9월, 11월 인산염 농도는 표층과 저층에서 0.020 mg/L를 초과하였지만 나머지 조사 월에서는 0.02 mg/L를 초과하지 않았다.

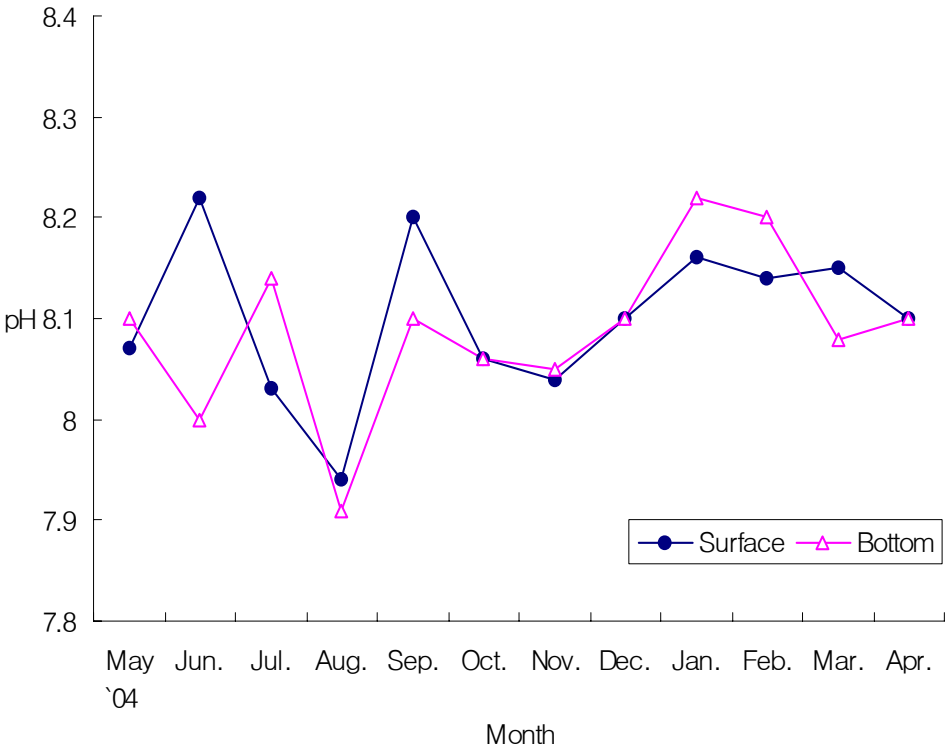

Fig. 5-8. Monthly changes in the pH at the experimental farm.

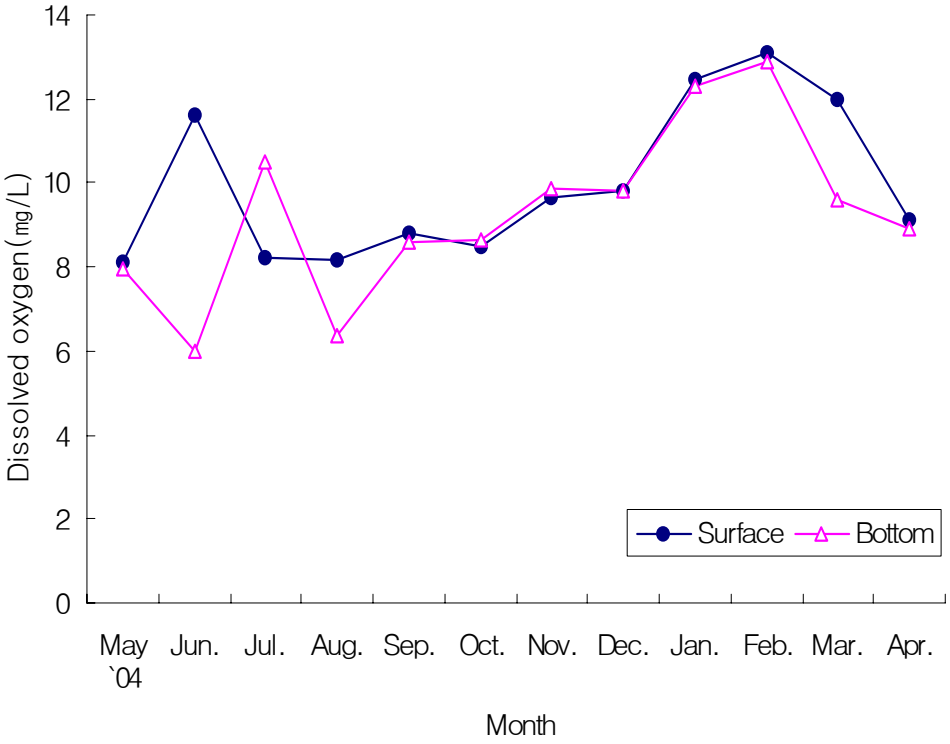

Fig. 5-9. Monthly changes in the dissolved oxygen at the experimental farm.

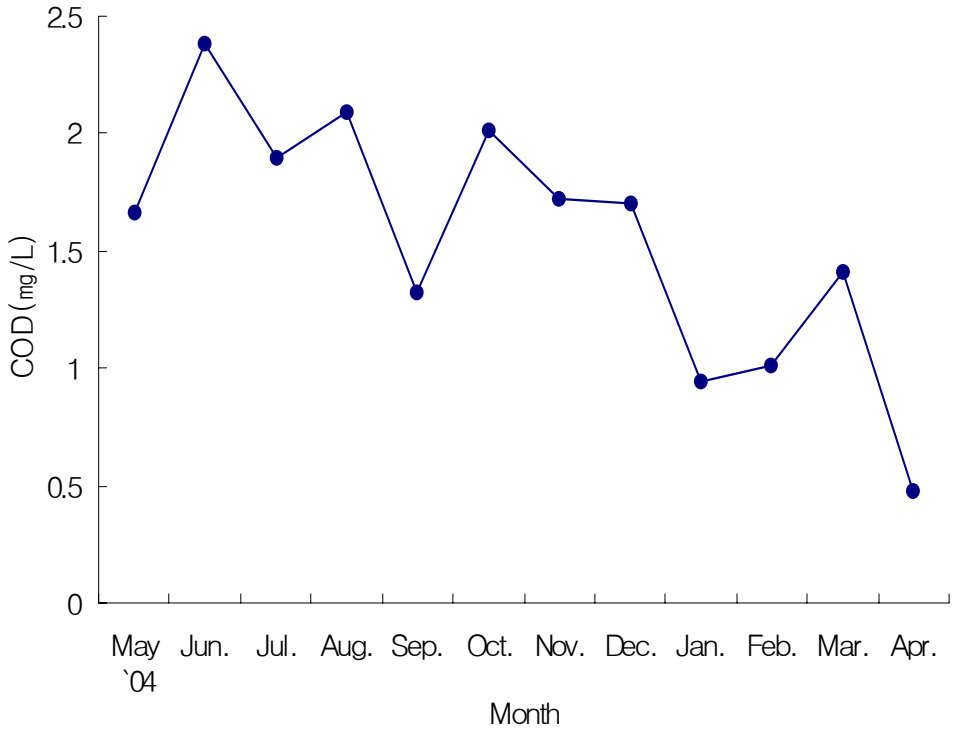

Fig. 5-10. Monthly changes in the COD at the experimental farm.

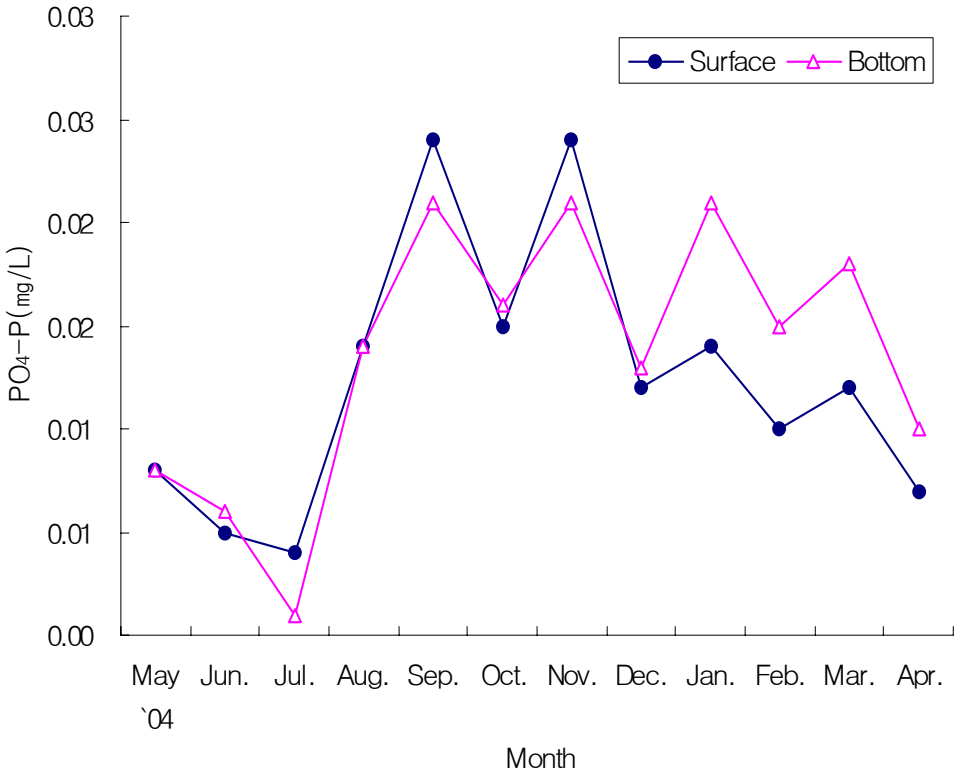

Fig. 5-11. Monthly changes in the PO_4-P at the experimental farm.

(6) 용존무기질소 (Dissolved inorganic nitrogen)

암모니아질소, 아질산질소, 질산질소의 전체값을 합쳐 나타낸 용존무기질소(DIN)는 실험어장의 표층에서 0.019-0.084 mg/L, 저층에서 0.019-0.060 mg/L를 나타내었다 (Fig. 15). 강우량이 적은 겨울철이 다른 계절에 비해 낮은 용존무기질소 농도를 나타내었다. 용존무기질소(DIN)는 실험어장의 표층에서 0.019-0.084 mg/L, 저층에서 0.019-0.060 mg/L를 나타내었다. 강우량이 적은 9월-12월이 다른 조사 월보다 낮은 농도를 나타내었다.

(7) Chlorophyll-a

실험기간동안 클로로필-a 농도를 측정한 결과는 표층에서 4.89-12.12 ug/L, 저층에서 4.51-12.59 ug/L으로 저층이 표층에 비해 조금 더 낮았다 (Fig. 16). 월별 변화양상을 보면 표층과 저층에서 2004년 9월과 10월에 높은 농도 분포를 보였다. 2004년 11월, 12월은 표·저층에서 다른 조사 월에 비해 상대적으로 낮은 농도값을 나타내었다.

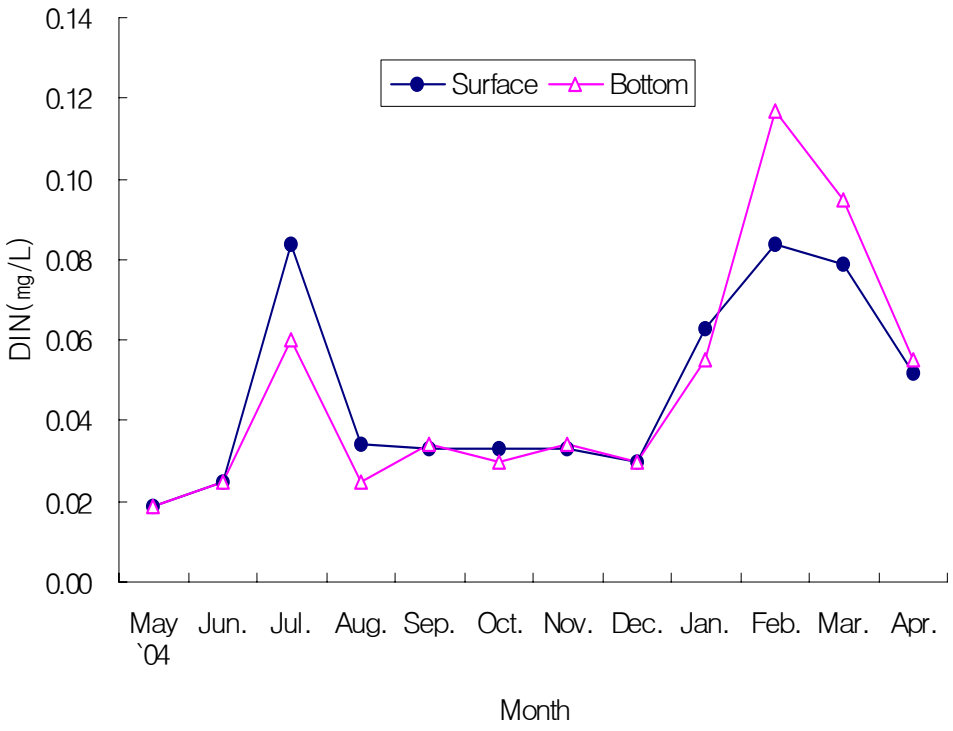

Fig. 5-12. Monthly changes in the DIN at the experimental farm.

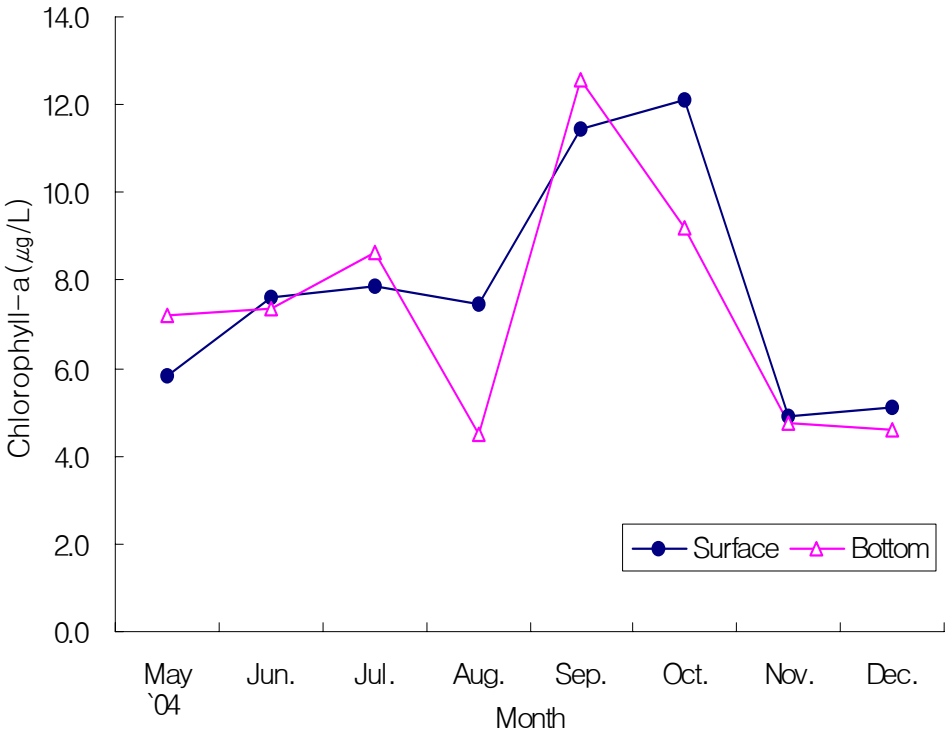

Fig. 5-13. Monthly changes in the chlorophyll-a at the experimental farm.

나. 저질환경

(1) 황화물 (Sulfide)

강진만내 실험어장에서 2004년 5월부터 2005년 3월까지 간조시 시료를 채집하여 분석한 저질의 황화물 농도 측정 결과는 Table 16, 17 및 Fig. 17-21에 나타내었다.

① 대실험구 황화물

대실험구의 황화물 평균 농도는 7월 실험구는 0.01 ± 0.005 mg/g・dry, 대조구는 0.01 ± 0.003 mg/g・dry였다. 8월은 실험구와 대조구 모두 실험구 0.027 ± 0.003 mg/g・dry, 대조구 0.024 ± 0.001 mg/g・dry로 7월에 비해 2배 이상 높게 나타났다. 이후 대조구는 황화물 농도가 지속적으로 증가하였으나, 그래늄을 살포한 실험구는 대조구와 달리 증가하지 않고 점차적으로 감소하였다 (Fig. 17).

실험기간동안의 황화물 농도는 실험구가 0.009-0.028 (평균 0.019 ± 0.005)mg/g・dry으로 대조구의 0.010-0.046 (평균 0.028 ± 0.008) mg/g・dry보다 더 낮은 황화물 농도를 나타내었다. 실험구와 대조구의 분기별 황화물농도에 대한 통계적 유의성 결과는 Fig. 18에 나타내었다.

2004년 3/4분기 실험구와 대조구의 황화물 평균 농도는 모두 0.021 ± 0.009 mg/g・dry로 유의성을 나타내지 않았으나($P>0.05$), 2004년 4/4분기 황화물 농도는 실험구가 0.021 ± 0.012 mg/g・dry으로 대조구 0.041 ± 0.017 mg/g・dry보다 유의성 있는 낮은 황화물 농도를 나타내었다 ($P<0.05$). 2005년 1/4분기는 실험구 0.013 ± 0.004 mg/g・dry, 대조구 0.023 ± 0.006 mg/g・dry으로 실험구가 유의성 있는 낮은 황화물 농도를 나타내었다 ($P<0.05$)

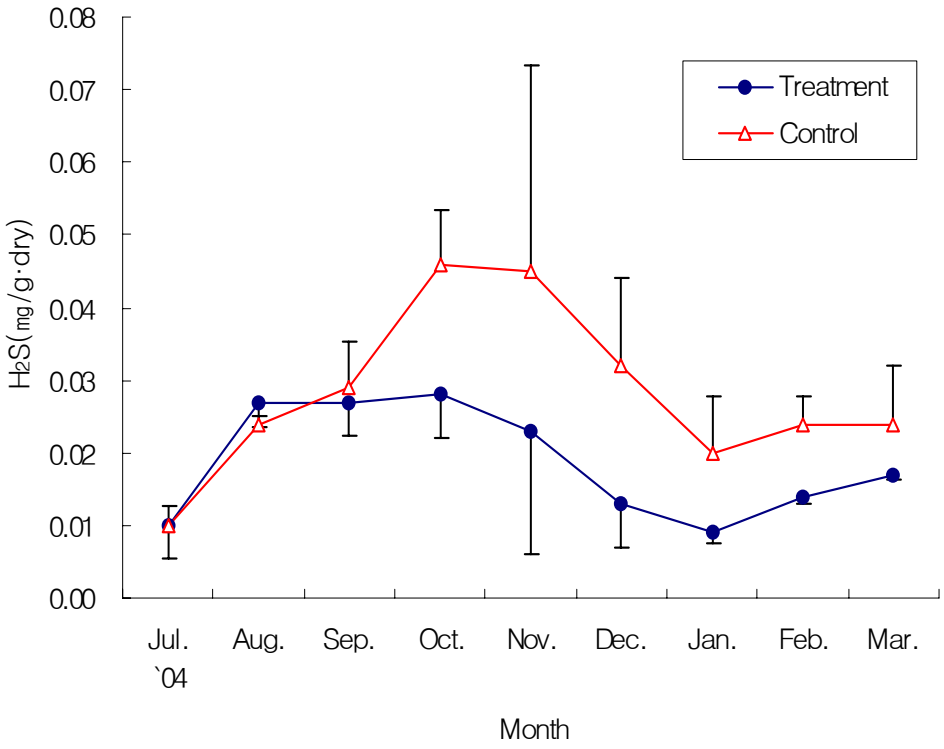

Fig. 5-14. Monthly changes in the sulfide at the large experimental farm.

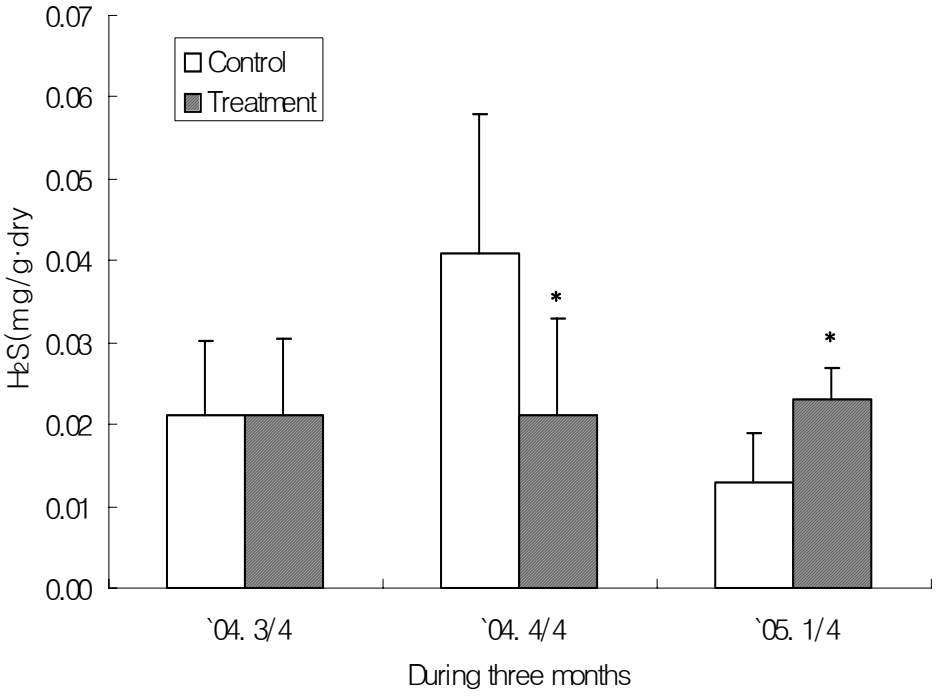

Fig. 5-15. Variation in the average sulfide during three months at the large experimental farm. The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control ($P<0.05$).

대실험구에서 실험구가 대조구에 비해 낮은 황화물 농도를 유의적으로 나타낸 것은 바이오그래뉼내 유익세균이 저질속의 황화물 농도를 감소시켰기 때문이다.

② 소실험구 황화물

대실험구 (10 m × 10 m)내 설치된 소실험구 (31 cm × 53 cm × 16 cm)에서의 황화물 농도는 2004년 7월 0.018 mg/g・dry, 대조구 0.017 mg/g・dry였으나, 8월에는 실험구와 대조구 모두 7월에 비해 2배 이상 높은 실험구 0.052 ± 0.019 mg/g・dry, 대조구 0.062 ± 0.007 mg/g・dry였다. 실험기간동안 월별 황화물 평균농도는 실험구 0.014-0.052 (평균 0.032 ± 0.005) mg/g・dry, 대조구 0.017- 0.064 (평균 0.044 ± 0.04) mg/g・dry로 실험구가 대조구보다 더 낮았다 (Fig. 19).

실험구와 대조구의 황화물농도에 대한 통계적 유의성을 계절별(분기)로 실시한 결과는

Fig. 20, 21과 같다. 소실험구의 월별 황화물 농도를 실험구내 실험구, 실험구내 대조구, 대조구내 실험구, 대조구내 대조구의 4그룹으로 나누어 비교 한 결과 2004년 3/4분기는 네 그룹 모두 유의성을 나타내지 않았지만, 2004년 4/4분기는 실험구가 0.041 ± 0.015mg/g・dry, 0.044 ± 0.017 mg/g・dry으로 그래뉼살포 대실험구내 설치된 대조구의 0.063 ± 0.025 mg/g・dry보다 유의성 있게 낮게 나타났다 (Fig. 20, $P<0.05$). 2005년 1/4분기도 실험구가 0.025 ± 0.009 mg/g・dry, 0.021± 0.014 mg/g・dry로 대조구의 0.045 ± 0.027 mg/g・dry 보다 유의성 있게 낮았다 ($P<0.05$).

분기별 농도에서 2004년 4/4분기와 2005년 1/4분기동안 실험구는 대조구에 비해 황화물 농도를 더 낮았다 (Fig. 21).

대실험구내 설치된 소실험구에서도 대실험구에서와 같은 그래뉼을 살포한 실험구가 미살포구에 비해 낮은 황화물 농도를 유의성 있게 나타내었다 ($P<0.05$).

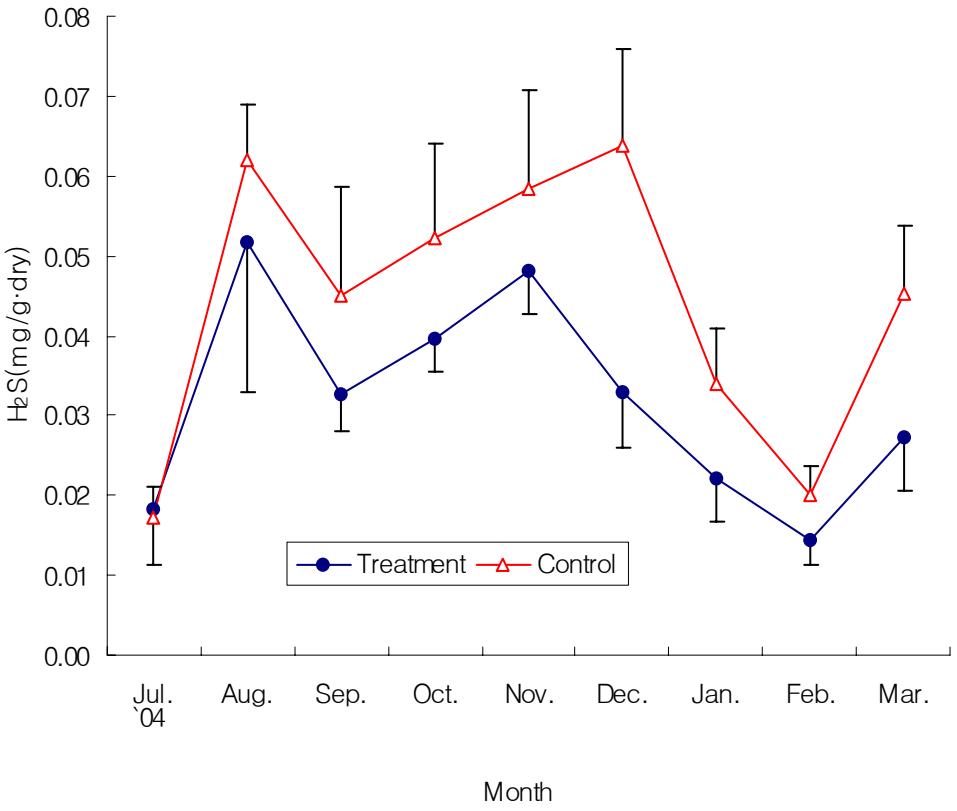

Fig. 5-16. Monthly changes in the sulfide at the small experimental farm.

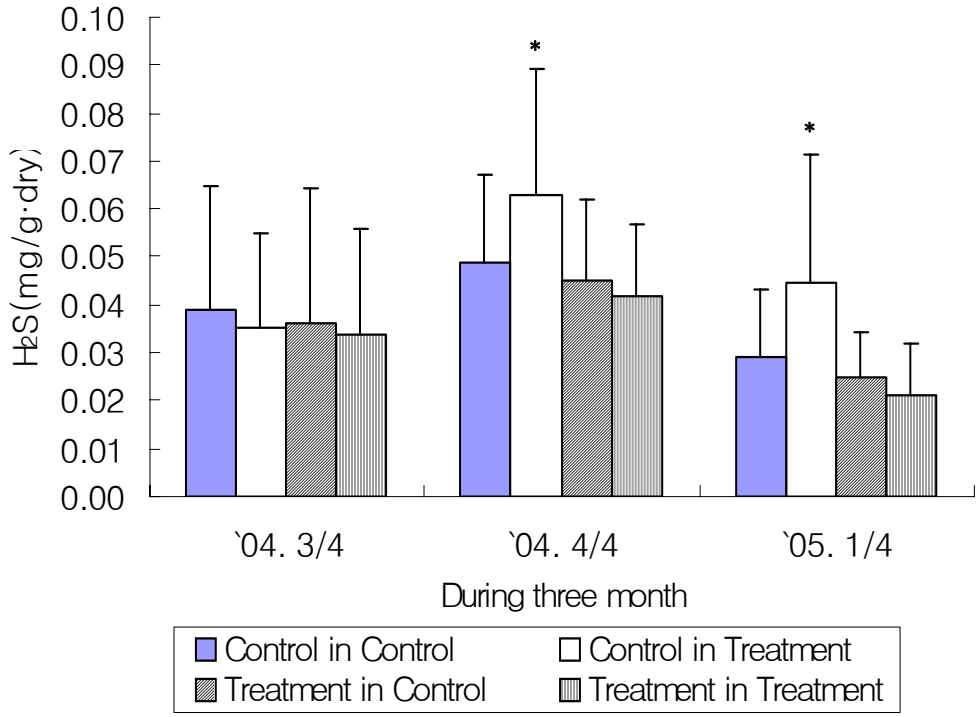

Fig. 5-17. Variation in the average sulfide during three months at the four small groups in large scale experiments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control ($P<0.05$)].

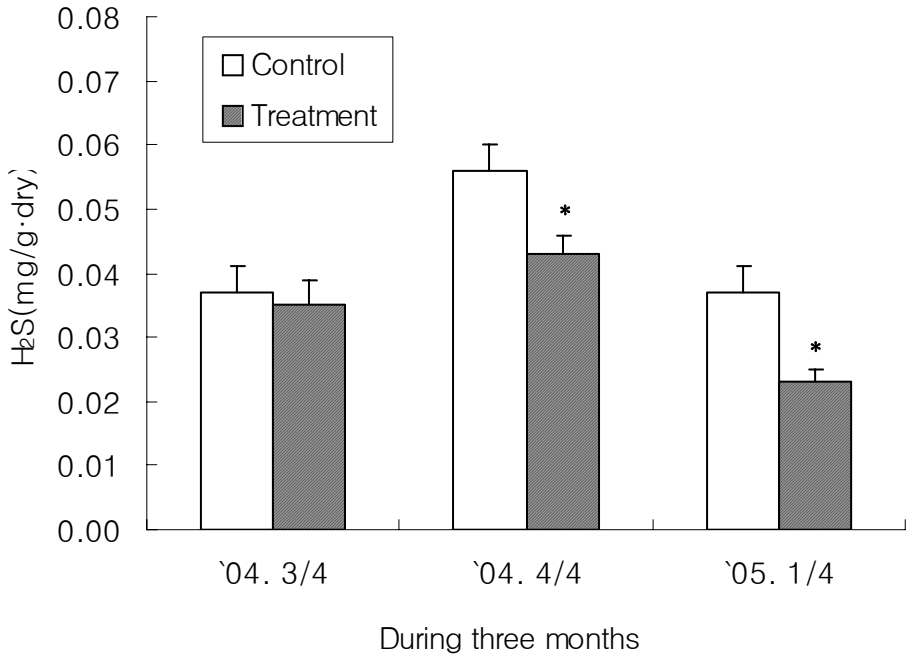

Fig. 5-18. Variation in the average sulfide during three months at the small scale experiments in large scale experriments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control (P<0.05)].

대실험구내 설치된 소실험구의 황화물 농도는 대실험구의 그래늅 살포에 따른 황화물 농도의 변화 보다는 소실험구내에 그래늅의 살포 여부가 더 많은 영향을 주었다. 소실험구에서 그래늅을 살포한 실험구는 대조구에 비해 대부분 조사 월에서 낮은 황화물 농도를 나타내었다.

가장 높은 황화물 농도는 12월 대실험구의 실험구내 설치한 소실험구의 대조구에서 0.070 ± 0.021 mg/g · dry로 가장 높았다 (Table 16).

대부분 조사 기간에서 소실험구의 황화물농도는 실험구가 대조구에 비해 더 낮은 황화물 농도를 나타내었다.

이상의 결과에서 대실험구와 소실험구에서 실험구와 대조구의 황화물 농도를 각각 비교해 보면 대실험구에서는 그래늅 실험구가 10월 0.028 ± 0.006 mg/g · dry로 가장 높았고, 대조

구는 10월 0.046 ± 0.007 mg/g・dry, 11월 0.045 ± 0.028 mg/g・dry로 나타났다 (Table 17). 대부분 조사 월에서 실험구는 대조구에 비해 낮은 황화물 농도를 나타내었다. 소실험구에서 실험구는 8월 0.052 ± 0.019 mg/g・dry로 가장 높았고, 대조구는 8월 0.062 ± 0.007 mg/g・dry, 12월 0.064 ± 0.012 mg/g・dry로 높았다. 조사기간 동안 그래뉼을 살포한 실험구는 미살포구에 비해 대부분 조사 월에서 낮은 황화물 농도를 나타내었다.

실험기간동안 바지락양식장에 바이오그래뉼을 살포 한 후 각 구간별 황화물 농도를 비교한 결과 실험구가 대조구에 비해 유의성 있는 낮은 황화물 농도를 나타낸 것은 바이오그래뉼내 유익세균이 저질의 황화물 농도를 감소시켰기 때문이다.

Table 5-3. Monthly changes in the average sulfide at the small experiments in large scale experiments

Sulfide	Treatment Groups of large Experiment		Control Groups of large Experiment	
	Treatment	Control	Treatment	Control
Jul.'04	0.017±0.003	0.018±0.001	0.010±0.002	0.014±0.003
Aug.	0.042±0.012	0.047±0.024	0.066±0.018	0.056±0.015
Sep.	0.030±0.007	0.039±0.012	0.037±0.014	0.042±0.012
Oct.	0.040±0.004	0.055±0.014	0.042±0.011	0.049±0.010
Nov.	0.043±0.006	0.063±0.025	0.061±0.012	0.065±0.007
Dec.	0.042±0.020	0.070±0.021	0.036±0.009	0.034±0.011
Jan.'05	0.018±0.007	0.051±0.031	0.028±0.006	0.039±0.012
Feb.	0.017±0.010	0.028±0.010	0.017±0.001	0.017±0.002
Mar.	0.027±0.006	0.046±0.020	0.031±0.007	0.034±0.007

Table 5-4. Monthly changes in the average sulfide in large and small scale experiments

Sulfide	Large scale groups		Small scale groups	
	Treatment	Control	Treatment	Control
Jul.'04	0.010±0.005	0.010±0.003	0.018±0.007	0.017±0.004
Aug.	0.027±0.003	0.024±0.001	0.052±0.019	0.062±0.007
Sep.	0.027±0.005	0.029±0.006	0.033±0.005	0.045±0.014
Oct.	0.028±0.006	0.046±0.007	0.040±0.004	0.052±0.012
Nov.	0.023±0.017	0.045±0.028	0.048±0.005	0.058±0.012
Dec.	0.013±0.006	0.032±0.012	0.033±0007	0.064±0.012
Jan.'05	0.009±0.001	0.020±0.008	0.022±0.005	0.034±0.007
Feb.	0.014±0.001	0.024±0.004	0.014±0.003	0.020±0.004
Mar.	0.017±0.001	0.024±0.008	0.027±0.007	0.045±0.009

(2) 강열감량 (Ignition Loss)

실험기간 동안 실험구와 대조구의 강열감량 측정 결과는 Fig. 22-26, Table 18, 19와 같다.

① 대실험구 강열감량

실험기간동안 대실험구 (10 m × 10 m)에서 강열감량은 바이오그래뉼살포한 실험구가 2.15-4.02% (평균 3.52 ± 0.35%), 대조구 2.15-5.84% (평균 4.14 ± 0.52%)로 실험구가 대조구보다 낮았으며, 9월 이후부터 실험구의 강열감량은 증가하지 않고 유지되었다 (Fig. 22). 대조구는 11월 5.82 ± 1.38%로 가장 높은 강열감량을 나타내었고, 실험구는 대부분 조사 월에서 4.0% 이하였다. 실험구와 대조구의 강열감량에 대한 통계적 유의성을 계절별 (분기)로

분석한 결과는 Fig. 23과 같다. 실험초기인 2004년 3/4분기는 실험구와 대조구간 유의성 차이가 없었지만 ($P<0.05$), 2004년 4/4분기는 실험구가 3.94 ± 0.72%로 대조구 4.89 ± 1.13%보다 유의성 있게 낮게 나타났다 ($P<0.05$). 2005년 1/4분기에서도 실험구는 3.56 ± 0.46%로 대조구 4.15 ± 0.52%보다 유의성 있게 낮았다 ($P<0.05$). 2004년 4/4분기와 2005년 1/4분기의 실험구가 대조구에 비해 더 낮은 강열감량을 나타낸 것은 바이오그래뉼내 유익세균이 저질내 유기물을 지속적으로 분해하였기 때문이다.

② 소실험구 강열감량

대실험구 (10 m × 10 m)내에 설치된 소실험구 (31 cm × 53 cm × 16 cm)의 월별 강열감량은 실험구 3.0-4.81%(평균 3.86 ± 0.3%), 대조구 3.12-5.21(평균 4.44 ± 0.41%)로 바이오그래뉼을 살포한 실험구가 대조구에
비해 조금 더 낮은 강열감량을 나타내었다 (Fig. 24). 소실험구의 강열감량
을 네 그룹으로 구분하여 비교한 결과, 대실험구내 실험구는 3.58 ± 0.32%,

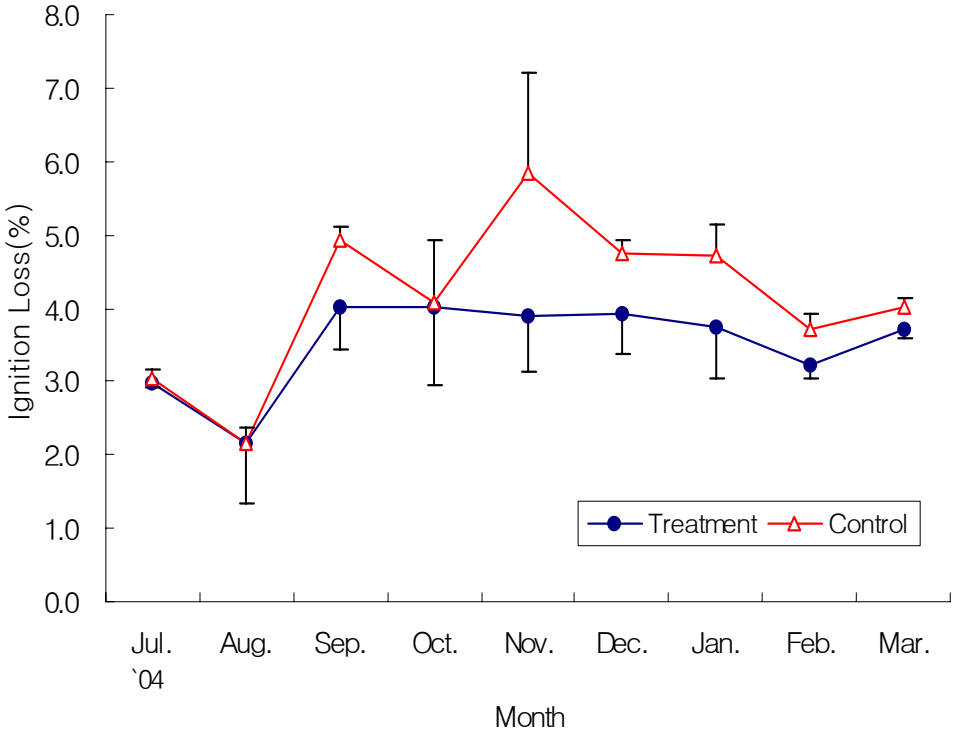

Fig. 5-19. Monthly changes in the ignition loss at the large scale experiments.

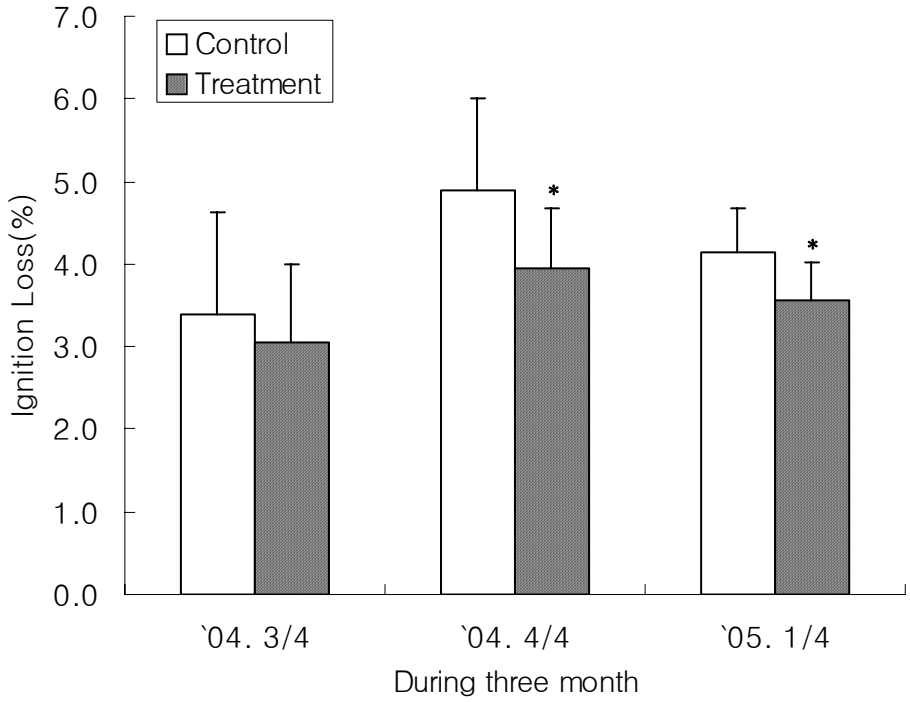

Fig. 5-20. Variation in the average ignition loss during three months at the large experimental farm. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control($P<0.05$)].

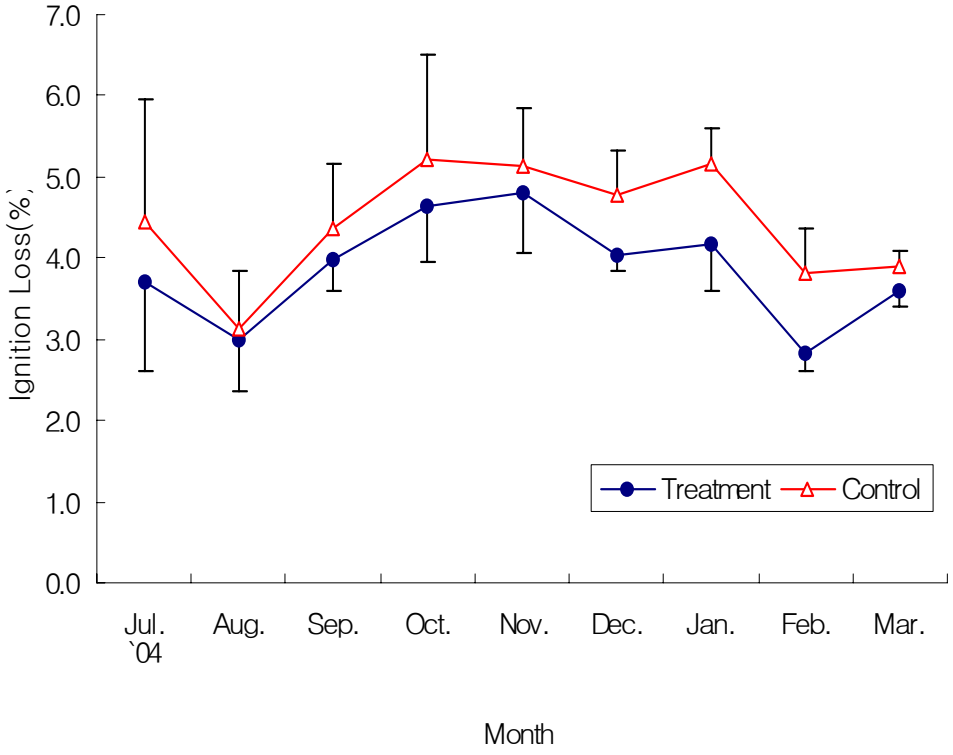

Fig. 5-21. Monthly changes in the ignition loss at the small scale experiments.

대조구 4.19 ± 0.24%, 대실험구 대조구내 실험구 4.13 ± 0.23%, 대조구 4.69 ± 0.52%로써 그래뉼을 살포한 대실험구내의 소실험구에서 가장 낮은 강열감량을 나타내었다 (Table 18).

대실험구내에 설치된 소실험구를 네 그룹으로 구분한 그룹들의 분기별 강열감량을 비교한 결과는 Fig. 25와 같다. 2004년 3/4분기는 바이오그래뉼을 살포한 대실험구내 실험구가 3.33 ± 1.0%, 대조구가 3.32 ± 0.82%로써 미살포 대실험구내 대조구 4.87 ± 1.29%보다 유의성 있게 낮았다 ($P<0.05$). 2005년 1/4분기도 바이오그래뉼을 살포한 소실험구의 실험구 3.53 ± 0.80%, 3.65 ± 0.71% 에 대조구의 4.21 ± 0.81%, 4.28 ± 0.93%보다 유의성 있게 낮은 강열감량을 나타내었다 ($P<0.05$).

실험기간 동안 분기별 소실험구내 실험구와 대조구의 두 그룹 강열감량 비교에서는 2004년 3/4분기, 2004년 4/4분기는 실험구와 대조구간 강열감량에 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으나, 2005년 1/4분기는 실험구 3.59 ± 0.74%로 대조구 4.24 ± 0.86%보다 유의성 있는

낮은 강열감량을 나타내었다 (P<0.05, Fig. 26).

실험기간동안 대실험구와 소실험구에서 대조구의 강열감량을 각각 비교해 보면 대실험구에서는 그래뉼을 살포한 실험구가 2.15-4.02%(평균 3.52 ± 0.35%), 대조구 2.15-5.84(평균 4.14 ± 0.52%)에 비해 낮은 강열감량을 나타내었다. 소실험구에서도 그래뉼을 살포한 실험구 강열감량은 3.86 ± 0.3%, 대조구 4.44 ± 0.41%로 실험구가 대조구에 비해 낮은 강열감량을 나타내었다 (Table 19).

이상의 결과에서 분기별 실험구와 대조구간의 유의성 검정에서도 2005년 1/4분기 실험구가 대조구에 비해 유의성 있는 낮은 강열감량을 나타낸 것은 바지락양식장에 살포한 바이오그래뉼내 유익세균이 지속적으로 유기물을 분해하였기 때문이다.

Table 5-5. Monthly changes in the average ignition loss at the small experiments in large scale experiments

Ignition loss	Treatment Groups of large Experiment		Control Groups of large Experiment	
	Treatment	Control	Treatment	Control
Jul.'04	2.91±0.71	3.08±0.49	4.48±0.83	5.80±0.43
Aug.	2.48±0.58	2.57±0.29	3.51±0.43	3.67±0.54
Sep.	3.51±0.43	3.67±0.54	4.42±0.52	5.08±0.86
Oct.	4.72±0.80	5.11±0.63	4.54±0.61	5.31±1.88
Nov.	4.43±0.87	5.46±0.83	5.19±0.39	4.83±0.16
Dec.	3.92±0.20	4.89±0.70	4.16±0.12	4.64±0.48
Jan.'05	3.90±0.73	5.23±0.42	4.41±0.25	5.09±0.52
Feb.	2.68±0.16	3.68±0.71	2.96±0.21	3.96±0.40
Mar.	3.70±0.19	4.01±0.12	3.48±0.14	3.80±0.22

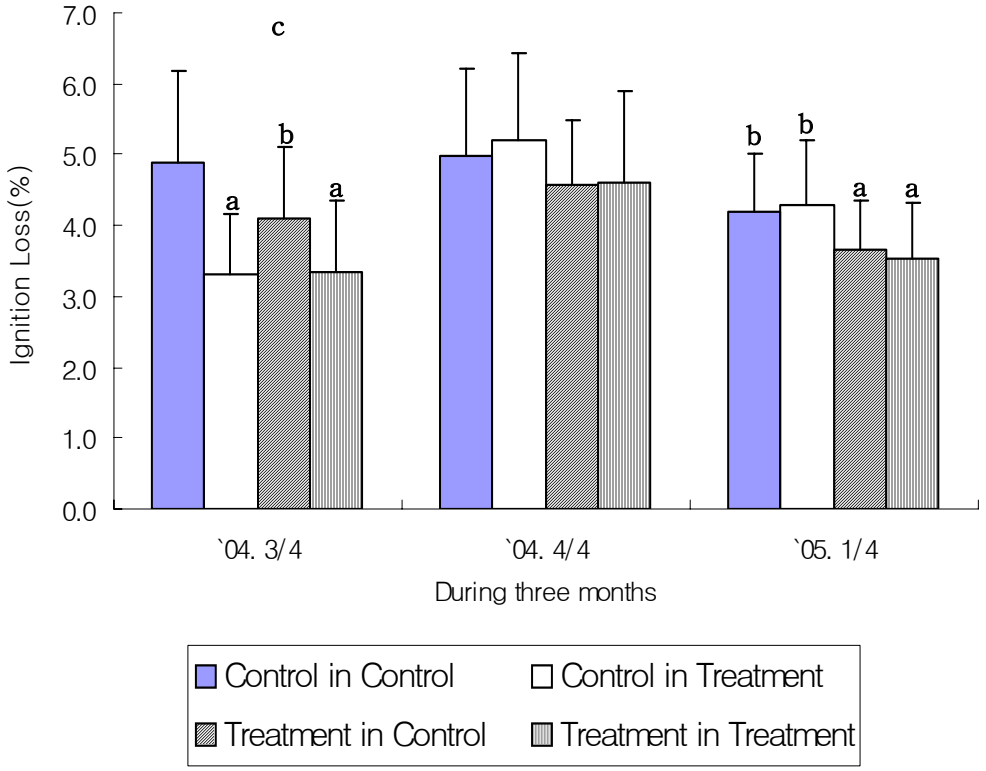

Fig. 5-22. Variation in the average ignition loss during three months at the four small groups in large scale experiments. [The lettersk (a, b, c) above bars indicate statistical differences ($P<0.05$)].

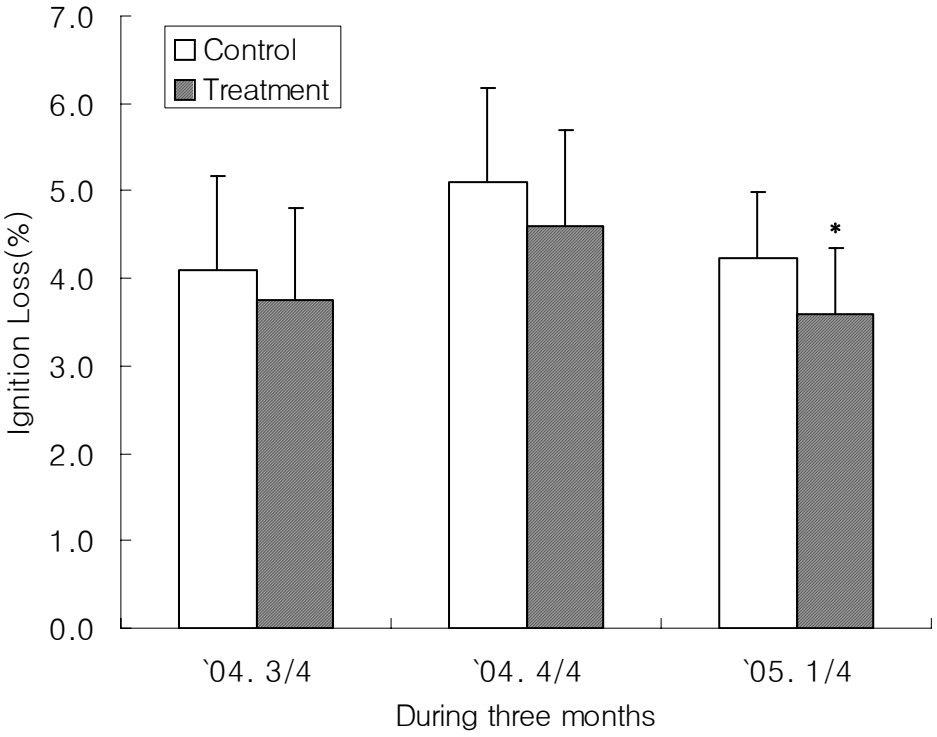

Fig. 5-23. Variation in the average ignition loss during three months at the small scale experiments in large scale experiments. [The asterisks (*) above bars indicate statistical differences from control ($P<0.05$)].

Table 5-6. Monthly changes in the average ignition loss in large and small scale experiments

Ignition Loss	Large scale groups		Small scale groups	
	Treatment	Control	Treatment	Control
Jul.'04	2.99±0.08	3.06±0.97	3.70±1.09	4.44±1.52
Aug.	2.15±0.80	2.15±0.24	2.99±0.62	3.12±0.71
Sep.	4.02±0.59	4.94±0.16	4.43±0.38	4.58±0.79
Oct.	4.02±1.08	4.07±0.87	4.63±0.67	5.21±1.30
Nov.	3.88±0.75	5.84±1.38	4.81±0.74	5.15±0.70
Dec.	3.93±0.56	4.75±0.18	4.04±0.20	4.77±0.57
Jan.'05	3.75±0.73	4.73±0.43	4.16±0.57	5.16±0.45
Feb.	3.23±0.19	3.70±0.22	2.82±0.23	3.82±0.55
Mar.	3.71±0.12	4.02±0.12	3.59±0.19	3.90±0.20

다. 바지락 성장도

강진만내 실험어장에서 2004년 5월부터 2005년 4월까지 바지락의 중량, 각장, 각고, 각폭, 비만도 등을 조사한 결과는 Table 20 및 Fig. 27-33에 나타내었다.

(1) 중량

실험기간 동안 바지락 개체중량의 변화는 Table 20과 같이 살포시 평균 6.02 g의 바지락이 실험종료시 (2005년 4월) 평균 10.78 g으로, 대조구 평균 10.23 g과는 중량에 있어 유의차는 없었으나 ($P>0.05$), 일반적으로 중량의 월 증가속도는 바이오그래뉼을 살포한 실험구가 대조구에 비해 높은 개체 평균중량을 나타내었다 (Fig. 27). 월별로 중량의 증가속도는 7월

까지 빠른 성장을 나타내었으나 10월부터 다음해 2월까지는 성장 속도가 둔화 되었다. 2005년 3월부터 수온이 상승하면서 바지락은 다시 성장을 계속하였다.

(2) 각장

살포 바지락의 평균 각장은 31.6 ㎜였으나 2005년 4월 채취 때 실험구는 평균각장 36.3 ㎜로 성장하였고, 대조구도 평균 각장 36.2 ㎜로 유의차는 없었다 (Fig. 28). 2004년 5월부터 7월까지 바지락의 각장은 빠른 성장을 나타내었으나 10월 이후부터 다음해 2월까지는 수온이 하강하면서 각장의 성장도 둔화되었다.

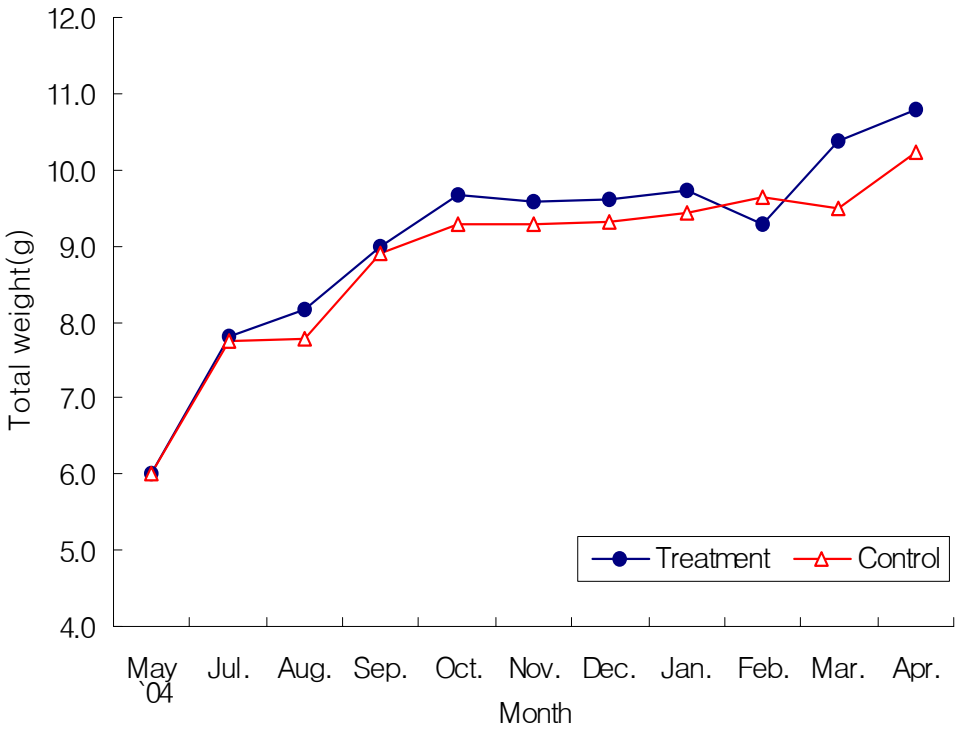

Fig. 5-24. Monthly changes in the average total weight at the experimental farm.

Table 5-7. Variation in the average total weight, shell length, meat weight and condition factor of the Manila clam from May 2004 to April 2005.

		May. '04	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.
T. W. (g)	Treatment	6.0	7.8	8.2	9.0	9.7	9.6	9.6	9.7	9.3	10.4	10.8
	Control	6.0	7.7	7.8	8.9	9.3	9.3	9.3	9.4	9.6	9.5	10.2
S. L. (mm)	Treatment	31.6	33.5	34.2	34.6	35.2	35.0	35.7	35.8	35.4	36.4	36.3
	Control	31.6	33.9	33.6	35.0	35.1	34.1	35.3	35.2	35.7	35.6	36.2
S. H. (mm)	Treatment	21.3	23.3	23.9	24.5	24.8	24.7	24.9	28.0	24.6	25.3	24.8
	Control	21.3	22.8	23.5	24.4	24.5	24.3	24.4	27.0	25.0	24.5	24.8
S. W. (mm)	Treatment	14.2	15.8	15.9	16.5	17.2	16.7	16.9	17.0	16.7	17.2	17.1
	Control	14.2	15.5	15.8	16.5	16.7	16.4	16.7	16.8	16.7	17.0	17.1
M. W. (g)	Treatment	2.3	2.5	2.4	2.5	2.1	2.2	2.3	2.1	2.3	2.4	2.5
	Control	2.3	2.5	2.2	2.5	2.0	2.1	2.2	2.0	2.4	2.3	2.4
S. W. (g)	Treatment	-	4.2	4.3	4.8	5.4	5.1	5.1	5.3	5.2	5.6	5.8
	Control	-	4.0	4.0	4.7	5.1	4.9	5.1	5.2	5.3	5.0	5.4
C. I.	Treatment	-	0.20	0.18	0.17	0.14	0.15	0.16	0.12	0.16	0.15	0.16
	Control	-	0.20	0.18	0.17	0.14	0.15	0.15	0.13	0.16	0.15	0.15

※ T.W. : Total weight, S.L. : Shell length, S.H. : Shell height, S.W. :Shell width, M.W. : Meat weight. S.W : Shell weight, C.I. : Condition index.

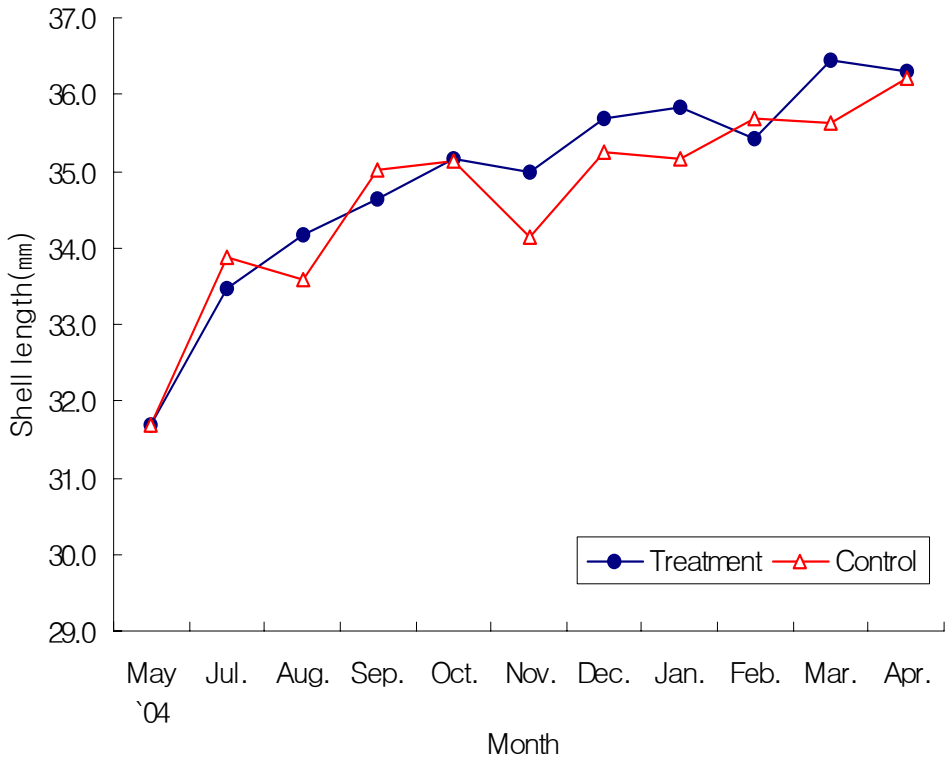

Fig. 5-25. Monthly changes in the average shell length of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

(3) 각고

살포 바지락의 평균 각고는 21.3 ㎜였으나 채취 때 각고는 실험구와 대조구 모두 25 ㎜ 내외로 성장하였으나 유의차는 없었다 (Fig. 29). 월별 각고의 성장은 실험개시 후 8월까지 1-2개월은 각고가 성장하였으나 수온이 하강하기 시작하는 10월부터는 각고 성장이 둔화되었다.

(4) 각폭

실험기간 중 각폭의 변화도 각장과 각고의 성장과 비슷한 경향을 나타내었다. 실험구는 살포시 14.2 cm이었던 것이 10월에 17.2 cm로 성장하였는데 비하여 대조구는 16.7 cm까지 성장하였다. 수온이 하강하는 10월 이후에는 각폭의 성장도 각장, 각고처럼 둔화되었다 (Fig.

30).

(5) 육중량

실험구와 대조구의 바지락 육중량은 2004년 5월 살포당시 평균 2.30 g/개체였으며, 7-9월에는 실험구와 대조구 2.4-2.53 g이었다. 그후 수온 하강기에 접어들면서 오히려 육중량이 감소하였다 (Fig. 31). 수온이 상승하기 시작하는 다음해 2월부터 육중량이 증가하기는 하였으나 2005년 4월에는 실험구 2.53 g, 대조구 2.40 g 였다. 실험기간 동안 바이오그래뉼을 살포한 실험구와 대조구간 유의차는 없었다 ($P>0.05$).

(6) 패각중량

7월 조사에서 패각중량 4.0-4.25 g이었으나 바지락이 성장함에 따라 2005년 4월 실험구 5.8 g, 대조구 5.4 g으로 증가하였다 (Fig. 32). 패각중량의 결과로 볼때 10월 이후 부터 수온이 하강하면서 바지락은 육중량 증가보다 패각중량의 증가가 있었다.

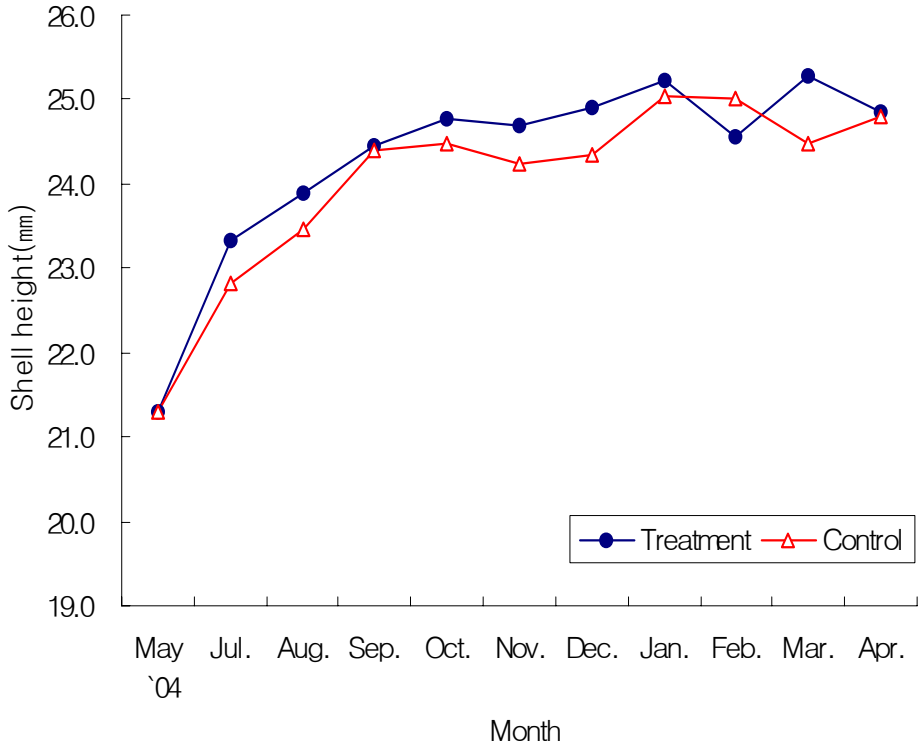

Fig. 5-26. Monthly changes in the average shell height of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

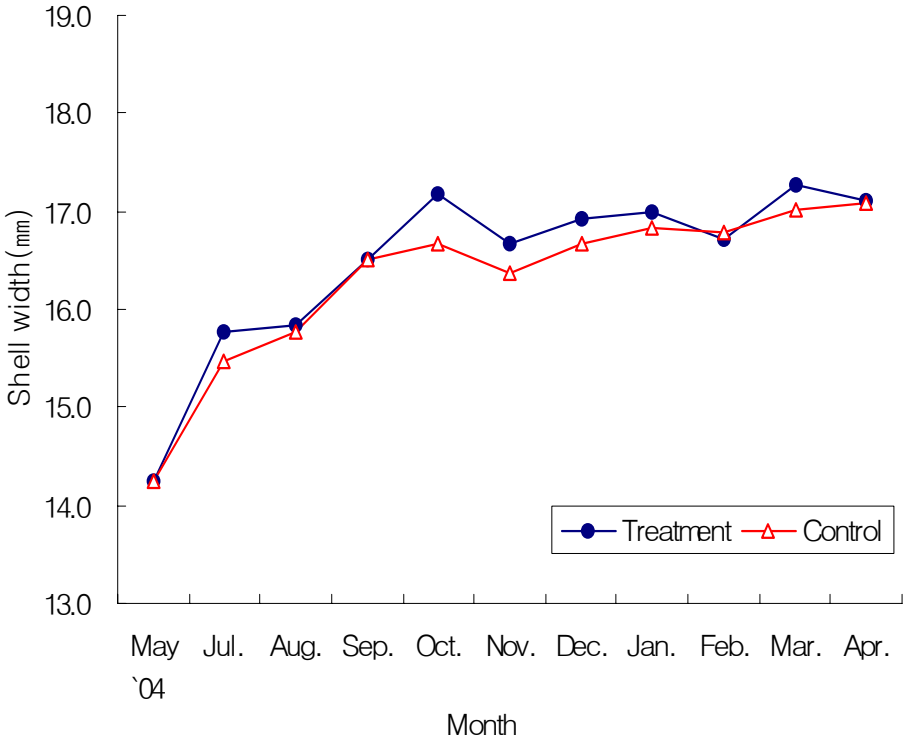

Fig. 5-27. Monthly changes in the average shell width of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

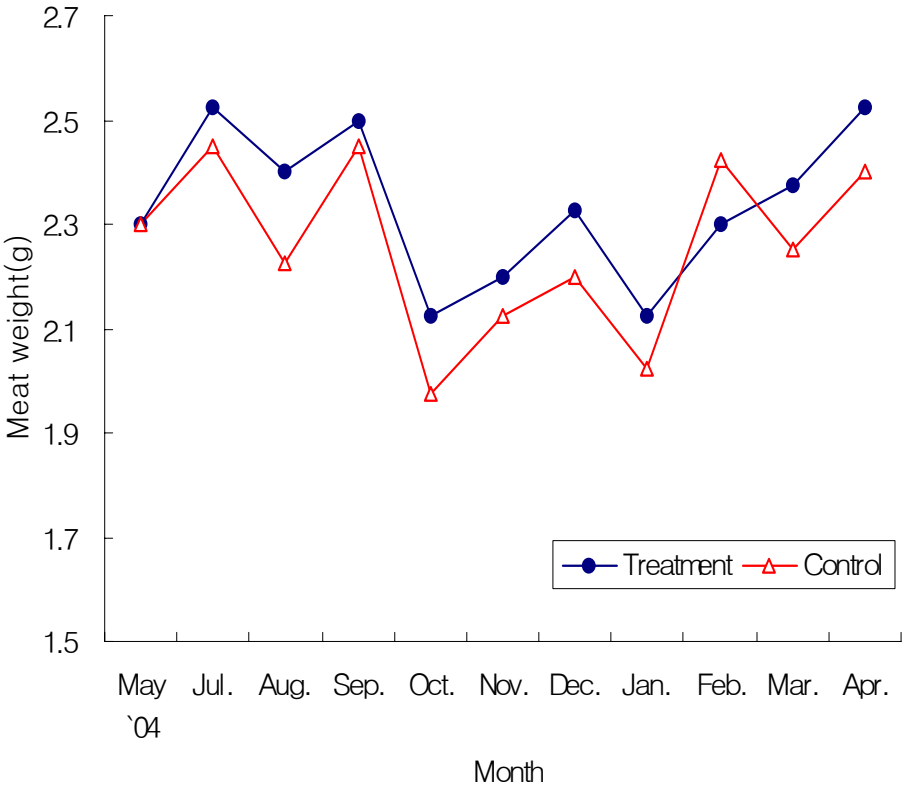

Fig. 5-28. Monthly changes in the average meat weight of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

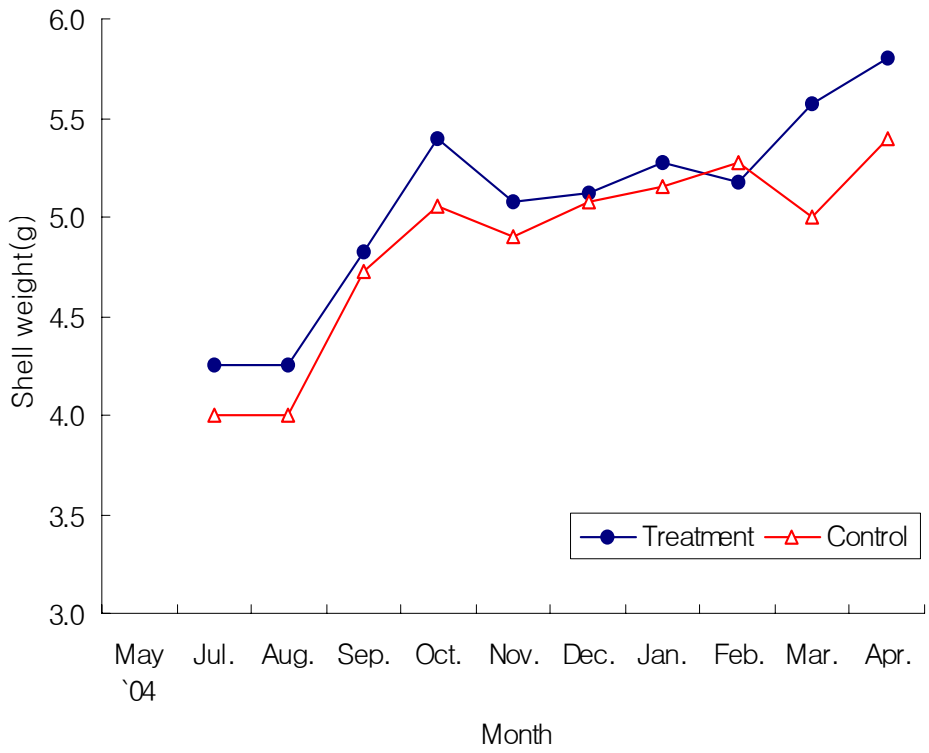

Fig. 5-29. Monthly changes in the average shell weight of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

7) 월별 비만도 (condition index) 변화

월별 비만도 변화상태는 2004년 7월부터 10월까지 실험구와 대조구 모두에서 비슷한 경향으로 감소한 뒤 수온이 낮은시기에는 두그룹 모두 0.15내외의 낮은 비만도를 유지하였다 (Fig. 33).

위의 결과로 볼 때 비만도는 봄철이 다른 조사 월에 비해 전반적으로 높게 나타나는 것을 알 수 있었다.

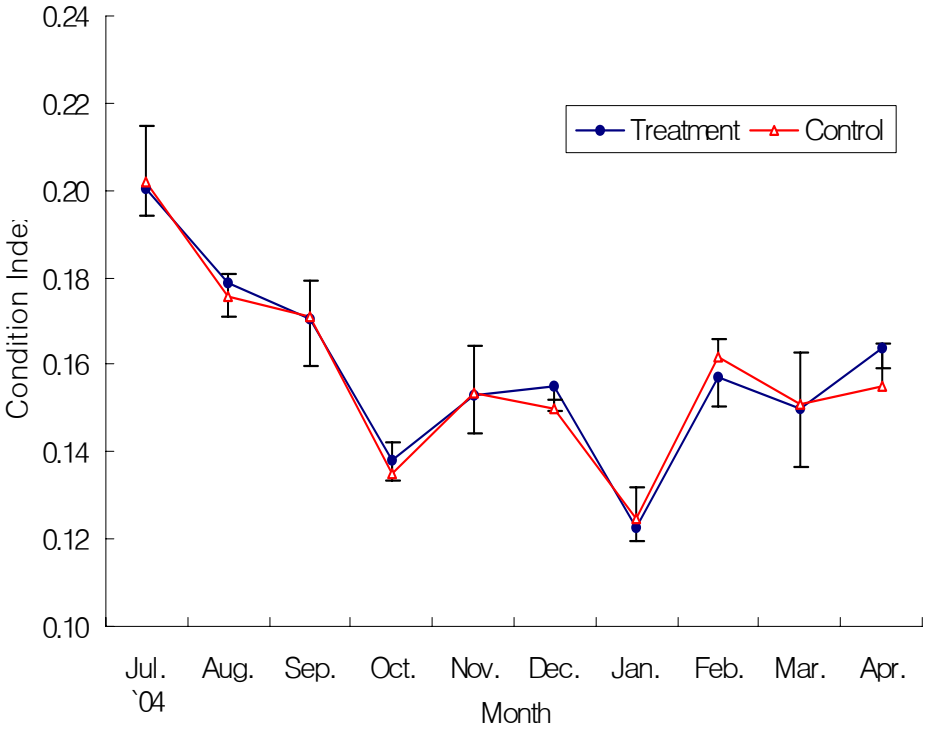

Fig. 5-30. Monthly changes in the condition index of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at the experimental farm.

라. 바지락 생산량

바이오그래뉼 살포 후 실험구와 대조구의 최종생산량은 Fig. 34-37과 같다.

(1) 대실험구 생산량

2004년 5월부터 2005년 4월까지 4반복으로 설정한 대실험구 (10 m × 10 m)와 대조구 (10 m × 10 m)의 바지락 최종생산량은 Fig. 34에 나타내었다. 실험구와 대조구의 살포시 각장은 31.7 cm 였으며 2005. 4월 채취시 실험구 평균 36.3 ± 0.29 cm, 대조구 평균 36.2 ± 0.44 cm로 성장차이는 없었다. 2004년 5월 살포시 중량은 6.0 g, 채취시 실험구 평균 10.8 ± 0.30 g, 대조구 평균 10.2 ± 0.41 g으로 실험구가 대조구에 비해 더 높은 생존율로 인한

높은 생산량을 나타내었다.

채취시 실험구와 대조구의 생산량은 실험구 109-154 kg (평균 131.3 ± 22.5 kg), 대조구 102-138 kg (평균 120.8 ± 18.4 kg)로 실험구가 많았고, 살포 종패의 중량 대비 증가도 실험구 64.1 ± 28.1%, 대조구 50.9 ± 23.0%로 실험구가 더 많은 무게 증가가 있었으며, 이에 대한 기초 통계 분석 결과 실험구가 대조구 보다 수치가 높은 것으로 나타나고 있다. 그러나, 측정 자료에 대한 이상값이 발생하여 자료에 대한 분산의 값이 커져 차이에 대한 통계분석이 무의미하게 되었다.

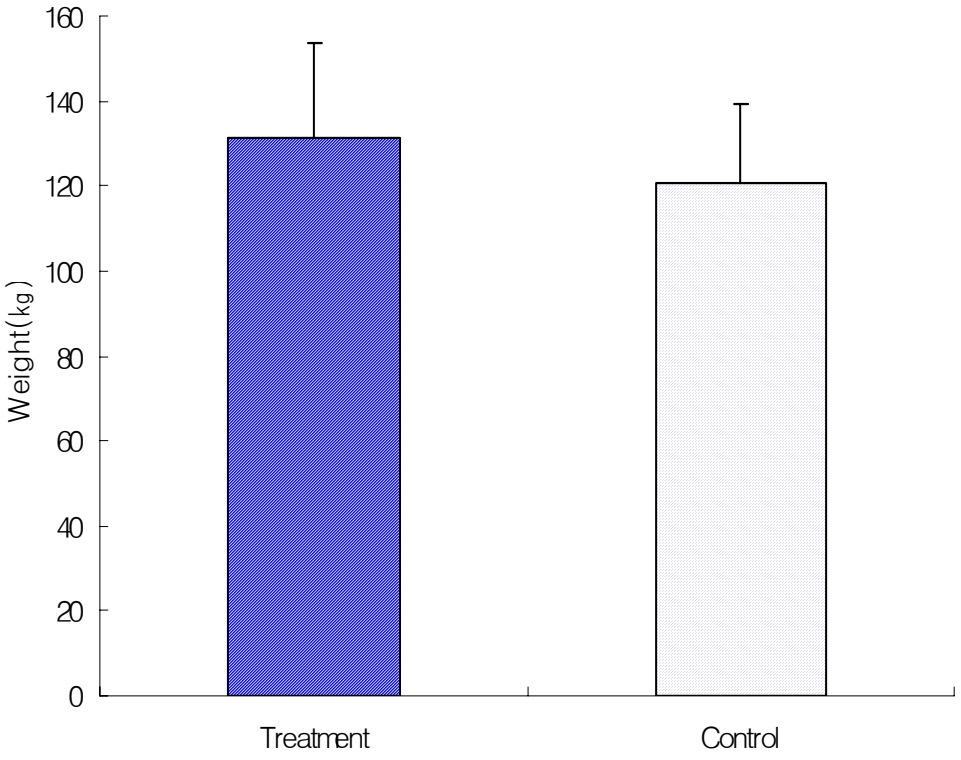

Fig. 5-31. Total production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* from experimental.

(2) 소실험구 생산량

4반복으로 설정된 실험구 (10 m × 10 m)와 대조구 (10 m × 10 m)내에 조류소통이 가능한 사각 플라스틱 상자 (31 cm × 53 cm × 16 cm)를 이용하여 각각 3반복 설치한 소실험구의 생산량은 Fig. 35-37에 나타내었다.

소실험구인 플라스틱상자에는 2004년 5월 살포시 상자당 각 19마리 (115-117g)의 바지락을 살포하여 채취시 바지락 개체 중량으로 비교해 볼 때 그룹별 상자내 증중률이 가장 높은 것은 대조구내 설치된 살포구가 40.4%로 가장 높았으며, 가장 낮은 성장률은 대조구내 미살포구에서 14.2%로 가장 낮은 증중율을 나타내었다 (Fig. 35). 이와 같이 낮은 증중률은 대조구의 개체 폐사로 인한 것이다. 바이오그래뉼을 살포한 상자의 바지락 중량은 157.4-163.8 g, 바이오그래뉼을 살포하지 않은 상자의 바지락 중량은 136.0-139.9 g으로 바이오그래뉼을 살포한 상자내 바지락의 중량이 더 많았다 (Fig. 36).

대실험구내 설치된 소실험구에서 바이오그래뉼을 살포한 곳의 성장률은 37.1-40.4%로 살포한지 않은 곳의 16.6-21.6% 보다 높았다.

소실험구에서 1년동안 양성한 후 최종생존율은 바이오그래뉼을 살포한 소실험구가 84.2-87.8%, 미살포 소실험구 74.6-77.2%로 바이오그래뉼을 살포한 소실험구의 생존율이 조금 더 높았으나, 각 실험의 일부 반복구에서 생존개체의 편차가 많이 발생하였기에 통계적 유의성을 찾기는 어려웠다 (Fig. 37). 그래뉼을 살포한 실험구는 대조구에 비해 전반적으로 더 높은 생존율을 나타내었다.

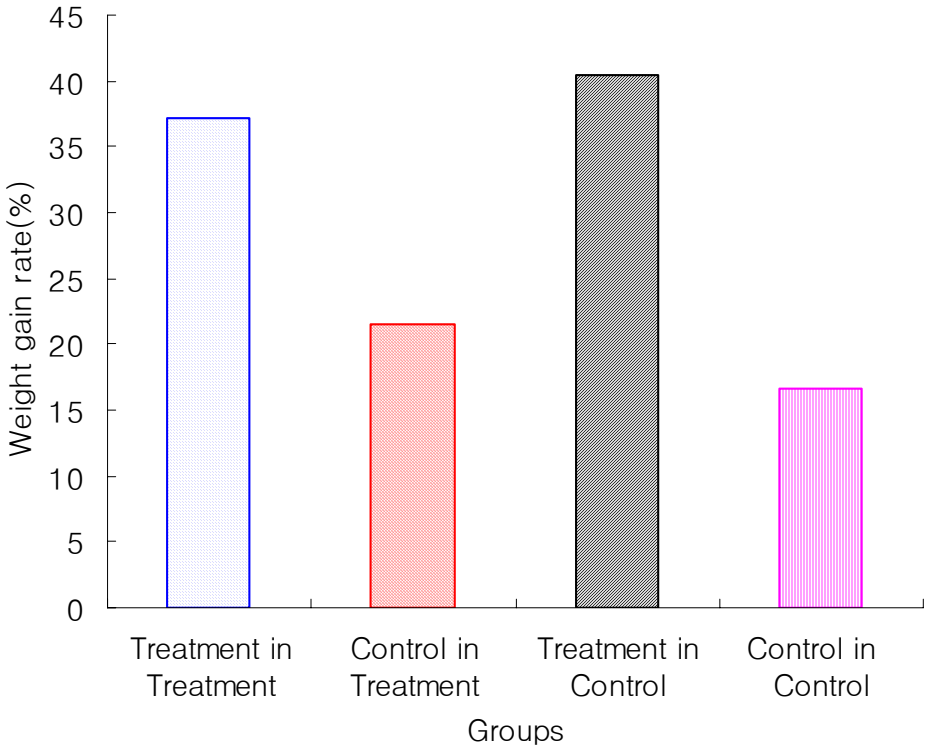

Fig. 5-32. Weight gain rate of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in small farm.

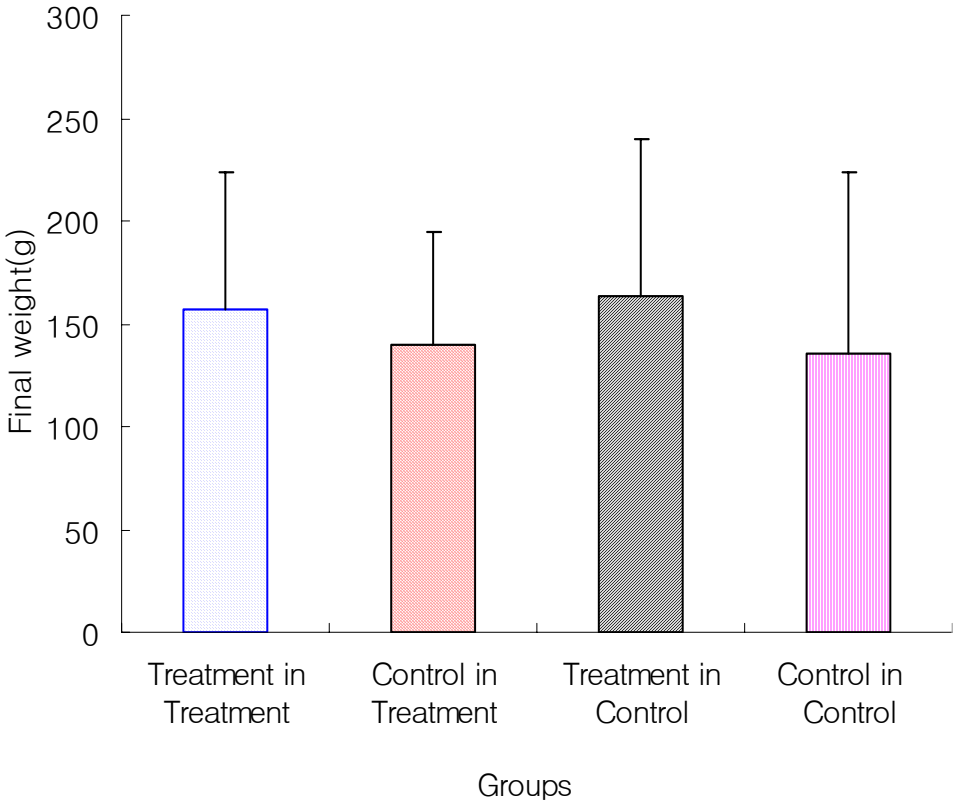

Fig. 5-33. Total production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in the small scale experiments.

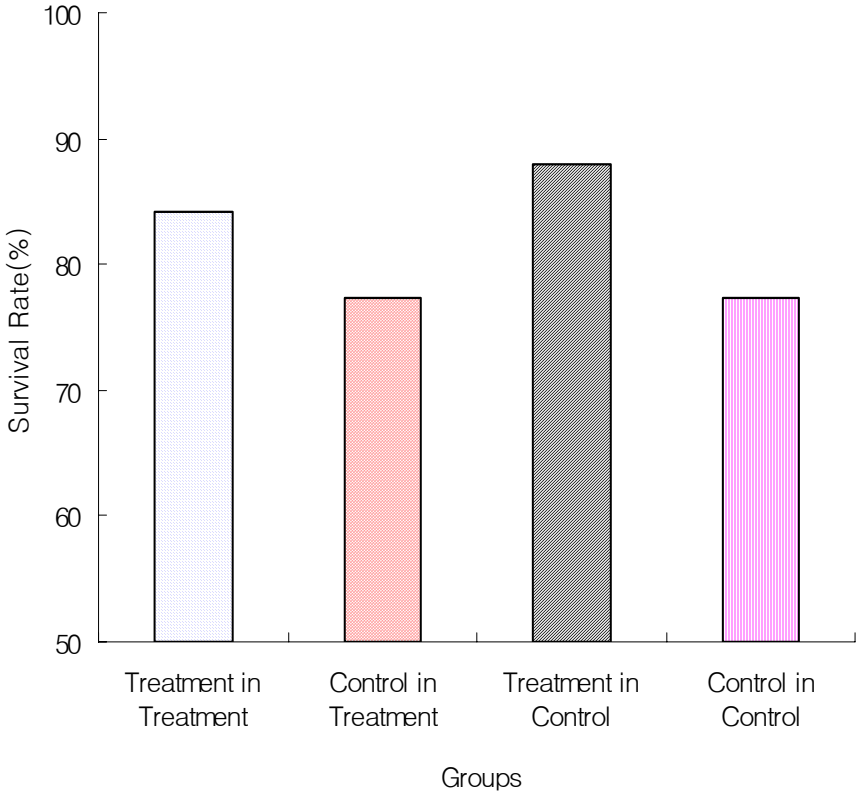

Fig. 5-34. Survival rate of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* at small scale experiments.

제 6 장 연구결과 활용계획

제 1 절 활용방안

1. 기술적 측면

가. 새로운 개념의 자연친화적인 양식장바닥 저질개선을 목적으로 하는 바이오그래뉼의 대량생산 및 적용으로 현재 양식장의 노화가 심하되고 있는 양식장바닥의 환경을 획기적으로 개선시키고 양식생산량을 증가시킨다.

나. 새우 양식장용 바닥개선을 위한 전용 바이오그래뉼의 생산으로 새우의 생산을 획기적으로 증가시킨다. 현재 새우양식은 새우의 생리생태특성상 노지양식이 불가피하다. 노지양식의 최대의 난제는 양식장바닥의 오염으로 생산을 제한한다. 이러한 문제점을 환경친화적인 방법으로 개선시킨다.

다. 전국의 해산 가두리 양식장 바닥은 양어사료와 어류의 노폐물로 유기물퇴적이 심화되고 있다. 이것을 해결하기 위해서 의무적으로 3년마다 주기적으로 바닥청소를 해야하지만 시설물의 고정으로 인하여 많은 어려움을 겪고 있는 실정에서 바이오그래뉼에 의한 양식장바닥의 저질
개선으로 양식장환경을 획기적으로 개선시킬 수 있다.

라. 간석지패류양식장의 양식장바닥 저질 개선에 바이오그래뉼의 도입으로 획기적으로 생산량을 증대시킬 수 있다.

마. 형망에 의한 물리적 청소와 경운에 의존하고 있는 기존의 어장 정화사업을 개선할 수 있는 새로운 방법으로 추가시킬 수 있다.

2. 경제 · 산업적 측면

가. 오염이 심화되고 있는 양식장 바닥 저질 개선으로 인한 지속적인 패류 생산으로 어민소득 증대에 기여할 수 있다.

나. 해산가두리양식장의 양식장 바닥개선으로 건강한 어류의 생산으로 어민소득 증대

다. 저질오염으로 수질변화로 인한 새우 폐사량을 획기적으로 감소시킬 수 있으며, 새우의 성장촉진으로 새우양식산업에 활력을 부여할 수 있다.

라. 건강한 양식 생산품의 생산으로 국민건강에 기여할 수 있다.

마. 유용미생물의 담체화 기술개발로 첨단기술의 배타적권리확보와 본 제품을 필요로하는 국제무대로의 진출에 기여할 수 있다.

3. 실제 활용도 측면

가. 바이오그래뉼에 의한 바지락 양식장의 저질개선에 의한 생산력 회복으로 바지락생산량을 증대시킬 계획이며 어류양식장에 대해서도 어장정화효과에 대한 홍보를 강화하여 어장정화 개선을 보다 적극적이고 환경친화적인 방법중의 하나로 제시할 것임.

나. 또한 실험결과를 활용하여 정부부문에서 추진하고 있는 어장정화사업에서도 본 방법을 도입하여 환경친화적인 바다정화사업이 될 수 있도록 추진할 계획임.

다. 본 제품의 새우양식장에 적용하므로서 지금까지 대량폐사를 일으키고 장기노화에 의한 생산력의 감소 양식장에 획기적으로 생산성을 증대시킬 수 있는 방안으로 제시할 것이며, 본 제품의 사용으로 보다 나은 고품질의 생산에 활용할 예정임.

제 7 장 참고문헌

Ahn, T. S., S. H. Hong, O. S. Kom, J. J. Yoo, S. O. Jeon and S. I. Choi. 2001. The change of *Bacillus* spp. in municipal waste water treatment plant with B3 process. Kor. J. Microbiol., 37, 209-213.

Austin, B., Stuckey, L. F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., Griffith, D.R.W., 1995. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticis* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *vibro anguillarum* and *vibrio ordalli*. J. Fish Dis. 18., 93-96

Blake, N, J. and A. N. Sastry. 1979. Neurosecretory regulation of oogenesis in the bay scallop *Argopecten irradians*. In Naylor, E. and Hartnoll, R. G. Cyclic phenomena in marine plant and animals. Pergamon Pres, New York, pp181-190.

Brown, J. H. 1989. Antibiotics: their use and abuse in aquaculture. World Aquaculture 20, 34-42.

Byun, J. W., Park S. C., Benno, Y., Oh, T. K. 1997. Probiotic effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in flounder(*Paralichthys olivaceus*). J. Gen. Appl. Microbiol. 43, 305-308.

Fuller, R., 1989. Probiotic in man and animals. J. Appl. Bacteriol., 66, 365-378.

Gatesoupe, F. J. 1997. Siderophore production and probiotic effect of *Vibrio* sp. associated with turbot larvae, *Scophthalmus maximus*. Aquat. Living Resour. 10, 239-246.

Gatesoupe, F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture 180, 147-165.

Ger B., R. Severijnen, and H. Timmerman, 2005. Effect of antibiotics, prebiotics and probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. Medical Hypotheses, 64, 64-68.

Joborn A. 1998. The role of the gastrointestinal microbiota in the prevention of bacterial infections in fish. Ph. D. thesis. Goteborg University, Goteborg, Sweden,

Kennedy, S. B., Tucker, J. W., Neidig, G.K., Cooper, V.R., Jarrell, J.L., Sennett, D. G. 1998. Bacterial management strategies for tock enhancement of warm water marine fish: a case study with common snook (*Centropomus undecimalis*). Bull. Mar. Sci. 62, 573-588.

Kim W. S. 1986. Growth, mortality and production of Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, on garolim bay of yellow sea, Korea. Chungnam Nat. Univ. pp. 9-38.

Kozasa, M. 1986. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. Micro. Aliment. Nutr., 4, 121-135.

Laing, I., S. D. Utting and R. W. S. Kilada. 1987. Interactive effect ofdiet and temperature on the growth of juvenile clams. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 113, 23-28.

Noh, H., Han, K. I., Won, T. H., Choi, Y. J., 1994. Effect of antibiotics, enzymes, yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp. Korean J. Anim. Sci. 36, 480-486.

Paek, N. S., Y. B. Lim, and Y. M. Kim, 2001, Antibacterial activity and growth promotiom in aquacultured fish by probiotics, Kor, J. Appl. Microbiol. 29, 56-61.

Phianphak, W., Rengpipat, S., piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., 1999. Probiotic use of *Lactobacillus* spp. for black tigdr shrimp, *Penaeus monodon*. J. Sci. Res. Chula. Univ. 24, 41-51.

Porubcan, R. S., 1991a. Reduction of ammonia nitrogen and nitrite in tank of *Penaeus monodon* using floating biofilter containing processed diatomaceous earth media pre-inoculated with nitrifying bacteria Program and Abstracts of the 22nd Annual Conference and Exposition, 16-20 June 1991, San Juan, Puerto Rico. World Aquaculture Society.

Porubcan, R.S., 1991b. Reduction in chemical oxygen demand and improvement in *Penaeus monodon* yield in ponds inoculated with aerobic Bacillus bacteria. Program and Abstracts of the 22nd Annual Conference and Exposition, 16-20 June 1991, San Juan, Puerto. World Aquaculture Society.

Prepas E. E, T. P. Murphy, J. M. Crosby, D. T. Walty, J. T. Lim, J. Babin P. A. Chambers. 1990. Reduction of phosphorus and chiorophyll a concentrations following CaCO3 and Ca(OH)2 additions to hypertrophic figure. Eight Lake, Alberta. Environ. Sci. Tech., 24, 1252-1258.

Queiroz, J. F., Boyd, C. E., 1998. Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. J. World Aquculture. Soc. 29, 67-73.

Rengpipat S., Wannipa Phianphak, Somkiat Piyatiratitivorakul, Piamsak Menasveta, 1998. Effect of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* suvival and growth. Aquaculture. 167. 301-313.

Rengpipat S., Sombat Rukpratanporn, Piyatiratitivorakul S. Menasaveta P., 2000, Immunity enhancement in black tiger shrimp *Penaeus monodon* by a probiont bacterium(*Bacillus* S11), Aquaculture 191, 271-288.

Ringo, E. and F. J. Gatesoupe. 1998. Lactic acid bacteria in fish : a review. Aquaculture 160, 177-203.

Riquelme, C., R. Araya, N. Vergara, A. Rojas, M. Guaita and M. Candia. 1997. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop Argopecten pur-puratus (Lamarck, 1819). Aquaculture, 154, 17-26.

Robert, R., G. Trut and J. L. Laborde. 1993. Growth, reproduction and gross biochemical composition of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in the Bay of Arcachon, France. Marine Biology 116, 291-299.

Robertson P. A. W., C. O. Dowd, C. Burrells, P. Williams, B. Austin. 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon(*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Aquaculture 185, 235-243.

Sastry, A. N. 1970. Reproductive physiological variation in latitudinally separated population of the bay scallop, Aequipecten irradians Lamarck. Biological Bulletin (Woods Hole), 138: 56-65.

Sautiau, P. G., J. Haure and J. P. Baud. 1997. Sprinkling : a new method of distributing live algae food in marine coastal pounds used for Manila clam *Tapes philippinarum* (Adam and Reeve) intensive culture. Aquaculture Research 28, 661-669.

Sbrenna G. and Campioni D. 1994. Gametogenic and spawing patterns of Manila clam *Tapes philippinarum* in two lagoons of the River poDelta, Italy. J. Shellfish Res., 13(1):37-46.

Shiba A., Takeshi honda, Shigekoseo, Junko Yamamoto, Junko Matsuyams, Toshio Miwatani. 1991. Identy of hemolysins produced by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*. Microbiology. Vol. 79. 205-210.

Smoragiewicz, W., Bielecka, M., Babuchawowski, A., Boutard, A. and Dubeau, H., 1993. Les probiotiques. can. J. Microbiol. 39. pp

Wu Y., Zhang B., Sun D. and Huang B. 1998. Studies on the reproduction of juvenile clams and resorce replenishment of *Ruditapes philippinarum* in Jiaozhou. bay. Stud. Mar. Sin/Haiyang Kexue Jikan., 40:193-197

Yoo H. Y. 1980. Seasonal and geographical variation in shape and meat weight of *Tapes philippinarum.* Nat. Fisheries Uni. Busan.

Yoon, S. B. 1992. Population dynamics of the short necked clam, *Tapes philippinarum* in

Anjong, Tongyoung, Ms. Thesis, National Fisheries University of Pusan, 34pp.

Zobell, C. E. and H. C. Upham. 1944. A list of the marine bacteria including description of sixty new species. Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography, Technical Series, 5, 239-292.

Zobell, C. E. 1952. Studies on the bacterial flora of marine bottom sediments. Sed. Petrol. 8, 10-18.

Zobell, C. E. and F. Y. Morita. 1959. Deep-sea bacteria. Galathea Report. 1.

강주찬. 2004. 어장정화사업의 효과분석 및 추진방안 연구. 해양수산부.

국립수산진흥원. 1993. 양식어장 퇴적물 개선 기술개발.

국립수산과학원. 2006. 한국해양환경 조사연보 2005. vol. 10, p197.

김만수, 김해영, 허성범. 2000. Rotifer *Brachionus plicatilis* 성장을 위한 광합성세균의 첨가 효과와 넙치 , *Paralichthys olivaceus* , 자어에 대한 먹이효율. 한국수산학회지, 33. 2. 164-170.

김성영, 신광순, 이호. 2004. actobacillus brevis FSB-1의 균체성부에 의한 면역증진활성. 한국식품영양학회지, 33. 9, 1552-1559.

김윤, 박미선, 이필용, 허성범, 김와수, 최광식. 2001. 패류 양식장에서 지속적인 생산성 유지를 위한 최적 생산 기술 개발. 국립수산진흥원.

김지곤, 2004. 피조개양식산업 복원을 위한 산학연관 공동 심포지엄. PP.3-7.

김학균, 박주석, 이삼근, 안경호. 1985. 한국연안의 적조생물, 국립수산진흥원.

마채우, 오계현, 신현웅, 천재우, 장인권, 김찬옥. 2005. Probiotic을 이용한 대하새우양식장 환경개선 및 생산성 향상 기술 개발. 해양수산부.

박성우, 이경희, 최동림. 2005. 양식바지락 *Ruditapes philippinarum*의
Perkinsus sp. 검출현황과 현장조사. 한국어병학회지 vol. 18, No.1

박주석, 김학균, 이필용, 양한섭, 이삼근, 김평중. 1993. 양식어장 저질개선 기술개발. 국립수산진흥원.

손상규. 1995. 양식장 저질개선제 개발. 한국양식, 7:85

신영태, 최성애, 정명생, 이종훈, 심기섭, 홍장원, 마창모, 최우정. 2004. 어장정화사업의 효과분석 및 추진방안 연구. 한국해양수산개발원. 19-167

신윤경. 2000. 바지락의 온도 및 염분내성, 한국수산학회지. vol. 33. No.3.

신현출, 신상호. 1999. 광양만산 바지락(*Ruditapes philippinarum* : Bivalvia)의 개체군 생물학. Ⅰ. 개체군동태 및 이차생산. 한국패류학회지 15 (1), 31-39.

신현출, 신상호. 1999. 광양만산 바지락(*Ruditapes philippinarum* : Bivalvia)의 개체군 생물학. Ⅱ. 성장과 서식환경, 한국패류학회지 15(1), 21-30.

양병규, 정용욱, 허문수. 2002. Probiotic bacteria인 Lactic acid bacteria 의 분리와 항균 활성. 한국어병학회지. Vol. 15. No.3. 147-139.

양병규, 전유진, 허문수. 2003. 어류의 세균성질병 예방을 위한 probiotic 균주의 선발 및 특성. 한국미생물생명공학회지. 31-2. 129-134.

양한춘, 조재권, 김경재. 1997. 폭기식 바닥 객토 장치에 의한 저질개선 효과 조사, 전라남도.

원문성, 허성범. 1993. 바지락의 비만도와 치패의 출현, 한국양식학회지 6, 133-146.

유성규. 2000. 천해양식. 구덕출판사, pp. 290-299.

윤지현. 2001. 곰소만 양식 바지락의 밀도와 성장. 부경대학교 석사학위논문.

이원재, 성희경, 김무찬, 강창근, 박영태, 신희재. 2001. 해양미생물학. 월드사이언스. pp.278.

이원재, 나기환, 강석중, 신현출, 조현서. 2003. 생물학적기법을 이용한 오염수역 환경개선 기술 개발에 관한 연구. 해양수산부.

이용한, 장영진, 임한규, 정갑수. 1996. 산지별 바지락, *Ruditapes philippinarum*의 성장과 생존율 비교, 한국양식학회지 9 (3), 223-

임현정, 박중현, 장인권. 2004. 대하양식장 사육수에 미치는 Probiotics의 효과. 한국수산학회지. 37(2), 91-97.

장계남. 2002. 패류양식. pp. 243-258.

장인권. 2000. 서해안의 새로운 양식기술 보급 연찬회. p97-108.

장묘인. 2001. 사천만산 바지락, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae)의 생식연주기. 부경대학교 석사학위 논문.

전상호. 1998. 국내외 호수 퇴적물의 준설 현황 및 전망.

천재우, 마채우, 이상현, 오계헌. 2005. 새우양식장에서 분리한 *Bacillus sp.* CK-10과 *Bacillus sp.* CK-13에 의한 질소와 인의 제거, 한국생물공학회지, 20. 2. 116-122.

천재우, 마채우, 오계헌. 2005. 새우양식장에서 분리한 *Lactobacillus* sp. JK-8의 생리적 특성. 한국미생물학회지. 41. 18-23.

최동민, 김홍균, 장진덕, 하태인, 박홍현. 2000. 피조개양식어장의 객토효과 지속성 연구. 남해수산기술관리소

최동민, 장진덕, 김홍균, 김기찬. 2001. 피조개 양식어장의 단위면적당 적정 살포량 구명 연구. 남해수산기술관리소.

최우정, 이필용, 이용화, 김정배, 이원찬, 김상수, 강주찬, 황원철. 2003. 노후 양식어장의 효율

적 저질 개선 방안 연구. 국립수산과학원.
최종덕, 김영만(1998). 해양미생물학. 구덕출판사. pp238.
해양수산부. 2000. 새우양식과 질병관리. p56.
해양수산부. 2003. 해양수산통계연보. p160-161.

편집순서 7

본 문 작 성 요 령

1. 본문의 순서는 장, 절, 1, 가, (1), (가), ①, ㉮, 등으로 하고,
   - 장은 17 포인트 고딕계열
   - 절은 15 포인트 명조계열
   - 본문은 11 포인트 명조계열로 한다. 단, 본문의 내용 중 중요부문은 고딕계열을 사용할 수 있다.

2. 장은 원칙적으로 페이지를 바꾸어 시작한다.

3. 본문은 11 포인트 횡으로 작성한다.

4. 페이지 번호는 하단 중앙 끝에 11 포인트로 한다.

5. 각주는 해당 페이지 하단에 8포인트 활자로 표기하며, 본문과 구분토록 한다.

6. 페이지 수는 편집순서 2의 제출문부터 시작한다.
   - 단, 삽입물이 있을 때는 그 삽입물의 크기에 불문하고 1면을 한 페이지로 하여 일련번호를 붙인다.

7. 한글, 한문, 영문을 혼용한다.

8. 뒷면지에 주의문을 넣는다.

9. 참고문헌(reference) 인용의 경우 본문 중에 사용처를 반드시 표시한다.

편집순서 8

주 의

1. 이 보고서는 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.

[부 표]

인 쇄 내 용

Ⅰ. 인쇄규격

1. 크 기 : A_4 용지
2. 제 본 : 좌철
3. 용 지 : ○ 표지 200 g/m. 양면 아트지
○ 내용 80 g/m. 모조지
4. 인쇄방식 :

1) 표지 : 바탕 백색, 활자 흑색

2) 내용 : 흑색 지정활자로 인쇄한다

Ⅱ. 편집순서

1. 표 지
2. 제출문
3. 요약문
4. Summary
5. Contents
6. 목 차
7. 본 문
8. 연구결과활용계획
9. 뒷면지

Ⅲ. 참고사항

○ 전자조판 인쇄시에는 이 요령에 준한다.