



## 유용미생물을 이용한 육상수조식 양식장 배출물의 재활용

문상욱\* · 이준백<sup>1</sup> · 이영돈<sup>2</sup> · 김세재 · 강봉조<sup>3</sup> · 고유봉<sup>1</sup>

제주대학교 지역기술혁신센터 · <sup>1</sup>제주대학교 해양학과 · <sup>2</sup>제주대학교 해양과환경연구소 · <sup>3</sup>제주도 해양수산자원연구소

## Recycling Marine Fish Farm Effluent by Microorganisms

Sang-Wook Moon\* · Joon-Baek Lee<sup>1</sup>, Young-Don Lee<sup>2</sup>, Se-Jae Kim,  
Bong-Jo Kang<sup>3</sup> and You-Bong Go<sup>1</sup>

*Cheju National University Technology Innovation Center, Jeju 690-756, Korea*

<sup>1</sup>*Department of Oceanography, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea*

<sup>2</sup>*Cheju National University Marine and Environmental Research Institute, Jeju 695-814, Korea*

<sup>3</sup>*Jeju Province Fisheries Resources Research Institute, Jeju 699-814, Korea*

The effluent sediment from the land-based seawater fish farms of Jeju consists of proteins, fats, ash and moisture. An evaluation of the effluent sediment as substrate for growth of phototrophic or lactic acid bacteria revealed that the sediment supported the growth of phototrophic bacteria but could support lactic acid bacteria only on supplementation with sugar. The possibility of using phototrophic bacteria for recycling the land-based seawater fish farm effluent is shown.

**Key words:** Marine fish farm effluent, COD removal, Phototrophic bacteria, Lactic acid bacteria, Recycling

### 서 론

바다로 둘러싸인 제주에서는 연안해양의 환경관리와 더불어 수산업의 활성화는 중요하다고 할 수 있다. 어패류에 대한 수요는 양식업에 점점 의존해가고 있으며, 양식장의 규모와 수도 점차 증가되어가고 있다.

광합성세균을 이용한 오폐수처리는 Kobayashi(1972)에 의해 시도되었으며, 국내에서도 광합성세균을 이용한 축산분뇨(이 등, 1998), 두부공업폐수(정 등, 1997)의 처리, 광합성세균 미생물막을 이용한 유기성폐수의 처리(오 등, 1996) 등이 시도되고 있다. 이외에도, 광합성세균은 특정한 조건에서 수소(H<sub>2</sub>)를 생성하며, 대체에너지로서의 수소의 생산을 위한 연구 등도 활발히 진행되고 있다(Moon and Matsuyama, 1997; 문 등, 1997; 고 등, 1999). 폐수처

리와 더불어 회수되는 광합성세균은 양질의 단백질로서 그 산업적 이용가치는 매우 높은 것으로 알려져 있다(Kobayashi, 1972; Kobayashi and Kurata, 1978). 광합성세균을 이용한 오폐수처리는 축산분뇨, 두부공업폐수, 도시하수 등의 분야에서 주로 이루어지고 있는 실정이며, 양식장 폐기물을 포함한 수산폐기물의 처리와 관련한 연구는 아직 활발히 수행되고 있지 않다.

양식장에서 생사료를 투여한 후, 배출구에서 회수되는 배출물의 양은 양식어의 크기 및 양식장에 따라 다소의 차이는 있으나, 아직 이들을 대상으로 하는 별도의 처리방법이 확립되어 있지 않다. 이러한 배출물은 대부분이 양식어류가 섭취하고 남은 잔류 생사료이며, 탄수화물이나 지방에 비하여 단백질 함량이 높은 것이 특징이라고 할 수 있다.

\*Corresponding author : moonsw@cheju.ac.kr

본 연구에서는 광합성세균 등의 유용미생물을 이용하여 양식장에서 발생하는 배출물의 처리 또는 재활용을 목적으로 하였다.

## 재료 및 방법

### 미생물 배양 및 농도 측정

**광합성세균:** 광합성세균은 3종(*Rhodospseudomonas palustris* (ATCC 17001), *Rhodobacter sphaeroides* (ATCC 17023), *Rhodobacter capsulata*(ATCC 11166))의 균주를 제주대학교 생물학과 미생물학 연구실로부터 공급받고, 광합성세균용 배지를 이용하여 보존·배양하였다. 세균수의 측정은 MPN법을 일부 변형한 방법(Siefert et al., 1978)으로 이루어졌으며, 개략적인 방법은 다음과 같다.

각 광합성세균은 광합성세균용 배지를 이용하여 4,000 lux, 30℃, 혐기조건으로 유리배양병에서 7일간 배양하였다. 배양 개시일에서 배양 종료일까지 매일 세균시료를 채집하고, 이 시료를 멸균한 생리식염수를 이용하여 여러 단계로 희석하였다. 각 희석된 시료는 상기의 배지(한천 배지) 및 동일한 배양조건(혐기, 빛)에서 10~14일간(이용된 기질에 따라서 최대 20일간) 배양한 후, 발생된 콜로니 수를 측정하여 균체수를 구하였다.

**젖산균의 배양 및 농도 측정:** *Lactobacillus plantarum* (ATCC8014)을 GYP 액체배지로 30℃의 항온기 내에서 정지배양하였다. 24시간마다 *L. plantarum* 배양액의 pH를 측정하고, 균수변화를 GYP 한천배지를 이용하여 희석평판법으로 측정하였다. 준비한 각 평판은 30℃의 항온기 내에서 24~48시간 배양한 후 출현한 콜로니수를 측정하였다.

### 양식장 배출물 시료 성분측정

양식장 배출물 시료의 수분, 조단백, 조지방, 조회분 등은 각각 Kjeltex Auto 1030 Analyzer, Soxtec System 1046, 회화로, 항온건조기 등을 이용하여 측정하였다. 지방산 함량은 SRI 8610C Gas Chromatograph을 이용하여 측정하였다. 중금속 성분은 원자흡광광도계를 이용하여 측정하였다.

### 양식장 배출물 시료의 미생물 배양기질로서의 이용

양식장 배출물 시료를 믹서로 분쇄하고, 분쇄시료 10 g에 증류수를 첨가하여 전체가 100 ml가 되도록 조절한 후, 30분간 교반하였다. 이 액을 시료로 하여 COD 측정(해양환경공정시험방법, 1998) 및 미생물 배양실험에 이용하

였다.

양식장 배출물 분쇄시료를 120℃, 1기압하에서 20분간 멸균하고, 이 시료를 증류수로 10배 희석시킨 후 교반하였다. 그리고 나서 COD 측정 및 미생물 배양실험에 이용하였다.

상기의 방법으로 작성된 양식장 배출물 시료는 각각 광합성세균, 젖산균의 배양기질로서 이용되었으며, 각 제조공정은 다음과 같다(Fig. 1 and 2).

광합성세균 접종시료는 배양완료 후, 원심분리(6,000 rpm, 15분)에 의해 배양액으로부터 균체를 분리하였으며, 균체가 제거된 배양액의 COD를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 양식장 배출물의 특성

제주도내 소재 2개소의 양식장을 선정하여, 양식장 배

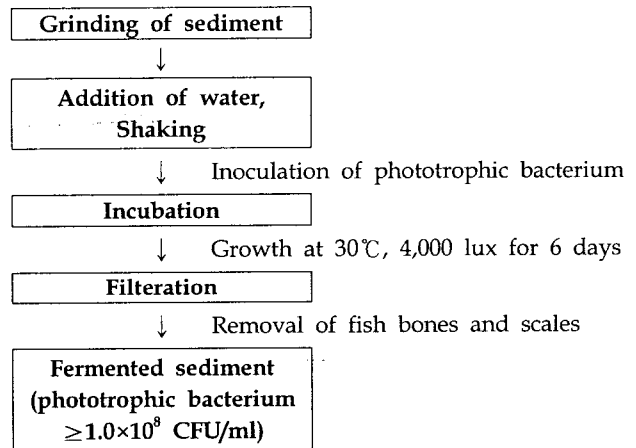


Fig. 1. Process of fermentation of sediment from land-based marine fish farm by phototrophic bacteria.

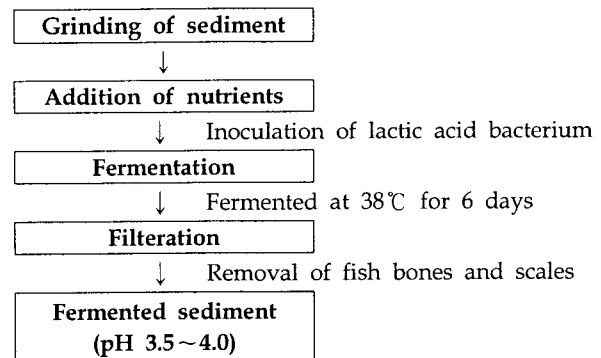


Fig. 2. Process of fermentation of sediment by lactic acid bacteria.

출물의 특성을 파악하였으며, 양식장 수조의 환경조건 및 사육조건은 Table 1에 나타내었다. 양식장에서는 일반적으로 사료공급 후, 수조의 수질관리를 위해 수조내 해수를 신속히 배출시키며, 따라서 많은 양의 해수가 한정된 배출구로부터 일시적으로 배출되어지기 때문에 배출물의 정확한 총량파악은 수행될 수 없었다. 이외에도 양식장 배출물은 주로 수조바닥에 침전되는 사료찌꺼기로 구성되고, 따라서 사료투여량과 깊은 관련성을 갖게 되며, 사료투여량은 양식장 수조면적, 양식어의 크기 등의 요인에 따라 변화하게 되어, 정확한 배출물의 양을 파악하기 위해서는 양식어 사육기간 동안 주기적으로 조사해야 할 필요성이 있다.

수조내 해수 및 유출수의 수질관리를 위해서는 사료투여 후 양식어에 의해 섭이되지 않고 남은 사료찌꺼기의 해수 중 체류시간을 최대한 줄이고, 여과 등에 의한 방법으로 사료찌꺼기 등을 신속히 제거하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

양식장 배출물의 수분, 조단백, 조지방, 조회분은 각각 80.9, 8.3, 3.49, 9.0%였고, 수분과 회분을 제외하면 단백질과 지방으로 구성되어 있다(Table 2). 지방산의 종류 및 농도는 Table 3에 나타내었으며, 불포화지방산의 함량이 전체지방산의 약 59 %에 달했다. Ca, Cu, Fe, Zn 등의 무기물도 높은 농도로 존재하였으며 특히 칼슘, 철 등의 농도가 높았다(Table 4). 이러한 결과로부터 양식장 배출물

**Table 1. Environmental parameters and rearing conditions**

Salinity (‰)	33.77
Water temperature (°C)	16.8
Retention time (day)	0.043
Olive flounder reared (no.)	1900 (950 g each)
Rearing tank (m)	12 m×13 m×0.85 m
Composition of diet (%)	mackerel 45+herring 55

**Table 2. General composition of sediment<sup>1</sup> from land-based seawater marine fish farm**

Composition	Content (%)
Moisture	80.90
Protein	8.30
Fat	3.49
Ash	9.00

<sup>1</sup>Sediment, recovered from the terminal end of drainpipe of fish farm, was concentrated by filtering through a net (100 μm mesh size) prior to analysis.

**Table 3. Fatty acids composition of sediment from land-based marine fish farm**

Fatty acid	Concentration (% fatty acid)
Capric acid C10:0	0.73
Myristic acid C14:0	6.11
Pentadecenoic acid C15:0	0.88
Palmitic acid C16:0	21.65
Palmitoleic acid C16:1	7.27
Magaric acid C17:0	1.38
Magaroleic acid C17:1	0.79
Stearic acid C18:0	5.66
Oleic acid C18:1	20.52
Elaidic acid C18:1, trans-9	4.55
Linolenic acid C18:3	0.88
Arachidic acid C20:0	0.88
Eicosadienoic acid C20:2	3.31
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid C20:3	1.27
EPA C20:5	6.38
Tricosanoic acid C23:0	2.79
Lignoceric acid C24:0	1.06
DHA C22:6n3	12.64
unknown	1.25
Total	100

**Table 4. Concentration of inorganic materials in sediment from land-based marine fish farm**

Inorganic materials	Concentration
Cu	1.84 ppm
Zn	2.30 ppm
Fe	300.00 ppm
Ca	1.30 %
K	0.09 %
Na	0.02 %

은 수분을 제외하면, 단백질, 지방, 회분 등의 함량이 높고, 지방산인 경우에도 불포화지방산의 상대적인 함량이 높아서 폐기물로서 인식되어 지기보다는 재활용이 가능한 유용한 자원이라고 판단되었다. 본 연구에서는 이러한 양식장 배출물을 광합성세균 또는 젖산균에 대한 기질로서 이용하여, 처리에 어려움이 많은 폐기물에서 산업적 이용가치가 높은 자원으로 재활용하는 것이 바람직하다고 판단된다.

### 미생물 배양실험

**광합성세균의 배양:** 양식장 배출물을 분쇄기로 분쇄하고, 증류수를 이용하여 1 g/10 ml로 희석하여, 여기에 광합성세균(1.0×10<sup>8</sup> cells/ml)을 전체의 5 % (v/v)가 되게 접

중하고 발효기를 이용하여 배양하였다. 회분식 배양은 7 ℓ 한일발효기(working volume, 5 ℓ)를 이용하여, 30°C, 4,000 lux의 배양조건하에서 수행하였다. 발효기내의 교반속도는 120 rpm 정도로 조절하였다. *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodobacter sphaeroides* 또는 *Rhodobacter capsulata* 등의 광합성세균을 각각 배양하였을 때, 3일 후 대부분  $2.1 \sim 4.3 \times 10^8$  CFU/ml 정도의 성장량을 나타내었다 (Fig. 3). Fig. 3에 나타난 것과 같이 *R. capsulata*의 성장량이 가장 높았다. 배양후기로 진행됨에 따라 *R. palustris*와 *R. rubrum*의 배양병 내부 경계면에서 세균의 부착이 심하게 나타나, 배양병 중심으로의 빛의 투과가 상대적으로 감소된 것으로 생각되었으며, 상대적인 광량 감소는 서로 다른 성장량에 대한 하나의 요인으로 생각된다. 광합성세균을 이용한 양식장 배출물의 처리는 회분식 배양에서는 부착성이 높은 광합성세균을 이용해도 큰 문제는 없으리라 생각되나, 연속배양에서는 빛의 투과면에 대해 부착성이 상대적으로 적은 광합성세균을 선택하는 것이 배양공정의 효율면에서 좋다고 판단된다.

**젖산균의 배양:** 양어장 배출물을 분쇄하고, 여기에 흑설탕 또는 당밀을 3% 정도 첨가하여, *L. plantarum* ( $10^8$  cells/ml)을 5%(V/V)가 되도록 접종하였다. 배양은 한일발효기(working volume, 5 ℓ)를 이용하여, 38°C에서 6일간 발효시켰다. 발효초기에는 점성이 있는 입자상 고형물의 형태를 보이나, 발효후기로 진행됨에 따라 액상형태로 전환하였다. 배양개시 후, 3일이 경과할 때부터 배양액의 pH는 4.0 부근까지 저하하였다. 배양개시 후 6일째의 *L. plantarum*수는  $4.2 \times 10^8$  CFU/ml였고(Fig. 4), 배양액의

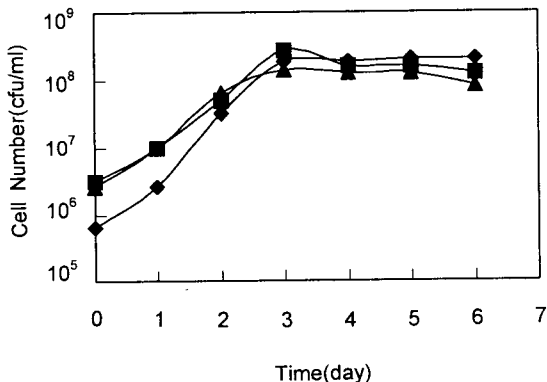


Fig. 3. Growth of phototrophic bacteria on sediment from land-based marine fish farm as substrate. (◆, *Rhodobacter capsulata*; ▲, *Rhodospirillum rubrum*; ■, *Rhodopseudomonas palustris*)

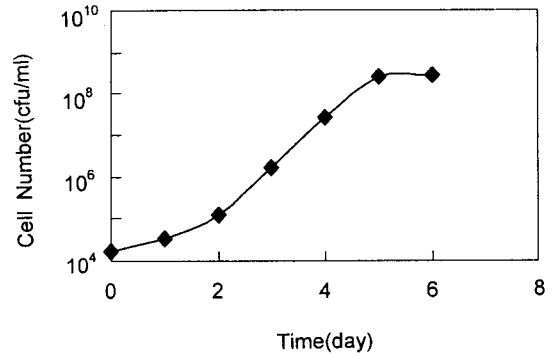


Fig. 4. Growth of *L. plantarum* on sediment from land-based marine fish farm as substrate.

pH는 3.8이었다.

배양액의 낮은 pH는 배양액의 보존성을 높이고(강 등, 1999), 젖산균에 의한 발효는 양식장 현장에서의 배출물의 보존을 위한 중요한 수단으로 판단된다.

#### 광합성세균 처리에 의한 COD 감소

분쇄 및 증류수 첨가 등의 처리를 거친 양식장 배출물 시료를 이용하여 광합성세균을 배양하였으며, 배양완료 후의 COD값은 Table 5와 같다.

시료는 크게, 양식장 배출물을 분쇄한 후 증류수로 혼합(1:10, W/V)하여 배양에 이용한 시료(I)와 분쇄한 것을 120°C 1기압에서 20분간 처리한 후 증류수로 혼합(1:10, W/V)하여 배양에 이용한 시료(II) 등의 두 가지로 구분하여 사용하였다.

이 두 가지 시료의 초기 COD값은 각각 500.7(I), 1,766.0(II) mg/ℓ였다. 이 시료에 3종류의 광합성세균(*R. capsulata*, *R. palustris*, *R. rubrum*)을 각각 접종하여 6일간 배양한 후, 균체를 제거한 각 배양액의 COD 값을 보면, 시료(I)은 *R. palustris* 58.0 mg/ℓ, *R. capsulata* 72.4 mg/ℓ이 배양된 것으로 COD 제거율은 각각 88.4, 85.5%였으며, 시료(II)의 경우에는 *R. rubrum* 408.0 mg/ℓ이 배양되었고 COD 제거율이 76.9%로서 타 세균에 비해 높았다. 시료(I)에서는 *R. palustris*의 COD제거율이 가장 높았으나, 시료(II)에서는 *R. rubrum*에 의한 제거율이 가장 높았다. 시료별(I, II)로 다르게 나타난 정확한 이유는 향후 기질농도에 따른 미생물 성장속도 및 광 구성의 변화 등과 관련하여 세부적인 실험이 수행되어야 할 것이다.

Table 5에서 높은 COD값을 갖는 양식장 배출물의 처리는 해양환경관리의 측면에서 중요한 것으로 판단되며,

**Table 5. Removal of COD from the sediment by growing phototrophic bacteria**

Types of sample <sup>1</sup>	COD (mg/ℓ)	Removal rate (%) <sup>2</sup>
Raw sample I (initial)	500.7	
<i>Rhodobacter capsulata</i>	724	85.5
<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	58.0	88.4
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	144.0	71.2
Raw sample II (initial)	1,766.0	
<i>Rhodobacter capsulata</i>	650.0	63.2
<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	670.0	62.1
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	408.0	76.9

<sup>1</sup>Raw sample I : The Sediment, well ground and mixed with distilled water (1: 10, W/V), was strongly agitated for 30 min prior to its use as substrate for bacterial growth. Raw sample II : The sediment, well ground, autoclaved at 120°C for 20 min, and mixed with distilled water (1: 10, W/V), was strongly agitated for 30 min prior to its use as substrate for the bacterial growth.

<sup>2</sup>COD Removed rate (%) = (Initial COD/Final COD)×100.

동시에 배출물의 영양적 측면으로부터 수분을 제외하면 단백질의 상대적인 함량이 높고 지방산인 경우에는 불포화 지방산의 함량이 약 59%에 달하며, 철분, 칼슘, 아연 등의 무기물 성분 함량이 높아서(Table 2~4), 재활용을 목적으로 하는 처리법의 개발이 시급한 것으로 인식되었으며, 본 실험을 통하여 유용미생물에 의한 재활용 가능성을 제시할 수 있었다(Fig. 3, 4 and Table 5).

배출물을 미생물 기질로 하여 3종의 광합성세균을 배양하였을 때, 전반적으로 비슷한 생장을 나타냈으며, 배양 개시 후 3일째에 최대 성장량에 도달하였다(Fig. 3). 배양 3일째 이후부터는 균체의 배양용기 벽면부착 증대 및 외부로부터의 빛의 공급 감소 등의 이유로 성장량이 저하되었는데, 3종의 광합성세균 중 *R. palustris*, *R. rubrum*가 *R. capsulata*보다 부착성이 높았다.

*R. capsulata*는 환경조건에 따라 광합성, 호흡, 발효, 화학합성 등 다양한 대사작용에 의해 성장가능한 미생물로서(Madigan and Gest, 1978), 양조산업폐기물, 도시하수, 돈 분뇨 등 다양한 종류의 폐기물 처리에 이용되는 대표적인 광합성세균이며(이 등, 1998; Kobayashi, 1972; Kobayashi and Kurata, 1978), 처리 후 회수되는 균체는 농업용 생리활성제, 수·축산용 사료첨가제 등의 목적으로 이용되고 있다. 광합성세균에 의한 폐기물 처리의 주요한 특징으로서는 회수된 균체의 재이용으로서, 처리비용의 경제성을 높일 수 있다(Kobayashi, 1972).

젖산균에 의한 발효에서는 발효완료 후의 배양액 pH가 3.8 부근까지 저하하였다. 낮은 pH를 갖는 발효물은 보존력이 높고(강 등, 1999), 양식장 현장에서의 배출물 보존과 관련한 중요한 수단이 될 수 있는 것으로 판단되었다. 양식장 배출물은 생사료의 주원료로 사용하는 고등어와 전갱이류 등의 절편으로(Table 1) 구성되며, 여과장치로부터 회수된 후 냉동실 등에서 보관하지 않으면 쉽게 부패하게 된다. 따라서 밀폐성이 좋은 플라스틱 상자 등에 회수된 배출물을 넣고 젖산균을 이용하여 발효를 시키게 되면, 현장에서의 부패를 방지할 수 있을 뿐만 아니라, 본 처리에서도 재활용 처리공정의 효율성을 높이는 것으로 생각된다.

광합성세균과 젖산균 등은 발효식품, 사료 첨가제, 폐수처리 등 매우 다양한 산업분야에서 이용되고 있으며(백 등, 2001; Kobayashi, 1972; Kobayashi and Kurata, 1978), 향후 이들 미생물의 이용범위는 더욱 확대될 것으로 생각된다. 본 연구에서 개발된 양식장 배출물 재활용 방법은 그 자체로서 양식장 배출물 처리에 어려움을 겪고 있는 양어 및 해양환경관리의 측면에서 중요한 의미를 제공하는 것뿐만 아니라, 단백질의 함량이 상대적으로 높은 폐기물처리 연구에도 중요한 기초자료로 활용될 수 있으리라 생각된다.

## 요 약

본 연구에서는 광합성세균 또는 젖산균 등과 같은 유용미생물에 의한 육상수조식 양식장 배출물의 재활용이 가능한지 평가하였다. 제주에 있는 육상수조식 양식장의 배출물을 조사 분석한 결과 배출물은 회분, 수분과 더불어 단백질, 지방으로 구성되어 있었다. 따라서 배출물이 광합성세균 또는 젖산균의 성장에 대한 기질로서 이용 가능한지를 평가하였다. 배출물은 광합성세균 생장의 기질로서 이용할 수 있었으며, 젖산균의 경우에는 당분을 첨가하면 기질로서 이용할 수 있었다. 본 결과는 육상수조식 양식장에서 배출되는 배출물이 유용미생물에 의하여 효과적으로 재활용될 수 있는 가능성을 제시하였다.

## 감사의 글

본 연구에 사용된 광합성세균 균주는 제주대학교 생물학과 오덕철 교수님으로부터 분주받았다.

또한, 양어장 배출물의 일반적 성분 및 무기물 성분의

측정은 부경대학교 사료영양생화학 연구실 배승철 교수님의 도움으로 진행되어졌다. 도움과 성원을 주신 두 분 교수님께 이 자리를 빌어 심심한 감사의 뜻을 밝힌다.

이 논문은 2000년 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 연구되었다(과제번호: KRF-2000-HA0002).

### 참 고 문 헌

Kobayashi, M., 1972. Utilization of photosynthetic bacteria. Proc. IV. Internal. Ferment. Symp., 527-531.

Kobayashi, M. and S. Kurata, 1978. Mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria. Process Biochemistry, 13 : 27-29.

Madigan, M. T. and H. Gest, 1978. Growth of photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas capsulata* chemoautotrophically in darkness with H<sub>2</sub> as the energy source. J. Bacteriol., 137 : 524-530.

Moon, S.-W. and M. Matsuyama, 1997. H<sub>2</sub> production by a purple sulfur bacterium blooming in Lake Kaiike. J. Agric. Chem. Biotechnol., 40 : 58-64.

Siefert, E., R. L. Irgens and N. Pfennig, 1978. Phototrophic purple and green bacteria in a sewage

treatment plant. Appl. Environ. Microbiol., 35 : 38-44.

강춘기 · 김영지 · 박상기 · 조갑연 · 조덕봉 · 조석금 · 채기수, 1999. 식품미생물학, 지구문화사, 서울.

고영현 · 배 무, 1999. *Rhodospseudomonas sphaeroides*와 *Clostridium butyricum*의 혼합배양을 통한 수소생성의 연속발효계. 산업미생물학회지, 27(1) : 46-53.

문상욱 · 松山通郎 · 고경민 · 이영돈 · 고유봉, 1997. 광합성세균 *Chromatium* sp.에 의한 질소고정과 수소생산. 한국양식학회지, 10 : 69-76.

백남수 · 임유범 · 김영만, 2001. Probiotics에 의한 해수양식의 성장촉진 및 항균효과. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 29 : 56-61.

오광근 · 이철우 · 전영준 · 이재홍, 1996. 광합성세균 미생물막 반응기에 의한 유기성 폐수의 처리 특성. 산업미생물학회지, 24 : 738-742.

이명균 · 권오중 · 정진영 · 태민호 · 허제숙, 1998. 광합성세균을 이용한 고농도 양돈슬러리의 무취화 관리방안에 관한 연구. 한국축산시설환경학회지, 4 : 137-147.

정대열 · 최양문 · 조홍연 · 양한철, 1997. 두부공업폐수에서 *Rhodobacter capsulatus* KK-10을 이용한 δ-aminolevulinic acid의 생산. 한국농화학학회지, 40 : 556-560.

해양수産部, 1998. 해양환경공정시험방법.

(접수: 2002년 3월 21일, 수리: 2002년 9월 10일)