

최 종  
연구보고서

폐탄산가스를 이용한 Single Cell Protein 생산  
및 사료화 기술 개발

Production of Single Cell Protein from Carbon  
Dioxide and Its Applicability as an Animal Feed

연 구 기 관  
한국과학기술원

농 립 부



# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “폐탄산가스를 이용한 Single Cell Protein 생산 및 사료화 기술 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001년 10월 20일

**주관연구기관명 : 한국과학기술원**

총괄연구책임자 : 신 향 식

공 동 연 구 원 : 박 봉 선, 최 병 규

연 구 원 : 채 소 용, 이 상 형

연 구 원 : 강 석 태, 정 형 석

연 구 원 : 이 재 우, 유 남 규

연 구 원 : 이 철 효, 전 연 호

연 구 원 : 이 환, 전 영 주

**협동연구기관명 : 중앙대학교**

협동연구책임자 : 백 인 기

연 구 원 : 남궁 환, 임 회 석

연 구 원 : 최 선 우, 홍 성 진

연 구 원 : 김 병 한

# 요 약 문

## I. 제 목

폐탄산가스를 이용한 Single Cell Protein 생산 및 사료화 기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

최근에 지구의 평균 기온을 상승시켜 해수면 상승을 초래하고, 엘니뇨 (EL-Nino) 현상과 같은 이상 기후의 발생을 증가시키고 있는 지구 온난화 현상에 많은 관심이 모아지고 있다. 지구 온난화는 대기 중에 존재하는 온실 효과 가스 (Greenhouse effect gas)가 주범인 것으로 알려져 있는데, 대표적인 온실 효과 가스에는 CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> 등이 있고, 이들 중 화석 연료의 연소에서 대량 발생하는 이산화탄소가 가장 큰 영향 (전체의 55% 이상)을 주고 있는 것으로 알려져 있다.

인류의 산업 활동에 저해를 일으키지 않고 이산화탄소를 제어하는 방법으로 물리·화학적 제어 방법, 생물학적 고정화 방법, 해양 저장법 등이 사용되고 있는데, 생물학적 방법은 녹색식물 또는 미세조류의 광합성을 이용하여 이산화탄소를 고정화하는 것으로 친환경적이고, 경제적인 수단이다. 특히, 미세조류를 이용한 방법은 다른 방법에 비하여 빠른 시간 내에 효율적으로 이산화탄소를 고정화 할 수 있는 것으로 알려져 있다.

국내에서도 이러한 미세조류를 이용하여 이산화탄소 고정화 효율을 증가시키기 위한 실험실 규모의 연구가 활발히 진행되고 있으나, 현재까지 실용화를 위한 대규모 공정 개발이나, 생산된 미세조류를 활용할 수 있는 방안에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 미세조류인

*Euglena*를 이용하여 연료의 연소로 배출되는 이산화탄소를 고정화하고, 동시에 동물의 사료로 사용될 수 있는 바이오매스를 생산하는 것을 목표로 하였다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 총 3년에 걸쳐 *Euglena*를 이용한 폐탄산가스 고정화 공정 개발, 생산된 미세조류의 사료로서의 효과와 가치 검증, 그리고 사료 및 생산 시설의 경제성 평가에 관해서 진행되었다.

폐탄산가스를 이용한 고정화 공정 개발에서는 *Euglena*가 성장하기 적합한 환경 조건을 도출하고, 이산화탄소 고정화 효율 및 미세조류의 생산성을 높이기 위한 연구를 진행하였다.

생산된 미세조류의 사료로서의 효과 및 가치를 검증하기 위한 실험에서는 육계 (broiler) 및 산란계 (layer)를 대상으로 계육 및 계란의 품질 등을 조사하였다.

사료 및 생산 시설의 경제성 평가 부분에서는 비용 및 편익 분석 등을 통하여 적정 사료 판매비용을 예측하고, 생산 시설의 경제성을 분석하였다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 연구개발 결과

연구개발 결과 보일러에서 나오는 이산화탄소를 연속 배양을 통해 고정화하여 1개월에 약 5kg (건조무게)의 *Euglena*를 생산할 수 있는 광반응기를 개발하였으며, 생산된 미세조류를 사료로 사용하기 위해 분리하고 저장하기 위한 방안을 비교 평가하였다. 그리고, Ames test를 통하여 사료로서의 안전성을 확인하였다.

한편, *Euglena* 사료를 사용하여 육계 및 산란계의 생산성을 조사한 결과 대조군에 비하여 체중이 향상되고, 산란율이 증가하고 계육 및 계란에 taurine, DHA 등의 유용한 물질이 전이되는 것을 확인하였다.

## 2. 연구개발 결과 활용에 대한 건의

본 연구에서 개발된 폐탄산가스를 이용한 Single Cell Protein 생산 기술을 활용하기 위해서는 먼저 화력 발전소에서 배출되는 배가스를 이용한 실증 실험이 선행되어야 할 것으로 판단된다. 그러나 현재로는 부지 선정의 어려움, 이산화탄소 저감화에 대한 인식 부족으로 현장 적용의 조기 실현은 시기 상조이며 미래를 대비한 지속적인 투자와 관심이 있어야 할 것으로 사료된다.

경제성 분석 결과 *Euglena* 사료의 판매가격이 기존 사료보다 매우 비싸게 평가되었다. 그러나, *Euglena* 사료가 기존의 사료와는 특성 및 효과가 매우 상이하여 고농도 단백질이나 DHA를 활용할 수 있는 첨가제 등의 부가가치가 높은 사료로 사용하는 것이 바람직 할 것이다.

# SUMMARY

## I. Title

Production of Single Cell Protein from Carbon Dioxide and Its Applicability as an Animal Feed

## II. Objectives

CO<sub>2</sub> gas including N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> are the main culprits to cause the greenhouse effect. Among them, CO<sub>2</sub> gas is considered to have an major effect on global warming by over 55 %.

There are three principal procedures to treat CO<sub>2</sub> gas; such as physicochemical treatment, biological fixation, and ocean storage. Biological fixation of CO<sub>2</sub> gas by photosynthesis of green plants and microalgae is economical and environmentally friendly. Especially, microalgae is reported to have a faster fixation procedure than others.

In Korea, several researchers have investigated on CO<sub>2</sub> gas fixation using lab-scale photo-bioreactors since late 1990's. However, there is little information available on the development of practical plants and application of produced microalgae. Therefore, this study focused on fixation of CO<sub>2</sub> gas using *Euglena*, and production of single cell protein as an animal feed.

### III. Scopes

Study on CO<sub>2</sub> gas fixation procedure, utilization of produced microalgae to animal feed, and cost assessment were made for three years.

Firstly, optimal conditions for the *Euglena* cultivation, CO<sub>2</sub> gas fixation and single cell production were investigated.

Secondly, broiler and layer were fed on the product with conventional feed to evaluate its utilization as an animal feed.

Finally, production cost and marketing possibility of the animal feed were assessed by cost/benefit analysis.

### IV. Results and Recommendation

An advanced waste CO<sub>2</sub> gas fixation process was developed to treat combustion gas using a continuous cultivation technique. The process produced 5 kg dry weight from an 1 m<sup>3</sup> photo-bioreactor per month. Separation and preservation methods of produced microalgae were investigated, also safety test on animal health was performed by the Ames test.

When *Euglena* was added to the conventional feed, the weight of broilers and layers increased and mortality decreased. Another positive result was that taurine and DHA were found in chicken muscle and egg.

In this study, SCP (Single Cell Protein) production technology was developed using waste carbon dioxide gas. To apply this technology,



further research is necessary for power plants to decrease CO<sub>2</sub> from their stack gas. But, now there are some problems to be solved such as locating suitable site for application, public awareness, and decrease of the process operation cost. These study would speed up the application of this research results to the fields.

Economic analysis indicated that the production cost of *Euglena* was rather high in this study using small-scale apparatus. But, *Euglena* showed remarkable efficiency with a very low addition to the conventional feed.

In a word, if the production cost become appropriate for actual use, we will benefit from them in terms of decreasing global warming and obtaining special additive for animals as a by-product.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	18
1. Objectives and Scopes .....	18
Chapter 2. Process Development for Carbon Dioxide Fixation with <i>Euglena</i> .....	27
1. Introduction .....	27
2. Materials and Methods .....	36
3. Research Contents .....	44
4. Results and Discussion .....	47
5. Conclusions .....	83
Chapter 3. Feeding Trial for Testing Availability of <i>Euglena</i> ...	86
1. Introduction .....	86
2. Effects of Supplementary <i>Euglena</i> on Broilers .....	87
3. Effects of Supplementary <i>Euglena</i> on Layers .....	98
4. Conclusions .....	106
Chapter 4. Evaluation of <i>Euglena</i> as a Functional Feed .....	107
1. Introduction .....	107
2. Effects of Supplementary <i>Euglena</i> on Broiler Breast Muscle .....	108
3. Effects of <i>Euglena</i> on the Laying Performance, Egg Quality and Fatty Acid in Yolk .....	117
4. Conclusions .....	126

Chapter 5. Economic Analysis of <i>Euglena</i> Feed and Production	
Facilities .....	127
1. Introduction .....	127
2. Principle and Methods .....	127
3. Results and Discussion .....	132
4. Conclusions .....	138
Results Summary .....	139
References .....	141

# 목 차

제 1 장 서 론 .....	18
제1절 연구개발의 목적과 범위 .....	18
1. 연구개발의 필요성 .....	18
2. 국내·외 관련 기술의 현황 .....	19
3. 연구 목적 .....	24
4. 연구개발의 범위 .....	24
5. 연구개발 결과 활용에 대한 건의 .....	26
제 2 장 <i>Euglena</i> 를 이용한 이산화탄소 고정화 공정 개발 분야 .....	27
제1절 서 론 .....	27
1. 생물학적 이산화탄소 고정화의 원리 .....	27
2. 이산화탄소 공정 기술 개발의 문제점 .....	28
3. <i>Euglena</i> 를 이용한 이산화탄소 고정화의 특성 .....	31
4. <i>Euglena</i> 의 동물 사료로의 이용 가능성 .....	33
제2절 실험 재료 및 방법 .....	36
1. 균주 및 배지 조성 .....	36
2. 광반응기 (Photo-bioreactor) .....	37
3. 분석 방법 .....	41
제3절 실험 내용 .....	44
1. 미세조류의 농도와 흡광도의 상관관계 도출 .....	44
2. <i>Euglena</i> 의 성장에 미치는 온도 및 pH의 영향 조사 .....	44
3. Jar-fermenter를 이용한 최적 배양 조건 도출 .....	44
4. 배지 상태에 따른 배양 결과 비교 .....	45
5. 광독립 조건에서 <i>Euglena</i> 의 성장 동력학 .....	45
6. 연속 및 반연속 배양 .....	45

7. 새로운 형태의 반응기를 이용한 생산성 향상 연구 .....	46
8. 성장한 미세조류의 분리 방법 평가 .....	46
9. 수확된 미세조류의 보존성 향상을 위한 가공방법 연구 .....	46
10. 변이원성 시험 (Ames test)을 통한 <i>Euglena</i> 사료의 안전성 검증 ....	46
제4절 실험 결과 .....	47
1. 미세조류의 농도와 흡광도의 상관관계 도출 .....	47
2. <i>Euglena</i> 의 성장에 미치는 온도 및 pH의 영향 조사 .....	49
3. Jar-fermenter를 이용한 최적 배양 조건 도출 .....	52
4. 배지 상태에 따른 배양 결과 비교 .....	55
5. 광독립 조건에서 <i>Euglena</i> 의 성장 동력학 .....	56
6. 격막이 설치된 관형 광반응기의 효율 평가 .....	59
7. 새로운 형태의 반응기를 이용한 생산성 향상 연구 .....	64
8. 성장한 미세조류의 분리 방법 평가 .....	72
9. 수확된 미세조류의 보존성 향상을 위한 가공방법 연구 .....	74
10. 변이원성 시험 (Ames test)을 통한 <i>Euglena</i> 사료의 안전성 검증 ....	77
제5절 결 론 .....	83
제 3 장 사육 시험을 통한 <i>Euglena</i> 세포 이용성 검토 분야 .....	86
제1절 서 론 .....	86
제2절 <i>Euglena</i> 가 육계의 생산성에 미치는 영향 .....	87
1. 재료 및 방법 .....	87
2. 결 과 .....	88
제3절 <i>Euglena</i> 가 산란계의 생산성에 미치는 영향 .....	98
1. 재료 및 방법 .....	98
2. 결 과 .....	99
제4절 결 론 .....	106

제 4 장 기능성 사료로서 <i>Euglena</i> 가치 평가 .....	107
제1절 서 론 .....	107
제2절 <i>Euglena</i> 의 첨가가 계육에 미치는 영향 (육계) .....	108
1. 재료 및 방법 .....	108
2. 결 과 .....	112
제3절 <i>Euglena</i> 의 첨가가 계란에 미치는 영향 (산란계) .....	117
1. 재료 및 방법 .....	117
2. 결 과 .....	120
제4절 결 론 .....	126
제 5 장 <i>Euglena</i> 사료 및 생산 시설의 경제성 평가 분야 .....	127
제1절 서 론 .....	127
제2절 경제성 평가 원리 및 방법 .....	127
1. 기존 사료의 품질 분석 .....	127
2. 경제성 평가의 과정 .....	129
3. 경제성 평가 기준 .....	129
4. 분석 방법 .....	130
제3절 경제성 평가 결과 .....	132
1. 사료 생산비용 산정 .....	132
2. <i>Euglena</i> 사료 판매비용 산정 .....	133
3. <i>Euglena</i> 사료 생산 시설의 경제성 평가 .....	134
제4절 결 론 .....	138
종합 결론 .....	139
참고 문헌 .....	141

## 표 목 차

Table 1.1 국내·외 관련 기술의 현황 .....	20
Table 1.2 이산화탄소 고정화를 위한 소요 면적 .....	21
Table 1.3 생물학적 이산화탄소 고정화 공정 비교 .....	22
Table 1.4 광반응기를 이용한 생물학적 이산화탄소 고정화 연구 현황 .....	23
Table 1.5 이산화탄소 고정화 공정 개발의 연구 범위 .....	24
Table 2.1 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 문제점 .....	29
Table 2.2 <i>Euglena</i> 세포 단백질의 우수성 .....	35
Table 2.3 Modified Cramer-Myers 배지의 조성 .....	37
Table 2.4 발전소 배가스 성분 .....	53
Table 2.5 광도 및 조사 조건 .....	54
Table 2.6 연속 및 반연속 배양 결과 .....	61
Table 2.7 보일러 배가스 성분 .....	65
Table 2.8 광도 및 온도 변화에 따른 회분식 실험 결과 .....	67
Table 2.9 광반응기 형태에 따른 배양 효율 평가 .....	69
Table 2.10 광반응기에서 생산된 <i>Euglena</i> 분리 방법 비교 .....	72
Table 2.11 노천건조와 원심분리 후 동결건조 시 단백질 함량 비교 .....	73
Table 2.12 <i>Euglena</i> 사료 가공 방법에 따른 수분 및 단백질 변화 .....	75
Table 2.13 <i>Euglena</i> 저장 중의 ribosome의 변화 .....	77
Table 2.14 Ames test를 위한 하층 배지 성분 .....	79
Table 2.15 변이 유도를 위한 종 (種)농도와 검사시료의 혼합비 .....	80
Table 2.16 Ames test 결과 .....	82
Table 3.1 Composition of broiler starter diets (1-21d) .....	90
Table 3.2 Composition of broiler grower diets (22-35d) .....	91
Table 3.3 Weight gain, feed intake, feed/gain and mortality of broiler chickens fed experimental diets .....	92

Table 3.4 The availability of organic matters(OM) and crude ash in broiler chickens .....	93
Table 3.5 Fatty acids composition of breast muscle from broiler fed experimental diets .....	95
Table 3.6 Fatty acids composition of <i>Euglena</i> .....	96
Table 3.7 Apparent metabolizable energy of <i>Euglena</i> .....	97
Table 3.8 True metabolizable energy of <i>Euglena</i> .....	97
Table 3.9 Chemical composition of <i>Euglena</i> .....	97
Table 3.10 Composition of layer diets .....	100
Table 3.11 Summary of performance and eggshell quality during experimental period from 1 to 4 wks .....	101
Table 3.12 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 1st wks .....	102
Table 3.13 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 2nd wks .....	103
Table 3.14 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 3rd wks .....	104
Table 3.15 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 4th wks .....	105
Table 4.1 Composition of broiler starter diets (1-21d) .....	110
Table 4.2 Composition of broiler grower diets (22-35d) .....	111
Table 4.3 Weight gain, feed intake, feed/gain and mortality of broiler chicken fed experimental diets .....	113
Table 4.4 The availability of organic matter (OM) and crude ash in broiler chickens .....	114
Table 4.5 Fatty acids composition of breast muscle from broiler fed experimental diets .....	115



Table 4.6 Fatty acids composition of <i>Euglena</i> (in rich DHA) .....	116
Table 4.7 Composition of layer diets .....	119
Table 4.8 Summary of performance and eggshell quality during experimental period from 1 to 4wks .....	121
Table 4.9 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 1st wks .....	122
Table 4.10 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 2nd wks .....	123
Table 4.11 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 3rd wks .....	124
Table 4.12 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 4th wks .....	125
Table 5.1 닭 사료 품질 및 가격 .....	128
Table 5.2 <i>Euglena</i> 사료의 품질 .....	128
Table 5.3 단계별 비용 항목 .....	132
Table 5.4 설치비용 (고정비용) .....	132
Table 5.5 운영비용 (가변비용) .....	133
Table 5.6 편익추정에 따른 <i>Euglena</i> 사료의 판매비용 산출 .....	134
Table 5.7 순현재가치평가 (NPV)에 의한 현금 흐름표 .....	136
Table 5.8 연간 매출 추정치 변화에 따른 민감도 분석 .....	137
Table 5.9 시장 할인율 변화에 따른 민감도 분석 .....	137
Table 5.10 기업 이윤 변화에 따른 민감도 분석 .....	137

## 그 립 목 차

Figure 2.1 <i>Euglena</i> 의 전형적인 구조 .....	32
Figure 2.2 Jar-fermenter의 모식도 .....	38
Figure 2.3 연속 및 반연속 배양용 관형 반응기의 모식도 .....	39
Figure 2.4 L-type 광반응기의 모식도 .....	40
Figure 2.5 L-type 광반응기 현장 사진 .....	40
Figure 2.6 L-type 광반응기의 상부 혼합 장치와 보조 광원 .....	41
Figure 2.7 <i>Euglena</i> 의 흡광도 곡선 .....	48
Figure 2.8 미세조류 엽록소의 흡광도 곡선 .....	48
Figure 2.9 미세조류 건조 무게와 흡광도의 상관관계 .....	49
Figure 2.10 초기 pH 변화에 따른 미세조류 성장 변화 .....	50
Figure 2.11 배양 기간 동안의 pH의 변화 .....	50
Figure 2.12 온도 변화에 따른 미세조류 성장 변화 .....	51
Figure 2.13 이산화탄소 농도 변화에 따른 미세조류 성장 변화 .....	53
Figure 2.14 광도 변화에 따른 미세조류 성장 변화 .....	54
Figure 2.15 배지 전처리 조건에 따른 미세조류 성장 변화 .....	55
Figure 2.16 광독립영양 조건하에서 <i>Euglena</i> 의 성장 동력학 .....	57
Figure 2.17 연속 배양 결과 .....	60
Figure 2.18 반연속 배양 결과 .....	60
Figure 2.19 배가스 재순환 실험 .....	62
Figure 2.20 배가스 재순환시 미세조류의 성장 .....	63
Figure 2.21 광원 변화에 따른 미세조류 성장 변화 .....	63
Figure 2.22 시간 변화에 따른 태양 광도와 수온 변화 .....	64
Figure 2.23 L-type 광반응기를 이용한 회분식 배양 .....	66
Figure 2.24 여름철 우기 배양 결과 .....	67
Figure 2.25 배지 재사용 회분식 실험 결과 .....	68

Figure 2.26 L-type 광반응기를 이용한 연속 배양 결과 .....	70
Figure 2.27 L-type 광반응기를 이용한 반연속 배양 결과 .....	71
Figure 2.28 <i>Euglena</i> 사료 가공시 ribosome의 측정 순서 .....	76
Figure 2.29 Ames test 진행 순서 .....	82
Figure 3.1 Taurine contents in meat of broiler chickens fed <i>Euglena</i> supplemental diets .....	94
Figure 5.1 경제성 평가 과정 모식도 .....	130

# 제 1 장 서 론

## 제1절 연구개발의 목적과 범위

### 1. 연구개발의 필요성

우리가 살아가는 지구 생태계의 자정 능력은 제한되어 있는데, 인구 증가와 더불어 사람들의 소비 욕구도 끊임없이 증가하여 에너지 및 자원의 고갈은 물론, 오염물의 무분별한 대량 방출로 자연 생태계에 많은 부담을 주고 있다. 과학의 빠른 발전으로 인하여 발생한 자연 환경 훼손 등의 부작용에 대하여 지구촌의 관심이 증대하고 있다. 특히, 지구의 평균 기온을 상승시켜 해수면 상승을 초래하고, 엘니뇨 (EL-Nino) 현상과 같은 이상 기후의 발생을 증가시키고 있는 지구 온난화 현상에 많은 관심이 모아지고 있다. 지구 온난화는 대기 중에 존재하는 온실 효과 가스 (Greenhouse effect gas)가 주범인 것으로 알려져 있는데, 대표적인 온실 효과 가스에는 CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> 등이 있고, 이들 중 화석 연료의 연소에서 대량 발생하는 이산화탄소가 가장 큰 영향 (전체의 55% 이상)을 주고 있는 것으로 알려져 있다. 한편, 1994년 3월 “기후변화협약 (FRAME WORK CONVENTION on CLIMATE CHANGE)”이 발효된 이후로 이산화탄소 배출량 감축을 위한 국제적 논의가 진행되고 있으며, 배출되는 이산화탄소를 효율적으로 제어 및 제거할 수 있는 기술 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 우리나라의 경우는 전체 연료 사용량 중 화석 연료 의존도가 90%에 가까우며 온실가스 배출이 세계 배출량의 1.8% (1997년 세계 11위)로서 꾸준히 증가하고 있는데, 2010년 이산화탄소 배출량이 1990년도 보다 약 7%가 증가할 것으로 예상되어, OECD 가입국으로서 이산화탄소 배출량을 감축하는 국가적이고, 광범위한 조치의 시행이 불가피한 상황이다.

## 2. 국내·외 관련 기술의 현황

산업 활동에 저해를 일으키지 않고 이산화탄소를 제어하는 방법으로는 물리·화학적 제어 방법, 생물학적 고정화 방법, 해양 저장법 등이 사용되고 있는데, 생물학적 방법은 자연계의 탄소 순환을 이용하는 것으로 가장 환경 친화적인 방법으로 알려져 있으며 1980년대 중반 이후로 일본 및 유럽 등에서 활발한 연구가 이루어지고 있다. 특히 이 방법은 광합성효율이 고등 식물에 비해 우수하고 상온·상압에서 반응이 진행되는 장점을 가지고 있다. 그러나, 고농도·대량 배양의 어려움, 광범위한 부지의 필요성, 반응기의 scale-up으로 인한 고정화 효율 저하, 생산된 바이오매스 (biomass)의 처분 등이 문제점으로 지적되고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 고농도·대량 배양이 가능한 반연속식 또는 연속식 배양 시스템의 개발이 필요하며, 광활용 효율의 저하를 방지하며 장기간 지속적으로 이산화탄소를 고정화할 수 있는 공정의 개발이 필수적이고, 생산된 바이오매스를 적절히 재활용하여 또 다른 폐기물이 생성되는 것을 예방할 수 있어야 한다. 미세조류의 대량 배양을 위한 광반응기 (photo-bioreactor)의 중요한 환경인자로는 광도, 온도, pH, CO<sub>2</sub> 농도, 질소, 인 등의 영양 물질이 있는데, 이 중에서 다른 환경 인자보다도 광도에 대한 중요성을 인식하여 미세조류가 필요로 하는 빛을 적절히 공급 위한 다양한 연구가 진행되었다

우리나라에서도 1998년 4월 국무총리실 산하의 기후 변화 범 정부 대책 기구 (Inter-agency Committee to Combat Climate Change)를 구성하여 국가행동 계획 (National Action Plan to mitigate Climate Change)을 수립하여 시행하고 있다. 또한 우리나라와 비슷한 기후조건을 가진 일본에서는 “The Green Planet Project”라는 프로젝트를 진행하였는데, 통산성 (Ministry of International Trade and Industry) 주도 하에 1989년부터 지구상의 CO<sub>2</sub> 발생량을 매년 200억톤씩 감소시키는 것을 목표로 하고 있다. 세부 연구내용으로는 지구전체의 환경산업과 기술에 관한 정보수집, CO<sub>2</sub>고정화, 환경오염

측정 센서 개발, 생분해성 플라스틱의 개발 등이 있으나, 가장 중점을 둔 분야는 박테리아나 조류배양을 통한 CO<sub>2</sub>의 고정화 방법이라고 할 수 있다.

다음의 Table 1.1에는 생물학적 이산화탄소 고정화와 관련된 국내외 연구 현황을 정리해 보았는데, 국외에서는 1990년대 초반부터 일본을 중심으로 생물학적 이산화탄소 고정화의 기초 연구가 많은 연구자들에 의해서 활발하게 전개되었다.

Table 1.1 국내·외 관련 기술의 현황

	내 용
국외	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 미국: Benemann (1993)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 화력 발전소에서 배출되는 이산화탄소 이용</li> <li>- 생물학적 고정화 시스템 개발 및 경제성 평가</li> </ul> </li> <li>○ 일본: Masahiro <i>et al.</i> (1990)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 광합성 미생물 배양에 대한 연구, 태양광 직접 조사 배양</li> </ul> </li> <li>○ 일본: Masakazu <i>et al.</i> (1990)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- CO<sub>2</sub> 고정능력이 우수한 미세조류의 Screening</li> </ul> </li> <li>○ 일본: Yoshitomo <i>et al.</i> (1991)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Chlorella</i>를 이용한 광합성 bioreactor의 개발</li> </ul> </li> <li>○ 그 밖에 일본 RITE 기관에서 대대적인 연구 진행</li> </ul>
국내	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 한국화학연구소 (1998)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 화학적 및 생물학적 이산화탄소 고정화기술 연구</li> </ul> </li> <li>○ 산업자원부 (1999)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Chlorella</i> HA-1을 이용한 이산화탄소 고정화 연구</li> </ul> </li> <li>○ 한국에너지기술연구소 (1998)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 고농도 이산화탄소 (30%)에 강한 토종 균주 분리 (<i>Chlorella</i> KR-1)</li> </ul> </li> </ul>

위의 Table 1.1에서 볼 수 있듯이 우리나라의 광반응기를 이용한 생물학적

이산화탄소 고정화 기술의 발전은 미국, 일본 등에 비하여 약 10년 정도 뒤쳐져 있는 실정이다. 한편, 이스라엘, 태국과 같이 넓은 부지를 이용하여 대규모로 배양하는 경우에는 고급 기술이 필요하지는 않지만, 우리나라와 같이 이용할 수 있는 국토면적이 제한된 경우에는 적합하지 않은 방법으로 사료된다. 다음 Table 1.2에는 동일한 양의 이산화탄소를 제거하기 위해 필요한 부지 면적을 바이오매스 종류에 대하여 정리해 보았는데, 이 Table에서 알 수 있듯이 미세조류를 이용한 이산화탄소 고정화가 적은 부지를 이용하여 효율적으로 이산화탄소를 제거할 수 있는 방법으로 사료된다.

Table 1.2 이산화탄소 고정화를 위한 소요 면적

바이오매스 (biomass)	소요 면적 (km <sup>2</sup> )
소나무	2,100
대형조류 (macroalgae)	900
열대 우림	600
사탕수수	400
미세조류 (microalgae)	140

※ 산정기준: 100MW 석탄화력발전소에서 배출되는 이산화탄소의 90% 제거

[자료: Tokyo Electric Company, 1994]

따라서, 우리나라 실정에 맞는 생물학적 이산화탄소 고정화 공정에서 가장 중요한 연구의 방향은 광합성을 통해 이산화탄소를 고정화하는 미세조류의 고농도 및 대량 기술을 확립하는 것이다. 다음 Table 1.3에는 여러 종류의 생물학적 이산화탄소 고정화 공정을 비교해 놓았다. 이 Table에서 알 수 있듯이 광섬유 반응기를 사용한 경우가 이산화탄소 고정화 효율은 가장 좋지만 소요 비용이 커서 설치가 어려우며, 연못형 반응기의 경우에는 설치비용은 저렴하지만 넓은 부지가 필요하고 고정화 효율이 낮은 단점이 있다. 따라서, 1990년대 이후의 대부분의 연구는 소요되는 비용 및 부지도 적고, 고정화 효율도 높은 관형 반응기를 사용하여 진행되었고, 일부 광섬유 반응기를 사용

하여 미세조류를 고농도로 배양한 결과도 보고되었지만, 설치비 및 운영비용이 비싸고, 대규모 설치가 어려운 문제점이 있어서 아직까지 실용화되지 못하고 있다. 이러한 연구 현황을 Table 1.4에 정리하여 보았다.

Table 1.3 생물학적 이산화탄소 고정화 공정 비교

반응기 형태	CO <sub>2</sub> 고정화속도 (g CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /day)	소요부지	설치비용	운영비용
연못형 (Raceway pond)	40	대규모	거의 없음	낮음
관형 (Tubular)	80	좁은 공간	낮음	높음
광섬유 (Optical fiber)	160	좁은 공간	높음	매우 높음

[자료: 환경부, 1997]

그 결과 지금까지 개발되어진 배양기술들은 공통적으로 미생물이 고농도일 때 반응기내로의 효율적인 빛 공급의 어려움, 반응기의 scale up으로 인한 효율저하 등의 문제점을 지니고 있었다. 또한 광합성 미생물을 배양할 때 대표적으로 사용하는 방법이 회분식 (batch)과 연속식 (continuous) 배양인데, 회분식 배양의 경우 미세조류가 성장기 (growth phase)를 지나고 나면, 조류의 성장이 정체기 (stationary phase)에 접어들게 되어, 성장기 이후에는 조류에 의한 이산화탄소의 고정화가 거의 이루어지지 않는다. 반면 이러한 단점을 보완할 수 있는 연속, 반연속식 배양의 경우에는 장기간 운전도 가능할 뿐만 아니라, 실질적인 대량 배양이 가능하다. 한편, 이산화탄소를 고정화하고 성장한 미세조류는 적절히 재활용하지 않으면 또 다른 폐기물로 발생되어 환경에 악영향을 끼치게 된다. 따라서, 외국에서는 생물연료로 사용하거나 동식물의 사료로 활용하는 방안에 대해서도 활발히 연구를 진행하고 있다. 그러나 아직까지 우리나라에서는 이산화탄소 고정화에 초점을 두고 고농도 미세조류의 배양을 위한 광반응기 및 운전 기술 개발에 많은 연구를 수행하



였고, 생산된 미세조류의 처리 및 사용에 관해서는 연구가 미진한 상태이다.

Table 1.4 광반응기를 이용한 생물학적 이산화탄소 고정화 연구 현황

	내 용	참고문헌
회분식 배양	- <i>Euglena gracilis</i> 최적 배양 조건조사 (온도, pH, CO <sub>2</sub> 농도) 및 공급 가스 재순환 연구	최정윤, 1998
	- 10% CO <sub>2</sub> 농도에 내성을 갖는 종 분류 → <i>Chlorella</i> HA-1	Watanabe <i>et al.</i> , 1992
	- 20% CO <sub>2</sub> 농도에 내성을 갖는 종 분류 → <i>Chlorococcum littorale</i>	Kodama <i>et al.</i> , 1993
연속 배양	- 63시간 동안 연속 배양, ceramic membrane으로 성장한 cell 분리	Tacking <i>et al.</i> , 1992
	- 반연속식 배양, 5일마다 새로운 배지 공급 (50~90%) → 30일 동안 운전	산업자원부, 1999
	- 반연속식 배양, <i>Euglena gracilis</i> 이용 → 유입율 41.7ml/hr, 회석율 0.021/hr	James <i>et al.</i> , 1999
	- 연속 배양, 체류시간 5일 → 260 kg COD/ha/day로 운전	Cromar <i>et al.</i> , 1996
세포 재활용	- Raceway pond, <i>Nannochloropsis sp.</i> NANNO-2 Bio-fuel로 이용 → 6,310 kcal/kg	Negoro <i>et al.</i> , 1992
	- 관형 반응기 내부 순환관, 고정화 속도 10% 향상	한국화학연구소, 1998
광조사 방법	- 내부조사형 광생물 반응기	에너지관리공단, 1999
	- 광섬유 반응기, <i>Synechococcus</i> 배양 → 1,110 g CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> -day	Takano <i>et al.</i> , 1992
	- 내부조사형 광섬유 반응기	Ogbonna, 1999

### 3. 연구 목적

본 연구의 최종목표는 생활 환경 중에서 발생하는 CO<sub>2</sub>를 생물학적 방법을 이용하여 효율적으로 고정화하고, 여기에서 생산된 *Euglena* 세포를 가축의 사료로 재이용하는 기술을 개발하는데 있다.

### 4. 연구개발의 범위

가. 미세조류를 이용한 이산화탄소 고정화 공정 개발: 총 3년의 연구 기간 동안 광반응기를 이용한 이산화탄소 고정화 공정의 연구 개발 범위는 다음과 같다.

Table 1.5 이산화탄소 고정화 공정 개발의 연구 범위

구분	연구개발 내용 및 범위
1차년도	<p>&lt; Jar fermenter를 이용한 배양 조건 조사 &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배지의 적정 조성 도출 및 증식 속도 평가</li> <li>○ 적정 광조사량 및 온도, CO<sub>2</sub> 농도 범위 도출</li> <li>○ Balanced growth 여부의 확인</li> </ul>
	<p>&lt; 연속, 반연속 배양 기술 개발 &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 연속 배양시 운전 조건의 확립 (CO<sub>2</sub> 농도, 광도 등)</li> <li>○ 배양된 <i>Euglena</i> 세포의 생물학적 분석</li> <li>○ 안전성 검토 (변이원 활성 유·무 test)</li> </ul>
	<p>&lt; 배양효율 증대를 통한 실용성 향상 연구 &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 배양기 온도영향 및 온도 조절 방법 검토</li> <li>○ 배가스 재순환을 통한 이산화탄소 용해율 향상 기술 개발</li> <li>○ <i>Euglena</i> 세포의 적정 분리 장치 개발</li> </ul>
3차년도	<p>&lt; 폐탄산가스를 이용한 SCP 생산 및 사료화 공정 개발 &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 각 단위공정의 최적 운전 조건 평가 및 최적화</li> <li>○ <i>Euglena</i> 사료의 보존성 향상을 위한 가공 기술 개발</li> </ul>

나. 사육실험을 통한 *Euglena* 세포 이용성 검토:

- 1) 육계의 생산성에 미치는 영향 - 갓 부화한 육계병아리 (Loss) 210수 (암, 수 각 105수씩)를 반복당 10수씩 (암, 수 각 5수씩) 3반복으로 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena gracilis*를 0.25% (T2), 0.50% (T3), 1.0% (T4) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T5), 1.0% (T6), 2.0% (T7) 첨가한 구의 7 처리구로 하였다. 사양실험 및 대사실험은 5주간 실시하였으며 매주 사료 섭취량과, 증체량, 사료요구율 및 폐사율을 측정하였다.
- 2) 산란계의 생산성에 미치는 영향 - 32주령의 산란계 280수를 7처리구로 나누어 처리당 4반복으로 반복당 10수씩 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena gracilis*를 0.25% (T2), 0.50% (T3), 1.0% (T4) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T5), 1.0% (T6), 2.0% (T7) 첨가한 구의 7처리구로 하였다. 사양실험은 4주간 실시하며, 산란계의 생산성을 측정하였다.

다. 기능성 사료로써 *Euglena*의 가치 평가:

- 1) *Euglena*의 첨가가 계육에 미치는 영향 - 갓 부화한 육계병아리 (Loss) 250수 (암, 수 각 125수씩)를 반복당 10수씩 (암, 수 각 5수씩) 5반복으로 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena gracilis*를 0.5% (T2), 1.0% (T3) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T4), 1.0% (T5) 첨가한 구의 5처리구로 하였다. 사양실험은 5주간 실시하였으며 매주 사료섭취량과, 증체량, 사료요구율 및 폐사율을 측정하였다.
- 2) *Euglena*의 첨가가 계란에 미치는 영향 - 84주령의 산란계 300수를 5처리구로 나누어 처리당 5반복으로 반복당 12수씩 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena bleached*를 0.5% (T2)첨가한 구와 *Euglena gracilis*를 0.5% (T3), 1.0% (T4), 2.0% (T5) 첨가한 구의 5

처리구로 하였다. 사양시험은 4주간 실시하며 계란의 다양한 품질을 조사하였다.

라. *Euglena* 사료 및 생산 시설의 경제성 평가:

- 1) Cash flow estimation 작성
- 2) 평가의 목표와 범위 지정
- 3) 초기 투자비 (시설비) 산출
- 4) 운영비 (원료비, 가동비, 인건비, 유지비, 환경비용 등) 산출
- 5) 수익 (사료판매비) 산출
- 6) *Euglena* 사료의 제품화 경제성 검토
- 7) NPV, IRR의 평가지표 이용
- 8) 손익분기점의 계산
- 9) 각 변수의 불확실성에 따른 민감도 분석

5. 연구개발 결과 활용에 대한 건의

가. 본 연구에서 개발된 폐탄산가스를 이용한 Single Cell Protein 생산 기술을 활용하기 위해서는 먼저 화력 발전소에서 배출되는 배가스를 이용한 실증 실험이 선행되어야 할 것으로 판단된다. 그러나 현재로는 부지 선정의 어려움, 이산화탄소 저감화에 대한 인식 부족으로 현장 적용의 조기 실현은 시기 상조이며 미래를 대비한 지속적인 투자와 관심이 있어야 할 것으로 사료된다.

나. 경제성 분석 결과 *Euglena* 사료의 판매가격이 기존 사료보다 매우 비싸게 평가되었다. 그러나, *Euglena* 사료가 기존의 사료와는 특성 및 효과가 매우 상이하여 고농도 단백질이나 DHA를 활용할 수 있는 첨가제 등의 부가가치가 높은 사료로 사용하는 것이 바람직 할 것이다.

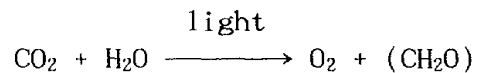
## 제 2 장 *Euglena*를 이용한 이산화탄소 고정화 공정 개발 분야

### 제1절 서 론

#### 1. 생물학적 이산화탄소 고정화의 원리

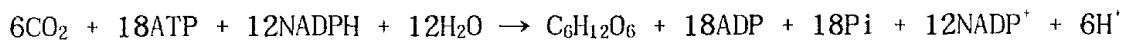
대기, 바다, 토양, 침전물 등의 생태계에는 자연적인 이산화탄소 저장고가 많이 있어, 자연계 및 인간의 활동에서 배출되는 이산화탄소를 보유하고 있다. 하지만, 산업 혁명 이후 인간의 생산 활동이 활발해 지면서 생태계가 보유할 수 있는 이산화탄소 보다 많은 양이 배출되어 균형이 깨지고, 지구 온난화 등의 문제를 일으키게 되었다.

생물에 있어서 탄소의 1차 공급원은 공기중의 이산화탄소이다. 공기중의 이산화탄소는 기초 생산자인 광독립영양균인 식물성 조류에 의해 고정된다. 화학독립영양균도 이산화탄소를 고정하지만, 광독립영양균에 비해 중요도가 작다. 이렇게 고정된 탄소는 먹이 사슬을 통하여 다른 생물에게 전달된다. 즉, 성장과 에너지에 대한 기질로 탄소가 이용되는 것이다. 이러한 광합성의 전체적인 산화-환원 반응식은 다음과 같다



이 반응에서  $\text{H}_2\text{O}$ 는 전자 공여체로 작용하여  $\text{CO}_2$ 를 탄수화물 ( $\text{CH}_2\text{O}$ )로 환원시킨다. 이러한 광합성 반응은 크게 두 개의 독립적인 다중반응으로 구별할 수 있는데, 각각을 광반응 (light reaction)과 암반응 (dark reaction)이라 한다 (Lee et al, 1981). 광반응에서는 빛에너지가 클로로필 (chlorophyll)

과 같은 광합성 미생물의 색소 물질 (pigments)에 의해 흡수되고 반응이 진행되어 두 종류의 고에너지 화합물인 ATP (adenosine triphosphate)와 NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide의 환원형)로 전환된다. 한편, 암반응은 탄소고정화 반응 (carbon fixation reaction)이라고도 하는데 빛의 존재에 상관없이 진행된다. 다만, 광반응이 빛이 있는 조건에서만 진행되는 것에 비해 탄소고정화 반응은 그렇지 않으므로 암반응이라 명명되었다. 이러한 암반응에서는 광반응에서 만들어진 ATP와 NADPH를 사용하여 CO<sub>2</sub>를 포도당 (glucose)이나 다른 유기 화합물로 바꾼다. 지금까지 설명한 이산화탄소 환원 경로는 대부분의 독립 영양균에 있어서 Calvin cycle 또는 reductive pentose cycle로 알려져 있는데, Calvin cycle에서의 전체 반응식은 다음과 같이 나타낼 수 있다 (Stryer, 1995).



위의 반응에서 CO<sub>2</sub> 1몰이 glucose나 fructose로 전환하기 위해서는 3몰의 ATP와 2몰의 NADPH가 필요함을 알 수 있다.

## 2. 이산화탄소 공정 기술 개발의 문제점

현재 연구되고 있는 생물학적 이산화탄소 고정화 공정은 상온·상압의 반응을 이용하므로 에너지 소모량이 적으며, 고정화 과정에서 생산되는 미세조류를 대체연료 (Bio-fuel), 동물사료 등의 유용한 물질로 활용할 수 있다는 장점이 있다. 그러나, 생물학적 고정화 공정도 경우에 따라서 시스템을 설치하기 위해 소요되는 부지가 막대하다는 문제점이 있다. 예를 들면, William (1994) 등의 연구자들은 하루에 2.4×10<sup>4</sup> metric tons의 석탄을 태우는 화력 발전소에서 배출되는 이산화탄소를 제거하기 위해서는 1m 깊이를 갖는 386 km<sup>2</sup>의 연못(raceway pond)이 필요하며, 이때 2.13×10<sup>5</sup> m<sup>3</sup> tons (wet weight)

의 바이오매스가 생성된다고 밝혔다. 그러나, 앞서서도 언급했듯이 우리나라와 같이 국토 면적이 작아서 부지를 쉽게 확보할 수 없는 경우에는 이러한 연못형 반응기의 선택은 불가능하다. 따라서, 이러한 문제점을 해결하기 위해서 우리나라와 상황이 비슷한 일본과 유럽의 여러 나라들은 단위 면적당 고정화 속도가 높은 새로운 배양 시스템의 개발에 많은 관심을 갖고, 연구를 수행하고 있는 실정이다.

지금까지 살펴본 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 주요 문제점과 가능한 개선안을 다음 Table 2.1에 항목별로 정리해 보았다. 연못형 반응기를 선택할 경우의 문제점은 위에서 자세히 언급하였으므로 다른 항목에 대해서 살펴보기로 한다. 우리나라와 일본 등에서 많이 연구되고 있는 관형 반응기의 경우는 높은 생산성과 반응기의 운전 조건 조절이 용이한 점 이외에도 투자비와 운전비용이 저렴하다는 장점이 있다. 수직형 관형 반응기는 기하학적 특성 때문에 수평형이나 경사형 반응기에 비해 단위 면적당 CO<sub>2</sub> 고정화 속도와 생산성을 높일 수 있는 장점이 있다. 이외에도 다른 형태의 관형 반응기에 비해 반응 기질인 CO<sub>2</sub>의 공급과 미세조류의 활성을 억제하는 대사 산물인 O<sub>2</sub>의 제거가 원활하고 배지의 혼합이 보다 잘 이루어진다는 장점도 있다 (한국화학연구소, 1998).

Table 2.1 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 문제점

항목	문 제 점	개 선 안
소요 부지	- 연못형 반응기: 에너지 소모 적음, 넓은 부지 필요	· 고정화 속도가 높은 반응기 개발
빛	- 균체 농도가 급격히 증가 → 광이용 효율이 저하 → 고정화 속도 저하	· 광활용 최대화를 위한 반응기 설계
Biomass	- biomass 대량 생산 → 폐기물 발생	· 연료 및 사료로 이용
배지	- 대부분 멸균 배지 사용 → 실용화시 경제성 및 운영 문제 유발	· 비멸균 담수, 수돗물 등을 이용

그러나, 관형 반응기에서도 scale-up시 수직 높이의 제한이 있게 되고, 미세조류의 배양이 진행되어 균체 농도가 높아지면 raceway나 pond형 반응기에서와 마찬가지로 광에너지 부족 현상이 일어나게 된다. 지금까지의 관형 반응기를 대상으로 한 연구에서는 반응기 직경을 작게하여 광부족 현상을 줄이고 이 문제를 거의 다루지 않았다 (Miyamoto *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1995). 그러나, 산업체 배출 가스로부터 CO<sub>2</sub>를 고정화하는 공정에 적용하기 위해서는 대형 반응기의 개발이 필요한데, 이러한 대형 수직 관형 반응기의 경우 scale-up에 따른 반응기 내부에서의 광 부족 현상이 발생할 것이다. 따라서, 반응기 내에서 빛의 활용을 높이기 위한 많은 연구가 수행되었는데, “self-shading effect”와 “flash light effect”를 이용하는 방안이 주목할만하다 (한국화학연구소, 1998).

가. Self-shading effect: 배양 시간이 경과되어 반응기내에 미세조류의 양이 증가하면, 빛이 반응기에 공급될 때 반응기내 균체는 빛의 투과 장애물로 작용하며 따라서 균체 자신에 의한 그림자 효과로 인해 보다 안쪽에 있는 미세조류는 반응기 표면 근처에 있는 미세조류 균체로 인해 빛을 흡수할 수 없게 된다. 이러한 미세조류 자체에 의한 빛의 투과 제한 현상을 self-shading effect라고 한다. 실제 배양시 self-shading effect를 줄이려면 균체 농도를 낮추어야 하지만, 이는 CO<sub>2</sub> 고정화 속도 저하로 실용적인 방법은 될 수 없다. 따라서, CO<sub>2</sub> 고정화 공정의 효율을 높이기 위해서는 균체 농도를 높게 유지하며 self-shading effect를 최소화하기 위한 방안에 대한 연구가 필요하다.

나. Flash light effect - 미세조류는 포화 빛의 세기를 초과하는 강한 빛을 쬐이면 초과하는 빛의 양을 균체 내에 축적하여 광이 공급되지 않는 조건에서도 짧은 시간동안 광합성을 진행하는 특성을 갖고 있다 (Phillips *et al.*, 1981; Lee *et al.*, 1981). 따라서, 미세조류에 강한 빛을 쬐이면서 명-암 영역으로 순간 이동시킬 수 있다면 빛이 제한



되는 조건에서도 CO<sub>2</sub> 고정화 속도의 향상이 가능하다는 가정 하에서 많은 연구가 진행되었다. Bosca (1991)와 Laws (1983) 등의 연구자들은 빛의 세기에 관계없이 flash-light effect는 존재하며 미세조류의 CO<sub>2</sub> 고정화 속도를 높이는 것으로 보고했지만, Grobbelaar (1991) 등은 균체의 명/암 영역에서의 체류시간비가 1:1인 경우 광합성 속도에 영향을 미치지 않은 것으로 보고하였다. 한편, 한국화학연구소의 연구 결과에 따르면 이러한 원리를 이용하기 위해서 설치한 air-lift 반응기 (직경 2~20cm)에서 공급 가스의 유량을 증가시켰을 때 고정화 속도가 상승되는 것을 관찰했다고 한다 (한국화학연구소, 1998).

### 3. *Euglena*를 이용한 이산화탄소 고정화의 특성

*Euglena*는 단세포의 광합성을 하는 진핵생물이다. 본 생물은 광합성 성질을 갖고 있는 한편, vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>를 생육의 필수인자로 요구하고, 대단히 부드러운 세포막 복합체를 갖고 있어 세포의 형태를 자유로이 변화시킬 수 있다. *Euglena*는 식물계에서는 녹색별레 식물문으로, 동물계에서는 원생동물문 녹색별레목에 분류된다. *Euglena*의 종류는 120여종이 알려져 있으며, 대표적인 형태는 Figure 2.1과 같이 길이 50-100 $\mu$ , 단경 10-50 $\mu$ 의 방추형으로서 편모를 소유하고 있다. 대부분이 두 줄이며 그 중 한 줄은 짧고 다른 줄은 길고 세포 밖으로 나와 있다.

세포는 단백질이 주성분을 이루는 pericle이라고 불리는 막 복합체로 덮여 있다. 이것은 고등식물이나 녹조 및 효모와 같은 다당질의 굳은 막을 갖고 있지 않기 때문에 단백질 분해 효소에 의해 소화되기 쉽다. 또, 함유 아미노산이 *Chlorella*나 *Spirulina*에 비해 많이 포함되어 있기 때문에 SCP (Single Cell Protein)로서의 이용성이 높다 (細谷圭助, 1977). *Euglena*는 몸을 비꼬면서 편모의 회전으로 편모가 나있는 방향으로 움직인다. 안점 (眼點, photoreceptor)은 빛을 감지하고, 그 정보에 의하여 편모를 회전 시켜 빛의

방향으로 향한다. 그러나, 빛이 너무 강하면 그곳을 회피하기도 한다. 한편, *Euglena*에는 불포화지방산도 많이 함유되어 있어, 물고기의 사료로 이용할 수 있는 가능성도 나타내고 있다.

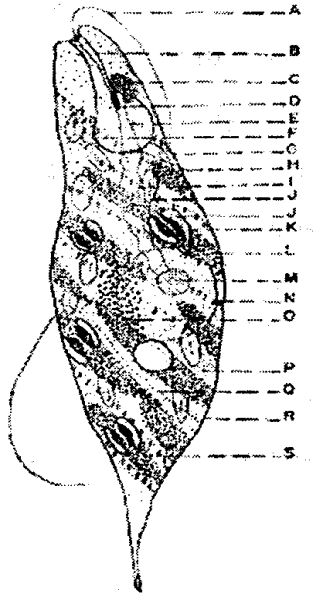


Figure 2.1 *Euglena*의 전형적인 구조

A: locomotor flagellum, B: gullet, C: stigma,  
 D: photoreceptor, E: internal flagellum  
 F: contractile vacuole, G: reservoir  
 H: blepharoplast (kinetosome), I: rhizoplast  
 J: paramylon, K: pyrenoid, L: chromatophore  
 (chloroplast), M: endosome, N: nucleus, O:  
 hematochrome granules, P: mitochondria, Q:  
 stria, R: pellicle, S: muciferous body  
 (Buetow, 1968)

한편 *Euglena*는 여러 가지 환경 인자에 영향을 받는데, 우선 온도에 의한 영향을 살펴보면, pH 5.5, 29 °C에서 배양할 때 생육 속도가 최대가 되는 것으로 알려져 있다 (北岡正三郎, 1989). 이 때 세포의 세대 시간은 13.3 시간으로 조사되었다. 그리고, 온도가 저하될수록 세대 시간이 늘어나는 것으로 나타났는데, 25 °C에서 16시간, 20 °C에서는 32-36시간으로 증가하였다. 한편, 31 °C에서는 세대시간이 16-18시간으로 나타났으며 34 °C 이상에서는 엽록체 구조중 RNA의 기능이 상실되어 세포 성장이 저해되는 것으로 보고되어 있다.

또한, *Euglena*는 일반적으로 산성영역에서도 잘 성장하는 것으로 알려져 있다. 연구 결과에 의하면 5% CO<sub>2</sub>를 공급하는 조건에서는 pH 3-3.5에서 양호한 생육을 나타내는 것으로 조사되었다. 그리고 공기 통기하에서 광독립영양

적으로 배양할 때 pH 6-7에서도 양호한 생육을 하는 것으로 밝혀졌으나, pH 7.5에서는 생육이 정지하였다 (北岡正三郎, 1989). 그리고, pH 4-5에서는 생육이 잘 되지 않는 것으로 나타났는데, 그 원인은 이 조건에서 배지중의 인산이 세포내로 과량으로 흡수되어 성장을 방해하는 것으로 나타났다. 한편, 종속영양적으로 배양할 때는 pH 3-8의 넓은 범위에서 잘 생육하는 것으로 조사되었다.

#### 4. *Euglena*의 동물 사료로의 이용 가능성

생물학적 이산화탄소 고정화 과정에서 다량의 미세조류가 생산된다. 이 biomass는 활용 여부에 따라 또 하나의 폐기물이 될 수도 있고, 유용한 자원이 될 수도 있다. 현재 일본 등 여러 나라에서 고정화 과정에서 생산되는 미세조류를 활용화하는 방안에 대해 검토중이다. 이러한 방안중 대표적인 것이 연료가가 높은 미세조류 종을 배양하여 고온, 고압에서 액화 또는 용매로 선택적으로 디젤유를 추출하는 방안이다 (Kishimoto *et al.*, 1994). 그러나, 미세조류로부터 디젤유를 추출하는 공정은 복잡한 후처리 공정이 필요하다는 점에서 아직 연구가 필요하다. 그리고, Masaaki, Negoro 등의 연구자는 발전소의 배출가스를 직접 공급하여 *Nannochloropsis sp.* NANNO-2를 배양하였으며, 생산된 biomass (6,310 kcal/kg)를 발전소의 보조연료로 재사용하였다 (Negoro *et al.*, 1992).

한편, 미세조류의 단백질 함량이 높은 장점을 이용하여 사료로 활용하려는 시도도 있다. 현재 순수한 이산화탄소와 시약급 배지를 사용하여 미세조류를 대량 배양하여 치어 양식용 사료로 사용하는 공정이 상용화되어 있다. 이러한 점을 고려할 때 산업체 배출 가스의 이산화탄소 고정화 과정에서 생산되는 미세조류를 동물사료로 활용하는 방안도 고려되고 있다. 그러나, 산업체 배출 가스는 다양한 독성 물질을 함유하고 있어 안전성에 문제가 있을 수 있으므로, 독성 물질의 제거를 위한 적절한 전처리 장치의 추가가 필요하

다. 다음은 현재 사료로 이용하기 위해 연구중인 몇 가지 미세조류의 특징을 정리해 보았다.

녹조류의 한 종류인 *Chlorella*는 2~10  $\mu\text{m}$ 의 구형, 두꺼운 막의 단세포이며, 세포에 단백질 40~70%, 지방 10~30%, 탄수화물 및 기타 비타민 A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C 등이 포함되어 있다. 그러나, 병아리 사료에 20% 배합하였을 경우 설사를 일으키며 발육 부진이 발생하여 그 원인을 연구하였더니 *Chlorella*의 세포벽이 두꺼워서 소화성이 나쁘다는 것이 판명되었다.

한편, 북아프리카 차드 호수에 번식, 주민들이 식용으로 사용하고 있는 *Spirulina*는 0.1~0.5 mm 정도의 나선상의 형상을 하고 있으며, *Chlorella*보다 크고 분리가 용이하다. 강한 알칼리성 배지에서 잘 생육되기 때문에 잡균에 의한 오염도 적으며 *Chlorella*에 비해 지방성분도 적고 기타 식품 성분도 풍부하다. 또한 *Chlorella*에 비해 세포벽이 견고하지 않으며, 비타민 B<sub>12</sub> 등이 포함, 우수한 점이 많아 앞으로 개발이 더욱 기대되지만 배양에 있어서 기질을 석유 또는 초산으로 하였을 때 생산비가 대단히 높아지기 때문에 대규모화에 있어서 문제점이 있다.

마지막으로 본 연구에서 이산화탄소 고정화를 위해 사용한 *Euglena*는 Table 2.2에서와 같이 다양한 영양조건하에서 생육되며, 함황 아미노산의 함량이 높다. 또한, 단백질 효율에 있어서도 casein과 필적할만한 단백질이 함유되어 있기 때문에 우수한 양질의 단백질 자원이다. 그리고, 무엇보다도 세포벽이 얇아서 단백질 분해 효소에 의해 쉽게 분해되므로 소화성이 좋아서 사료로 이용시 *Chlorella*나 *Spirulina*에 비해 우수한 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다 (박봉선, 1994).

Table 2.2 *Euglena* 세포 단백질의 우수성

	Amino acid value	NPU
<b>Egg</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Beef	97	80
Milk	89	75
<u><i>Euglena</i></u>	<u>88</u>	<u>80</u>
Soy bean	77	56
Rice	64	57
<i>Chlorella</i>	54	57
<i>Spirulina</i>	51	48
Wheat	47	52
Corn	13	55

※ NPU: Net Protein Utilization

[자료: 中野長久 *et al.*, 1998]

## 제2절 실험 재료 및 방법

### 1. 균주 및 배지 조성

본 연구에서 사용한 균주는 *Euglena gracilis* Z이고, 균주를 지속적으로 보존하기 위해서 진탕 플라스크에서 온도를  $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지하고 100rpm으로 교반 되는 shaker에서 순수 배양하였다. 문헌 연구를 통하여 *Euglena*가 성장하기에 적합한 배지를 선택하였다. 배지 자체에 탄소원을 포함하고 있는 Koren-Hunter (KH)를 사용하였을 경우 최대 8 g/l까지 성장하였고, 배지에 탄소원이 포함되어 있지 않아 외부에서 탄소원을 공급해 주어야 하는 Cramer-Myers (CM) 배지를 사용한 경우에는 최대 1.2 g/l까지 성장하였다. CM 배지를 사용한 경우가 생산성은 낮지만 폐탄산가스의 제거가 가능하기 때문에 본 연구에서는 *Euglena*를 배양하기 위해 modified CM (modified Cramer-Myers) 배지를 사용하였다 (Cramer *et al.*, 1952). CM 배지는 배지 성분 중에 탄소가 포함되어 있지 않아서 외부에서 이산화탄소를 공급해 주어야 하는 경우이다. 그 조성을 다음 Table 2.3에 나타내었다. 배지는 크게 3개 그룹으로 나누어 조제한 후 6N HCl 과 NaOH로 pH를 3.5로 조정하고, 멸균 전에 혼합하여 사용하였다.

Table 2.3 Modified Cramer-Myers 배지의 조성

Components	Concentration (g/L)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.2
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.02
EDTA-2Na	0.05
	10ml/L 주입
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.003
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.0018
CoSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0015
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0004
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.0002
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.00002
Vitamin B <sub>1</sub> (2.5mg/L)	1ml/L 주입
Vitamin B <sub>12</sub> (0.005mg/l)	0.5ml/L 주입

## 2. 광반응기 (Photo-bioreactor)

가. Jar-fermenter (유효부피 20L): *Euglena*의 최적 배양 조건을 조사하기 위해 사용한 Jar-fermenter (thickness = 10mm, surface area = 625 cm<sup>2</sup>, height = 69 cm)를 다음 Figure 2.2에 그 개략도를 나타내었다. 광도는 형광등 (FL20SD/18)의 개수로 조절하였고, 공기와 이산화탄소를 gas mixer에서 혼합한 후 총 2L/min의 유량으로 배지의 증발을 막기 위해 water mixer를 거쳐 100% 습도로 포화시킨 뒤 반응기에 공급하였다. 총 20L의 배지를 사용하기 하루 전에 조제하여 충분히 식힌 후, 미리 순응시킨 *Euglena*를 5% (vol/vol) 접종 하였다. 반응기내에 원활한 가스 공급과 교반을 위해서 교반기를 설치하여 운전하였다.

- |                         |                     |
|-------------------------|---------------------|
| 1: CO <sub>2</sub> bomb | 5: Humidifier       |
| 2: Air compressor       | 6: Photo-bioreactor |
| 3: Flow meters          | 7: Light source     |
| 4: Gas mixer            |                     |

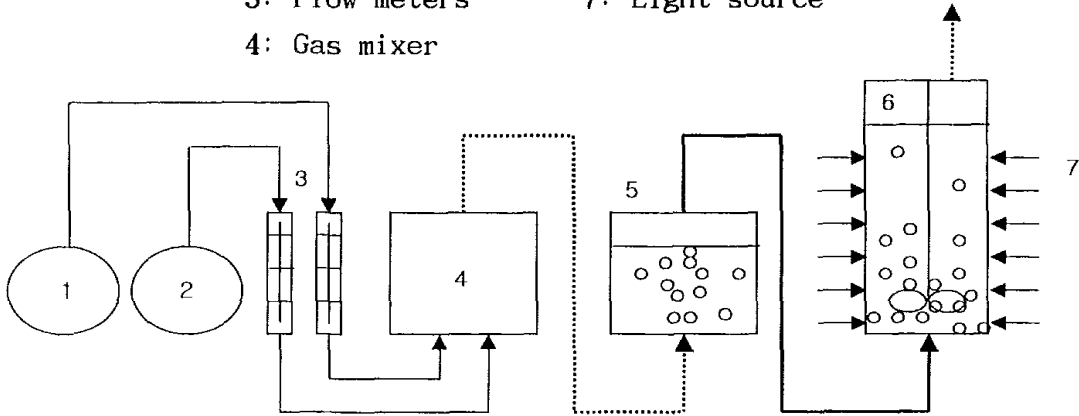


Figure 2.2 Jar-fermenter의 모식도

나. 관형 반응기 (유효부피 100L): Jar-fermenter를 이용하여 *Euglena*의 성장에 적합한 환경 조건을 도출한 후에 연속 및 반연속 배양을 통해 이산화탄소 고정화 효율을 증가시키고 미세조류의 생산성을 높이기 위해 다음 Figure 2.3과 같이 반응기 내부에 격막 (baffle)을 설치한 관형 반응기를 고안하였다. 기존의 관형 반응기는 하부에서 가스가 유입되어 짧은 시간내에 상부로 유출되는 구조를 가지고 있는데, 이러한 형태의 반응기에서는 이산화탄소의 체류시간이 매우 짧아지고, 따라서 미세조류가 이산화탄소를 충분히 이용할 수 없을 것이라고 사료되어, 격막을 설치하여 유입된 배지가 충분히 배양기 내에서 체류한 후 배출되도록 하였다. 배지는 유입수 line을 통해 일정 유속으로 유효 부피 100L인 반응기로 유입된다. 연속 배양시 CO<sub>2</sub>를 고정화하여 성장한 조류를 유출수 line을 통해 침전조로 보내고 여기에서 농축액을 회수한다. 이때 CO<sub>2</sub>와 air의 혼합비는 flow meter를 이용하여 총 3L/min로 조절하며, 광원 종류에 의한 미세조류의 성장 변화를 비교하기 위하여 백색 형광등 (통일전구, 40W)과 식물 재배용 램프 (통일전구, 40W)를



각각 부착하여 반응기 양 옆면에서 빛을 조사하였다. 반응기 온도에 대한 영향을 조사하기 위해 반응기 내부에 온도계를 부착하였다. 또한 성장한 미세조류는 침전조를 통해서 회수하였다.

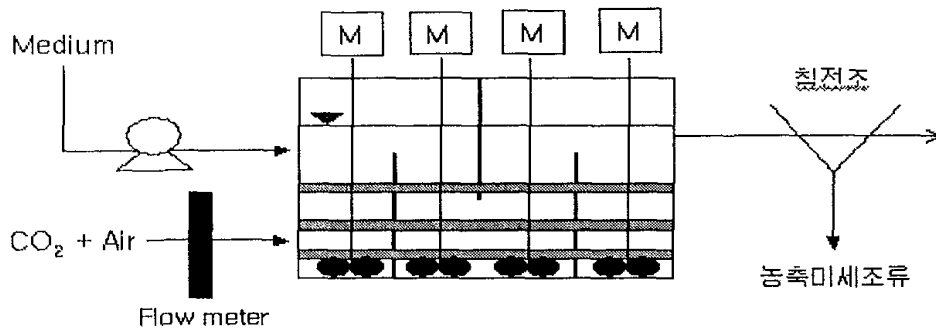


Figure 2.3 연속 및 반연속 배양용 관형 반응기의 모식도

다. L-type 반응기 (유효부피 1톤): 실험실 규모의 광반응기를 이용하여 이산화탄소의 고정화에 관한 기초 연구를 수행한 후에 효율적인 이산화탄소의 제거 및 미세조류의 대량 생산을 위해서 새로운 형태의 광반응기를 고안하였다. 앞서서도 언급하였듯이 관형 반응기의 가장 큰 단점은 배양 일수가 증가하여 미세조류의 성장이 활발해 질수록 외부에서 공급되는 빛의 이용율이 저하된다는 것이다. 이러한 “self-shading effect”를 최소화 하기 위해서 “flash light effect”를 이용하여 미세조류가 빛을 이용하는 영역 (light region)과 이산화탄소를 고정화하는 영역 (dark region)을 구분하였다. 광원은 맑은 날에는 태양광을 직접 사용하였고, 흐린 날 또는 우천시에는 별도로 설치한 보조 광원을 명영역 (light region)에만 조사하였다. 그리고, 별도의 온도 조절 없이 실험을 진행하였다. CM 배지에는 탄소가 포함되어 있지 않으므로, 백동유를 연료로 사용하는 보일러에서 나오는 폐탄산가스 (약 11% v/v)를 저장 탱크에 유입시킨 후 압축기 (compressor)를 이용하여

30L/min의 유속으로 공급해 주었다. 암영역의 혼합은 공급되는 가스에 의해서 그리고 명영역의 혼합은 회전 날개가 달린 스크레퍼 (scraper) 를 이용하여 실시하였다. 이러한 새로운 형태의 광반응기의 모식도와 현장 사진을 Figure 2.4와 2.5, 2.6에 각각 나타내었다.

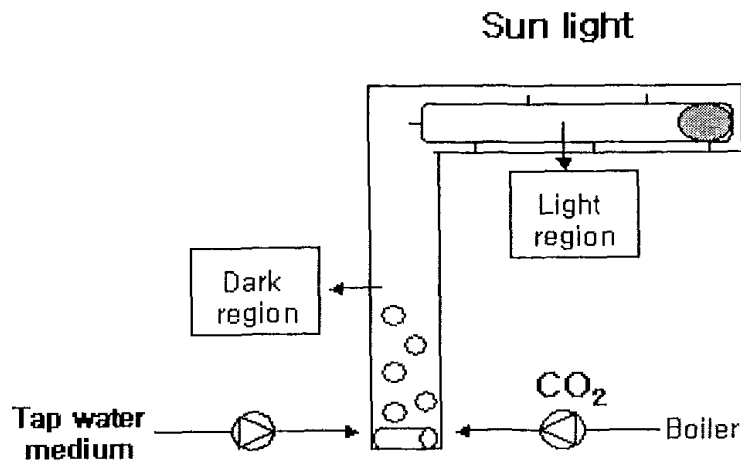


Figure 2.4 L-type 광반응기의 모식도

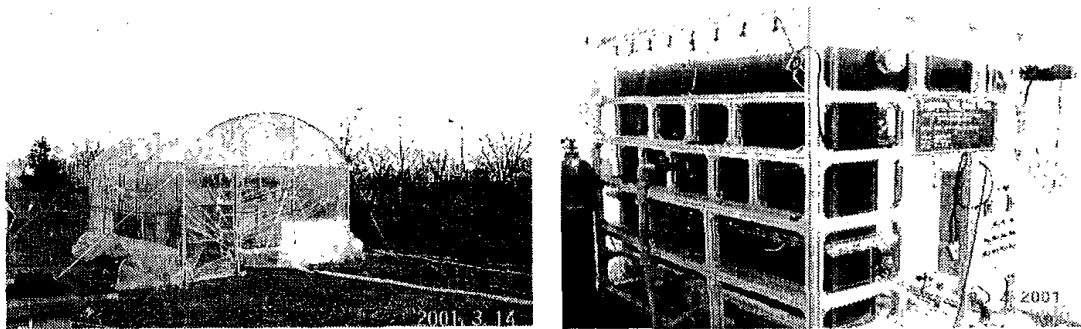


Figure 2.5 L-type 광반응기 현장 사진

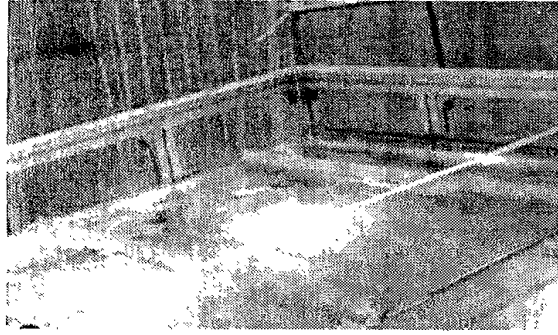


Figure 2.6 L-type 광반응기의 상부 혼합 장치와 보조 광원

### 3. 분석 방법

- 가. 건조 무게 (dry cell weight): 시료 10ml를 취하여 0.45 $\mu$ m membrane filter로 여과한 후 80 $^{\circ}$ C oven에서 24시간 건조한 후 무게차로 결정하였다.
- 나. 흡광도: UV-spectrophotometer (Beckmann DU650, USA), 730nm에서 측정하였다.
- 다. 세포 수 (cell number): 위상차 광학 현미경 (ZEISS, Germany)과 hemocytometer를 이용하여 직접 계수 하였다 (Spector *et al.*, 1998).
- 라. 광도: Li-250 light meter (quantum sensor, LI-COR, inc. USA)를 이용하여 외부 표면적에서 측정한 후 평균값을 사용하였다.
- 마. pH: pH meter (Orion 720A, USA)를 사용하여 측정하였다.
- 바. 원소 분석 (Element analysis): 미세 조류의 배양 기간 동안 별도로 공급되는 탄소가 없으므로, 미세 조류가 성장하면서 고정화한 이산화탄소는 모두 제거된 이산화탄소에서 기인한 것이다. 따라서, 배양된 미세 조류의 원소 분석을 통하여 건조 균체 무게(dry cell weight)와 이산화탄소 고정화 양과의 관계를 알 수 있다. 원소 분석은 *Euglena*를 CO<sub>2</sub> 10%에서 7일동안 배양한 후 3000rpm에서 5분 동안 원심분리 하였

고, 80°C oven에서 하루동안 건조시킨 후 EA1110-FISONS를 사용하여 실시하였다. C, H, N, S & O 의 구성비는 3번 측정하여 평균값을 구하였다.

- 1) 분석원소 : C, H, N, S & O
- 2) 측정 범위 : 0.01 ~100%
- 3) Accuracy : 0.3 % abs. 이내
- 4) Sample size : 0.1 ~ 100 mg (solid or liquid in capsules)
- 5) Detector : TCD

사. 미생물 관찰 및 평균 길이: 배양 조건에 따른 미생물의 변화를 관찰하기 위해 image analyzer (LEICA Q550 IWB, Germany)를 이용하여 미생물을 다양한 배율에서 관찰하였다.

- 1) Image zoom up to 40x with pan and scroll
- 2) Image processing : S/W selectable video input allowing for 3 TV camera
- 3) Microscope : 25x ~ 1000x magnification

아. 보일러 배가스 농도 분석

- 1) NOx : 수동 Saltzman method
- 2) SOx : Pararosaniline method
- 3) TSP : High Volume Air Sampler method, 24시간 측정을 원칙으로함.

자. 미세조류의 단백질 농도 분석: 단백질 함량은 우선 total nitrogen 함량 (%)을 구해서 그것의 값에 단백질계수 6.25를 곱하여 산출한다. 사료의 질소 총량을 알기 위하여 Kjeldahl 방법이 널리 쓰이고 있는데 이 방법은 1883년에 Kjeldahl이 제안한 방법이다.

- 1) 원리: 시료에 conc-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 가하여 가열하면 시료 중의 질소는 NH<sub>3</sub>로 변하고, 이 NH<sub>3</sub>는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 결합하여 ammonium sulfate가 되어 그대로 분해액 중에 남아있게 된다. 이것을 물로 희석한 후 과잉의 NaOH와 함께 가열하면 NH<sub>3</sub>가 증류된다. 이 NH<sub>3</sub>를 일정 농도의 산

표준액으로 흡수한 후 과잉의 산을 알칼리로 중화·적정하여 N총량을 알게되는 원리이다.

2) 방법: 산 표준액 대신에 4%의 boric acid 용액으로 암모니아 가스를 잡는 경우가 있는데 여기에서는 이 방법을 사용하였다.

- Digestion

→ 시료 0.7~1.0g을 황산지에 싸서 Kjeldahl flask에 넣음.

→ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20ml과 Catalase (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)를 일정량 첨가함 (2반복 처리).

→ Kjeldahl apparatus에 고정시킨 후 가열 시작.

→ 분해가 완료된 후 25℃로 식히고 200ml의 증류수를 가한 후 다시 식힘.

- Distillation

→ 4%의 boric acid 500ml 제조(2반복).

→ Digestion이 끝난 Kjeldahl flask에 75ml의 알칼리 용액(NaOH)을 첨가.

→ 증류장치에 setting 후 가열 시작.

→ Receiver flask에 100ml의 물이 고이면 증류가 끝났음을 뜻하므로 증류장치에서 분리.

3) Titration

→ 0.1N HCl로 receiver flask 내의 용액을 적정하여 NH<sub>4</sub>BO<sub>2</sub>의 생성량 결정.

→ 청색에서 회색을 거쳐 적자색으로 변함.

4) 계산

$$\text{단백질(\%)} = \frac{A \times 1.4 \times 6.25}{W(\text{mg})} \times 100 \%$$

## 제3절 실험 내용

### 1. 미세조류의 농도와 흡광도의 상관관계 도출

광반응기 내에서의 미세조류의 성장량을 간편하게 측정하기 위해서 미세조류의 농도와 흡광도 간의 상관 관계를 도출하였다. UV spectrophotometer를 이용하여 *Euglena*가 흡수하는 빛의 영역을 검색하고, 농도 측정을 위해 재현성이 우수한 파장 범위를 선정하였다.

### 2. *Euglena*의 성장에 미치는 온도 및 pH의 영향 조사

미세조류 배양시 온도와 초기 pH가 미치는 영향을 조사하기 위하여 1L 시약병 (medium bottle)에서 CM 배지를 이용하여 실험하였다. 온도의 영향을 알아보기 위한 실험에서는 일정한 온도로 유지되는 항온조 (water bath)내에서 온도를 15, 20, 27, 35℃로 변화시켜 가며 *Euglena*의 성장을 관찰하였다. 배양 기간동안 광도는  $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 로 일정하게 유지하였으며, 이산화탄소는 10% 농도 (= 0.36g CO<sub>2</sub>/min, 1atm, 27℃)를 유지하며 총 2L/min의 유량으로 주입하였다. 그리고, 최적 성장 pH를 결정하기 위하여 배지의 초기 pH를 3.5, 7, 9로 변화시켜 가며 동일한 온도와 광도에서 실험하였다.

### 3. Jar-fermenter를 이용한 최적 배양 조건 도출

연속 배양의 기초 자료를 확보하기 위하여 유효부피 20L의 jar-fermenter를 사용하여 다음과 같은 조건을 변화시켜가며 실험하였다.

가. 이산화탄소 농도 : air (0.035%), 5, 10, 15% (v/v)

나. 광도 : 148, 222, 296, 370, 407, 445, 520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

#### 4. 배지 상태에 따른 배양 결과 비교

현재까지 광반응기를 이용한 생물학적 이산화탄소 고정화 연구는 주로 실험실에서 멸균한 배지를 사용하여 진행되어 왔다. 그러나, 화력 발전소 등에서 대량으로 배출되는 이산화탄소를 고정화하기 위해서는 많은 부지와 유지 비용이 소요되므로, 미세조류를 배양하기 위한 배지를 계속적으로 제조하는 것은 비경제적이다. 따라서, 이러한 관점에 착안하여 본 연구에서는 담수호, 비멸균 수돗물 배지, 멸균 배지 등을 사용하여 *Euglena*의 성장 상태를 비교·평가하여 성장에 필요한 필수 인자를 파악하고, 실용화에 필요한 기초 자료를 제시하고자 하였다.

#### 5. 광독립 조건에서 *Euglena*의 성장 동력학

Monod equation에 기초하여 광독립 영양 상태에서 성장하는 미세조류의  $\mu_{max}$  (maximum specific growth rate),  $K_1$  (half-velocity constant) 등의 동역학 상수를 결정하였다. 또한, 원소 분석 (element analysis)을 통하여 미세조류에 고정되는 이산화탄소에 대한 mass balance를 세우고, yield coefficient,  $Y$  (g Cell/g  $CO_2$ )를 구하였다.

#### 6. 연속 및 반연속 배양

회분식 배양을 통해서 미세조류의 성장에 적합한 환경조건을 도출한 후에 이산화탄소 고정화 효율을 증가시키기 위해서 격막이 설치된 새로운 관형 반응기를 이용하여 HRT (Hydraulic Retention Time)을 3, 4, 5일로 변화시켜 가며 연속 및 반연속 배양을 실시하였다. 또한 광원의 종류와 광도의 변화가 미세조류의 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

## 7. 새로운 형태의 반응기를 이용한 생산성 향상 연구

일반적인 광반응기에서 발생하는 “self-shading effect”를 최소화하기 위해 새롭게 고안된 L-type의 배양조를 이용하여 태양광과 보일러에서 발생하는 이산화탄소 가스를 에너지원 및 탄소원으로 사용하여 배양을 실시하였다.

## 8. 성장한 미세조류의 분리 방법 평가

미세조류를 동물의 사료로 활용하기 위해서는 성장한 미세조류를 배양기로부터 분리하는 방법에 대한 연구가 선행되어야 한다. 본 연구에서는 중력식 침전조에서 농축된 *Euglena*를 노천에서 태양광을 이용하여 건조하는 방법과 일반적으로 사료 제조를 위해 많이 사용되는 동결건조 방법을 비교 평가하였다.

## 9. 수확된 미세조류의 보존성 향상을 위한 가공방법 연구

광반응기로부터 수확된 미세조류를 사료로 사용하기 전까지 보존하는 방법을 선정하기 위해 미분말상의 분무 건조, Pellet상의 가공, 농축액 조제 등의 방법을 통해 시간에 따라 수분 및 단백질 함량의 변화를 살펴보았다.

## 10. 변이원성 시험 (Ames test)을 통한 *Euglena* 사료의 안전성 검증

*Euglena* 사료를 동물의 사료로 사용하기 위해서는 무엇보다도 안전성의 검증이 선행되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 (Ames test)를 통하여 사료로서의 안전성을 검증하고자 하였다.



## 제4절 실험 결과

### 1. 미세조류의 농도와 흡광도의 상관관계 도출

일반적으로 미생물의 성장량을 측정하기 위해서 평판계수 (plate-counts), 광학밀도 (optical density), 그리고 단백질, RNA, DNA 등의 양을 측정하는 방법 등을 사용한다. 본 연구에서는 광학 밀도법을 이용하여 미세조류의 건조무게를 측정하였다. 광학 밀도법은 측정이 간편하고 시료에 대한 비파괴 검사이며 소량의 시료만을 필요로 하므로 정기적인 시료 측정이 가능한 장점을 가지고 있다. 그러나, 미생물 이외에 엽록소 (chlorophyll a, b)에 의해서 간섭을 받을 수 있으므로 직접 계수법과의 상관 관계를 통해 신뢰성을 검증하는 것이 필요하다. 이러한 검증을 거친 후, 본 실험에서는 흡광도와 실제 건조 무게와의 검량 곡선을 작성하고, 이 검량선을 이용하여 미생물 성장량을 구하였다. 우선 광학 밀도법으로 미생물량을 측정하기 위해서 *Euglena*를 대상으로 파장 선택을 하였다. UV spectrophotometer를 사용하여 scanning한 결과를 다음 Figure 2.7에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 680nm 근처에서 피크가 나타나고 있는데, 이것은 Figure 2.8과 같이 엽록소 (chlorophyll a, b)에 의해서 간섭을 받을 수 있는 영역이므로 이 범위를 피해서 730nm에서 흡광도를 측정하였다.

그리고, *Euglena*를 대상으로 730 nm에서의 흡광도와 건조 무게간의 상관 관계를 다음 Figure 2.9에 나타내었다. 조류의 건조무게 (dry cell weight)와 730 nm에서의 흡광도와의 관계는 직선으로 표시되었으며 (회귀계수,  $R^2=0.9966$ ), 성장 상태에 따라 흡광도를 측정한 후에 다음 식을 이용하여 조류의 건조 무게를 산정할 수 있었다.

$$\text{조류의 건조 무게 (DCW)} = 1.069 * \text{흡광도 (Abs.)}$$

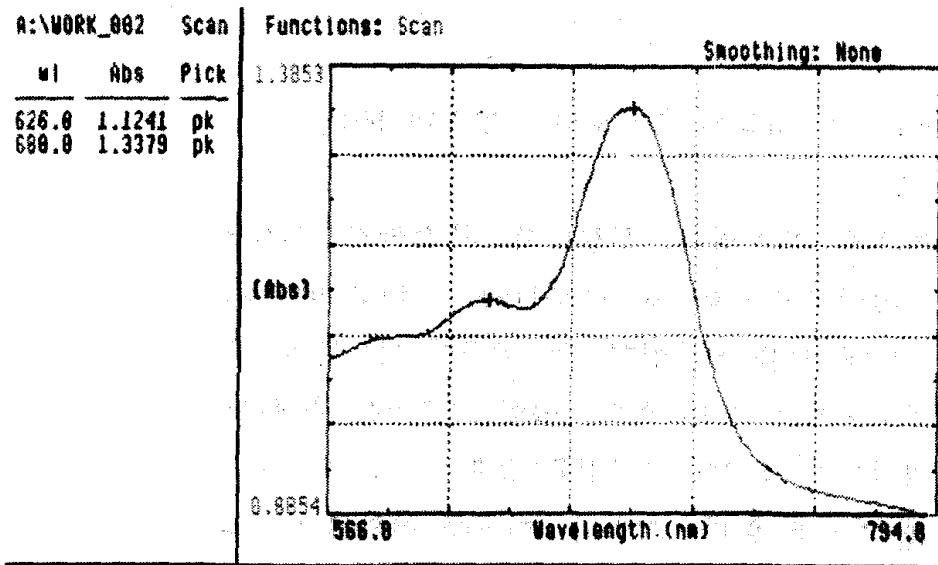


Figure 2.7 *Euglena*의 흡광도 곡선

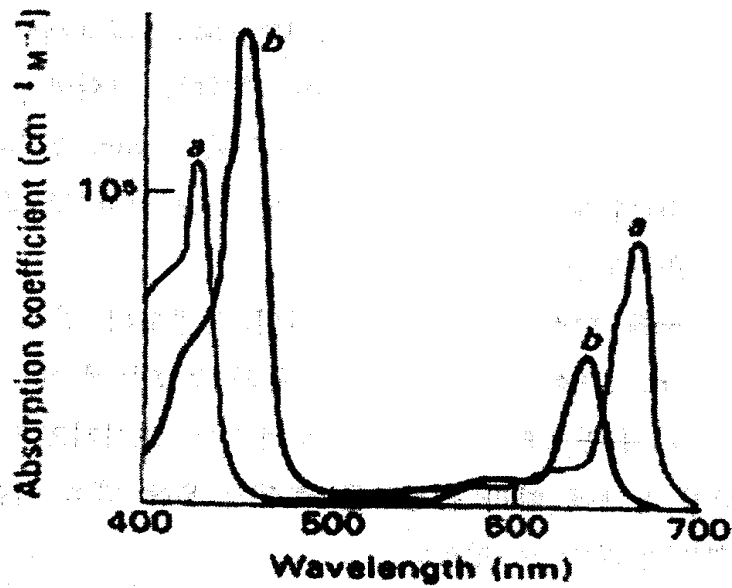


Figure 2.8 미세조류 엽록소의 흡광도 곡선

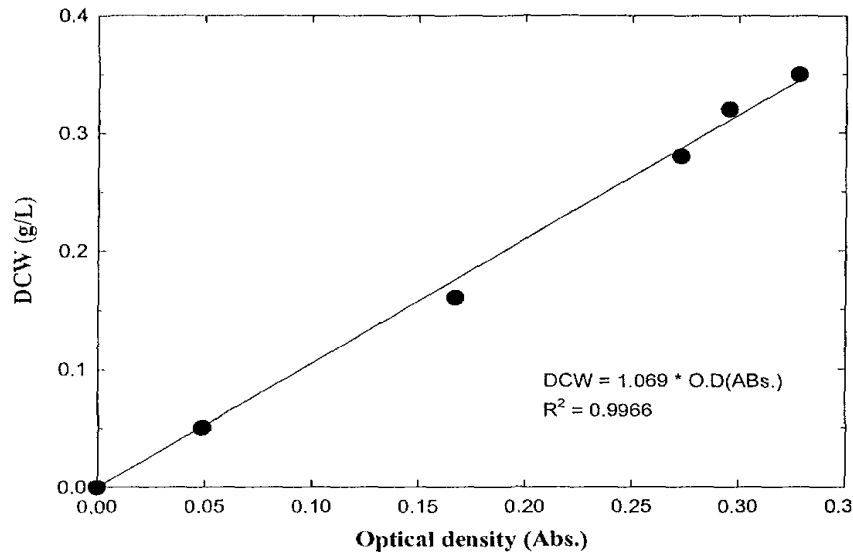


Figure 2.9 미세조류 건조 무게와 흡광도의 상관관계

## 2. *Euglena*의 성장에 미치는 온도 및 pH의 영향 조사

가. 초기 pH의 영향: 미세조류 배양시 온도와 pH가 미치는 영향을 조사하기 위하여 1L 시약병을 사용하였다. 본 연구에서는 독립영양적으로 *Euglena*를 배양할 경우의 최적 성장 pH를 결정하기 위하여 배지의 초기 pH를 3.5, 7, 9로 변화시켜 가며 실험하였다. 실험 결과를 Figure 2.10에 나타내었는데, 그림에서와 같이 초기 pH 3.5일때가 가장 좋은 성장을 나타내었다. 그리고, Figure 2.11에는 배양 기간 동안의 pH의 변화를 나타내었는데, 초기 pH 3.5에서 배양이 시작된 경우에는 배양 기간 동안 pH 3.3~3.5의 범위가 유지되었다. 그러나, 초기 pH 9에서 시작된 경우에는 2일후부터 pH 7정도가 유지되었고, 초기 pH 7에서 시작한 경우에는 pH가 지속적으로 감소하여 5일후에는 pH 5~6 범위에 도달했다. 이러한 pH 변화로부터 초기 pH 9에서의 배양이 초기 pH 7에서의 배양 보다 좋은 성장이 이루어진 원인을 찾을 수 있다. 즉, 배양

기간동안 공급되는 이산화탄소로 배지의 pH가 감소하였는데, 초기 pH 9에서 시작한 경우에는 시간이 지나면서 *Euglena*가 성장하기 좋은 pH 7~8로 유지되었고, 초기 pH 7에서 시작한 경우에는 pH가 감소하여 *Euglena*가 과다한 인을 흡수하여 생육이 정지될 수 있는 pH 4~6 범위로 유지되었기 때문이라고 사료된다.

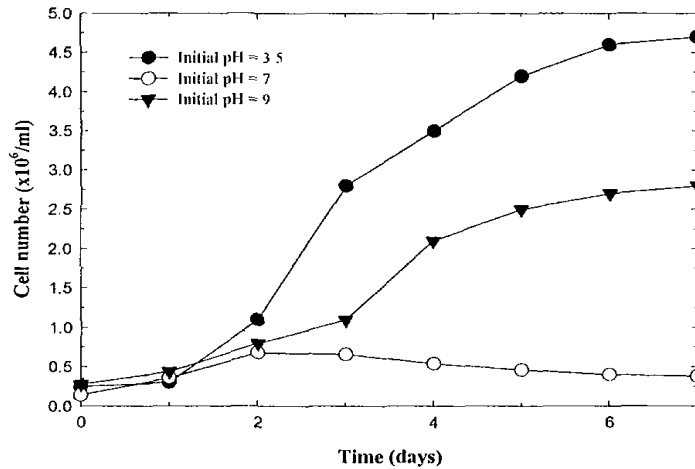


Figure 2.10 초기 pH 변화에 따른 미세조류 성장 변화 (CO<sub>2</sub> 10%, 광도 110 μmol/m<sup>2</sup>/s, 온도 27±1°C)

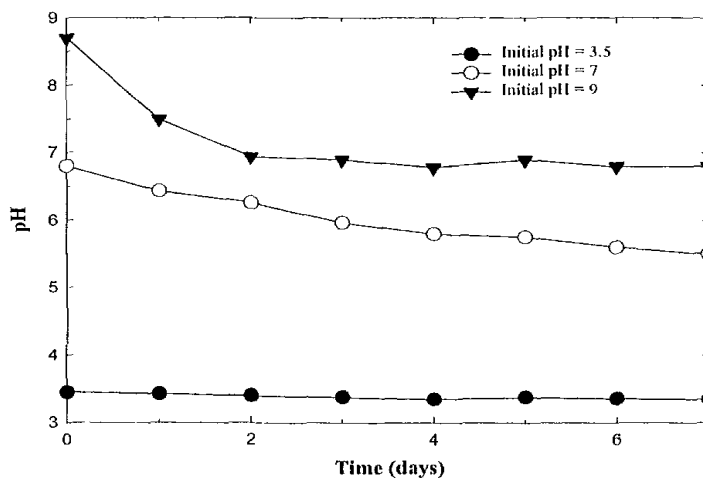


Figure 2.11 배양 기간 동안의 pH의 변화

나. 온도의 영향: 한편, 온도의 영향을 알아보기 위하여 일정한 온도로 유지되는 항온조 (water bath)내에서 온도를 15°C, 20°C, 27°C, 35°C로 변화시켜 가며 *Euglena*를 배양시켰다. 배양 기간동안 광도는  $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 로 일정하게 유지하였으며, 이산화탄소는 10% 농도 (= 0.36g CO<sub>2</sub>/min, 1atm, 27°C)를 유지하며 총 2L/min의 유량으로 주입하였다.

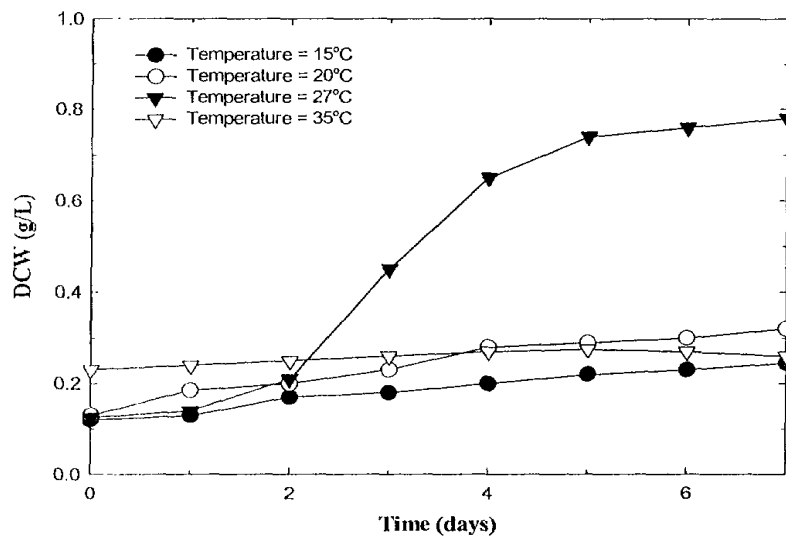


Figure 2.12 온도 변화에 따른 미세조류 성장 변화  
(CO<sub>2</sub> 10%, 광도  $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , pH 3.5)

실험 결과 Figure 2.12에서 볼 수 있듯이 27°C에서 가장 좋은 성장을 나타내었고, 15°C와 35°C에서는 정상적인 성장이 이루어지지 않은 것을 알 수 있다. 특히 35°C에서 배양한 경우에는 배양 후 7일째에는 세포의 색이 노란색으로 변색되고 세포수 및 세포량이 감소하는 것으로 관찰되었는데, 문헌에 보고된 바와 같이 *Euglena* 엽록

체의 RNA 구조가 열에 의해 손상을 입은 것으로 사료된다 (北岡正三郎, 1989). 대수 성장기 동안의 미세조류의 성장속도를 비교해 보면 가장 좋은 성장을 나타낸 27°C에서 0.22 g dry wt./L/day이었고, 다른 온도에서는 뚜렷한 대수 성장기가 관찰되지 않았다. 이것은 27°C 이외의 배양 온도가 *Euglena*가 성장하기에는 적당하지 않아서 활발한 증식이 이루어지지 않은 것으로 사료된다. 따라서, 정상적인 배양을 위해서는 온도를 25 ~ 32°C 범위로 유지해야 함을 알 수 있었다.

### 3. Jar-fermenter를 이용한 최적 배양 조건 도출

가. 이산화탄소 농도 결정: 전세계적으로 배출되는 이산화탄소의 대부분의 화석 연료의 연소에 기인한 것으로 알려져 있다. 우리나라의 경우도 사용하는 전체 연료 중 화석 연료 의존도가 90%에 가까우며 온실가스 배출은 세계 11위 (1997년)로서 꾸준히 증가하고 있는 실정이다. 따라서, 폐탄산가스의 가장 큰 배출원인 발전소의 이산화탄소 농도를 기준으로 *Euglena* 배양시의 이산화탄소 농도를 결정하였다. 본 실험에서는 Table 2.4의 발전소 배가스 성분을 참조하여 이산화탄소 농도를 0.035% (대기), 5%, 10%, 15%로 유지하였다. 배양후의 결과를 다음 Figure 2.13에 나타내었는데, 대기 상태 (0.035% CO<sub>2</sub>)에서는 *Euglena*가 이용할 수 있는 탄소원이 부족하여 정상적인 성장이 이루어지지 않은 것으로 사료되며, CO<sub>2</sub> 농도 5% (= 0.179g CO<sub>2</sub>/min)와 10% (= 0.357g CO<sub>2</sub>/min)에서는 비슷한 성장 양상을 나타내었다. 한편, CO<sub>2</sub> 농도 15% (=0.536g CO<sub>2</sub>/min)에서는 성장이 감소하였는데, 그 이유는 CO<sub>2</sub>가 과량으로 공급되어 *Euglena*의 성장이 저해를 받은 것으로 사료된다. 하지만, 이러한 문제점은 사전에 *Euglena*를 고농도의 이산화탄소 (10% 정도)에 순응시켜서 본 배양에 사용하면 해결될 것으로 판단된다.

Table 2.4 발전소 배가스 성분

연료	CO <sub>2</sub> (%)	SO <sub>x</sub> (ppm)	NO <sub>x</sub> (ppm)	Dust (mg/m <sup>3</sup> )
중유(heavy oil) (S: 0.35%)	14-15	185	125	(50)
석탄(coal) (S: 0.34%)	13-14	232 (30)	275 (177)	(50)
LNG (CH <sub>4</sub> : 85%)	9-11	-	47 (15)	<0.1

( ): After desulfurization, denitrification, and dust collecting by EP

[자료: Negoro *et al.*, 1992]

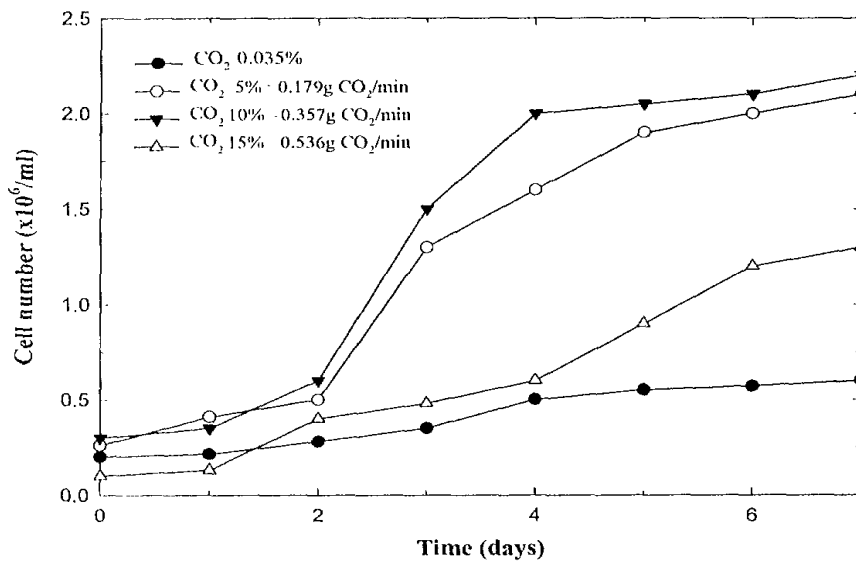


Figure 2.13 이산화탄소 농도 변화에 따른 미세조류 성장 변화

(광도 520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH 3.5)

나. 적정 광도 결정: 광합성에 의하여 세포 성장과 물질 대사에 필요한 에너지를 얻는 미세조류에게 광도는 중요한 성장 인자중 하나이다.

본 실험에서는 반응기 특성상 Table 2.5와 같이 빛을 받는 반응기 표면수에 따라 4가지 조건으로 구분하여 광도를 결정하였다. 실험 결과 Figure 2.14과 같이 광도 520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 가장 좋은 성장을 나타내었다. 한편, 광도 변화에 따른 최종 세포수의 변화를 Figure 2.14에 나타내었는데, 광도가 증가할수록 최종 세포수도 비례적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 실험에서 사용한 광도 범위 (148~520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )에서는 빛에 의한 저해 현상 (photo inhibition)은 발견되지 않았다.

Table 2.5 광도 및 조사 조건

CO <sub>2</sub> (%)	Light intensity ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )			
	Three sides		Two sides	
5				
10	520	296	222	148
15				

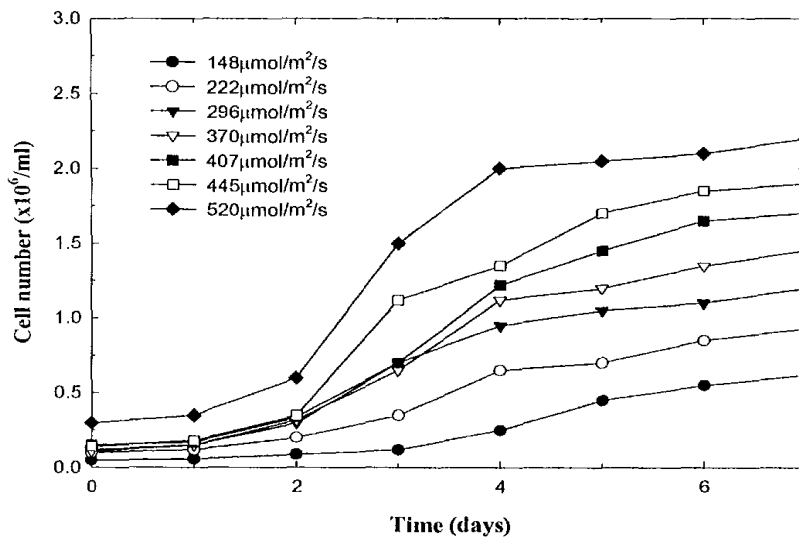


Figure 2.14 광도 변화에 따른 미세조류 성장 변화  
(CO<sub>2</sub> 10%, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH 3.5)



#### 4. 배지 상태에 따른 배양 결과 비교

실험실에서 수행되는 대부분의 미세조류 배양에 관한 연구는 오염을 최소화하기 위해서 autoclave를 이용하여 멸균한 배지를 사용하고 있다. 그러나, 폐탄산가스를 이용하여 미세조류를 대규모로 배양하고자 하는 경우에는 현장에서 많은 양의 배지를 화학적으로 멸균 (autoclave)하는 것은 사료의 생산비용의 증가를 초래한다. 따라서, 본 연구의 결과와 같이 *Euglena*가 잘 성장하는 약 산성 (pH 3.5)에서는 다른 미생물에 의한 오염이 적을 것이라는 점에 착안하여 멸균하지 않은 수돗물에 배지를 제조하여 CO<sub>2</sub> 10% 농도에서 *Euglena*의 성장을 멸균한 배지를 사용하였을 때의 성장과 비교하여 보았다. 그 결과 Figure 2.15와 같이 멸균하지 않은 수돗물을 사용하여 배양한 경우 비슷한 성장이 이루어지는 것을 관찰하였다. 또한, 담수호를 배지로 사용하여 실험을 진행한 경우에도 *Euglena*의 정상적인 성장이 관찰되었는데, 이로 부터 빛, 온도, 탄소원 등이 적절히 공급되고 질소와 인 같은 영양물질의 결핍만 발생하지 않으면, 멸균과 같은 전처리 과정을 거치지 않아도 수돗물, 담수호 등을 배지로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

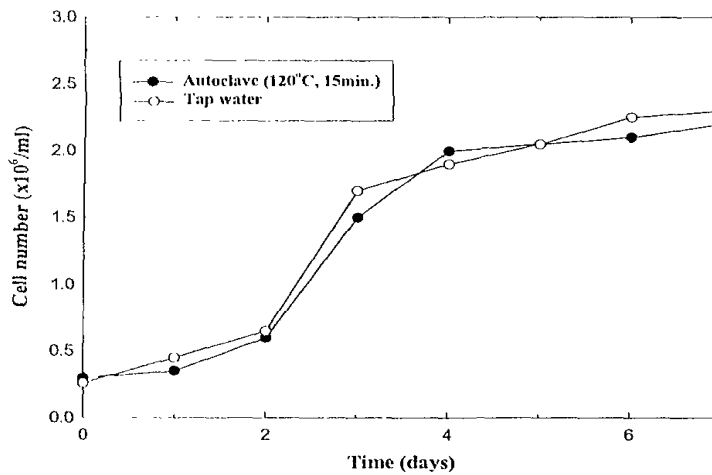


Figure 2.15 배지 전처리 조건에 따른 미세조류 성장 변화  
(광도 520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , CO<sub>2</sub> 10%)

## 5. 광독립 조건에서 *Euglena*의 성장 동력학

광에너지는 광합성 미생물의 성장에 있어서 이산화탄소의 농도와 더불어 성장을 결정짓는 중요한 요소가 된다. 미생물의 성장을 나타내는 일반적인 Monod식과 유사하게 광합성 미생물의 성장을 광도에 대한 비성장속도로 표현한 식들은 다음과 같다. Lee (1987) 등의 연구자는 평균 광도 ( $I_{av}$ )를 사용하여 미세조류의 성장 속도를 다음과 같이 표현하였다. 여기서,  $K_L$ 은 광 포화 상수 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )이고,  $I_{av}$ 는 평균 광도 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )이다.

$$\mu_{av} = \frac{\mu_{max} * I_{av}}{K_L + I_{av}}$$

한편, 광 저해 (photo-inhibition) 영향에 대해서는 Aiba (1982) 등의 연구자는 광 포화점을 초과하여 광에너지가 공급될 경우 성장 저해를 일으켜 다음과 같은 식을 따른다고 하였다.

$$\mu_{av} = \frac{\mu_{max} * I_{av}}{K_L + I_{av} + K_i I_{av}^2}$$

본 연구에서는 사용한 광도 범위에서 광 저해 (photo inhibition) 현상이 발견되지 않았으므로, Lee (1987) 등의 연구자들이 표현한 식을 사용해서 동력학 계수들을 구했다. 이때 비성장속도 (specific growth rates) 값은 대수 성장기인 2-4일 동안의 값을 이용하여 구했다. 여기서,  $\mu$  = 비성장속도 ( $\text{hr}^{-1}$ ),  $\mu_{max}$  = 최대비성장속도 ( $\text{hr}^{-1}$ ),  $I_0$  = 외부평균광도 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), 그리고  $K_i$  = 반속도상수 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )이다.

$$\mu = \frac{\mu_{max} * I_0}{K_I + I_0}$$

일정한 이산화탄소 농도에서 실험한 결과를 광도에 대한 비성장속도의 변화로 다음 Table 2.5에 정리하였다. 그리고, Figure 2.16에서 볼 수 있듯이 Monod식과 Lineweaver-Burk plot으로부터 구한 반속도상수,  $K_i$ 는  $978.9 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 이었고, 최대 비성장속도,  $\mu_{\text{max}}$ 는  $0.177 \text{ hr}^{-1}$ 이었다. 그 결과 본 실험에서 사용한 광도는 *Euglena*의 최적 성장을 위해서는 부족한 양임을 알 수 있었다. 일반적으로 Monod model은 생물이 성장하는데 필요한 주요 기질이 제한인자 (substrate limited)로 작용할 때의 성장 형태를 표시하기 위해 사용된다. 따라서, Monod model로부터 구해진 반속도상수의 값이 작을수록 기질에 대한 친화도가 좋은 것으로 해석할 수 있는데, 이러한 값은 미세조류의 종류에 따라 크게 변화하고 적용하는 model식에 따라서 많은 차이를 보이고 있다. 따라서, 미세조류의 광합성 작용을 통해  $\text{CO}_2$ 를 고정화 하고자 하는 경우에는 이러한 반속도상수 등의 광도에 대한 친화도 및 이용 효율 등을 고려하여 미세조류와 반응기 종류를 선정하는 것이 중요하다고 판단된다.

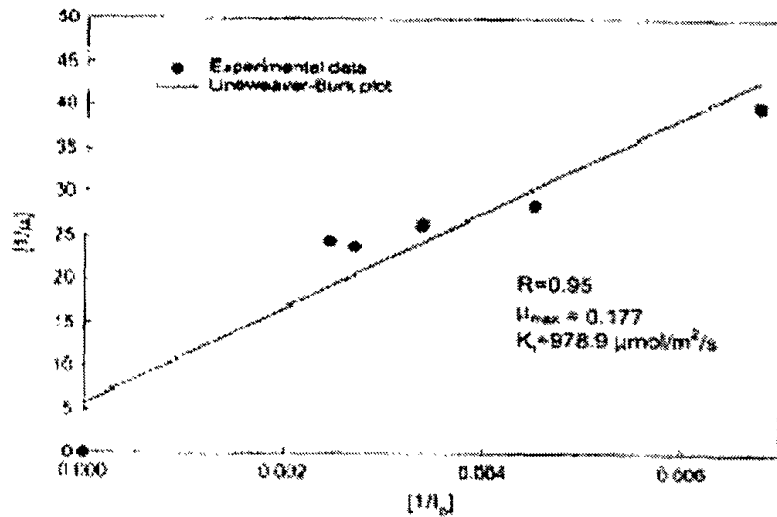
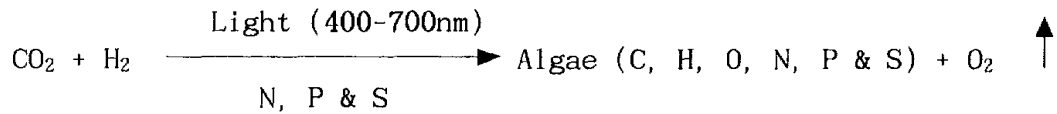


Figure 2.16 광독립영양 조건하에서 *Euglena*의 성장 동력학  
(초기 pH 3.5, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  10%)

한편, 광반응기에서 배양 조건이 변화하여도 *Euglena*의 균형 성장이 가능함을 확인하기 위하여 배양이 끝난 후 80℃ oven에서 하루 동안 건조시킨 후 원소 분석을 하였다. 미세조류에 의한 광합성의 일반식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.



원소 분석 결과에 따르면 배양된 *Euglena*의 C, H, O, N의 구성비는 각각 64.8, 7.7, 13.7, 13.8%로 CM 배지에서 배양 조건이 변화하여도 크게 달라지지 않았다. 각 배양 조건마다 수확된 세포를 대상으로 원소분석을 실시한 결과 다음과 같은 평균값을 구할 수 있었다. 이러한 분석에 의하여 *Euglena*의 분자식을  $\text{C}_{6.28}\text{H}_{8.95}\text{O}_{\text{N}_{1.15}}$ 로 나타내었다. 그리고 다음과 같은 계산 결과 수율 계수 (yield coefficient)  $Y_{\text{cell}/\text{CO}_2}$ 는 0.42 g Cell/g  $\text{CO}_2$ 로 나타났다.

$$Y_{\text{x}/\text{carbon}} = \frac{1 \text{ g cell}}{0.648 \text{ g carbon}} = 1.54 \text{ g cell/g carbon}$$

$$Y_{\text{x}/\text{CO}_2} = \frac{1 \text{ g cell}}{0.648 \text{ g carbon} \times \frac{44 \text{ g CO}_2}{12 \text{ g carbon}}} = 0.42 \text{ g cell/g CO}_2$$

즉, *Euglena* 세포 1g 당 2.38g의  $\text{CO}_2$ 를 고정화하는 능력이 있는 것으로 나타났는데, 이 값은 *Chlorella* sp. HA-1의 g cell 당 고정화 값 (1.6g  $\text{CO}_2$ /g Cell)보다 큰 것으로 (산업자원부, 1999), 이산화탄소 고정화 측면에 있어서 *Euglena*가 보다 우수한 고정화 능력을 가지고 있음을 알 수 있다.

## 6. 격막이 설치된 관형 광반응기의 효율 평가

가. 연속 및 반연속 배양: 회분식 실험을 통하여 미세조류의 성장을 위한 환경조건을 도출한 후에 이산화탄소 용해 및 고정화 효율을 증가시키기 위해 고안된 격막이 설치된 관형 광반응기를 이용하여 연속 및 반연속식 배양을 실시하였다. Figure 2.17과 같이 우선 연속 배양에서는 HRT를 3, 4, 5일로 조절하며 실험하였을 때, HRT 3일에서는 연속 배양이 시작되자 지속적으로 미세조류의 농도가 감소하여 20일이 경과된 후에는 연속 배양을 시작하는 시점의 농도보다 약 50%가 감소하였다. 그러나, HRT 4, 5일에서는 연속 배양이 시작된 8일째 약간의 농도 감소가 있었지만 그 후 미세조류의 농도가 점차 증가한 것을 알 수 있는데, 이는 배지의 공급속도보다 미세조류의 성장 속도가 빨라서 배양기 내에 농도가 증가한 것으로 사료된다. HRT 5일에서 20일이 경과되었을 때에도  $3.2 \times 10^6$  cell/ml (건조무게 0.58 g/l)의 세포수가 유지되었는데, 이는 회분식 배양에서 얻은  $2.3 \times 10^6$  cell/ml보다 1.4배 정도 성장이 증가한 것을 의미하고, 이산화탄소의 용해율 및 고정화율을 높이기 위해 고안된 격막이 설치된 관형 광반응기의 사용으로 전체적인 효율이 증가하였음을 알 수 있었다. 한편, 연속 배양에서 미세조류가 비슷한 성장을 보였던 HRT 4, 5일을 선택하여 반연속 배양을 실시하였다. 그 결과 Figure 2.18에서 볼 수 있듯이 HRT 5일에서 실시한 반연속 배양에서 보다 높은 미세조류의 성장 ( $3.4 \times 10^6$  cell/ml)이 관찰되었다. 그리고, 연속 배양과 반연속 배양의 결과를 비교해 보면 최종 농도의 경우에는 반연속 배양의 경우가 연속식 배양의 경우보다 약간 높았지만, 연속 및 반연속 배양이 실시된 기간 동안의 세포의 성장량을 평가해 보면 연속식 배양의 경우에는 8일 이후부터 20일까지 평균  $3.0 \times 10^6$  cell/ml의 세포수가 유지되었지만, 반연속 배양의 경우에는 6일부터 16일까지 평균  $2.3 \times 10^6$  cell/ml의 세포수가 유지되었다. 따

라서, 반연속식 배양의 경우가 최종 농도는 높았지만, 이산화탄소 고정 효율 및 미세조류의 생산량을 증가시키기 위해서는 연속식 배양이 적합한 것으로 사료된다.

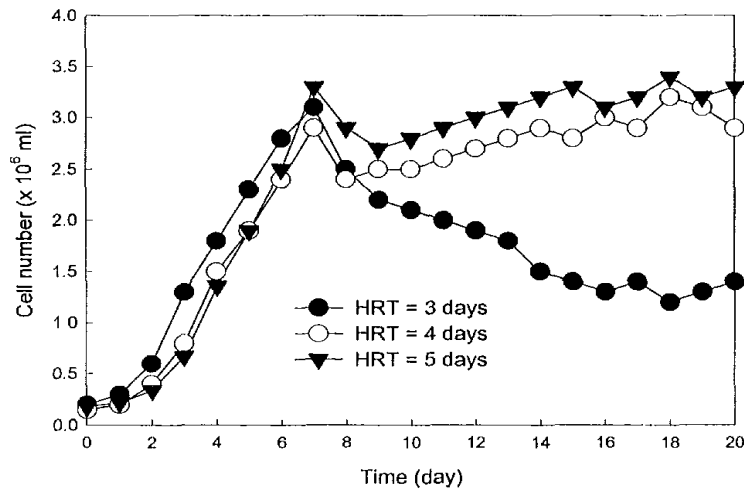


Figure 2.17 연속 배양 결과

(초기 pH 3.5, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  10%, 광도  $480 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )

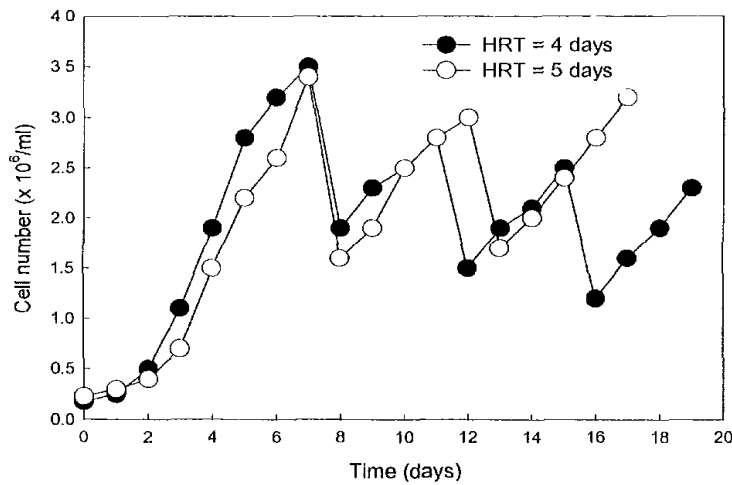


Figure 2.18 반연속 배양 결과

(초기 pH 3.5, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  10%, 광도  $480 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )

Table 2.6 연속 및 반연속 배양 결과

HRT 5 days	최종 농도		배양기간동안 평균농도	
	세포수 (cell/ml)	건조무게	세포수 (cell/ml)	건조무게
연속 배양	3.2 x 10 <sup>6</sup>	0.58 g/l	3.0 x 10 <sup>6</sup>	0.56
반연속 배양	3.4 x 10 <sup>6</sup>	0.60 g/l	2.3 x 10 <sup>6</sup>	0.42

나. 이산화탄소 용해율 증대 방안 연구: 한편, 격막이 설치된 관형 반응기에서 이산화탄소의 이용율을 평가하기 위해서 배가스 재순환 실험을 실시하였다. 실제 관형 반응기에 유입되는 이산화탄소가스는 100% 이용되지 못하고 빠른 시간 내에 배출되기 때문에, 이산화탄소의 용해율 및 이용율을 높이기 위해서 사용되어지고 남은 가스를 재사용하여 실험하였다. 가스유량 3L/min로 고정한 뒤 아래 Figure 2.19과 같은 실험장치를 이용하여 재순환 배양을 실시하였다. 반응기 1에 주입된 혼합가스를 조류가 사용하게 되고, 이를 거쳐 나온 기체를 반응기 2로 유입시키고, 마지막으로 반응기 3을 거쳐 대기로 내보낸다. 따라서 처음 유입시 가스 농도를 측정하고, 반응기 1을 거쳐 나온 가스 농도와 반응기 2를 지나고 난 가스농도 그리고 마지막 반응기 3을 거치고 난 후의 가스농도를 각각 측정하여 보았다. 또한 1, 2, 3 반응기의 성장변화를 살펴보며, 이를 비교 분석하여 보았다. 이와 같은 실험을 실시한 결과, 처음 주입시의 이산화탄소 농도는 9.2 %였으며, 반응기 1에서 나온 가스의 농도는 6.2 %, 반응기 2를 거치고 난 다음은 4.0 % 정도가 되는 것을 살펴볼 수가 있었다. 마지막 반응기 3을 거쳐 나오는 이산화탄소 가스의 농도는 1.9%였다.

각 반응기에서의 성장을 살펴본 결과, Figure 2.20에서 볼 수 있듯이 실험시 적정 온도인 27℃보다 약간 낮은 20~21℃에서 배양을 했기 때문에 배양 후 9~10일경에 이르러서야 가장 좋은 성장을 보이는 것을 살펴볼 수 있었다. 이때의 반응기 1과 2는 성장속도가 비슷하며, 성장

률도 거의 비슷하게 나타나는 것을 살펴볼 수 있었다. 반면, 마지막 반응기 3에서는 배양 일주일 정도는 다른 반응기와 비슷한 성장속도를 보이다가 이후에는 다른 반응기보다 낮은 성장률을 보이기 시작하였다. 또한 배양 8일째부터는 반응기 안의 *Euglena*의 색이 노랗게 변하며 바닥에 침강하기 시작하였으며, 9~10일 정도가 지나면서 더 이상 성장하지 않고, 배지에는 세균과 곰팡이들이 생겨나기 시작하면서 오염되기 시작하였다. 이로써 낮은 농도의 이산화탄소가 공급되었던 반응기 3에서는 상대적으로 탄소원과 접촉하는 양이 감소하였으므로, 미세조류가 성장하기 위해 필요한 탄소원이 부족하여 미세조류의 사멸이 심화되고 이를 분해하는 곰팡이류가 번식하였던 것으로 사료된다.

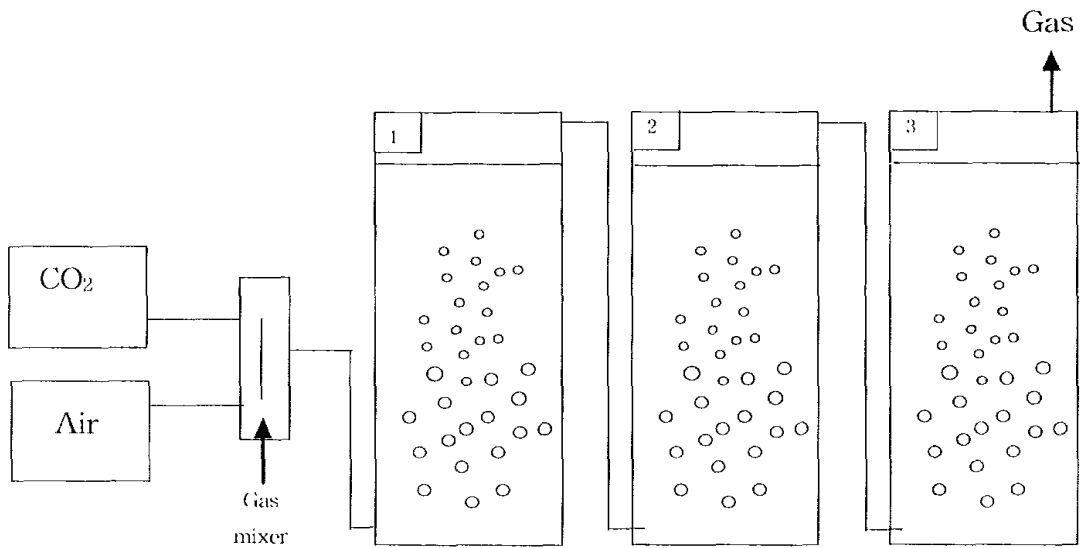


Figure 2.19 배가스 재순환 실험

(초기 pH 3.5, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  10%, 광도  $480 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )



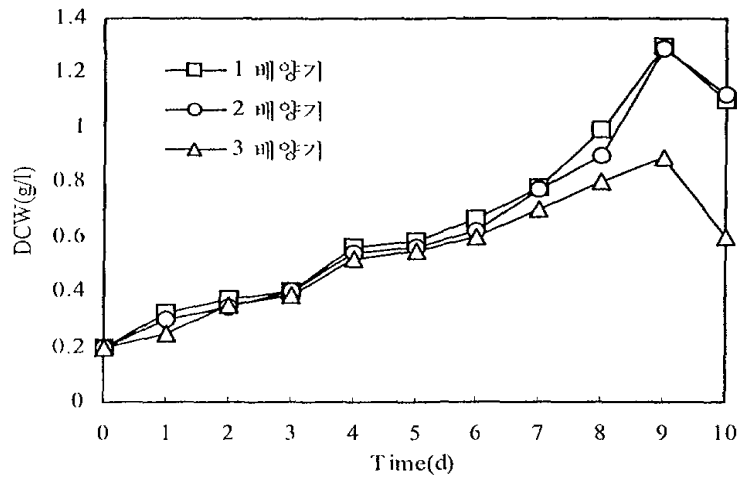


Figure 2.20 배가스 재순환시 미세조류의 성장  
(초기 pH 3.5, 온도  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  10%, 광도  $480 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )

다. 광원 종류가 미세조류의 성장에 미치는 영향: 동일한 환경 조건에서 일반 백색 형광등과 가시광선 영역의 파장이 강화된 식물 재배용 형광등을 사용하여 HRT를 변화시켜 가며 연속 배양시켰을 때에서 다음 Figure 2.21에서와 같이 미세조류의 성장에 있어서 큰 차이가 구별되지 않았다.

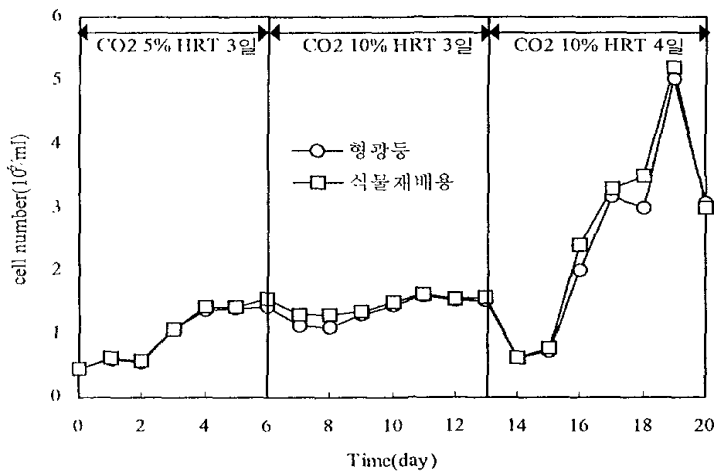


Figure 2.21 광원 변화에 따른 미세조류 성장 변화

## 7. 새로운 형태의 반응기를 이용한 생산성 향상 연구

가. 태양광 이용성 평가: 기존 관형 광반응기의 문제점을 해결하고자 새롭게 고안된 광반응기는 태양광을 에너지원으로 이용하여 반응기 운전 전에 소요되는 비용을 최소화하고자 하였다. 따라서, 실험에 앞서 태양광이 미세조류의 성장에 적합한지를 조사하기 위하여 다음 Figure 2.22와 같이 2001년 봄에 주기적으로 광도와 온도를 측정하여 평균값으로 표시해 보았다. 그 결과 아침과 해가 진 저녁에는 광도와 온도가 감소하였지만 낮시간 동안에는 앞의 동역학 연구에서 밝혀진 바와 같이 미세조류의 최대 성장 속도를 위한 광도 ( $978.9 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )보다 높게 유지되었다. 따라서, 이른 봄보다 평균 기온이 높은 여름과 가을에는 미세조류의 성장이 보다 활발할 것으로 기대 되었다.

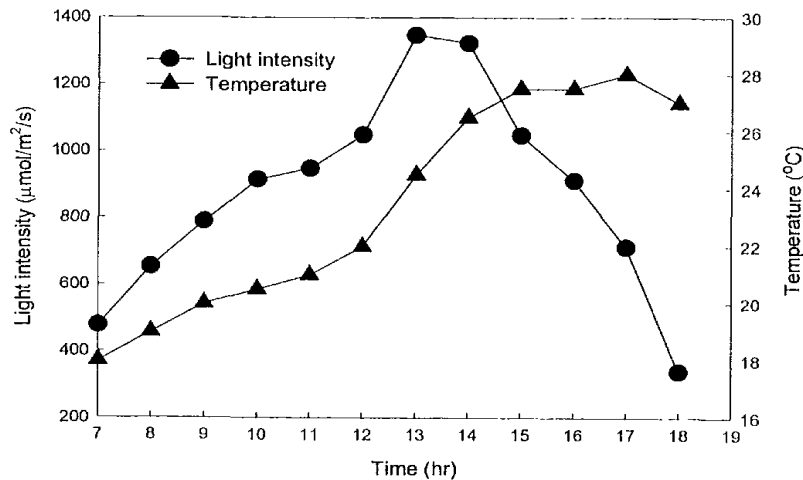


Figure 2.22 시간 변화에 따른 태양 광도와 수온 변화

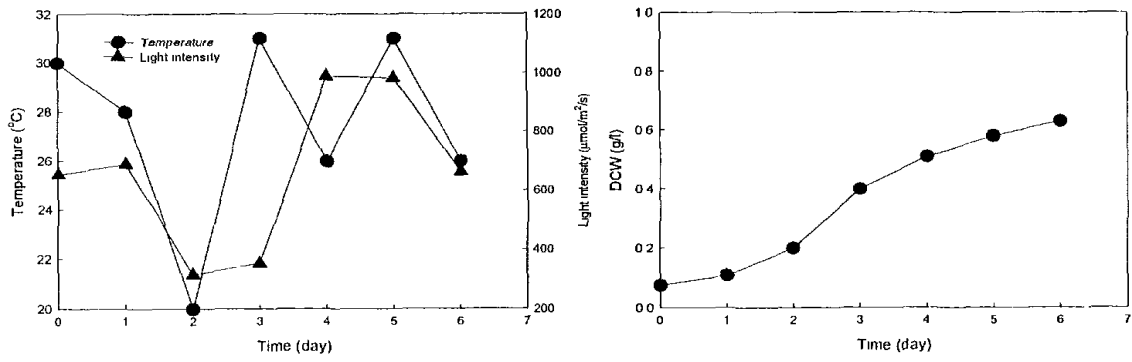
나. 보일러 배가스 성분 조사: 일반적으로 광반응기에서 미세조류를 배양할 경우에는 순수한 이산화탄소를 구입하여 사용하게 된다. 그러나, 발전소 등에서 대규모로 배출되는 폐탄산가스에는 이산화탄소 이

외에도 NOx, SOx, 분진 등의 미세조류의 성장에 영향을 줄 수 있는 물질이 동시에 존재하게 된다. 따라서, 본 연구에서 미세조류의 탄소원으로 사용한 보일러 배가스의 성분을 조사하여 탄소원으로서의 안전성을 평가하였다. 그 결과를 Table 2.7에 요약하였는데, 이산화탄소 농도는 *Euglena*가 성장하기 적절한 10-15%로 유지되었고, NOx, SOx 농도는 매우 낮은 농도로 유지되어 미세조류의 성장에 저해를 주지 않을 것으로 판단되었다. 일반적으로 *Euglena* 종은 NOx 100 ppm, SOx 60 ppm까지 내성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 총부유먼지도 일상 생활에서 측정되는 100 - 200  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  범위에 있어서 배가스가 광반응기에 공급되었을 때 크게 영향을 주지 않을 것으로 판단되었다.

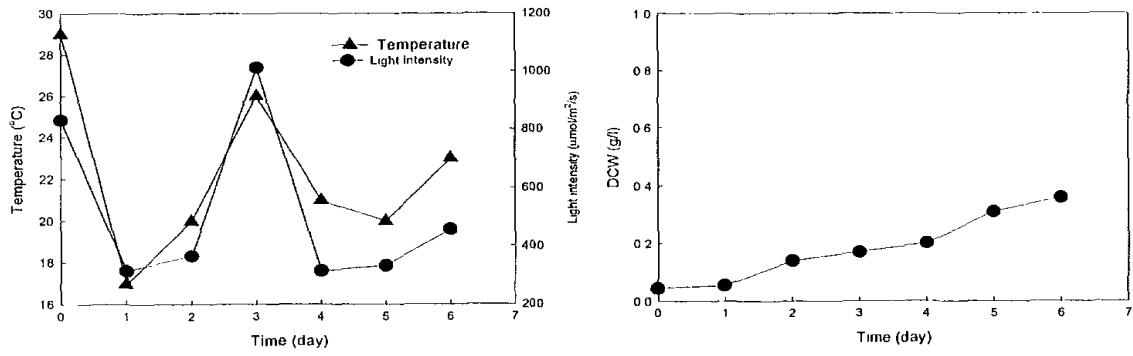
Table 2.7 보일러 배가스 성분

사용연료	CO <sub>2</sub>	NOx	SOx	총부유먼지 (PM 10)
가정용 백등유	11% (vol/vol)	26 ppm	5 ppm	126 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

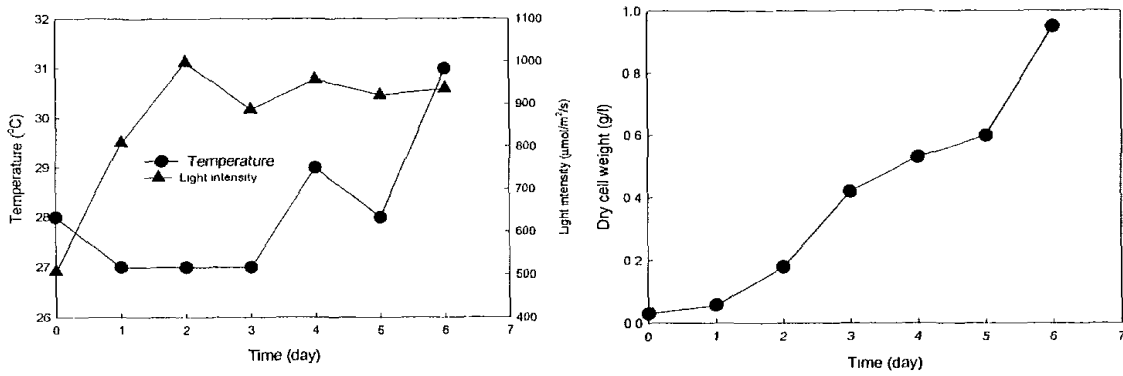
다. 회분식 배양: 태양 광원과 보일러에서 나오는 폐탄산가스를 이용하여 회분식 배양을 실시한 결과를 다음 Figure 2.23와 Table 2.8에 나타내었다. 결과적으로 배양 기간 동안에 평균 광도와 온도가 미세조류에 성장에 가장 적절하게 유지되었던 (C)에서 가장 좋은 성장이 관찰되었고, 실험실 규모의 관형 반응기를 사용하여 배양한 경우보다 향상된 경향을 보여 주었다. 따라서, 본 연구에서 사용한 보일러 배가스가 미세조류의 성장에 적절히 사용되었음을 알 수 있었다. 그러나, 실험실 규모의 광반응기에서보다 세포의 성장이 약 2일 정도 지체되는 현상이 관찰되었다.



(A)



(B)



(C)

Figure 2.23 L-type 광반응기를 이용한 회분식 배양

Table 2.8 광도 및 온도 변화에 따른 회분식 실험 결과

회분식 실험	배양기간	광도 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	온도 ( $^{\circ}\text{C}$ )	최종건조무게 (g/l)	최종 세포수 ( $\times 10^6/\text{ml}$ )
A	6일	600~710	20~31	0.63	3.5
B	6일	350~450	17~26	0.36	1.7
C	6일	900~980	27~31	0.92	4.8

다. 우기 회분식 배양: 우리나라는 사계절의 구분이 뚜렷하여 미세조류의 배양시 많은 문제가 발생할 수 있다. 따라서, 비가 많이 오는 여름철 동안에 배양을 실시하여 보았다. Figure 2.24에서 볼 수 있듯이 비가 와서 광도가 낮게 유지되는 동안에는 미세조류의 성장이 거의 정지하였다가 비가 그치고 광도가 증가하면 다시 성장이 활발해 지는 것을 알 수 있었다. 따라서, 광도가 저하되는 여름 장마철이나 겨울에는 보조광원을 사용하여 부족한 광도를 보충해 주어야 할 것으로 사료된다.

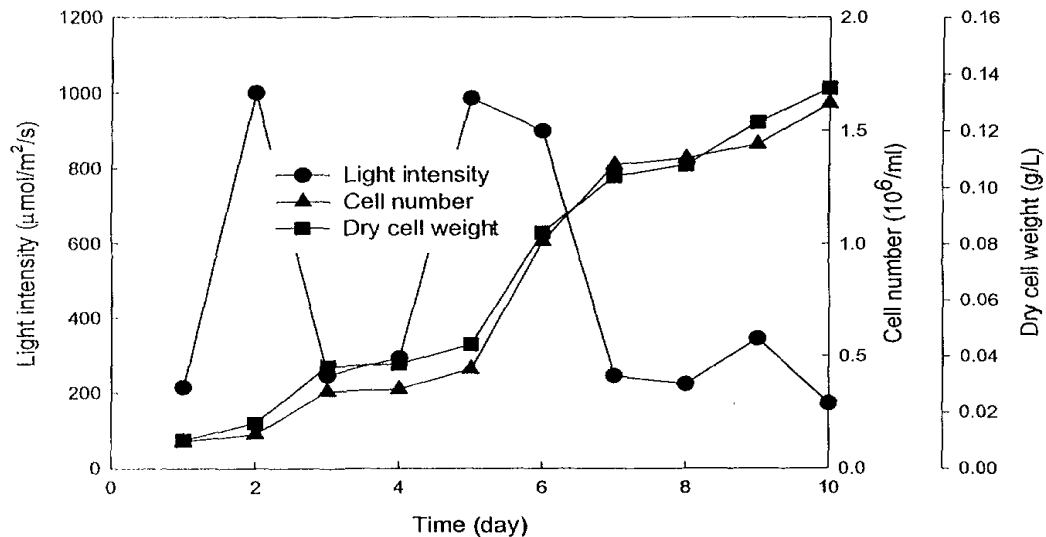


Figure 2.24 여름철 우기 배양 결과

라. 배지 재사용 평가: 본 연구에서는 수돗물에 각종 영양 성분을 첨가하여 배지를 제조하여 사용하였다. 그러나 미세조류의 배양 규모가 증가할수록 요구되는 배지의 양도 증가하므로 많은 양의 물이 필요하게 되고 미세조류에 의해 사용되지 않은 영양 성분은 자연 수계로 방출되어 하천 및 호소의 부영양화 등을 유발할 가능성이 있다. 또한 배지 제조를 위해 소요되는 약품의 가격을 고려하면, 배지의 재사용 및 첨가 성분의 최소화가 필요할 것으로 사료되었다. 따라서 다음 Figure 2.25와 같이 약 1개월 동안 동일한 배지를 반복 사용하여 미세조류를 배양하였는데, 4회 반복시에도 정상적인 성장 형태가 관찰되었다. 실제적으로는 5회 반복시에도 배양에는 문제가 없었으나, 배양 상태를 최적으로 유지하기 위해서는 1개월마다 배양기를 세척하는 작업이 필요하므로 본 연구에서는 1개월을 주기로 배양기를 세척하고 새로운 배지를 공급해 주는 방법을 시스템 운전의 최적화 방안으로 도출하였다.

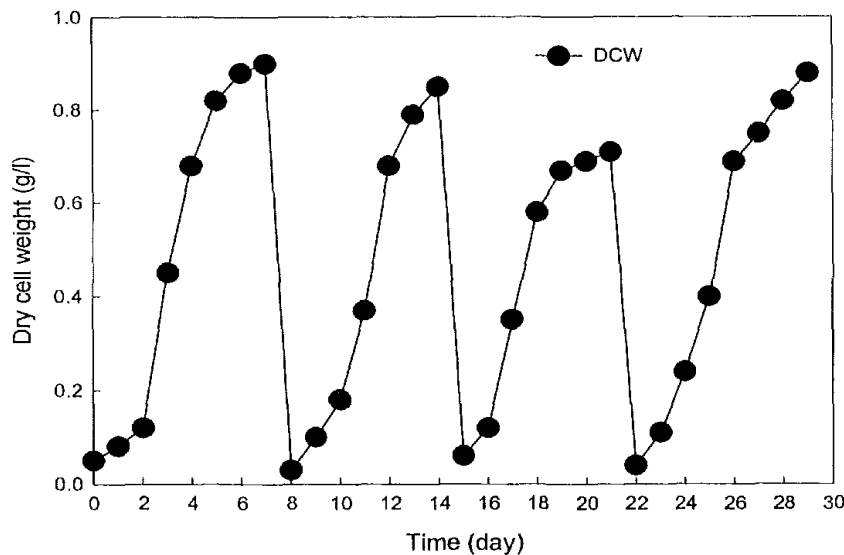


Figure 2.25 배지 재사용 회분식 실험 결과

다. L-type 광반응기 성능 평가: 실험실 규모 광반응기 (유효부피 100L) 와 새롭게 고안된 L-type 광반응기 (유효부피 1000L)의 성능을 Table 2.9와 같이 비교해 보았다. L-type 광반응기의 경우는 실험실 규모의 관형 반응기 보다 규모가 10배 증가하였지만 미세조류의 성장은 보다 향상 된 것을 알 수 있었는데, 이러한 효과는 “self-shading effect” 를 최소화하기 위해 고안된 L-type 광반응기가 효율적으로 운영되었 음을 보여주는 결과라 할 수 있다.

Table 2.9 광반응기 형태에 따른 배양 효율 평가

광반응기	배양기간	유효부피	평균 값		최종 값	
			광도 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	온도 ( $^{\circ}\text{C}$ )	세포수 ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	건조무게 (g/l)
L-type	6 days	1000 L	940	29	4.8	0.92
관형	6 days	100 L	480	28	2.9	0.61

바. 연속 및 반연속 배양: 기존의 실험실 규모의 관형 광반응기를 이용한 배양에서는 4 또는 5일에서 세포의 성장이 정체기에 도달했는데, L-type의 광반응기에서는 배양에서 모두 8일 이후가 되어서야 세포 성장의 정체기가 관찰되었다. 따라서, L-type 광반응기를 이용한 연속 및 반연속 배양에서는 HRT를 4, 6, 8일로 조절하여 실험하였다. Figure 2.26에서 볼 수 있듯이 연속 배양의 경우에는 초기 접종 후 8일이 지나서 연속 배양을 실시했는데 새로운 배지가 공급됨에 따라 약간 미세조류의 농도가 감소하였지만 2일째부터는 다시 농도가 증가되었다. HRT 8일에서 가장 좋은 성장이 관찰되었으며 최종 세포수는  $4.5 \times 10^6$  cell/ml, 건조무게 0.89 g/l이었다. 한편, HRT 변화에 따른 미세조류의 성장 변화는 반연속 배양에서 보다 뚜렷하였다. Figure 2.27은 HRT를 4, 6, 8일로 조절하여 반연속 배양을 실시한 결과를 보

여주고 있다. 연속 배양에서는 HRT 4일과 6일에서도 정상적인 성장이 관찰되었지만, 반연속 배양에서는 HRT 4일에서는 정상적인 성장이 이루어지지 않았고, HRT 6일과 8일에서 비슷한 성장이 관찰되었다. 반연속 배양에서 4일마다 배지의 50%가 교환되는 경우에는 짧은 시간내에 갑작스런 환경 변화로 인하여 미세조류가 충분히 성장할 수 있는 시간이 주어지지 않았던 것으로 사료된다. 관형 반응기의 배양 결과와 유사하게 반연속 배양의 경우가 최종 세포 농도는 더 높았지만 이산화탄소의 고정화 효율 및 미세조류의 생산성을 고려하면 연속 배양이 보다 효과적인 것으로 판단되었다. 연속 배양 1개월 동안의 배양에서 약 50% 단백질을 함유하는 SCP (Single Cell Protein)를 5 kg 생산할 수 있었고, 이 때 이산화탄소 제거율은 약 8%였다.

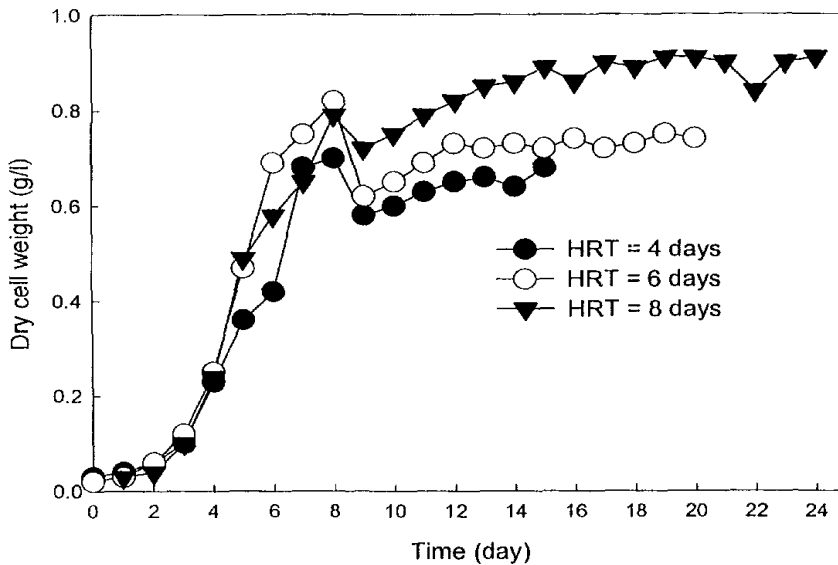


Figure 2.26 L-type 광반응기를 이용한 연속 배양 결과



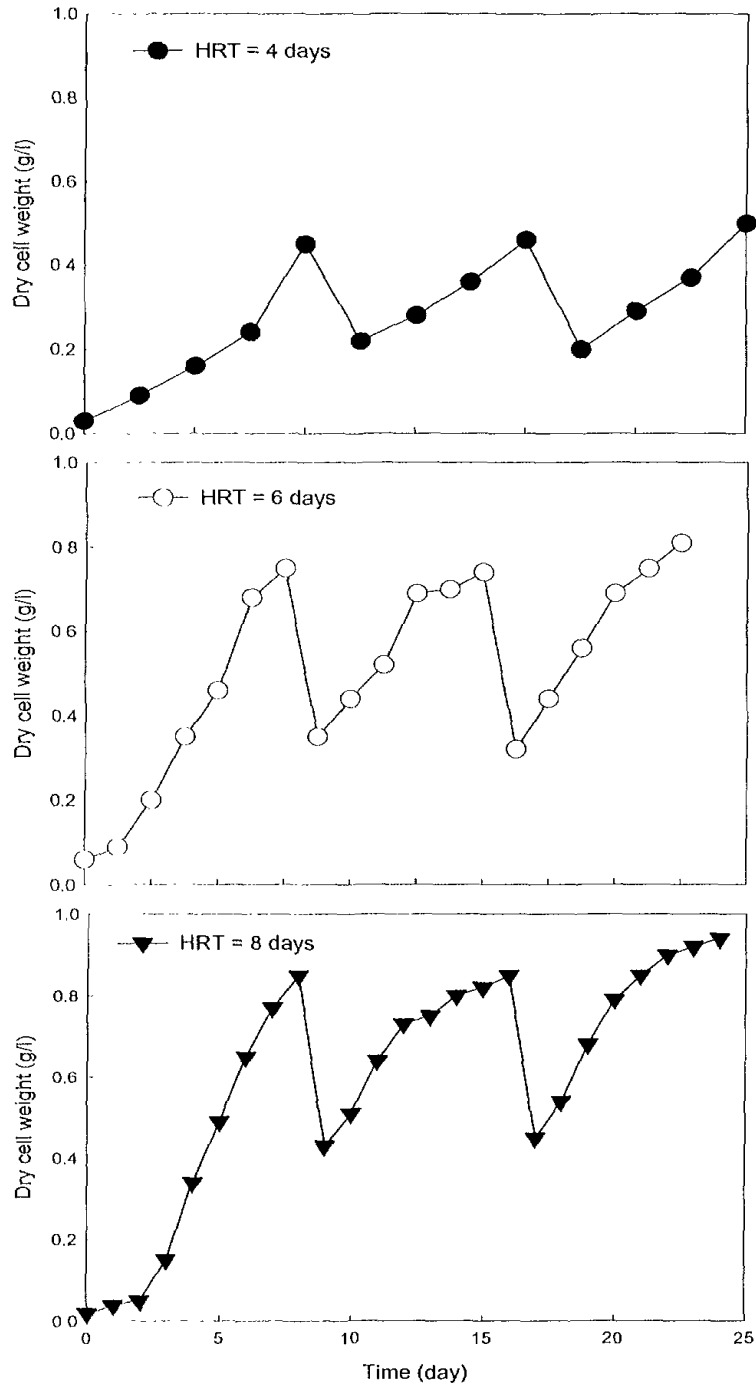


Figure 2.27 L-type 광반응기를 이용한 반연속 배양 결과

## 8. 성장한 미세조류의 분리 방법 평가

광반응기에서 배양된 미세조류를 동물이 이용할 수 있는 사료로 가공하기 위해서는 우선 배지로부터 미세조류를 1차적으로 분리하는 단계가 필요하다. 따라서, 다음 Table 2.10에 나타난 바와 같이 4가지 방법을 사용하여 분리 효율 및 경제성을 평가하였다. 실험실 규모의 배양기에서 나오는 배지 70 l/day 전부를 원심 분리하면 56 g 정도의 농축된 *Euglena*를 회수할 수 있는 반면, 하단에 scraper가 부착된 침전조를 이용하여 바닥에 농축된 10 l/day 만을 원심분리 할 경우 50g 정도 회수할 수 있다. 따라서 본 침전조를 사용하면 원심 분리에 필요한 시간과 노력을 1/6정도로 줄이고도 동일한 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 침전조를 단독으로 사용하여 미세조류를 배지로부터 완전히 분리하는 것을 불가능하고 원심분리 등을 통하여 함유율을 감소시키는 추가 단계가 필요하다.

Table 2.10 광반응기에서 생산된 *Euglena* 분리 방법 비교

분리 방법	제품 사양	소요 시간	비용	전력소모량 (1kg)	효 율	문제점
중력식 침전	아크릴 재질의 침전조	8	100만원	75W	○	89-90% 분리시 장시간 소요 태양에 장시간
노천식 건조	태양광 노천 건조	8	-	-	△	노출시 단백질 함량 감소
중력식 부직포 여과	Y사 부직포 H2035 평량=35 G/sqM 두께=0.26mm	1	500원 /장	-	×	유글레나의 부직포 표면 부착
연속 원심분리	Alfa Laval	2	1만원 /시간	550W	◎	전기료 고가

※ 분리 효율 : ◎ 매우 좋음, ○ 좋음, △ 보통, × 나쁨

한편, 부직포를 사용한 경우에는 추가 동력이 필요 없고, 경제적이기는 하나 분리 효율이 낮고 미세조류가 부직포 표면에 흡착하여 최종적으로 부직포에서 분리하는데 어려움이 있다.

그리고, 노천 건조의 경우에는 가장 저렴한 방법이기도 하나 건조 시간이 오래 걸리고 또한 태양광에 세포가 직접 노출되어 세포의 색이 변하는 문제가 발생하였다. 그리고, 노천 건조시켜 얻은 dry cell의 평균 단백질 함량은 38였고, 반면 정상적인 조건에서 성장한 *Euglena*를 동결 건조시켜 얻은 세포의 단백질 함량은 일반적으로 45 ~ 58%정도였다. 따라서 Table 2.11에 나타낸바와 같이, 이 두 방법에서 얻어진 값을 비교해보면, 노천 건조시 강렬한 태양의 영향을 받아 *Euglena*의 단백질이 손상되어 동결 건조시켜 얻은 값보다 적게 얻어졌다고 사료된다. 따라서 이러한 단백질의 손상을 줄려면 노천 건조하는 시간을 줄이거나 원심분리와 같이 조속한 시간 내에 수분의 함량을 줄이는 방법을 고안하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

Table 2.11 노천건조와 원심분리 후 동결건조 시 단백질 함량 비교

Sample	W (mg)	단백질 (%)
노천건조	703	38.46
동결건조	700	47.00

※ W : 시료의 무게

## 9. 수확된 미세조류의 보존성 향상을 위한 가공방법 연구

가. 보존성 향상을 위한 가공방법 연구: 광반응기에서 이산화탄소를 고정화하고 성장한 *Euglena*를 사료로 사용하기 위해서 우선 원심분리를 거쳐 일차적으로 배지와 빠른 시간 내에 분리하였다. 원심분리를 거친 후의 상태는 함유율이 약 64%, 조단백질의 함량은 약 47%가 되었다. 그 후에 각각 다른 가공 방법을 거쳐 햇빛이 비치는 20 ~ 25 °C 상온에서 보관하며 12일 동안 수분과 단백질 함량의 변화를 관찰하였다. 실험 결과를 다음 Table 2.12에 나타내었다. 원심분리 후 농축액을 제조한 경우에는 우선 수분감량이 초기에 비해 13% 정도 밖에 이루어지지 않았고, 12일간 보관하는 동안에 수분함량도 감소하고 부패현상이 발생하여 단백질 함량도 감소하였다. 한편, 원심분리를 한 후에 pelleting을 한 경우에는 초기에 비해 가공한 직후 단백질 함량이 9% 정도 감소하였는데, 이는 pelleting 작업을 거치는동안 meal conditioning 단계에서 온도가 약 80 ~ 100 °C까지 상승하게 되어 단백질 성분의 일부가 열에 손상을 입은 것으로 사료된다. 그러나, 원심분리 후 동결건조를 하여 미분말상으로 제조한 경우에는 원시료의 조성의 거의 그대로 유지되었으며 수분 함량만 크게 감소하였다. 따라서, 사료로 가공하고자 하는 경우에는 단백질 함량의 손실이 적은 동결건조 방법이 가장 적합한 것으로 판단되었다.

Table 2.12 *Euglena* 사료 가공 방법에 따른 수분 및 단백질 변화

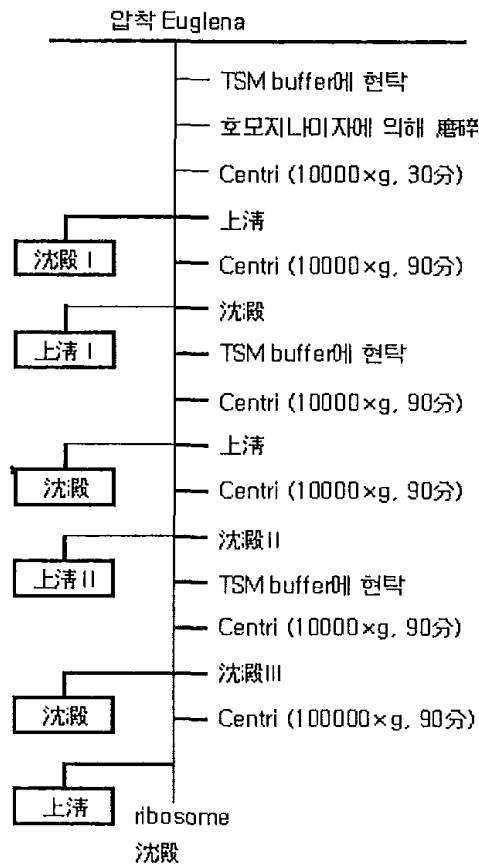
가공 상태	가공 방법	초기 함량 (%)		가공 후 (%)		6일 후 (%)		12일 후 (%)	
		수분	단백질	수분	단백질	수분	단백질	수분	단백질
농축액	원심분리 후 농축	64.0	47.2	56.0	47.0	55.0	46.1	52.0	45.2
미분 말상	원심분리→동결건조 →분쇄 및 혼합	64.0	47.2	3.5	47.0	3.4	47.0	3.3	47.0
Pellet	원심분리→ Pelleting	64.0	47.2	15.0	43.0	14.8	42.9	14.5	42.9

나. 세포 저장시 발생하는 ribosome의 분리와 내구성에 대한 조사: 배양된 *Euglena*를 원심분리 (3,000rpm/5min)에 의해 회수한다. 이때 수분 함량은 62.2%이며, 이것을 분무기를 이용할 경우 회수된 세포를 재차 수분조절을 하여 건조하게 된다. 배양된 *Euglena* 세포의 이용을 사료 (가축의 영양제)의 mineral 또는 기능성 사료에 목적을 두고 있다.

*Euglena*는 여러 종의 녹조류와 비교하였을 때 각종 vitamin은 물론 더욱이 Taurine 함량이 높으며 소화성에 대해서도 높ی 평가되고 있는 미생물이다. 그것은 세포 외막이 pellicle이란 단백질로 구성되어 있기 때문이다. 또한 각종 아미노산 구성이 동물성에 속하며 더욱이 함유 아미노산이 높이 평가되고 있는데, 이렇게 양질의 단백질과 각종의 mineral 성분을 손실 없이 저장하고자 연구를 진행하였다.

일반적으로 발효공업에서는 세포를 건전한 상태에 저장하는 것이 필수적이며 그 중에서도 세포 내용물의 내구성에 대한 검토이다. 내구성은 보통 압착 세포를 30℃에 저장하여 연화의 과정이 시작될 때까지의 일수를 나타내는 방법이다. 연화현상은 세포를 물에 세제했을 때 용출되는 Amino 테 질소가 급격히 증가되는 현상을 말하는 것이다. 각종 미생물을 저(低)영양 배지에서 장기간 보존하게 되면은 자기용해 (세포용해)에 상당하는 것으로 생각된다. 그러나 동일한 균주에서 같은

방법으로 배양하였을 경우에도 내구성에는 5~6일, 크기는 2 주간에서 3 주간의 큰 차이가 생긴다. 이러한 원인이 무엇인지 아직 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서는 Figure 2.28에 표시한 내용을 두고 내구성의 검토를 하였다.



※ TSM buffer : Tris(hydroxymethyl) amino-methane  
0.1M 호박산 나트륨 및 0.01M Mg<sup>2+</sup>를 함유(pH 7.6)

Figure 2.28 *Euglena* 사료 가공시 ribosome의 측정 순서

그리고 그 결과를 Table 2.13에 정리해 보았는데, 저장 일수가 경과할수록 ribosome 양의 감소하였고, 이는 단백질 함량의 저하를 암시하고 있다. 그러나 이 결과는 세포의 수분함량이 80% (wet cell) 이상시의 결과이므로, 원심분리 후 동결건조 등의 방법을 통해서 수분함량을 크게 감소시키면 오랜 시간 저장하여도 단백질 함량의 저하는 크지 않을 것으로 판단된다.

Table 2.13 *Euglena* 저장 중의 ribosome의 변화

저장 일수	ribosome의 함량 <sup>a)</sup> (mg)	조 성 (%)		RNA
		RNA	단백질	단백질(%)
회수직후 <sup>b)</sup>				
0일	970	41	59	55.4
20일	610	34	50	50.4
40일	280	27	50	37.5
60일	120	0	35	10.9

a) *Euglena* 100g당의 건조중량

b) 연구실에서 배양된 *Euglena*

## 10. 변이원성 시험 (Ames test)을 통한 *Euglena* 사료의 안전성 검증

가. 연구 배경: 그 동안의 학계의 연구에 따르면 발암성과 변이 원성과의 사이에는 높은 상관성이 있다. 환경중의 변이원물질을 검출하는데 있어서 위생상 대단히 중요한데, 지금까지 각종검출 방법이 고안되어 있지만 미생물을 사용하는 검출방법의 실시가 아주 용이하며 경제적이고 간편하여 발암물질의 제일차 Screening으로서 유용하게 사용되고 있다. 그 대표적인 검출방법이 Ames test이다.

나. 사용 균주: *Salmonella typhimurium* TA1537 (his, C3076 uvrBrfa), 일반적으로 사용하고 있는 것은 *Salmonella typhimurium* (쥐, Typhus 균), TA1535, TA1537, TA1537, TA1538의 4주로 histidin 합성효소의 유전자 돌연변이에 의해 histidin 요구성으로 되어있다. 한천평판배지상에서 이 histidin이 histidin 비요구성(His)이 되는 복귀돌연변이를 검출할 수 있다. TA1535는 염기 치환형의 변이주, 그 외는 frame shift mutation 형의 변이주이다. TA1537에서는 histidinol-phosphate amino transferase를 코딩한다. his C 유전자에 있어서는 ccc → cccc와 같이 +1 frame shift 변이가 있다. 상기의 4주는 histidin 합성효소유전자의 변이 이외 별도로 두 개의 돌연변이가 가해져 감도가 높다. 하나는 제거수복의 system (uvrB)이 결손되어 있기 때문에 돌연변이의 유기가 높아진다. 더욱이 세균의 표면구성분자에 있는 Lipo다당류가 결손되어 있기 때문에 비교적 큰 분자도 세포 내에 투과된다.

다. 사용 용액: 9-amino acridine 염산염 용액 (2 mg/ml가 되게끔 dimethyl sulfoxide에 용해).

라. 실험 방법:

1) 건열멸균

- 샬레: 10~20개
- 5ml 용 피펫: 2~3개
- 시험관 (직경 1.6 × 길이 10.5cm 정도): 10개

2) 하층배지 작성

- 하층배지에 필요한 성분을 4개의 삼각 flask에 넣어 호일로 뚜껑을 하여 멸균
- Table 2.14 (d)의 flask를 각반하여 한천을 균일하게 한후 (c),



(d)를 첨가하여 각반한다. 마지막으로 (a)를 첨가 각반후 멸균 사례 10장에 조용히 붓는다. 전부 한번에 멸균하게 되면은 백색침전이 석출하기 때문에  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 다른 염이 완전히 용해된 후 가한다.

- 한천이 고화 될 때까지 실험대 위에 방치한다.

Table 2.14 Ames test를 위한 하층 배지 성분

성분	중량/물용량	삼각 flask
(a) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.04g/10ml	50ml
(b) citric acid	0.4g	
$K_2HPO_4$	0.2g	100ml
$NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$	0.7g/20ml	
(c) glucose	40g/70ml	200ml
(d) 한 천	3.0g/100ml	500ml

### 3) 상층배지의 작성

- 0.7% 한천: 0.6% NaCl 30ml를 100ml 삼각 flask에 넣어 호일로 싸은 후 autoclave 한다.
- 각반 후 용해시킨 별도로 멸균된 2.5 mM histidine 2.5 mM viotidine 용액 3ml를 멸균된 피펫으로 첨가한 후 50°C에 유지. 이 histidine은 균을 한천배지 위에서 여러 차례 분열되기 위한 필요한 양으로서 돌연변이를 검출하기 위해서는 이 분열이 필요하다.

### 4) 변이의 유도

- 검사시료의 농도가 0 ~ 2 mg/ml가 되게끔 Table 2.15의 농도를 참고하여 동일한 농도를 두 개씩, 합계 10개의 멸균시험관에 분

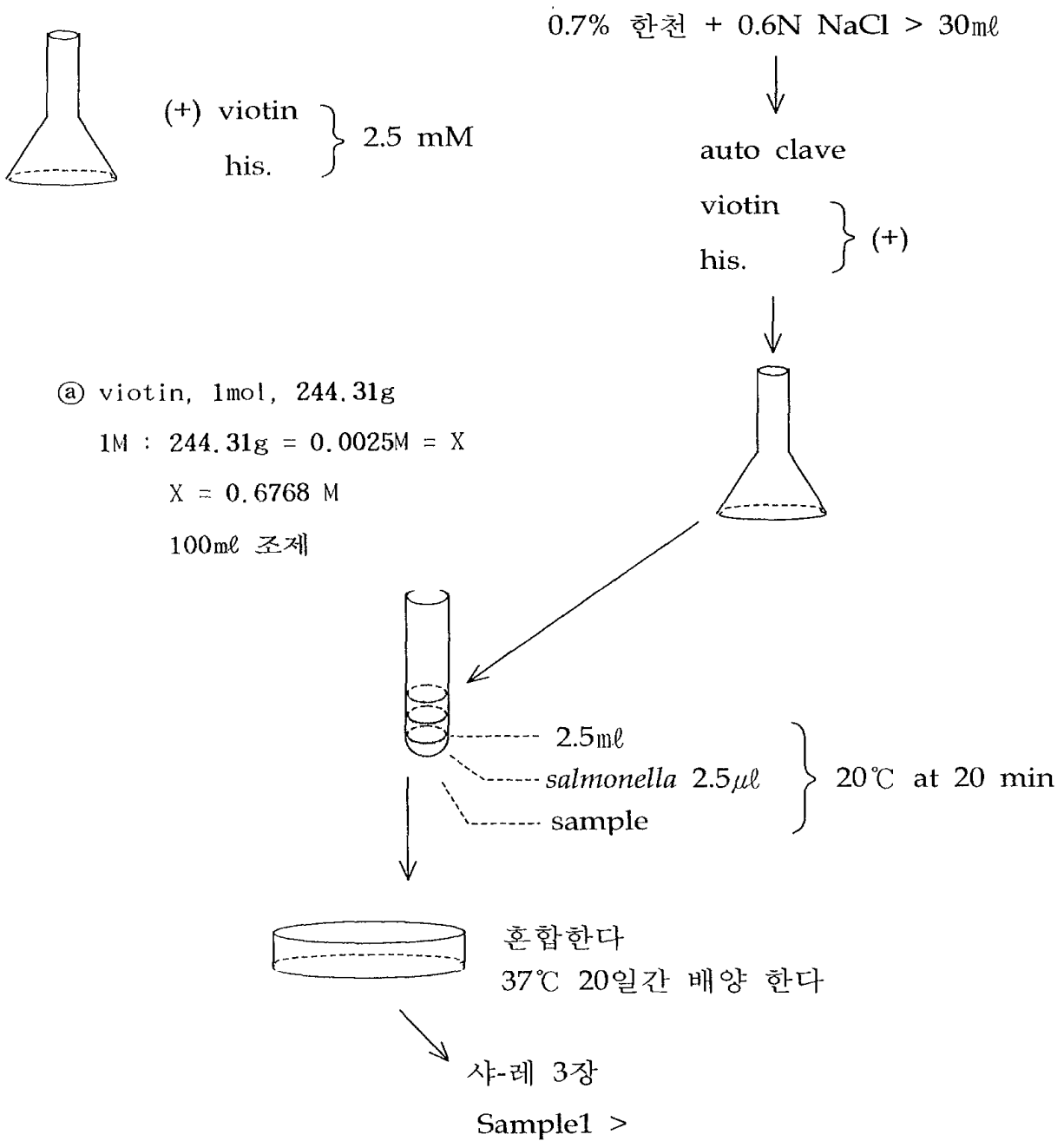
주한다. 이때, 시험관의 밑부분까지 넣어 시험관의 가장자리에 부착되지 않게끔 주의한다.

- 100mM 인산나트륨 완충액 (pH 7.4) 0.5mℓ를 각 시험관에 첨가한다.
- *Salmonella* 균의 배양액 25mℓ를 각 시험관에 첨가한다.
- 각 시험관 중의 시료를 혼합한 후 호일로 뚜껑을 한 후 항온수조 중 (37℃) 20분간 천천히 진탕한다.
- 상층배지 2.5mℓ를 filler 피펫으로 각 시험관에 첨가한다. 이때 시료용액이 피펫 끝이 닿지 않도록 주의한다.
- 빨리 혼합하여 하층배지에 부으면서 사례를 움직여 균일하게 퍼지도록 한다.
- 37℃ 48시간, 광 차단 배양한다.

Table 2.15 변이 유도를 위한 종 (種)농도와 검사시료의 혼합비

종농도 (mg/ml)	검사시료 용액 (ml)	dimethyl sulfoxide (ml)
0 대조	0.20	0
0.2	0.18	0.02
0.4	0.16	0.04
1.0	0.10	0.10
2.0	0	0.20

이상의 실험을 도식화해보면 다음 Figure 2.29와 같다.



② histidine

1M : 155.16g = 0.0025M = X

X = 0.3879 M

100ml 조제 = 0.3879 × 0.1 = 0.038709/ml

Viotin 0.0618g + his 0.03879g를 700ml에 mass up → auto clave

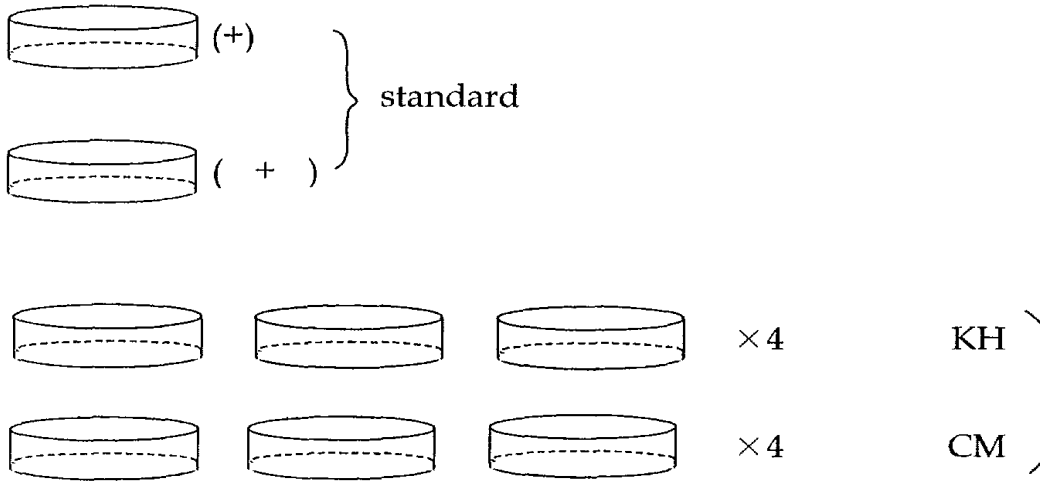


Figure 2.29 Ames test 진행 순서

마. 실험 결과: 실험 결과를 다음 Table 2.16에 나타내었는데, 그 결과 실험에서 사용한 *Euglena* 균주에 대해서 독성이 없는 것으로 나타났다.

Table 2.16 Ames test 결과

사용한 균주: TA1538				
시료	출현한 colony수			평균
	1	2	3	
(1) 무첨가	31	22	36	30
(2) + AA	878	1152	1108	1046
(3) + E-KH	15	31	17	21
(4) + Fudai	29	9	35	32
(5) + E-CM	15	16	12	22
(6) + E-BL DHA	5	13	8	9
(7) + E-BL	39	54	64	52

## 제5절 결론

### 1. *Euglena* 세포 배양 검토

가. 배지 자체에 탄소원을 포함하고 있는 Koren-Hunter (KH)를 사용하였을 경우 최대 8 g/l까지 성장하였고, 외부에서 탄소원을 공급해 주어야 하는 Cramer-Myers (CM) 배지를 사용한 경우에는 최대 1.2 g/l까지 성장하였다.

나. 조류의 건조무게 (dry cell weight)와 730 nm에서의 흡광도와 상관관계를 도출하였다 (건조무게 = 1.069 x 흡광도,  $R^2 = 0.9966$ ).

### 2. Jar-fermenter를 이용한 배양 조건 조사

가. 초기 pH 3.5일때가 가장 좋은 성장을 나타내었고, 낮은 pH에서 배양시 다른 미생물에 의한 오염이 감소하는 효과를 기대할 수 있었다.

나. 온도를 15, 20, 27, 35 °C로 변화시켜 가며 *Euglena*의 성장을 관찰하였는데, 적정 범위는 20 ~ 35°C이었다.

다. 발전소 배가스 성분을 참조하여 이산화탄소 농도를 0.035 (대기), 5, 10, 15%로 각각 유지하며 실험하였다. 그 결과 이산화탄소 농도가 10%일 때 가장 좋은 성장이 관찰되었고, 0.035%와 15%에서는 성장이 저하되는 것이 관찰되었다.

라. 실험에서 사용한 광도 범위 (148 ~ 520  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )에서는 빛에 의한 저해 현상 (photo inhibition)은 발견되지 않았으며 광도가 증가할수록 미세조류의 성장도 증가하였다.

마. 멸균 수돗물 배지, 비멸균 수돗물 배지, 담수호 물에서 *Euglena*의 성장을 관찰하여 보았다. 그 결과 비멸균한 수돗물과 담수호 물을 사용하여 배지를 제조한 경우에도 *Euglena*의 정상적인 성장이 관찰되었다.

### 3. *Euglena*의 균형 성장 검토

가. 광독립영양 조건에서 *Euglena*의 성장 동력학을 평가한 결과, Monod식과 Lineweaver-Burk plot으로부터 구한 반속도상수,  $K_I$ 는  $978.9 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 이었고, 최대 비성장속도,  $\mu_{\text{max}}$ 는  $0.177 \text{ hr}^{-1}$ 이었다.

나. 원소분석 결과 *Euglena*의 C, H, O, N의 구성비는 각각 64.8, 7.7, 13.7, 13.8%로 CM 배지에서 배양 조건이 변화하여도 크게 달라지지 않았다. 또한 이로부터 *Euglena* 세포 1g 당 2.38g의  $\text{CO}_2$ 를 고정화하는 능력이 있는 것을 알 수 있었다.

#### 4. 연속 배양 기술 개발

가. 이산화탄소 용해율을 증가시키고 연속적인 세포의 생산을 위해 고안된 격막 (baffle)이 설치된 관형 광반응기에서 연속 및 반연속 배양을 위한 최소 HRT는 4 또는 5일로 결정되었다.

나. 최종 농도의 경우에는 반연속 배양의 경우가 연속식 배양의 경우보다 약간 높았지만, 배양이 실시된 기간 동안의 세포의 성장량을 평가해 보면 연속식 배양의 경우가 우수하였다.

다. 배가스 재순환 실험에서, 처음 주입시의 이산화탄소 농도는 9.2 %였으며, 반응기 1에서 나온 가스의 농도는 6.2 %, 반응기 2를 거치고 난 다음은 4.0 %정도가 되는 것을 살펴볼 수가 있었다. 마지막 반응기 3을 거쳐 나오는 이산화탄소 가스의 농도는 1.9%인 것으로 조사되었다. 결과적으로 이산화탄소 농도가 낮게 유지되었던 마지막 반응기 3에서는 미세조류의 성장 속도가 감소하였다.

라. 광원 종류를 일반 백색 형광등과 가시광선 영역의 파장이 강화된 식물 재배용 형광등을 사용하여 HRT를 변화시켜 가며 연속 배양시켰을 때에는 미세조류의 성장에 있어서 큰 차이가 구별되지 않았다.

#### 5. 폐탄산가스를 이용한 SCP 생산 및 사료화 공정 개발

가. 유효부피 1000L 규모의 옥외 광반응기로 scale-up 시켰을 때 미세조

류의 성장이 향상되었는데 이로부터 “self shading effect”를 최소화하기 위해 새로 고안한 L-type 광반응기가 효율적으로 운전되었음을 알 수 있었다.

- 나. L-type 광반응기에서 미세조류의 성장은 태양광의 광도에 직접적으로 영향을 받았으며 실험실 규모의 광반응기에서보다 성장 정체기에 도달하는 시간이 2일정도 지체되었다.
- 다. 태양광을 에너지원으로 하고 보일러에서 발생하는 폐탄산가스를 탄소원으로 사용한 결과, 연속 배양시 1개월에 약 50% 단백질을 함유하는 SCP (Single Cell Protein)를 5 kg 생산할 수 있었다. 이 때 이산화탄소 제거율은 약 8%였다.
- 라. 성장한 미세조류의 분리 방법을 평가한 결과 *Euglena*를 사료로 사용하기 위해서는 연속 원심분리를 사용하여 빠른 시간내에 배지와 *Euglena*를 분리하는 것이 *Euglena*의 단백질 함량 및 세포 조성의 변화를 예방하는 가장 좋은 방법으로 판단되었다.
- 마. 수확된 미세조류의 보존성을 향상을 시키기 위한 연구에서, 동결건조를 통한 미분말상의 가공법이 단백질 함량의 변화가 없이 *Euglena*의 상태를 보존할 수 있는 방법으로 조사되었다.
- 바. 수분 함량이 높은 상태에서 *Euglena*를 저장하게 되면 저장 일수가 증가함에 따라 세포 내의 ribosome 양의 감소하였고, 단백질 함량의 저하가 나타났다.
- 사. 폐탄산가스를 탄소원으로 사용하여 성장한 *Euglena*의 사료로서의 안전성을 검증하기 위하여 실시한 Ames test에서, *Euglena*는 사용 균주 *Salmonella typhimurium* TA1537 대해서 독성이 없는 것으로 조사되었고, 동물 사료로서 안전한 것으로 판단되었다.

# 제 3 장 사육 시험을 통한 *Euglena* 세포 이용성 검토 분야

## 제1절 서론

단백질 자원의 고갈에 대비하기 위하여 각종 발효기질을 이용한 미생물의 단세포단백질 (single cell protein, SCP) 생산에 주목을 끌게 되었다. 또한 최근의 지구 온난화에 관련되어서 각종 탄산가스의 배출이 문제시 되고있다. SCP에 관한 연구는 1967년과 1974년 두 차례에 걸쳐 미국 MIT 공과대학에서 개최된 SCP conference를 계기로 이때까지 연구되어온 유용 미생물의 증식, 발효기술과 영양학적인 연구결과가 집대성된 이래로 이의 산업적 생산을 위한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다. 이에 본 연구에서는 생물학적 탄산가스 고정화에 사용되는 *Euglena*를 사료자원으로 이용하기 위해서, 육계와 산란계의 사료에 동결 건조시킨 *Euglena*를 첨가하여 그 이용성과 영향에 대해 알아보 고자 한다.



## 제2절 *Euglena*가 육계의 생산성에 미치는 영향

### 1. 재료 및 방법

- 가. 실험사료: 본 실험에서 사용된 사료의 배합표는 Table 3.1과 3.2에서 보는 바와 같이 사료의 에너지함량과 조단백질함량이 전기 (1-21일)에는 3,150 kcal/kg, 22%, 후기 (22-35일)에는 3,200kcal/kg, 19%가 되도록 하였고, 이를 대조구 사료로 이용하였다. 실험에는 *Euglena gracilis*와 *Euglena bleached*의 두 가지 형태의 *Euglena*를 사용하였다. *Euglena gracilis*는 *Euglena gracilis* Z 균주를 이용하여 CM배지 (Cramer-Myers medium)에서 탄산가스와 빛을 공급하여 배양한다. *Euglena gracilis*는 G. L. (green cell)이라고 표시한다. *Euglena bleached*는 *Euglena gracilis* Z에 *streptomycin*을 이용하여 엽록체를 결손 시킨 변이종이다.
- 나. 실험설계: 갓 부화한 육계병아리 (Loss) 210수 (암, 수 각 105수씩)를 반복당 10수씩 (암, 수 각 5수씩) 3반복으로 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1) 사료에 *Euglena gracilis*를 0.25% (T2), 0.50% (T3), 1.0% (T4) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T5), 1.0% (T6), 2.0% (T7) 첨가한 구의 7 처리구로 하였다.
- 다. 사양실험 및 대사실험: 사양시험은 5주간 실시하였으며 매주 사료섭취량과, 증체량, 사료요구율 및 폐사율을 측정하였다. 사양시험 종료 후 반복당 평균체중에 근접한 닭을 1수씩 선발하여 대사시험에 이용하였다. 대사시험은 3일간의 적응기간을 거친 후 전분채취법으로 3일간 분을 채취하였다. 시험사료와 채취한 분의 일반조성분 및 광물질은 AOAC (1990)에 의해 분석하였다. *Euglena*의 대사에너지가를 측정하기 위하여 TME (True metabolizable energy)와 AME (Apparent metabolizable energy) 시험을 실시하였으며, ME가를 측정하기 위해

서 채취한 분을 1g 정도 취해서 pelleting 한 후 bomb calorimeter (Parr<sup>®</sup>, USA)를 이용하여 측정하였다.

라. 계육내 Taurine 분석: 근육 sample 2 g을 취해서 0.4M perchloric acid 10ml를 첨가하고 균질시킨 후 13,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 상층액을 25ml flask에 넣고 증류수로 mess up 시킨다. 이 용액 2ml을 양이온 교환컬럼을 통과시키고 증류수를 사용하여 5ml로 mess up 시킨 후, Shodex Ionpak C-811 column을 사용해서 HPLC를 통과시켜 1.5ml을 받는다. HPLC를 통과시킨 sample을 OPA와 1:1로 혼합하여 350nm의 Spectrophotometer로 광학밀도 (optical density)값을 구해주고, 미리 구해놓은 Standard curve에 이 OD값을 이용해 측정한다.

마. Fatty acid 분석: 시료 약 0.5g 정도를 취하여 Methanol benzene solution(4:1) 2ml과 acetylchloride 200 $\mu$ l를 첨가한 후 100 $^{\circ}$ C의 Heating block에서 1시간동안 반응시킨다. 다시 상온에서 방치하여 cooling 시키고 Hexane 1ml과 6%의 potassium carbonate 5ml을 넣고 vortexing한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 시키고 Hexane층을 추출하여 DB-FFAP column을 사용하는 Gas chromatography (Varian, USA)로 분석하였다.

바. 통계처리: 실험에서 얻어진 결과는 SAS의 GLM (General Linear Model) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리간의 평균 비교는 Duncan's multiple range test에 의해 실시하였다.

## 2. 결 과

사양시험의 결과는 Table 3.3에서 보는 바와 같다. 증체량은 처리간에 유의한 차이가 없었지만 0.5%의 *Euglena gracilis*와 2.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구들에 개선되는 경향이 있었다. 사료 섭취량은 2.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구와 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구에서 유의하게

( $P < 0.05$ ) 높았다. 사료효율은 *Euglena*를 첨가한 구들이 대조구보다 유의하게 ( $P < 0.05$ ) 좋았다. 폐사율은 처리간에 유의한 차이는 없었지만 *Euglena gracilis*를 0.5% 첨가한 구에서 10%로 가장 높았다.

Table 3.4는 조성분의 이용율을 나타낸다. 단백질의 이용율은 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 *Euglena bleached*를 첨가한 구들보다 높은 경향이 있었고, 지방의 이용율은 다른 처리구들에 비해 대조구가 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ).

계육내 taurine함량은 Figure 3.1에서 보는 바와 같다. 0.5% *Euglena gracilis*를 첨가한 구의 계육의 taurine 함량이 0.25% 혹은 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구보다 높았다. 그러나 *Euglena breached*를 급여한 구는 1.0%구의 계육에서 taurine 함량이 가장 높았으며 다음이 2.0% 급여구였으며 0.5% 급여구는 taurine 함량은 대조구보다도 낮았다.

계육내 지방산의 조성은 Table 3.5에서 보는 바와 같다. Linoleic acid와 Arachidonic acid는 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 처리구에서 유의하게 ( $P < 0.05$ ) 높았다. EPA는 유의한 차이는 없었지만, *Euglena bleached*를 첨가한 구들에서 증가하는 경향을 보였다. DHA는 2.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구에서 유의적으로 가장 높았고, 대조구를 포함한 다른 처리구들에 비해 *Euglena bleached*를 첨가한 구들이 유의적으로 높았다.

Table 3.1 Composition of broiler starter diets (1-21d)

Ingredients	Treatments						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	%						
Corn, ground	55.88	55.88	55.88	55.88	55.88	55.88	55.88
Soybean meal (44% CP)	31.52	31.52	31.52	31.52	31.52	31.52	31.52
Corn gluten meal	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57
Rapeseed meal	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30
Tricalcium phosphate	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70
Fish meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Limestone	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
Animal fat	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Mineral premix <sup>2</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
M. H. A	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Choline chloride	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Total	100	100	100	100	100	100	100
Euglena gracilis (G.L.), %	-	0.25	0.50	1.00	-	-	-
Euglena bleached (B.L.), %	-	-	-	-	0.50	1.00	2.00
Calculated composition							
ME, kcal/kg	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Crude Protein, %	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
Lysine, %	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
Methionine + Cystine, %	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89
Calcium, %	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Phosphorus, %	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Methionine, %	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 25,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1,700mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 16,000mg; Niacin, 34,000mg; Folic acid, 1,000mg; Biotin, 84,000mg; Pantoic acid, 9,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.

Table 3.2 Composition of broiler grower diets (22-35d)

Ingredients	Treatments						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	%						
Corn, ground	65.26	65.26	65.26	65.26	65.26	65.26	65.26
Soybean meal (44% CP)	23.10	23.10	23.10	23.10	23.10	23.10	23.10
Corn gluten meal	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20
Rapeseed meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Tricalcium phosphate	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
Fish meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Limestone	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Animal fat	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Mineral premix <sup>2</sup>	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
M. H. A	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Lysine	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Choline chloride	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Total	100	100	100	100	100	100	100
Euglena gracilis(G.L.), %	-	0.25	0.50	1.00	-	-	-
Euglena bleached (B.L.), %	-	-	-	-	0.50	1.00	2.00
Calculated composition							
ME, kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Crude Protein, %	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
Lysine, %	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
Methionine + Cystine, %	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
Calcium, %	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Phosphorus, %	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
Methionine, %	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 25,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1,700mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 16,000mg; Niacin, 34,000mg; Folic acid, 1,000mg; Biotin, 84,000mg; Pantoic acid, 9,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.

Table 3.3 Weight gain, feed intake, feed/gain and mortality of broiler chickens fed experimental diets

Item	Treatments <sup>1</sup>								SEM <sup>2</sup>
	wk	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	
Weight	0~3	708.15	724.49	740.85	733.08	701.08	716.63	736.93	10.26
gain,	4~5	797.19	755.76	799.56	767.67	763.50	758.33	795.00	8.03
g/bird	0~5	1505.34	1480.24	1540.40	1500.75	1464.58	1474.97	1531.93	15.45
Feed	0~3	1022.46	1042.27	1073.72	1039.80	1005.58	1037.31	1041.87	11.92
intake,	4~5	1529.05 <sup>b</sup>	1500.7 <sup>b</sup>	1574.4 <sup>ab</sup>	1493.77 <sup>b</sup>	1517 <sup>b</sup>	1491.17 <sup>b</sup>	1650.22 <sup>a</sup>	20.35
g/bird	0~5	2584.51	2542.96	2648.08	2533.57	2522.58	2528.47	2692.09	27.59
Feed	0~3	1.49 <sup>a</sup>	1.44 <sup>b</sup>	1.45 <sup>b</sup>	1.42 <sup>b</sup>	1.43 <sup>b</sup>	1.45 <sup>b</sup>	1.41 <sup>b</sup>	0.01
/gain	4~5	1.92	1.99	1.97	1.95	1.99	1.97	2.08	0.02
(g/g)	0~5	1.72	1.72	1.72	1.69	1.72	1.72	1.76	0.01
Mortality,	0~3	3.33	3.33	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00	1.43
%	4~5	0.00	0.00	3.33	0.00	0.00	0.00	3.33	1.17
	0~5	3.33	3.33	10.00	0.00	0.00	0.00	3.33	1.43

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-b</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different( $P<0.05$ )

Table 3.4 The availability of organic matters(OM) and crude ash in broiler chickens

Treatments <sup>1</sup>	DM	Protein	Fat	Fiber	NFE	Ash
	(%)					
T1	79.96	79.80	87.61 <sup>a</sup>	4.13 <sup>bc</sup>	85.67	33.13
T2	78.77	80.86	78.56 <sup>cde</sup>	1.06 <sup>c</sup>	84.72	27.67
T3	78.19	79.83	77.24 <sup>de</sup>	6.43 <sup>b</sup>	84.20	26.67
T4	79.18	79.65	84.34 <sup>ab</sup>	7.09 <sup>b</sup>	85.13	29.17
T5	77.03	71.96	80.01 <sup>bcd</sup>	3.98 <sup>bc</sup>	85.18	34.22
T6	76.38	71.74	73.70 <sup>e</sup>	17.84 <sup>a</sup>	84.33	30.83
T7	77.65	70.52	83.90 <sup>abc</sup>	7.89 <sup>b</sup>	85.86	29.04
SEM <sup>2</sup>	1.22	3.94	1.76	1.62	0.79	2.86

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

“” Values with different superscripts in the same raw are significantly different( $P < 0.05$ )

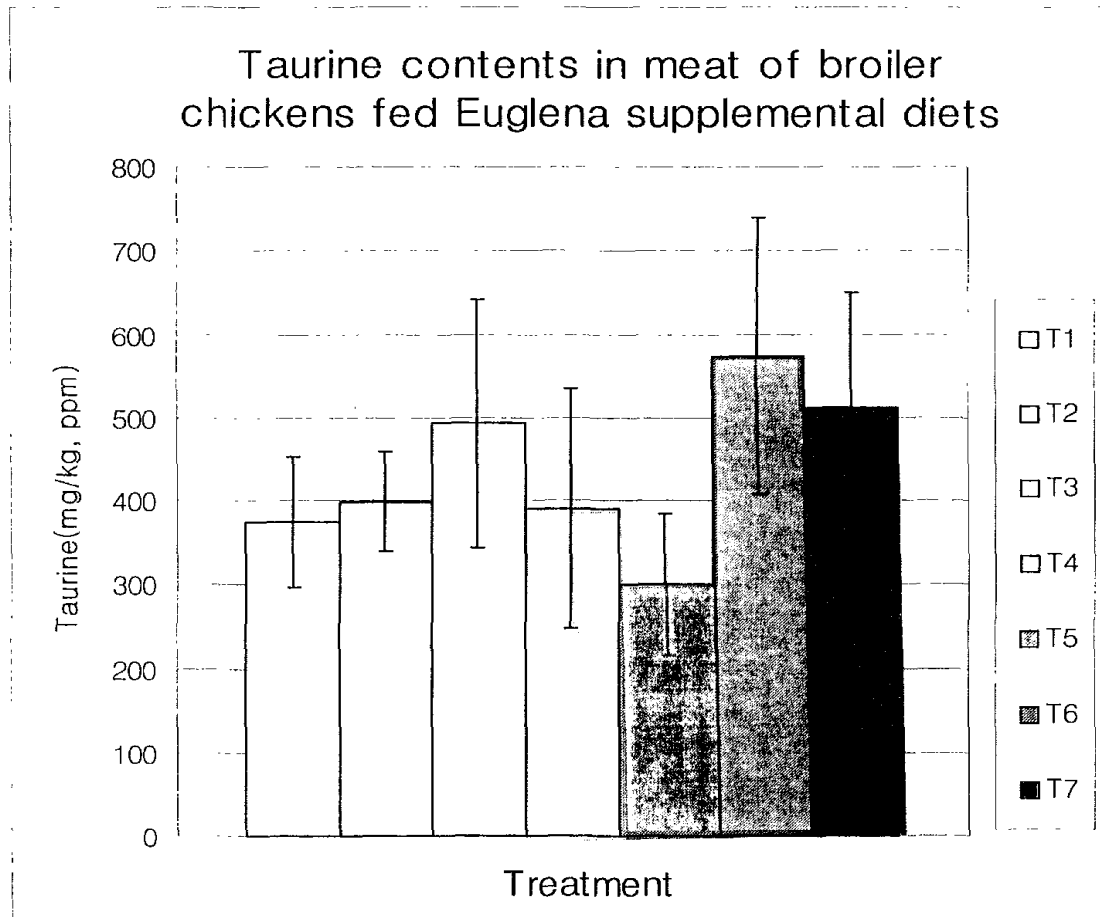


Figure 3.1 Taurine contents in meat of broiler chickens fed Euglena supplemental diets

※ T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%)



Table 3.5 Fatty acids composition of breast muscle from broiler fed experimental diets

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	----- % of total fatty acids-----						
C14:0	0.43	0.56	0.59	0.66	0.65	0.42	0.81
C16:0	25.46	26.07	25.64	26.09	26.36	26.57	26.94
C16:1	2.11	1.99	2.12	2.35	1.71	1.16	1.94
C18:0	15.58	15.93	15.62	14.42	14.78	15.30	15.41
C18:1	17.72	16.83	17.17	16.05	14.77	13.33	13.95
C18:2	20.17 <sup>ab</sup>	21.29 <sup>ab</sup>	19.20 <sup>abc</sup>	21.58 <sup>a</sup>	18.93 <sup>bc</sup>	17.39 <sup>c</sup>	13.41 <sup>d</sup>
C20:1	0.61	0.49	0.61	0.45	0.55	0.35	0.50
C20:2	0.97	1.05	1.16	1.14	1.16	0.83	0.92
C20:3, n-6	2.17 <sup>abc</sup>	2.32 <sup>ab</sup>	2.63 <sup>a</sup>	1.85 <sup>bc</sup>	1.80 <sup>bc</sup>	1.84 <sup>bc</sup>	1.74 <sup>c</sup>
C20:4	9.29 <sup>ab</sup>	7.17 <sup>c</sup>	9.10 <sup>ab</sup>	9.49 <sup>a</sup>	7.11 <sup>c</sup>	7.83 <sup>bc</sup>	5.24 <sup>d</sup>
EPA, n-3	0.94	1.01	0.87	0.91	1.17	1.60	1.74
DHA, n-3	3.66 <sup>c</sup>	4.55 <sup>c</sup>	4.44 <sup>c</sup>	3.76 <sup>c</sup>	9.81 <sup>b</sup>	12.22 <sup>ab</sup>	14.27 <sup>a</sup>
C24:0	0.70 <sup>c</sup>	0.75 <sup>bc</sup>	0.86 <sup>bc</sup>	0.84 <sup>bc</sup>	0.99 <sup>b</sup>	1.33 <sup>a</sup>	1.26 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%)

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 3.6 Fatty acids composition of Euglena

Fatty acids	Euglena gracilis	Euglena bleached
	----- % of total fatty acids -----	
C12:0	2.22	0.98
C13:0	1.68	0.92
C14:0	18.27	3.56
C14:1	- <sup>1</sup>	-
C15:0	0.49	0.27
C15:1	-	-
C16:0	13.04	3.52
C16:1	3.86	0.47
C17:0	-	-
C17:1	9.25	0.53
C18:0	1.37	0.90
C18:1	4.53	1.86
C18:2	9.33	0.84
C18:3, n-6	-	-
C18:3, n-3	18.74	1.31
C20:0	-	0.26
C20:1	-	-
C20:2	1.81	1.69
C20:3, n-6	1.33	-
C20:3, n-3	-	-
C20:4	6.01	5.69
EPA, n-3	5.25	8.45
C21:0	1.44	0.60
C22:0	-	-
C22:1	-	-
C22:2	-	-
DHA, n-3	0.81	45.68
C23:0	-	-
C24:0	0.57	22.47

<sup>1</sup>Trace (<0.001%)

Table 3.7 Apparent metabolizable energy of Euglena, kcal/kg

Treatments	AME Value
Euglena gracilis.	4676.68
Euglena breached	3560.84

Table 3.8 True metabolizable energy of Euglena, kcal/kg

Treatments	TME Value
Euglena gracilis	4578.08
Euglena breached	3840.49

Table 3.9 Chemical composition of Euglena, %

	Euglena gracilis	Euglena breached
Crude protein	46.75	50.25
Crude fat	15.19	12.03
Crude fiber	0.33	0.35
Crude ash	4.96	2.16
Moisture	3.49	3.62

### 제3절 *Euglena*가 산란계의 생산성에 미치는 영향

#### 1. 재료 및 방법

- 가. 실험사료: 본 실험에서 사용된 사료의 배합표는 Table 3.10에서 보는 바와 같이 사료의 에너지함량과 조단백질함량이 2,750 kcal/kg와 17%가 되도록 배합하였으며, 이를 대조구 사료로 이용하였다. 실험에는 *Euglena gracilis*와 *Euglena bleached*의 두가지형태의 *Euglena*를 사용하였다.
- 나. 실험설계 및 사양실험: 32주령의 산란계 280수를 7처리로 나누어 처리당 4반복으로 반복당 10수씩 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena gracilis*를 0.25% (T2), 0.50% (T3), 1.0% (T4) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T5), 1.0% (T6), 2.0% (T7) 첨가한 구의 7처리구로 하였다. 사양실험은 4주간 실시하였다. 시험기간동안 물과 사료는 자유로이 섭취케 하고 정상적인 점등관리를 실시하였다.
- 다. 계란품질검사: 산란율 (hen-day, hen-housed), 평균난중, 연파란율은 매일 측정하여 주별 평균을 계산하였고 사료 섭취량은 주 1회 조사하여 사료 전환율을 산출하였다. 난각 품질검사는 주 1회씩 총 4회에 걸쳐 주중 하루에 생산된 총 계란중 연파란을 제외한 모든 계란을 취하여 실시하였다. 계란의 난중을 측정하고 난각강도를 측정하고, 난각색과 난백고, 난황색을 측정하였다. Haugh unit는 HU formula (Eiscn *et al.*, 1962)에 기초해 측정하고 난백고를 계산하여 산출하였다. 난각강도는 Texture Analyser(Stable micro system., 2000, UK)를 이용해 측정하였고, 난각색은 Color fan(Sam Yang Feed Co.)과 Color quest (Hunter Lab., 1989, USA)를 이용하여 측정하였다. 난백고와 난황색은 Dial indicator (AMES, Waltham, Mass., USA)와 Yolk color fan (Roche., 1989, Switzerland)을 사용하여 측정하였다. 계사내 온도측정은 매일 PM 6:00에 2단 cage높이에서 측정하였다.
- 라. Fatty acid 분석: 시료 약 0.5g 정도를 취하여 Methanol benzene solution (4:1) 2ml과 acetylchloride 200 $\mu$ l를 첨가한 후 100 $^{\circ}$ C의 Heating block에서 1시간동안 반응시킨다. 다시 상온에서 방치하여 cooling 시키고 Hexane 1ml과 6%의 potassium carbonate 5ml을 넣고 vortexing한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 시키고 Hexane층을 추

출하여 DB-FFAP column을 사용하는 Gas chromatography (Varian, USA)로 분석하였다.

마. 통계처리: 실험에서 얻어진 결과는 SAS의 GLM (General Linear Model) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리간의 평균 비교는 Duncan's multiple range test에 의해 실시하였다.

## 2. 결 과

시험기간동안의 일계산란율과 산란지수는 Table 3.11에 나타난 바와 같다. 시험기간 4주간의 결과 유의한 차는 없었지만 일계산란율과 산란지수 모두 T3구가 가장 높았고 Control구가 가장 낮았다. 난중은 시험사료 급여결과 T4처리구가 가장 무거웠으며( $P < 0.05$ ), 대조구가 가장 가벼웠다 ( $P < 0.05$ ). 사료섭취량은 table 3.11에 나타낸 바와 같이 T3처리구가 가장 높았고 ( $P < 0.05$ ), 대조구가 가장 낮았다( $P < 0.05$ ). 대조구에 비해 모든 처리구가 높은 경향을 보였다. 사료 전환율은 유의한 차는 없었지만, 모든 처리구가 대조구에 비해 낮은 경향을 보였고, T6처리구가 가장 낮았다. 사양시험 기간중의 연파란율은 유의한 차는 보이지 않았으나 T6처리구는 시험기간동안 연파란을 생산하지 않았다. 난각색은 Color fan과 Color quest의 색상에서는 모든처리구가 대조구에 비해 유의하게 높았으나 ( $P < 0.05$ ), 색도에서는 T2, T3 그리고 T7처리구가 대조구에 비해 낮은 결과를 보였다. 난황색은 모든 처리구가 대조구에 비해 유의하게 높았으며 ( $P < 0.05$ ), 특히 *Euglena gracilis*를 첨가한 T2, T3, T4 처리구가 높은 경향을 나타냈다. haugh unit는 T7처리구를 제외하고는 모든 처리구가 대조구에 비해 낮은 결과를 보였다 ( $P < 0.05$ ). 난각강도에 대한 결과는 T3와 T6처리구가 유의하게 높았으며( $P < 0.05$ ), T4와 대조구가 유의하게 낮은 결과를 보였다. Table 3.12 ~ 3.15는 난황내의 지방산 조성을 나타낸다. 각 Table에서 보는 바와 같이 2.0% *Euglena bleached* 첨가구의 DHA가 가장 높았으며, 대조구를 포함한 다른 처리구들에 비해 *Euglena bleached* 첨가구들 모두의 DHA가 높았다.

Table 3.10 Composition of layer diets

Ingredients	Treatments						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	%						
Corn	52.26	52.26	52.26	52.26	52.26	52.26	52.26
Soybean meal	11.03	11.03	11.03	11.03	11.03	11.03	11.03
Limestone	8.76	8.76	8.76	8.76	8.76	8.76	8.76
Lupinkernel	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Rice bran	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Corn gluten feed	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Wheat bran	2.52	2.52	2.52	2.52	2.52	2.52	2.52
Rapeseed meal	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Corn germ meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Animal oil meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Fish meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Soybean Oil	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Calphos-18	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Electrolytes	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
Oyster shell	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Salt	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Mineral premix <sup>2</sup>	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Anthelmintic	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Choline chloride	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
M. H. A	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Total	100	100	100	100	100	100	100
Euglena gracilis (G.L.) %	-	0.25	0.50	1.00	-	-	-
Euglena bleached (B.L.) %	-	-	-	-	0.50	1.00	2.00
Calculated composition							
ME, kcal/kg	2750	2750	2750	2750	2750	2750	2750
Crude Protein, %	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Methionine + Cystine, %	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62
Calcium, %	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Phosphorus, %	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Methionine, %	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 15,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1,500mg; vitamin B<sub>2</sub>, 4,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 3,000mg; Niacin, 25,000mg; Folic acid, 500mg; Pantoic acid, 8,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.

Table 3.11 Summary of performance and eggshell quality during experimental period from 1 to 4wks

Item	Treatment <sup>1</sup>							SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	
<b>Performance</b>								
Hen-day egg production, %	82.50	87.24	90.71	87.68	89.91	89.46	86.73	3.61
Hen-housed egg production, %	82.50	86.16	90.71	87.68	89.91	89.46	85.36	3.86
Egg weight, g/hen day	64.30 <sup>d</sup>	66.41 <sup>b</sup>	65.91 <sup>bc</sup>	67.85 <sup>a</sup>	65.59 <sup>bc</sup>	65.71 <sup>bc</sup>	65.31 <sup>c</sup>	0.686
Feed intake, g/day	123.3 <sup>b</sup>	132.2 <sup>a</sup>	136.5 <sup>a</sup>	136.0 <sup>a</sup>	135.4 <sup>a</sup>	131.6 <sup>a</sup>	129.7 <sup>a</sup>	4.43
Feed conversion ratio, g/100g egg mass	2.335	2.292	2.289	2.292	2.303	2.246	2.297	0.074
<b>Eggshell quality</b>								
Haugh unit	80.66 <sup>ab</sup>	77.55 <sup>c</sup>	78.53 <sup>bc</sup>	79.41 <sup>abc</sup>	79.31 <sup>abc</sup>	78.61 <sup>bc</sup>	81.60 <sup>a</sup>	1.58
Eggshell strength, g/Egg	3605.7 <sup>cd</sup>	3811.4 <sup>abc</sup>	3862.8 <sup>ab</sup>	3499.0 <sup>d</sup>	3804.0 <sup>abc</sup>	3886.0 <sup>a</sup>	3633.2 <sup>bcd</sup>	76.68
Broken & soft egg production, %	0.44	0.12	0.19	1.09	1.09	0.00	0.26	0.632
<b>Eggshell color</b>								
Color fan <sup>2</sup>	10.89 <sup>b</sup>	12.00 <sup>a</sup>	11.78 <sup>a</sup>	11.86 <sup>a</sup>	11.83 <sup>a</sup>	11.37 <sup>ab</sup>	11.41 <sup>ab</sup>	0.394
Color tone	14.03 <sup>c</sup>	14.58 <sup>ab</sup>	14.77 <sup>a</sup>	14.65 <sup>ab</sup>	14.64 <sup>ab</sup>	14.59 <sup>ab</sup>	14.22 <sup>bc</sup>	0.294
quest <sup>3</sup> Chromaticity	16.66 <sup>abc</sup>	16.19 <sup>c</sup>	16.28 <sup>bc</sup>	16.84 <sup>a</sup>	16.72 <sup>ab</sup>	16.58 <sup>abc</sup>	16.64 <sup>abc</sup>	0.307
<b>Eggyolk color</b>								
Color fan <sup>4</sup>	7.53 <sup>d</sup>	8.64 <sup>b</sup>	8.64 <sup>b</sup>	9.11 <sup>a</sup>	8.02 <sup>c</sup>	8.42 <sup>b</sup>	8.47 <sup>b</sup>	0.238

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 +Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%), <sup>2</sup>Product of Sam Yang Feed, <sup>3</sup>Hunter Lab, 1989, <sup>4</sup>Product of Roche, 1989,

<sup>a-d</sup>. Values with different superscripts in the same raw are significantly different( $P < 0.05$ )

Table 3.12 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 1st wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	----- % of total fatty acids -----						
C8:0	0.001	0.003	0.002	0.002	0.002	0.001	0.002
C10:0	0.001	0.001	0.001	- <sup>2</sup>	0.001	-	0.001
C11:0	0.001	0.002	0.007	0.005	0.007	0.011	0.007
C12:0	0.005	0.004	0.004	0.003	0.004	0.004	0.004
C13:0	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001
C14:0	0.312	0.346	0.378	0.366	0.358	0.331	0.362
C14:1	0.057	0.064	0.071	0.072	0.068	0.062	0.062
C15:0	0.083	0.090	0.103	0.101	0.090	0.092	0.110
C15:1	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C16:0	30.079 <sup>a</sup>	30.334 <sup>a</sup>	29.996 <sup>a</sup>	29.536 <sup>a</sup>	29.126 <sup>a</sup>	29.523 <sup>a</sup>	28.430 <sup>b</sup>
C16:1	3.204	3.404	3.288	3.386	3.181	3.225	2.939
C17:0	0.259	0.282	0.289	0.270	0.268	0.265	0.318
C17:1	0.168	0.183	0.198	0.194	0.191	0.179	0.208
C18:0	10.268 <sup>a</sup>	10.137 <sup>a</sup>	10.186 <sup>a</sup>	10.141 <sup>a</sup>	10.367 <sup>a</sup>	10.064 <sup>a</sup>	9.707 <sup>b</sup>
C18:1	29.200	29.164	28.261	29.357	29.286	29.187	28.696
C18:2	19.597 <sup>b</sup>	19.280 <sup>b</sup>	19.654 <sup>ab</sup>	19.529 <sup>b</sup>	19.275 <sup>b</sup>	19.548 <sup>b</sup>	20.008 <sup>a</sup>
C18:3, n-6	0.013 <sup>b</sup>	0.091 <sup>ab</sup>	0.168 <sup>a</sup>	0.151 <sup>a</sup>	0.180 <sup>a</sup>	0.163 <sup>a</sup>	0.151 <sup>a</sup>
C18:3, n-3	0.761	0.743	0.831	0.812	1.027	0.798	0.985
C20:0	0.052	0.044	0.050	0.047	0.047	0.022	0.050
C20:1	0.289	0.271	0.301	0.286	0.290	0.284	0.319
C20:2	0.244	0.219	0.252	0.242	0.245	0.262	0.284
C20:3, n-6	0.226	0.207	0.236	0.223	0.218	0.207	0.236
C20:3, n-3	0.006	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.004
C20:4	2.404	2.252	2.544	2.306	2.313	2.127	2.331
EPA, n-3	0.104	0.106	0.123	0.118	0.129	0.118	0.189
C21:0	0.025	0.021	0.025	0.024	0.023	0.027	0.027
C22:0	0.049	0.039	0.050	0.041	0.043	0.046	0.046
C22:1	0.011	0.004	0.016	0.007	0.026	0.009	0.011
C22:2	0.015	0.009	0.007	0.004	0.006	0.004	0.008
DHA, n-3	2.524 <sup>d</sup>	2.659 <sup>d</sup>	2.917 <sup>cd</sup>	2.733 <sup>cd</sup>	3.192 <sup>bc</sup>	3.400 <sup>b</sup>	4.461 <sup>a</sup>
C23:0	0.023	0.020	0.020	0.023	0.020	0.024	0.026
C24:0	0.020	0.016	0.018	0.017	0.014	0.016	0.018

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena (B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena (B.L.2.0%), <sup>2</sup>Trace (<0.001%)

<sup>a-d</sup>. Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )



Table 3.13 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 2nd wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	----- % of total fatty acids -----						
C8:0	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002
C10:0	— <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—
C11:0	0.006	0.003	0.006	0.007	0.003	0.004	0.004
C12:0	0.004	0.004	0.004	0.005	0.004	0.004	0.004
C13:0	0.000	0.001	0.002	0.002	0.000	0.001	0.001
C14:0	0.320 <sup>bc</sup>	0.357 <sup>ab</sup>	0.392 <sup>a</sup>	0.400 <sup>a</sup>	0.312 <sup>bc</sup>	0.342 <sup>abc</sup>	0.292 <sup>c</sup>
C14:1	0.050	0.063	0.074	0.074	0.059	0.061	0.052
C15:0	0.074	0.091	0.105	0.109	0.080	0.101	0.090
C15:1	—	—	—	—	—	—	—
C16:0	29.243	29.725	29.635	29.644	30.074	28.764	25.927
C16:1	2.630	3.012	3.299	3.167	3.063	2.837	3.335
C17:0	0.256	0.278	0.292	0.280	0.247	0.282	0.241
C17:1	0.191	0.181	0.192	0.245	0.171	0.195	0.174
C18:0	10.015 <sup>a</sup>	9.609 <sup>a</sup>	9.629 <sup>a</sup>	9.355 <sup>a</sup>	9.358 <sup>a</sup>	9.222 <sup>a</sup>	8.034 <sup>b</sup>
C18:1	29.370	29.191	28.802	29.086	29.051	28.350	25.666
C18:2	20.686	19.996	19.642	19.805	19.789	20.414	18.121
C18:3, n-6	0.150	0.155	0.146	0.150	0.119	0.121	0.101
C18:3, n-3	0.649	0.694	0.734	0.741	0.635	0.804	0.736
C20:0	0.042	0.043	0.044	0.050	0.036	0.039	0.043
C20:1	0.271	0.272	0.279	0.300	0.221	0.249	0.246
C20:2	0.254	0.222	0.230	0.244	0.202	0.216	0.197
C20:3, n-6	0.211	0.200	0.206	0.207	0.181	0.204	0.179
C20:3, n-3	0.001	0.001	0.002	0.008	0.002	0.001	0.001
C20:4	2.222 <sup>a</sup>	1.984 <sup>a</sup>	2.134 <sup>a</sup>	2.022 <sup>a</sup>	1.721 <sup>b</sup>	1.653 <sup>b</sup>	1.263 <sup>c</sup>
EPA, n-3	0.102	0.102	0.119	0.147	0.108	0.158	0.190
C21:0	0.022	0.026	0.022	0.027	0.017	0.020	0.022
C22:0	0.055	0.048	0.042	0.052	0.027	0.034	0.044
C22:1	0.013	0.001	0.013	0.017	0.005	0.007	0.004
C22:2	—	—	—	—	—	—	—
DHA, n-3	3.113 <sup>c</sup>	3.704 <sup>bc</sup>	3.918 <sup>bc</sup>	3.818 <sup>bc</sup>	4.481 <sup>b</sup>	5.883 <sup>a</sup>	6.000 <sup>a</sup>
C23:0	0.031	0.021	0.019	0.020	0.014	0.017	0.018
C24:0	0.018	0.015	0.016	0.015	0.014	0.015	0.014

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%), <sup>2</sup>Trace (<0.001%)

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 3.14 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 3rd wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	----- % of total fatty acids-----						
C8:0	0.001	0.001	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001
C10:0	<sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-
C11:0	0.003	0.004	0.005	0.001	0.002	0.000	0.000
C12:0	0.003	0.004	0.004	0.004	0.003	0.004	0.004
C13:0	-	-	0.001	0.001	-	-	0.001
C14:0	0.345 <sup>bc</sup>	0.334 <sup>cd</sup>	0.360 <sup>b</sup>	0.385 <sup>a</sup>	0.325 <sup>cde</sup>	0.318 <sup>dc</sup>	0.303 <sup>a</sup>
C14:1	0.056	0.046	0.064	0.068	0.058	0.055	0.053
C15:0	0.090	0.081	0.087	0.094	0.083	0.088	0.091
C15:1	-	-	-	-	-	-	-
C16:0	29.573	28.604	29.160	29.814	29.714	29.069	28.847
C16:1	2.821 <sup>b</sup>	2.358 <sup>d</sup>	2.954 <sup>ab</sup>	3.052 <sup>a</sup>	2.834 <sup>b</sup>	2.787 <sup>bc</sup>	2.648 <sup>c</sup>
C17:0	0.287	0.297	0.267	0.261	0.268	0.252	0.261
C17:1	0.202	0.172	0.179	0.175	0.189	0.192	0.177
C18:0	9.730	10.392	10.450	9.768	9.559	9.539	10.055
C18:1	29.410	29.823	29.452	29.648	28.990	29.279	29.471
C18:2	21.121 <sup>abc</sup>	21.554 <sup>a</sup>	20.855 <sup>bc</sup>	20.571 <sup>c</sup>	21.238 <sup>ab</sup>	21.571 <sup>a</sup>	21.007 <sup>abc</sup>
C18:3, n-6	0.136 <sup>bc</sup>	0.154 <sup>a</sup>	0.140 <sup>b</sup>	0.129 <sup>cd</sup>	0.124 <sup>de</sup>	0.116 <sup>e</sup>	0.104 <sup>f</sup>
C18:3, n-3	0.887 <sup>ab</sup>	0.818 <sup>b</sup>	0.832 <sup>b</sup>	0.838 <sup>b</sup>	0.911 <sup>a</sup>	0.941 <sup>a</sup>	0.953 <sup>a</sup>
C20:0	0.038	0.040	0.039	0.037	0.037	0.037	0.036
C20:1	0.250	0.245	0.238	0.242	0.242	0.234	0.229
C20:2	0.220	0.229	0.232	0.209	0.225	0.210	0.207
C20:3, n-6	0.191	0.208	0.199	0.189	0.195	0.195	0.184
C20:3, n-3	0.003	0.003	0.004	0.004	0.004	0.003	0.004
C20:4	2.201 <sup>b</sup>	2.408 <sup>a</sup>	2.219 <sup>b</sup>	2.155 <sup>b</sup>	1.914 <sup>c</sup>	1.673 <sup>d</sup>	1.363 <sup>e</sup>
EPA, n-3	0.091	0.082	0.084	0.083	0.108	0.137	0.174
C21:0	0.022	0.020	0.023	0.023	0.023	0.025	0.022
C22:0	0.030	0.032	0.033	0.029	0.029	0.033	0.032
C22:1	0.006	0.003	0.008	0.003	0.004	0.008	0.008
C22:2	-	-	-	-	-	-	-
DHA, n-3	2.257 <sup>d</sup>	2.054 <sup>d</sup>	2.079 <sup>d</sup>	2.187 <sup>d</sup>	2.874 <sup>c</sup>	3.208 <sup>b</sup>	3.737 <sup>a</sup>
C23:0	0.016	0.020	0.017	0.015	0.032	0.014	0.015
C24:0	0.011	0.014	0.013	0.011	0.012	0.012	0.012

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%), <sup>2</sup>Trace (<0.001%)

<sup>a-f</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 3.15 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 4th wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	----- % of total fatty acids-----						
C8:0	0.002	0.002	0.001	0.001	0.004	0.001	0.000
C10:0	<sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-
C11:0	0.001	-	-	0.001	-	-	0.001
C12:0	0.004	0.005	0.004	0.004	0.004	0.006	0.004
C13:0	-	0.001	0.001	0.001	-	-	0.001
C14:0	0.312	0.415	0.356	0.398	0.323	0.345	0.306
C14:1	0.046	0.067	0.054	0.064	0.054	0.054	0.049
C15:0	0.077	0.105	0.086	0.094	0.082	0.097	0.094
C15:1	-	-	-	-	-	-	-
C16:0	28.441	27.974	28.705	28.776	28.761	27.594	28.097
C16:1	2.427 <sup>c</sup>	2.626 <sup>abc</sup>	2.573 <sup>abc</sup>	2.796 <sup>a</sup>	2.668 <sup>ab</sup>	2.502 <sup>bc</sup>	2.459 <sup>bc</sup>
C17:0	0.268	0.338	0.275	0.268	0.271	0.300	0.279
C17:1	0.184	0.224	0.161	0.197	0.182	0.210	0.167
C18:0	10.364	9.855	10.127	9.997	9.946	10.185	9.799
C18:1	28.979	28.572	28.317	28.646	28.835	28.331	29.028
C18:2	22.448	21.940	22.967	22.220	21.876	22.172	21.895
C18:3, n-6	0.143	0.170	0.144	0.139	0.131	0.139	0.118
C18:3, n-3	0.950	1.200	1.012	0.999	0.980	1.179	1.030
C20:0	0.043	0.052	0.040	0.045	0.040	0.049	0.045
C20:1	0.271	0.334	0.240	0.263	0.245	0.319	0.291
C20:2	0.254	0.299	0.232	0.243	0.219	0.290	0.238
C20:3, n-6	0.202	0.239	0.193	0.200	0.203	0.235	0.212
C20:3, n-3	0.004	0.007	0.003	0.003	0.003	0.003	0.001
C20:4	2.269	2.707	2.279	2.237	2.012	2.050	1.600
EPA, n-3	0.107	0.120	0.079	0.098	0.101	0.146	0.187
C21:0	0.031	0.034	0.026	0.031	0.023	0.031	0.030
C22:0	0.041	0.044	0.031	0.034	0.029	0.039	0.047
C22:1	0.001	0.001	0.007	0.003	0.004	0.008	0.004
C22:2	-	-	-	-	-	-	-
DHA, n-3	2.100 <sup>d</sup>	2.632 <sup>cd</sup>	2.059 <sup>d</sup>	2.213 <sup>cd</sup>	2.968 <sup>bc</sup>	3.680 <sup>ab</sup>	3.980 <sup>a</sup>
C23:0	0.018	0.020	0.016	0.018	0.023	0.020	0.026
C24:0	0.014	0.016	0.012	0.012	0.012	0.013	0.011

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.25%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T6: T1 + Euglena(B.L.1.0%), T7: T1 + Euglena(B.L.2.0%), <sup>2</sup>Trace (<0.001%)

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

## 제4절 결 론

1. *Euglena* 사료를 사용하여 육계의 생산성을 조사한 결과 증체량은 처리 간에 유의한 차이가 없었지만 0.5%의 *Euglena gracilis*와 2.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구들에 개선되는 경향이 있었다.
2. 육계 사육시 단백질의 이용율은 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 *Euglena bleached*를 첨가한 구들보다 높은 경향이 있었다.
3. 계육내 taurine함량은 0.5% *Euglena gracilis*를 첨가한 구의 계육의 taurine 함량이 0.25% 혹은 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구보다 높았다.
4. 계육내의 DHA 함량은 2.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구에서 유의적으로 가장 높았고, 대조구를 포함한 다른 처리구들에 비해 *Euglena bleached*를 첨가한 구들이 유의적으로 높았다.
5. 산란계 실험에서 일계산란율과 산란지수 모두 T3구 (*Euglena gracilis*를 0.50% 첨가)가 가장 높았고 Control구가 가장 낮았다. 난중은 시험 사료 급여결과 T4처리구 (*Euglena gracilis*를 1% 첨가)가 가장 무거웠으며, 대조구가 가장 가벼웠다.
6. 난황내의 DHA 함량은 2.0% *Euglena bleached* 첨가구에서 가장 높았으며, 대조구를 포함한 다른 처리구들에 비해 *Euglena bleached* 첨가구들 모두의 DHA가 높았다.

## 제 4 장 기능성 사료로서 *Euglena* 가치 평가

### 제1절 서론

오메가지방산 (omega-polyunsaturated fatty acid; n-PUFA)은 지방산을 구성하고 있는 분자의 말단 메틸기로부터 최초 이중결합의 위치를 표시한 것으로 그린란드 에스키모인과 덴마크 백인을 대상으로 실시한 역학조사결과에 의해 수산식품을 주식으로 생활하고 있는 그린란드 에스키모 원주민은 덴마크 백인에 비해 성인병이 거의 없다는 사실을 발표 (Dyerberg *et al.*, 1979)한 이후 오메가 지방산에 대한 관심이 집중되어져 왔다.

산란계의 경우, 사료내 지방산 조성은 계란의 난황과 체조직의 지방산 함량에 많은 영향을 주는 것으로 알려져 있다 (Guenter *et al.*, 1971; Sim *et al.*, 1973; Haung *et al.*, 1990). 특히 Sim (1973) 등은 사료내 급여 지방에서 유래된 Linoleic acid수준이 증가할수록 난황과 조직의 Linoleic acid 함량이 증가한다고 하였다.

따라서, 본 실험에서는 DHA를 강화시킨 *Euglena*를 육계와 산란계의 사료에 첨가해서 그 생산물에 미치는 영향에 대해서 조사하였다.

## 제2절 *Euglena*의 첨가가 계육에 미치는 영향 (육계)

### 1. 재료 및 방법

- 가. 실험사료: 본 실험에서 사용된 사료의 배합표는 Table 4.1과 4.2에서 보는 바와 같이 사료의 에너지함량과 조단백질함량이 전기 (1-21일)에는 3,150 kcal/kg, 22%, 후기 (22-35일)에는 3,200 kcal/kg, 19%가 되도록 하였고, 이를 대조구 사료로 이용하였다. 실험에는 DHA가 강화된 *Euglena gracilis*와 *Euglena bleached*의 두 가지 형태의 *Euglena*를 사용하였다.
- 나. 실험설계: 갓 부화한 육계병아리 (Loss) 250수 (암, 수 각 125수씩)를 반복당 10수씩 (암, 수 각 5수씩) 5반복으로 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena gracilis*를 0.5% (T2), 1.0% (T3) 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 0.5% (T4), 1.0% (T5) 첨가한 구의 5처리구로 하였다.
- 다. 사양실험 및 대사실험: 사양시험은 5주간 실시하였으며 매주 사료섭취량과, 증체량, 사료요구율 및 폐사율을 측정하였다. 사양시험 종료 후 반복당 평균체중에 근접한 닭을 1수씩 선발하여 대사시험에 이용하였다. 대사시험은 3일간의 적응기간을 거친 후 전분채취법으로 3일간 분을 채취하였다. 대사시험 후에 대사시험에 사용한 모든 닭을 도살하여 처리당 5수씩의 닭의 가슴살을 채취하였다. 시험사료와 채취한 분의 일반조성분 및 광물질은 AOAC (1990)에 의해 분석하였다.
- 라. Fatty acid 분석: 시료 약 0.5g 정도를 취하여 Methanol benzene solution(4:1) 2ml과 acetylchloride 200 $\mu$ l를 첨가한 후 100 $^{\circ}$ C의 Heating block에서 1시간동안 반응시킨다. 다시 상온에서 방치하여 cooling 시키고 Hexane 1ml과 6%의 potassium carbonate 5ml을 넣고 vortexing한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 시키고 Hexane층을 추

출하여 DB-FFAP column을 사용하는 Gas chromatography (Varian, USA)로 분석하였다.

마. 통계처리: 실험에서 얻어진 결과는 SAS의 GLM (General Linear Model) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리간의 평균 비교는 Duncan's multiple range test에 의해 실시하였다.

Table 4.1 Composition of broiler starter diets (1-21d)

Ingredients	Treatments				
	T1	T2	T3	T4	T5
	%				
Corn, ground	55.88	55.88	55.88	55.88	55.88
Soybean meal (44% CP)	31.52	31.52	31.52	31.52	31.52
Corn gluten meal	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57
Rapeseed meal	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30
Tricalcium phosphate	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70
Fish meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Limestone	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
Animal fat	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Mineral premix <sup>2</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
M. H. A	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Choline chloride	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Euglena gracilis(G.L.), %	-	0.50	1.00	-	-
Euglena bleached (B.L.), %	-	-	-	0.50	1.00
Calculated composition					
ME, kcal/kg	3150.00	3150.00	3150.00	3150.00	3150.00
Crude Protein, %	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
Lysine, %	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
Methionine + Cystine, %	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89
Calcium, %	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Phosphorus, %	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Methionine, %	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 25,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1,700mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 16,000mg; Niacin, 34,000mg; Folic acid, 1,000mg; Biotin, 84,000mg; Pantoic acid, 9,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.



Table 4.2 Composition of broiler grower diets (22-35d)

Ingredients	Treatments				
	T1	T2	T3	T4	T5
	%				
Corn, ground	65.26	65.26	65.26	65.26	65.26
Soybean meal (44% CP)	23.10	23.10	23.10	23.10	23.10
Corn gluten meal	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20
Rapeseed meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Tricalcium phosphate	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
Fish meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Limestone	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Animal fat	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Mineral premix <sup>2</sup>	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
M. H. A	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Lysine	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Choline chloride	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Euglena gracilis(G.L.), %	-	0.50	1.00	-	-
Euglena bleached (B.L.), %	-	-	-	0.50	1.00
Calculated composition					
ME, kcal/kg	3200.00	3200.00	3200.00	3200.00	3200.00
Crude Protein, %	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
Lysine, %	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
Methionine + Cystine, %	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
Calcium, %	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Phosphorus, %	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
Methionine, %	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 25,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 1,700mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 16,000mg; Niacin, 34,000mg; Folic acid, 1,000mg; Biotin, 84,000mg; Pantoic acid, 9,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.

## 2. 결 과

사양시험의 결과는 Table 4.3에서 보는 바와 같다. 증체량은 처리간에 유의한 차이는 없었지만 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 가장 높았다. 사료섭취량은 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구와 *Euglena bleached*를 첨가한 구에서는 높은 경향이 있었다.

사료효율은 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 대조구보다 유의하게 ( $P<0.05$ ) 좋았다. 폐사율은 처리간에 유의한 차이는 없었지만 *Euglena bleached*를 첨가한 구들이 2.0%로 높았다.

조성분의 이용율은 Table 4.4에서 보는 바와 같다. 단백질의 이용율은 유의한 차이는 없었지만 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 가장 높았고, 지방의 이용율은 1.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구와 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 높은 경향이 있었다. NFE의 이용율은 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 유의적으로 높았다 ( $P<0.05$ ).

Table 4.5는 계육내 지방산의 조성을 나타낸다. Palmitic acid는 유의한 차이는 없었지만 1.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구가 높은 경향이 있었다. Linoleic acid는 대조구가 유의하게 높았다 ( $P<0.05$ ). EPA, DHA와 Lignoceric acid는 모두 1.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구가 유의적으로 가장 높았고, *Euglena*를 첨가한 구들 모두가 대조구보다 높았으며, 그중 *Euglena bleached*를 첨가한 구가 유의적으로 더 높게 나타났다.

Table 4.3 Weight gain, feed intake, feed/gain and mortality of broiler chickens fed experimental diets

	wk	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
		T1	T2	T3	T4	T5	
Weight gain, g/bird	0~3	718.26	710.30	738.08	732.10	732.89	9.08
	4~5	913.70	900.20	928.40	906.96	905.16	18.29
	0~5	1631.96	1610.50	1666.48	1639.06	1638.04	23.15
Feed intake, g/bird	0~3	1018.01	989.06	1029.92	1027.55	1040.76	14.08
	4~5	1649.26	1625.68	1663.28	1670.06	1668.78	25.88
	0~5	2667.27	2614.74	2693.20	2697.61	2709.54	36.34
Feed/gain (g/g)	0~3	1.42	1.39	1.40	1.40	1.42	0.01
	4~5	1.81	1.81	1.79	1.84	1.84	0.01
	0~5	1.64 <sup>ab</sup>	1.62 <sup>b</sup>	1.62 <sup>b</sup>	1.65 <sup>a</sup>	1.65 <sup>a</sup>	0.01
Mortality, %	0~3	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.89
	4~5	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.89
	0~5	0.00	0.00	0.00	2.00	2.00	1.26

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T4: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T5: T1 + Euglena(B.L.1.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a, b</sup>: Values with different superscripts in the same row are significantly different( $P < 0.05$ )

Table 4.4 The availability of organic matters(OM) and crude ash in broiler chickens

Treatments <sup>1</sup>	DM	Protein	Fat	Fiber	NFE	Ash
	----- (%) -----					
T1	81.21	82.86	91.78	8.81	86.88 <sup>ab</sup>	36.81
T2	83.20	84.26	92.74	15.03	88.87 <sup>a</sup>	37.76
T3	79.27	76.88	92.90	9.92	86.06 <sup>b</sup>	29.50
T4	81.20	82.63	92.93	10.12	86.72 <sup>ab</sup>	36.48
T5	78.95	82.01	91.46	10.24	84.97 <sup>b</sup>	33.89
SEM <sup>2</sup>	1.30	2.34	0.62	2.80	0.84	3.18

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T4: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T5: T1 + Euglena(B.L.1.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-b</sup>. Values with different superscripts in the same row are significantly different( $P < 0.05$ )

Table 4.5 Fatty acids composition of breast muscle from broiler fed experimental diets

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
	----- % of total fatty acids -----					
C14:0	2.51	2.63	2.56	2.52	2.46	0.13
C14:1	1.39	1.43	1.24	1.41	1.33	0.14
C16:0	24.57	24.07	24.46	24.52	25.74	0.80
C16:1	0.97	1.53	1.07	0.99	0.95	0.31
C18:0	20.49	18.72	21.33	18.01	18.52	2.92
C18:1	13.39	14.12	12.68	12.09	11.72	0.79
C18:2	19.04 <sup>n</sup>	18.02 <sup>ab</sup>	15.82 <sup>bc</sup>	16.69 <sup>abc</sup>	15.01 <sup>c</sup>	0.80
C20:1	0.44	0.35	0.36	0.32	0.30	0.05
C20:2	1.06	1.00	0.53	1.22	1.14	0.19
C20:3, n-6	1.67	1.66	1.72	1.77	1.52	0.17
C20:4	11.12	9.63	8.95	9.18	6.72	0.96
EPA, n-3	0.60 <sup>c</sup>	0.76 <sup>bc</sup>	1.23 <sup>ab</sup>	1.41 <sup>a</sup>	1.61 <sup>a</sup>	0.17
C24:0	0.72 <sup>c</sup>	0.82 <sup>bc</sup>	0.91 <sup>bc</sup>	1.28 <sup>ab</sup>	1.45 <sup>a</sup>	0.15
DHA, n-3	2.04 <sup>c</sup>	5.28 <sup>b</sup>	7.16 <sup>b</sup>	8.60 <sup>ab</sup>	11.54 <sup>a</sup>	1.02

<sup>1</sup>T1: Control (CP starter:22.0%, finisher:19%), T2: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T4: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T5: T1 + Euglena(B.L.1.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-c</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 4.6 Fatty acids composition of *Euglena* (in rich DHA)

Fatty acids	<i>Euglena gracilis</i>
	----- % of total fatty acids -----
C12:0	3.43
C13:0	14.24
C14:0	24.80
C14:1	0.26
C15:0	5.57
C15:1	<sup>1</sup>
C16:0	8.77
C16:1	2.68
C17:0	1.49
C17:1	0.87
C18:0	2.13
C18:1	4.27
C18:2	4.20
C18:3, n-6	-
C18:3, n-3	1.39
C20:0	-
C20:1	-
C20:2	0.60
C20:3, n-6	0.98
C20:3, n-3	-
C20:4	1.52
EPA, n-3	3.96
C21:0	0.20
C22:0	-
C22:1	-
C22:2	-
DHA, n-3	17.00
C23:0	-
C24:0	1.63

<sup>1</sup>Trace (<0.001%)

### 제3절 *Euglena*의 첨가가 계란에 미치는 영향 (산란계)

#### 1. 재료 및 방법

가. 실험사료: 본 실험에서 사용된 사료의 배합표는 Table 4.7에서 보는 바와 같이 사료의 에너지함량과 조단백질함량이 2,750 kcal/kg와 17%가 되도록 배합하였으며, 이를 대조구 사료로 이용하였다. 실험에는 *Euglena gracilis*와 *Euglena bleached*의 두가지형태의 *Euglena*를 사용하였다.

나. 실험설계 및 사양실험: 84주령의 산란계 300수를 5처리로 나누어 처리당 5반복으로 반복당 12수씩 배치하였다. 처리구는 대조구 (T1)사료에 *Euglena bleached*를 0.5% (T2)첨가한 구와 *Euglena gracilis*를 0.5% (T3), 1.0% (T4), 2.0% (T5) 첨가한 구의 5처리구로 하였다. 사양시험은 4주간 실시하였다. 시험기간동안 물과 사료는 자유로이 섭취케 하고 정상적인 점등관리를 실시하였다.

다. 계란품질검사: 산란율 (hen-day, hen-housed), 평균난중, 연파란율은 매일 측정하여 주별 평균을 계산하였고 사료 섭취량은 주 1회 조사하여 사료 전환율을 산출하였다. 난각 품질검사는 주 1회씩 총 4회에 걸쳐 주중 하루에 생산된 총 계란중 연파란을 제외한 모든 계란을 취하여 실시하였다. 계란의 난중을 측정한 다음 난각강도를 측정하고, 난백고와 난황색을 측정하였다. Haugh unit는 HU formula (Eiscn *et al.*, 1962)에 기초해 측정한 난백고를 계산하여 산출하였다. 난각강도는 Texture Analyser(Stable micro system., 2000, UK)를 이용해 측정하였고, 난백고와 난황색은 Dial indicator (AMES, Waltham, Mass., USA)와 Yolk color fan (Roche., 1989, Switzerland)을 사용하여 측정하였다. 품질검사 후 난황을 분리하여, 동결건조 시킨 후 지방산 분석의 시료로 사용하였다. 계사내 온도측정은 매일 PM 6:00

에 2단 cage높이에서 측정하였다.

라. Fatty acid 분석: 시료 약 0.2g 정도를 취하여 Methanol benzene solution(4:1) 2ml과 acetylchloride 200 $\mu$ l를 첨가한 후 100 $^{\circ}$ C 의 Heating block에서 1시간동안 반응시킨다. 다시 상온에서 방치하여 cooling 시키고 Hexane 1ml과 6%의 potassium carbonate 5ml을 넣고 vortexing한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 시키고 Hexane층을 추출하여 DB-FFAP column을 사용하는 Gas chromatography (Varian, USA)로 분석하였다.

마. 통계처리: 실험에서 얻어진 결과는 SAS의 GLM (General Linear Model) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리간의 평균 비교는 Duncan's multiple range test에 의해 실시하였다.



Table 4.7 Composition of layer diets

Ingredients	Treatments				
	T1	T2	T3	T4	T5
	%				
Corn	52.26	52.26	52.26	52.26	52.26
Soybean meal	11.03	11.03	11.03	11.03	11.03
Limestone	8.76	8.76	8.76	8.76	8.76
Lupinkernel	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Rice bran	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Corn gluten feed	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Wheat bran	2.52	2.52	2.52	2.52	2.52
Rapeseed meal	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Corn germ meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Animal oil meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Fish meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Soybean Oil	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Calphos-18	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Electrolytes	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
Oyster shell	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Salt	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Mineral premix <sup>2</sup>	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Anthelmintic	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Choline chloride	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
M. H. A	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Euglena gracilis(G.L.), %	-	-	0.50	1.00	2.00
Euglena bleached(B.L.), %	-	0.50	-	-	-
Calculated composition					
ME, kcal/kg	2750	2750	2750	2750	2750
Crude Protein, %	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Methionine + Cystine, %	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62
Calcium, %	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Phosphorus, %	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Methionine, %	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38

<sup>1</sup>Vitamin premix contains the followings per kg : vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500,000 IU; vitamin E, 15,000mg; vitamin K<sub>3</sub>, 2,000mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1,500mg; vitamin B<sub>2</sub>, 4,000mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3,000mg; vitamin B<sub>12</sub>, 3,000mg; Niacin, 25,000mg; Folic acid, 500mg; Pantoic acid, 8,000mg

<sup>2</sup>Mineral premix contains the followings per kg : Zn, 75,000mg; Mn, 75,000mg; Fe, 75,000mg; Cu, 7,500mg; I, 1,650mg; Co, 450mg; Se, 450mg; S, 12.5%.

## 2. 결 과

시험기간동안의 일계산란율과 산란지수는 Table 4.8에 나타난 바와 같다. 시험기간 4주간의 결과 유의한 차는 없었지만 일계산란율과 산란지수 모두 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 가장 높았고, 대조구가 가장 낮았다. 난중은 시험사료 급여결과 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한구가 유의적으로 가장 무거웠으며( $P<0.05$ ), 대조구를 포함한 다른 처리구들에 비해 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 무거웠다. 사료섭취량은 2.0%의 *Euglena gracilis* 첨가구가 가장 높았고 ( $P<0.05$ ), 대조구가 가장 낮았으며, 대조구를 포함한 다른 처리구에 비해 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 높은 경향을 보였다. 사료 전환율은 유의한 차는 없었지만, 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 가장 낮았다.

Hugh unit은 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 유의적으로 가장 높았다. 사양시험 기간동안의 난황색은 유의한 차는 없었지만, 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 가장 높았다.

Table 4.9 ~ 4.12는 난황내의 지방산 조성을 나타낸다. 각 Table에서 보는 바와 같이 2.0% *Euglena gracilis* 첨가구의 Myristic acid, Myristoleic acid와 Pentadecanoic acid가 4주간 모두 유의적으로 ( $P<0.05$ ) 가장 높았다. Table 4에서 보는 바와 같이 Palmitic acid는 2주에 2.0%의 *Euglena gracilis* 첨가구가 유의적으로 가장 높았으며, 다른 주에도 유의한 차는 없었지만 이와 같은 경향이 나타났다. Linoleic acid는 Table 4.9과 4.10에 나타난 바와 같이 1, 2주에 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 유의적으로 가장 높았다. DHA는 4주동안 모두 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 유의적으로 가장 높았으며, *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 대조구에 비해 유의하게 높은 경향을 보였다.

Table 4.8 Summary of performance and eggshell quality during experimental period from 1 to 4wks

Item	Treatment <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
<b>Performance</b>						
Hen-day egg production, %	60.16	63.10	61.31	61.10	62.80	1.67
Hen-housed egg production, %	58.81	63.10	61.31	60.12	62.80	1.67
Egg weight, g/hen day	66.40 <sup>c</sup>	67.46 <sup>bc</sup>	69.05 <sup>a</sup>	68.46 <sup>ab</sup>	68.95 <sup>a</sup>	0.46
Feed intake, g/day	104.55 <sup>c</sup>	109.19 <sup>b</sup>	110.51 <sup>b</sup>	114.84 <sup>a</sup>	116.70 <sup>a</sup>	1.54
Feed conversion ratio, g/100g egg mass	2.64	2.58	2.64	2.80	2.73	0.07
<b>Eggshell quality</b>						
Haugh unit	74.17 <sup>a</sup>	74.18 <sup>a</sup>	73.32 <sup>ab</sup>	71.92 <sup>b</sup>	73.79 <sup>a</sup>	0.57
Eggshell strength, g/Egg	3007.60	3017.20	3177.6	2982.7	2936.8	94.41
Broken & soft egg production, %	2.93	3.49	1.28	3.84	2.54	0.75
Eggyolk color	7.52	8.00	7.49	7.51	7.91	0.20
Color fan <sup>3</sup>						

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T3: T1 +Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(G.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean, <sup>3</sup>Product of Roche, 1989

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same raw are significantly different( $P < 0.05$ )

Table 4.9 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 1st wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
	----- % of total fatty acids -----					
C14:0	0.396 <sup>a</sup>	0.373 <sup>b</sup>	0.394 <sup>b</sup>	0.398 <sup>b</sup>	0.433 <sup>b</sup>	0.007
C14:1	0.062 <sup>c</sup>	0.059 <sup>cd</sup>	0.055 <sup>d</sup>	0.069 <sup>b</sup>	0.077 <sup>a</sup>	1.065
C15:0	0.059 <sup>b</sup>	0.061 <sup>b</sup>	0.071 <sup>b</sup>	0.070 <sup>b</sup>	0.133 <sup>a</sup>	0.009
C16:0	26.767	26.358	26.178	27.001	27.288	0.225
C16:1	4.025	2.610	2.566	3.372	3.687	0.668
C17:0	0.141	0.259	0.269	0.276	0.314	0.041
C17:1	0.100	0.208	0.193	0.219	0.237	0.036
C18:0	10.917 <sup>b</sup>	10.406 <sup>c</sup>	11.304 <sup>a</sup>	10.477 <sup>c</sup>	10.314 <sup>c</sup>	0.085
C18:1	34.776	35.043	35.001	35.759	35.002	0.572
C18:2	15.858 <sup>b</sup>	15.558 <sup>bc</sup>	16.598 <sup>a</sup>	14.659 <sup>d</sup>	15.168 <sup>cd</sup>	0.158
C18:3, n-6	0.156 <sup>a</sup>	0.129 <sup>b</sup>	0.157 <sup>a</sup>	0.127 <sup>b</sup>	0.127 <sup>b</sup>	0.004
C18:3, n-3	0.213	0.332	0.300	0.309	0.336	0.030
C20:1	0.263	0.270	0.268	0.298	0.284	0.008
C20:2	0.149	0.186	0.092	0.223	0.326	0.050
C20:3, n-6	0.342	0.284	0.399	0.302	0.385	0.032
C20:4	4.074 <sup>ab</sup>	3.570 <sup>c</sup>	4.189 <sup>a</sup>	3.822 <sup>bc</sup>	3.802 <sup>bc</sup>	0.080
EPA, n-3	0.044	0.123	0.061	0.054	0.074	0.031
DHA, n-3	1.604 <sup>b</sup>	4.100 <sup>a</sup>	1.865 <sup>b</sup>	2.469 <sup>b</sup>	1.966 <sup>b</sup>	0.318
C24:0	0.054	0.070	0.041	0.096	0.048	0.019

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(G.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-d</sup>. Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 4.10 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 2nd wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
	----- % of total fatty acids -----					
C14:0	0.398 <sup>c</sup>	0.371 <sup>d</sup>	0.403 <sup>c</sup>	0.424 <sup>b</sup>	0.446 <sup>a</sup>	0.005
C14:1	0.053 <sup>c</sup>	0.059 <sup>bc</sup>	0.063 <sup>bc</sup>	0.071 <sup>ab</sup>	0.080 <sup>a</sup>	0.003
C15:0	0.060 <sup>d</sup>	0.066 <sup>d</sup>	0.085 <sup>c</sup>	0.107 <sup>b</sup>	0.138 <sup>a</sup>	0.005
C16:0	26.940 <sup>bc</sup>	26.485 <sup>d</sup>	26.855 <sup>c</sup>	27.190 <sup>b</sup>	27.813 <sup>a</sup>	0.086
C16:1	2.663	2.634	2.701	2.851	3.775	0.336
C17:0	0.244 <sup>d</sup>	0.254 <sup>d</sup>	0.283 <sup>c</sup>	0.300 <sup>b</sup>	0.324 <sup>a</sup>	0.004
C17:1	0.186	0.209	0.237	0.234	0.252	0.018
C18:0	11.386 <sup>a</sup>	10.268 <sup>c</sup>	10.956 <sup>b</sup>	10.497 <sup>c</sup>	10.440 <sup>c</sup>	0.064
C18:1	34.893	34.048	34.538	34.966	34.626	0.164
C18:2	15.996 <sup>b</sup>	16.108 <sup>b</sup>	16.826 <sup>a</sup>	16.132 <sup>b</sup>	15.188 <sup>c</sup>	0.069
C18:3, n-6	0.154 <sup>a</sup>	0.128 <sup>c</sup>	0.150 <sup>ab</sup>	0.135 <sup>bc</sup>	0.142 <sup>abc</sup>	0.005
C18:3, n-3	0.265 <sup>b</sup>	0.354 <sup>a</sup>	0.327 <sup>a</sup>	0.364 <sup>a</sup>	0.315 <sup>ab</sup>	0.014
C20:1	0.222	0.253	0.275	0.292	0.278	0.036
C20:2	0.168	0.161	0.195	0.157	0.142	0.014
C20:3, n-6	0.373	0.294	0.268	0.278	0.292	0.036
C20:4	4.293	3.396	3.908	3.813	3.659	0.020
EPA, n-3	0.071 <sup>b</sup>	0.103 <sup>a</sup>	0.058 <sup>b</sup>	0.065 <sup>b</sup>	0.055 <sup>b</sup>	0.004
DHA, n-3	1.590 <sup>d</sup>	4.746 <sup>a</sup>	1.820 <sup>cd</sup>	2.077 <sup>b</sup>	1.988 <sup>bc</sup>	0.064
C24:0	0.047	0.063	0.052	0.045	0.047	0.009

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(G.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 4.11 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 3rd wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
----- % of total fatty acids -----						
C14:0	0.368 <sup>c</sup>	0.358 <sup>c</sup>	0.399 <sup>b</sup>	0.395 <sup>b</sup>	0.423 <sup>a</sup>	0.004
C14:1	0.053 <sup>c</sup>	0.063 <sup>b</sup>	0.063 <sup>b</sup>	0.066 <sup>b</sup>	0.075 <sup>a</sup>	1.562
C15:0	0.058 <sup>d</sup>	0.066 <sup>cd</sup>	0.073 <sup>c</sup>	0.104 <sup>b</sup>	0.131 <sup>a</sup>	0.003
C16:0	26.260	26.260	26.855	27.027	26.739	0.267
C16:1	2.552 <sup>c</sup>	2.667 <sup>b</sup>	2.768 <sup>a</sup>	2.780 <sup>a</sup>	2.796 <sup>a</sup>	0.252
C17:0	0.518	0.342	0.731	0.866	0.831	0.390
C17:1	0.240	0.195	0.353	0.338	0.312	0.082
C18:0	10.723 <sup>ab</sup>	10.212 <sup>c</sup>	10.955 <sup>a</sup>	10.587 <sup>b</sup>	10.564 <sup>b</sup>	0.096
C18:1	34.406	33.845	34.802	34.407	33.662	0.214
C18:2	16.731 <sup>a</sup>	15.877 <sup>b</sup>	15.964 <sup>b</sup>	15.889 <sup>b</sup>	15.253 <sup>c</sup>	0.149
C18:3, n-6	0.163	0.134	0.149	0.131	0.144	0.004
C18:3, n-3	0.279	0.337	0.307	0.316	0.297	0.016
C20:1	0.335	0.192	0.250	0.309	0.260	0.044
C20:2	0.150	0.192	0.175	0.407	0.313	0.093
C20:3, n-6	0.397	0.318	0.402	0.455	0.414	0.065
C20:4	4.183	3.345	3.836	3.731	3.919	0.165
EPA, n-3	0.814	0.385	0.149	0.356	1.647	0.305
DHA, n-3	1.723 <sup>b</sup>	5.138 <sup>a</sup>	1.733 <sup>b</sup>	1.785 <sup>b</sup>	2.170 <sup>b</sup>	0.128
C24:0	0.047	0.075	0.037	0.049	0.050	0.007

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(G.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a, d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

Table 4.12 Fatty acids composition of egg yolk from layers fed experimental diets, 4th wks

Fatty acids	Treatments <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>
	T1	T2	T3	T4	T5	
----- % of total fatty acids -----						
C14:0	0.374 <sup>c</sup>	0.349 <sup>d</sup>	0.402 <sup>b</sup>	0.400 <sup>b</sup>	0.453 <sup>a</sup>	0.006
C14:1	0.054 <sup>bc</sup>	0.049 <sup>c</sup>	0.062 <sup>b</sup>	0.061 <sup>b</sup>	0.076 <sup>a</sup>	0.003
C15:0	0.062 <sup>d</sup>	0.068 <sup>d</sup>	0.095 <sup>c</sup>	0.123 <sup>b</sup>	0.184 <sup>a</sup>	0.004
C16:0	26.209	26.282	26.880	26.575	27.280	0.234
C16:1	2.481 <sup>c</sup>	2.413 <sup>c</sup>	2.660 <sup>b</sup>	2.655 <sup>b</sup>	2.797 <sup>a</sup>	0.026
C17:0	0.293 <sup>bc</sup>	0.279 <sup>c</sup>	0.306 <sup>bc</sup>	0.334 <sup>bc</sup>	0.401 <sup>a</sup>	0.013
C17:1	0.203 <sup>bc</sup>	0.178 <sup>c</sup>	0.228 <sup>bc</sup>	0.262 <sup>b</sup>	0.355 <sup>a</sup>	0.016
C18:0	11.277	10.575	10.700	10.666	10.325	0.051
C18:1	35.084 <sup>bc</sup>	34.694 <sup>c</sup>	35.373 <sup>bc</sup>	36.994 <sup>a</sup>	36.079 <sup>ab</sup>	0.292
C18:2	16.018	15.405	16.244	14.441	14.012	0.049
C18:3, n-6	0.157	0.128	0.150	0.150	0.118	0.016
C18:3, n-3	0.272	0.320	0.242	0.293	0.282	0.033
C20:1	0.321	0.265	0.265	0.286	0.281	0.021
C20:2	0.348	0.193	0.159	0.232	0.204	0.105
C20:3, n-6	0.541	0.228	0.325	0.328	0.325	0.101
C20:4	4.345 <sup>a</sup>	3.313 <sup>c</sup>	3.863 <sup>b</sup>	3.712 <sup>b</sup>	3.690 <sup>b</sup>	0.093
EPA, n-3	0.342	0.282	0.154	0.327	0.401	0.097
DHA, n-3	1.559 <sup>d</sup>	4.892 <sup>cd</sup>	1.855 <sup>c</sup>	2.103 <sup>b</sup>	2.689 <sup>a</sup>	0.084
C24:0	0.059	0.086	0.035	0.058	0.050	0.006

<sup>1</sup>T1: Control (CP 17.0%), T2: T1 + Euglena(B.L.0.5%), T3: T1 + Euglena(G.L.0.5%), T4: T1 + Euglena(G.L.1.0%), T5: T1 + Euglena(G.L.2.0%)

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>a-d</sup> Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

## 제4절 결론

1. 기능성 사료로써 *Euglena*의 첨가가 육계의 계육에 미치는 영향을 조사해 본 결과, 증체량은 처리간에 유의한 차이는 없었지만 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 가장 높았다. 그리고 사료효율은 *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 대조구보다 유의하게 좋았다.
2. 단백질의 이용율은 유의한 차이는 없었지만 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 가장 높았고, 지방의 이용율은 1.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구와 1.0%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 높은 경향이 있었다. NFE의 이용율은 0.5%의 *Euglena gracilis*를 첨가한 구가 유의적으로 높았다
3. 계육내의 EPA, DHA와 Lignoceric acid는 모두 1.0%의 *Euglena bleached*를 첨가한 구가 유의적으로 가장 높았고, *Euglena*를 첨가한 구들 모두가 대조구보다 높았으며, 그중 *Euglena bleached*를 첨가한 구가 유의적으로 더 높게 나타났다.
4. 난황내의 지방산 조성은 2.0% *Euglena gracilis* 첨가구의 Myristic acid, Myristoleic acid와 Pentadecanoic acid가 4주간 모두 유의적으로 가장 높았다. Palmitic acid는 2주에 2.0%의 *Euglena gracilis* 첨가구가 유의적으로 가장 높았다. Linoleic acid는 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 유의적으로 가장 높았다.
5. DHA는 4주동안 모두 0.5%의 *Euglena bleached* 첨가구가 유의적으로 가장 높았으며, *Euglena gracilis*를 첨가한 구들이 대조구에 비해 유의하게 높은 경향을 보였다.



# 제 5 장 *Euglena* 사료 및 생산 시설의 경제성 평가 분야

## 제1절 서 론

본 연구에서 *Euglena* 사료 생산의 경제성 평가를 통하여 투자안에 대한 타당성을 검토하고자 한다. 투자안의 경제성을 분석하기 위해 먼저 비용 및 예상되는 편익 항목을 조사하였다. 구 비용 및 편익 항목을 바탕으로 현금흐름을 산출하여 투자안이 가지고 있는 경제적 가치를 순현재가치 (NPV), 내부수익률 (IRR) 부분으로 나누어 평가하였다. 이 과정에서 현재 통상적인 할인율인 5%를 적용하여 평가하였으며, 각 변수들의 불확실성으로 인해 할인율, 매출, 이윤 등의 항목에 대해서는 민감도 분석을 수행하였다.

## 제2절 경제성 평가 원리 및 방법

### 1. 기존 사료의 품질 분석

*Euglena* 사료의 판매 가격을 결정하고 생산 시설의 경제성을 평가하기 위해서는 우선 시중에서 판매되고 있는 사료의 품질과 가격을 조사하여 비교 평가 자료로 활용하였다. 다음 Table 5.1에는 시중에서 유통되는 대표적인 닭 사료를 선정하여 사료 종류별로 조성과 가격을 나타내었다. 그리고 Table 5.2에는 본 연구에서 사용한 *Euglena* 사료의 품질을 나타내었는데, 기존의 사료보다 조단백, 조지방 함량이 월등히 높고, 조섬유 및 조회분은 상대적으로 매우 낮아 우수한 사료로서의 품질을 가지고 있다. 또한 *Euglena*는 DHA를

포함하고 있어 닭이 먹이로 섭취할 경우 DHA가 계육과 난황에 전이되는 것으로 사양 실험 결과 밝혀졌다.

Table 5.1 닭 사료 품질 및 가격

제 조 사	S 사료		
	육계후기	산란 16	산란 18
사 료 명			
조단백	16.0 % 이상	14.5 % 이상	16.0 % 이상
조지방	2.5 % 이상	2.5 % 이상	2.5 % 이상
조섬유	5.5 % 이하	6.0 % 이하	6.0 % 이하
조회분	9.0 % 이하	17.5 % 이하	17.5 % 이하
Ca	0.6 % 이상	3.0 % 이상	3.0 % 이상
P	0.3 % 이상	0.4 % 이상	0.4 % 이상
Met. + Cys. (메티오닌 + 시스틴)	0.6 % 이상	0.5 % 이상	0.5 % 이상
MEn	2970 kcal/kg	2600 kcal/kg	2600 kcal/kg
(대사에너지가)	이상	이상	이상
소비자 가격 (원/kg)	236	212	224

Table 5.2 *Euglena* 사료의 품질

	<i>Euglena gracilis</i>	<i>Euglena breached</i>
Crude protein	46.75 %	50.25 %
Crude fat	15.19 %	12.03 %
Crude fiber	0.33 %	0.35 %
Crude ash	4.96 %	2.16 %
Moisture	3.49 %	3.62 %
DHA, n-3 of total fatty acids	0.81 %	45.68
AME value	4676.68 kcal/kg	3560.84 kcal/kg
TME Value	4578.08 kcal/kg	3840.49 kcal/kg

## 2. 경제성 평가의 과정

본 연구에서는 다음과 같은 과정을 거쳐서 *Euglena* 사료 및 생산 시설의 경제성을 평가하였다. 전체 과정에 대한 모식도를 Figure 5.1에 나타내었다.

가. 경제성 분석을 위한 Cash flow estimation:

- 평가의 목표와 범위 지정
- 초기 투자비 (시설비) 산출
- 운영비 (원료비, 가동비, 인건비, 유지비, 환경비용 등) 산출
- 수익 (사료판매비) 산출

나. *Euglena* 사료의 제품화 경제성 검토:

- NPV, IRR의 평가지표 이용
- 손익분기점의 계산

다. 각 변수의 불확실성에 따른 민감도 분석

## 3. 경제성 평가 기준

가. 평가 범위는 시작년도부터 10년으로 함.

나. 편익과 비용항목은 경제성 타당성 분석에서 제시된 항목을 준용함.

다. 개략 경제성 분석에서는 통상할인을 5%를 적용하여 평가한다.

라. 감가상각비용은 정액법을 적용함.

마. 모든 설비의 내용년수는 10년으로 가정함.

바. 비용항목: 시설비용, 재료비, 인건비

사. 편익항목: 사료판매로 인한 수익발생, 성장하는 과정에서의 이산화탄소 제거

아. 민감도 분석항목: 수요, 할인율, 이윤 변화

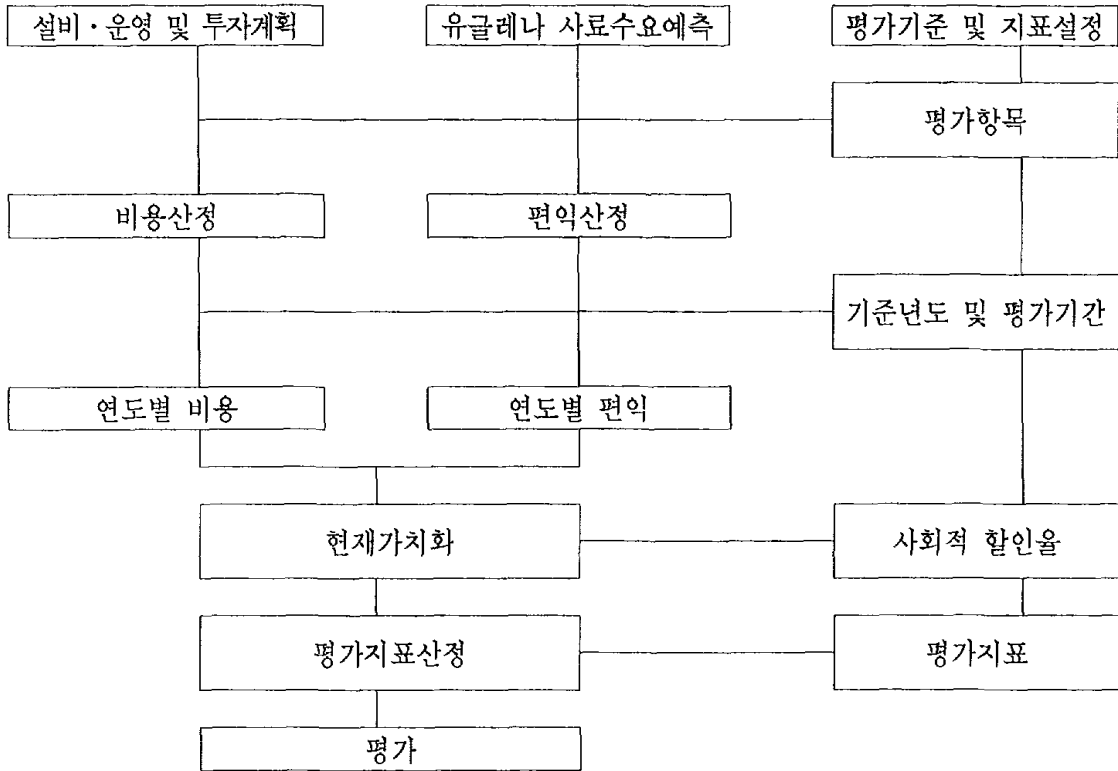


Figure 5.1 경제성 평가 과정 모식도

#### 4. 분석 방법

가. 순현재가치평가 (NPV)에 의한 경제성 분석: 현금흐름은 다음과 같은 공식을 이용하여 구한다.

$$CF_0 = -I_0 + ITC + S_0 - (S_0 - B_0)t - \Delta WC$$

$$CF_{1\sim 9} = (\Delta R - \Delta C)(1-t) + D \cdot t$$

$$CF_{10} = ((\Delta R - \Delta C)(1-t) + \Delta D \cdot t) + S_n - (S_n - B_n)t + \Delta WC$$

CF<sub>0~10</sub> : 0~10년 사이의 각각의 현금흐름

$I_0$ : 시설의 최초 비용	ITC : 세액공제(생략)
$S_0$ : 현재 시설의 처분가치(생략)	$B_0$ : 현재 시설의 장부가치(생략)
$t$ : 세율	WC : 운전자본(생략)
$R$ : 연간 수익	$C$ : 비용
$D$ : 감가상각비	

위의 경우 세액공제는 감안하지 않았으며, 시설의 현재가치와 장부가치는 새시설인 것으로 가정하여 감안하지 않았다. 감가상각은 10년 수명의 시설기준으로 정액법을 사용하였으며, 따라서  $S_n$ ,  $B_n$  역시 감안하지 않는다. 이에 따라, 위의 현금흐름의 경우 다음의 식을 거쳐 구하였다

$$CF_0 = -I_0, CF_{1-10} = (\Delta R - \Delta C)(1-t) + D \cdot t .$$

### 제3절 경제성 평가 결과

#### 1. 사료 생산비용 산정

*Euglane* 사료 생산에 필요한 비용 항목 (Table 5.3 참조)은 크게 Table 5.4와 같이 고정비용 부분에 해당되는 설비비와 Table 5.5와 같은 가변비용 부분에 해당되는 전기세, 인건비, 연료비 등의 운영비로 나누었다. 이 때 인건비는 시간당 3,000원으로 한다. 전기세의 경우 생산에 필요한 전력만을 계산하였다. 그리고, 산업용(갑), 선택(1), 고압(A)를 택하였으며, 요금적용전력은 2kw라고 가정하였다. 그 결과 1개월에 5 kg의 SCP를 생산할 수 있는 시설의 초기 투자비는 37,550,000원이고, 이 시설을 운영하는 데 필요한 비용은 9,140,300원으로 계산되었다.

Table 5.3 단계별 비용 항목

단계별	비용 항목
설 치	설비구입비용, 대여비용
운 영	전기세, 인건비, 연료비 등

Table 5.4 설치비용 (고정비용)

구분	단위비용(원)	단위수	금액(원)
총계			37,550,000
보일러	1,300,000	1	1,300,000
유글레나 배양장치	23,650,000	1	23,650,000
세포분리장치	10,000	120×10	12,000,000
하우스구조물	600,000	1	600,000

Table 5.5 운영비용 (가변비용)

<월별 *Euglena* 5kg 생산 기준>

구분	단위 비용	단위 수	금액 (원)
총계 (1년, 60kg 생산시)			9,140,300
전기세	보일러	60W	40시간
	내부순환용스크레파	75W	40시간
	이송펌프	250W	10.5시간
	이산화탄소공급펌프	30W	40시간
	세포분리장치	350W	10시간
			(10월~3월)10,580
	총계	12.725kWh	(4~6월, 9월)10,530
			(7~8월)10,750
연료 및	보일러	4,320원	5
재료비	배지	1900	5
인건비	A	3,000원	120시간
	B	3,000원	120시간

## 2. *Euglena* 사료 판매비용 산정

편익추정에 있어서 제조원가 계산은 원가계산에 의한 예정가격작성준칙에 근거하였다. 그리고, 편익 계산시 시장 규모가 충분하여 생산된 60 kg의 유글레나가 모두 매출되는 것으로 가정하였다. 그 결과 *Euglena* 사료 생산에 필요한 초기 투자비, 재료비, 인건비, 경비, 기업 이윤 등을 고려하여 산정한 *Euglena* 사료 1 kg당 판매비용은 247,159원이었다.

Table 5.6 편익추정에 따른 *Euglena* 사료의 판매비용 산출

<연간 *Euglena* 60 kg 생산 기준>

비목 / 구분		금액(원)	구성비	비고
직접재료비		-		소모성 재료비로
재료비	간접재료비	373,200	3%	연료 및 재료비 포함
	소계	373,200	3%	
조 인건비	소계	8,640,000	58%	
	전력비	127,100	1%	
가 경비	감가상각비	2,555,000	17%	정액법, 내용년수 10년으로 가정
	시설대여비	1,200,000	8%	
	소계	3,882,100	26%	
이윤	15 %	1,934,295	13%	'(재료비+인건비+경비)*이윤' 이윤은 25%이상 초과 계상 불가
현금수입		14,829,595	100%	재료비 + 인건비 + 경비 + 이윤
<i>Euglena</i> 사료 1kg당		247,159		
판매금액				

### 3. *Euglena* 사료 생산 시설의 경제성 평가

가. 순현재가치평가 (NPV)에 의한 경제성 분석:

- 1) 순현재가치 (NPV)에 의한 경제성 분석은 화폐의 시차선호성 (time value)를 반영한 방법이다. 평가년도 10년간의 현금흐름을 추정하여 적절한 할인율을 적용하여 투자안에 대한 현재 시점에서의 경제성을 평가하기 위한 지표로 사용한다.
- 2) 할인율은 현재 통상적인 이자율인 5%를 적용하였고, 시간에 따라 변할 수 있으므로 민감성 분석에서 이자율 변화에 따른 투자안의 경제성에 대해 분석하기로 한다.



- 3) *Euglena* 사료 판매의 경우에서 앞서 조사한 비용 및 편익 분석을 통해 위와 같은 현금흐름 추정을 구하였다. 현금 수입에 있어 이윤은 15%로 가정하고 판매가를 산출했으며, 1년간 목표 생산량인 60 kg의 사료가 모두 소비됨을 가정하고 결과를 산출하였다. 매출량 및 판매비의 변화를 감안 민감성 분석 항목에 포함하였다.
- 4) 법인세는 '(매출액-필요비용)\*세율'로, 필요비용에는 각종 운영비 및 감가상각비, 대여비를 포함시켰으며 감가상각비는 정액법을 적용하였다. 내용년수는 각각 10년으로 가정했다. 소득금액 (매출액-필요비용)은 1,000만원 이하로 소득세 기본 세율표에 따라 10%의 세율을 적용한다. 기타 소득공제는 없는 것으로 가정한다.
- 5) 이와 같이 현금흐름을 추정한 결과 Table 5.7에 NPV 항목 값을 나타내었다. 그리고 현재 시점에서의 '*Euglena* 사료 제조' 투자안의 경제성은 7,671,534원으로 추정되었다. 그리고, 현금흐름표를 통해 손익분기점을 예상해볼 수 있다. NPV를 통해 평가년도 7 ~ 8년차 사이에 초기의 투자액을 회수할 수 있는 것으로 예상된다.

나. 내부 수익률 (IRR)에 의한 경제성 분석:

- 1) 내부수익률은 투자안의 현금유입의 총현재가치와 현금유출의 총현재가치를 일치시켜주는 할인율이다. 즉, 순현재가치를 0으로 하는 할인율을 뜻한다.
- 2) 내부수익률법을 통해 수익률의 크기를 자본비용과 비교하여 자본비용보다 클 경우 투자안이 경제성 있는 것으로 평가한다.
- 3) 위 현금흐름표를 통해서 이 투자안의 내부수익률은 약 11.1%로 평가된다. 이는 사회적인 할인율을 5%로 전제할 때 11.1%로 경제성을 가지고 있으며, *Euglena*가 이산화탄소를 제거 환경적인 편익 등의 간접 편익도 발생시키므로 투자의 타당성이 있다고 판단된다.

Table 5.7 순현재가치평가 (NPV)에 의한 현금 흐름표

<10년간 현금흐름의 추정치 (할인율=5%)>

	시작	1년	2년	3년	4년	5년	6년	7년	8년	9년	10년
현금수입	-	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595	14,829,595
현금지출	25,550,000	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729	10,533,729
매출 고정비	25,550,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000	1,200,000
원가 운영비	-	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300	9,140,300
법인세(10%)	-	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429	193,429
순현재흐름	-25,550,000	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866	4,295,866
NPV	-25,500,000	4,091,300	3,896,477	3,710,930	3,534,219	3,365,923	3,205,641	3,052,991	2,907,611	2,769,153	2,637,289

※ 현금 지출 = 매출원가 + 법인세

다. 민감도 분석: Table 5.8 ~ 5.10의 민감도 분석에 따르면, 이 투자안의 경우 사회적인 할인율의 변화보다는 사료의 이윤의 정도에 따라 손익의 차이가 민감하게 반응하고 있음을 알 수 있다. 이윤이 6 ~ 7% 사이에서 NPV는 0 미만으로 나타나며, 이에 따라 적절한 이윤의 설정이 투자안의 경제성에 커다란 영향을 줄 것으로 보인다. 매출량의 변화에 따라 투자안의 경제성이 민감하게 변화하고 있으며, 현재의 목표량은 적절한 것으로 보인다. 추가 생산 및 매출이 이루어질 경우 더욱 높은 경제성을 기대할 수 있다.

- 1) 미래의 불확실성으로 인하여 추정값에 존재하는 오차를 감안하여 매출 및 할인율, 운영비 변화에 따른 민감도 분석을 실시함.

- 2) 매출은 20%내외, 할인율은 5%내외, 이윤은 10% 내외를 기준으로 적용하여 비용 및 편익을 재추정함.
- 3) 각 변수의 변동에 따른 순현재가치 (NPV)를 추정하여 비교한다.
- 4) 매출액의 변화는 운영비의 증감 혹은 매출량의 증감에 따른 것으로 일정 이윤을 유지해야하므로 매출비용도 같은 비율로 증감함을 가정하고 NPV를 산출한다.

Table 5.8 연간 매출 추정치 변화에 따른 민감도 분석

연간매출	11,864	13,347	14,830	16,313	17,796
추정치(천원)	(-20%)	(-10%)	(기준치)	(+10%)	(+20%)
NPV (천원) (할인율:5%)	-290	3,665	7,672	11,578	15,833

Table 5.9 시장 할인율 변화에 따른 민감도 분석

할인율 (%)	5%	5.5%	6%	6.5%	7%	7.5%	8%	8.5%	9%
NPV (천원)	7,672	6,830	6,068	5,332	4,622	3,936	3,272	2,633	2,016

Table 5.10 기업 이윤 변화에 따른 민감도 분석

운영비	5%	10%	15%	20%	25%
추정치(천원)			(기준치)		
NPV(천원) (할인율:5%)	-1,354	3,132	7,672	12,097	16,567

## 제4절 결 론

1. 경제성 평가를 통하여 *Euglena* 사료의 판매비용을 산출한 결과, 1 kg 당 247,159원을 산출하였다. 이러한 가격은 기존의 시장에서 판매되고 있는 사료 (kg당 약 250원)보다는 매우 비싼 가격이지만, *Euglena* 사료가 가지고 있는 우수한 영양성 및 DHA 전이 능력 등을 감안하면 특별한 목적으로 기존의 사료에 첨가하여 사용하는 방안이 적절하다고 판단된다.
2. *Euglena* 사료 생산 시설에 대한 경제성 평가에서 주요 지표로서 순현재가치 (NPV), 내부수익률 (IRR)을 사용하였으며, 각각의 결과 값은 7,671,534원, 11.1%이었다. 그러나, 본 결과는 1톤 규모의 광반응기에서 생산되는 *Euglena* 사료를 대상으로 평가한 것이므로 생산성에 한계가 있고, 대규모 광반응기를 도입하여 배양할 경우 제품 생산가가 감소할 것으로 기대된다.
3. 판매비용 및 수익의 예측 모형에 있어서, 인건비, 전기세, 세금의 산출 부분 등은 평가의 편의를 위해서 적절한 예측치를 사용했으며 이에 따른 비용의 변화에 따라 결과상의 다소 차이가 발생할 수도 있다. 전체 소요 비용에서 인건비는 58%정도의 높은 비중을 차지하고 있어 인건비의 변화에 따라 원가 변동폭이 크게 작용할 것으로 보인다.
4. *Euglena* 사료가 대기중의 이산화탄소를 제거해주는 무형의 환경편익을 발생시키기 때문에 위에서 분석한 경제적 지표 외의 사회적 편익을 발생시킬 것으로 예상된다.

## 종합 결론

1. 광반응기를 이용하여 이산화탄소를 고정화하기 위한 *Euglena* 배양의 적정 조건을 도출하였다. 그 결과 초기 pH는 3.5, 온도는 20 ~ 35 °C, CO<sub>2</sub> 농도는 5 ~ 10 %이었고, 광도가 증가할수록 성장량이 증가하는 것으로 나타났다.
2. 광반응기에서 성장한 *Euglena*의 세포 구성 원소를 분석한 결과, 세포 1g 당 2.38g의 CO<sub>2</sub>를 고정화하는 능력이 있는 것을 알 수 있었는데, 이 값은 *Chlorella* sp. HA-1의 g cell 당 고정화 값 (1.6g CO<sub>2</sub>/g Cell)보다 큰 것으로, 이산화탄소 고정화 측면에 있어서 *Euglena*가 보다 우수한 고정화 능력을 가지고 있음을 판단할 수 있었다.
3. SCP (Singel Cell Protein)의 생산성을 높이기 위해 옥외 광반응기 (1000L)에서 실시한 연속 및 반연속 배양에서 최소 HRT는 8일로 결정되었으며, 최종 농도의 경우에는 반연속 배양의 경우가 연속식 배양의 경우보다 약간 높았지만, 배양이 실시된 기간 동안의 세포의 성장량을 평가해 보면 연속식 배양의 경우가 우수하였다. 이산화탄소 고정화율 및 미세조류의 생산량을 증가시키기 위해서는 연속식 배양이 적합한 것으로 판단되었다.
4. 유효부피 100L 규모의 관형 반응기에서 배양 결과를 1000L 규모의 옥외 광반응기로 scale-up 시켰을 때 미세조류의 성장이 향상되었는데 이로부터 “self shading effect”를 최소화하기 위해 새로 고안한 L-type 광반응기가 효율적으로 운전되었음을 알 수 있었다.

5. 태양광을 에너지원으로 하고 보일러에서 발생하는 폐탄산가스를 탄소원으로 사용하는 1000L 규모의 새로운 형태 (L-type)의 광반응기를 이용한 배양한 결과, 연속 배양시 1개월에 약 50% 단백질을 함유하는 SCP (Single Cell Protein)를 5 kg 생산할 수 있었다. 이 때 이산화탄소 제거율은 약 8%였다.
  
6. 폐탄산가스를 탄소원으로 사용하여 성장한 *Euglena*의 사료로서의 안전성을 검증하기 위하여 실시한 Ames test에서, *Euglena*는 사용 균주 *Salmonella typhimurium* TA1537 대해서 독성이 없는 것으로 조사되었고, 동물 사료로서 안전한 것으로 판단되었다.
  
7. *Euglena* 사료를 사용하여 육계 및 산란계의 생산성을 조사한 결과 대조군에 비하여 체중이 향상되고, 산란율이 증가하고 계육 및 계란에 taurine, DHA 등의 유용한 물질이 전이되는 것을 확인하였다.
  
8. 경제성 분석 결과 *Euglena* 사료의 판매가격이 기존 사료보다 매우 비싸게 평가되었다. 그러나, *Euglena* 사료가 기존의 사료와는 특성 및 효과가 매우 상이하여 고농도 단백질이나 DHA를 활용할 수 있는 첨가제 등의 부가가치가 높은 사료로 사용하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

## 참고 문헌

Abis, S. (1982), Growth kinetics of photosynthesis microorganisms. *Adv. Biochem. Eng.*, 23, 85-156.

Ajuyah, A. O., Hardin, R. T. and Sim, J. S. (1993), Studies on canola seed in turkey grower diet; Effects on n-3 fatty acid composition of breast meat. *Can. J. Anim. Sci.* 73, 177~181.

AOAC (1990), Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Benemann J. R (1993), Utilization of carbon dioxide from fossil fuel-burning power plants with biological systems, *Energy Conserv. Mgmt.*, 34, 999-1004.

Brown, J. M. and Jarvis, E. E. (1992), Oil production by microalgae in outdoor mass culture. *Ind. Appl. Single Cell Oils*, 235.

Buetow, Dennis E. (1968), The Biology of Euglena. Academic press.

Cramer, M. and Myers, J. (1952), Growth and photosynthetic characteristics of *Euglena gracilis*. *Arch. Mikrobiol.* 17, 384-402.

Dyorborg, J. and Bang, H. O. (1979), Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* 2, 432.

Fabrycky, W. J. and Thuesen, G.J. (1992), 경제성공학, 제 6권.

Grobbelaar J. U. (1991), The influence of light/dark cycles in mixed algal cultures on their productivity. *Bioresource Technology*, 38, 189-194.

Guenther, W., Bragg, D. B. and Kondra, P. A. (1987), Effect of dietary linoleic acid on composition of egg yolk, liver and adipose tissue. *Poultry Sci.*, 63, 1735.

Huang, Z. B., Leibovitz, H., Lee, C. M. and Miller, R. (1990), Effect of dietary fish oil on n-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 743.

Hauck, J. T., Gregory, J. O., Stephane, J. S., Mildred, B. P. and Mohammad, M. A. (1996), Effects of simulated gas on growth of microalgae. The 212th ACS National Meeting, Orlando, FL., August 25-29.

Kishimoto, M., Okakura, T., Nagashima, H., Minowa, T., Yokoyama, S. and Yamaberi, K., J. (1994), *Ferm. Bioeng.*, 78(6), 479.

Kodama, M., Ikemoto, H. and miyachi, S., J. (1993), *Mar. Biotechnol.* 1, 21.



Laws, E. A., Wickman, T. J. and Chalup, M. S. (1983), A Simple Algal Production System Designed to Utilize the Flashing Light Effect. *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 2319-2335.

Lee, Y. K. and Low, C. S. (1992), *Biotech. Bioeng.*, 40, 1119.

Lee, Y. K., Ding, S. Y., Low, C. S. and Chang, Y. C. (1995), *Journal of applied phycology*, 7, 47-51.

Lee, Y. K. and Pirt, S. J. (1981), Energetics of photosynthetic  $\mu$  growth: Influence of intermittent illumination in short cycles. *J. Gen. Microbiol.*, 124, 43.

Matsunaga, T., Takeyama, H., Sudo, H., Oyama, N, Ariura, S., Takano, H., Hirano, M, Burgess, J. G., Sode, K. and Nakamura, N. (1991), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 28/29, 157.

Miyamoto, K., Wable, O. and Benemann, J. R. (1988), *Biotechnol. Letts.*, 10(10), 703.

Negoro, M., Shioji, N., Miyamoto, K. and Miura, Y. (1991), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 28/29, 877.

Negoro, M., Shioji, N., Ikuta, Y., Makita, T. and Uchiumi, M. (1992), Growth characteristics of microalgae in high-concentration gas, Effects of culture medium trace components and impurities thereon", 681-692.

Ogbonna, J. C., Soejima, T., Tanaka H. (1999), An integrated solar and artificial light system for internal illumination of photobioreactors, *J. of Biotech.*, 70, 289-297.

Phillips, J. N. Jr. and Myers, J. (1981), *Plant Physiol.*, 29, 148.

Richnond, A., Boussiba, S., Vonshak, A. and Kopel, R. (1993), *J. Appl. Phycol.*, 5, 327.

Sim, J. S., Bragg, D. B. and Hodgson, G. C. (1973), Effect of dietary animal tallow and vegetable oil on fatty acid composition of egg yolk, adipose tissue and liver laying hens. *Poultry Sci.*, 52, 51.

Stryer L. (1995), *Biochemistry* fourth edition. Freeman Press, 653-680.

Spector, D. L., Goldman, R. D., Leinwand, L. A. (1998), *Cells a laboratory manual (Culture and Biochemical analysis of cells)*. CSHL press.

Tabita, F. Robert (1988), Molecular and cellular regulation of autotrophic carbon dioxide fixation in microorganisms. *Microbiological reviews*, June, 155-189.

Takano, H., Takeyama, H., Nakamura, N., Sode, H. and Matsunaga T. (1992), CO<sub>2</sub> removal by high-density culture of a marine *cyanobacterium* *Synechococcus* sp. using an improved photobioreactor employing light-diffusing optical fibers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*,

34.

Tokyo Electric Power Company, R&D Report of Global Environmental Department, 1994.

Watanabe, Y., Ohmura, N. and Saiki, H. (1992), *Energy Convers. Mgmt.*, 33(5-8), 545.

Watanabe, Y., Noue, J. and Hall, D. O. (1995), *Biotechnol. Bioeng.*, 47, 261.

William, A. Apel, Michelle, R. Walton and Patrick, R. Dugan (1994), An evaluation of autotrophic microbes for the removal of carbon dioxide from combustion gas streams. *fuel processing technology*, 40, 139-149.

박봉선 (1994), Euglena: 新素材로서의 研究開發의 現狀과 應用, 한국 유기성 폐기물 자원화 협의회학회지, 제2권 제1호, 135-144.

신덕문 (1998), 생활폐기물의 종류 및 관리체제를 고려한 처리 방법별 경제성 분석에 관한 연구, 한국과학기술원, 석사학위논문.

신현국 (1993), 국내환경생명공학 육성방향과 전략, 생명공학동향, 유전공학연구소.

산업자원부, 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 개발, 1999.

이규금, 강신철, 재무의사결정, 법문사, 1994.

윤태일의 2인 공역, 환경미생물학, (주)동화기술, 100-102, 1995.

조담, 윤순석, 정성창, 장국현, 경영분석론, 박영사, 1995.

최정운, 전북대학교 석사학위 논문, 1999.

통상산업부, 생물학적 이산화탄소 고정화 공정의 개발에 관한 중간보고서(1차년도), 1996.

한국표준연구소, 국가표준의 경제성분석에 관한 연구(II), 과학기술처, 1998.

한국화학연구소, 생물학적 방법에 의한 온실기체(CO<sub>2</sub>) 회수 및 동물사료 생산 기술 개발(2차년도 보고서), 1998.

환경부, 이산화탄소의 화학적 및 생물학적 고정화 기술(제2단계 1차년도 보고서), 319-396, 1997.

환경부, 국제환경동향, 제10호, 1998.7.

北岡正三郎 (1989), *Euglena* - 生理와 生化學, 學會出版(株).

細谷圭助, 北岡正三郎 (1977), 일본 農化誌. 51, 483.

中野長久 외 9명 (1998), 조류의 식량 자원화 개발에 관한 연구. 일본 *CELSS 학회지*. 10, 13-23.