최 종
연구보고서

농축산폐기물을 이용한 광합성세균의 생산기술개발

Phototropic Bacteria Producing techniq development, Using agriculture and lomestic animals′ waste.

2003. 7

상 지 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “농축산 폐기물을 이용한 광합성 세균 생산 기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 8월 4일

주관연구기관명 : 상지대학교

총괄연구책임자 : 이 명 규

세부연구책임자 : 이 명 규

연 구 원 : 구 자 용

연 구 원 : 이 수 경

요 약 문

Ⅰ. 제 목

농축산폐수를 이용한 광합성세균의 생산기술개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

국내 전체폐기물 발생량 중 50% 이상이 유기성폐기물이며, 특히 농축산폐기물은 부패하기 쉽고 악취가 심하여 여러 환경문제의 원인이 되고 있다.

농축산폐기물은 원료특성에 따라 정화처리, 매립 및 소각과 자원화등이 다양하게 적용되고 있으나, 일반적인 방법은 퇴비화로서 부산물의 장점을 중심으로 많은 기술이 개발되고 있다. 그러나, 유기질 퇴비의 공급가격이 화학비료에 비해 상대적으로 높아 경제성 및 비료로서의 가치가 낮고, 유기질 수급이 지역적으로 불균형한 상태를 보이며, 대량생산에 따른 안정적인 시장의 확보가 어렵다는 문제점을 가지고 있다.

농축산폐기물 처리를 위한 향후 연구는 ① 자원화 방안이면서도 ② 고부가가치 부산물을 획득할 수 있어야 하며, ③ 국내의 토착기술로서 ④ 대외적인 기술적 경쟁력이 확보되어야 한다. 특히 자원화와 고부가가치 부산물을 획득해야 한다는 측면은 신기술공정에서 필수적으로 고려해야 하는 항목이다.

이런 유기성폐기물중 약 60%가 가축분뇨이며, 현재는 가축 사육이 대규모화됨에 따라 축산 폐수의 처리 및 경작지 확보의 문제점이 대두 되고 있다. 또한 다량의 영양염류가 함유된 축산 분뇨의 경우 자원으로서의 가치와 오염원으로서의 양면성을 가지고 있다.

축산폐기물중 양돈폐수가 54% 이상 차지하며, 이런 양돈폐수는 지역적으로 발생량이 편중되어있어 퇴비화나 부산물을 생산하여 이용하기에는 운송료 등이 추가적으로 부담된다. 이런 여분의 양돈분뇨를 퇴비화가 아닌 유효한 미생물의 생산에 이용하면 양돈분뇨의 고부가가치화를 이룰 수 있다.

농축산폐기물의 배지화 연구는 *Candida*나 *Saccharomyces*와 같은 몇몇 균주를 이용하여 균체단백질 분야에서 연구가 진행되고 있지만, 광합성세균과 같

은 특수세균에 있어서는 아직 초보적인 상태로서, 농축산폐기물의 고부가가치화 및 광합성세균의 활용성 극대화를 위한 농축산폐기물의 배지화 연구는 필수적인 기술이다

축산폐기물을 이용한 광합성세균생산 및 이용기술은 폐기물의 고부가가치화라는 새로운 자원화개념을 정립할 수 있으며, 단순폐기나 매립 및 정화처리 등에서 발생한 문제점을 해결할 수 있다.

광합성세균의 이용기술은 악취제어 등 환경오염문제의 축소를 통한 민원을 감소시켜, 축산 농가와 주변 농가사이의 마찰을 최소화시킬 수 있으며, 특히, 축산농가와 경종농가의 유기적인 결합을 도출할 수 있는 주요한 기술이며, 농축산폐기물을 이용한 값싼 균제제의 생산기술 확립은 화학약품에 의한 생산보다도 경제성 면에서 뛰어나 대외 수출 차원에서 매우 중요한 기술이 될 것이다.

그래서 본 연구를 통하여 이루고자하는 목적은 축산폐기물을 고부가가치화 공정 중에서, 축산폐기물을 원료로 광합성세균을 배양할 수 있는 배지화 기술을 개발하고 이를 이용하여 광합성균제를 값싸게 생산하는 것이다.

구체적으로는 ① 적정 농축산폐기물 선정과 ② 전처리 기술개발 및 공정확립 ③ 축산폐기물을 이용한 광합성세균의 대량생산 기술 확립을 본 연구의 목적으로 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 광합성세균의 생산을 위한 전처리
   가. 적정한 농축산폐기물의 선정
   나. 대상폐수에서 광합성세균의 생산을 위한 최적의 전처리 조건 확립

2. 전처리된 폐수에서의 광합성세균생산
   가. 국내 토착세균의 분리 및 동정
   나. 분리된 광합성세균의 생육인자 도출
   다. 대체 배지에서의 광합성세균 생육인자 도출
   라. 현재 배양방법(화학배지)과 경제성 비교 분석
   마. 대체배지로 생산된 광합성세균의 이용성 타진

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 광합성세균의 생산을 위한 전처리

가. 대상폐수 중 광합성세균생육에 유리하며, 전처리 공정이 Simple한 폐수를 선정하였음

나. 선정된 대상폐수에서의 광합성세균의 생육을 위한 최적의 전처리공정을 도출하기 위하여, 물리, 화학, 생물학적 실험이 수행되었고, 각 실험에 따른 특성이 분석되었다.

2. 전처리된 폐수에서의 광합성세균생산

가. 국내 중부지역을 중심으로 하천, 논, 하수처리장등 총 60개의 시료을 채취하여, 생육이우수한 균주를 분리 하였다.

나. 분리된 광합성세균의 생육인자를 도출하기위하여, 내부 배지조건의 변화와 외부 가동조건의 변화를 실험, 분석하였다.

다. 대체배지에서의 광합성세균의 생육인자를 도출 하기위하여 배지에 변화를 주어서 실험을 시행하였다.

라. 현재 배양중인 화학배지와 대체배지에서 광합성세균의 생산단가가 비교 분석되었다.

마. 대체배지로 생산된 광합성세균의 이용성 타진

SUMMARY

The production of phototrophic bacteria using the substitution medium is divided into two parts; pretreatment process of the pig-slurry and cultivation process of the phototrophic bacteria using the former process. The details of this two processes are as followed.

1. Pretreatment method of the pig-slurry for the cultivation of the phototrophic bacteria

When introducing acid fermentation to cultivate the phototrophic bacteria, the larger solid contents in the pig-slurry showed the higher VFAs formation rate. But considering the efficiency of the solid-liquid separation of the membrane pretreatment process, we fixed the solid contents in the pig-slurry about 3-5%.

The most stable temperature considering the operation rate and the VFAs formation rate is 30℃, because the formation rate of the VFAs is lower than its consumption rate in the high temperature condition, and the formation of the VFAs is low in the low temperature condition.

When comparing the efficiency of the membrane filter with the ceramic filter to separate the solid phase from liquid phase of the product of the acid fermentation process, membrane filter showed more effective separation ability; the permeation rate of the organic acid was up to 90%, and that of the solids like T-P was only 2%.

2. The production of the phototrophic bacteria by the substitution culture

In this study we sampled in streams, sewagewater plants and agricultural area in central areas of South Korea, and separated phototrophic bacteria that showed superior growth rate. Then alignment was done by comparison of 16S particial sequencing with rRNA secondary structures. From the result of %smilarity, the number of base sequencing of phototrophic bacteria was shown to be 557bp. In the similarity analysis, *Rhodopseudomonas palustiris* ATCC 17001 was proved to be the most excellent genus with 99.28% similarity. Separated R*hodopseudomonas palustiris* showed more utilizations of acetic acid among the organic acids, more growth rate in the pH range of about 7 and light intensity of 1000 - 4000 Lux, and could survive in the wide range of C/N ratio.

With the results of growth characteristics of phototrophic bacteria in the pretreatmented liquids, the growth rate of phototrophic bacteria was more predominated using the culture fluid that was adjusted to concentration of VFAs about 1500mg/L and to pH range about neutral range than using the pretreatmented pig-slurry itself without any posttreatment. After bacteria culture, the absorbances of bacteriochlorophyll in the substitution medium was to be 80% of that of chemical medium.

The VFAs in the substitution medium was removed 90% after 5 days of culture and could be utilized together with phototrophic bacteria as microbial fertilizer. Actually, more advanced crop production was shown through *in situ* tomato culture experiment using organic fertilizer with this phototrophic bacteria cultured in substitution medium as fertilizer.

Table of Contents

Chapter 1. Overview----------1
Chapter 2. Investigations on the phototrophic bacteria using agrolivestock wastes----------10
section 1. Introduction----------10
section 2. Characteristics of raw sample ----------11
1. Physicochemical characteristics of sample----------12
a. Variations of sample characteristics with and without aeration----------12
section 3. Experimental apparatus and operating condition -------13
1. Investigation of acid fermentation condition----------13
2. Establishment of pretreatment method for selected material---15
3. Experiment of growth rate of phototrophic bacteria in the pig-slurry----------17
section 4. Analytical items and methods----------18
section 5. Results----------20
1. Examination of acid fermentation condition----------20
2. Variations of physicochemical contents according solid contents----------21
a. Variations of VFAs according to solid contents----------21
b. Variations of NH_4^+-N and PO_4^{3-}-P ----------26
c. Variations of SCOD ----------28
d. Phototrophic bacteria culture in the pretreatmented substitution medium----------29
3. Variations of pH and VFAs characteristics according to temperature----------30
4. Establishment of pretreatment method of selected material---33
a. Accumulated FLUX and characteristics through Micro Filtration----------33
b. Filtering characteristics through Ceramic Filtration---------36
c. Comparison of permeation rate of acid fermentation liquid through M/F and C/F----------39

section 6. Conclusion----------41
Chapter 3. Phototrophic bacteria production using pretreatmented pig-slurry----------42
section 1. Introduction----------42
section 2. Experimental procedres and results----------43
1. Separations of phototrophic bacteria----------43
2. Sequenced culture and dentification of phototrophic bacteria----------43
3. Basic growth characteristics of separated phototrophic bacteria(*Rhodopseudomonas palustris*) ----------47
a. Comparison of phototrophic bacteria according to the types of organic acid----------47
b. Comparison of growth characteristics according to pH and light intensity----------48
c. Growth characteristics using Jar-Fermentor----------50
d. Comparison of effects of C/N ratio----------51
e. Comparison of Bacteriochlorophyll and MPN ----------53
4. Development of cultural technique by pig-slurry medium----54
a. Phototrophic bacteria culture using pig-slurry medium-----54
b. Phototrophic bacteria culture using hog-slurry medium-----59
section 3. Conclusion----------62
Chapter 4. Mass production of phototrophic bacteria using hog-slurry63
section 1. Introduction----------63
section 2. Experimental materials and apparatus----------64
1. Pretreatment of hog-slurry for the cultivation of phototrophic bacteria----------64
a.Characteristics of material(sample)----------64
b.Experimental apparatus ----------66
i. Characteristics of material(sample)----------66
ii. M/F apparatus----------68
iii. Sterilization apparatus----------69
2. Mass production of phototrophic bacteria using hog-slurry----------71
a. Characteristics of materials(sample)----------71

b. Operating conditions of culture medium----------72
section 3. Experimental procedures and analytical methods-------73
1. Experimental procedures----------73
a. Pretreatment of hog-slurry for the culture of phototrophic bacteria----------73
b. Analytical methods----------74
section 4. Results----------75
1. Results of pretreatment of hog-slurry for the culture of phototrophic bacteria----------75
a. Results of fermenting operation of acid----------75
i. Variations of organic concentrations----------76
ii. Variations of NH_4^+-N and PO_4^{3-}-P ----------80
b. Results of M/F operation----------81
2. Results of mass cultures of phototrophic bacteria using hog-slurry ----------83
a. Comparison of phototrophic bacteria growth rate when using substitution medium and chemical medium----------83
i. Variations of OD(optical density) and pH----------83
ii. Variations of bacteriochlorophyll----------83
b.Variations of physicochemical characteristics of culture fluid--86
i. Variations of COD----------86
ii. Variations of VFAs----------86
iii. Variations of NH_4^+-N and PO_4^{3-}-P----------88
c. Comparison of economical efficiency----------89
section 5. Conclusion----------91
Chapter 5. Agricultural utilization of phototrophic bacteria cultured in the substitution medium----------93
section 1. Introduction----------93
section 2. Materials and Methods----------94
section 3. Results and discussion----------97
section 4. Conclusion----------103
References----------104

<제목차례>

제1장. 서론 ····· 1
제2장. 농축산 폐기물을 이용한 광합성세균 배지 연구 ····· 10
제1절. 개론 ····· 10
제2절. 연구재료 ····· 11
1.시료 ····· 11
가. 폭기처리시 변화 ····· 12
제3절. 연구장치 및 운전방법 ····· 13
1. 산발효 조건 검토 ····· 13
2. 선택원료의 전처리 방법 확립 ····· 15
3. 축산분뇨에서의 광합성세균의 생육실험 ····· 17
제4절. 분석항목 및 분석방법 ····· 18
제5절. 연구 결과 ····· 20
1. 산발효조건의 검토 ····· 20
2. 고형물 함량에 따른 이화학적 성상의 변화 ····· 21
가. 고형물함량에 따른 VFAs의 변화 ····· 21
나. NH_4^+-N과 PO_4^{3-}-P 의 변화 ····· 26
다. S-COD의 변화 ····· 28
라. 전처리된 조정배지에서의 광합성세균의 배양 ····· 29
3. 처리온도에 따른 pH 및 VFAs의 성상 변화 ····· 30
4. 선택원료의 전처리 방법 확립 ····· 33
가. Micro Filtration 방법 적용시 누적투과량과 기타 특성 ····· 33
나. Ceramic Filtration 방법 적용시 투과특성 ····· 36
다. M/F와 C/F를 산발효액의 투과율 비교 ····· 39
제6절. 결론 ····· 41
제3장. 전처리한 양돈분뇨를 이용한 광합성세균 생산 ····· 42
제1절. 개론 ····· 42
제2절. 연구방법 및 결과 ····· 43
1. 광합성세균의 분리 ····· 43
2. 광합성세균의 계대배양 및 동정 ····· 43
3. 분리된 광합성세균(Rhodopseudomonas palustris) 의 기초생육특성 · 47
가 유기산의 종류에 따른 광합성세균의 생육 특성 비교 ····· 47
나 pH 조건과 조도에 따른 생육 특성 비교 ····· 48
다 Jar-Fermentor를 이용한 생육특성 ····· 50

라 C/N ratio의 영향비교 ····· 51
마 Bacteiochlorophyll과 MPN수와의 비교. ····· 53
4. 축산분뇨배지를 이용한 배양기술개발 ····· 54
가. 축산분뇨 배지를 이용한 광합성세균 배양 ····· 54
나. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 배양 ····· 59
제3절. 결론 ····· 62
제4장 양돈폐수를 이용한 광합성세균의 대량생산 ····· 63
제1절. 개론 ····· 63
제2절. 연구재료 및 실험장치 ····· 64
1. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리 ····· 64
가. 시료 ····· 64
나. 실험장치 ····· 66
1). 산발효 장치 ····· 66
2). Membrane filter장치 ····· 68
3). 살균장치 ····· 69
2. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 대량배양 ····· 71
가. 시료 ····· 71
나. 배양기 가동조건 ····· 72
제3절. 실험 방법 및 분석 방법 ····· 73
1. 실험방법 ····· 73
가. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리 ····· 73
나. 분석방법 ····· 74
제4절. 연구 결과 ····· 75
1. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리 결과 ····· 75
가. 산발효 운전결과 ····· 75
1). 유기물농도 변화 ····· 76
2). NH_4^+-N PO_4^{3-}-P의 변화 ····· 80
나. M/F 운전결과 ····· 81
2. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 대량배양 결과 ····· 83
가. 대체배지와 화학배지의 광합성세균 생육비교 ····· 83
1) OD값과 pH의 변화 ····· 83
2). Bacteriochlorophyll 변화 ····· 83
나. 배양액의 이화학적변화 ····· 86
1) COD 변화 ····· 86

2) VFAs 변화 ····· 86
3) NH_4^+-N, PO_4^{3-}-P 변화 ····· 88
다. 경제성 비교 ····· 89
제5절. 결론 ····· 91
제5장. 대체배지 광합성 세균의 농업적 이용 ····· 93
제1절. 개론 ····· 93
제2절. 재료 및 방법 ····· 94
제3절. 결과 및 고찰 ····· 97
제4절. 결론 ····· 103
참고문헌 ····· 104

<표차례>

표 1 가축 사육 현황(2000년) ····· 1
표 2 가축분뇨처리시설 설치현황 ····· 3
표 3 광합성세균의 생태학적 분리 ····· 6
표 4 양돈 슬러리의 이화학적 성상 ····· 11
표 5 양돈 슬러리의 저분자화 처리후 이화학적 성상 ····· 12
표 6 온도변화에 따른 VFAs의 생성율 비교를 위한 반응기 운전방법 ····· 14
표 7 고형물함량에 따른 VFAs의 생성율 비교를 위한 반응기 운전방법 ····· 14
표 8 고형물함량별 산발효 효과실험시 반응기 운전방법 ····· 14
표 9 온도변화에 따른 산발효 효과실험시 반응기 운전방법 ····· 15
표 10 산발효액의 고액분리에 이용된 막의 특성 ····· 16
표 11..산발효액의 고액분리에 이용된 막의 운전방법 ····· 16
표 12 양돈폐수를 이용한 광합성세균 배양조건실험 ····· 17
표 13 양돈분뇨의 전처리액 분석에 이용된 분석방법 ····· 19
표 14 유기산분석에 이용된 Gas Chromatograph (G-C) 운전조건 ····· 19
표 15 M/F 및 C/F에서의 투과율 비교 평균값 ····· 39
표 16 광합성세균 분리를 위한 Selective Medium ····· 44
표 17 공정처리전후의 평균성분표 ····· 54
표 18 양돈분뇨의 이화학적 성상 ····· 65
표 19 전처리 산발효 시스템의 기본 개요 및 모습 ····· 67
표 20 대체배지 제조에 사용한 Membrane 사양 ····· 69
표 21 살균처리 전-후의 병원균의 변화 ····· 70
표 22 광합성세균 배양에 사용 양돈배지의 이화학적성상 ····· 71
표 23 산발효조 운전 조건 ····· 73
표 24 대체배지 생산을 위한 산발효액의 Membrane Filtration 처리 ····· 82
표 25 화학배지와 양돈분뇨대체배지의 생산단가비교. ····· 89
표 26 토마토 정식 전의 토양의 무기함량 분석. ····· 97
표 27 토마토 정식 50일 후의 토양의 무기함량 조사 ····· 98
표 28 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비처리구에서 미생물처리에 의한 생육표. ·· 99
표 29 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비처리구에서 미생물처리에 의한 수량성 및 식미검정표 ····· 102

<그림차례>

그림 1 가축분뇨 처리방법 ····· 5
그림 2 광합성세균의 현재 연구 및 생산 방법 ····· 8
그림 3 본 연구의 목적인 대체배지를 이용한 광합성세균 생산 ····· 9
그림 4 산발효 실험에 이용된 실험 장치 및 운전방법 ····· 13
그림 5 중공사막모양 ····· 16
그림 6 세라믹필터system ····· 16
그림 7 세라믹필터system ····· 16
그림 8 고형물함량에 따른 T-VFAs의 변화 ····· 20
그림 9 온도에 따른 T-VFAs의 변화 (TS=6.05%) ····· 21
그림 10 30℃에서 산발효시 Acetate의 생성농도변화 ····· 22
그림 11 30℃에서 산발효시Propionate의 생성농도변화 ····· 22
그림 12 30℃에서 산발효시iso-Butyric acid의 생성농도변화 ····· 23
그림 13 30℃에서 산발효시n-Butyric acid의 생성농도변화 ····· 23
그림 14 30℃에서 산발효시iso-Valeric acid의 생성농도변화 ····· 24
그림 15 30℃에서 산발효시n-Valeric acid의 생성농도변화 ····· 24
그림 16 30℃에서 산발효시VFAs의의 생성농도변화 ····· 25
그림 17 30℃에서 산발효시의의 NH_4-N생성농도변화 ····· 27
그림 18 30℃에서 산발효시의의 PO_4-P의 생성농도변화 ····· 27
그림 19 30℃에서 산발효시의 SCOD 의 생성농도변화 ····· 28
그림 20 양돈분뇨 상등액을 이용한 생육 비교 ····· 29
그림 21 온도에 따른 신발효 시 반응기내 pH의 변화 ····· 31
그림 22 온도에 따른 산발효 시 반응기내ORP의 변화 ····· 31
그림 23 온도에 따른 산발효 시 반응기내 VFAs의 변화(45℃) ····· 32
그림 24 온도에 따른 산발효 시 반응기내 VFAs의 변화(20℃) ····· 32
그림 25 M/F처리시 시간별 투과량과 압력의 변화 ····· 34
그림 26 M/F처리시 시간별 투과량과 압력의 변화 ····· 34
그림 27 M/F처리공정시 처리액내 고형물함량 및 TS의 변화 ····· 35
그림 28 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화 ····· 37
그림 29 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화 ····· 37
그림 30 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화 ····· 38
그림 31 광합성세균의 기초분리 ····· 45
그림 32 광합성세균의 1차 계대배양 ····· 45
그림 33 광합성세균의 2차 계대배양 및 운전사진 ····· 47

그림 34 유기산의 종류에 따른 광합성세균의 생육특성 ····· 48
그림 35 초기 pH에 따른 시간별 OD(680nm)변화 ····· 49
그림 36 각 조도별 시간에 따른 OD(680nm)변화 ····· 49
그림 37 J-Fermentor를 이용한 생육결과 ····· 50
그림 38 유기산 종류에 따른 생육 ····· 52
그림 39 C/N변화에 따른 생육(질소고정) ····· 52
그림 40 광합성세균의 생육과 Indicator(Bchl과 MPN수) ····· 53
그림 41계분뇨내의 광합성세균 생육 사진 ····· 55
그림 42 계분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육변화 ····· 56
그림 43 양돈분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육 변화 ····· 56
그림 44 양돈분뇨처리액에서의 광합성세균 배양사진 ····· 57
그림 45 계분뇨처리액에서의 광합성세균 배양사진 ····· 57
그림 46 양돈분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육 변화 ····· 57
그림 47 계분 조정배지내에서의 광합성세균의 생육 변화 ····· 58
그림 48 처리구별 시간에 따른 광합성세균배양액내 변화 pH 변화 ····· 59
그림 49 처리구별 시간에 따른 광합성세균배양액내 변화 O.D변화 ····· 60
그림 50 VFAs 농도1,500mg/ℓ로 희석 중화 후 광합성세균배양액내
O.D와 VFAs의 변화 ····· 61
그림 51 VFAs 농도1,500mg/ℓ로 희석 중화 후 광합성세균배양액내
pH와 Bacteriochlorophyll의 변화 ····· 61
그림 52 산발효조의 전면과 상면도 모식도 ····· 67
그림 53 산발효액에서 대체배지생산을 위한 Membrane filter장치 사진 ····· 68
그림 54 대체배지의 살균에 이용한 살균기 모습 ····· 69
그림 55 대형배양기에서 광합성세균 생산모습 ····· 72
그림 56 Run-1과 Run-2에서의 pH변화 ····· 75
그림 57 Run-1에서 COD, SCOD, SCOD/COD 변화 (정체) ····· 76
그림 58 Run-2에서 COD, SCOD, SCOD/COD 변화(교반(40rpm)) ····· 77
그림 59 Run-1에서 유기산 변화 (정체) ····· 79
그림 60 Run-2 에서 유기산 변화(40rpm 교반) ····· 79
그림 61 산발효조 운전시 NH_4-N변화(Run-1:정체, Run-2:교반(40rpm)) ····· 80
그림 62 산발효조 운전시 PO_4-P 변화(Run-1:정체, Run-2:교반(40rpm)) ····· 80
그림 63 산발효액의 Membrane Filtration 운전시 FLUX 변화 ····· 81
그림 64 화학배지와 대체배지에 배양액내부의 pH 변화 ····· 84
그림 65 화학배지와 대체배지에 배양액내부의O.D변화 ····· 84

그림 66 화학배지와 대체배지에 배양액내부의Bacteriochlorophyll변화 ····· 85
그림 67 화학배지와 대체배지에 배양액내부의COD 변화 ····· 87
그림 68 화학배지와 대체배지에 배양액내부의 VFAs, 변화 ····· 87
그림 69 화학배지 배양액내부의 NH_4-N PO_4-P 변화 ····· 88
그림 70 대체배지 배양액내부의 NH_4-N PO_4-P 변화 ····· 88
그림 71 시험 토마토의 육묘 상태 ····· 94
그림 72 정식 후 토마토 생육 모습 ····· 96
그림 73 토마토의 화방 모습 ····· 100

제1장. 서론

우리나라 농촌에서는 농・축산 폐기물이 대량으로 방출되고 있으며, 이들은 농촌 및 수계에 많은 오염을 초래하고 있다. 이중 축산폐기물은 부패하기 쉽고 악취가 심하여 여러 환경문제의 원인이 되고 있다. 과거 우리나라는 작물을 경작하기 위한 한우의 사육이나 육류를 얻기 위해 돼지를 사육하는 등 농업을 위한 보조 수단으로 축산업을 시행하였다. 하지만 70년대 초 축산 진흥 정책이 추진됨에 따라 가축 사육 두수 및 사육 규모가 급격히 증가하였다. 2000년 주요 가축의 사육 현황은 표 1과 같다.

표 1 가축 사육 현황(2000년) (단위: 천두(닭, 오리 천수))

구 분	소·말	젖소	돼지	닭·오리	사슴·양
농가수(호)	271,951	19,187	28,694	80,144	50,116
마리수	1,750	520	8,832	133,301	457

자료: 오수・분뇨 축산 폐수 처리 통계(환경부,2001년)

이러한 가축 사육 두수의 증가는 축산 폐수의 증가를 초래하였다. 2000년 주요 가축에서 발생된 축산 폐수는 소・말 25,538㎥/day, 젖소 23,701㎥/day 와 돼지 75,861㎥/day로 총 125,100㎥/day의 축산 폐수를 배출하였다. 이는 전체 오・폐수의 5.0%에 불과 하지만, BOD 발생 부하량 으로는 25%에 달한다. 이 중 축종별로 돼지 사육 과정에서 발생하는 축산 폐수가 61%로 가장 많은 양을 차지한다.

과거 축산 폐수의 발생량이 적고, 대부분의 경작지를 확보한 경우 축산 폐수의 발생은 큰 문제가 되지 않았으나, 현재는 가축 사육이 대규모화됨에 따라 축산 폐수의 처리 및 경작지 확보의 문제점이 대두되고 있다. 또한 다량의 영양염류가 함유된 축산 분뇨의 경우 자원으로서의 가치와 오염원으로서의 양면성을 가지고 있다.

현재의 축산 분뇨 처리유형을 살펴보면, 전체 축산 분뇨 발생량의 92%를 자원화 및 정화처리 방법으로 적정 처리하고 있지만 일부는 해양 배출이나 유출 추정되고 있다. 축산분뇨는 환경 친화적 방법으로 최대한 자원화 하여 퇴비・액비로서 재활용(Recycle)하고, 나머지 불가피하게 발생되는 축분, 축뇨와 세정수 등 축산폐수는 정화 처리하여 수질오염 방지를 목적으로 한다.

전・기업규모 농가에서는 주로 자원화 시설을 설치 운영하여 퇴비화, 저장액비화 하여 유기질 비료로 이용하고 소규모 농가에서 배출되는 축산분뇨는 자체 퇴비화 하거나 일부는 시・군에서 운영하는 축산폐수 공공처리시설에 위탁하여 정화 처리한다.

다음의 표 2는 가축분뇨처리시설 설치현황이다.

표 2 가축분뇨처리시설 설치현황 (단위 : 개소)

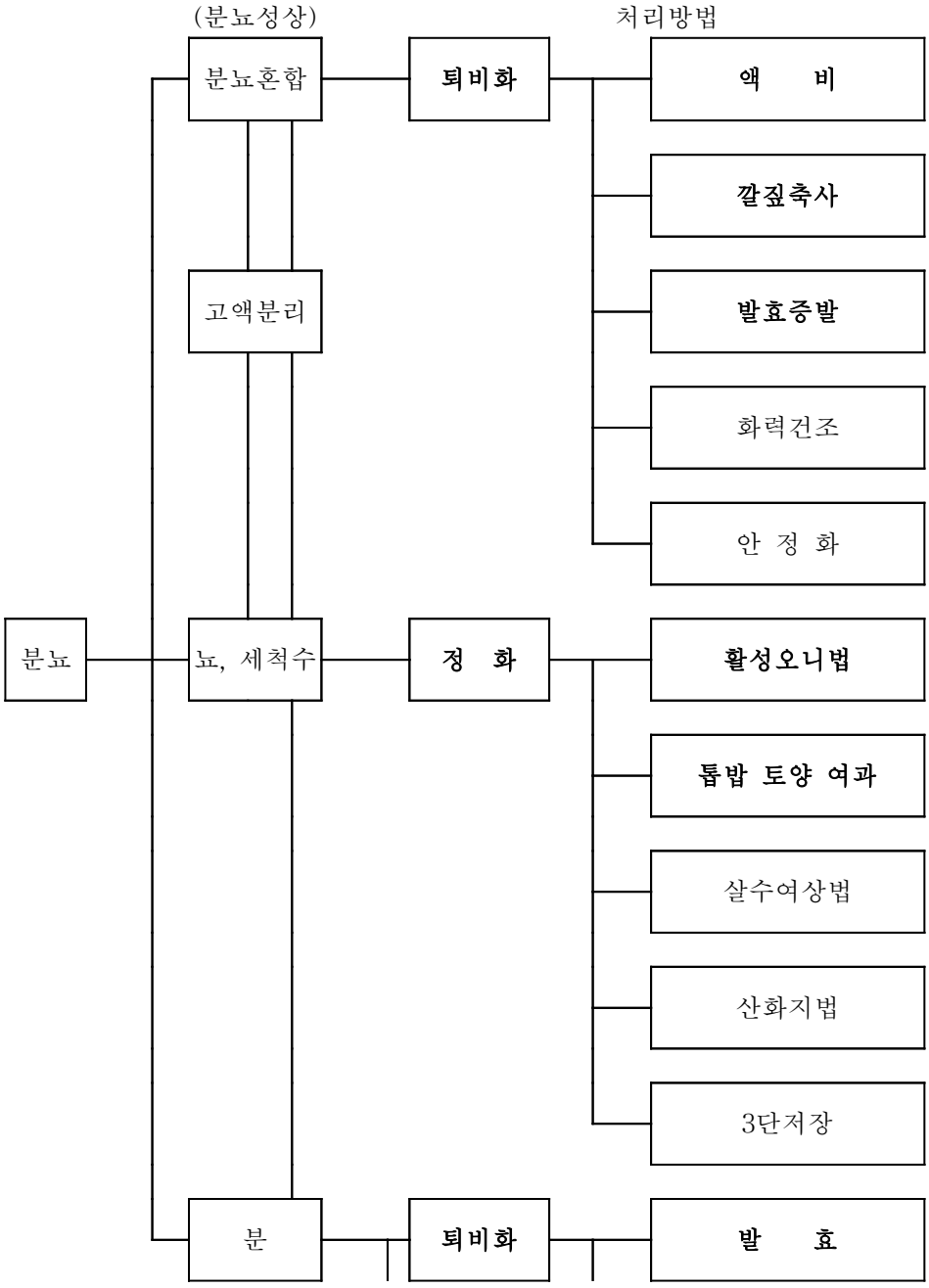
구분	설치 대상	설치 농가	자원화(퇴비·액비)시설					정화방류시설		
			퇴비화 시설	저 장 액비화	톱밥 축사	기타	계	정화 조	기타	계
허가대상	7,980	7,897	4,695	1,088	1,028	121	6,932	857	108	965
(%)		(100)	(68)	(15)	(15)	(2)	(88)	(89)	(11)	(12)
○소	3,347	3,280	2,005	190	772	34	3,001	264	15	279
○돼지	4,663	4,617	2,690	898	256	87	3,931	593	93	686
신고대상	41,803	39,061	20,120	4,195	8,257	740	33,312	5,461	288	5,749
(%)		(100)	(60)	(13)	(25)	(2)	(85)	(95)	(5)	(15)
○소	26,363	24,520	12,863	1,494	6,953	286	21,596	2,823	101	24,520
○돼지	10,687	10,209	3,735	2,660	918	124	7,437	2,590	182	2,772
○닭	4,762	4,332	3,522	41	386	330	4,279	48	5	53
간이대상	32,864	28,398	11,839	3,160	6,619	622	22,240	5,939	219	6,158
(%)		(100)	(53)	(14)	(30)	(3)	(78)	(96)	(4)	(22)
○소	28,114	24,185	10,271	2,393	6,263	478	19,405	4,623	157	4,780
○돼지	3,394	3,134	723	765	250	51	1,789	1,290	55	1,345
○닭	1,356	1,079	845	2	106	93	1,046	26	7	33
합계	82,647	75,356	36,654	8,443	15,904	1,483	62,484	12,257	615	12,872
(%)		(100)	(59)	(14)	(25)	(2)	(83)	(95)	(5)	(17)
○소	57,824	51,985	25,139	4,077	13,988	798	44,002	7,710	273	7,983
○돼지	18,705	17,960	7,148	4,323	1,424	262	13,157	4,473	330	4,803
○닭	6,118	5,411	4,367	43	492	423	5,325	74	12	86

자료 : 농림부, 1999

축산분뇨처리 및 자원화 정책의 문제점으로 ① 축산분뇨처리시설 및 기계·장비가 조기에 노후화 되어 고장, 가동중단 등 일부 관리부실, ②축산농가의 경우 경지면적이 협소하여 액비살포면적 확보곤란, ③축산분뇨는 6개월이상 부숙할 저장시설이 필요하고(汚糞法施行規則 제53조 제 1항) 농가에서 분뇨운반 및 살포장비를 확보하는 것은 현실적으로 곤란, ④액비를 농경지에 시용시 악취발생으로 인근 주민의 민원 야기, ⑤미숙 액비를 사용시 토양의 염류집적, 지하수 오염 우려, ⑥ 축분퇴비의 품질 및 유통체계구축 등 미흡으로 경종농가에서는 축분퇴비에 비해 값싸고, 시용이 편리한 화학비료를 선호하는 반면, 생산 업체들은 생산비가 높아 경영 악화등의 문제점을 일으키고 있다.

이러한, 처리에 문제가있는 축산폐기물의 연구는 ① 자원화 방안 ② 고부가가치 부산물을 획득 ③ 국내의 토착기술 확립 ④ 대외적인 기술적 경쟁력 등이 확보되어야 한다. 특히 자원화와 고부가가치 부산물을 획득해야 한다는 측면은 신기술공정에서 필수적으로 고려해야 하는 항목이다.

그림 1 가축분뇨 처리방법



광합성세균은 자연계에 넓게 분포하며, 전자공여체로서 저급지방산이나 황화수소 등을 필요로 한다. 고등식물이나 조류는 광합성할 때에 물을 광분해하여 산소를 방출하는데, 광합성 세균은 모두 산소를 방출하는 것은 아니고 그 대신 수소가스를 발생 한다

광합성 세균의 자연계 분포는 매우 넓고 논, 하천, 하안토, 하수처리장 등, 담수상태인 곳에는 대부분 존재하고 있다. 광합성세균은 영양요구성이 다른 미생물보다 단순하고, 증식 특징이 매우 다양하여 호기적 명조건 (Aerobic light), 호기적 암조건(Aerobic dark), 혐기적 명조건(Anaerobic light), 혐기적 암조건(Anaerobic dark)의 어떤 환경조건에서도 산소의 확산속도에 관계없이 활발히 생육할 수 있다. 또한 편모를 가지고 있어, 운동성이 있기 때문에 기질의 섭취속도가 뛰어나다. 광합성세균은 생리 생태학적 특성에 따라4과로 분리되고 있다.

광합성세균의 생태학적 분리는 표.3 와 같다

표 3 광합성세균의 생태학적 분리

Rhodos-pirillales	Rhodospirillaceae (홍색 비유황세균)	Rhodospirillum	rubrum, tenue, fulvum,
		Rhodopseudo-monas	palustris, gelatinosa, capsulsta
		Rhodomacrobium	Vanjielii
	Chroma-tiaceae	Chromatium	weissei, buderi, minus, vinosum
		Thiocystis	vioacea, gelatinosa
		Thiosaricina	risea
	Chlorobiaceae	Chlorobium	limicola, vibrioforme, Phaeovibrioi
		Prostherochlois	phaeovibrioides
		Chloropseudo-monas	

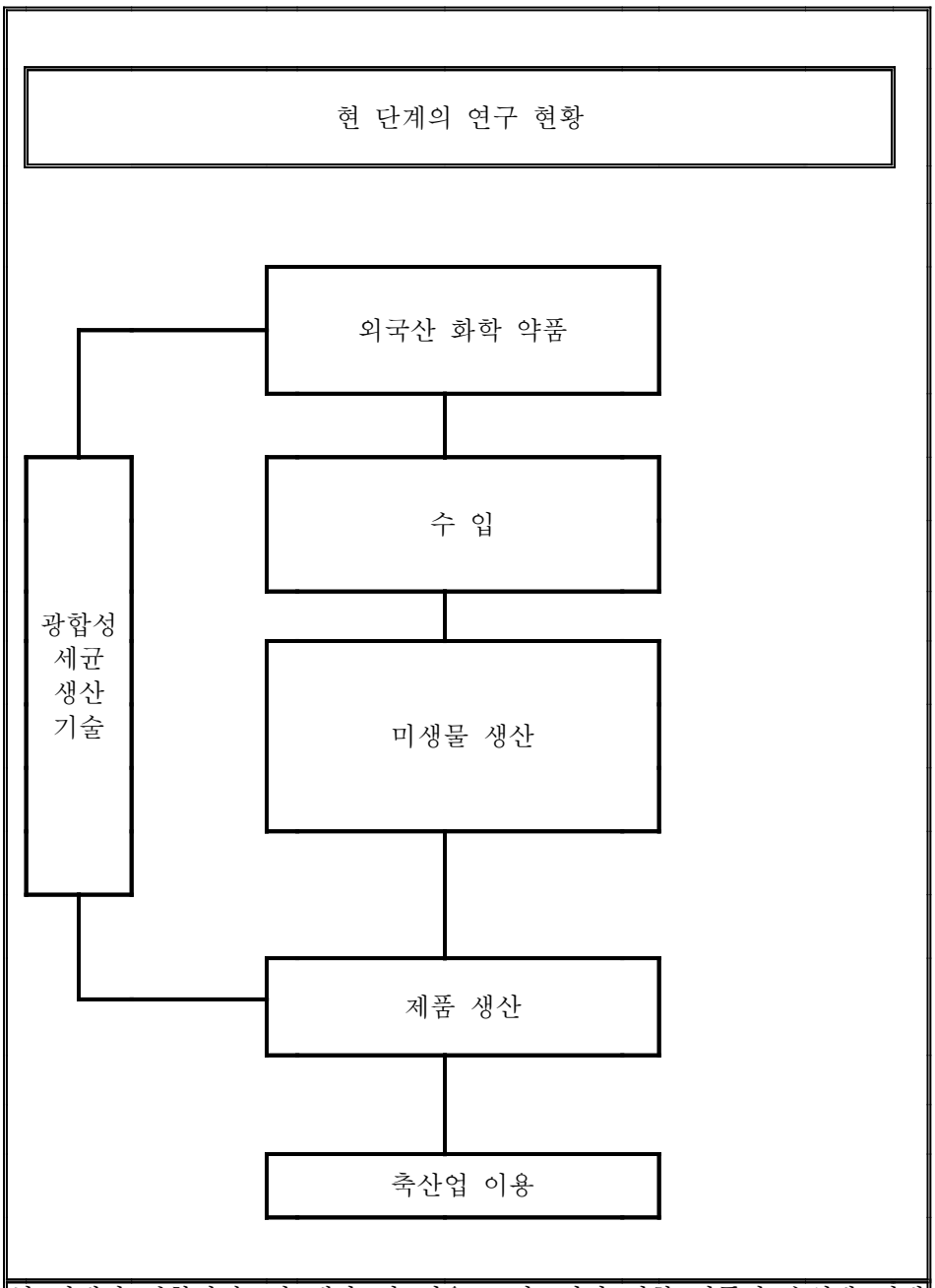
이런 광합성세균은 지구의 생태계를 유지하며, 인류에게는 제약 개발 분야, 농업분야, 환경분야, 발효식품분야 등 다양한 산업에 있어서 중요한 역할을 수행하여 왔다. 특히, 자연계나 오염된 호수 등에 서식하는 광합성세균은 경종농업

분야, 축산분야를 비롯한 환경정화분야에 이용되는 균제로서, 최근 그 이용분야가 점점 확대되고 있는 유용균주이다

광합성세균의 분해기질로는 주로, 저분자 유기산, 아미노산, 당 등이며, 저분자유기산을 기질로 하는 것은 메탄균이나, 주글레아(Zoogloea)와 같으나, 주글레아가 점성이 강한 floc을 형성하는 반면, floc 안에 확산되어 있는 산소량에 비해 유기물량이 많을 경우, floc 내부에서는 혐기성조건이 되고 따라서 호기성인 주글레아는 증식속도가 저하되는 반면, 광합성세균은 산소의 확산속도에 관계없이 활발히 생육하는 생리적 특징을 가진다.

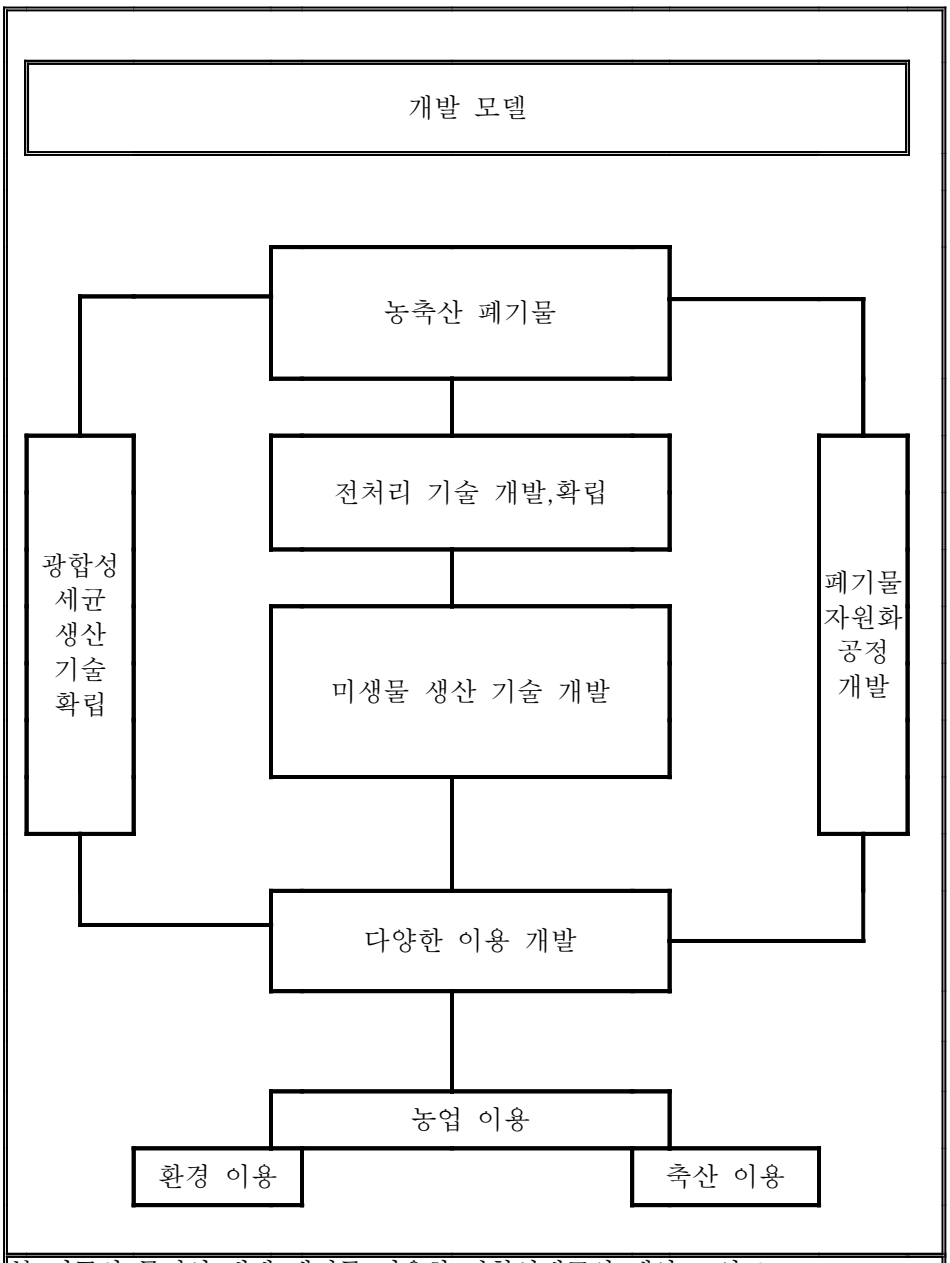
이러한 광합성세균을 배양하는데 있어서 현재는 그림.2 에서 제시하는 것과 같이 값비싼 외국산 화학약품을 수입하여 그 배양배지로 이용하고 있으며, 이는 생산원가의 증가를 가져와 제품의 원활한 생산에 애로점으로 작용하고 있다. 따라서 이러한 광합성세균의 생산에 이용할 수 있는 대체품을 개발하는 것이 본 연구의 목적이다.

그림 2 광합성세균의 현재 연구 및 생산 방법



현 단계의 광합성세균의 생산 및 이용 모식도이며 화학 약품의 수입에 의해 제품생산이 이루어짐

그림 3 본 연구의 목적인 대체배지를 이용한 광합성세균 생산



본 연구의 목적인 대체 배지를 이용한 광합성세균의 생산 모식도
폐기물이 오염물질이 아닌 광합성세균의 배지로의 고부가가치화

제2장. 농축산 폐기물을 이용한 광합성세균 배지 연구

제1절. 개론

농축산폐기물중에서 광합성세균의 생육에 적합할 것으로 예상되는 대상물질을 선정하고 그 중에서도 특히 연간 발생량이 많고, 산발효 공정 등의 기초적인 대사과정이 비교적 잘 연구되어진, 가축분뇨 중 양돈분뇨를 대상으로 연구를 하였다.

특히 혐기적 상태 하에서 시료의 유기물함량별 및 시간별 온도별 특성을 각각 분석하였으며, 가장 중요한 탄소원의 변화에 대하여 알아보았다.

각각의 처리 공정별 과정을 통하여 얻어진 대상 시료들은 분리되어진 광합성세균의 배양배지로서의 이용가능성이 평가되어졌다.

제2절. 연구재료

1.시료

본 연구에 이용된 시료는 강원도 원주시에 위치한 'H'농장과 경기도 일원에 위치한 'J'농장에서 각각 Sampling하여 실험에 이용하였다. 각각의 시료는 분과 뇨를 별도로 수거하여 실험에 이용하였으며, 이때 사용된 시료의 성상은 표. 4과 같다.

표 4 양돈 슬러리의 이화학적 성상

구 분		양돈분뇨 슬러리 평균	구 분		양돈분뇨 슬러리 평균
pH		6.86	Salts	K(K^+(ppm))	2,846
TS(%)		5.1		Na (Na^+(ppm))	639
VS(%)		72.42		Mg (Mg^{2+}(ppm))	299
BOD_5(ppm)		26,040		Ca (Ca^{2+}(ppm))	897
COD_{Mn}(ppm)		5,210			
N	TN(ppm)	4,893	Heavy metals	As	<0.11
	Org-N(ppm)	2,970		Cd	0.21
	NH_4^+-N(ppm)	1,923		Cr	0.25
	NO_2^--N(ppm)	48		Pb	<0.04
	NO_3^--N(ppm)	20		Co	0.23
P	TP(ppm)	838		Ni	0.96
	PO_4^--P(ppm)	779		Se	
F^-(ppm)		284	Acetic acid		4,687
Cl^-(ppm)		1,257	Propionic acid		1,187
SO_4^-(ppm)		247	Butyric acid		978
B (B^-(ppm))		41.6	Valeric acid		569

가. 폭기처리시 변화

양돈분뇨를 실험에 이용하기위하여 폭기공정을 실시하였는데, 이는 시료의 균일성확보와 고분자유기물의 저분자화를 시키기 위하여 시행하였다. 저분자화된 시료의 성상은 표 5에 제시 하였으며, pH 는 7.07이고 S-COD는 23,657mg/l 이었으며, VFAs중 Acetic Acid 는 873mg/l 이었다.

표 5 양돈슬러리의 저분자화 처리후 이화학적 성상

구 분	저분자화 공정 도입 (48시간 폭기 : 200ml/min.L)
pH	7.07
S-COD	23,657
NH_4-N	5,430
PO_4-P	51
Acetate	873
Propionate	425
iso-Butyric	51
n-Butyric	177
iso-Valeric	74
n-valeric	22

제3절. 연구장치 및 운전방법

1. 산발효 조건 검토

시료액은 10ℓ용 반응기에 각각 5ℓ씩 분주하였다. 반응기의 재질은 유리로서 내부에 변화를 관찰할 수 있도록 하였으며, 입구는 실리콘마개를 이용하였고 직경 0.5㎝의 구멍을 두 개 만들어 반응기내부의 가스가 외부로 배출되도록 하였다. 공기의 역류를 막기 위하여 배출유로는 물속에 잠기도록 하였다. 반응기는 실험기간동안 일정한 온도를 유지할 수 있는 Water Bath에 정치시켜 실험 하였으며, 직사광선이 비치지 않고 기상에 영향을 받지 않는 장소에서 정치 운전하였다.

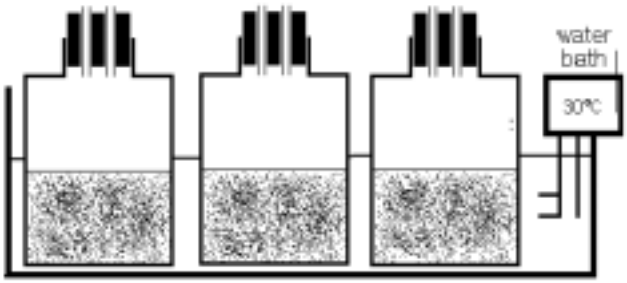


그림 4 산발효 실험에 이용된 실험 장치 및 운전방법

실험방법은 각각의 실험목적에 따라 각각 다르게 진행하였다

첫째, 광합성세균의 생육에 가장중요하다고 생각되는 탄소원 중에서 온도에 따른 VFAs의 변화를 살펴보기위해 25℃, 30℃, 35℃에서 반응기 내부액의 VFAs의 변화를 측정하였다.(표.6,) 또한, 고형물의 함량에 따른 VFAs의 생성율을 알아보기 위해 표.7과 같이 실험하였다.

표 6 온도변화에 따른 VFAs의 생성율 비교를 위한 반응기 운전방법

구 분	Total Solid(%)	Temperature
Treatment-1		25℃
Treatment-2	6%	30℃
Treatment-3		35℃

표 7 고형물함량에 따른 VFAs의 생성율 비교를 위한 반응기 운전방법

구 분	Total Solid(%)	Temperature
Treatment-1	3.6%	30℃
Treatment-2	4.6%	
Treatment-3	5.9%	
Treatment-4	6.9%	

둘째, 30℃ 정치 하에서 반응기의 운전기간 동안에 반응기내부액의 탄소원, 질소원, 인의 변화를 각각 측정하였다. 본 실험기간동안에는 반응기내부액의 처리구를 고형물함량에 따라 구분하였으며, TS 1.5%의 시료를 Treatment-1(T-1), TS 3%의 시료를 Treatment-2(T-2), TS 4.5%의 시료를 Treatment-3(T-3), TS 5.69%의 시료를 Treatment-4(T-4)로 각각 구분하였다.

표 8 고형물함량별 산발효 효과실험시 반응기 운전방법.

구 분	고형물함량(%)	Temperature
Treatment-1	1.5	30℃
Treatment-2	3.15	
Treatment-3	4.52	
Treatment-4	5.79	

셋째, 온도에 차이에 따른 변화를 알아보기 위하여 동일한 고형물량에서 온도 변이를 주어 실험을 하였다. 20℃(T-1)와 35℃(T-2), 그리고 45℃(T-3)로 구분하여 실험을 진행하였다

표 9 온도변화에 따른 산발효 효과실험시 반응기 운전방법

구 분	Temperature	고형물함량(%)
Treatment-1	20℃	
Treatment-2	35℃	4.5%
Treatment-3	45℃	

2. 선택원료의 전처리 방법 확립

선택원료의 전처리 공정시 중요한 공정은, 파쇄나 선별 혹은 중화 작업이 중요할 것으로 판단되었었다. 그러나, 선택원료를 이용한 광합성세균의 배양에 있어서 중요한 점은 산발효 이후의 고액분리의 고효율화가 중요하였다. 그것은, 광합성세균의 배양에 있어서 필수적인 요소가 빛으로서, 배양기에서의 빛 투과 효율 감소는 광합성세균의 증식에 가장 큰 영향을 끼치기 때문이다.

고액분리 공정에 관한 문헌 고찰을 통하여, 기존에 많이 이용되고 있는 원심분리 방법이외에 M/F나 C/F를 이용한 막분리 공정을 도입하였다. 막은 Micro Filtration과 Ceramic Filtration 두 종류의 막을 이용하였다.

막에서의 막종류에 따른 투과능력과 성상, 지속성이 실험되었으며, Micro Filtration은 투과율을 FLUX 3에 고정시키고 압력차를 이용한 막세정을 실시하였다. 막세정 간격은 기존연구를 통해 8분 가동후 2분 정지하는 방법을 적용하였다. Ceramic Filtration 방법은, 콤푸레샤를 이용하여 역세척을 실시하였으며, 이때의 압력 변화 및 Flux 등을 실험하였다.

그림 5 중공사막모양그림 6 세라믹필터system 그림 7세라믹필터system

표 10 산발효액의 고액분리에 이용된 막의 특성

막 형태	중공사막	세라믹 필터
pore size	0.4㎛	0.8㎛~10㎛
사용온도	40℃	고온고압
적정pH범위	2~11	1~14

표 11..산발효액의 고액분리에 이용된 막의 운전방법

구 분	중공사막	세라믹 필터
FLUX(ℓ/㎡hr)	3	4
on/off(min)	8/2	6.5
Type	압력, TS, 추가투입시의 변화	60S 가동/ 3S 역세

3. 축산분뇨에서의 광합성세균의 생육실험

전처리된 양돈폐수와 계분을 이용하여 광합성세균의 배양가능성을 검증하기 위하여 2.5ℓ Jar-Fermentor를 이용, 광합성세균의 생육을 알아보았다. 전처리된 액은 색도 및 탁도가 높기 때문에 VFAs의 농도 1,500mg/ℓ를 기준으로 증류수를 이용하여 희석한 후 배양에 이용하였다.

양돈폐수를 이용하여 광합성세균의 최적생육조건을 검토하기 위하여 전처리 원액(Run-1)과 색도와 탁도를 줄이기 위해 VFAs농도 1,500mg/ℓ 정도로 희석한 액(Run-2), 마지막으로 희석한 액을 0.5N HCl을 이용하여, 중화한 액(Run-3) 으로 광합성세균의 생육조건을 검토하였다. 기타 가동 조건은 동일하게 30℃, 2000Lux에서 실험을 실시하였다.

표 12 양돈폐수를 이용한 광합성세균 배양조건실험

구 분	배양방법	고정 가동조건
Run-1	전처리 원액	30℃ 2000Lux
Run-2	VFAs 1500mg/ℓ 농도로 희석	
Run-3	Run-2의 중화	

제4절. 분석항목 및 분석방법

각각의 분석항목 및 분석방법은 표13과 같다. 처리 전후 및 내부액의 성상변화는 공정시험법과 standard method에 따라 pH, CODcr(Chemical Oxygen Demand, COD), SCODcr(Soluble Chemical Oxygen Demand, SCOD), NH_4-N(Ammonium Nitrogen, NH_4-N), PO_4-P(soluble Phosphorus, PO_4-P), VFAs(Volatile Fatty Acids, VFAs), TS(Total Solid, TS), VS(Volatile Solid, VS), 등을 분석하였다.

특히 pH나 휘발성저급지방산(Volatile Fatty Acids, VFAs)은 산발효액의 성상을 판단하는 지표로 이용하였는데, VFAs의 분석을 위해서는 가스크로마토크래피(Shimadzu GC-14B)를 이용하였으며, 분석조건은 표 14와 같다. 분석을 위해서 각 대상 시료는 적당히 희석하여 원심분리관에 20㎖씩 분주한 후, 1N HCl을 각각 3㎖씩 가하여 pH1～2로 조정하였다. pH를 조절한 시료는 원심분리(10,000rpm, 10min)하고, 상등액만을 Ethyl-ether와 1:1로 혼합하여, 냉동실에서 4시간동안 정치하였다. 분석 시에는 Ethyl-ether층만을 10㎖ 취하여 분석하였으며, 내부표준물질은 iso-Carproic acid를 이용하였다.

SCODcr을 분석하기 위해서는 시료를 1000rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액의 COD를 분석하였다.

표 13 양돈분뇨의 전처리액 분석에 이용된 분석방법

항 목	분석 방법
pH	ORION model 420A
TS (Total Solid)	Standard method
VS (Volatile Solid)	Standard method
T-N (Total Nitrogen)	Ultraviolet spectrophotometric screening method
T-P (Total Phosphorus)	Ascorbic acid method
COD (Chemical Oxygen Demand)	Standard method
SCOD (Soluble COD)	Standard method
VFAs (Volatile fatty acids)	GC/FID (Shimadzu model : GC-14B)

표 14 유기산분석에 이용된 Gas Chromatograph (G・C) 운전조건

GC Model	Shimadzu GC-14B
Colume	Shimalite TPA 60-80
Detector	FID(Flame Ionization Detector)
Flow rate	Air : 0.5㎏/㎠, H_2 : 0.5㎏/㎠, N_2 : 40㎖/min
Temperature (℃)	Detector Temp. : 110, Injector Temp. : 180 Oven Temp. : 125

제5절. 연구 결과

1. 산발효조건의 검토

먼저, 산발효 효율이 극대화 될 수 있는 유기물함량을 고형물함량 기준으로 하여 각각 3%에서 7% 사이로 조절하여 실험을 진행하였다. 그림 8은 각각의 고형물함량을 조절하고, 동일한 30℃조건하에서 24시간 동안에 각각의 총 VFAs의 변화를 살펴본 결과이다. 특히 고형물함량이 높아질수록 유기산의 농도가 높은 것을 알 수 있으며, 고형물함량이 높을수록 내부액의 VFAs의 농도 증가율이 높았으며, 이는 앞으로 산발효 조건검토에서 유용한 지표로 이용될 것으로 사료 된다

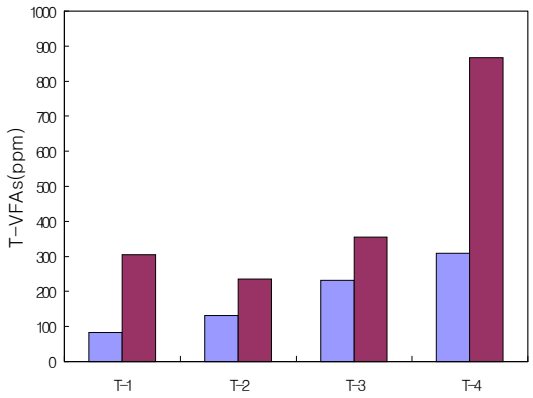


그림 8 고형물함량에 따른 T-VFAs의 변화
T-1(3.6%) T-2(4.6%) T-3(5.9%) T-4(6.9%)

산발효 조건에서 적합한 온도조건을 선정하기위해 25℃ 및 30℃와 35℃ 조건하에서 실험을 진행하였으며, 이때의 고형물 함량은 6%를 기준으로 하였다. 동일한 시간동안 비교 하였을 때, VFAs가 가장 많이 증가한 경우는 35℃에서 운전한 T-3의 경우였으며, 이때의 농도는 450mg/l 이었다.(그림 9)

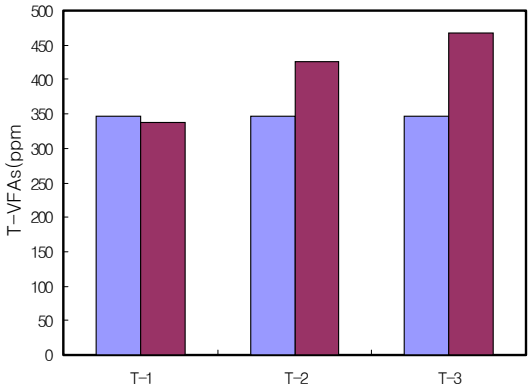


그림 9 온도에 따른 T-VFAs의 변화 (TS=6.05%)

T-1 : Temp. 25℃ T-2:Temp. 30℃ T-3:Temp.35℃

2. 고형물 함량에 따른 이화학적 성상의 변화

실험 1의 결과 유기산의 획득수율을 높이기 위해서는 고형물함량이 4~6%의 범위 내이며, 35℃에서 가장 높은 농도가 나타났으나, 그러나, 온도가 30℃이상이면, VFAs가 증가하고, 30℃이상의 고온으로 유지 시 에너지 투자가 증가하므로, 30℃가 에너지 투자에 대한 VFAs의 증가율이 효율적인 것으로 사료된다. 실험1을 기초로 30℃에서 고형물함량별 실험을 실행하여. 시간에 따른 이화학적성상을 비교하여보고, 각 처리액의 성상변화와 각각의 처리액에서의 광합성세균의 생육 현상을 알아보았다.

가. 고형물함량에 따른 VFAs의 변화

그림 10 부터 그림 15까지는 반응기내에서 고형물함량에 따른 VFAs의 각각의 성분변화를 제시한 결과이다.

그림 10은 Acetic Acid의 농도 변화로서, 실험1의 결과와 동일하게 고형물함량이 높은T-4에서의 농도가 가장 높게 나타나고 있다. 특히 T-4는 시간이 경과될수록 점차 높아지는 경향을 보였으며, 최고 1600mg/l까지 증가하였고, 10

일 이후에는 점차 낮아지는 경향을 보였으며, 다른 처리구의 경우는 3일 이후부터 점차 감소하는 경향을 보였다. T-1,2,3는 증가율이 1.5배를 넘지 못하였으나, T-4는 Acetic Acid의 증가율이 2배까지 늘었다. Propionic Acid도 Acetic Acid와 비슷한 경향을 보였으며, T-4에서만 약 2배의 증가율을 보였다.

다른 유기산의 변화도 Acetic Acid와 Propionic Acid의 변화와 유사한 경향을 보였으며, 그 변화모습을 아래 그림으로 나타내었다.

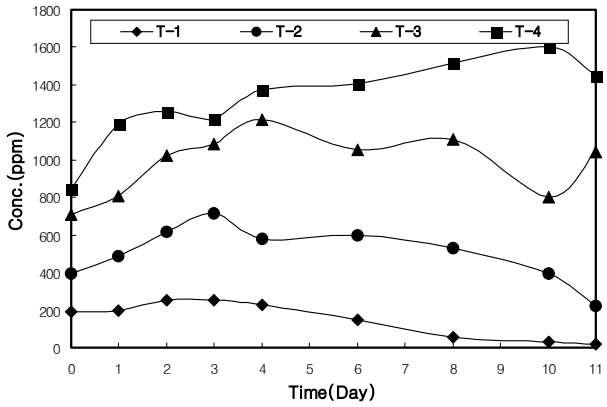


그림 10 30℃에서 산발효시 Acetate의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

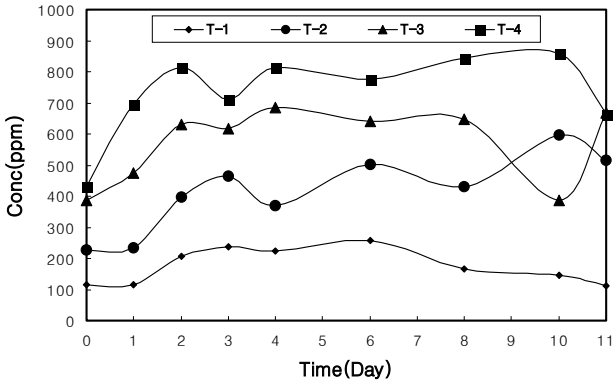


그림 11 30℃에서 산발효시Propionate의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

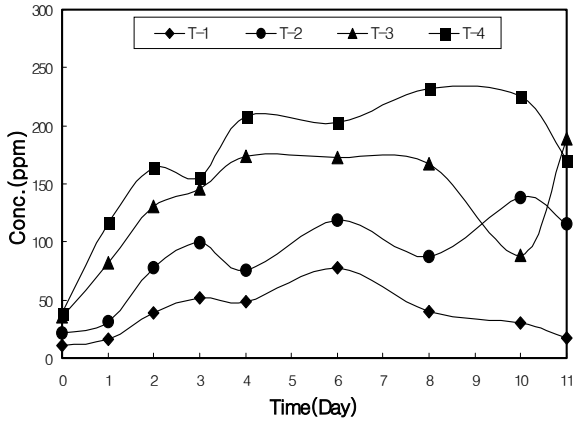


그림 12 30℃에서 산발효시iso-Butyric acid의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

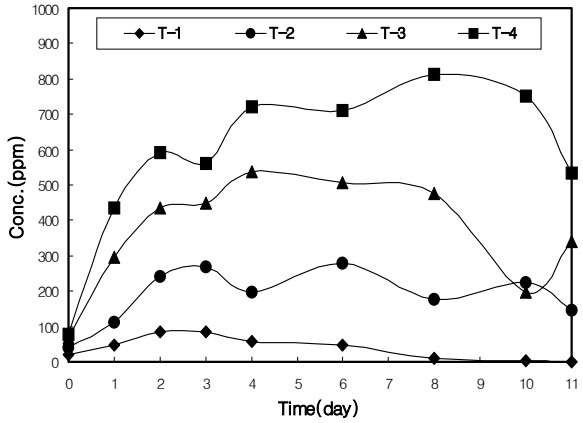


그림 13 30℃에서 산발효시n-Butyric acid의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

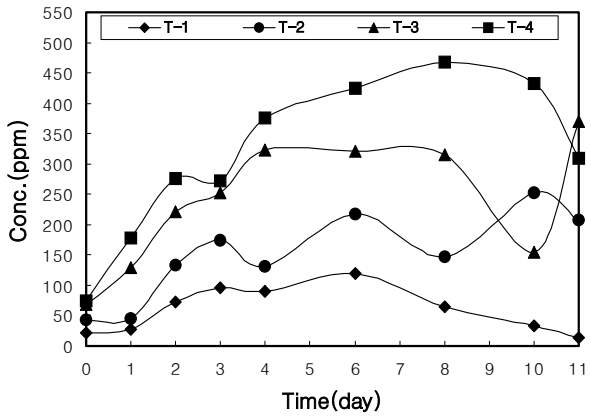


그림.14 30℃에서 산발효시iso-Valeric acid의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

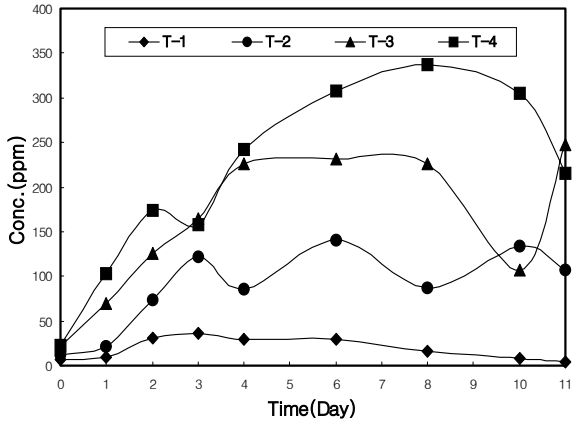


그림 15 30℃에서 산발효시n-Valeric acid의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

그림.16은 시간에 따른 반응기내의 총VFAs의 변화를 제시한 결과이다. 최초 1500mg/l이었던 농도는 고형물함량이 낮았던 T-1을 제외하고는 모든 처리구에서 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 가장농도가 높게 유지

되는 경우는 T-4의 경우였다. 최고 농도 4000mg/l 이상 이었으며, 10일 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 이것은 시간이 경과되면서 황산염환원세균이나 메탄세균 등이 정착되면서, 이러한 세균들이 유기산을 이용하여 가스를 생성했기 때문인 것으로 사료된다.

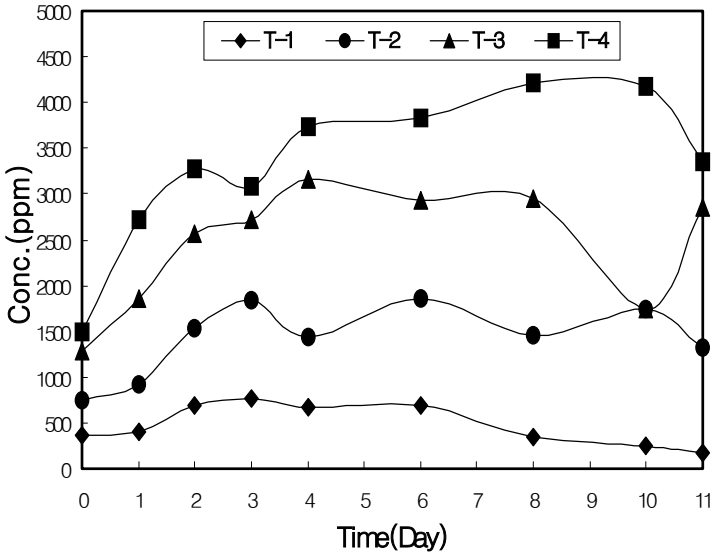


그림 16 30℃에서 산발효시VFAs의의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

나. NH_4-N과 PO_4-P 의 변화

탄소원 으로서의 VFAs의 농도와 함께 중요한 자료가 반응기내의 질소성분의 변화이다. 특히 미생물이 흡수할 수 있는 농도로서 중요한 자료가 이온화된 상태로 존재하는 NH_4-N의 농도로서, 각각의 고형물농도에 따라 각기 다르게 변화 되었다. 농도가 가장 높은 경우는 T-4로서 6,000mg/l에서 14,000mg/l 으로 시간이 경과함에 따라 증가되었으며, 전반적으로 다른 처리구 에서도 증가하는 경향을 보였다. 가장 낮은 경우는 T-1으로, 6,000mg/l 이하를 보였다.
(그림17)

실험기간동안 PO_4-P의 변화는 그림 18 와 같다. 그림에서 제시된 것처럼, 반응기내의 PO_4-P의 농도는 200mg/l이하를 나타내었다. 역시 T-4에서의 농도가 가장 높았지만, VFAs나 NH_4-N의 농도차에 비하여 농도차이가 크지 않았다.

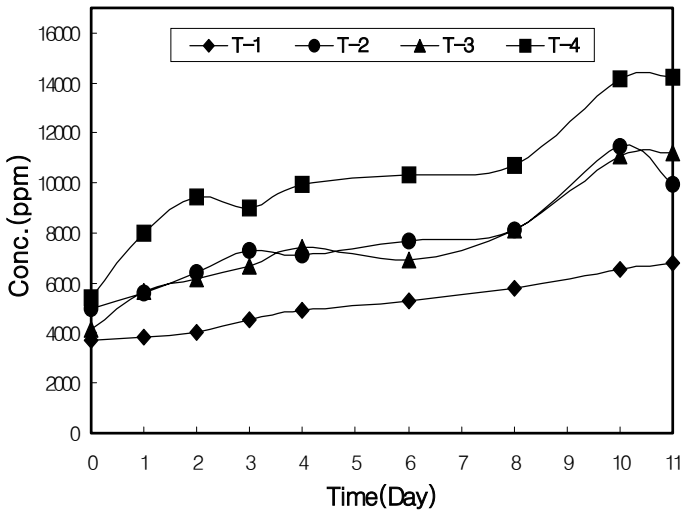


그림 17 30℃에서 산발효시의의 NH_4-N생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

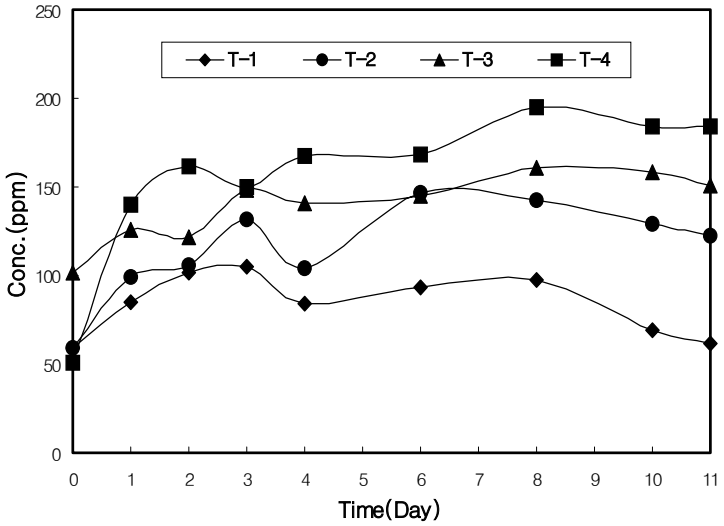


그림 18 30℃에서 산발효시의의 PO_4-P의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

다. S-COD의 변화

그림 19는 시간경과에 따른 반응기내의 SCOD의 변화를 제시한 결과이다. 고형물함량을 낮게 조절한 T-1의 경우는 10,000mg/l 정도를 유지하였으며, 고형물함량이 6%로서 가장 높은 T-4의 경우에는 25,000mg/l이상을 유지하였다. 시간이 경과 될수록 고형물이 분해 되면서 SCOD의 농도가 높아지는 것으로 보여지며, 고형물함량에 따라 SCOD의 차이도 거의 일정하게 변화되었다.

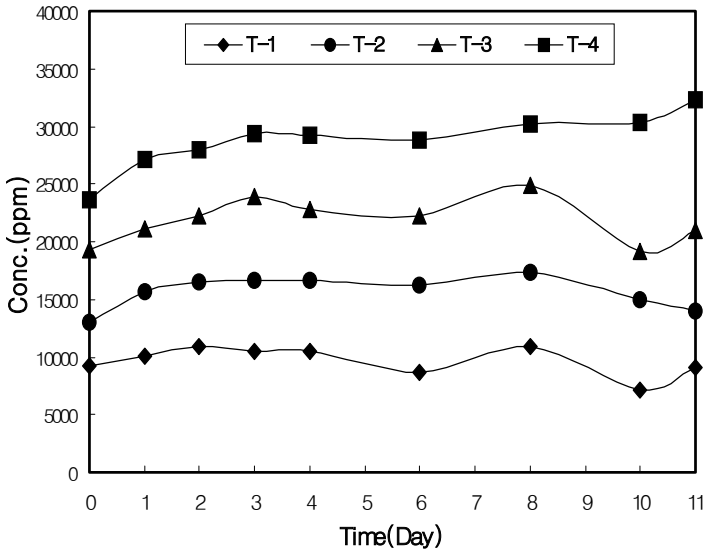


그림 19 30℃에서 산발효시의 SCOD 의 생성농도변화

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

라. 전처리된 조정배지에서의 광합성세균의 배양

그림 20.은 양돈분뇨를 TS별로 처리하면서, 매일 일정량을 sampling하여 처리액의 상등액을 원심분리하여 고액분리한 후 그 상등액에 광합성세균을 접종하여 생육시킨 결과로서, 산발효 후 2~3일 사이에 균체 농도가 높았으며, 고형물함량이 낮은 T-1이나, 고형물함량이 가장 높은 T-4에서의 생육보다는 T-3와 T-2에서의 생육이 보다 더 우수한 것으로 나타났으며, 가장 우수한 생육을 보인 처리구는 T-3이다.

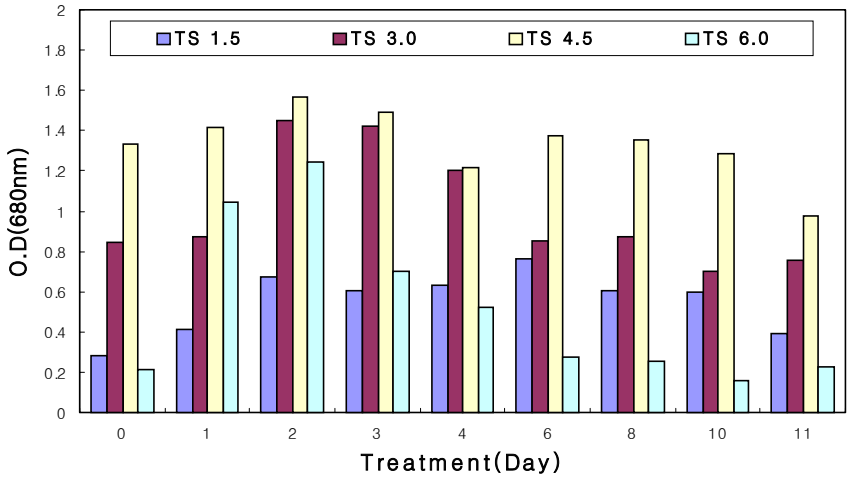


그림 20 양돈분뇨 상등액을 이용한 생육 비교

※ 양돈분뇨의 전처리 후, 48시간 동안 배양한 결과임

T-1 : TS 1.5%, T-2 : TS 3.15% T-3: 4.52% T-4 : TS 6.9%

3. 처리온도에 따른 pH 및 VFAs의 성상 변화 (TS 4.5%일 경우)

유기산의 농도만을 비교할 경우에는, 총 고형물 농도가 높을수록 유기산의 농도도 높아졌다. 그러나, 광합성세균 생육조건(총 고형물 함량이 3~4.5%에서 생육이 우수) 및 전처리 조건(선택원료의 전처리에 분리막을 이용할 경우, 고형물 농도가 5%이상이 되게 되면 Fouling현상이 급격하게 발생)등을 고려하여, 고형물 농도를 4.5%로 고정시키고 연구를 진행하였다.

동일하게 폭기공정을 통하여 물질의 저분자화를 유도시켜 초기 pH가 7.5로 설정하였으며, 온도는 45℃와 20℃로 구분하여 실험을 진행하였다. 온도를 45℃로 유지시킨 경우 pH가 초기에 잠시 낮아지다 상승하는 모습을 보였으며, 유기산의 소모량도 많아 시간이 지날수록 감소하는 경향을 보였다. 이것은 고온상태에서 혐기적으로 분해 되면서 유기산의 분해가 빨리 이루어졌기 때문인 것으로 판단된다.

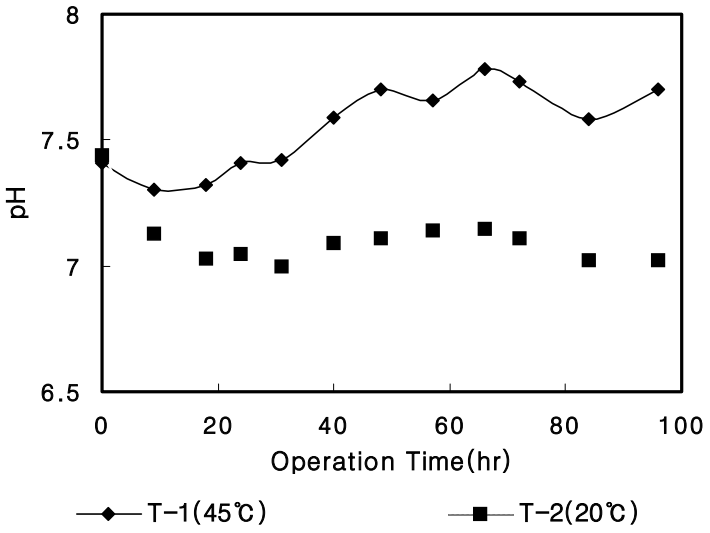


그림 21 온도에 따른 신발효 시 반응기내 pH의 변화

T-1 : 45℃, T-2 : 20℃

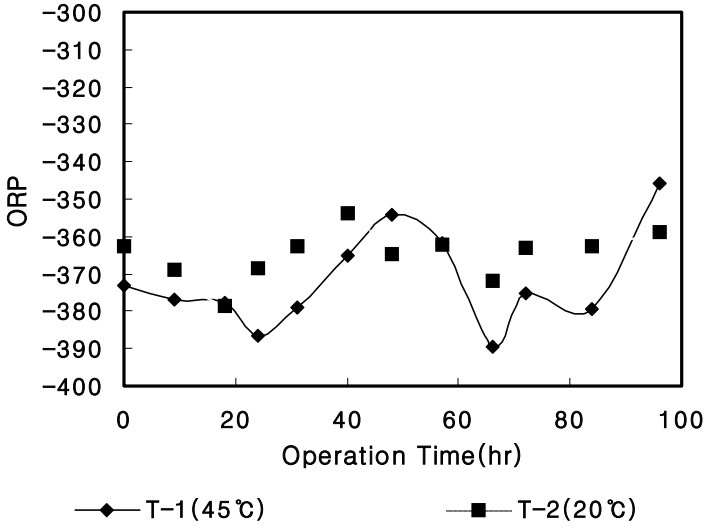


그림 22 온도에 따른 산발효 시 반응기내ORP의 변화

T-1 : 45℃, T-2 : 20℃

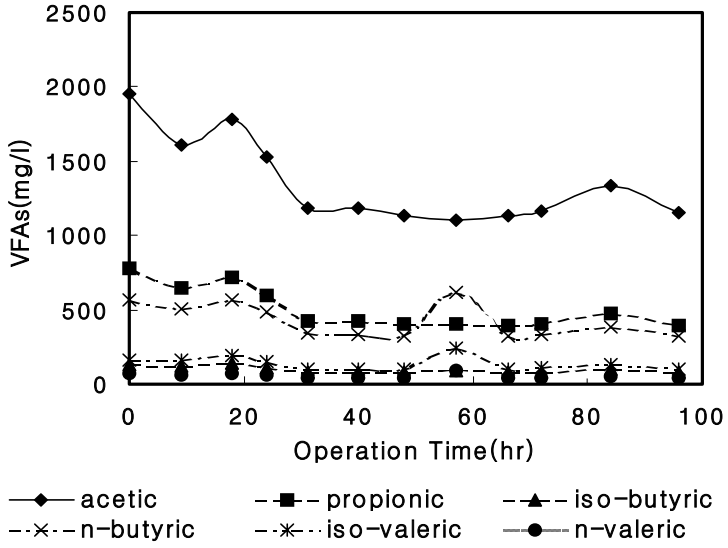


그림 23 온도에 따른 산발효 시 반응기내 VFAs의 변화(45℃)

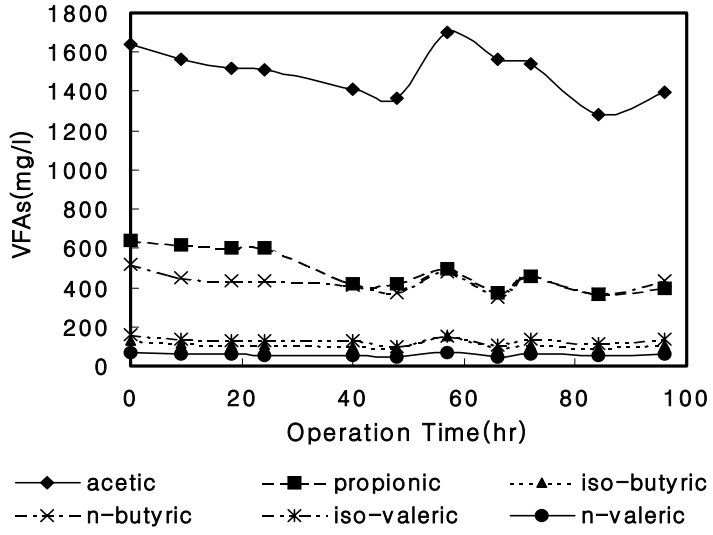


그림 24 온도에 따른 산발효 시 반응기내 VFAs의 변화(20℃)

4. 선택원료의 전처리 방법 확립

양돈분뇨를 산발효 처리 후 광합성세균 배양에 이용 시 고형물 입자에 의한 빛의 산란으로 인하여 빛 투과에 지대한 영향을 미쳐 고형물의 효과적인 제거가 필요하다. 고액분리 방법은 여러 방법이 있으나 본 연구에서는 Micro Filer와 Ceramic Filter를 이용하여 고액분리 효율을 알아보았다.

가. Micro Filtration 방법 적용시 누적투과량과 기타 특성

Micro Filter를 이용하여 추가적으로 시료를 투입하면서, 그때의 시간에 따른 FLUX, 압력 및 누적투과량과 기간경과에 따른 압력변화를 실험하였다.

이때, 원시료를 이용할 경우에는 급격한 Fouling이 발생하여, 시료는 120mesh 의 sieve를 이용하여 일차적 선별하여 실험하였다. 먼저, 매시간 FLUX가 3이 되도록 조절하였으며, 8시간을 가동한 후 추가적으로 시료를 투입하면서 가동하였다. Flux를 일정하게 유지시키면서 지속적으로 가동시 압력은 15cmHg에서 점차 증가하는 것을 볼 수 있었다. 막세정후에 가동시간에 따른 막에서의 압력 그림은 그림 25와 같다.

고형물 함량과 TS의 변화는 그림 27과 같다. 시료가 막을 투과함에 따라, 반응기내의 고형물 함량은 증가하였으며, TS가 5.97%이상일 경우에는 압력이 급격하게 상승하였다.

결과적으로, 산발효액의 정상적인 운전을 위해서는 압력은 30cmHg이하 TS 5%이하에서의 운전이 가능한 것으로 판단되었으며, 산발효시의 기준은 휘발성저급지방산의 농도도 중요하지만, 고형물 함량의 조절이 중요한 인자로 판명되었다.

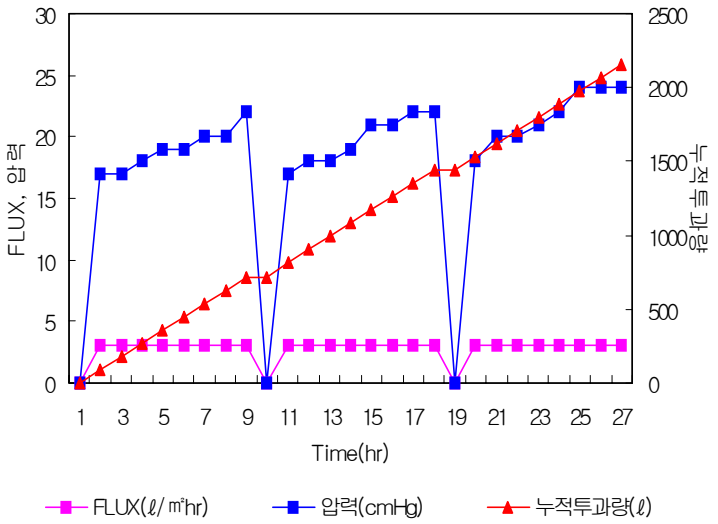


그림 25 M/F처리시 시간별 투과량과 압력의 변화

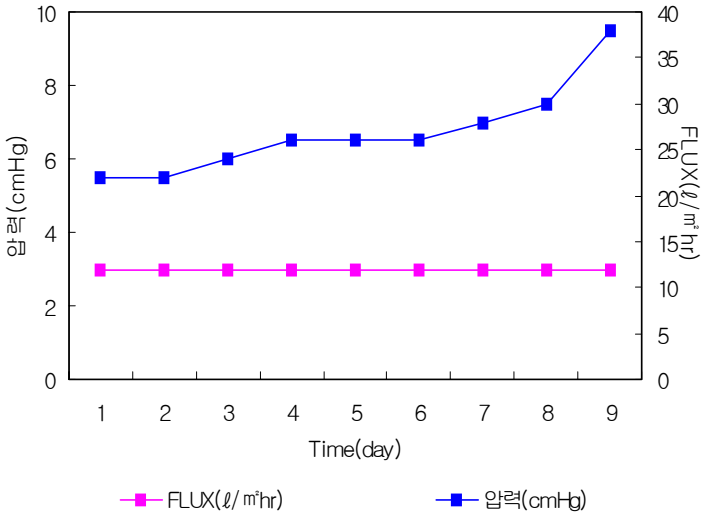


그림 26 M/F처리시 시간별 투과량과 압력의 변화

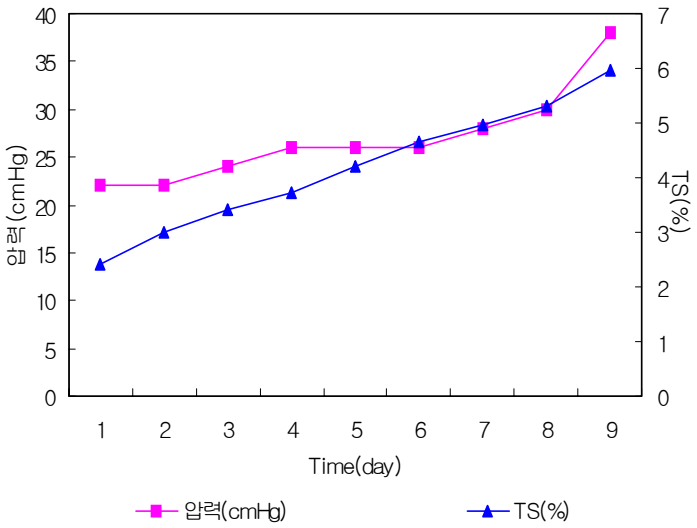


그림 27 M/F처리공정시 처리액내 고형물함량 및 TS의 변화

나. Ceramic Filtration 방법 적용시 투과특성

세라믹 필터를 이용한 세라믹 필터의 특성 연구에 있어서는, 막투과 압력과 역세정압력을 각각 4kgf/㎡, 6.5kgf/㎡으로 일정하게 유지하며, 압력 변화를 도출하였다. Filter는 A-350과 A-200 및 A-18을 각각 이용하여 실험하였다.

A-350(pore size 약 8~10㎛)의 경우, 15일간을 기복없이 거의 일정한 투과량을 보이며 안정적인 운전이 지속되었다. 그림 28은 FLUX와 투과량, 압력과의 관계를 세분화시켜서, 15일째 경과된 후의 24시간 동안의 변화이다. 압력을 높일 경우(6kgf/㎠), FLUX가 다소 높아지긴 하였으나, 역세압력이 투과압력과 같아지거나 낮아져 역세정 능력이 현저히 떨어졌다.

A-200(pore size 약5~8㎛)은 가동 후 7시간정도가 경과시에, 급격한 fouling 으로 투과량이 현저히 떨어지는 것을 관찰할 수 있었고, 9시간을 경과하며 더 이상 가동이 불가능하였다. 막의 재세척 후에도 5시간만에 다시 Fouling이 발생하였다.(그림 29)

A-18(pore size 약0.8㎛)은 A350을 통과시킨 후 그 처리액을 이용하여 실험하였다. 총 가동시간은 5일동안 연속적 운전이 가능하였으나, 투과량이 불안정하고 Flux 가 불안정하여 고액분리 이용에 어려움이 있을 것으로 사료된다. (그림 30)

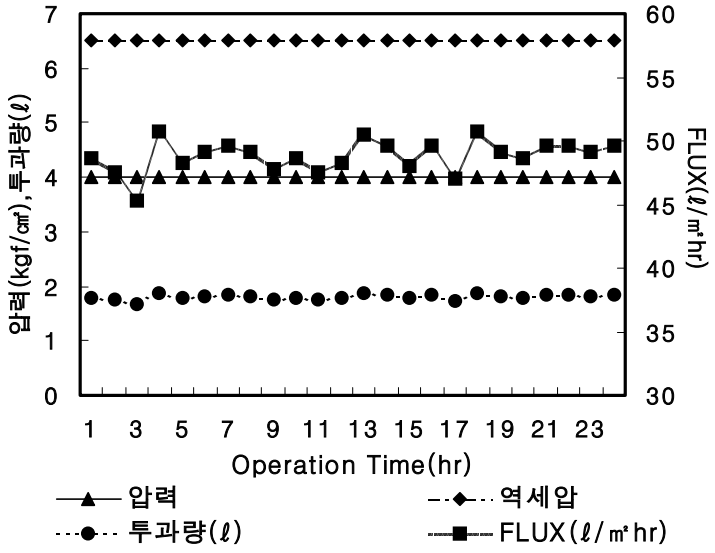


그림 28 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화

(A-350 : 약8～10㎛)

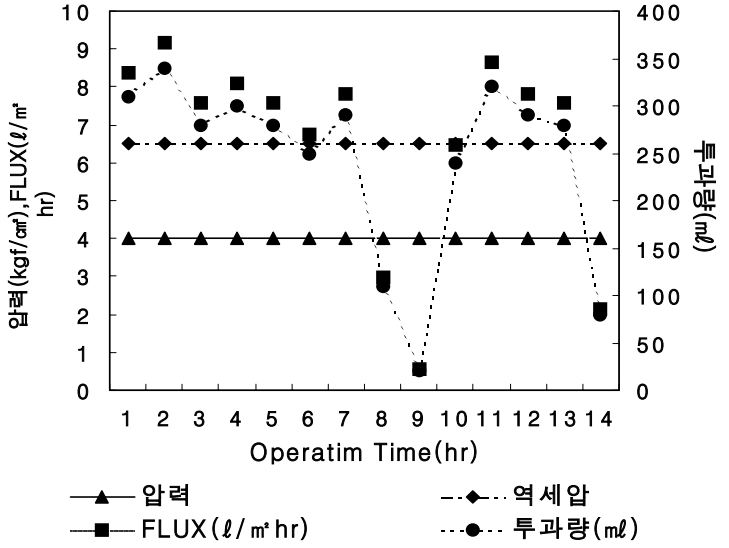


그림 29 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화

(A-200 : 약5～10㎛)

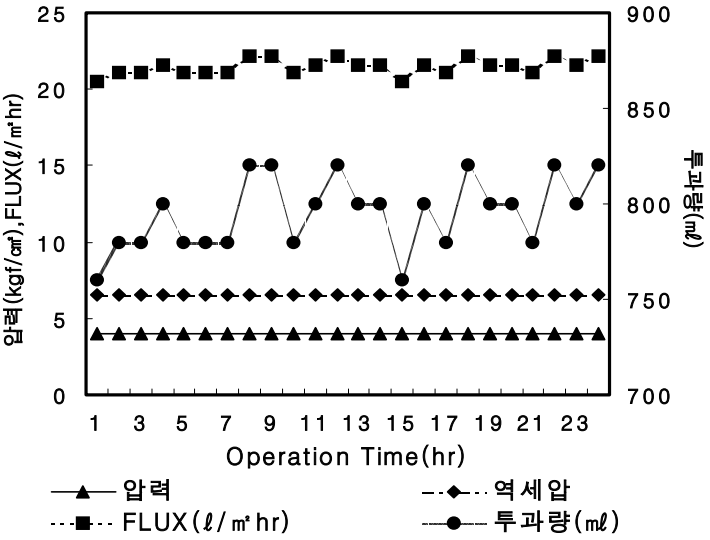


그림 30 세라믹필터공정시 시간에 따른 Flxu의 변화

(A-18 : 약0.8㎛)

다. M/F와 C/F를 산발효액의 투과율 비교

원시료(sieve 120mesh)에 대한 각각의 투과율을 비교해 보면, pore size가 작을 수록 투과율이 적어지는 것을 볼 수 있는데, C/F의 경우에는 많은 양의 SS가 투과되어지는 것을 볼 수 있다. M/F의 경우에는 pore size가 0.4㎛로서, VFAs의 경우 88.9%가 투과되어지며, T-P와 같은 경우는 단지 2.5%만이 투과되어졌다.

표 15 M/F 및 C/F에서의 투과율 비교 평균값

분석항목	투과율 (%)			
	M/F	C/F 350	C/F 180	C/F 18
VFAs	88.9			
T-N	86.7	85.8	27.3	63.9
T-P	2.5	91.2	18.2	53.8
NH_4-N	88.6	104.0	46.5	77.9
PO_4-P	3.3	84.2	22.1	63.6
Co	50.5	87.9	27.4	66.2
Cu	6.4	93.1	22.2	60.7
Zn	1.8	89.8	20.0	58.2
Ca	0.9	88.6	23.0	54.8
Mg	9.6	95.2	23.6	61.1
K	65.3	87.7	36.6	69.4
Na	75.8	88.4	37.3	72.3
Vit.A	50.0	-	-	-
Vit.E	51.1	-	-	-
Vit.C	90.1	-	-	-

투과전후의 시료의 농도 분석을 통해 폭기공정과 산발효공정 및 screen공정을 거친 원시료와 M/F액 및 C/F액을 비교하였다. 막의 재질이 상이하고, pore size가 달라 두 막을 비교하기는 어렵지만, C/F에서는 Fouling이 적은 반면 고

액분리가 완전하지 않아, 광합성세균의 생육에 적합할 정도의 빛이 투과되기에는 어려움이 있었다. M/F에서는 VFAs의 투과율은 90%에 달하고, T-P와 같은 고형물은 2%만이 투과할 정도로 고액분리 효율이 우수하였고, 일정량의 미생물 분리도 가능한 것으로 판단되었다.

제6절. 결론

1 광합성세균의 적합하도록 산발효공정을 도입할 경우 적정 고형물의 함량을 알아본 결과 고형물함량이 높을수록 VFAs의 생성율이 많았으나, 전처리 공정 중 고액분리를 위하여 Membrane 공정에 효율을 높이기 위하여, 적정 고형물함량이 3~5%이였다.

2. 산발효공정 운전시 적정온도를 알아본 결과 높은 온도에서는 VFAs가 생성되는 것보다 소비되는 비율이 높아 VFAs의 감소가 일어났고, 낮은 온도에서도 VFAs의 생성율은 낮은 것으로 나타났다. 산발효시 적정온도는 운전비와 효율이 가장 안정적인 30℃인 것으로 나타났다.

3. 양돈분뇨를 35℃하에서 산발효 시킬 때, VFAs중에서 가장 농도가 높은 성분은 Acetic acid 였으며, TS 1.5%(T-1)일대는 200mg/ℓ이하를 나타내었으며, TS 6%(T-4)일때는 1,000mg/ℓ이상의 농도였다.

4. 산발효 처리액의 고액분리를 위해 Membrane Filter와 Ceramic Filter를 비교 실험하였는데, 안정적인 투과수의 확보와 고액분리의 효과면에서 Membrane Filter가 우수하였으며, 이때, 유기산의 투과율은 90%에 달했고, T-P같은 고형물은 2%만이 투과되었다.

제3장. 전처리한 양돈분뇨를 이용한 광합성세균 생산

제1절. 개론

다양한 미생물은 지구 생태계를 유지하며, 제약 개발, 농화학, 생물 회복 및 생물조작, 음식, 기타 산업의 기본물질을 제공하는데 중요한 역할을 한다. 특히, 미생물은 자체가 오염의 원인이 되기도 하지만 오염된 물질을 분해하는 역할을 하며, 간헐적으로 농축산폐기물을 미생물의 탄소원이나, 질소원으로 이용하여 균체단백질(Single cell protein: SCP)를 얻기 위한 기초연구들이 진행되고 있다. 특히, 본 연구에서 대상으로 하는 광합성세균은 자연계의 오염된 호수나 하수처리장에 서식하며, 유기물의 분해와 수소생산, 균체의 사료화, 환경정화균제 등의 요도로 연구 되어지고 있다. 광합성세균의 분리용 선택배지는 아직 완전히 밝혀진 바가 없으며, 생육조건이 까다로운 것으로 알려져 있다. 국내중부지역을 중심으로 하여, 논, 하천, 하수처리장 등 오염된 지역을 중심으로 총 60개 시료를 처리하여, 그중 생육이 우수한 균주를 일차적으로 4개 균주를 선정하였다. 분리된 균주중 Colony가 크고, 유기산 이용성이 뛰어난 균주를 분리하여, 생육특성을 도출하였다. 이러한 토착 광합성세균을 제 2절에서 전처리한 각각의 시료에서의 생육가능성을 도출하는 것이 본연구의 목적이다.

제2절. 연구방법 및 결과

1. 광합성세균의 분리

광합성세균은 경기도 일원과 강원도 및 충청도 일원을 중심으로 채취한 시료를 균원시료로 하여 자연계에서 분리하였다. 채취한 시료를 멸균한 생리식염수로 희석하여 광합성세균용 분리배지가 든 cap tube에 접종한 후 고체배지에 도말하여 적자색을 나타내는 colony를 1차로 분리한 균주들을 액체배양을 실시한 후 생육도와 유기산 자화도를 측정하여 가장활성이 높은 균주를 선별하여 본 실험의 균주로 이용하였다.

2. 광합성세균의 계대배양 및 동정

이 실험에 사용한 분리배지로는 Cohen-Bazire 등과 Sawada 등이 사용한 합성배지를 변형하여 사용하였으며 그 조성은 표 16과 같다. Trace metal solution 은 0.45㎛ filter 로 filtration 하여 배지에 따로 첨가하였으며, KH_2PO_4 역시 pH를 6.8로 조정하여 살균한 후 배지에 첨가하였다. 균주를 배양할 때 혐기적 조건을 유지하기위하여 시험관내에 배지를 가득 채우고 고무마개로 막아 명·암상태에서 30℃를 유지하면서 정치배양 하거나 20㎖ Vial에 배지를 가득 채워 배양 하였다. 그림31, 그림 32와같이 각각의 시험관에서 홍색으로 발색한 시험관을 중심으로 붉은색 색소의 발색이 빠른 균주를 계대배양 하였다.

표 16 광합성세균 분리를 위한 Selective Medium

구분	g/ℓ
Sodium Acetate	1.0
Sodium Propionate	1.0
Yeast extract	1
NH_4Cl	1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.4
NaCl	0.1
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.05
$NaHCO_3$	0.3
KH_2PO_4	1.0
* Trace metal Sol.	1ml
* Vitamine Sol.	10ml

구분	g/ℓ	구분	g/ℓ
*Trace metal sol.		*Vitamine Sol.	
EDTA	2.5	Biotin	1.0mg
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	10.95	*p*-amino benzoic acid	10mg
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	7.0	Nicotinic acid	100mg
$MnSO_4 \cdot H_2O$	1.54	Thiamine	100mg
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.39		
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.20		

그림 31 광합성세균의 기초분리

그림 32 광합성세균의 1차 계대배양

계대배양에서 생육이 우수한 균주를 최종적으로 선정하고, 선정된 균주는 16S particial sequencing을 통해 분석하였다. Sequence를 rRNA 이차구조를 참고하여 alignment 하였으며, %similarity값을 구하였다. 실험결과 결정된 염기서열의 개수는 557bp였으며, 결정된 염기서열은 아래 결과와 같다. Similarity 의 분석결과 Rhodopseudomonas palustris ATCC 17001, Rhodopseudomonas rhenobacensis DSM 12706, Rhodopseudomonas acidophila ATCC 25092, Rhodopseudomonas marina subsp. agilis str. GN-14 등과의 유사성이 발견되었다. 유사도(%similarity) 결과가 가장 우수한 균주는 Rhodopseudomonas palustris ATCC 17001로서 99.28%를 보였다. 현재

Rhodopseudomonas는 4종이 보고가 되어 있다.

GGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGGCGTAGCAATACGTC
AGTGGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACGTACCTTTTGGTTCGGA
ACAACACAGGAAACTTGTGCTAATACCGGATTGCCCTTACGGGGTAA
AGATTTATCGCCAAAGATCGGCCCGCGTCTGAGCTAGTTGGTGAGGTA
ATGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGGATGATCAGCC
ACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGAGGCAGCAGTGGG
GAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCAGCCGCGTGAGTG
ATGAAGGCCCTAGGGTTGTAAAGCTCTTTTGTGCGGGAAGATAATGA
CGGTACCGCAAGAATAAGCCCCGGCTTCGTGCCAGCAGCCGCGGATTT
ACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATCACTCGGGCGTAAAGGGTGCG
TANGCGGGTTTCTAAGTCAGAGGTGAAAGCTGGAGCTCAACTCCAGA
ACTGCCTTTTGATACTGGAG

이상의 결과를 통하여, 현재 배양중인 균주는 **Rhodopseudomonas palustris** 로 최종 동정하였다. 분리된 균주는 2.5ℓ 용량의 Jar-Fermentor을 이용하여 계대 배양하였다.

그림 33 광합성세균의 2차 계대배양 및 운전사진

3. 분리된 광합성세균(Rhodopseudomonas palustris) 의 기초 생육 특성

가 유기산의 종류에 따른 광합성세균의 생육 특성 비교

그림 34 분리된 광합성세균을 다른 생육조건을 동일하게 한 상태에서, 유기산중 Acetate와 Propionate를 각각 탄소원으로 적용한 후 각각의 생육 특성을 비교하였다.

그림에서 보여지는 것처럼, 초기에는 생육의 차이가 크게 보이지는 않았으나, 특히 7일이 경과 되었을 때 Acetate를 탄소원으로 이용한 경우의 광합성세균의 양이 급격하게 증가하는 경향을 보였다. 흡광도 값은 최저 0.56에서 1.2까지 증가하였다.

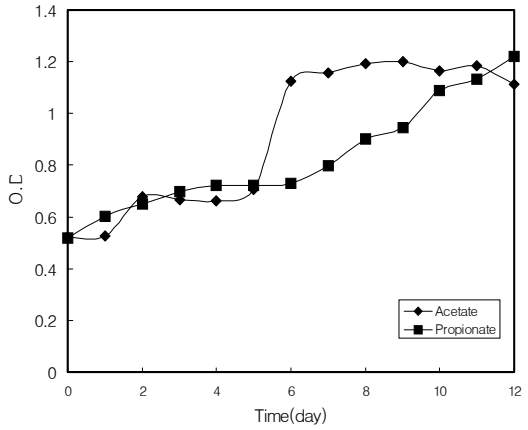


그림 34 유기산의 종류에 따른 광합성세균의 생육특성

나 pH 조건과 조도에 따른 생육 특성 비교

그림 35 은 pH를 각각 처리구대로 구분한 후 각각의 생육 특성을 비교한 자료이다. pH를 각각 조절한 후 생육을 비교했을 때, 중성영역인 7.2에서 생육이 기장 우수 하게 나타났으며, pH를 6.2로 조절한 경우 초기에서는 생육이 저해 받지만, 40시간이 경과된 이후 에는 오히려 생육이 빨라지는 특성을 보였다. pH9이상으로 조절한 경우에서는 생육이 저해되어 생육하지 못하는 것을 보여줌으로서, 분리된 토착 광합성세균은 중성영역인 6~8사이에서 잘 생육하는 균주로서 특히 pH가 7정도에서 가장 생육이 우수한 것으로 판명되었다. 광합성세균의 생육특성 중 조도에 따른 특성은 그림 36에서 나타내었다. 조도의 강약에 관계없이 약 25시간까지는 광합성세균의 생육이 저조하였으나, 25시간 이후부터 1000Lux와 4000Lux에서 광합성세균의 생육이 상당히 빨라지는 특성을 보였다. 이 그래프에서 보이는 것과 같이 광합성세균은 1000Lux~4000Lux 범위의 빛의 강도라면 생육에 큰 저해를 받지 않고 자랄 수 있을 것으로 사료된다.

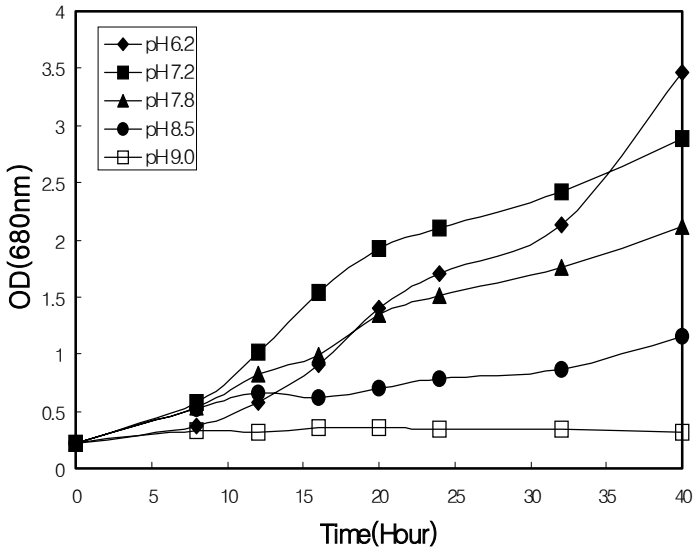


그림 35 초기 pH에 따른 시간별 OD(680nm)변화

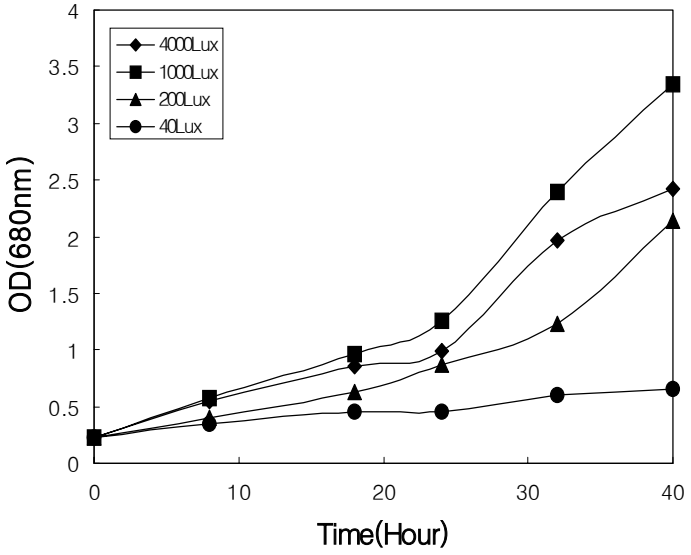


그림 36 각 조도별 시간에 따른 OD(680nm)변화

다 Jar-Fermentor를 이용한 생육특성

분리된 토착 광합성세균을 직접 Jar-Fermentor를 이용하여 생육특성을 검증하였다. 그림 37은 분리배지에 초기 OD를 0.6으로 접종하여 생육을 알아본 것이다 광합성세균은 지속적으로 증가하여 64시간이 경과하였을 때 OD값이 3.5이상을 유지하였으며, 이후에는 생육이 둔화되는 경향을 보였다.

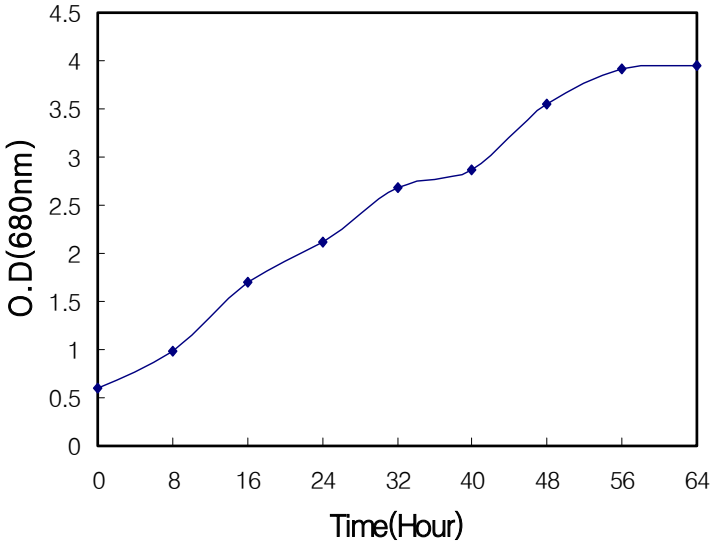


그림 37 J-Fermentor를 이용한 생육결과

라 C/N ratio의 영향비교

빛의 세기나 초기 pH등은 이미 보고한 바와 같이, 1000Lux~4000Lux범위에서의 생육이 가능하였으며, 넓은 pH범위에서의 생육이 가능하였다.

이러한 특성은 광합성세균의 생육 특성을 보여주는 것으로서, 영양 요구성이나 생육환경이 까다롭지 않다는 것을 알 수 있었다.

그림 39의 경우, 탄소원을 일정하게 유지시키면서 질소원의 양을 조절하여 C/N율을 달리하여 실험한 경우로서, 질소원이 많아질수록 증식이 약간 우수한 경향을 보였으나, C/N rate는 광합성세균이 생육하는데 많은 영향을 하지 않고, 가장 중요하게 작용되는 것은 탄소원임을 알 수 있었다. 특히 C/N이 6~8 사이에서 증식이 잘 이루어지는 것을 알 수 있었으며, C/N비를 6.6으로 고정하고, Acetate와 Propionate의 비율을 조정하여 실험한 결과이다. C/N비가 6.6일 경우에는 Acetate와 Propionate의 비율을 조절하여도 증식속도가 일정하다. 유기산종류에서의 생육연구에서는 Acetate 및 Propionate 각각 단독 이용성 연구시 Acetate의 이용성이 우수한 것으로 나타났으나, C/N비만 적정하고, 두 유기산이 공동으로 존재하면, R. palustris 균주가 Acetate와 propionate 두 유기산을 잘 이용할 수 있는 결과로 판단된다.

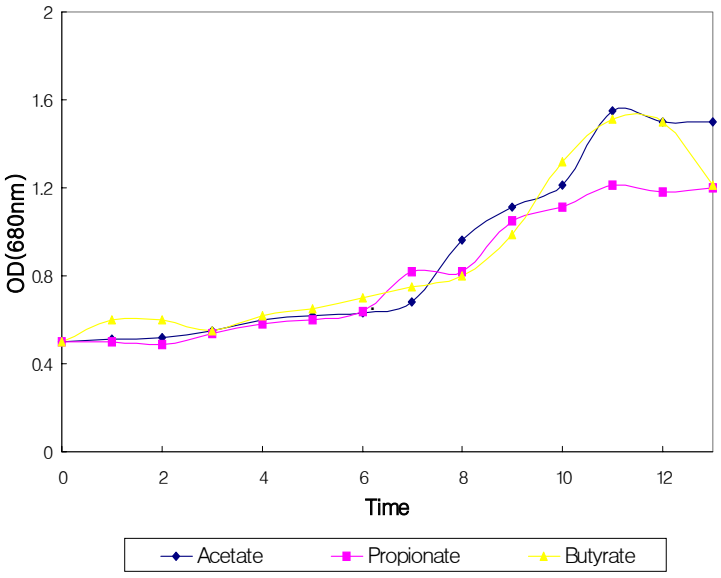


그림 38 유기산 종류에 따른 생육
(선택배지 + 유기산)

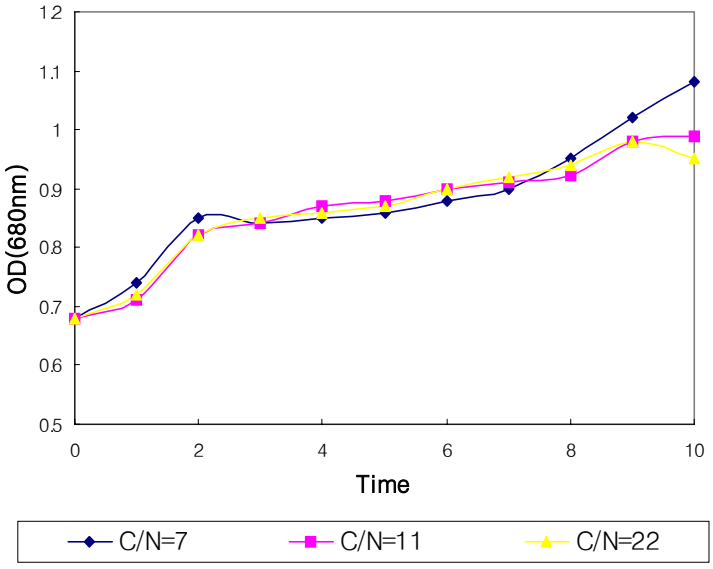


그림 39 C/N변화에 따른 생육(질소고정)
(선택배지+유기산 양 변화)

마 Bacteiochlorophyll과 MPN수와의 비교.

화학배지로 배양이 완료된 시료를 이용하여 Bacteriochlorophyll 과 균체수의 상관관계를 알아본 결과 다음 그림과 같은 그래프를 얻을 수 있었다. 대체배지인 양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 배양할여 균의 량을 알아볼 때 단순 OD(680nm)값이나, 다른 검사방법은 광합성세균 이외의 다른 물질에 영향를 받을 수 있고, MPN수 측정기간이 오래 걸려 Bacteriochlorophyll을 분석하였다., Bacteriochlorophyll이 1.0흡과도값 이상을 나타내면 배양이 원활히 이루어진 것으로 판명되었다.

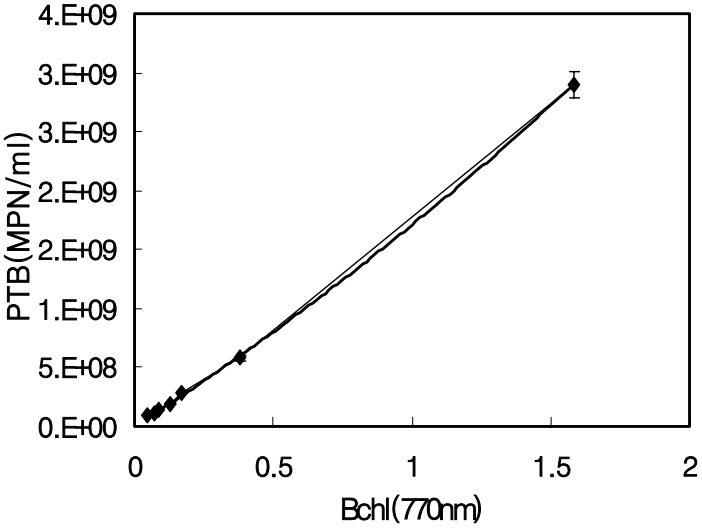


그림 40 광합성세균의 생육과 Indicator(Bchl과 MPN수)

4. 축산분뇨배지를 이용한 배양기술개발

가. 축산분뇨 배지를 이용한 광합성세균 배양

2.5L 배양기를 이용하여 양돈분뇨액과 계분액에서의 광합성세균의 생육특성을 조사하였다. 전처리한 시료의 성상은 표. 17과 같으며, 원시료는 색도가 높아 빛의 효과적인 투과에 어려움이 있어, 증류수를 이용하여 농도를 희석하여 생육효과가 연구되었다. 실험에 이용된 배양기의 개략도는 그림 41과 같다.

표 17 공정처리전후의 평균성분표

구분	양돈분뇨액	농산폐기물 혼합처리액	계분액
pH	8.03	8.31	7.52
TS(%)	0.86	1.487	0.88
VS(%)	0.47	0.83	0.52
T-N	4415	4003	6087
PO_4-P	19.6	77.9	65.3
VFAs	2546	1251	1502
Ca	81.3	173	91.4
Mg	13.2	4.8	18.4
Na	285.6	721	153
K	1670	3814	1224
Cl	908	2140	472

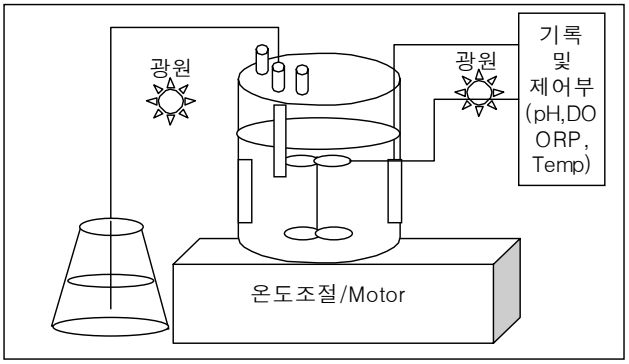


그림 41계분뇨내의 광합성세균 생육 사진

발효를 통해 제조된 축산분뇨 배지액은 색도가 높기 때문에 물을 이용하여 희석하여, 배양에 이용하였다. 휘발성저급지방산의 농도는 양돈분뇨는 1600mg/l, 계분뇨는 1500mg/l 이였고, 휘발성저급지방산의 대부분은 초산과 프로피온산등 으로 구성되어 있었다.

상기 조건에서의 생육시 각각의 대표적인 생육 변화는 사진으로 제시되어 있다. 그림 44, 45에서 보는 것과 같이 양돈분뇨에서는 광합성세균의 고유한색인 적자색이 나타나는 반면, 계분뇨는 검은색이 강한 적색을 띄었다. 그림 46, 47은 대상폐수에서의 광합성세균을 배양 할 때pH 변화와 OD의 변화를 나타낸 것으로 시간이 지날수록 증가하는 모습을 보였으나, 양돈폐수에서의 증가가 계분에서의 증가보다 우수한 것으로 나타났다.

그림 42 계분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육변화

그림 43양돈분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육 변화

그림 44그림 45 각 처리액(돈분뇨, 계분)에서의 광합성세균 배양사진

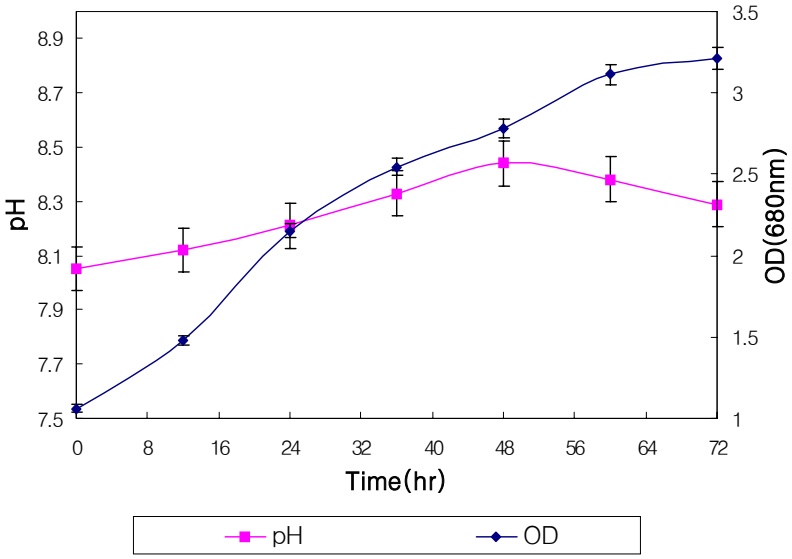


그림 46양돈분뇨 조정배지 내에서의 광합성세균의 생육 변화

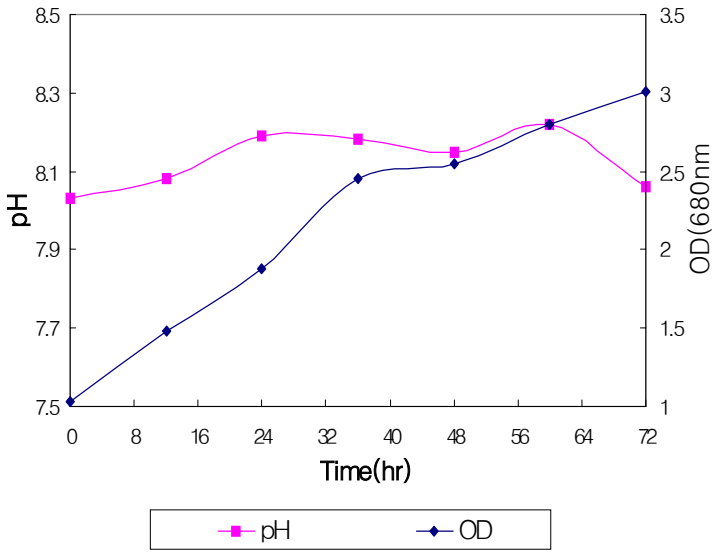


그림47 계분 조정배지내에서의 광합성세균의 생육 변화

나. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 배양

양돈분뇨와 계분에서의 광합성세균의 배양결과 양돈분뇨에서 배양이 우수하여 양돈분뇨에서의 광합성세균의 최적배양조건을 알아보았다.

양돈분뇨배지를 이용하여 광합성세균을 세 가지 조건으로 배양한 결과 전처리 후 액을 2배 희석한 후 중화하여 배양한 것(Run-3)이 다른 두 조건보다 생육이 약 3배 이상 빠른 것으로 나타났다.

이는 전처리 후 바로 이용하였을 시 전처리액 자체의 색도 문제로 인해 빛 투과율의 문제와 고액분리 시 증가되는 pH의 상승 때문에 광합성세균의 생육에 영향을 미친 것으로 사료된다. 이는 문헌에서 말하는 광합성세균의 최적생육 pH인 pH7.0와 일치함을 보였다.

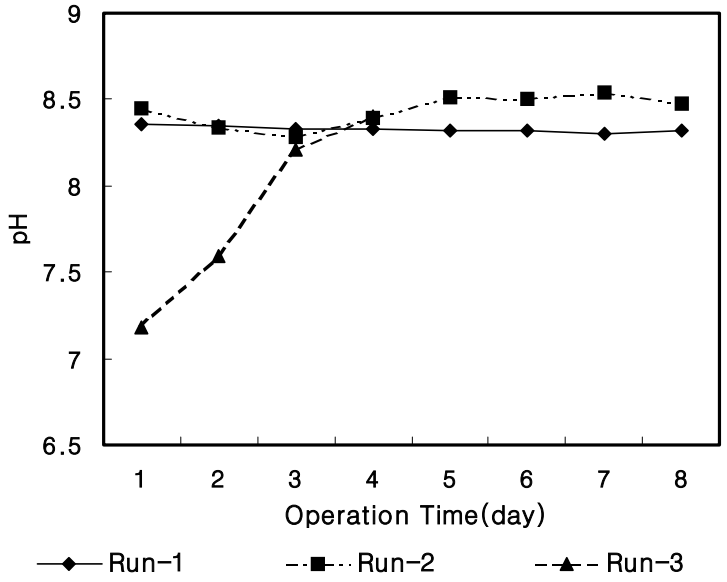


그림 48 처리구별 시간에 따른 광합성세균배양액내 변화 pH 변화

Run-1:전처리 원액, Run-2:VFAs농도 1,500mg/ℓ로 희석 Run-3:Run-2중화

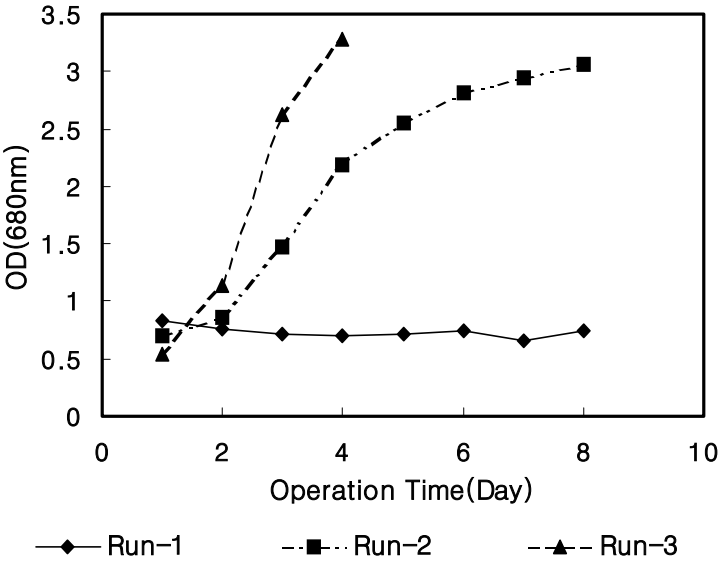


그림 49 처리구별 시간에 따른 광합성세균배양액내 변화 O.D변화

Run-1:전처리 원액, Run-2:VFAs농도 1,500mg/ℓ로 희석 Run-3:Run-2중화

처리구별 균의 증가를 살펴보면, 균 증가 가 가장 많은 시간은 24hr에서 48hr에서 이고, 이후 증가폭이 점차 감소하기 시작하였다. VFAs 감소는48hr부터 VFAs가 급격히 감소하기 시작하였다. 광합성세균의 성장에 따른 pH와 Bacteriochlorophyll의 변화를 측정한 결과 그림 51과 같이 배양 기간동안 계속 증가하였으며, 24hr부터 48hr까지 흡광도값이 급격히 증가하고, 이후 증가폭이 현저히 줄어드는 경향이 나타났는데, 계속적인 배양을 위해서는 배지의 교체가 필요할 것 이다.

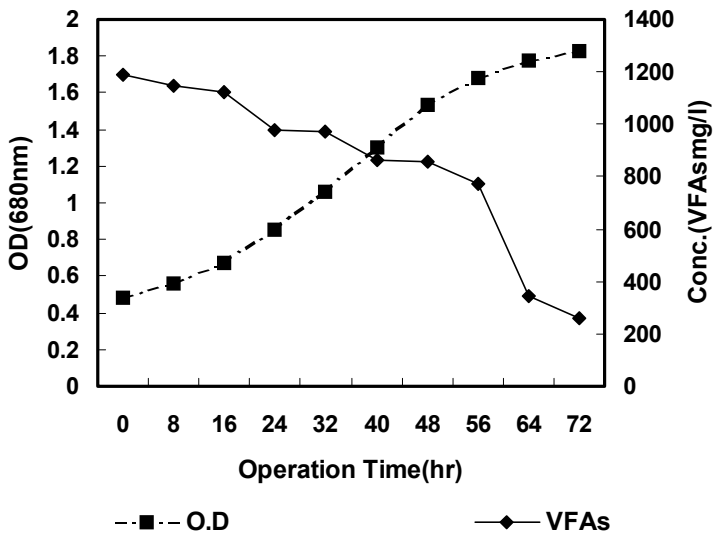


그림 50 VFAs 농도1,500mg/ℓ로 희석 중화 후 광합성세균배양액내 O.D와 VFAs의 변화

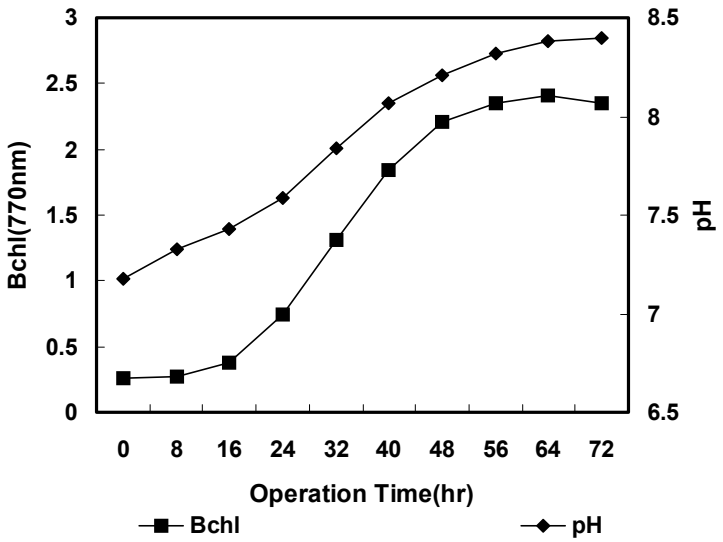


그림 51 VFAs 농도1,500mg/ℓ로 희석 중화 후 광합성세균배양액내 pH와 Bacteriochlorophyll의 변화

제3절. 결론.

1. 국내 중부지역을 중심으로 하여 하천, 하수처리장, 논 등에서 채취한 시료로 생육이 우수한 광합성세균을 분리 배양한 후, 16S particial sequencing을 통해 분석, Sequence를 rRNA 이차구조를 참고하여 alignment 하였으며, %similarity값을 구한 결과 결정된 염기서열의 개수는 557bp였다. Similarity 의 분석결과 Rhodopseudomonas palustris ATCC 17001, Rhodopseudomonas rhenobacensis DSM 12706, Rhodopseudomonas acidophila ATCC 25092, Rhodopseudomonas marina subsp. agilis str. GN-14 등과의 유사성이 발견되었다. 유사도 (%similarity) 결과가 가장 우수한 균주는 Rhodopseudomonas palustris ATCC 17001로서 유사도 99.28%를 보였다.

2. 분리된 Rhodopseudomonas palustris는 유기산중 Acetic Acid를 보다 잘 이용하나, Acetic Acid와 Propionic Acid가 함께 존재할 때는 상호 보완적 역할을 하는 것으로 판명되었다.

3. 본 연구팀이 선별분리된 Rhodopseudomonas palustris는 중성영역인 pH7 부근에서 생육이 우수하였으며, 광도는 1000Lux～4000Lux에서 생육이 우수하였고, 넓은 C/N ratio에서 생육이 가능한 것으로 나타났다.

5. 양돈 분뇨에서 광합성세균의 배양특성을 알아본 결과, 양돈분뇨를 전처리한 후 바로 이용하는 것 보다 VFAs 농도 약 1500mg/ℓ정도로 희석을 한 후 중화를 실시하고, 배양에 이용하는 것이 광합성세균의 생육이 우수하였다.

제4장 양돈폐수를 이용한 광합성세균의 대량생산

제1절. 개론

Lab-Scale의 실험을 기초로 양돈분뇨를 이용한 광합성세균을 대량배양을 실험하였다. Lab-Scale의 연구결과를 살펴보면 산발효 및 고액분리는 ① 고형물 함량 4.5%를 30℃에서 운전시 유기산(VFAs)의 증가율과 상등액에서 광합성세균의 생육이 우수하였고, ② 고액분리는 Membrane Filter가 Ceramic Filter보다 고액분리 효율과, 유기산의 투과율이 우수하였으며. 광합성세균의 생육은 ①유기산중 Acetic Acid를 주로이용하고, ②광도는 1000～4000Lux 범위에서 성장이 우수하며, ③C/N의 비율은 많은 영향은 없었다. ④ 대체배지 에서의 광합성세균의 생육실험은 양돈분뇨와 계분중 양돈분뇨에서 생육이 우수한 것으로 판명되었다. 양돈분뇨를 전처리 후 바로 이용하는 것보다 VFAs 농도 약 1500mg/ℓ으로 희석한 후 중화한 것이 가장 생육이 우수하였다. 4장에서는 2장과 3장의 결과를 기초로 실험을 하고, 양돈분뇨대체배지 이용 시 화학배지의 대체가능성을 알아보기 위하여 그 이용성 실험과 생산단가를 비교 하였다.

제2절. 연구재료 및 실험장치

1. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리

가. 시료

본 연구에 사용되어진 분뇨는 강원도 원주시 근교에 위치한 슬러리식 양돈 농가인 'H' 농장에서 발생되는 분뇨를 수거하여, 시료의 균일성 확보 및 협잡물을 제거하기위하여 진동스크린을 이용한 후 연구에 사용하였다.

본 연구에 이용된 시료의 성상은 pH 8.21, 총고형물함량(Total Solid, TS) 6.41%, 휘발성유기물함량(Volatile Solid, VS)은 3.47%였으며, 암모니아성질소(Ammoniac Nitrogen, NH4-N)는 3,351 ㎎/ℓ, 인산염 인(soluble Phosphorus, PO4-P)은 874.4 ㎎/ℓ로 나타났다.

그 외의 투입분뇨의 이화학적 성상은 아래 표 18과 같다.

표 18 양돈분뇨의 이화학적 성상

Item		Average
pH		8.21
TS (%)		6.4
VS (%)		3.5
NH_4 (ppm)		3351
PO_4 (ppm)		874
CODcr (ppm)		54,155
SCODcr (ppm)		36,084
VFAs (mg/ℓ)	T-VFAs	4292
	Acetin Acid	2499
	Propionic Acid	599
	iso-Butyric Acid	241
	n-Butyric Acid	435
	iso-Valeric Acid	429
	n-Valeric Acid	86

나. 실험장치

1). 산발효 장치

본 연구에 이용된 산발효조는 Pilot- scale 규모로 설계 및 제작하였으며, 실험장치의 성능 실험을 하였다. 본 연구에 사용된 산발효조는 높이 0.75m이며, 반응기 지름 0.97m의 크기로 반응조 형태는 최하부 반구형태와 이어 원통형의 원형 반응조로 설계 및 제작되었다. 반응조의 내부 용량은 약 0.56m^3이다.

그림 52는 Pilot-scale 규모의 산발효조 모식도로 반응조는 크게 시료를 투입하는 '투입장치'와 배출하는 '배출 장치', 공기를 공급하는 '폭기장치',와 산발효조의 제어와 교반강도, pH, 온도를 나타내는'제어 장치'로 구분할 수 있다. 시료 배출은 자연 유하식으로 하부에서 배출되게 설계 및 제작되었으며, 측면에 높이별로 벨브를 설치하여 시료체취에 용이하게 하였으며, 더불어 반응조 상부에 교반을 할 수 있는 교반모터를 달아 내부액을 교반 할 수 있게 설계 및 제작 하였다. '

반응기의 측면에는 수위를 측정 할 수 있게 수위게를 설치하였고, 다른 측면에는 온도sensor와 pH sensor를 설치하여 온도와 pH의 실시간 측정을 할 수 있게 설계 제작하였다.

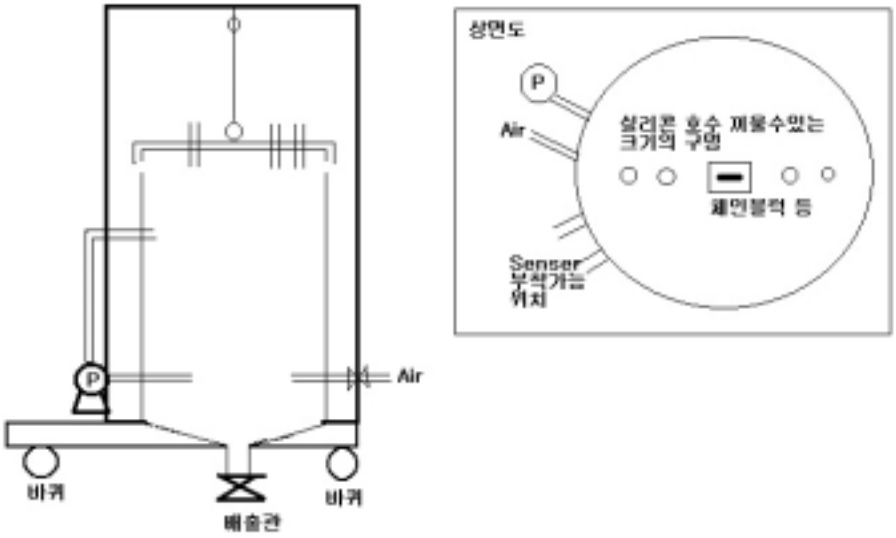


그림 52 산발효조의 전면과 상면도 모식도

표 19 전처리 산발효 시스템의 기본 개요 및 모습

구 분	내 용
온도조절기능	20℃~60℃ (냉각 기능 : 냉각수 이용)
교반(회전)기능	0~60rpm
Aeration 기능	0~200ℓ/min · ton
Sampling	4 port
슬러지 배출	60mm pipe
기타	pH / Temp. 지속 측정 가능

2). Membrane filter장치

광합성세균의 배양에 있어서 빛의 투과는 광합성세균의 증감에 많은 영향을 미친다. 본 연구는 양돈폐수를 이용하여 광합성세균을 배양하는 것이 목적이므로 산발효 이후 빛의 투과 효율을 증가시키기 위하여 Membrane 공정을 실시하였는데, 막에 부하를 줄이기 위하여 산발효기에서 생산된 액을 200mesh 진동스크린을 이용하여 고형분을 1차로 걸러준 후 Membrane filtration을 실시하였다.

Lab-Scale 실험에서는 중공사막과 Ceramic Filter를 사용하여 고액 분리를 하였으나, 중공사막과, Ceramic Filter는 많은 양을 처리하기에 는 무리가 있어 현재 보유중인 평막을 이용하여 고액분리를 실시하였다.

Membrane filter장치와 사용된 Membrane 의 사양은 그림.53과 표.20에 나타내었다.

그림 53 산발효액에서 대체배지생산을 위한 Membrane filter장치 사진

표 20 대체배지 제조에 사용한 Membrane 사양

Unit	Plate sheet
Classification	Microfiltration (MF)
Material	Polyethylene (PE)
Avg. pore size(μm)	0.4
Effective area(m^2)	1
Count	30

3). 살균장치

양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 생산하기위하여 전처리인 산발효 및 Membrane장치를 적용한 후 병원성미생물인 Escherichia coli 와 Salmonella 제거하기 위하여 아래 그림과 같은 살균기를 이용한 후 광합성세균을 배양하는데 이용하였다. 살균조건은 내용의 성상변화가 적고 살균 효과를 최대화할 수 있는 60℃에서 서서히 교반하며, 30분간 살균하였다.

그림 54 대체배지의 살균에 이용한 살균기 모습

표 21 살균처리 전·후의 병원균의 변화

구분	살균 전	살균 후
Escherichia coli	$4.0\times10^{1}\sim1.0\times10^{2}$	N.D
Salmonella spp.	N.D$\sim4.4\times10^{2}$	N.D

*N.D ; Not Detected

2. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 대량배양

가. 시료

산발효와 Membrane 공정을 거친 양돈배지에 수도수를 적당량 혼합하여 표.22 와 같은 성상을 가진 양돈배지를 광합성세균 배양에 이용하였다.

표 22 광합성세균 배양에 사용 양돈배지의 이화학적성상

구분		대체배지의 성상
	pH	7.2
	COD	1689
휘발성 저급지방산	T-VFAs	935
	Acetic acid	606
	Propionic acid	163
	iso-Butyric acid	41.2
	n-Butyric acid	31.5
	iso-Valeric acid	93.8
	n-Valeric acid	-
	NH_4-N	604
	PO_4-P	32.2
	Cl	172.3
	Ca	24.1
	Mg	0.2
	Na	9.28
	K	59.4

나. 배양기 가동조건

Pilot-Scale 배양기는 지름 0.9m, 높이 0.97m.의 아크릴재질로 구성하여 빛의 투과가 용이하게 했으며, 상부에는 교반모터가 설치되어 교반을 통하여 대형화로 인한 내부물질에 빛 전달을 극대화 되게 설계·제작하였으며, 배양기 하부는 원형으로 제작하여 배양액의 회수율을 증가시켰다.

배양기 가동조건을 살펴보면 배양기 가동 중 교반을 꾸준히 250rpm이상 실시하였고, Lab-Scale과 달리 빛의 강도를 2000Lux보다 높은 3000Lux 이상을 유지하였다. 온도는 30℃±2℃를 유지하였으며, 그 이상의 온도로 상승 시에는 냉각수를 이용하여 적적 온도를 유지시켰다.

그림 55 대형배양기에서 광합성세균 생산모습

제3절. 실험 방법 및 분석 방법

1. 실험방법

가. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리

양돈분뇨를 이용하여, pH를 조정하지 않으면서 유기산을 생성할 수 있는 조건에 대하여 연구하였다. Lab-Scale 실험에서 고형물함량을 조절하여 유기산이 생산되는 량을 알아보았는데 고형물함량이 많을수록 유기산의 생성율이 좋았고, 온도의 영향을 살펴본 결과 20℃에서는 미생물의 활성이 낮아 유기산의 생성이 적었고, 45℃에서는 유기산의 생성보다 분해가 빨리 이루어져 유기산의 양이 오히려 줄어드는 경향을 보였다. 이런 Lab-Scale 실험을 기초로 하여 Pilot-Scale에서는 고형물의 함량을 약 6.4% 로, 산발효조운전 온도를30℃로 고정하였고, 교반과 정체의 차이를 알아보기 위하여 두 반응기 중 한반응기는 정체하여 가동(Run-1)하였으며, 다른 하나의 반응기는 고형물의 침강을 막고 접촉을 원활히 하기위하여 40rpm 으로 교반(Run-2)을 실시하였다.

표 23 산발효조 운전 조건

Item	Run-1	Run-2
Temperature	30℃	30℃
Total Solid(TS)%	6.4	6.4
교반	–	40rpm

나. 분석방법

산발효 액의 분석은 2장 4절과 같다.

배양액의 기초분석은 광합성세균 배양시 발생하는 시료를 5,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 균체를 제거한 후 상등액을 취하여 분석을 실시하였다.

폐수중의 광합성세균 생육도를 알아보기 위해 분석한 Bacteriochlorophyll 은 5,000rpm에서 10분간 원심분리 후 pellet을 acetone : methanol (7:2) 혼합용매로 4℃ 암상태에서 24시간 추출 하였다. 추출액을 12,000rpm에서 20분동안 원심분리후 상등액의 흡광도를 770nm에서 측정하였다.

제4절. 연구 결과

1. 양돈폐수의 광합성세균 배양을 위한 전처리 결과

가. 산발효 운전결과

양돈분뇨를 광합성세균생육에 이용 하기위한 전처리로 양돈분뇨를 산발효한 결과, 교반을 실시한 반응기에서 VFAs의 농도 증가가 빠르고 높은 농도로 발생하였으며, SCOD/COD rate도 최고 약 70%까지 나타났다. 이는 고형물중에 용존성 물질이 정체보다 교반을 실시하여 교반을 하지 않은 것보다 빨리 용액으로 용해된 것으로, 광합성세균의 생산에 이용시 유리하게 작용될 것으로 사료된다.

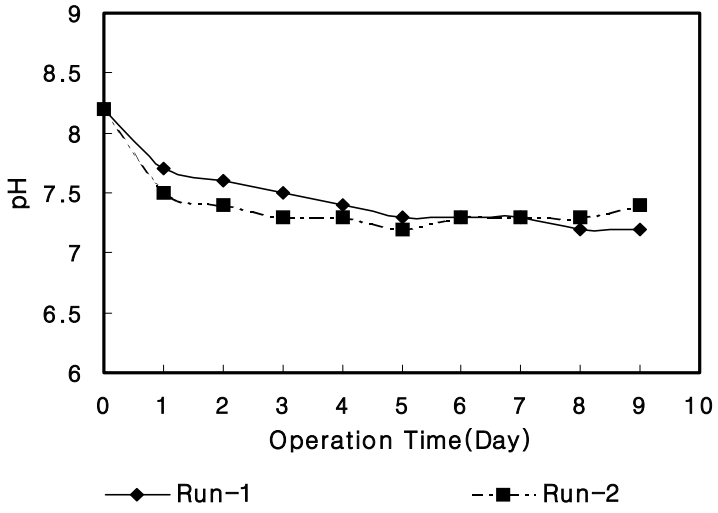


그림 56 Run-1과 Run-2에서의 pH변화

Run-1 : 무교반 Run-2 : 교반(40rpm)

두 반응기의 pH 변화를 살펴보면 초기에 pH 8.2인 약알카리에서 가동초기인 2일째 pH 7.4인 중성부근으로 떨어진 후 가동기간 내내 중성부근인 pH 7.2를 유지하였다. 40rpm으로 교반을 실시한 처리구가 교반을 하지 않은 무교반보다 pH가 낮게 유지되었다.

1). 유기물농도 변화

그림 57, 58은 산발효조에서의 전체 COD 및 용해성COD(Soluble COD)의 변화를 보여주고 있다 Run-1과 Run-2에서 COD의 농도는 각각 약 55,000mg/ℓ에서 65,000mg/ℓ, 55,000mg/ℓ에서 70,000mg/ℓ로 큰 변화 없이 유지되었다.

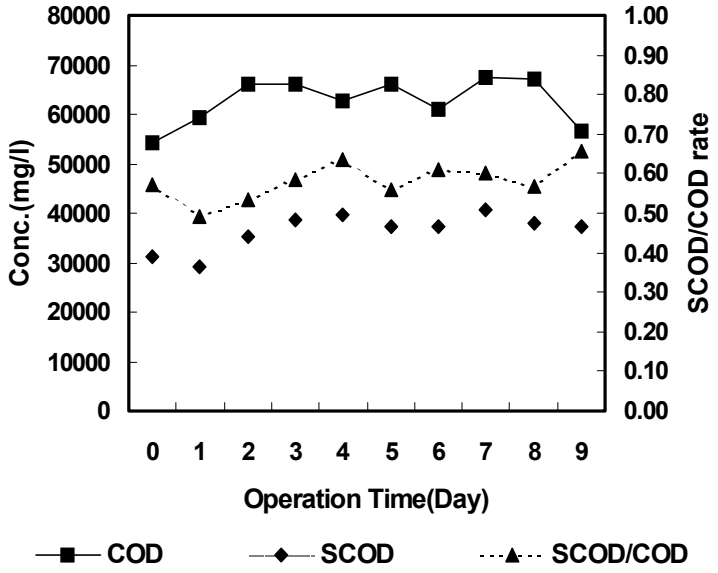


그림 57 Run-1에서 COD, SCOD, SCOD/COD 변화 (정체)

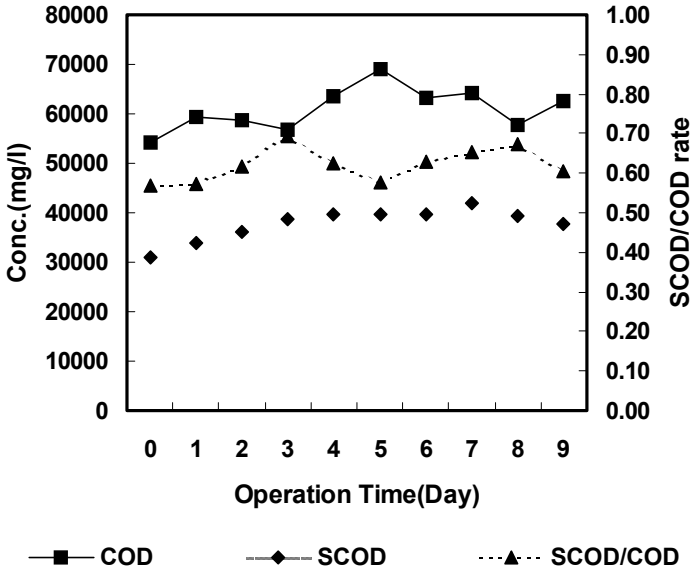


그림 58 Run-2에서 COD, SCOD, SCOD/COD 변화(교반(40rpm))

유기물의 혐기성 분해반응은 복잡한 경로를 거치는데 탄수화물이나 지방, 단백질과 같은 고분자물질은 미생물로부터 분비되는 균체외 효소(extracellular enzyme)에 의해 단당류, 지방산, 아미노산 등의 저분자물질로 분해 되어 산 생성균의 탄소원 및 에너지원으로 이용되며, 광합성세균의 주된 이용물인 Acetic Acid, Propionic Acid, Butyric Acid 등의 휘발산(Volatile acid)과 알콜 등을 산화생성물로 생성시킨다.

VFAs는 유기물질 중에서 상당량을 차지하는 물질로 40rpm으로 교반을 한 처리구를 살펴 보면 초기 4,292mg/l에서 3일째 10,790mg/l까지 상승하였다가 점차 감소하는 경향을 보였다.(그림 60) 교반을 하지 않은 처리구 에서는 6일째 8,505mg/l 까지 서서히 상승하였으며, 이후 감소하는 경향을 보였다.
(그림 59)

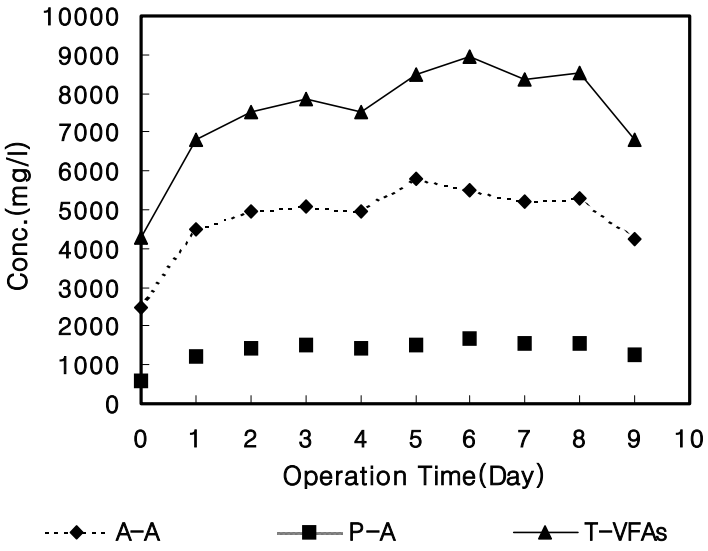
증가율을 보면 40rpm으로 교반을 실시한 처리구가 최고 약 2.5배 증가하였고, 교반을 실시하지 않은 처리구가 1.9배 증가하였다. 이는 교반을 실시하므로 교형물의 침전을 막아서 미생물과의 접촉을 원활히 할 수 있게 하여 고분

자물질들이 교반을 실시하지 않은 무교반조보다 좀더 빠른 시간에 유기산으로 변화할 수 있었던 것으로 사료된다.

Acetic Acid 와 Propionic Acid 의 변화를 살펴보면, Acetic Acid는 Run-1과 Run-2 모두 T-VFAs와 변화하는 모습이 흡사하였다. 이는 T-VFAs 중에 Acetic Acid가 약 65%정도로 많은 비중을 차지하고 있어 Acetic Acid변화가 T-VFAs의 변화에 영향을 미친 것으로 보인다..

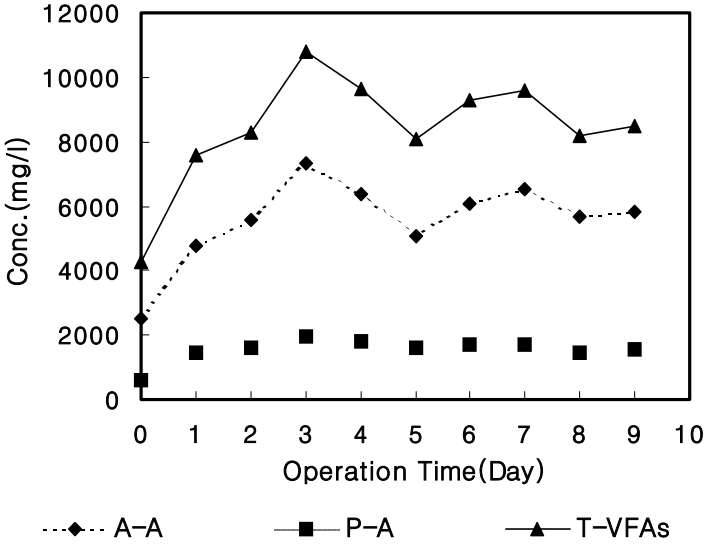
광합성세균이 주로 이용하는 유기산의 종류가 Acetic Acid이며, Propionic Acid 도 Acetic Acid와 혼합하여 존재할 때, 상호 보완적으로 이용된다.

두 반응 모두 생성된 VFAs 중 존재하는 Acetic Acid과 Propionic Acid의 비율이 약 85%였으나, Run-2(40rpm교반)가 VFAs의 농도가 높으므로 광합성세균의 생산에 이용 할 때, Run-1(정체)에서 생산된 액보다 다양하게 이용될 것으로 사료된다.



(A-A : Acetic Acid, P-A : Propionic Acid)

그림 59 Run-1에서 유기산 변화 (정체)



(A-A : Acetic Acid, P-A : Propionic Acid)

그림 60 Run-2 에서 유기산 변화(40rpm 교반)

2). NH_4-N PO_4-P의 변화

산발효운전시 NH_4-N과 PO_4-P의 변화를 살펴보면, 그림61과 그림62의 모습과 같다. NH_4-N의 변화는 두 반응 모두 큰 변화 없이 반응이 진행되었고, PO_4-P는 교반을 한 Run-2에서만 약간 상승하는 모습을 보였다. 이는 교반으로 고형물의 침전이 적어 내부액 에서 높게 유지된 것으로 사료된다.

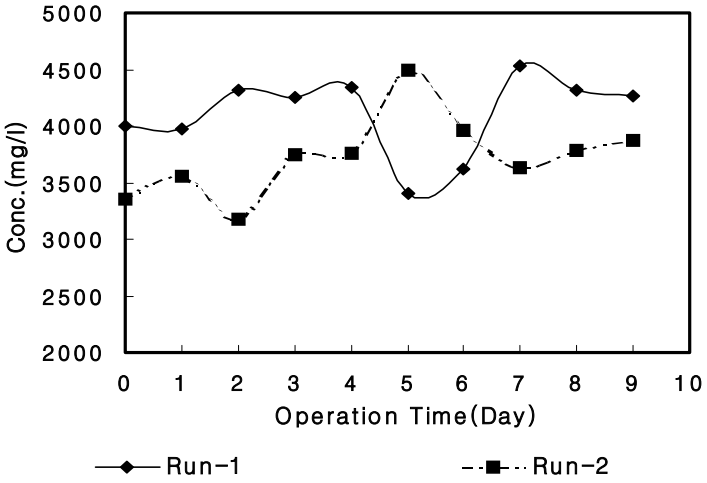


그림 61 산발효조 운전시 NH_4-N변화(Run-1:정체, Run-2:교반(40rpm))

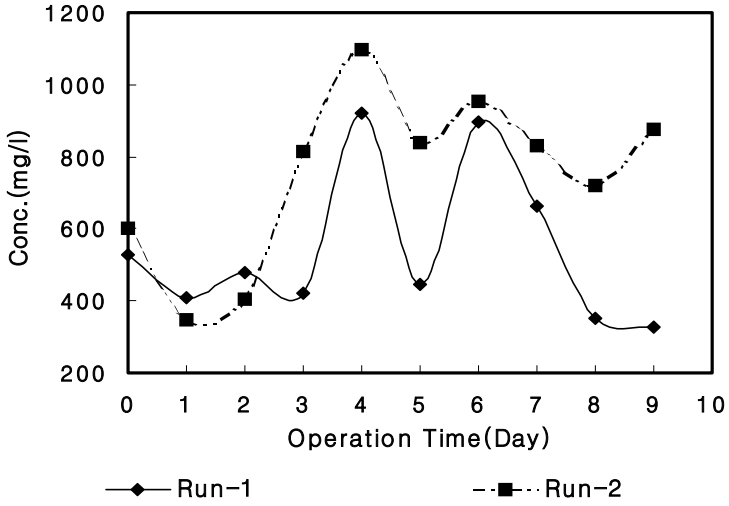


그림 62 산발효조 운전시 PO_4-P 변화(Run-1:정체, Run-2:교반(40rpm))

나. M/F 운전결과

양돈폐수를 plant scale로 운전한 결과는 그림.61 에 나타냈다. 주기적으로 7분 흡입 3분 정지로 운전하여 막면 오염으로 인한 막에 부하를 최소화하였다. 운전압력은 10 mmHg로 고정시킨 후 flux의 변화를 살펴보았다.

실험결과 그림에서 보듯이 시간이 지남에 따라 약 2일까지는 동일한 flux를 나타났지만 그 이후 서서히 감소하였으며, 약 6일 이후 flux가 50%로 감소되어 세정 후 다시 운전한 결과 유사한 결과가 나타났으나, 2차 운전에서 Flux가 많이 떨어지는 것을 알 수 있었다.

세정방법은 막을 꺼낸 후 우선적으로 물로 막면에 부착물질을 떨어뜨린 후 스폰지로 막면에

부착된 gel성분들을 제거하였다. 그 이후 약품세정(차아염소산, 약 1,000 mg/L)으로 세정하여 막공경내에 있는 성분들을 제거하였다.

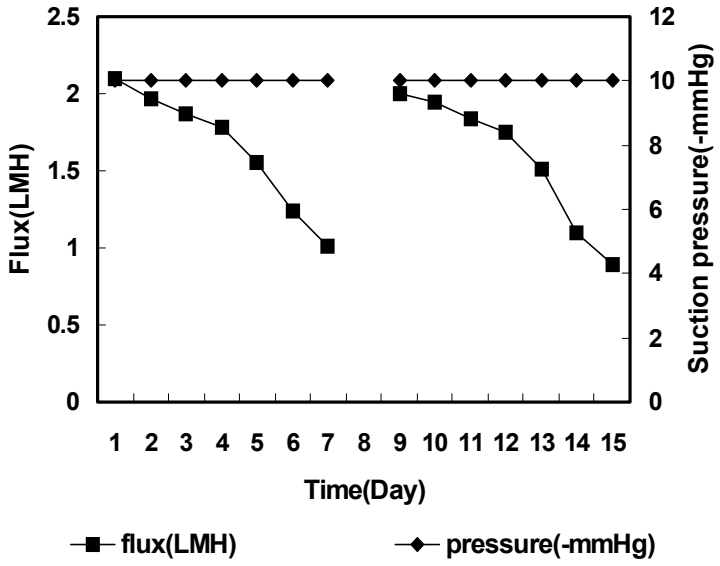


그림 63 산발효액의 Membrane Filtration 운전시 FLUX 변화

표 24 대체배지 생산을 위한 산발효액의 Membrane Filtration 처리 전·후이화학적 성상

구분		처리 전	처리 후
pH		6.9	8.2
CODcr(mg/ℓ)		54071	17002
휘발성 저급지방산 (mg/ℓ)	T-VFAs	9001	5536
	Acetic acid	5612	3184
	Propionic acid	1747	1125
	iso-Butyric acid	353	258
	n-Butyric acid	587	412
	iso-Valeric acid	620	490
	n-Valeric acid	84	68
NH_4-N(mg/ℓ)		3789	1836
PO_4-P(mg/ℓ)		366.8	83.8
Cl(mg/ℓ)		-	494
Ca(mg/ℓ)		592.2	30.4
Mg(mg/ℓ)		570.8	1.6
Na(mg/ℓ)		273.6	143.8
K(mg/ℓ)		2218.8	610.2

2. 양돈분뇨 배지를 이용한 광합성세균의 대량배양 결과

가. 대체배지와 화학배지의 광합성세균 생육비교

1) OD값과 pH의 변화

pH와 O.D의 변화를 살펴보면 Lab-Scale 실험에서와 동일하게 배양 이후 계속적인 증가가 일어나는 경향을 보였다. pH는 초기에는 대체배지가 약간 높게 나타났으나 배양이 끝난 10일에는 pH8.1 로 배양액 내부에 pH는 같은 값으로 나타났다.

O.D의 값에 변화를 보면, 배양초기에서부터 배양이 끝날 때까지 화학배지에서 높은 O.D값을 유지하였다.

2). Bacteriochlorophyll 변화

대체배지와 화학배지에서 광합성세균의 양을 측정할 때 O.D값이나, 균체량을 비교하는 것은 광합성세균 이외의 다른 물질에 간섭을 배제할 수가 없다. 그래서 광합성세균이 가지고 있는 특징 중 Bacteriochlorophyll 의 량을 측정하여 좀더 정확한 비교를 실시하고자 하였다.

그림 66은 화학배지와 대체배지에서의 Bacteriochlorophyll변화량인데 배양을 시작한 후 점차 증가 하는 경향을 보였다. 대체배지에서는 증가폭이 완만하게 이루어지다 배양 8일부터 감소하는 것을 알 수 있었다. 화학배지에서는 2일에서 4일 까지 증가폭이 컸으나, 이후 일정하게 증가하였다. 배양이 끝난 액에서 Bacteriochlorophyll의 량을 살펴보면 화학배지는 흡광도값이 1.582이고 대체배지에서는 1.257로 화학배지 대비 대체배지의 량은 약 80%인 것으로 나타났다. 이는 양돈분뇨대체배지가 화학배지를 충분히 대처할 수 있는 수치라고 사료된다.

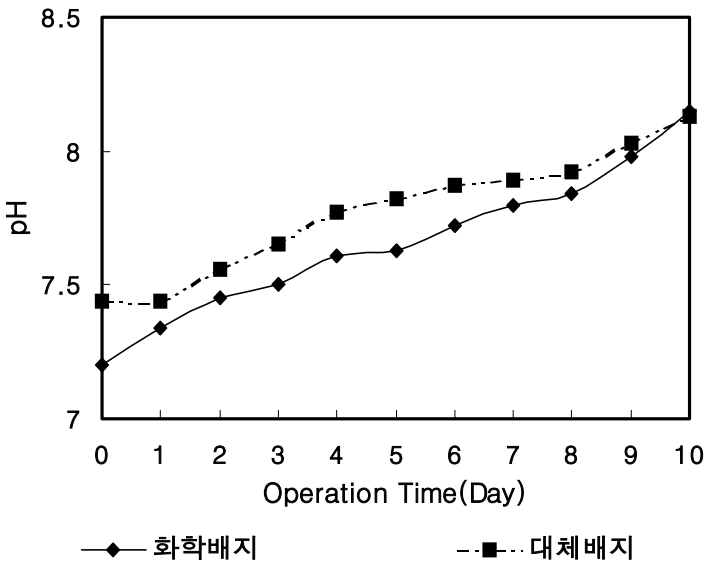


그림 64 화학배지와 대체배지에 배양액내부의 pH 변화

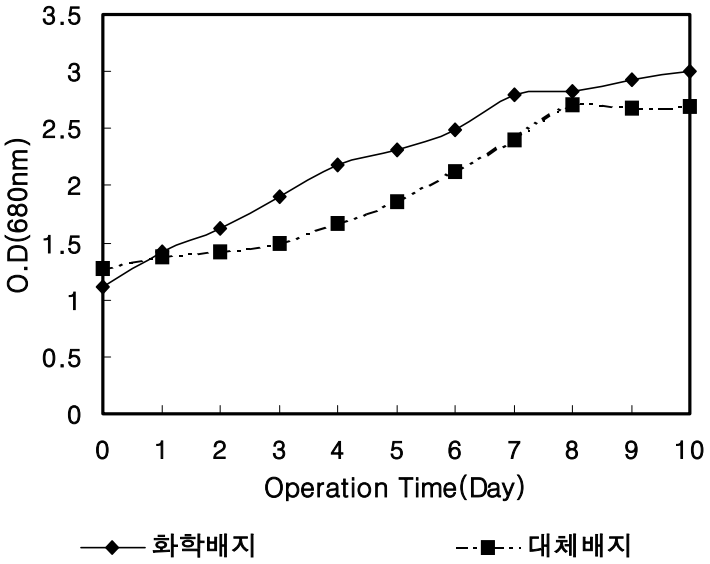


그림 65 화학배지와 대체배지에 배양액내부의O.D변화

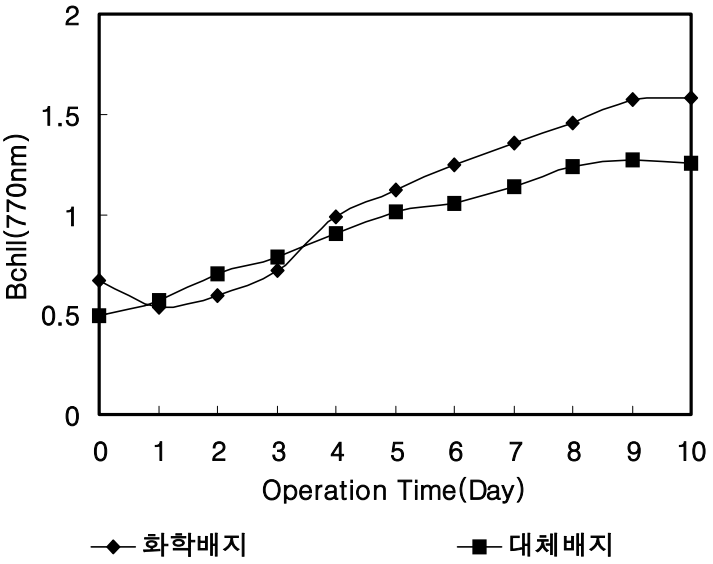


그림 66 화학배지와 대체배지에 배양액내부의Bacteriochlorophyll변화

나. 배양액의 이화학적변화

1) COD 변화

화학배지와 대체배제에서의 COD의 변화는 그림 67 에서 보는바와 같이 광합성세균이 증가하면서 COD는 감소하는 경향을 보였다. 이는 광합성세균이 증가하면서 균체수 증식에 필요한 유기물로 이용되어진 것으로 사료된다. 배양 초기에 감소율이 배양 말기보다 크게 나타났는데, 이는 VFAs 변화 모습과 흡사하다. COD의 감소량이 VFAs보다 낮은 이유는 양돈분뇨 고유의 색도가 COD농도에 포함되어 있어 VFAs 의 감소량보다 적은 것으로 사료된다.

2) VFAs 변화

VFAs 는 미부숙 유기물이 토양 내에서 미생물에 의해 분해과정동안 생성되는 것으로 높은 농도에서는 작물 생육, 특히 뿌리의 생육을 현저하게 저해한다. 양돈분뇨를 퇴비 등으로 이용 시 문제가 발생하는 대부분의 문제가 VFAs에 의한 식물의 생육장해이다.

양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 배양시 내부액 에서의 VFAs의 변화를 살펴보면, 초기 약 농도 1000mg/ℓ에서 배양 4일 이후는 200mg/ℓ로 나타났으며, 최종 배출되는 대체배지는 50mg/l 이하로 분석되었다. 양돈분뇨의 작물에 이용시 해가되는 VFAs의 대부분의 농도가 배양을 시작한 후 4일안에 자화되었고, 이후 에는 변화폭이 현저하게 낮아지는 것을 볼 수 있었다 (그림 68) . 이것은 유기성 비료와 함께 사용 하였을 때 , 농업적으로 이용효과가 검증된 광합성세균을 양돈분뇨대체배지로 생산 후 농업에 사용시 미부숙으로 인한 문제는 없을 것으로 사료되며, 양돈분뇨로 생산된, 광합성세균을 미생물비료로 이용시 효과가 기대된다.

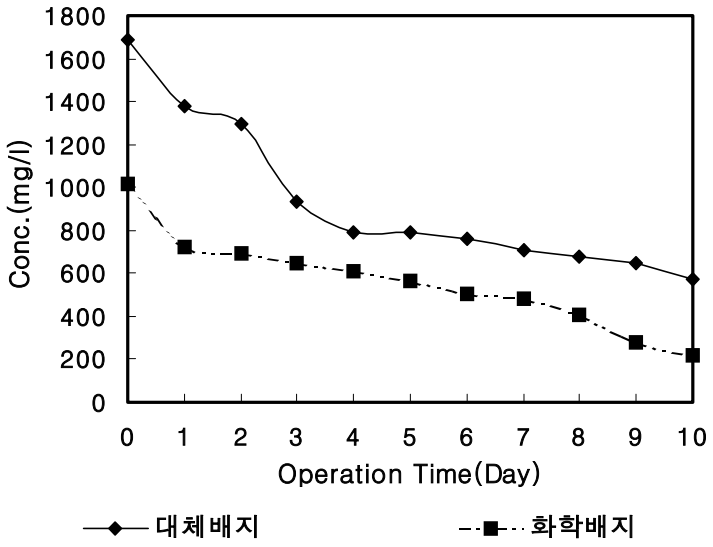


그림 67 화학배지와 대체배지에 배양액내부의COD 변화

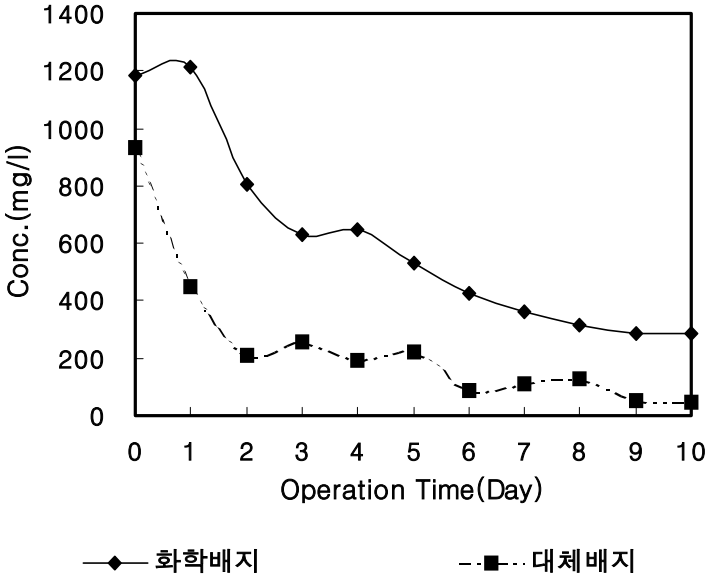


그림 68 화학배지와 대체배지에 배양액내부의 VFAs, 변화

3) NH_4-N, PO_4-P 변화

화학배지와 대체배지에서의 NH_4-N과 PO_4-P에 변화를 살펴보면 그림69와 그림70의 모습과 같다. 대체배지에서 NH_4-N의 농도가 600mg/ℓ가 존재하므로, 비료로서 가치가 있을 것으로 사료된다.

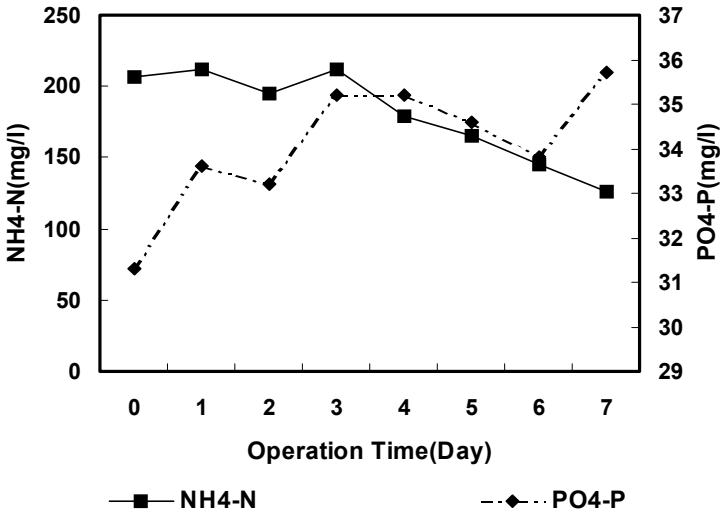


그림 69 화학배지 배양액내부의 NH_4-N PO_4-P 변화

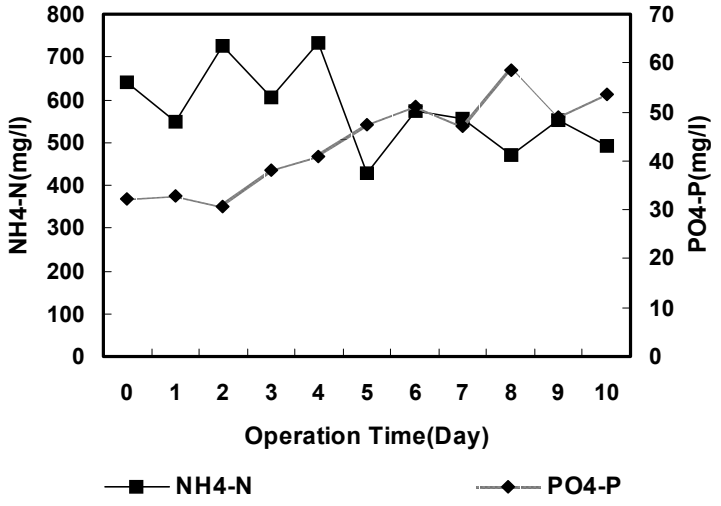


그림 70 대체배지 배양액내부의 NH_4-N PO_4-P 변화

다. 경제성 비교

화학배지로 광합성세균을 생산시 들어가는 비용은 초기 설비 투자비, 배양기 운전비, 배지 제조비 등이 들어가게 된다. 표.25는 화학배지와 대체배지의 생산 단가를 비교한 것이다.

표 25 화학배지와 양돈분뇨대체배지의 생산단가비교.

구분		배지생산	광합성세균배양	소요시간
화학배지	시설투자	·산발효기:1,400만원(1000ℓ/2대) -소요시간:3일 ·M/F제작:1,500만원(100ℓ/1일) -소요시간:5일 ·살균기:600만원(500ℓ/1회) -소요시간:30분	·배양기 : 동일금액	18일
	배지제작 및 운전기간	·0원(운전비	·배양기 운전비 동일금액 -소요시간:10일	
대체배지	시설투자	·Autoclave:2,300만원 ·증류수 생산기:1,500원	·배양기 : 동일금액	11일
	배지제작 및 운전기간	·352,480원/400ℓ	·배양기 운전비 동일금액 -소요시간:10일	
차액	시설투자	·대체배지가 약 300만원절감	·0원	-
	배지제작 및 운전기간	·352,480원/배양기1대	·0원	-

※ 시약가격 : Sigma 책자 참고

배양기를 운영하는데 들어가는 비용은 화학배지나 대체배지가 동일하게 들어가며, 초기투자비중 배양실제작과 배양기제작, 배양실운영에 사용되어지는 비용도 동일하게 들어간다. 하지만, 화학배지로 배양은 대용량의 Autoclave와

증류수제작기가 설치되어야 하고, 대체배지로 배양은 산발효기, 고액분리기, 살균기가 제작되어야한다. 두 배양의 초기시설비의 투자를 비교하여 보면 대용량의 Autoclave가 '2,300만원', 증류수제작기가 '15,000만원'이고, 산발효기, Membrane, 살균기의 가격이 각각 '1400만원','1,500만원'과 '600만원'으로 '3,500만원'이 필요하다. 동일하게 들어가는 비용을 제외하면, 초기투자비도 대체배지로 생산이 화학배지보다 '300만원'저렴하게 제작할 수 있을 것으로 사료된다.

배지의 생산단가를 살펴보면, 배양기 가동부피가 400ℓ이므로 화학배지로 생산 시 '352,480원'의 시약비가 사용된다. 하지만 대체배지는 배지 생산시 시약비가 전혀 들어가지 않고, 산발효와 Membrane Filtration운전비가 필요하다.

광합성세균의 생산할 때 공통적으로 들어가는 금액에 산정이 어려워 생산단가를 정확하게 산정할 수는 없지만, 배지의 생산비만 살펴보면 대체배지가 화학배지생산량에 약 80%에 효과를 가지고 있으므로, 배지 생산비에 최대 80%를 감소 할 수 있을 것이라 사료된다. 생산단가의 저감으로 경제성과 경쟁력이 있는 균의 생산이 기대되는 바이다.

제5절. 결론

양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 생산 하기위하여 산발효 및 고액분리 등 전처리 방법을 연구한 결과는 다음과 같다.

● 전처리 공정에서의 결과는 다음과 같다.

가. 양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 배양하기위해 전처리한 결과 산발효 후 VFAs중 Acetic acid 는 2499mg/ℓ에서 최고 5816mg/ℓ로 증가하였고, Propionic acid는 599mg/ℓ에서 1672mg/ℓ로 증가 하였고, Run-2(교반 40rpm)은 Acetic acid 는 2499mg/ℓ에서 7310mg/ℓ로 증가하였고, Propionic acid는 599mg/ℓ에서 1965mg/ℓ로 증가하였다. 증가율은 Run-1에서 각각 2.3배, 2.8배 증가하였고, Run-2는 각각 2.9배, 3.3배 증가하였다.

나. 산발효후 실시한 고액분리의 결과는 VFAs의 투과율이 약 80%이상 투과되었으며, 고형물에 많이 부착되어있는 PO_4-P는 약 75% 제거되었다.

● 전처리 공정을 거친 양돈분뇨를 이용하여 광합성세균을 생산한 결과는 다음과 같다.

가. 화학배지와 대체배지에서 광합성세균이 증가함에 따라 O.D, Bacteriochlorophyll, 값이 증가하였다. 이때 광합성세균의 량을 보면 Bacteriochlorophyll,의 흡광도 값은 대체배지 에서 화학배지의 약 80% 값을 나타내었다.

나. 배양액의 성상변화는 유기물(COD와 VFAs)과 질소(NH_4-N)성분이 광합성세균이 증식함에 따라 감소하는 경향을 보였는데, 유기물중 VFAs는 대체배지에서 배양5일째 90% 제거되었으며, 화학배지에서는 배양이 끝난 시료에서 약 75% 의 제거율을 보였다.

다. 대체배지로 광합성세균을 생산하는 가장 큰 목적이 싼 가격에 광합성세균을 생산하는 것이다 화학배지와 대체배지에서의 생산단가를 비교하여 보면 400ℓ의 광합성세균을 생산 할 때, 35,248원의 시약비가 소모되는 반면, 대체배지로 생산 할 때는, 비용이 전혀 소모되지 않고, 대체배지로 화학배지 대비 약 80%의 생산량을 보이므로, 생산 단가를 최대 80%까지 낮을 수 있을 것으로 사료된다.

제5장. 대체배지 광합성 세균의 농업적 이용.

제1절. 개론

광합성 세균은 토양이 받아들이는 광과 열을 에너지원으로 하고, 식물 뿌리에서 나오는 분비물, 유기물, 또는 유해가스(황화수소 등)를 먹이로 하여 질소화합물인 아미노산, 핵산과 생리활성물질, 당류 등 식물의 생육과 생장을 촉진시키는 많은 유용물질을 생합성하는 독립영양미생물이며, 카로티노이드를 가진 홍색의 생균체이다. 이러한 대사물들은 식물에게도 직접 흡수되지만, 다른 미생물이 번식하는 먹이도 되며, 또 토양에서 광합성세균이 증가하면 다른 유효한 토양미생물도 증가한다. 예를 들면 광합성세균이 분비하는 질소화합물(아미노산)을 먹이로 VA균근균이 늘어나, 식물의 뿌리에서는 흡수할 수 없는 불용성 인산을 식물에게 공급한다. 또 질소고정균의 일종인 아조토박터(호기성)과 공생하여 질소고정능력을 촉진한다.

지력이 떨어진 농지에서 광합성균을 유기질 비료와 함께 사용하면 높은 효과가 나타난다. 광합성세균은 균체내에 비타민 B6, B12, E 및 다수의 아미노산, 카로티노이드 등을 포함하므로 식물의 생육에 유익한 효과를 주어 식물의 생장을 돕는다. 또한 토양장해의 억제, 식물의 생육촉진, 과실의 비대촉진, 당도의 향상, 수량 및 품질의 향상 등 다양한 효과를 기대할 수 있기 때문에 유기농업 경영에서 필수적인 미생물이라 할 수 있다.

광합성 세균을 작물에 시용했을 때 기대되는 효과로는 ①공기중의 질소를 고정하고 토양을 비옥하게 한다. ②유해미생물군(곰팡이 또는 사상균)의 번식을 억제한다. ③논에서 발생하는 황화수소를 제거한다. ④작물의 수량, 품질, 저장성을 향상시킨다. ⑤ 과수, 과채의 당도, 색도, 비타민 함유량을 증가시킨다. ⑥뿌리뻗음과 잎의 색을 좋게 하고 생육상태를 개선한다. ⑦토양유용미생물군을 증식시켜 공존함으로써 토양을 활성화시킨다. ⑧토양잔류양분, 미분해유기물을 효과적으로 이용한다. ⑨ 연작장해를 해소, 경감시킨다. 이와 같이

광합성 세균은 토양과 식물체의 가교역할로 식물 생장에 필요한 영양소 공급을 원활하게 하고 내병성을 증진시켜 고품질 농산물 생산에 적합하며, 이미 광합성 세균이 작물 재배용으로 시판되고 있다.

이에 본 연구에서의 생산된 광합성 세균을 이용하여 작물 시험을 진행하였으며, 향후 광합성 세균의 이용 방안을 모색하였다.

제2절. 재료 및 방법

시험은 강원도 원주시 흥업면 소재 'T'회사의 온실에서 실시하였으며, 시험재료로는 구 중앙종묘 방울토마토(CA9801)를 사용하였다.

공시재료는 2003년 1월 8일 전열온상에서 관행재배형식으로 상자에 파종한 후 본엽 3~4매시육묘용 포트에 이식하였다. 시험구는 인근 농협에서 유통되는 퇴비(유기물함량 25%이상, 돈분50%, 계분10%, 톱밥40%)와 고온 발효 퇴비(유기물 25%이상, 돈분고형물 전량 : 질소2.5%, 인산 15%, 가리0.6%, pH8.9)를 주구로 하여 각각 세세구를 화학비료처리구, 대체배지광합성세균주 처리구, 고온 발효 액비 처리구 및 대체배지광합성세균 + 고온 발효 액비 처리구를 두고 시험하였다.

파종 3주 후

파종 10주 후

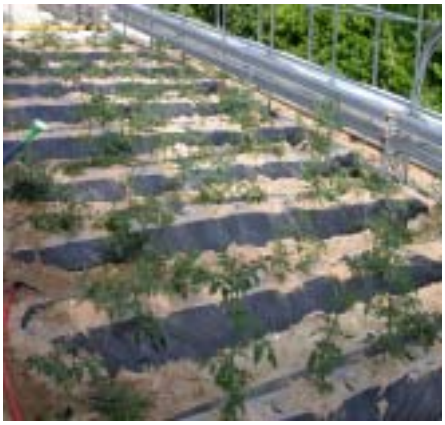
그림 71 시험 토마토의 육묘 상태

재배 시험은 보온시설이 가능한 온실에서 수행하였고, 사용된 토양은 사양토양으로 구배와 배수 모두 양호하였다. 토마토의 시비량에 알맞게 퇴비는 농협퇴비는 900㎏/10a를, 고온 발효 퇴비는 500㎏/10a를 경운 전에 시비하였고, 시비(N-P-K-Ca-B)는 경엽의 성장에 좋게 하기 위해 초기에는 400-60-500-300-100mg/ℓ의 양으로 정식전 처리하였고, 과실생산에는 100-15-40-80- 25mg/ℓ을 기준으로 5월19일부터 4차에 걸쳐 추비하였다.

시험구는 주당 12주를 1처리구로 하여 3반복으로 수행하였고, 재식거리는 90×45㎝로 하였으며, 나머지는 일반 관행 재배에 준하여 시행하였다.

토양의 성분은 정식 전 토양, 정식 50일 후의 토양을 채취하여 무기분석과 미생물 생육상을 분석하였고, 작물재배후의 토양을 조사할 계획이다. 식물체의 생육은 초기, 중기, 후기로 나누어 조사하였고, 수확은 6월 20일 ~ 7월 26일까지 하여 조사하였으며, 식물체의 생육조사는 7월 26일 실시하였고, 항목으로는 초장, 엽장, 엽폭, 경장, 총화방수, 절간장 및 제1착과절위 등을 조사하였다.

그림 72은 2003년 4월 4일 정식이후 3주 후부터 15주후까지의 생육정도를 보여준다.



정식 3주 후

정식 5주 후

정식 7주 후

정식 15주 후

그림 72 정식 후 토마토 생육 모습

제3절. 결과 및 고찰

토마토 정식 전 토양의 무기함량 성분을 분석을 한 것이 표.26 이다. 고온 발효 퇴비구는 농협퇴비구 보다 pH, EC가 7.4, 0.3으로 높았으나, 질산태질소는 4.2mg/ℓ으로 농협퇴비구 25.2mg/ℓ보다 매우 낮게 나타났다. 그러나, 인산, 가리, 고토 등은 비슷한 함량을 나타냈다.

표 26 토마토 정식 전의 토양의 무기함량 분석.

Item	pH (1:5)	EC (dS/m)	P_2O_5 (mg/ℓ)	NH_4 (mg/ℓ)	NO_3 (mg/ℓ)	K	Ca	Mg
						(cmol(+)/kg)		
고온 발효 퇴비구	7.4	0.3	48	1이하	4.2	18.2	24.1	35.2
농협 퇴비구	6.9	0.2	48	1이하	25.2	15.0	23.3	31.4

표.27는 토마토 정식 50일후 토양의 무기함량 성분을 분석한 것으로, 고온 발효 퇴비구와 농협퇴비처리구의 경우 pH, EC는 화학비료를 첨가할 경우 pH는 낮아지고, EC는 높아지는 경향을 보였고, 인산의 함량도 70.0mg/ℓ, 94.0mg/ℓ으로 다른 처리구보다 높게 나왔으며, 인산, 가리, 고토 등은 비슷한 경향을 나타냈다. 이는 고온 발효 퇴비구 및 농협퇴비구 모두 유기질원으로서 대체배지광합성세균 및 돈분발효액은 작물흡수 및 토양내 미생물 등의 작용과 완충 역할이 크나 화학비료는 인산 염이 불용 상태로 존재한다는 보고와 비슷한 경향이 나타났다.

표 27 토마토 정식 50일 후의 토양의 무기함량 조사

Item	구분	pH (1:5)	EC (dS/m)	P_2O_5 (mg/ℓ)	T-N (mg/ℓ)	K	Ca	Mg
						(cmol(+)/kg)		
고온 발효 퇴비구	대체배지 광합성세균	6.5	0.3	57.0	64.0	26.3	29.0	34.2
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	7.6	0.04	41.0	45.0	23.4	21.7	28.4
	화학비료구	6.1	0.38	70.0	51.0	28.1	25.7	33.3
농협 퇴비구	대체배지 광합성세균	7.8	0.04	48.0	42.0	22.8	24.7	28.6
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	7.9	0.05	38.0	34.0	20.4	23.2	27.1
	화학비료구	6.1	0.35	94.0	58.0	29.7	25.6	33.5

표.28은 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비구에서 처리구별 생육정도를 나타내는 것으로 초장과 경굵기는 대체배지광합성세균주 + 고온 발효 액비에서 330㎝, 15.6㎜로 가장 컸고, 제1화방에서 제4화방의 길이÷엽수를 조사한 절간장은 화학비료 처리구에 비해 대체배지광합성세균에서 조금 큰 것으로 나타났다. 엽장과 엽폭에서는 주처리구 간에는 뚜렷한 경향은 없이 30.0㎝~34.2㎝, 25.7~32.6㎝로 나타났으나, 처리구간에는 차이가 있는 것으로 나타났다. 육안조사 결과 고온 발효 퇴비구가 농협퇴비구보다 엽색이 짙고, 제1화방 착과절위가 높으며, 초세가 강한 것으로 나타났다. 7월 26일까지 과일이 달린 화방수를 조사한 결

과 고온 발효 퇴비+화학비료구 및 농협퇴비구+대체배지광합성세균 처리구에서 8.8, 8.4개로 다른 처리구보다 1.0~0.6개 정도 적었을 뿐 대부분 양호한 것으로 나타났고, 그림 73은 이러한 화방형성과 식물체의 모습을 보여준다.

표 28 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비처리구에서 미생물처리에 의한 생육표.

Item	구분	초장 (㎝)	경굵기 (㎜)	절간장 (㎝)	엽장 (㎝)	엽폭 (㎝)	엽색 (1-5濃)	총 화방수 (個)	제1화 방착과 절위 (1-9高)	초세종합 (1-5强)
고온 발효 퇴비	대체배지 광합성세균	330	15.6	6.3	34.2	32.6	5	9.4	7	5
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	306	13.6	6.1	33.0	30.0	4.5	9.0	7	5
	화학 비료구	288	13.0	6.0	30.4	28.2	4.5	8.8	5	4.5
농협 퇴비구	대체배지 광합성세균	288	13.4	6.8	30.8	28.1	3.5	8.4	5	4
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	304	12.2	6.0	30.0	25.7	3.5	9.2	5	4
	화학 비료구	307	12.2	6.2	33.0	32.4	4	9.0	3	4.5

고온 발효퇴비
/대체배지광합성세균

고온발효퇴비/
대체배지광합성세균+
고온 발효 액비

고온 발효 퇴비
/화학비료구

농협퇴비
/대체배지광합성세균

농협퇴비
/대체배지광합성세균+
고온 발효 액비

농협퇴비/화학비료구

그림 73 토마토의 화방 모습

표.29는 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비처리구에서 각처리구별 수량조사와 식미검정을 한 것으로 주당 총 과수는 고온 발효 퇴비구의 대체배지광합성세균+고온 발효 액비, 대체배지광합성세균, 화학비료구가 93.5, 82.3, 80.4개로 농협퇴비처리구의 화학비료구, 대체배지광합성세균, 대체배지광합성세균+고온 발효 액비의 73.4, 58.5, 47.8보다 월등히 높은 것으로 나타났으며, 상품과수에서도 비슷한 경향을 나타냈다. 그러나 10a당 총중량과 상품과 중량의 경우 고온 발효 고형퇴비구의 대체배지광합성세균+고온 발효 액비, 대체배지광합성세균, 화학비료구에서 2,291, 2,036, 1806 및 2,017, 1,806, 1,472㎏으로 농협퇴비구의 각 처리구보다 매우 높은 것으로 나타났다. 이러한 경향은 고온 발효 퇴비내에 들어있는 비료성분과 농협퇴비내 들어 있는 비료성분 및 C/N율의 차이에 기인하는 것으로 판단되며, 향후 식물체 분석 및 토양분석이 완료 되어야 알 수 있을 것이다.

표 29 고온 발효 퇴비 및 농협퇴비처리구에서 미생물처리에 의한 수량성 및 식미검정표

수확기간 : 2003년 6월 20일 ~ 2003년 7월 26일

Item	구분	수량성(kg/10a)					식미		
		총중량 (kg/10a)	상품중량 (kg/10a)	상품율 (%)	총과수/주 (개)	상품과/주 (개)	단맛 (1-9高)	신맛 (1-9强)	껍질 (1-9多)
TAO 고형 퇴비구	대체배지 광합성세균	2,036	1,806	76.6	82.3	63.0	4.6	5.0	4.8
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	2,291	2,017	77.3	93.5	72.3	4.8	4.8	4.9
	화학 비료구	1,806	1,472	67.5	80.4	54.3	5.3	5.1	5.5
농협 퇴비구	대체배지 광합성세균	1,562	1,440	84.6	58.5	49.5	4.6	4.9	5.0
	대체배지 광합성세균 + 고온 발효 액비	1,249	1,106	76.4	47.8	36.5	5.0	4.4	4.8
	화학 비료구	1,868	1,562	70.0	73.4	51.4	5.8	4.1	5.2

제4절. 결론

본 연구는 고온 발효 퇴비구와 농협퇴비구를 주구로 대체배지광합성세균, 대체배지광합성세균 + 고온 발효 액비 및 화학비료구를 처리구로 하여 토마토의 생육특성, 토양의 무기함량분석 및 수확후의 저장성을 조사한 결과 다음과 같다..

가. 수량성을 조사한 결과 총과수, 총수량 모두 고온 발효 퇴비에 대체배지광합성세균 +고온 발효 액비>대체배지광합성세균>화학비료 처리수으로 나타나 농협퇴비의 다른처리구보다 수량이 많아짐을 알 수 있었다.

나. 대체배지를 이용한 광합성 세균을 작물 재배에 이용할 경우 단독 시비보다는 다른 비료질 성분을 첨가하여 시비를 하여야 할 것이다.

참고문헌

Cox, J.C., Beatty, J.Y., and Favinger, J.L. 1983. Increased activity of respiratory enezymes from phototosynthetically grown Rhodopseudomonsa capsulata in response to small amounts of oxygen. Arch. Microbial., 134, 324-328

H. Sawada and P. L. Rogers Photosynthetic bacteria in waste treatment. J. Fermentor. Technol. Vol 55 J. No. 4. 297～310

M. G. lee, Kobayashi, M. and Yasumoto. 1990. Hypocholesterolemic effect phototrophic bacteria cells in rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 36. 475-480

M. G. Lee and Kobayashi, M. 1992. Deodorization of swine sewage by additation of a Phototrophic Bacterium, Rhodopseudomonas capsulata. Soil Sci, Plant Nutr., 38(4), 767-770

Hirotani, H., H. Ohigashi, K. Koshimizu, and E. Takahashi 1991. Inactivation of T5 phage by cis-vaccienic acid, and antivirus substance from Rhodopseidomonas capsulata and by unsaturated fatty acids and related alcohols. FEMS Microbiol. Lett., 77. 13-17

Kobayashi M. 1976. Utilization and disposal of waste by photosynthetic bacteria. In Microbial Energy Conversion, pp. 443-453.

Kobayashi M. and S.I. Kurata. 1978. The mass culture and cell utilization ofphotosynthetic bacteria process. Biochemistry. 13(9) 27-30

Sasaki, K., M. E. Hurtado, Y. Nishzawa and Nagai. 1985. Aerobic - Heterotrophic and photoheterotrophic growth in microaerobic-light chemostat cultures of Rhodopseudomonas sphaeroides S. J. Ferment. Technol. 63. 37 7～381

T. Katayama, M. Kobayashi, and A. Okuda. 1967. Nucleic acids in the culture fluids of R. capsulatus and other heterotrophic bacteria. Soil Science and Plant Nutrition, Vol. 13. No. 4,

Van Niel, C.B. 1994. The culture general physiology, and classification of the nonsulfur purple and brown bacterai. Bacteriol. Rev., 8, 1
小林達治. 1996. 光合成細菌과 유용한 土壤微生物. 월간폐기물 3월호. 114-117
小林達治. 光合成細菌で 環境保全. 農文協.
代永道裕・田中 博 家畜排泄物の 臭氣とその防除にす關る硏究. 127～145
김장석. 1991. 광합성세균 *Rhodocyclus geatinosus*에 의한 전분공업폐수 처리에 관한 연구. 고려대학교 대학원 석사학위논문. 14-16
이명규 외 4명. 1998. 광합성세균을 이용한 고농도 양돈슬러리의 무취화 관리 방안에 관한 연구. 축산시설환경 4(2) 137-147
조경덕, 강성옥, 임왕진, 조홍연, 양한철. 1993. 유기폐수처리용 종균제 생산을 위한 *Rhodospirillum rubrum* P17의 배양조건. 한국농화학회지. 36(6)
한석균, 고유석, 안태영, 배동훈. 1996. 가축분뇨를 이용한 SCP생산균주의 분리 및 균체 단백질 생산. Vol 24. No 6, 749-755
강성옥(1993) “두부공업폐수를 이용한 광합성세균 Rhodospirillum rubrum의 균체생산”, 석사학위논문, 고려대학교 대학원
김범석 “광합성세균과 응집제생산균주에 의한 돈분폐수처리에 관한 연구”석사학위논문, 고려대학교
오일웅(1990) “광합성세균이 생성하는 항생물질에 관한 연구”석사학위논문, 경북대학교 대학원