

## 축산폐기물의 이용에 관한 연구

(제 1 보) 돈분과 옥분 혼합물의 발효중 일어나는  
미생물학적 및 화학적 변화

이성태 · 민태익 · 김현옥\* · 한문희

한국과학기술연구소 응용생화학연구실

\*서울대학교 농과대학

(1978년 2월 21일 수리)

## Studies on Recycling of Feedlot Waste

(Part 1) Microbial and Chemical Changes during the Fermentation  
of Swine Feces-Corn Meal Mixture

Sung Tae Lee · Tae Ick Mheen · Hyun Uk Kim\* and Moon Hi Han

Applied Biochemistry Labo, Korea Institute of Science and Technology,

\*College of Agriculture, Seoul National University, Suwon, Korea.

(Received Feb. 21, 1978)

### Abstract

The microbial and chemical changes, and characterization of the predominant acid-producing bacteria in the fermenting pig feces blended with corn meal at a ratio of 50:50 were studied. The fermentation was dominated by lactobacilli, which multiplied rapidly for the first 24 hours. The acid produced during the fermentation caused rapid pH drop to pH 4.5 and halted the growth of *E. coli* and yeast. The initial acid producing bacteria in the mixture was predominantly *Streptococcus* species, which were reduced in number rapidly. After 7 days of fermentation, three lactobacilli species were appeared *L. acidophilus*, *L. fermenti*, *L. delbrueckii*. Chemical changes during the fermentation were also studied.

The lactic acid fermentation imparted a good tangy acid flavor to the corn-feces mixture by removing or covering the fecal ordour and made the corn-feces mixture palatable for the animal as well as halted the unwanted microbial flora. We hope the lactic acid fermentation will replace the heat processing in the utilization of animal feces.

### 서 론

최근 가축분의 이용에 관한 연구는 환경오염의 방지와 동시에 사료자원으로 재이용할 수 있다는 점에서 그 연구가 활발히 진행 되고 있다. 가축분

에는 이용되지 않은 영양성분이 상당량 함유되어 있어 이를 가축에 다시 급여함으로써 가축에 의해 재이용됨이 증명되었으며 이것을 자원화 할 수 있는 가능성이 높음을 알 수 있다<sup>(1-8)</sup>.

Rhodes와 Orton<sup>(9)</sup>은 우분의 섬유질 성분을 제거 하여 얻어진 액상부분에 질소분의 70%가 존재한

다고 했으며, 이액을 옥수수에 혼합하여 고체발효를 시킬때에 일어나는 여러가지 변화를 검토하였으며, 수분을 이용한 이와 유사한 연구가 다수 보고되어 있다.<sup>(10-14)</sup> 또한 Knight 등<sup>(15)</sup>은 기초 사료와 우분을 여러 비율로 혼합하여 발효시킬 때 일어나는 미생물적 변화와 발효의 특성을 검토하였다.

본보에서는 돈분의 사료화를 위한 기초적인 실험으로서 돈분과 옥분을 혼합하여 발효시켰을 때 일어나는 미생물 및 화학적 변화와 주된 산생성균의 변화를 검토하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 조제

24 시간 이내에 채취한 생돈분과 옥분을 1:1(w/w)의 비율로 충분히 교반 혼합하여 삼각플라스크에 1/3 용량까지 충전하여 멸균한 후 30°C에서 발효시켰다. 1:1로 혼합된 돈분-옥분혼합배지의 최종 수분함량은 약 40~45%이었다. 사용된 옥분은 수분함량 13%내외의 갈게 부순 옥수수 가루를 사용하였으며 미생물의 이용성, 증가 및 돈분에서 유래된 미생물의 소장을 보기 위하여 멸균하였다. 생돈분은 경기도 평택 소재 무영농장 양돈장에서 당일 채취하여 시료로 사용하였다.

### 2. 화학적 분석

시료의 수분함량은 100°C에서 24 시간 가열 건조하여 측정하였고, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분, 가용성 무질소물은 상법에 의하여 정량하였다. 순단백질은 T. C. A. 법<sup>(16)</sup>, 아질산 및 질산태 질소( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ )는 diazo 화법<sup>(17)</sup>, 암모니아태 질소( $\text{NH}_3\text{-N}$ )는 Nessler 방법<sup>(17)</sup>에 따라 측정하였다. pH는 pH 7.0의 증류수 10 ml에 시료 5 g을 넣고 충분히 진탕한 후 pH meter로 측정하였으며, 총산 생성량은 100 ml 증류수에 시료 10 g을 가하여 충분히 교반한 후 원심분리하여 일정량의 상동액을 0.05 N NaOH로 적정하여 mg 당량으로 환산하였다. 휘발성산은 총산 측정시료 10 ml를 steam distillation하여 얻은 150 ml를 0.05 N NaOH로 적정하고 비휘발성산은 상기 증류잔액을 총산과 같은 방법으로 정량 환산하였다<sup>(18)</sup>. 아미노산은 Beckman Model 116 automatic analyzer를 사용하여 분석하였으며 모든 분석치는 발효혼합물의 건물량으로 계산하였다.

### 3. 미생물 배양 및 검사

균수 측정은 시료 10 g을 90 ml 멸균수에 회석시

킨 후 연속희석 평판배양법<sup>(19)</sup>에 따라 측정하였다. 측정용 배지는 다음과 같다. 총생균수는 Pederson과 Albury<sup>(20)</sup>에 의한 tryptone-glucose yeast extract (TGY) agar에 yeast extract 0.25%를 더 첨가한 배지를 사용하였고, 효모는 Overcast과 Weakly<sup>(21)</sup>의 aureomycinrose bengal agar 배지를 사용하였다. 젖산균은 APT agar<sup>(22)</sup>와 TGY agar 및 Mayeux와 Colmer<sup>(23)</sup>의 sucrose agar에 sodium azide(0.02%)를 첨가한 배지를 병용하여 28°C에서 배양한 후 계측하였으며, *E. coli*는 EC broth<sup>(22)</sup>와 EMB agar<sup>(22)</sup> 배지를 이용하여 MPN index에 따라 계측하였다<sup>(24)</sup>. 한편 성장 젖산균의 균종별 소장을 검사하기 위하여 균종별 균수 계측을 실시하였다. 이 방법은 전기 TGY 및 APT agar에 나타난 colony 중 약 30개의 독립 colony를 순수 분리하여 TGY agar로 28°C에서 2~3일간 천자배양한 후 젖산균 분류시험을 위하여 4°C에서 보관하였다.

### 4. 젖산균의 분류

젖산균은 Sharp 등<sup>(25)</sup>의 방법에 따라 동정하였으며 본 연구의 목적상 동정에 필요한 최소한의 검사에 의존하였다. 순수 분리한 젖산균은 2% glucose를 함유한 TGY broth에서 10일간 배양한 후  $\text{CO}_2$  생성여부 및 현미경 관찰을 하였으며, 15°C와 45°C에서의 성장여부 및 10% 탈지유에서의 산생성%과 응집현상을 검토하고 malate 함유 배지에서의 가스생성 여부로서 젖산균의 속을 분류하였다<sup>(26)</sup>.

## 결 과

### 1. 조성 성분의 변화

돈분과 옥분의 성분 분석치는 Table 1과 같으며 돈분-옥분혼합기질의 발효과정중에 일어나는 각 성분의 변화는 Fig. 1과 같다. 즉 수분은 발효가 진행됨에 따라 다소 증가하였으며, pH는 초기에 6.8이던 것이 24 시간 후 pH 4.5로 급격히 떨어져 5일 후에 pH 4.2로 뒤편 계속 유지되었다. 전산도는 초기 0.18 mg 당량이 10일 후 0.68 mg 당량으로 증가하였고, 증가한 대부분의 산이 비휘발성산이며 휘발성산은 거의 증가하지 않았다. 암모니아태 질소는 약 2 mg(DM)이 감소하였고, 아미노산의 변화는 Table 2와 같으며 발효전과 비교하여 아미노산 함량이 약 11% 증가하였는데 특히 leucine, histidine, alanine, proline, tyrosine이 많이 증가한 반면 glycine, valine, arginine, aspartic acid는 거의 증가하지 않았다.

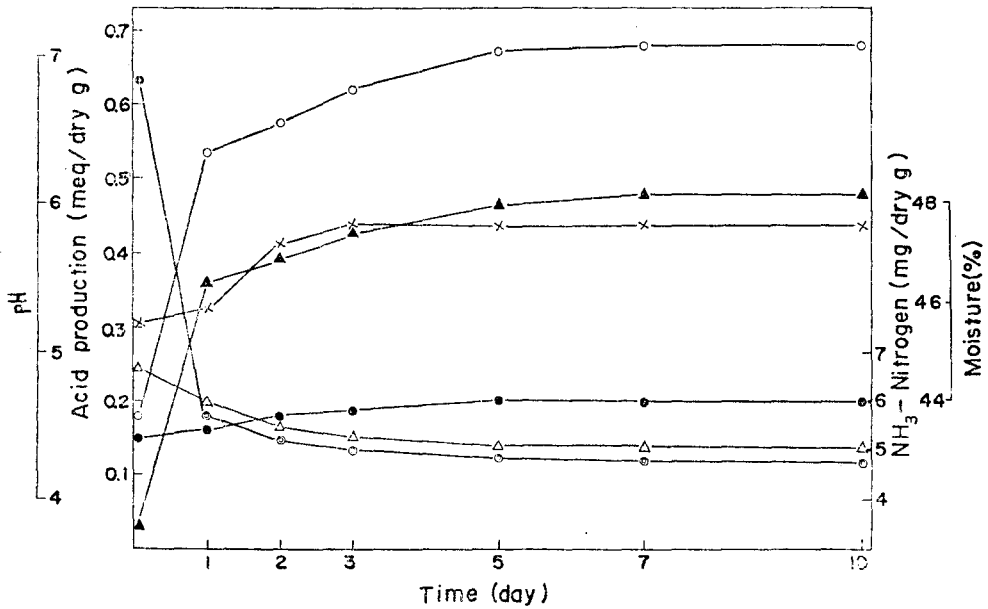


Fig. 1. Changes in Chemical Constituents during the Fermentation Process of Feces-Corn Mixture at 30°C.

- : Total acid
- : Volatile acid
- ▲— : Non-volatile acid
- ×— : Moisture
- △— : NH<sub>3</sub>-Nitrogen
- ⊙— : pH

Table 1. Chemical Analysis of Swine Feces and Corn Meal.

Component(/dry g)	Swine feces	Corn meal
Crude protein (%)	20.19	9.94
Crude fiber (%)	11.58	7.03
Crude fat (%)	4.89	4.59
Crude ash (%)	27.19	5.14
Nitrogen free ext (%)	36.15	73.30
<hr/>		
NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> -N (μg)	0.51	1.84
NH <sub>3</sub> -N (mg)	5.50	0.91
True protein (%)	12.41	8.71

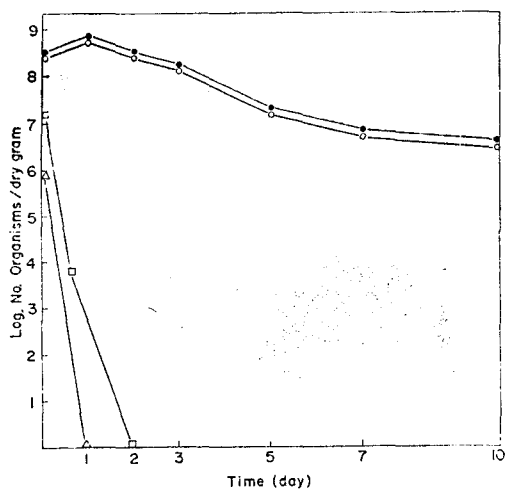
## 2. 미생물군의 소장

미생물군의 경시적 변화는 Fig. 2와 같다. 총균수는 초기에  $3 \times 10^8$  cells/g 이던 것이 24 시간 후  $8 \times 10^8$  cells/g 으로 거의 3 배로 증가하였다가 그후 계속 감소되어 10 일 후  $10^6$  cells/g 으로 되었으며

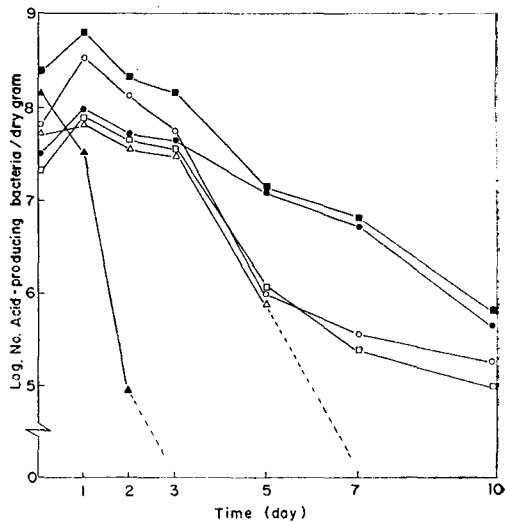
Table 2. Changes in Amino Acid Composition in the Feces-Corn Silage.

Amino Acid	Before fermentation (g/100 g dry wt.)	10 days after fermentation (g/100 g dry wt.)	Percent changes
Lysine	0.61	0.67	9
Histidine	0.28	0.35	25
Arginine	0.56	0.57	2
Aspartic acid	1.00	1.03	3
Threonine	0.49	0.51	4
Serine	0.54	0.57	6
Glutamic acid	2.03	2.13	5
Proline	0.78	0.92	18
Glycine	0.53	0.53	0
Alanine	1.56	1.69	23
Valine	0.67	0.68	1
Methionine	0.25	0.27	8
Isoleucine	0.52	0.55	6
Leucine	1.32	1.89	43
Tyrosine	0.46	0.53	15
Phenylalanine	0.61	0.63	3
<hr/>			
Total	12.21	13.52	10.7

젖산균은 총균수의 90%를 차지하며 총균수와 같은 변화를 나타내었다. 효모는 초기  $5 \times 10^6$  cells/g 이 48 시간내에 사멸하였으며 *E. coli* 역시 초기에



**Fig. 2.** Changes in Microbial Population during the Fermentatnoi of Feces-corn Mixture at 30°C.  
 —●— : Total count, —□— : Yeast  
 —○— : Acidic bacteria, —△— : *E. coli*.



**Fig. 3.** Population Pattern of Acidic Bacteria during the Fermentation Process of Feces-Corn Mixture at 30°C.  
 —▲— : Faecal Streptococci —○— : *L. fermenti*  
 —□— : *L. delbrueckii* —△— : *L. casei*  
 —●— : *L. acidophilus* —■— : Total acid-bacteria

**Table 3.** Acid Producing Microbial Population during Fermentation.

Microorganisms	Pig feces	Cattle feces	Grass silage
<b>Homo fermentative group</b>			
<i>S. faecalis</i>	c	+++	+++
<i>S. faecium</i>	+++	+++	
<i>S. lactis</i>			+++
<i>P. acidilactici</i>			++
<i>P. urinae-equi</i>		++	
<i>L. acidophilus</i>	+	+++	
<i>L. delbrueckii</i>	+	++	++
<i>L. casei</i>	++	+	+ ++
<i>L. plantarum</i>			
<b>Hetero fermentative group</b>			
<i>L. fermenti</i>	++	++	++
<i>L. buchneri</i>		++	+
<i>L. brevis</i>			+ ++
<b>State (initial-final)</b>			
Composition (wt/wt)	feces (1) + corn meal (1)	feces ext. (1) + cracked corn (2)	fermented mixture ext. + glucose (%)
Acidic bacteria (cells/dry g)	10 <sup>8</sup> ~10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>7</sup> ~10 <sup>6</sup>	5×10 <sup>7</sup> ~5×10 <sup>5</sup>
Ferm'n time (°C)	10 days (30)	6 days (28)	3 months (27)
pH (initial-final)	6.8~4.2	7.2~4.22	6.0~3.6
<b>Reference</b>			
	Present	G. R. Hrubant (1975), E. F. Knight etc. (1977)	Gakuo gitahara (1969). Yuji Sasaki (1972)

a. faecal streptococci

$3 \times 10^5$  cells/g 이었으나 24 시간 후에는 모두 사멸하였다.

### 3. 젖산균의 경시적 변화

젖산균의 변화는 Fig. 3 과 같이 초기에는 전체 젖산균수의 약 반이 fecal streptococci 이었으나 이후 점차 감소되었으며, 발효과정중 우세한 미생물군은 모두 lactobacilli 이었다. 발효가 진행되는 동안 *Lactobacillus* 속군으로서 *L. fermenti*, *L. cellobiosus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* 가 출현하였는데, 발효 초기에는 heterolactic 인 *L. fermenti* 가 우세하였다가 5 일 후 부터는 hemolactic 인 *L. acidophilus* 로 대체되어 유산균군의 변화가 일어났다.

## 고 찰

Table 1 의 성분 분석과 같이 돈분 그 자체로서도 영양 가치가 풍부하며, 특히 돈분에는 조단백질 함량이 많고, 옥분에는 탄수화물이 대부분을 차지하고 있다. 본 실험에서는 발효기질로서 돈분을 유기질로 하여 여기에 옥분을 탄소원으로 첨가 사용하였다. 발효가 진행됨에 따라 수분이 조금 증가하였는데 이것은 발효 혼합 물내의 전분이 가수분해시 일어나는 수분배출이라고 생각되며,  $\text{NH}_3$  태점소가 다소 감소하고 아미노산 함량이 약간 증가한 것으로 보아 이는 미생물에 의한 단백질합성이 어느 정도 일어났다고 생각된다.

본 실험에서는 24 시간 후 pH 가 4.5, 5 일 후에 pH 4.2 로 떨어진데 비하여 Knight<sup>(15)</sup> 등에 의한 우분과 기초사료와의 배합 비율에 따른 pH 감소는 초기 pH 6.9~7.2 이던 것이 우분 40%와 60%를 혼합한 것은 3 일 내에 pH 4.5로 떨어진 반면 20%는 10 일 후 pH 4.7로 떨어졌다는 하며 우분첨가량이 많을수록 pH가 저하하여 산생성에 직접적인 관계가 있다고 하였다. Harpster 등<sup>(27)</sup>의 우분 사이레지는 pH 4.5, Harmon 등<sup>(28)</sup>은 제분과 옥분을 혼합하여 61~71 일간 저장한 후에 pH 3.7~4.7로 저하되었다고 보고하였다. 또한 증가된 산의 대부분이 비휘발성산인 것으로 보아 생성된 산은 거의 젖산으로 생각되며 Knight 등<sup>(15)</sup>의 기초사료에 우분을 20, 40, 60%첨가하여 10 일간 저장한 실험에서 젖산 생성량이 각각 2.37, 4.58, 7.37% (DM) 이었다고 보고하였다. 효모 및 *E. coli* 가 24~48 시간후에 검출되지 않는 것은 젖산균의 산생성에 의한 급격한 pH 감소에 사인한 것으로 생각되며,

젖산균은 가축분의 자연발효에 유해 미생물의 생육을 억제 할 수 있으리라고 생각된다. McCaskey 등<sup>(29)</sup>의 연구 결과에 의하면 우분사이레지의 경우 pH 저하와 더불어 *Salmonella* 가 사멸하였다고 보고하였다. 본 실험에서 효모가 검출되지 않는것은 돈분내의 효모가 내산성 효모가 아닌 것으로 생각되며, *E. coli* 는 그 자체가 반드시 유해 미생물은 아니다. 유해미생물의 척도로서 선정하여 실험하였다.

발효초기에는 fecal *Streptococcus* spp. 가 중요한 역할을 하는 것으로 생각 할 수 있으며 유사한 연구로서 Woolford<sup>(30)</sup>는 pH 5.0~6.5 에서 *Streptococcus* 와 같은 미생물이 젖산을 생성한다고 보고하였다. Woolford 에 의한 보고는 사이레지 발효에 *L. plantarum* 이 가장 안정한 미생물이라 하였다. Table 3 의 비교에서와 같이 젖산균의 수, pH 변화등은 서로 비슷하며 돈분이나 우분, 목초사이레지 발효의 초기에는 *Streptococcus* spp. 가 모두 출현하며 후기에 우분과 목초사이레지는 *L. plantarum* 이, 돈분사이레지는 *L. plantarum* 은 나타나지 않았으며 대신 *L. acidophilus* 가 우세하였다. 따라서 돈분에 의한 발효는 우분발효나 목초사이레지와 같이 섬유질이 많은 기질의 발효와는 젖산균 소장이 다소 다름을 알 수 있다.

이와 같이 옥분과 돈분의 배합물을 젖산발효 시킴에 따라 우리가 원치 않는 미생물이 사멸되고 젖산균이 주로 성장하여 젖산발효에 의해 젖산이 생성됨에 따라 발효전의 암모니아취, 돈분취가 없이 지고 산취가 생성되어 가축이 섭취하기에 좋은 향취를 갖게되고 아미노태 질소량이 증가 됨으로서 본 발효법의 유용성이 증명되었다.

## 요 약

돈분과 옥분을 50 : 50 으로 혼합하여 30°C 에서 발효시킬때 초기에는 fecal streptococci 가 많이 출현하나 이후 lactobacilli 가 발효의 주역을 담당하고 7 일 후에는 *L. acidophilus*, *L. fermenti* 와 *L. delbrueckii* 가 함께 성장하였다. 발효과정중 젖산균에 의한 산생성으로 인하여 pH 가 4.2 까지 감소하였으며, *E. coli* 와 효모가 1~2 일만에 검출되지 않았으므로 다른 유해 미생물의 생육 억제도 생각할 수 있게 되었다. 또한 옥분내의 풍부한 영양 성분과 발효물의 분취가 산취로 대체됨으로써 풍미가 가축기호에 적당하게 되고 가축분의 이용

시 본 시험에서 사용한 방법을 이용함으로써 생돈분의 가열멸균이 아닌 유산균의 자연발효를 통하여 돈분을 사료화시킬 수 있음을 보여주고 있다.

### 참고문헌

- 1) W. B. Anthony: *Proc. Conf. on Animal Waste Management*, Cornell Univ., Ithaca, N.Y., 105 (1969)
- 2) W. B. Anthony: *J. Anim. Sci.*, **30**(2), 274 (1970).
- 3) W. B. Anthony: *J. Anim. Sci.*, **32**(4), 799 (1971).
- 4) R. C. Albin: *J. Anim. Sci.*, **32**(4), 803 (1971).
- 5) W. B. Anthony: *Proceedings National Symposium on Animal Waste Management*, May 5, 6 and 7, (1966). 1-11, Published by American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, Michigan.
- 6) J. H. Slonekaer, R. W. Jones, H. L. Griffin, K. Eskins, B. S. Bucher, and G. E. Inglett: *Symposium: Processing Agricultural and Municipal Wastes*, Published by Avi Publishing Co., Box 831, Westport, Conn. 13 (1973).
- 7) W. B. Anthony: *Paper Read at Seminars in Verona, Italy.*, 1 (1975).
- 8) A. N. Bhattacharya and J. C. Taylor: *J. Anim. Sci.* **41**(5), 1438 (1975).
- 9) R. A. Rhodes and W. L. Orton: *Amer. Soc. Agri, Eng.* St. Joseph. Michigan. **18**(4), 728 (1975).
- 10) G. R. Hrubant, R. V. Daugherty and R. A. Rhodes: *Appl. Microbiol.*, **24**(3), 378 (1972).
- 11) R. A. Rhodes and G. R. Hrubant: *Appl. Microbiol.*, **24**(3), 369 (1972).
- 12) G. R. Hrubant: *Appl. Microbiol.*, **26**(4), 512 (1973).
- 13) B. A. Weiner and R. A. Rhodes: *Appl. Microbiol.*, **28**(3), 448 (1974).
- 14) G. R. Hrubant: *Appl. Microbiol.*, **30**(1), 113 (1975).
- 15) E. F. Knight, T. A. McCaskey and W. B. Anthony: *J. Dairy. Sci.*, **60**(3), 416 (1977).
- 16) 東大農藝化學實驗室編: 實驗農藝化學(上) (朝倉書店) 117 (1975).
- 17) 日本衛生學會編: 衛生試驗法, 注解(金原出版) 669(1965).
- 18) Horwitz W.: *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 12th Edition, P. 197 (1975).
- 19) 東大農藝化學實驗室編: 實驗農藝化學(上) (朝倉書店) 71(1975).
- 20) C. S. Pederson and M. N. Albury: *New York State Agricultural Experiment Station*, Geneva, Cornell Univ. Bulletin No. 824 (1969).
- 21) W. W. Overcast and D. J. Weakly: *J. Milk and Food Technol.*, **32**, 342 (1969).
- 22) *BBL Manual of Products and Laboratory Procedures* 5th edition. (1973).
- 23) J. V. Mayeux and A. R. Colmer: *J. Bact.*, **81**, 1009 (1961).
- 24) F. S. Thatcher and D. S. Clark: *Microorganisms in Food: 1. Their significance and methods of enumeration.* Univ. of Toronto Press. p. 83 (1975).
- 25) Sharpe, M. E., T. F. Fryer, and D. G. Smith: (1966). *Identification of the Lactic Acid Bacteria, In identification Methods for Microbiologists* (ed. by B. M. Gibbs and F. A. Skinner), pp. 65, Academic Press. Inc.
- 26) 光岡知足: 日本細菌學雜誌, **24**(6), 261 (1969).
- 27) H. W. Harpster: T. A. Long, C. M. Lalonde and W. W. Saylor: *J. Anim. Sci.*, **41**, 240 (1975).
- 28) B. W. Harmon, J. P. Fontenot and K. E. Webb: *J. Anim. Sci.*, **40**, 144 (1975).
- 29) T. A. McCaskey and W. B. Anthony: *Health Aspects of Feeding Animal Waste Conserved in Silage.* Alabama. Agri. Exp. Sta, Auburn, Alabama. 36830
- 30) M. K. Woolford: *Herbage Abstr.*, **42**, 105 (1972).
- 31) 北原覺雄: 乳酸菌の研究, 東京大學出版會 116 (1969).
- 32) 佐々木西二: 化學と生物, **10**(3), 175 (1972).