

121048-
2

왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발

2023

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
유용농생명자원산업화기술개발사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004382-01

왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발

2023.05.31.

주관연구기관 / 한국에너지기술연구원
공동연구기관 / (유)카야시스템

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “왕겨를 이용한 약취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발”(개발
기간 : 2021.04.01 ~ 2022.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023. 05. 31.

주관연구기관명 : 한국에너지기술연구원 (대표자) 김 종 남 (인)
협동연구기관명 : (유)카야시스템 (대표자) 임 명 준 (인)



주관연구책임자 : 이 상 민

협동연구책임자 : 임 명 준

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

평가의견에 대한 조치 및 개인정보 삭제 확인서

□ 평가의견에 대한 조치

평가의견	조치내용	비고
<p>○ 재료 및 방법에서 다음의 내용을 구체적으로 서술해주시기 바랍니다.</p> <p>1. 돈사의 사육 규모와 돈사 시설, 사육방법 등</p> <p>2. 슬러지의 채취 시간과 계절별 암모니아 농도</p> <p>3. EM 제제의 농도와 보관방법 등</p>	<p>○ 돈사 실증에 대한 정보를 보다 구체적으로 기재함 (최종보고서 44 쪽에 제시함)</p> <p>○ EM제제 농도 및 보관방법에 대해 추가 기술함 (최종보고서 41 쪽에 제시함)</p>	
<p>○기술개발 최종목표인 미생물 제제 생균수 1.0 X10⁷를 설정한 사유를 설명하고 최종목표달성 결과에 대한 새로운 규격 설정의 타당성을 연구보고서에 추가하는 것을 제안함.</p> <p>새로운 미생물소재를 사료로 등록하기 위하여 인허가 관련한 향후 계획을 연구보고서에 추가하는것을 제안함.</p>	<p>○ 생균수 최종목표 설정 사유 및 최종목표달성 결과의 타당성을 추가 기재함 (최종보고서 41 쪽에 제시함)</p> <p>○ 사료관리법에 의거한 신규 미생물 보조사료 인허가에 대한 향후 계획을 추가 기재함 (최종보고서 57-58 쪽에 제시함)</p>	
<p>○축산 농가에서 가장 해결하기 어려운 문제는 악취 문제로 본 과제 결과를 활용하여 축산 악취 문제 해결하는데 도움이 되길 바랍.</p> <p>다만,</p> <ul style="list-style-type: none"> - 악취 측정된 연구에 대한 정확한 방법이 제시가 되어야 함. - 연구 결과에서 악취 저감도가 90%이상 되는데 슬러지의 저장 기간 및 발효 기간에 따라 악취 발생도가 달라질 수 있어. 추가적으로 시간 또는 발효 시간에 따른 악취 저감 효과 검증이 필요함. 	<p>○ 본 사업을 통해 개발된 악취저감 EM제제에 대한 보다 구체적인 후속 악취저감 실증연구 방법에 대해 추가 기술함 (최종보고서 58 쪽에 제시함)</p>	
<p>○농업 부산물 왕겨를 이용하여 폐유기성 슬러지 분해 중의 수분 조절과 통기성 효율을 높이고 자연계 존재하는 유용 미생물 자원을 활용하여 고속으로 슬러지를 분해하는 기술 개발을 최종 목표로 연구를 진행함. 한국에너지기술연구원과 (유)카야시스템이 공동으로 과제를 진행하며 각각 슬러지 및 악취 저감 미생물 제제 특성 분석 및 상업용 생산 조건 최적화, 고속 슬러지 분해 장치 제작 및 축산 논가 실증을 통한 축산 폐유기성 슬러지 유래 고형 연료 생산 테스트를 진행하였으며 계획서에서 제시한 정성적, 정량적 목표를 대부분 달성하였음.</p>	<p>○ FRIS 시스템 상에는 출원일과 등록일을 각각 적지 않고, '출원등록일'로 하나만 적게 되어 있어 출력시 출원일과 등록일이 같게 나오는 오류가 발생함. 최종 보고서 상에는 출원일과 등록일을 각각 맞게 기재하였음 (최종보고서 50 쪽에 제시함)</p> <p>○ 악취저감 시연회에 대한 정보를 보다 구체적으로 기재함 (최종보고서 44 쪽에 제시함)</p>	

<p>특히, 축산 농가 실증을 통한 결과 시연회를 개최하여 연구에 대한 성과를 입증함. 또한 지식재산권 확보, 기술이전, 시제품 제작 및 산업화를 통한 매출액 발생을 기반으로 추후 산업적 성과가 추가적으로 도출 될 수 있을것으로 사료됨.</p> <p>활용보고서 내 특허등록 건수에 대한 출원일 작성란에 등록일과 등록번호 기재됨 >>> 수정 필요.</p> <p>축산농가실증 약취해결 시연회에서 단순 약취 감소라는 주관적 지표가 아닌 객관적 지표를 측정할 것이 있다면 추가적으로 제시해주면 좋을 듯.</p>		
<p>○ - 신규 발굴한 미생물 균에 대한 활용 가능성을 보완 했으면 좋겠음 - 고가의 슬러지 기기에 대한 산업화 활용 부분 보완 필요 - 기타 최종보고서내 오타 수정 필요 (25페이지)</p>	<p>○ 신규 발굴한 미생물 및 슬러지 분해 장치에 대한 활용 계획에 대해 추가 보완 기술하였음 (최종보고서 56-57 쪽에 제시함) ○ 최종 보고서 내 오타 수정함 (최종보고서 29 쪽에 제시함)</p>	

□ 개인정보 삭제 확인

본인은 연구과제 최종보고서의 개인정보(주민등록번호 등)를 삭제하여 제출함을 확인합니다.

2023. 5. 10.

주관연구책임자 : 이 상 민 (인)

최종보고서							보안등급			
							일반[√], 보안[]			
중앙행정기관명		농림축산식품부			사업명	사업명		유용농생명자원산업화 기술개발사업		
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원				내역사업명 (해당 시 작성)		유용농생명자원산업화 기술개발		
공고번호		제 농축2021-24호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)					
					연구개발과제번호		121048-2			
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0908	50%	LB0507	30%	EH0701		20%		
	농림식품과학기술분류	RA0305	50%	RC0202	35%	AB0203		15%		
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문	왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발							
		영문	Development of High-speed waste organic sludge decomposition technology with reduced odor using rice husk							
연구개발과제명		국문	왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발							
		영문	Development of High-speed waste organic sludge decomposition technology with reduced odor using rice husk							
주관연구개발기관		기관명	한국에너지기술연구원		사업자등록번호		314-82-02242			
		주소	(34129) 대전광역시 유성 구 가정로 152		법인등록번호		160122-0001982			
연구책임자		성명	이 상 민		직위		선임 연구원			
		연락처	직장전화	[REDACTED]		휴대전화		[REDACTED]		
			전자우편	[REDACTED]		국가연구자번호		[REDACTED]		
연구개발기간		전체	2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)							
		단계 (해당 시 작성)	1단계							
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금 지방자치단체 기타()				연구개발비 외 지원금	
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물		합계
총계		385,000	2,000	30,000				387,000	30,000	417,000
1단계	1년차	165,000		13,000				165,000	13,000	178,000
	2년차	220,000	2,000	17,000				222,000	17,000	239,000
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자		직위	휴대전화	전자우편	비고		
공동연구개발기관		농업회사법인 (유카시스템)	임명준		대표	[REDACTED]	[REDACTED]	공동	중소기업 (농업회사법 인)	
연구개발담당자 실무담당자		성명	이 상 민		직위		선임 연구원			
		연락처	직장전화	[REDACTED]		휴대전화		[REDACTED]		
			전자우편	[REDACTED]		국가연구자번호		[REDACTED]		

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2023 년 02 월 01 일

연구책임자: 이 상 민 (인)

주관연구개발기관의 장: 김 중 남 (직인)

공동연구개발기관의 장: 임 명 준 (직인)

위탁연구개발기관의 장: (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

사업명	유용농생명자원산업화기술개발			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		121048-2	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0908	45%	LB0507	35%	EH0701	20%
	농림식품 과학기술분류	RA0305	50%	RC0202	35%	AB0203	15%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발						
연구개발과제명	왕겨를 이용한 악취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술개발						
전체 연구개발기간	2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)						
총 연구개발비	총 417,000천원 (정부지원연구개발비: 385,000천원, 기관부담연구개발비 : 32,000천원, 지방자치단체: 0천원, 그 외 지원금: 0천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]			기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준(4) 종료시점 목표(6)	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<p>▶ 농업 부산물인 왕겨를 이용하여 폐유기성 슬러지 분해 중의 수분 조절 및 통기성 효율을 높이고, 자연계에 존재하는 토양 미생물을 포함한 유용 미생물 자원(Effective Microorganisms, EM)을 활용하여 고속으로 슬러지를 분해하는 기술개발이 본 연구개발의 최종 목표임.</p> <p>이러한 연구개발 목표를 달성하기 위한 구체적인 세부 목표는 다음과 같음.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 슬러지 분해 및 악취저감 미생물 특성 분석 및 성능 개선 2. 발효왕겨를 이용한 고속 슬러지분해 공정 운전 최적화 3. 파일럿급 5m³ 고속 슬러지분해 장치 제작 및 시운전 4. 고성능 미생물제제 시제품 생산 5. 전공정 표준운전매뉴얼(SOPs) 작성 6. 축산농가 현장에서 고속 슬러지분해 실증 <p>▶ 이를 통하여, 다음과 같은 정량적 목표를 달성할 수 있음.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 고속 슬러지 분해 장치 scale-up (5m³) 2. 슬러지 분해 중 암모니아 저감율 > 90% 3. 슬러지분해 속도 향상 <20일 (부숙중기 기준) 4. 신규 미생물제제 시제품 생산 (생균수 >1.0x10⁷ CFU/ml) 					
	전체 내용	<p>상기 목표를 달성하기 위한 구체적인 연구 개발 내용은 다음과 같음.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.(주관) 한국에너지기술연구원 <ul style="list-style-type: none"> ○ 슬러지 및 악취 저감 미생물 제제 특성 분석 및 성능평가 <ul style="list-style-type: none"> - 기존 미생물 제제 제품으로부터 균주 분리 및 성장 특성 분석 - 미생물 배양조건 및 배지조성 최적화 - 미생물 제제 슬러지분해 및 악취 저감 성능 평가 ○ 미생물 제제 상업용 생산 조건 최적화 ○ 미생물 제제 슬러지분해 및 악취저감 성능 개선 					

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 슬러지분해 장치 개선을 통한 성능 향상 ○ 전공정 표준운전 매뉴얼 (SOPs) 작성 <p>2.(공동) (유)카야시스템</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 고성능 상업용 미생물 제제 시제품 생산 ○ Scale-up (5 m³) 고속 슬러지 분해 장치 제작 ○ 고속 슬러지 분해 공정 운전조건 최적화 ○ 고성능 미생물 제제 축산농가 실증 ○ 축산 폐유기성 슬러지 유래 고품 연료 생산 테스트
--	--

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 축산 슬러지로부터 신규 유용 미생물 탐색 ○ 미생물 제제 배양 조건 및 배지조성 최적화 ○ 약취 저감 성능 평가 결과 : 암모니아(NH₃) 98.5% 이상 제거 ○ 약취 저감 및 슬러지 분해 미생물 제제 상업용 생산 및 운전조건 표준 매뉴얼 제작 ○ 발효왕겨와 유용 미생물 접종 시, 슬러지 분해 부숙완료까지 20일 이내 소요 확인 ○ 미생물 성장 속도 2배 향상 ○ 폐유기성 슬러지 고속 분해 공정 표준 운전 매뉴얼 작성 ○ 슬러지 분해 시 이산화탄소 발생이 각각 6.3배, 5.6배 감소 ○ 고속 폐유기성 슬러지 분해 6 m³ scale-up 분해장치 제작 ○ 고성능 미생물 제제 시제품 생산 생균수 9.7 x 10⁹ CFU/ml ○ 축산 농가 실증 (군산시 분뇨 슬러지 고속처리 및 약취해결 시연회 개최) ○ 축산 바이오매스 고품연료 테스트
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활용 방안 <ul style="list-style-type: none"> - 5m³ scale 고속 슬러지분해 장치 1대는 사육두수 500두 기준 농가에서 발생된 폐유기성 슬러지를 1/10 처리할 수 있는 용량으로 현 scale에서도 곧바로 상업화 가능 - 해당 미생물 제제는 축산 슬러지 뿐만 아니라 음식물 쓰레기, 하수 처리장, 등 타 폐유기성 슬러지 처리에도 직접적으로 활용 가능 - 고속 슬러지 분해 공정 후단부에 펠렛 압착 공정 연계시 Bio-SRF (solid refuse fuel) 생산 가능 ○ 기대 효과 <ul style="list-style-type: none"> - 폐유기성 슬러지 분해 전공정에 대한 total 기술 패키지 완성 - 미활용 농축산 폐기물로부터 고부가가치를 창출할 수 있는 기술 개발 - 슬러지 분해 및 미생물 발효 공정 최적화를 통해 경제성을 개선하고, 기존보다 성능이 개선된 고효율/고성능 제품 개발 - 슬러지 분해 및 약취저감 제품에 대한 효능과 안전성의 과학적 입증 - 축산 슬러지 분해공정 신규 운영인력 12,000명 창출 - 슬러지 분해 시 약취저감을 위한 에너지 90% 감소 - 슬러지 분해시 투입되는 물리적 에너지 비용 감소 (45,000원/ton 비용 저감) - 5 ton 고속발효건조장치 4만대 공급 - 약취저감 미생물 제제 7300ton 생산
---------------------------	---

연구개발성과의 비공개여부 및 사유	
-----------------------	--

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허 출원 등록	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	4	4/2							1			
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	왕겨		유용 미생물		폐유기성 슬러지		악취 저감		고속 분해			
영문핵심어 (5개 이내)	Rice husk		Effective microorganisms		Organic waste sludge		Odor reduction		High-speed decomposition			

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	10
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	14
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	46
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	55
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	56
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	56
별첨 자료 (참고 문헌 등)	60

1. 연구개발과제의 개요

1.1 연구 개요

- 농업 부산물인 **왕겨**를 이용하여 폐유기성 슬러지 분해 중의 수분 조절 및 통기성 효율을 높이고, 자연계에 존재하는 토양 미생물을 포함한 **유용 미생물 자원**(Effective Microorganisms, EM)을 활용하여 **고속으로 슬러지를 분해하는 기술개발**
- 미생물에 의한 폐유기성 슬러지 분해 과정 중의 **악취(암모니아, 황화수소 등) 저감 및 슬러지 분해** 효능을 과학적으로 입증하고, 성능에 영향을 주는 파라미터 최적화를 통한 고성능 미생물 제제 개발
- 파일럿 스케일(5ton)의 고속 발효/건조 공정 장치를 제작하고, 실제 축산농가에서 발생한 슬러지를 대상으로 슬러지 분해 실증 연구를 통해 연속 공정 구현 및 표준 운전 매뉴얼 제작, 축산농가 현장 적용 시스템 구축, 사후관리 등 통합 기술 패키지 완성 (그림 1)



그림 1 고속 슬러지 분해 공정개발 모식도

1.2 연구 개발 필요성

- 국내 축산산업은 급격한 양적 성장과 질적 발전을 이루었으나, 이 과정에서 축산 슬러지 발생은 매년 지속적으로 증가하여 이로 인한 악취 및 토양·수질 등의 환경오염 문제가 사회적으로 대두되고 있음. 특히 2005년 국내에 악취방지법이 제정 이후, 악취로 인한 민원건수는 지속적으로 증가하여 2013년 13,103건에서 2016년 24,748건으로 약 2배가량 증가하였으며 이 중 약 1/4인 **25.8%가 축산농가에서 발생하는 악취에 대한 민원**인 것으로 파악됨. 이에 **‘국정과제 81. 누구나 살고 싶은 복지 농산어촌 조성’**에도 명시되어 있듯이 정부 및 지자체에서는 다양한 사업, 제품들을 통해 문제를 해결하고자 다각화로 노력하고 있으나, 아직까지도 부분적인 해소에만 국한된 현실임. (그림2)



그림 2 (A) 국내 가축분뇨 발생량 및 처리현황
(B) 가축분뇨처리지원사업 현황 (C) 축산악취민원 현황

- 축산 농가에서 악취의 주원인은 분뇨 및 사체가 모여져서 형성된 폐유기성 슬러지로부터 발생하는데, 이는 악취뿐만 아니라 인근 하천/토지/대기 나아가 농작물까지 오염시키는 피해를 야기하며, 또한 아프리카 돼지열병, 구제역, 조류인플루엔자 등과 같은 가축 전염병 및 기생충을 확산시키는 수단이 되기도 함. 이로 인해 축산 산업에 대한 국민들의 인식이 부정적으로 형성되고, 인근 주민들의 반발이 지속적으로 증가하고 있는 실정임.
- 국내 축산환경에 대한 개선 요구가 증대되면서 규제는 계속 강화되고 있지만, 이에 대한 대안은 확보되지 않아 축산 관련 산업의 존립까지 우려되고 있음.
- 현재 축산 슬러지의 90%는 퇴비화를 통해 처리되고 있는데 지난 2020년 3월부터 **퇴비 부숙도 검사 의무화 제도**가 시행되면서 축산농가 현장에서는 큰 어려움을 겪고 있음. 제도에 따르면 축산면적에 따라 1500m² 이상의 농가는 부숙후기, 1500m² 미만 농가는 부숙중기 기준을 준수하여 퇴비를 농경지에 살포해야 함. 하지만 축산농가에 현장에서는 퇴비 부숙도의 기준에 대한 지식이 부족하고, 제도에 대한 이해도가 낮아 여전히 44%의 농가에서는 제도를 모르고 있고, 78%는 부숙도 검사기관에 대해 모르고 있는 것으로 조사됨.
- 현행 기준에 따르면 기존 축사 인허가 기준은 축산 분뇨 60일 보관인 반면 퇴비 부숙은 180일 보관이 기준으로 부숙을 위해서는 단순 수치상으로만 봐도 최소 3배 이상의 공간이 필요함. 또한 퇴비부숙 과정 중에는 주기적인 교반작업이 요구되어 포크레인이나 스킵드러 등의 장비가 들어가 작업할 수 있는 공간도 확보되어야 함. 하지만 가축 사육제한거리 관련 조례로 인해 퇴비사의 증·개축이 불가능한 경우가 많음. 이에 현장에서는 불법으로 축산 폐기물을 투기 및 매립하는 사례가 빈번하게 보고되고 있음.
- 특히 국내 돈사에서는 파이프라인을 통해 분뇨를 배출하고 있으며, 이로 인해 돈사 피트 내부에 다량의 슬러지 고형물이 축적되어 있음. 이를 몇 년 이상 방치하여 1m 이상 벽돌처럼 굳은 경우도 적지 않으며, 기존에는 슬러지 제거를 위해 분뇨 저장조에 인력이 투입되어 질식 사망사고와 같은 사고도 종종 일어남. 이로 인해 **악취 및 사고의 주원인인 슬러지를 효율적으로 빠른 시간 내에 분해하면서 악취도 줄일 수 있는 기술개발이 시급함.**

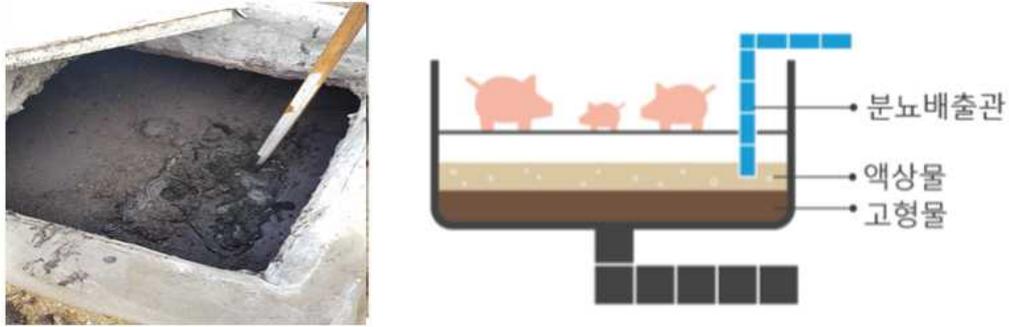


그림 3 돈사 내부 구조

○ 고착된 폐유기성 슬러지로 인한 돈사 환경 저하로 인해 국내 모돈 한 마리당 평균 출하 두수는 16.5두로 EU 평균인 25.1두에 한참 못미침. 또한 이유후 폐사율이 EU평균 5.3%에 반해 한국은 14.1%로써 폐사축으로 인한 오염 및 냄새 문제도 매우 심각함. 돼지 질병의 원인으로서는 ‘시설 및 환기’가 47.7%로 ‘방역관련’ 19.2%나 ‘외부종돈’ 12.8%보다도 더 심각한 가장 큰 문제로 나타나고 있음.

생산성지수	EU 평균	한국		
		상위30%	평균	하위30%
MSY *	25.1	20.6	18.1	15.5
이유후 폐사율(%) **	5.3	8.5	14.1	21.6

* 국립축산과학원(2014)
** 국립축산과학원(2016)

그림 4 양돈 농가 생산성

○ 돈사 피트 내 슬러지 두께에 따른 악취 원인물질인 암모니아 및 황화수소의 농도를 살펴보면, 두께가 두꺼워질수록 악취 원인 물질의 농도도 높아지는 것으로 나타났으며, 특히 90cm 이상인 경우 암모니아는 14ppm, 황화수소는 0.6ppm에 달하는 것으로 조사됨.

● 돈사 피트의 분뇨량에 따른 돈사내부 암모니아와 황화수소의 농도변화

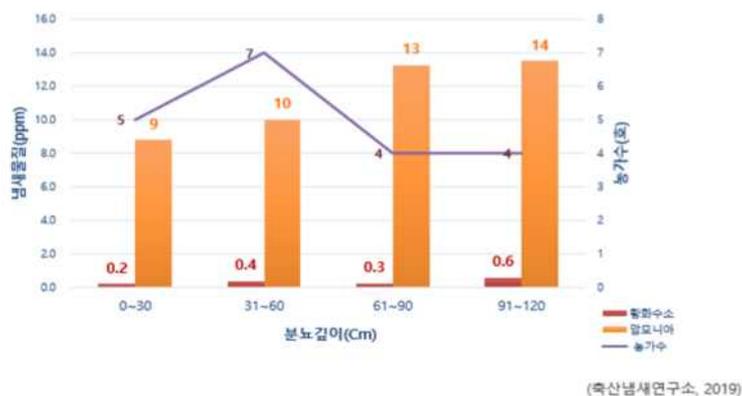


그림 5 슬러지 깊이에 따른 악취 원인물질 농도 변화

○ 현재 가축분뇨는 90%이상이 비료로 처리되고 있고, 이 중 대부분은 고형분의 퇴비가 차지하고 있음. 하지만 경종 농가의 감소와 퇴비의 악취, 토양·하천의 부영양화 문제 등

으로 인해 퇴비로 가축분뇨 대부분을 처리하기에는 한계가 분명함.

- 국내 바이오매스 총 지리적 잠재량은 19,121천TOE/년이며, 이 중 **축산 바이오매스는 1,455천TOE/년으로 전체 바이오매스양 중 약 7%**를 차지하고 있음. 임산 바이오매스의 경우 잠재량에 비해 낮은 이용율을 감안할 때, 축산 바이오매스가 차지하는 실질적인 비중은 이보다 훨씬 높을 것으로 판단됨. (그림2)



Table 3. Estimated theoretical potential of Annual livestock manure biomass resources

구분	이론적 잠재량(TOE/년)	비율(%)
한/육우	671,309	46.1
젓소	108,666	7.5
닭	290,482	20.0
돼지	384,734	26.4
합계	1,455,191	100

그림 6 국내 축산 바이오매스 잠재량

- 세계적으로 화석연료 고갈 및 지구 온난화에 대응하여 신재생에너지에 대한 관심이 증가하고 있음. 우리나라도 제 4차 신재생에너지 기본계획에 따르면 2035년까지 전체 1차 에너지의 11.0%를 신재생에너지로 공급하는 목표를 수립하였으며, 이 중에서 바이오에너지가 차지하는 부분은 18.0%로 큰 부분을 차지하고 있음.
- 우분의 경우 일부 고품연료화 사례가 보고된 바 있음. 하지만 우분(수분 함량 약 60%)과 달리 돈분의 경우 사육형태가 상이하여 수분의 함량이 높아 (90%이상) 수분 건조에 있어 훨씬 많은 에너지가 필요하고, 발효건조 중에 악취도 심각하게 발생하여 사업화 사례가 전무함.
- (유)카야시스템은 가축분뇨에서 발생하는 악취저감에 특화된 미생물 제제를 보유하여 농가에 납품하고 있으며, 이를 이용해 돈분으로부터 고품연료를 생산하는 기술을 bench scale에서 시험한 바 있음. 그러나 미생물 제제의 특성에 대해서는 보다 과학적인 메커니즘 규명이 요구되며, 향후 pilot scale 이상에서 돈분의 발효/건조조건 최적화를 통한 대량 생산 및 현장 적용 연구가 필요함.
- 동물 부산물을 이용한 고품 연료는 2020~2022 중소기업 기술 로드맵의 신재생에너지 9개 부분에 포함되어 있으며 특히 4차 산업혁명 중 신재생에너지 부분의 바이오매스 정의에 “동/식물 부산물의 가공을 통해 얻어지는 고체 연료”형태를 포함하였으며 향후 중소기업이 개발 할 수 있는 유망 기술로 생각됨.
- 미생물 제제의 경우 화학물질을 사용하지 않은 친환경 방법으로 부작용이 적어 관심도는 높으나, 미생물 제제 생산 업체 혹은 사용 농가에서 제품에 대한 정보 및 전문성이 부족하여 사용에 어려움을 겪고 있음. 이에 관련 전문연구기관과 산업계가 직접적으로 연결되어 미생물 제제에 대한 보다 과학적인 성능 평가가 이루어져야 하며, 이를 기반으로 제품의 효능을 향상시키고 안전성을 확보하여 생산 업체나 농가 모두 안전하고 신뢰도 있게 제품을 사용할 수 있는 환경을 조성해야만 함. 연구과정에서 배양조건 및 생산조건의 최적화가 도출되면, 이를 산업현장에 적용하여 경제성 개선 효과도 얻을 수 있을 것으로 기대됨.

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

2-1. 주관연구기관 (한국에너지기술연구원)

1) 축산 슬러지로부터 신규 유용 미생물 탐색

○ 실제 축산 슬러지 처리 현장에서 샘플을 채취하여 신규 유용 미생물 탐색 연구를 수행함.

1. 축산 슬러지 자체 미생물만을 이용한 퇴비 발효사 샘플
2. 축산 슬러지 + 폐목재 부산물을 첨가한 퇴비 발효사 샘플
3. 축산 슬러지 + 왕겨를 첨가한 퇴비 발효사 샘플

○ 이와 동시에 왕겨를 발효왕겨로 만드는 과정 중의 신규 유용 미생물 탐색 연구도 동시에 수행함.



그림 7 실험에 사용된 축산 슬러지 및 혼합물 또는 발효왕겨



그림 8 축산 슬러지 샘플

○ 축산슬러지 퇴비사로부터 채취한 샘플1~3번 및 발효왕겨 샘플4번에 대해 LB liquid medium 100ml을 첨가하여 배양을 실시함.



그림 9 축산 슬러지 및 발효 왕겨 샘플 액체 배양

○ 축산 슬러지 및 발효 왕겨 샘플들에 대한 액체 배양 실시 1~3일 실시 후 LB 고체 배지에 도말하여 colony 분리를 실시함.

- 75um mesh를 이용하여 고형분 분리 후 고체배지 도말
- 액체배지 1일차 및 3일차 배양 후 고체배지에서 각각 1일, 3일 배양 실시



그림 10 슬러지 고형분 분리

- 고체 배지로부터 single colony를 분리한 후 독립적인 고체배양을 위한 계대배양 실시
- 분리 확보된 single colony에 대해서는 각각 16s RNA sequencing을 수행하여 미생물 종 확인
- 1일차 sample에서는 외관상 single colony 분리를 확인했음에도 많은 colony들이 mixed sample 분석 결과를 확인함.
- 3일차 sample에 대해서는 2번 16s RNA 분석을 실시함.

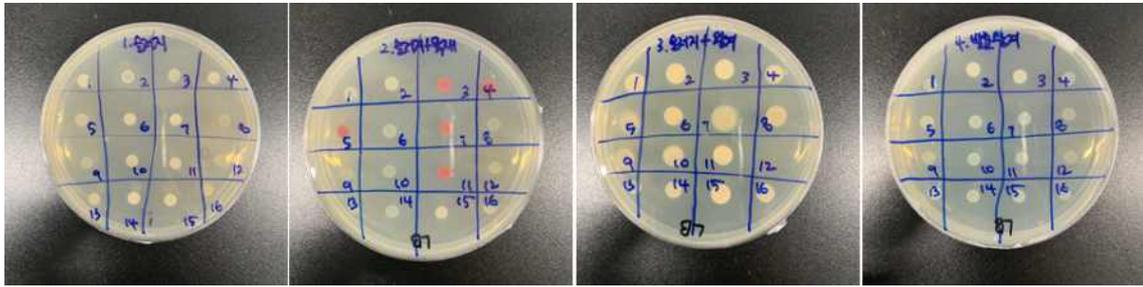


그림 11 각 축산 슬러지 샘플들의 균주 분리

○ 16S rRNA 분석 (균주 동정)

- 이후 각 균주들의 16S rRNA를 분석함으로써 균주들을 동정함
- 축산 슬러지 샘플 및 발효왕겨 배양액 유래 균주들의 16S rRNA 분석 결과 아래와 같은 미생물들이 동정됨

- 특히, 발효왕겨 배양액에서 *Alcaligenes aquatilis* 균주가 분리됨

- 1. 슬러지 only

: 1일 배양 후 16s RNA sequencing 결과에서는 모두 mixed sample로 분석되었음. 일부 colony에 대해서는 t-vector cloning 진행 후 재반응을 실시를 준비 중임.

: 3일 배양 후 16s RNA sequencing 결과, *Proteus mirabilis*, *Providencia vermicola*, *Providencia stuartii* 균주가 발견되었음.

: 해당 미생물들은 gram-negative bacteria로써 자연계의 동물 분뇨, 토양 등에 널리 존재하는 미생물로 알려져 있음. 해당 미생물들은 호기/혐기 배양이 모두 가능한 facultative 종으로 알려져 있음.

- 2. 슬러지+폐목재

: 1일 배양 후 16s RNA sequencing 결과에서는 모두 mixed sample로 분석되었음. 일부 colony에 대해서는 t-vector cloning 진행 후 재반응을 실시를 준비 중임.

: *Providencia vermicola*, *Staphylococcus gallinarum*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica*, *Enterbacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Enterobacter xiangfangensis*, *Serratia rubidaea* 미생물이 발견되었음.

: *Morganella morganii*는 gram-negative bacteria로써 사람, 포유류, 파충류의 장 속에서 발견되는 미생물임.

: 발견된 미생물 중 일부는 병원성 균이 존재하여 안전에 주의를 요망함.

- 3. 슬러지+왕겨

: mixed sample로 분석된 일부 colony에 대해서는 t-vector cloning 진행 후 재반응을 실시를 준비 중임.

: *Bacillus cereus*, *Bacillus paralicheniformis*, *Bacillus firmus*, *Psychobacter faecalis*, *Psychobacter maritimus*, *Desemzia incerta*, *Jeotgalibaca dankookensis*, *Psychobacter Pulmonis*, *Carnobacterium mobilie*, *Alcaligenes faecalis* 미생물이 발견되었음.

: *Psychobacter Pulmonis*는 gram-negative bacteria로써 삼투압에 강하고 혐기성 균에 속함. 생육온도는 10~42도로 알려져 있음.

- 4. 발효 왕겨

: mixed sample로 분석된 일부 colony에 대해서는 t-vector cloning 진행 후 재반응을 실시를 준비 중임.

: *Arthrobacter uratoxydans*, *Enterobacter asburiae*, *Alcaligenes aquatilis*, *Staphylococcus lentus*, *Lysinibacillus macroides*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus sciuri*, 미생물이 발견됨.

: *Arthrobacter uratoxydans*는 토양속에 흔히 존재하는 미생물로서 gram positive 호기성 박테리아로 알려져 있음.

: *Enterobacter asburiae* 는 gram-positive bacteria로써 호기/혐기 모두 배양이 가능함. 인체에 도움을 주는 미생물로 알려져 있음.

1. 슬러지 only			
	1차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (1일)	2차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (3일)	3차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과
1	fail	fail	<i>Proteus mirabilis</i>
2	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	fail
3	fail	<i>Providencia stuartii</i>	fail
4	fail	fail	<i>Proteus mirabilis</i>
5	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
6	fail	fail	<i>Providencia stuartii</i>
7	fail	fail	<i>Proteus mirabilis</i>
8	fail	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
9	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	fail
10	fail	fail	fail
11	fail	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
12	fail	fail	<i>Proteus mirabilis</i>
13	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	fail
14	fail	fail	<i>Proteus mirabilis</i>
15	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Providencia vermicola</i>
16	fail	<i>Proteus mirabilis</i>	fail

그림 12 축산 슬러지 only 미생물 동정

	2. 슬러지+목재		
	1차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (1일)	2차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (3일)	3차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과
1	fail	fail	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>
2	fail	<i>Providencia vermicola</i>	<i>Providencia vermicola</i>
3	fail	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	fail
4	fail	<i>Acinetobacter baumannii</i>	fail
5	fail	fail	fail - pcr 되지 않음
6	fail	fail	<i>Serratia rubidaea</i>
7	fail	fai	fail - pcr 되지 않음
8	fail	fail	<i>Morganella morganii</i>
9	fail	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Morganella morganii</i>
10	fail	fail	<i>Serratia rubidaea</i>
11	fail	fail	fail - pcr 되지 않음
12	fail	<i>Enterobacter cloacae</i>	fail
13	fail	클로니 뜨지 않음	<i>Morganella morganii</i>
14	fail	<i>Morganella morganii</i>	fail
15	fail	<i>Acinetobacter baumannii</i>	fail
16	fail	<i>Morganella morganii</i>	fail

그림 13 축산 슬러지+폐목재 부산물 신규 미생물 동정

	3. 슬러지+왕겨		
	1차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (1일)	2차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (3일)	3차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과
1	fail	<i>Psychrobacter faecalis</i>	<i>Psychrobacter pulmonis</i>
2	fail	<i>Psychrobacter maritimus</i>	<i>Psychrobacter pulmonis</i>
3	<i>Badillus cereus</i>	fail	<i>Psychrobacter pulmonis</i>
4	<i>Badillus paralicheniformis</i>	<i>Desemzia incerta</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
5	fail	<i>Jeotgalibaca dankookensis</i>	fail
6	<i>Badillus paralicheniformis</i>	<i>Psychrobacter pulmonis</i>	fail
7	fail	<i>Psychrobacter maritimus</i>	fail - pcr 되지 않음
8	fail	<i>Psychrobacter maritimus</i>	<i>Psychrobacter faecalis</i>
9	<i>Badillus firmus</i>	fail	<i>Alcaligenes faecalis</i>
10	<i>Badillus paralicheniformis</i>	<i>Carnobacterium mobile</i>	fail - pcr 되지 않음
11	fail	클로니 자라지 않음	<i>Psychrobacter faecalis</i>
12	fail	<i>Psychrobacter faecalis</i>	클로니 자라지 않음
13	<i>Badillus paralicheniformis</i>	클로니 자라지 않음	fail
14	fail	클로니 자라지 않음	<i>Alcaligenes faecalis</i>
15	<i>Badillus paralicheniformis</i>	fail	<i>Psychrobacter faecalis</i>
16	fail	<i>Psychrobacter maritimus</i>	<i>Psychrobacter maritimus</i>

그림 14 축산슬러지+왕겨 신규 미생물 동정

4. 발효 왕겨			
	1차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (1일)	2차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과 (3일)	3차 분뇨 샘플 16s rRNA 결과
1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	fail	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
2	fail	<i>Alcaligenes aquatilis</i>	<i>Enterobacter asburiae</i>
3	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Enterobacter asburiae</i>
4	fail	<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
5	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Enterobacter asburiae</i>
6	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
8	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	fail
9	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Lysinibacillus macroides</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
10	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	클로니 자라지 않음	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
11	<i>Bacillus cereus</i>	클로니 자라지 않음	fail
12	fail	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
13	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Bacillus cereus</i>	fail - pcr 되지 않음
14	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
15	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Alcaligenes aquatilis</i>	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>
16	<i>Staphylococcus stepanovicii</i>	클로니 자라지 않음	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>

그림 15 발효왕겨 신규 미생물 동정

○ 각 샘플에서 분리 및 동정된 균주들의 문헌조사 결과, *Alcaligenes aquatilis* 종에 속하는 여러 균주들은 각각 다음과 같은 능력이 있었음

- *A. aquatilis* GTE53 균주의 고농도 페놀 폐수 분해 능력(Haouas et al., 2021)
- *A. aquatilis* 3c 균주의 특정 azo 염료의 분해 능력(Ajaz et al., 2019)
- *A. aquatilis* YGD 2906 균주의 생물 계면 활성제로 알려진 리포펩티드를 생산할 수 있는 능력으로 인해 미생물 이용한 환경 복원 또는 항균제 등 바이오메디컬 분야에도 응용할 수 있음 (Yalaoui-Guellal et al., 2021).
- 뿐만 아니라, 해수담수화 시 *Alcaligenes aquatilis*을 이용하여 해수에 녹아 있는 고농도의 Ca, Mg 및 Ni 이온을 침전시킴으로써 역삼투막이나 장치의 스케일을 방지하고 중금속을 제거한 연구도 있었음 (Dong et al., 2019). 이 균주는 아미노산을 이용하여 탄산염을 생성 (MICP, microbial-induced carbonate precipitation)하고 Ca, Mg 및 Ni을 침전물으로써 제거하는 데 높은 효율을 보임
- 모로코의 한 연구에서(Haouas et al., 2021), 인 슬러지(인광석 가공 후 부산물로 생성된 찌꺼기)를 식물성폐기물과 혼합하고 *Alcaligenes aquatilis* 를 접종함으로써, 특성이 서로 다른 폐기물을 함께 발효시켜 더 높은 품질의 퇴비로 재생시키고자 시도함. 먼저 Ca₃(PO₄)₂ (TCP, tricalcium phosphate)을 유일한 P 공급원으로 제공함으로써 phosphate-solubilizing strain들을 분리하였고 그 중 *Alcaligenes aquatilis* GTE53가 선택됨. 이 균주는 PS(인 슬러지)와 PR(phosphate rock, 인광석)으로부터 각각 162.8 and 247.4 mg·mL⁻¹의 무기 인산염을 만듦. 또한 대기중 질소 고정 능력도 보였음. 산성, 염기성 pH에 저항성을 보였으며 높은 염분과 water stress에 대해서도 저항성을 보였음. 또한 고농도의 페놀(1100 mg·L⁻¹ of phenol을 포함한 배지)로부터 페놀을 분해하였으며 산업폐기물에 가장 흔하게 존재하는 병원균들을 불활성화시키는 능력을 가짐. 온도, pH, 전기전도도, 탄질비(C/N ratio)의 물리화학적 지표를 분석한 결과, 성공적인 퇴비화(co-composting)을 나타냄. 이러한 퇴비화 과정 동안 인을 이용 가능한 형태로 전환하는 능력과 폴리페놀의 분해가 확인됨.

- 여러 연구에서 공통적으로 *Alcaligenes aquatilis* 의 암모늄 제거 능력을 언급하였음. 특히 호기성 활성슬러지에서 신규 균주인 *Alcaligenes aquatilis* AS1을 분리한 연구(Cao et al., 2022)에서, 이 균주가 종속영양 질산화-호기적 탈질화 능력(heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying capacity)을 보유했다고 보고함. 이 균주는 암모니아 제거에 탁월한 능력을 보였으며, 하이드록실 아민 산화 및 아질산염 탈질화를 통해 기체 상태의 질소로 전환하는 호기적 대사 경로가 제안됨. AS1은 총질소량에 대한 화학적 산소 요구량 15-30, pH 6-10, NaCl 0-60 g/L, shaking speed 0-180 rpm, 탄소원으로 succinate, acetate, 또는 citrate 라는 넓은 범위의 환경 조건에서 암모니아의 효율적 제거가 가능한 것으로 나타남. 이 연구의 양돈 폐수의 처리에서 초기 암모니아성 질소의 농도가 각각 500, 1300, 그리고 2000 mg/L일 때 95.3%, 95.1% 그리고 84.9% 의 암모니아성 질소가 제거됨. (최대 암모니아성 질소의 제거 속도 30.5 mg/L/h and 569.7 mg/L/d). 이러한 결과들은 AS1을 고농도 암모니아성 폐수의 처리에 이용하는 것의 가능성을 암시함.
- 위와 같이 *A. aquatilis* 는 다양한 유기화합물을 분해할 수 있고 또한 양돈 폐수에 포함된 고농도의 암모니아를 제거했다고 보고됨. 가축 분뇨는 퇴비로 만들어질 경우 적당한 수분 함량과 함께 충분한 발효(부숙)를 거쳐 유기물을 충분히 제거해야만 추후 썩거나 과도한 기체 생성으로 인해 식물이 죽거나 생육에 장애를 받지 않음. 따라서, 축산슬러지 분해능이 우수한 신규 균주를 탐색하고자 한 이번 연구의 목적에 여러 가지 유기물 및 무기물을 분해한 사례가 있는 알칼리게네스 아쿠아틸리스가 부합하여 선정됨.
- 또한, 우리가 분리한 *Alcaligenes aquatilis*의 16S ribosomal RNA 서열 분석(마크로젠) 결과, 기존에 알려진 *Alcaligenes aquatilis* 균주들과 16S rRNA 서열이 다른 신규 균주임이 확인됨. 그에 따라 한국생명공학연구원 생물자원센터에 특허 출원을 위한 미생물 기탁을 진행하였으며, *Alcaligenes aquatilis* KIER-1라는 명칭으로 특허 출원을 준비 중임.

16S rRNA service report

Order Number :	HC00368729
Sample name :	211028_4-2_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_104977.1	Alcaligenes aquatilis	1491	1	1491	100	2693	0.0	1479/1491	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Alcaligenaceae	Alcaligenes	Alcaligenes aquatilis

Characterization

Alcaligenes is a genus of Gram-negative, aerobic, rod-shaped bacteria. The species are motile with one or more peritrichous flagella and rarely nonmotile. It is a genus of nonfermenting bacteria. Additionally, some strains of Alcaligenes are capable of anaerobic respiration, but they must be in the presence of nitrate or nitrite; otherwise, their metabolism is respiratory and never fermentative.

Under investigation

그림 16 분리한 *Alcaligenes aquatilis* 의 16S ribosomal RNA 분석

ATTGAACGCTAGCGGGATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGGAGAGAGCTTGCTCTTTGGCGGCGAGTGG
 CGGACGGGTGAGTAATATATATCGGAACGTGCCAGTAGCGGGGATAACTACTCGAAAGAGTGGCTAATACCGCATACG
 CCCTACGGGGGAAAGGGGGGGATCGCAAGACCTCTCACTATTGGAGCGGCCGATATCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGT
 AAAGGCTCACCAAGGCAACGATCCGTAGCTGGTTTGGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC
 TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATCCCGCGTGTATGATGAAGG
 CCTTCGGGTTGTAAGTACTTTTGGCAGAGAAGAAAAGGTATCTCCTAATACGAGATACTGCTGACGGTATCTGCAGA
 ATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA
 AGCGTGTGTAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGGGCTCAACCTTGGAACTGCATTTTTAACTGCCGAGC
 TAGAGTATGTCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGTGGAGGAATACCGATGGCGAA
 GGCAGCCCCCTGGGATAATACTGACGCTCAGACACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCA
 CGCCCTAACGATGTCAACTAGCTGTTGGGGCCGTTAGGCCTTAGTAGCGCAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGG
 GGAGTACGGTCGCAAGATTAANAACCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGA
 TGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGTCTGGAAAGCCGAAGAGATTTGGCCGTGCTCGCAAGAGAACCGG
 AACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTC
 ATTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTC
 ATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGGACAGAGGGTCGCCAACC CGGAGGGGGAGCCAAT
 CTCAGAAACCCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATC
 AGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTTACCAGAAAGTA
 GGTAGCCTAACCGTAAGGAGGGCGCTTACCACGGTGGGATTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATC
 GGAAGG

그림 17 신규 *Alcaligenes aquatilis* KIER-1의 16S ribosomal RNA 서열

특허미생물 기탁증

2022년 12월 16일

이상민 귀하

광주광역시 북구 삼소로 270번길 25

2022년 12월 5일 제 8275호 귀하가 보관 기탁 신청한

특허미생물에 대하여 이를 수리하고 다음과 같이 미생물 기탁번호를 통지합니다.

— 다 음 —

1. 미생물 기탁번호 : KCTC19056P

2. 미생물의 명칭 : *Alcaligenes aquatilis* KIER-1

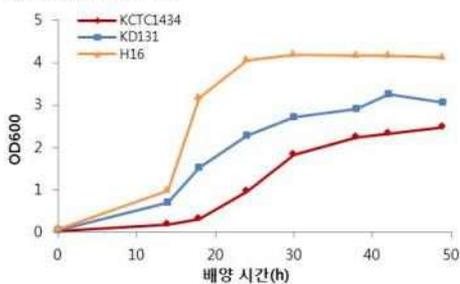
한국생명공학연구원 생물자원센터장 (인)

그림 18 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC) 특허미생물 기탁 (*Alcaligenes aquatilis* KIER-1)

2) 미생물 제제 배양 조건 및 배지조성 최적화

- 슬러지 분해 및 악취저감 미생물 제제 핵심 종균인 *Rhodobacter* 종에 대한 배양 조건 및 배지조성 최적화 진행
 - 3종의 미생물 촉매 *R.sphaeroides* KCTC 1434, *R.sphaeroides* KD131, *R.eutropha* H16에 대하여 성장 특성 분석 (Initial OD, Max OD, μ , Doubling time 등) 및 성장곡선을 확보하여 각 특성을 비교/분석함
 - 배양시간별 성장속도를 분석해 본 결과 *R.eutropha* H16 > *R.sphaeroides* KD131 > *R.sphaeroides* KCTC 1434 순서로 성장속도가 빨랐음.

- Growth curve



	KCTC1434	KD131	H16
Initial OD ₆₆₀	0.028	0.05	0.067
OD ₆₆₀ at 24 hours	0.952	2.28	4.054
OD _{max}	2.54	3.26	4.128
μ	0.1402	0.1737	0.171
Doubling time (h)	4.944	3.990	4.053

그림 19 미생물 촉매별 성장곡선 비교

- 3종의 미생물 촉매 각각에 대한 일반적인 배지 조성은 다음 그림과 같음.

■ *Rhodobacter capsulatus*

232 : Rhodospirillaceae Medium

Yeast extract	1.0 g
Ethanol	0.5 ml
Dipotassium succinate	1.0 g
Ferrous sulfate solution (0.1% in H ₂ O)	5.0 ml
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.4 g
NaCl	0.4 g
NH ₄ Cl	0.4 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05 g
Trace element solution SL-6	1.0 ml
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.03 g
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.01 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.20 g
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.02 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.10 g
H ₃ BO ₃ 0.30 g	0.30 g
Na ₂ SiO ₄ ·2H ₂ O	0.03 g
Distilled water	1000 ml
Vitamin B ₁₂ solution (10mg in 100ml H ₂ O)	0.4 ml
Distilled water	1.0 L
Adjust pH to 6.8.	

Boil the medium under a stream of nitrogen gas for few minutes and distribute 45 ml medium into 50 ml screw-capped bottles (loosely flushed with nitrogen gas). Bubble each bottle with nitrogen gas and close immediately with a rubber septum and screw tight. Autoclave at 121°C for 15 min. Sterile syringes are used to inoculate and remove samples. Incubate in the light using a tungsten lamp. For brown and other oxygen sensitive Rhodospirillaceae add 300 mg of L-cysteine (0.02% and concentration) to the boiling medium and adjust the pH to 6.8 or to the prepared medium in bottles (use neutralized sulfide solution (0.005 to 0.01% and concentration)).

+ add (light)

pH 6.8

■ *Rhodobacter sphaeroides*

Preparation of 1 liter of 10X medium

K ₂ HPO ₄	34.8 g
or KH ₂ PO ₄	27.2 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	5.0 g
or NH ₄ Cl	1.95 g
Succinic acid	40.0 g
L-Glutamic acid	1.0 g
L-Aspartic acid	0.4 g
NaCl	5.0 g
Nitrotri-acetic acid	2.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.0 g
or MgCl ₂ ·6H ₂ O	2.44 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.334 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.020 g
(NH ₄) ₂ MoO ₄ (1% solution)	0.2 ml
Trace Elements Solution	1 ml
Vitamins Solution	1 ml

■ *Ralstonia eutropha*

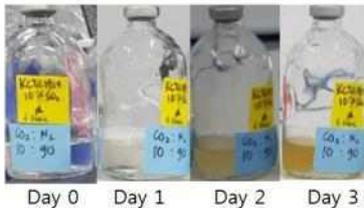
KH ₂ PO ₄	2.3	g
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	2.9	g
NH ₄ Cl	1.0	g
NaHCO ₃	0.5	g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.01	g
Fe(NH ₄) citrate	0.05	g
trace element solution SL-6	5.0	ml
Distilled water	980.0	ml
Agar (if necessary)	15.0	g

그림 20 미생물 촉매별 배지 조성 탐색

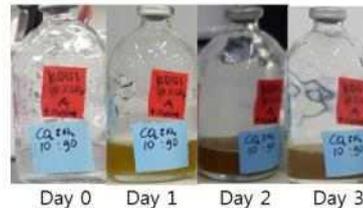
○ 미생물 촉매별 CO₂ 소모량 측정

- 미생물 촉매별 CO₂를 소모하는 특성을 분석하기 위해 GC 분석 조건 및 CO₂측정을 위한 미생물 배양 조건을 set-up함.
- 기존에 CO₂를 소모하는 것으로 알려진 화학무기생장미생물 및 광생장미생물 4종 (*R.sphaeroides* KD131, *R.sphaeroides* KCTD1434, *R.eutropha* H16, *Synechocystis* sp.)을 실험군에 포함시킴.
- 실험 결과 *R.sphaeroides* KD131와 *R.sphaeroides* KCTD1434의 경우 초기에는 배지 내 탄소원 (organic acids)을 먼저 소진하여 cell growth가 이루어진 다음, CO₂소모가 진행됨. CO₂소진 목적으로 배양을 하고자 할 때 먼저 cell growth를 진행시키는 2단 배양을 고려해 볼 수 있음.

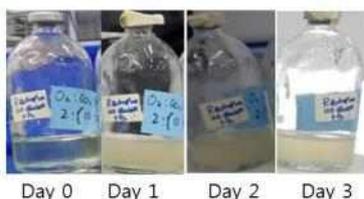
■ *R.sphaeroides* KCTC1434



■ *R.sphaeroides* KD131



■ *R.eutropha* H16



■ *Synechocystis* sp.

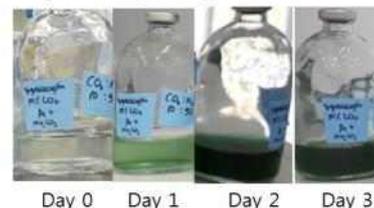
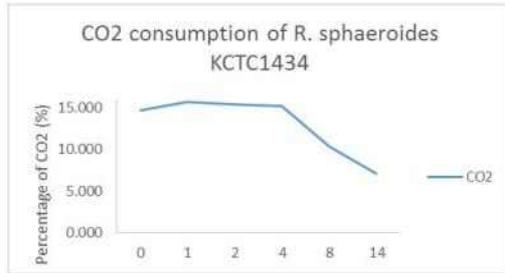


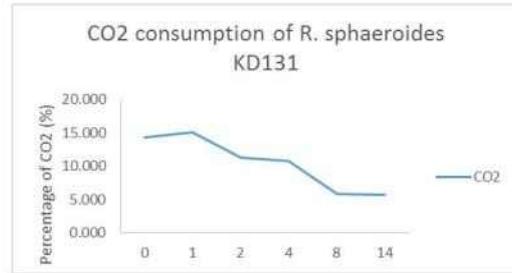
그림 21 배양 시간에 따른 미생물 촉매별 성장 변화

- *R.eutropha* H16의 경우 초기부터 CO₂를 소모하기는 하나 전체적으로 *Rhodobacter* 계열이나 *Synechocystis*와 비교하였을 때 상대적으로 CO₂ 소모량이 적음.
- *Synechocystis*의 경우 기존에 잘 알려진 바와 같이 배양 초기부터 급격히 CO₂를 흡수하여 배양 2일차에는 모두 소진하였음. 그러나 *Synechocystis*의 경우 광생장반응을 통해 CO₂를 고정화 하므로 고농도 세포 배양이 어렵고, 고부가물질 생산에 있어 고생산성을 가지기 어려워 실질적인 상용화 공정에 적용하기는 어려울 것으로 판단됨.

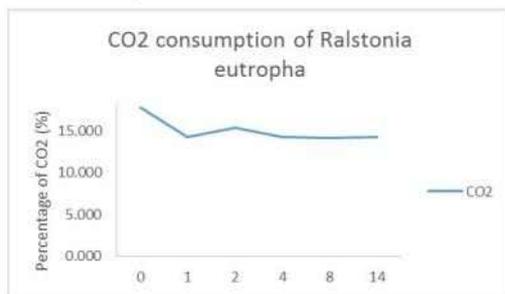
■ *R.sphaeroides* KCTC1434



■ *R.sphaeroides* KD131



■ *R.eutropha* H16



■ *Synechocystis* sp.

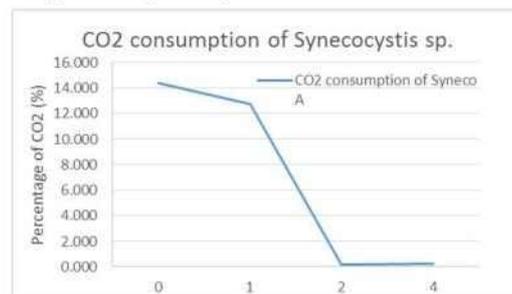


그림 22 미생물 촉매별 CO₂ 소모량 측정

○ 배양 조건별 성장 최적화

- 로도박터의 대표적인 대사산물인 PHB를 지표로 생산량이 가장 좋았던 *R.sphaeroides* KCTC 1434를 대상으로 배양 조건별 PHB 생산 최적화를 진행
- 일반적인 *R.sphaeroides*의 생육온도는 25~30 °C로 알려져 있으며, 보다 정확한 온도와 성장 간의 연관관계를 비교 분석함.
- 그 결과 30 °C에서 cell growth와 PHB 생산량 모두 가장 좋았으며, 30 °C보다 낮아지거나 높아질 경우 cell growth 감소로 인한 PHB 생산량 또한 감소하는 패턴을 관찰함.

Temperature

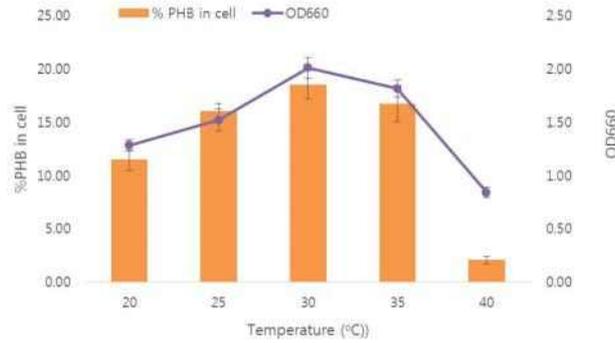


그림 23 온도별 로도박터 성장 비교

- Light/Dark에 따른 성장을 비교한 결과 큰 차이를 발견하지 못하였으며, 반복실험을 통해 재현됨을 확인함.

- 로도박터는 성장 시 배지내 nitrogen과 carbon 비율에 따라 민감하게 반응하는 것으로 알려져 있으며, 특히 PHB는 일반적으로 배지 성분 중에 nitrogen source 대비 carbon source가 과다로 존재할 경우 세포 내 carbon 저장 물질로써 형성되어지는 메커니즘이 알려져 있음. 이에 배지 내 carbon:nitrogen의 비율을 변화해 가면서 성장 속도를 최적화하는 실험을 진행함.

- 먼저 일반적인 *Rhodobacter* 배지인 sistrom media 내에서 N source 양은 고정하고, Carbon 비율을 바꿔보면서 PHB 생산량 변화를 관찰함.

- 그 결과, 6:1의 carbon:nitrogen 비율을 가질 때 약 25% 정도의 상대적으로 우수한 성장속도를 나타냄.

Effect of C:N ratio variation

- N source fixed



- C source fixed

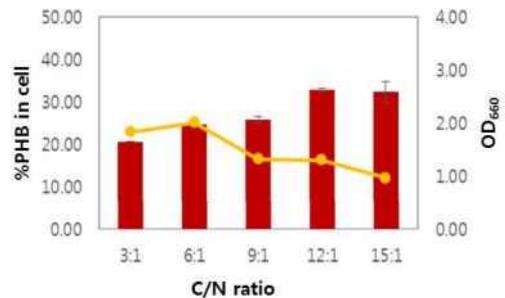


그림 24 배지 조성별 로도박터 성장 비교

3) 미생물 제제 약취 저감 성능 평가

○ 약취 원인물질을 포함한 조건에 미생물 제제 첨가 후 30분 후 약취 저감 물질 분석

- 환경표지 탈취제 기준 EL608:2017 시험방법에 의거하여 실험 진행

- 총 호기성 미생물 수 : 1.6×10^7 CFU/mL 이상

- 온도: $23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

- 상대습도: 50 % ± 10 %
- 시험용기는 냄새 성분이 흡착되거나 방출되지 않도록 유리 또는 스테인리스강 재질로 제작된 10 L~100 L 크기의 밀폐 용기를 사용함을 원칙으로 함. 이 용기에는 탈취제 시험 시료를 분사할 시료 분사구와, 시험용기 내의 가스를 채취할 가스 채취구가 부착되어 있어야 함. 또한 교반 등을 통하여 시험용기 내의 냄새 성분이 골고루 분포할 수 있도록 하여야 함.
 - => 10L 테들라 백 사용
 - => 시료 10g + 정제수 100 ml 혼합 후 주입
- 시험 기기 : 검지관식 가스 측정기 (GV-100S, 가스텍, 일본)
- 시험 항목 (초기 농도)
 - : 암모니아 (NH₃) 100 ppm
 - : 트리메틸아민 ((CH₃)₃N) 30 ppm
 - : 황화수소 (H₂S) 50 ppm
 - : 메틸머캅탄 (CH₃SH) 4 ppm
- 약취 저감 성능 평가 결과 (목표 : 암모니아 90% 이상 제거)
 - 암모니아(NH₃) 98.5% 이상 제거
 - 트리메틸아민((CH₃)₃N) 97.5% 이상 제거
 - 황화수소(H₂S) 6% 제거
 - 메틸머캅탄(CH₃SH) 5% 제거
 - 유해성분 (VACs, 벤젠, 톨루엔, 자일렌, 에틸벤젠, 1,4-디클로로벤젠, 스타이렌, PAHs, Acenaphthene, Acenaphthylene, Anthracene, Benzo(a)anthracene) 불검출
 - 유해성분 (benzo(a)pyrene, benzo(b)fluoranthene, Benzo(g,h,i)perylene, Benzo(k)fluorathene, Chrysene, Dibenzo(a,h)anthracene, fluoranthene, 플루오렌, indeno(1,2,3-cd)pyrene, 나프탈렌, 페난트렌, 피렌) 불검출
 - 유해성분 (염소계 탄화수소, 디클로로메탄, 클로로포름, 카본테트라클로라이드, 1,1,1-트리클로로에탄, 1,1,1-디클로로에틸렌, 트리클로로에틸렌, 테트라클로로에틸렌, As, Pb, Cd, Hg, Cr, Cu, Ni, Zn) 불검출



TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동)

TEL (02)2164-0011 FAX (02)2634-1008

성적서번호 : TAK-2022-055603

접 수 일 자 : 2022년 04월 18일

대 표 자 : 임영준

시험완료일자 : 2022년 05월 09일

업 체 명 : 농업회사법인(유)카야시스템

주 소 : 전라북도 정읍시 태인면 칠북로 614

시 료 명 : 탈취제(카야에코 A+)

시험결과

시험항목	단위	시험구분	결과치	시험방법
탈취시험 : 암모니아 (30 분 후)	%	-	98.5이상	EL608 : 2022
탈취시험 : 트리메틸아민 (30 분 후)	%	-	97.5이상	EL608 : 2022
탈취시험 : 황화수소 (30 분 후)	%	-	6.0	EL608 : 2022
탈취시험 : 메틸머캅탄 (30 분 후)	%	-	5.0	EL608 : 2022

(탈취성능시험 조건)

1. 시험용기 : 10 L 테들라 백

2. 시험주입량 : 20 mL

3. 시험기기 : 검지관식 가스측정기 (GV-100S, 가스텍, 일본)

- 용 도 : 품질관리용

- 비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로써 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
2. 이 성적서는 홍보, 선전, 광고 및 소송용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과치 참고용입니다.

Park Dong Kyu

작성자 : 박동규

Tel : 02-2092-3837

Chang-Seok Jeong

기술책임자 : 정창석

Tel : 1577-0091(ARS ①-④)

2022년 05월 09일

KTR 한국화학융합시험연구원



위변조 확인용 QR code

Page : 1 of 1

< 주요 성능지표 >							
주요 성능지표 ¹⁾		단위	자사 수준	타사경쟁사 수준	세계최고수준 또는 수요처 요구수준 ³⁾	전체항목에서 차지하는 비중 ⁴⁾ (%)	평가방법 ⁵⁾
탈취 성능	미생물 총균수	CFU/mL	1.0 X 10 ⁷ 이상	1.0 X 10 ⁶ 이상	1.0 X 10 ⁶ 이상	70	공인시험기관
	암모니아(30분후)	%	90%(60,70)이상	70% 이상	60% 이상	10	공인시험기관
	트리메틸아민(30분후)						공인시험기관
	황화수소(30분후)		5% 이상	5% 이상	5% 이상	10	공인시험기관
	메틸머캅탄(30분후)						공인시험기관
유해원소함량	염소계 탄화수소, 디클로로로메탄, 클로로포름, 카본 테트라클로라이드, 1,1,1-트리클로로에탄, 1,1,1-디클로로에틸렌, 트리클로로에틸렌, 테트라클로로에틸렌, As,Pb,Cd,Hg,Cr,Cu,Ni,Zn	mg/kg	미검출	0.01	0.01	10	공인시험기관
슬러지감소율	증속발효시킴후 기간내 잔존슬러지량 (9일)	%	90% 이상	50% 이상	60% 이상	20	자체시험

그림 26 악취 저감 및 슬러지 분해 성능평가 결과 요약

4) 악취 저감 및 슬러지 분해 미생물 제제 상업용 생산 및 운전조건 표준 매뉴얼 제작

○ 1단계: 혼합

- 정제수 80중량부 내지 85중량부, 로도박터(Rhodobacter) 1중량부 내지 2중량부, 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 1중량부 내지 2중량부, 방선균(Actinomyces) 1중량부 내지 2중량부, 아미노산(amino acid) 1중량부 내지 2중량부, 당밀(molasses) 2중량부 내지 5중량부, 염화나트륨(sodium chloride) 1중량부 내지 3중량부, C₆H₁₂O₆·H₂O의 일수화물(monohydrate) 2중량부 내지 5중량부를 혼합기 내에서 혼합
- 로도박터(Rhodobacter)는 1중량부 내지 3중량부 함유하고, 더 나아가 1중량부 내지 2중량부를 함유할 수 있다. 로도박터 속의 세균은 해수 담수 및 토양 환경에서 분리되는 통성호기성 세균이며, 로도박터의 세포는 난형 또는 막대 모양을 갖고 광합성 작용에 의한 탈취 성분으로 작용할 수 있다. 그람음성균이고 이중 분영 또는 출아법(budding)으로 세포 분열한다. 광합성 조건에서 배양 시에 황록색에서 노란색, 호기성 배양 시 분홍색에서 빨간색으로 변한다. 로도박터 속의 로도박터 플라스티커스(Rhodobacter blasticus), 로도박터 캡슐라투스(Rodobacter capsulatus) 및 로도박터 스페로이데스(Rodobacter sphaeroides)를 이용하여 유용 미생물을 배양한다. 로도박터 플라스티커스, 로도박터 캡슐라투스 및 로도박터 스페로이데스의 배합비는 중량비로 3~5:2~4:1~3를 사용할 수 있고, 4:3:2를 사용하여 탈취 성능을 향상할 수 있다.
- 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis)는 1중량부 내지 3중량부를 함유할 수 있고, 1중량부 내지 2중량부를 함유할 수 있다. 바실러스 속의 세균은 토양 등 주변 환경 및 인체나 동물 등에서 널리 분포하고 있다. 바실러스 서브틸리스는 아밀라제와 프로타제 등 중요한 효소 활성을 가지고 있으며, 탈취 특성을 발휘할 수 있다. 흔히 '고초균'이라도 하며 주로 토양에서 서식하며 바실러스 속이 속하는 균으로서 그람(Gram) 반응에서 양성 반응(Gram positive)을 하는 아포 형성균으로, 호기성이고 주모성 편모를 가지고 운동을 한

다. 아포는 난원형이고 중앙에 위치한다. 청국장의 발효 미생물로서 관계가 깊고 여러 미생물 제제로도 이용되고 있다.

- 방선균은 1중량부 내지 3중량부를 함유할 수 있고, 더 나아가 1중량부 내지 2중량부를 함유할 수 있다. 방선균은 토양, 식물체, 동물체, 하천, 해수 등에 균사체 및 포자체로 존재하는 미생물로 세균에 가까운 원핵생물 즉 세균의 방선균목으로 분류되고, 유기물의 분해를 통하여 촉매 성분으로 작용할 수 있다. 아미노산이 경우 1중량부 내지 3중량부 함유할 수 있고, 더 나아가 1중량부 내지 2중량부를 함유할 수 있다. 아미노산을 함유하여 산/염기 반응을 통하여 효소의 분해를 도와서 탈취 성분을 향상시킬 수 있다. 당밀은 1중량부 내지 6중량부를 함유할 수 있고, 2중량부 내지 5중량부를 함유할 수 있다. 발효 보조제로서 사탕수수 혹은 사탕무를 설탕으로 가공하는 과정에서 남게 되는, 더 이상 결정화되지 않는 부산물로 갈색의 찌득하고 밀도가 높은 시럽 형태를 보인다. 염화나트륨은 1중량부 내지 3중량부를 함유할 수 있고, 더 나아가 1중량부 내지 2중량부를 함유할 수 있다. 염화나트륨은 흰색의 결정으로 정제수에 녹을 수 있고, 발효 보조제로서 사용 가능하다. $C_6H_{14}O_7$ 의 화합물의 경우 2중량부 내지 5중량부를 함유할 수 있다. $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 의 일수화물(monohydrate)을 2중량부 내지 5중량부를 함유할 수 있고, 더 나아가 3중량부 내지 4중량부를 함유할 수 있다. $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 의 일수화물(monohydrate)을 사용하여 LED 조사 시에 발효가 원활하게 될 수 있는 역할을 할 수 있다.

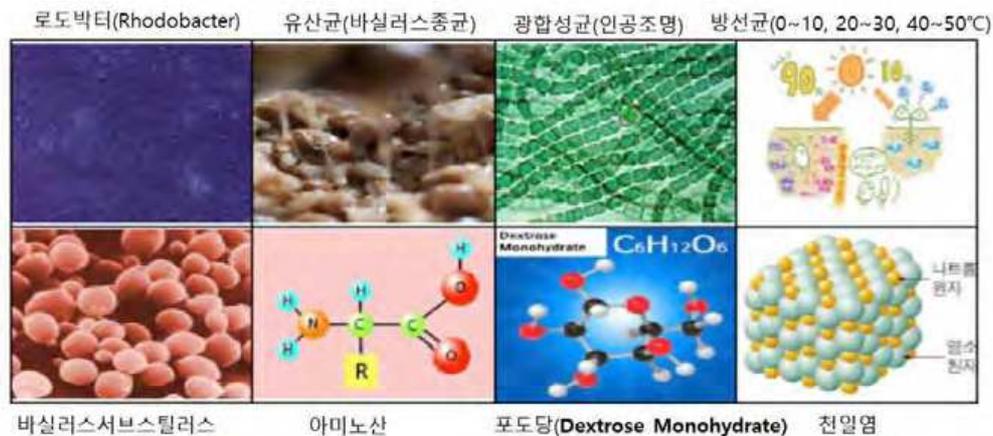


그림 27 미생물 제제 혼합균 구성

- 2단계: LED 조사
 - 혼합물에 LED 광원으로 빛을 조사 (225nm 파장, $15mW/cm^2$ 의 세기)
- 3단계: 미세버블 조사
 - 혼합물을 미세버블 분사장치로 미세폭기(microaeration)
 - 시간 당 2분의 간격으로 산소를 미세 흡을 갖는 원통형 파이프에 공급하여 3일 동안 숙성 진행
- 4단계: 포장
 - 생성된 유용 미생물(effective microorganisms)을 소분하고 포장

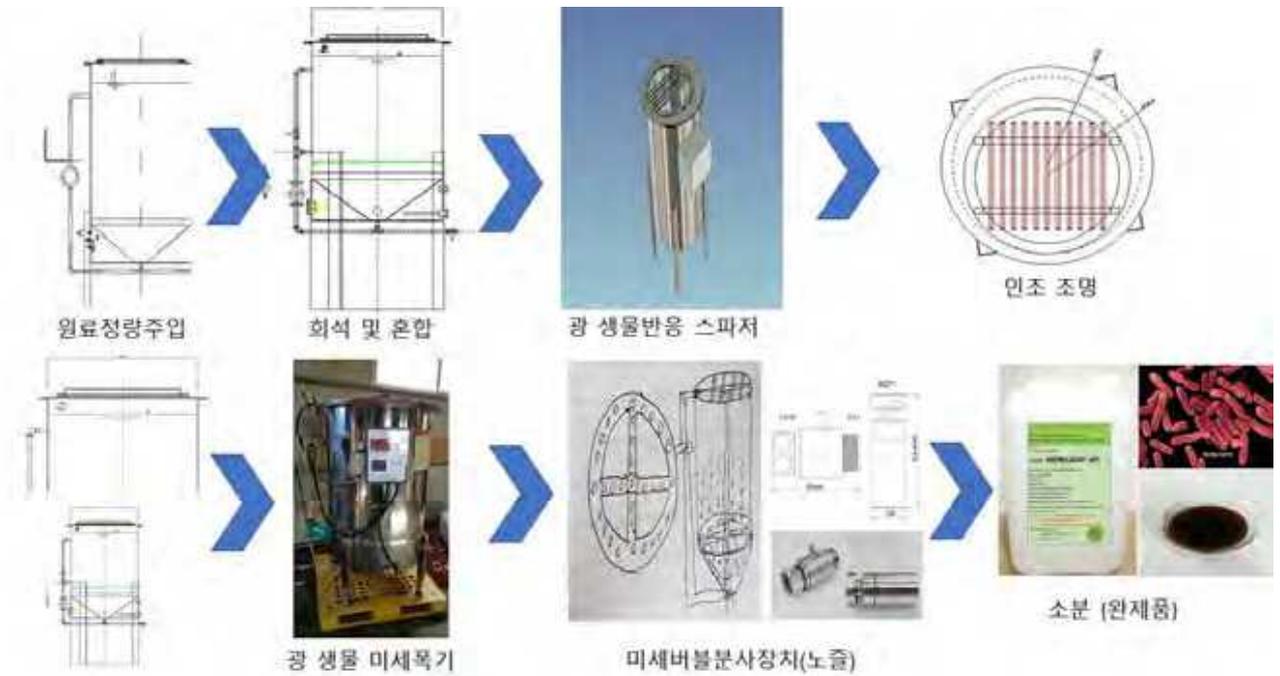


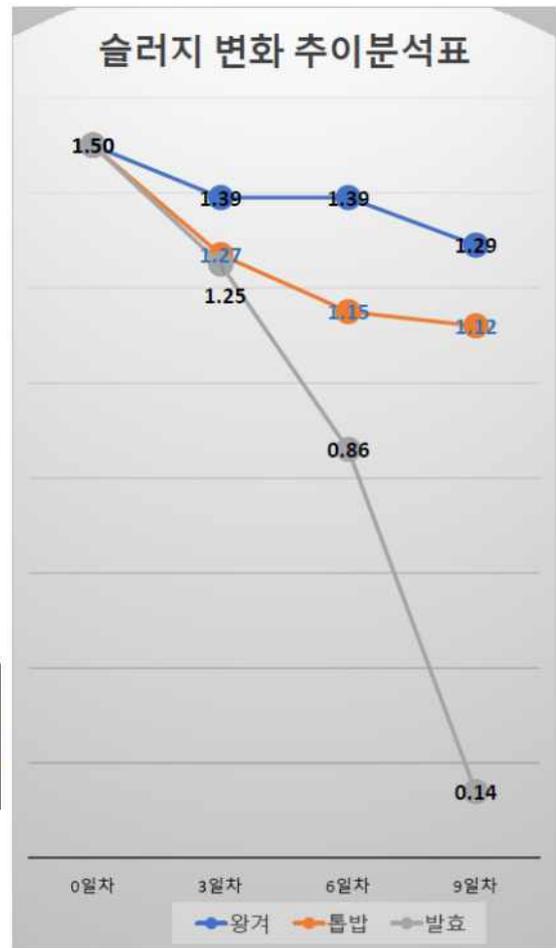
그림 28 미생물 제제 생산 과정 요약

5) 슬러지 분해 성능 평가

- 10L 용기에 슬러지 1.5kg을 집어넣고, 1.일반왕겨, 2.톱밥, 3.발효왕겨를 투입 후 시간의 경과에 따른 슬러지 무게를 측정함.
- 슬러지 분해제로 가장 널리쓰이는 톱밥의 경우 3일차 0.23kg의 무게감소를 보였으며, 9일차에는 0.38kg의 무게 감소를 보였음. (9일차, 슬러지 25% 감소)
- 슬러지 분해제로 일반 왕겨를 사용시 3일차 0.11kg, 9일차 0.21kg 감소로 측정되었으며, 9일차 기준 슬러지 14% 감소를 나타냄.
- 미생물을 통해 왕겨를 사전에 발효시킨 발효 왕겨 투입시 3일차 0.24kg, 6일차 0.63kg, 9일차 1.35kg 감소량이 측정되었으며, **9일차 기준 슬러지 91% 감소율**을 나타냄.
- 슬러지 감소율 = (초기슬러지량-기간내남은슬러지량)/초기슬러지량 * 100 (%)
- : 목표 기간내에 슬러지 감소량을 무게로 측정

	0일차	3일차	6일차	9일차
왕겨	1.50	1.39	1.39	1.29
톱밥	1.50	1.27	1.15	1.12
발효	1.49	1.25	0.86	0.14

그림 29 슬러지 무게 측정



○ 퇴비화된 축산슬러지 샘플의 부숙도 측정

- 축산슬러지 샘플들의 부숙도를 측정하였다. 측정에 사용한 샘플은 축산슬러지, 축산슬러지에 폐목재를 혼합한 것, 그리고 축산슬러지에 왕겨를 혼합한 것이었으며 모두 약 한 달 부숙(발효)시킨 것을 사용하였다. 수분 함량은 육안으로 확인하였으며 부숙도의 측정은 퇴비 부숙도 평가 장비인 콤백(CoMMe-100, 이앤에이텍)을 이용하였다.
- 콤백(CoMMe-100)의 부숙도 판정 원리는 퇴비의 생물활성에 근거하여 부숙도를 판정한다. 두 종류의 키트인 Kit-A 및 Kit-B을 이용하여 부숙도를 판정하는데, 2시간 정도 밀폐용기에 담겨 안정화된 퇴비의 가스 발생량을 키트 색변화로 대략 측정한다. Kit-A의 색변화는 암모니아(NH₃) 발생 정도를, Kit-B의 색변화는 이산화탄소(CO₂) 발생 정도를 반영한다.
- 퇴비의 생물학적 활성(암모니아, 이산화탄소 발생량)에 근거하여 부숙도를 판정하므로 미부숙 퇴비에서 발생하는 가스 등에 의한 작물 피해를 방지할 수 있고, 퇴비의 안정성 지표로 활용할 수 있다.
- 콤백 기기를 이용한 퇴비 부숙도 측정 방법은 다음과 같다:
 - ① 퇴비의 수분 함량을 확인하여 수분 함량이 40-50%가 되도록 미리 조절한다.
 - ② 측정 용기에 퇴비를 담고 밀폐하여 상온에서 2시간 동안 방치하여 안정화한다.
 - ③ KitA 및 KitB를 측정 용기 뚜껑에 꽂아 30분 간 반응

④ KitA-KitB 순서대로 부숙도 측정기에 삽입 후 측정 및 부숙도 결과 판정. 이 때 키트를 공기 중에 오랜 시간 방치하면 값이 변질될 수 있으므로 주의한다.



그림 30 콤팩 기기를 이용한 퇴비 부숙도 측정 방법 (예시)

○ 축산 슬러지를 퇴비로 출하하기 위해서는 아래의 표와 같이 ‘완전부숙’ 및 ‘부숙완료’ 단계 이후로 부숙(발효)을 완료시켜야 배출이 가능하다.

※ 부숙도 판정 결과

판정 결과	결과의 해석	퇴비 출하 가능여부
완전부숙	최적의 상태로 부숙됨	가능
부숙완료	부숙이 완료됨	가능
부숙후기	부숙이 거의 끝나가는 상태	불가
부숙중기	부숙이 좀 더 필요한 상태	불가
부숙초기	부숙이 진행되는 초기상태	불가
미 부숙	부숙이 거의 진행되지 않은 상태	불가

표 1 퇴비 부숙도 결과 해석 및 퇴비 출하 가능여부

○ 축산 슬러지, 축산 슬러지와 폐목재 부산물(톱밥) 혼합물, 그리고 축산 슬러지와 왕겨 혼합물을 약 20일간 부숙시킨 후 부숙도 판정 결과는 다음 표와 같았다.

- 아무것도 첨가하지 않은 축산 슬러지 (분뇨)의 경우 육안 확인 시 수분 함량이 남아 있고 부숙초기로 판정되었다. 축산 슬러지에 폐목재를 혼합한 경우 (분뇨+폐목재), 육안 확인 시 수분 함량이 남아 있고 부숙완료 단계로 판정되었다. 마지막으로 축산 슬러지에 왕겨를 혼합해 발효한 경우(분뇨+왕겨), 육안 확인 시 수분이 거의 없는 마른 상태였고 부숙도 판정 결과 부숙완료 단계였다.

- 즉 왕겨를 포함한 축산 슬러지가 가장 수분 함량이 낮았으며, 축산 슬러지에 폐목재 부산물 또는 왕겨를 혼합하여 발효한 것은 부숙완료 단계로 퇴비로써 배출이 가능함을 알 수 있었다. 반면 축산 슬러지만을 발효한 것은 부숙초기로, 퇴비로 출하하기 부적합하였다. 이를 통해, 수분조절제로 첨가해 준 폐목재나 왕겨가 축산 슬러지의 빠른 발효

에 긍정적인 영향을 주었다고 판단할 수 있다.

샘플명	수분 함량 (육안 확인)	부숙도 판정 (CoMMe100 화면)
분뇨 (슬러지 ^{only})	다소 축축함	부숙초기
분뇨 + 폐목재	다소 축축함	부숙완료
분뇨 + 왕겨	마른 상태	부숙완료

표 2 축산 슬러지 샘플 3가지의 수분 함량 및 부숙도 판정 결과

○ 과제 목표치 : 슬러지 분해 부숙중기까지 20일 이내

→ 발효왕겨와 유용 미생물 접종 시, 슬러지 분해 부숙완료까지 20일 이내 소요 확인

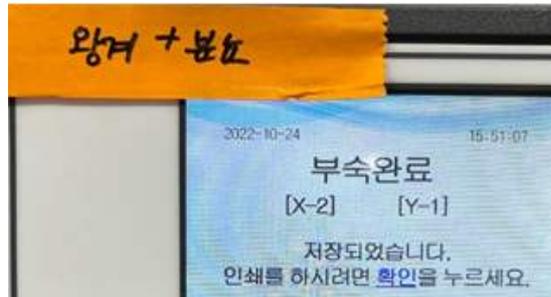


그림 31 축산 슬러지 부숙도 판정 화면

6) 약취 저감 미생물 제제 성장속도 성능 개선

○ 무작위 돌연변이법을 이용한 *Rhodobacter* 미생물 성장속도 개선

- *Rhodobacter* 미생물 촉매의 성장 속도 향상을 위해 *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (NTG)를 이용한 무작위 돌연변이법을 수행함

- NTG를 이용한 무작위 돌연변이법 방법은 아래와 같음

- NTG random mutagenesis protocol
 1. log phase의 *R. sphaeroides* (OD660=1)를 10 mL harvest 후 centrifuge (10,000 rpm, 20 min, 4°C)
 2. 3 mL의 tris-maleate buffer (TM buffer, 0.05 M, pH=6)로 2회 washing 후 1 mL로 resuspension
 3. 50 mL의 0.4 mg/mL NTG (in TM buffer) 넣고 30°C에서 1시간 동안 incubation 후 약 20 분 동안 ice에서 충분히 냉각시켜줌
 4. Centrifuge (10,000 rpm, 20 min, 4°C) 후 3 mL의 tris-maleate buffer 로 2회 washing, 1 mL로 resuspension
 5. TM buffer로 적절히 희석 후 Sistrom agar plate에 도말한 뒤 배양

- NTG를 처리하여 만들어진 돌연변이 library를 serial transfer를 통해 우점 미생물을 농화시킨 뒤 생장이 증가한 균주를 선별함
- 그 결과 성장속도가 2배 향상된 *R. sphaeroides* YR-1를 분리하였으며 YR-1 균주에 대한 유전체 분석을 수행함

[NTG를 이용한 random mutagenesis]

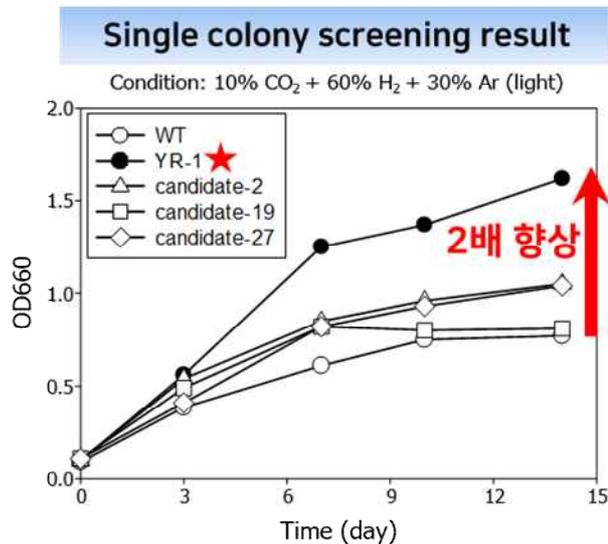
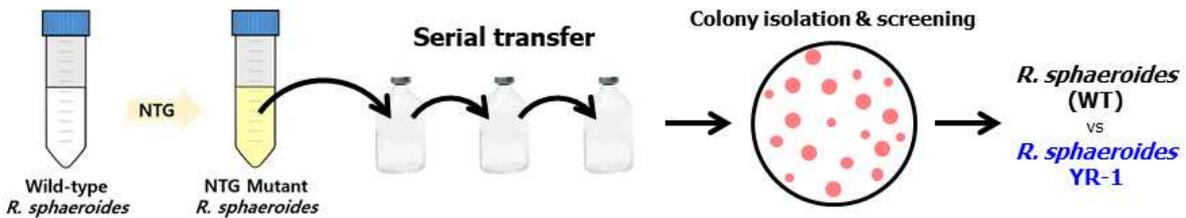


그림 32 NTG를 이용한 무작위 돌연변이법 모식도 (상) 및 선별된 미생물 촉매 배양 결과 (하)

- 유전체 분석 결과 *R. sphaeroides* YR-1에서 20개의 non-synonymous variants 와 16개의

synonymous variants를 포함하여 총 36개의 유전자에서 변이가 일어났음을 확인함

- 20개의 non-synonymous variants 중 missense variants 15개, frameshift variants 3개, stop gained variant 1개, downstream gene variant는 1개로 확인됨

Chromosome	Position	Reference bases	Alternate bases	START	END	Description	Name
1	468375	.	G	467543	468439	Four iron, four sulfur cluster binding, metal ion binding, peptidase activity, ubiquinone biosynthetic process	ubiV, Ubiquinone biosynthesis protein UbiV
1	554499	.	A	552855	554660	Transferase activity, transferring acyl groups, polyhydroxybutyrate biosynthetic process	Poly-beta-hydroxybutyrate polymerase
1	2017824	.	T	2016566	2017858		Uncharacterized protein
1	1797222	G	A	1795441	1797228	ATPase activity, ATPase-coupled transmembrane transporter activity, ATP binding	ABC efflux transporter, fused ATPase and inner membrane subunits

표3 미생물 촉매의 유전체 분석 결과 (frameshift, stop gained variant)

Classes	Chromosome	Position	Reference bases	Alternate bases	START	END	Description	Name
synonymous	1	1734557	G	C	1733201	1734904	protein refolding	groL, 60 kDa chaperonin 1
synonymous	1	1797203	T	C	1795441	1797228	ATPase-coupled transmembrane transporter activity, ATP binding	ABC efflux transporter, fused ATPase and inner membrane subunits
synonymous	1	2017873	C	T	2016566	2017858	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2017863	T	G	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2017866	G	C	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2017926	T	C	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2017974	T	C	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2017989	T	G	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2018027	C	T	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2018106	C	G	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2018112	G	C	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2018113	C	G	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2018139	T	C	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2439442	T	C	2438611	2440261	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2439504	G	A	2438817	2440301	Function unknown	Uncharacterized protein
synonymous	1	2439560	A	G	2438817	2440301	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	653211	A	G	650028	653509	ATP binding, Magnesium chelate activity, Light-independent bacteriochlorophyll biosynthetic process, Photosynthesis	chlX, Magnesium-chelate subunit II
missense	1	1148786	T	C	1148548	1149148	DNA binding	lexR, Transcriptional regulator, TetR family
missense	1	126460	C	T	1264387	1264884	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	1844331	C	T	1844172	1845488	Transmembrane transporter activity	Nucleoside ABC transporter membrane protein
missense	1	2017877	T	C	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2017883	C	G	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2017943	T	G	2017855	2018048	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2018104	G	C	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2018144	C	T	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2018156	G	C	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2018192	C	T	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2018166	G	A	2018056	2018373	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2191200	T	C	2190473	2192173	Cytochrome-c oxidase activity, Heme binding, Metal ion binding, Aerobic respiration, Electron transport coupled process	cyoC, Cytochrome c oxidase subunit 1
missense	1	2387746	G	A	2387431	2388255	Function unknown	Uncharacterized protein
missense	1	2638005	T	C	2637095	2638088	Carbohydrate derivative binding, Glutamine-fructose-6-phosphate transaminase (isomerizing) activity, Carbohydrate	putP, Glucosamine-fructose-6-phosphate aminotransferase (isomerizing)
downstream gene	1	1631325		AAGAGCCG	1631300	1631527	Phosphoryl-sensor kinase activity	Histidine kinase

표4 미생물 촉매의 유전체 분석 결과 (synonymous, missense, downstream gene)

- 무작위 돌연변이를 통하여 성장 속도가 향상된 *R. sphaeroides* YR-1 미생물 촉매의 특성 확인을 위하여 transcriptomic analysis를 수행함
- 분석 결과 YR-1 미생물 촉매에서 이산화탄소 및 수소 대사 관련 유전자의 발현이 증가하였으며 세포 내 energy 생산과 관련된 유전자들의 발현도 증가함
- 특히적으로 ROS signalling 관련 유전자들도 YR-1 미생물 촉매에서 발현이 증가함
- 야생형 미생물 촉매와 YR-1 미생물 촉매의 endogenous ROS 분석 결과, YR-1에서 endogenous ROS의 양은 줄었고 ROS를 제거하는 peroxidase의 발현은 증가함
- 이를 통해 미생물 촉매 내 ROS signalling의 조절이 이산화탄소 조건에서 미생물 촉매의 성장에 관련이 있음을 확인함

Gene number	Gene name	Function	Description	Log ₂ (FC)
RSP_1281	<i>cbbS</i>	Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase large subunit	Carbohydrate transport and metabolism	1.6
RSP_1282	<i>cbbL</i>	Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase small subunit	Energy production and conversion	1.6
RSP_0496	<i>hupL</i>	Hydrogenase protein large subunit	Energy production and conversion	1.2
RSP_0499	<i>hupD</i>	Hydrogenase 1 maturation peptidase HyaD	Energy production and conversion	2.4
RSP_0502	<i>hupH</i>	HupH hydrogenase expression/formation protein	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	2.5
RSP_0505	<i>hypA</i>	Hydrogenase maturation factor HypA	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	1.8
RSP_0509	<i>hypD</i>	Hydrogenase maturation factor	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	1.3
RSP_4047	<i>pdhAa</i>	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha	Energy production and conversion	1.5
RSP_4049	<i>pdhAb</i>	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta	Energy production and conversion	1.4
RSP_0979	<i>sdhB</i>	Succinate dehydrogenase catalytic subunit	Energy production and conversion	1.0
RSP_1559	<i>icd</i>	Isocitrate dehydrogenase	Energy production and conversion	1.2
RSP_3150	<i>frdB</i>	Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	Energy production and conversion	1.1
RSP_1826	<i>coxII</i>	Cytochrome c oxidase subunit 2	Energy production and conversion	1.9
RSP_1828	<i>ctaG</i>	Cytochrome c oxidase assembly protein CtaG	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	1.1
RSP_1829	<i>coxIII</i>	Cytochrome aa ₃ subunit 3	Energy production and conversion	1.4
RSP_1877	<i>coxI</i>	Cytochrome c oxidase subunit 1	Energy production and conversion	1.8
RSP_2785	<i>cycF</i>	Cytochrome c-554	Energy production and conversion	1.5
RSP_2512	<i>nuoA</i>	NADH-quinone oxidoreductase subunit A	Energy production and conversion	2.0
RSP_2513	<i>nuoB1</i>	NADH-quinone oxidoreductase subunit B1	Energy production and conversion	1.6
RSP_2514	<i>nuoC</i>	NADH-quinone oxidoreductase subunit C	Energy production and conversion	1.7
RSP_2515	<i>nuoD</i>	NADH-quinone oxidoreductase subunit D	Energy production and conversion	2.0
RSP_2516	<i>nuoE</i>	NADH dehydrogenase subunit E	Energy production and conversion	1.1
RSP_2518	<i>nuoF</i>	NADH-quinone oxidoreductase subunit F	Energy production and conversion	1.1
RSP_2779	<i>katE</i>	Catalase	Inorganic ion transport and metabolism	2.2
RSP_2380	<i>katC</i>	Catalase	Inorganic ion transport and metabolism	2.2
RSP_1796	<i>sodC</i>	Superoxide dismutase	Inorganic ion transport and metabolism	1.4
RSP_2389	<i>gpx</i>	Glutathione peroxidase	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	1.6
RSP_1092	<i>rpoE</i>	ECF RNA polymerase sigma factor RpoE	Transcription	2.5
RSP_1093	<i>chrR</i>	Anti-sigma-E factor ChrR	Transcription	1.6
RSP_2143	<i>phrA</i>	DNA photolyase, Cryptochrome 1 apoprotein (Blue light photoreceptor)	Replication, recombination, and repair	1.2
RSP_0601	<i>rpoH_{II}</i>	RNA polymerase, sigma 32 subunit, RpoH	Transcription	3.3
RSP_1529	<i>trxA</i>	Thioredoxin	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	1.0
RSP_3127	<i>arsC</i>	Arsenate reductase (glutaredoxin)	Inorganic ion transport and metabolism	4.9

그림 33 야생형 *R. sphaeroides*와 YR-1의 transcriptomic analysis 결과

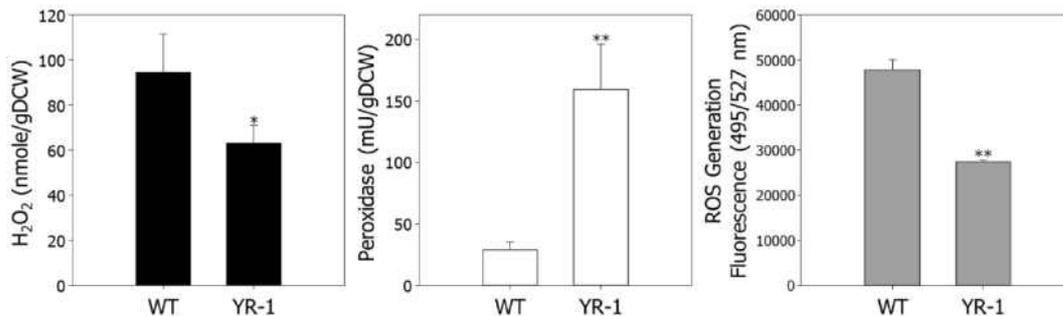


그림 34 야생형 *R. sphaeroides*와 YR-1의 ROS 및 peroxidase 분석 결과

- 무작위 돌연변이를 통하여 성장 속도가 2배 향상된 미생물 촉매에서 총 카로테노이드의 생산성도 약 1.7배 향상됨
- 미생물 촉매 내 카로테노이드 생산 경로에 존재하는 spheronidenone, hydroxneurosporene, neurosporene 등 카로테노이드의 생산성 또한 같이 향상됨
- 카로테노이드는 미생물 및 작물 생육 촉진을 활성화하는 성능이 뛰어나므로, 카로테노이드 함량이 증진된 *Rhodobacter*를 활용할 경우 슬러지 부숙 촉진 및 향후 퇴비화에서 큰 효과를 가질 수 있을 것으로 기대됨

2-2. 공동연구기관 ((유)카야시스템)

1) 폐유기성 슬러지 고속 분해 공정 표준 운전 매뉴얼 작성

○ 1단계

- 혼합기 내에서 미생물을 폐유기성 슬러지에 혼합
- 미생물은 로도박터 블라스티커스(Rhodobacter blasticus), 로도박터 캡슐라투스(Rodobacter capsulatus) 및 로도박터 스페로이데스(Rodobacter sphaeroides) 에서 선택
- 폐유기성 슬러지 500중량부 내지 1,000중량부에 대하여, 정제수 80중량부 내지 85중량부, 로도박터(Rhodobacter) 1중량부 내지 2중량부, 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis) 1중량부 내지 2중량부, 방선균(Actinomyces) 1중량부 내지 2중량부, 아미노산(amino acid) 1중량부 내지 2중량부, 당밀(molasses) 2중량부 내지 5중량부, 염화나트륨(sodium chloride) 1중량부 내지 3중량부, C6H12O6·H2O의 일수화물(monohydrate) 2중량부 내지 5중량부 및 한약제 분말을 2중량부 내지 5중량부 혼합

○ 2단계

- 폐유기성 슬러지에 공기를 공급
 - ① 모터에 연결된 회전축에 의하여 송풍 팬이 회전
 - ② 송풍 팬으로부터 공기가 히터 케이스 내부에 위치한 히터를 통과
 - ③ 히터를 통과한 90℃ 내지 120℃의 열풍이 히터 케이스와 연결된 연결부, 연결부와 연결된 열풍 공유기를 통과
 - ④ 열풍 공유기의 열풍은 복수의 공기 공급 파이프를 통하여 흘러 들어감
- 열풍 공유기는 복수의 공기 공급 파이프에 연결되며, 복수의 공기 공급 파이프는 혼합기의 측면을 관통하여 혼합기 내부에 지면과 평행하게 위치하며, 복수의 공기 공급 파이프는 혼합기 내부에 위치한 표면에만 다수개의 홀을 구비하며, 또한 복수의 공기 공급 파이프는 공기를 통과 또는 차단할 수 있는 개폐 밸브를 각각 구비

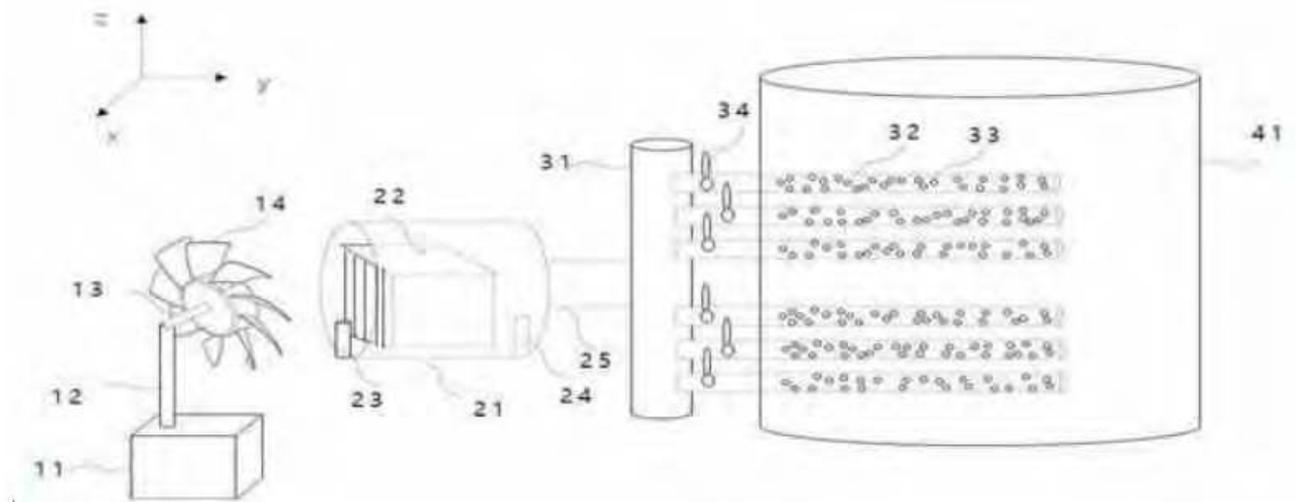


그림 35 슬러지 분해 모식도

- 히터와 열풍 공유기의 연결부 사이에는 온도센서를 구비하여 열풍의 온도를 측정하여 히터의 출력을 조절하여 열풍 온도를 제어

○ 3단계

- 분말 형태의 슬러지 확보

2) 슬러지 분해 시 가스 분석

○ 슬러지 분해 시 온실가스 저감 효과 측정

- 1L 진공 실린더 9개를 Turbo pumping station을 사용하여 진공 배기
- 분뇨 슬러지 용기에 가스 포집 포트 설치
- 가스 포집 포트에 진공 실린더 연결한 후 가스 샘플링
- 포집된 가스를 사중극자 질량분석기 시스템에 연결하여 분석
- 검출된 성분 정성, 정량 분석



그림 36 일반 공기 함유량



그림 37 가스 분석 실험 사진

- 범례 :
1. 왕겨(1.5KG) + 슬러지(1.5KG)
 2. 톱밥(1.5KG) + 슬러지(1.5KG)
 3. 미생물슬러지제(1.5KG) + 슬러지(1.5KG)

N2	3일차	6일차	9일차
왕겨	85.72	84.53	84.60
톱밥	84.64	84.39	84.39
발효	88.48	87.54	78.12
O2	3일차	6일차	9일차
왕겨	3.69	7.50	7.63
톱밥	2.99	8.67	8.67
발효	0.77	3.41	20.13
Ar	3일차	6일차	9일차
왕겨	0.69	0.59	0.59
톱밥	0.60	0.59	0.59
발효	0.62	0.61	0.55
CO2	3일차	6일차	9일차
왕겨	9.99	7.38	7.12
톱밥	10.78	6.35	6.35
발효	10.13	8.43	1.13

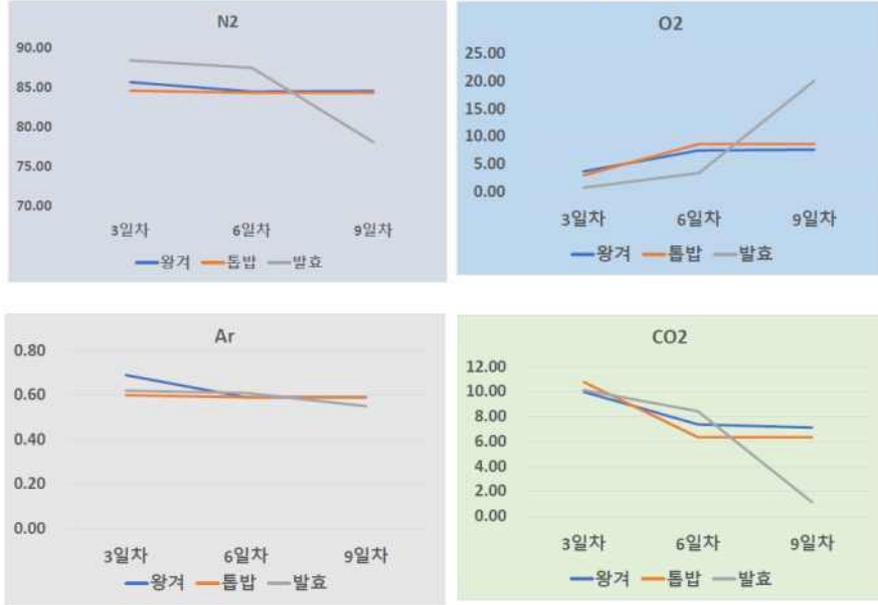


그림 38 가스분석 결과

- 발효왕겨를 투입한 샘플의 경우 9일차가 되면 90%이상의 슬러지 분해가 완료된 상태로 일반왕겨나 톱밥을 사용하였을 경우보다 이산화탄소 발생이 각각 6.3배, 5.6배 감소하는 것으로 나타남.
- 수소나 메탄은 검출되지 않음.

3) 고속 폐유기성 슬러지 분해 5m³ scale-up 분해장치 제작

○ 6m³ 고속 폐유기성 슬러지 분해장치 제작



그림 39 6m³ 고속 폐유기성 슬러지 분해장치

- 6m³ 미생물 배합장치 자체로도 슬러지 분해 장치로 활용 가능하며, 시운전에 성공함.
- 기본적인 미생물 배합장치에 관련 설비를 추가하여 제작
 - : 고속 슬러지 분해를 위한 온도 조절 장치 (열풍기, 전열판, water jacket 등) 부착
 - : 발효시 호기 상태 유지를 위한 송풍장치 설치
 - : 발효과정에서 발생하는 악취 제거를 위한 공기 정화 장치 부착
 - : 고속 슬러지 분해 후 분해 산물 이동을 위한 이동장치 설치

명 세 서

작성일: 2022년 9월6일
 (주) 카 아
 대표 임명준 賁下

사업자등록번호: 126-86-63295
 상 호: (주)이오기술 대표: 이 해 정
 주 소: 경기도 광주시 도척면 저수지길 30-78
 전화: 031)764-8363 팩스:031) 764-8364

아래와 같이 명세서를 제출합니다.

품 목	규격	수량	단가	금 액	비 고
배합기		1세트		60,000,000	재질:스텐레스 리본믹서 3중구조 - 부가세별도

배합기규격서

명 칭	U타입상부개폐형 배합기
외 형	길이 4500mm × 높이 2100 × 폭 1800 중량 3.5톤
조용적	6000ℓ
교반기 동력	감속기 SL3300 380v 15hp1/60 모터 10hp 스프라켓- 160#
교반날개	2중 나선형 리본타입
재 질	탱크 sus 304 4t 교반날개: sus 16t 날개축 sus 45φ 교반기축 sch160# 200A sts304 3t 라이닝
투입구	상부개폐형
배출구	감속기토출량조절방식
제어반	교반기자동제어 완료시간 자동제어
전자저울	인디게이터 MI1000 로드셀 2톤 x 4개

4) 고성능 미생물 제제 시제품 생산

○ 개발된 미생물 제제에 대한 녹색기술 및 녹색기술제품 인증을 획득하고 시제품 생산에 성공함.

○ 시제품에 대해서는 농축산용미생물산업육성지원센터를 통해 생균수를 측정함

- 과제 목표치 : 생균수 $>1.0 \times 10^7$ CFU/ml

- 설정 근거 : 환경 개선용 EM제제에 대한 농도는 일반적으로 생균수로 표기하며, 제품 생균수는 아직 법적으로 규격화되어 있지는 않음. 일반적인 고성능 EM제제 제품의 생균수 기준이 1.0×10^7 CFU/ml임.

→ (시제품) 나토큐 플러스 : 생균수 3.3×10^8 CFU/ml

→ (시제품) 나토큐 에프 : 생균수 9.7×10^9 CFU/ml

→ 최근 조달청에서는 1.0×10^8 CFU/ml 이상을 요구하는 경우가 많아, 본 시제품은 더 고품질로 산업 경쟁력을 충분히 가질 수 있을 것으로 예상됨.

○ EM제제의 장기 보관 방법

- 일반적인 토양미생물의 경우 세포 생장이 log phase에 해당하는 O.D.=0.5~2.0 사이의 배양 단계에서 동결 보호제인 glycerol을 최종 농도 15~20%로 맞추어 섞어주고 -80°C 초저온 냉동고에 보관하길 권장함. 잘 보관될 경우 수년정도 cell viability가 유지 가능함. 초저온 냉동고가 없다면 최대한 서늘하고 저온에서 보관하길 권장하며, 4°C 보관시 약1달간 활성유지 가능함. 장기보관시 가능하면 계대배양을 꾸준히 하길 권장함.

○ 개발된 미생물 제제 생산 및 성능 개선 노하우에 대해서는 한국에너지기술연구원에서부터 공동참여연구기관인 (유)카야시스템에 기술이전을 실시함. (2021.12)

○ 개발된 미생물 제제의 작물 생육 촉진 성능이 입증되어 관련 미생물 제제 생산 및 노하우에 대해서 (유)좋은바이오로 기술이전을 실시함 (2022.12)

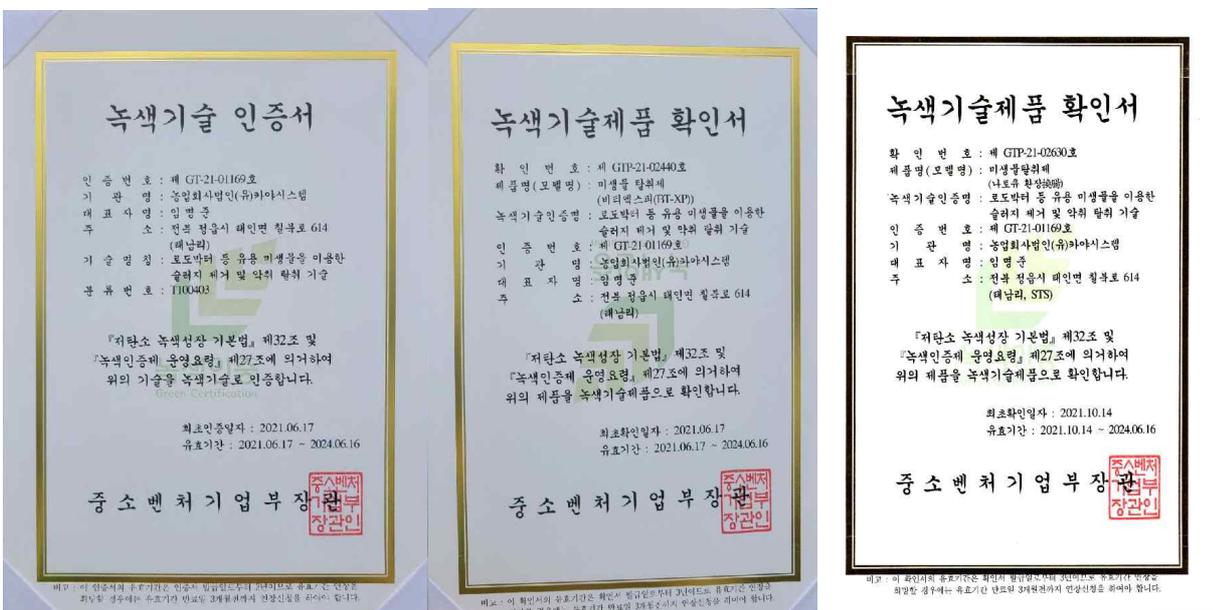


그림 40 녹색기술 인증

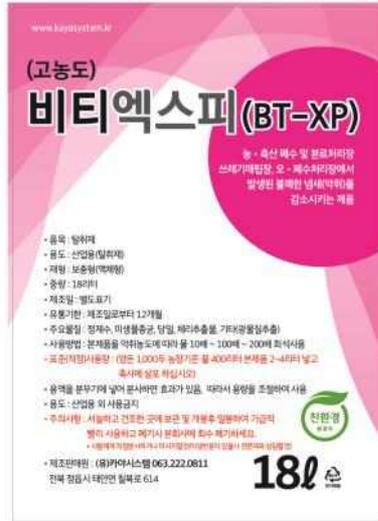


그림 41 미생물 제제 시제품 생산

평가 결과보고서

접수번호 : Q22C-022

신청자	성명	윌영준	연락처	전화번호	
	소속	(유)카아시스팀	e-mail		
	주소	전라북도 정읍시 태안면 칠백로 614			
요청평가항목	미생물 동정(생화학분석) 2건, 생균수 측정(우점균 측정) 2건, 효소활성 측정 10건, 항균활성(식물병원성 세균/진균) 8건, 항균활성(축산병원성 세균/진균) 4건, 식물생장 촉진능 3건, 광내생근능(내산성, 내알칼리성, 광부착능) 6건, 축산분뇨박취저감(아민, 팔로니아, 황화수소) 6건				
평가목적	농축산용 유용미생물제품 개발				
특기사항	백상, 분말 시료				
실험실사자	김정애	부서	기술지원팀		
접사기간	시작일	2022.08.18	종료일	2022.10.27	
실험 내용					
1. 미생물 동정					
- 생화학 분석					
No.	샘플 명	동정 종류	사용 kit	동정 결과	
1	나도류 플러스	API	50CHB	<i>Bacillus subtilis</i>	
2	나도류 예프	API	50CHB	<i>Bacillus licheniformis</i>	
2. 생균수 측정					
- 총균수 측정					
No.	샘플 도착일	샘플 명	측정 배지	총균수	
1	2022.08.18	나도류 플러스	일반세균(NA)	3.3×10^8 CFU/mL	
2		나도류 예프	일반세균(NA)	9.7×10^9 CFU/mL	
- 우점균 측정					
No.	샘플 명	측정 배지	우점균		
1	나도류 플러스	일반세균(NA)	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)		
2	나도류 예프	일반세균(NA)	<i>Bacillus licheniformis</i> (100%)		

그림 42 생균수 평가 결과 보고서

5) 축산 농가 실증

○ 군산시 서수양돈단지 분뇨슬러지 고속처리 및 악취해결 시연회 (2021.11.23.)

- 전북 군산시 축산과, 익산시 축산과, 농협 목우촌 비료사업소, 군산양돈협회, 환경전문 기자 등 관계자 참석하에 악취저감 유용 미생물과 발효 왕겨를 이용한 축산 슬러지 고속 분해 및 악취저감 실증 시연회 개최
- 본 연구를 통해 개발된 발효 부숙제 투입 후 1시간 이내 악취를 느끼지 못할 정도로 제거됨을 현장에서 검증





그림 43 현장 실증

- 돈사 사육규모 : 모돈300두, 자돈5000두
- 돈사 사육방식 : 슬러리 피트 방식*, 슬러지 피트 깊이 1m
- * 피트형 돈사란 돈사 바닥 아래에 저장공간을 두어 분뇨를 일정기간 저장하는 돈사
- 실증 시간 : 약 오후 2시경
- 외부 온도 : 24 °C
- 초기 암모니아 농도 7.16PPM, 황화수소 2.16PPM
- 발효왕겨 및 미생물 제제 투입 1시간후 암모니아 농도 2.04PPM, 황화수소 0PPM
- 본 과제목표에는 포함되지 않았지만, 향후 동일한 농장에서 연중 계절별로 악취 발생 정도를 모니터링 한다면 보다 체계적인 악취저감 제어 시스템을 도출할 수 있을 것으로 기대됨

6) 축산 바이오매스 고품연료 테스트

- 돈분의 경우 우분이나 계분보다 발열량이 높아 고품연료로 에너지화 할 경우 더 활용 가치가 높으며, 오염 부하량은 오히려 우분보다 높아 분뇨 처리 효과는 더 클 것으로 기대됨. 하지만 현재 실증은 우분에 대해서만 일부 이루어졌는데, 이는 우분에 수분함량이 상대적으로 낮아 탈수 및 펠릿 성형이 훨씬 쉽기 때문임. 본 기술은 돈분에도 적용될 수 있는 기술로써, 탈수 공정 중에 호기성 미생물을 사용하여 미생물이 유기물분해과정에서 발생하는 산화열(60~70°C)을 이용, 물리적인 에너지 투입량을 최소화하여 **운영관리비를 대폭 개선(53,500ton->8,000ton) 하였음.**

항목	우 분	돈 분	계 분
BOD부하량 (mg/l)	12,197	12,674	65,400
저위 발열량 (kcal/kg)	402	864	191
고위발열량 (kcal/kg)	903	1362	734

그림 44 가축분뇨별 성상 비교

- 탈수/발효 공정 중에는 수분조절제로써 고가의 톱밥이 투입되는데, 1차 공정 산물인 유기성슬러지 중 일부 (약 20%)를 다시 탈수/발효 공정에 투입하는 연속공정을 통해 톱밥의 사용을 최소화하여 경제성 개선이 가능함.
- 본 기술에 사용되는 미생물은 한돈협회가 발표한 국내 약취 저감 우수제품 기준인 복합약취저감율 20%이상에 상응하는 효능을 가지고 있음. 이를 이용할 경우 가축분뇨 처리 과정에서 가장 큰 문제점 중 하나인 약취를 획기적으로 개선할 수 있음.
- 가축분뇨의 고품연료화 기술은 현재 90% 이상이 퇴비로만 쓰이고 있고, 극히 일부분 (<3%)만이 바이오가스 등으로 자원화 되고 있는 실정에서 새로운 가축분뇨의 활용처를 제시함과 동시에 국내 수급 가능한 신재생에너지 연료원을 제시하는 기술임.

구 분		타사 평균	(유)카야시스템
기술 원리		슬러지 내 수분을 직접 또는 간접 방식(석유, 가스, 전기 등)으로 열을 접촉시켜 수분을 제거하는 기술	호기성 미생물 발효 건조 방식
처리 부산물	종류	건조물	건조물
	함수율	10~20%	10~25%
	활용처	농가 보일러, 열병합발전소 등	농가 보일러, 열병합발전소 등
환경사회적 측면	대기오염	중	소
	약취	대	소
	민원발생	대	소
경제적 측면	설치비	1.4억/톤	1억/톤
	운영관리비	53,500/톤	8,000원/톤
	설치면적	약 1,000평	

그림 45 가축분뇨 건조 기술 비교

- Bench scale에서의 제조된 축분유래 고품연료 (축분유기성슬러지60~90%+임목폐기물10~40%)에 대해 <자원의 절약과 재활용 촉진에 관한 법률, 시행령, 시행규칙>에 따른 고품연료제품 품질기준에 의거 일반 고품제품(SRF, solid refuse fuel) 및 바이오 고품연료제품(BIO-SRF, biomass-solid refuse fuel) 기준에 저위발열량, 수분함량, 약취 제거율, 중금속 함량 모두 부합함을 확인함.

평가 항목 (주요 성능 Spec)	단위	전체항목에서 차지하는비중(%)	세계최고수준 보유국/보유기업	연구개발 전 국내수준	개발 목표치·결과		
			성능수준	성능수준	목표치	결과평균	달성도(%)
1. 발열량	kcal/kg	50	한국/(주)이레	3,500	4,200	4,273	100
2. 악취제거율	%	32	독일/BASF	40	80%제거	99%제거	100
3. 수분	%	2			10	6	100
4. 회분	%	2			20	7.1	100
5. 염소	%	2			2	0.13	100
6. 황분	%	2			1.2	0.33	100
7. 수은	%	2			1.2	0.0	100
8. 카드뮴	%	2			9.0	0.0	100
9. 납	%	2			200	1.4	100
10. 비소	%	2			13	0.0	100
11. 크롬	%	2			30	9.0	100

그림 46 고품연료 성능평가

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

- 축산 슬러지로부터 신규 슬러지 분해 유용 미생물 동정
- 악취 저감 및 슬러지 분해 미생물 제제 상업용 생산 및 운전조건 표준 매뉴얼 제작
- 악취 저감 및 슬러지 분해 미생물 제제 배양 조건 및 배지 조성 최적화
- 악취 저감 및 슬러지 분해 미생물 제제 생리학적 특성 분석 및 성능 개선
- 슬러지 분해 시 가스 분석
- 폐유기성 슬러지 고속 분해 공정 운전 매뉴얼 작성
- 6 m³ 고속 슬러지 분해장치 제작
- 고성능 미생물 제제 시제품 생산
- 축산농가 현장에서 악취 저감 및 고속 슬러지 분해 실증
- 축산 바이오매스 고품연료화 테스트

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

-
- 고속 슬러지 분해장치 6 m³ scale-up
 - 미생물 제제 암모니아 저감율 98.5% 달성 (목표치: 90%)
 - 슬러지 분해 20일 내 부숙 완료 단계 달성 (목표치: 20일 내 부숙 중기 단계)
 - 고성능 미생물 제제 녹색기술/녹색기술제품 인증 및 시제품 생산 (생균수 9.7x10⁹ CFU/ml, 목표치: 생균수 CFU >1.0x10⁷)
 - 특허 출원 4건, 특허 등록 2건
 - 신규 약취 저감 미생물 제제 품종 등록 1건
 - 기술이전 2건 (기술료 35백만원)
 - 고성능 약취 저감 미생물 탈취제 및 슬러지 분해제 제품 개발 2건
 - 매출액 19.58백만원
 - 신규 고용 창출 2명
 - 녹색기술 인증 1건, 녹색기술제품 인증 2건, 환경표지 인증 1건
 - SCI 국제 논문 게재 4건 (평균 IF: 9.487)
 - 학술대회 발표 4건
 - 석박사 인력양성 4명
 - 언론 홍보 1건(조선비즈 등 18개 신문사), 기술 박람회 1건
-

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명	연도		1단계 (2021~2022)	가중치 (%)
	전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문(SCI)	목표(단계별)	3
실적(누적)			4	
논문평균IF		목표(단계별)	3	5
		실적(누적)	9.487	
특허 출원		목표(단계별)	2	5
		실적(누적)	4	
특허 등록		목표(단계별)	1	5
		실적(누적)	2	
SMART 등급		목표(단계별)	BB	5
		실적(누적)	IPET 확인 요망	
생명자원		목표(단계별)	-	-
		실적(누적)	1	
학술발표		목표(단계별)	3	5
		실적(누적)	4	
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	기술실시(이전)	목표(단계별)	1	10
		실적(누적)	2	
	기술료	목표(단계별)	20,000	5
		실적(누적)	35,000	
	제품화	목표(단계별)	2	10
		실적(누적)	2	
	매출액	목표(단계별)	10,000	5
		실적(누적)	19,580	
	고용창출	목표(단계별)	1	10
		실적(누적)	2	
	기술인증	목표(단계별)	1	10
		실적(누적)	4	
	교육지도	목표(단계별)	2	10
		실적(누적)	3	
	인력양성	목표(단계별)	2	10
		실적(누적)	4	
	홍보전시	목표(단계별)	1	5
		실적(누적)	2	
계				100

- * 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신제품 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.
- * 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

< 연구개발성과 성능지표(예시) >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치(달성) 1단계 (2021~2022)	목표설정 근거
			보유국/ 보유기관	성능수준	성능수준		
1 고속 슬러지 분해 장치 scale-up	m ³	30	국내/ 정읍샘골	95 (고속 발효 아님, 퇴비사에서 발효)	2	5 (5)	돈사 평균 사육두수 1000두 기준 슬러지 발생량의 20~ 60%를 처리할 수 있는 용량. 수요처 농장이 요구하는 수준임.
2 암모니아 저감	%	30	독일/BASF	>90	>80	>90 (98.5)	시중 판매 제품 중 최고 성능 수준
3 슬러지 분해 성능 개선	일	30	국내/ 우리네이처	<60일	<60	<20 (<20)	부숙중기 기준 (퇴비 부숙도 검사 배출 기준)
4 미생물 제제 시제품 생산	생균수 (CFU/ml)	10	국내/조달청 등록 제품	>1.0x10 ⁷	>1.0x10 ⁶	>1.0x10 ⁷ (9.7x10 ⁹)	현존 판매 제품 최고 수준

- * 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.
- * 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Modulation of Antioxidant Activity Enhances Photoautotrophic Cell Growth of Rhodobacter sphaeroides in Microbial Electrosynthesis	Energies	이유림	15	스위스	MDPI	SCIE	2022-01-27	1996-1073	80
2	Regulation of Reactive Oxygen Species Promotes Growth and Carotenoid Production Under Autotrophic Conditions in Rhodobacter sphaeroides	Frontiers in Microbiology	이유림	13	스위스	Frontiers	SCIE	2022-02-28	1664-302X	80
3	Valorization of CO2 to β-farnesene in Rhodobacter sphaeroides	Bioresource Technology	이상민	363	영국	Elsevier	SCIE	2022-09-14	0960-8524	80
4	Recent advances and challenges in the biotechnological upcycling of plastic wastes for constructing a circular bioeconomy	Chemical Engineering Journal	이상민	454	영국	Elsevier	SCIE	2022-11-21 (온라인)	1385-8947	80

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	KIER conference 2021	이상민	2021-12-21	한국에너지기술연구원	대한민국
2	2022년 한국미생물·생명공학회 국제학술대회 및 정기학술대회	이상민	2022-06-23	경주화백컨벤션센터	대한민국
3	2022 한국생물공학회 추계 학술발표대회 및 국제심포지엄	이상민	2022-09-29	제주신화월드	대한민국
4	KIER conference 2022	이상민	2022-12-16	대전컨벤션센터	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도
1	Alcaligenes aquatilis KIER-1	KCTC19056P	한국생명공학연구원 생물자원센터	2022

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	파네신을 생산하는 로도박터 스페로이데스 균주 및 이의 용도	대한민국	한국에너지 기술연구원	2021-11- 24	10-2021- 0163062				50	-
2	로도박터 스페로이데스의 형질전환체 및 형질전환방법	대한민국	한국에너지 기술연구원	2022-12- 22	10-2022- 0182016				50	-
3	미생물 탈취제 및 이의 제조방법	대한민국	농업회사법 인 카야시스템	2021-12- 08	10-2021- 0174563	농업회사법인 카야시스템	2022-07- 07	10-241991 8	100	0
4	슬러지 저감제 및 이의 제조방법	대한민국	농업회사법 인 카야시스템	2021-12- 08	10-2021- 0174564	농업회사법인 카야시스템	2022-10- 11	10-245389 2	100	0

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1	√			√						
2	√			√						
3	√									
4	√									

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		
1	녹색기술제품인증	중소벤처기업부	미생물 탈취제 (비티엑스피 BT-XP)	GTP-21-02440	2021-06-17	대한민국
2	녹색기술인증	중소벤처기업부	로도박터 등 유용 미생물을 이용한 슬러지 제거 및 약취 탈취 기술	GT-21-01169	2021-06-17	대한민국
3	녹색기술제품인증	중소벤처기업부	미생물 탈취제 (나토큐 환장)	GTP-21-02630	2021-10-14	대한민국
4	환경표지인증	한국환경산업기술원	비티 엑스피/미생물 탈취제	21361	2021-10-26	대한민국

□ 표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자
----	-----------------------	-----	---------------------	-------	-------------	--------------	--------------------------	-----	-----------	------

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	나토규 환장	2021-10-14	농업회사법인(유) 카야시스템	전북 정읍 카야시스템 공장	배합사료 원료용	2년	중소벤처 기업부	2021-10-14
2	비티엑스피 (BT-XP)	2021-06-17	농업회사법인(유) 카야시스템	전북 정읍 카야시스템 공장	농축산폐수 및 분뇨처리장, 쓰레기매립장, 오폐수처리장에서 발생된 불쾌한 냄새(악취)를 감소시키는 제품	2년	중소벤처 기업부	2021-06-17

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	통상실시권	악취 저감 미생물 제제 성능 및 안정성 향상을 위한 배양 노하우	농업회사법인(유)카야시스템	2021-12-21	15,000,000	15,000,000
2	통상실시권	다기능성 작물 생육 촉진제용 EM제제 성능 개선 및 대량 배양 노하우	좋은바이오	2022-12-28	20,000,000	20,000,000

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
----	------------	-------	-------	----	-----------

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자기실시	신제품 개발	국내	유용농생명 자원산업화 기술개발사업	유용 미생물을 이용한 악취 저감 및 슬러지 분해	농업회사법인(유) 카야시스템	19,580		2021-2022	5년

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
유용농생명자원산업화기술개발사업	2021	9,900		9,900	개발된 제품에 대한 매출액 증빙
유용농생명자원산업화기술개발사업	2022	9,680		9,680	개발된 제품에 대한 매출액 증빙
합계		19,580		19,580	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과		유용 미생물을 이용한 약취 저감 및 슬러지 분해 신제품 개발			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2년			
	소요예산(천원)	500,000			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		19,580	200,000	500,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	<1%	>3%
국외					
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		유용 미생물을 이용한 작물 생육 촉진제 신제품 개발			
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		19,580	200,000	500,000	
		수출			

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	2022년	
1	유용농생명자원산업화기술개발사업	농업회사법인(유)카야시스템	2		2
합계			2		2

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	1
		생산인력	1
	개발 후	연구인력	3
		생산인력	2

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	인력 양성	2021	2	2			2	2				4	
2	인력 양성	2022	1				1					1	

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원
1	에너지닥터 기술멘토링사업	기업 애로기술 자문 및 기술 지원	한국에너지기술연구원	5	40	3
2	융합혁신지원단 사업	환경 개선 EM 제제 성능 향상을 위한 시스템 최적화 기술 지원	한국에너지기술연구원	5	40	2
3	융합혁신지원단 사업	기업 애로기술 자문 및 기술 지원	한국에너지기술연구원	7	56	2

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙전문지	조선비즈, 연합뉴스, 한국경제, 해럴드경제 등 18개 신문사	축산분뇨 악취 해결 신기술 개발슬러지 분해 효율 3.6배 향상, 암모니아 99% 제거	2022-12-28

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	포스터 발표상	KIER conference 2021 우수 포스터 발표상	KIER conference 2021 우수 포스터 발표상	이상민	2021-12-28	한국에너지기술연구원
2	포스터 발표상	한국미생물생명공학회 국제학술대회 및 정기학술대회 포스터발표 장려상	한국미생물생명공학회 국제학술대회 및 정기학술대회 포스터발표 장려상	이상민	2022-06-24	사단법인 한국미생물생명공학회
3	포스터 발표상	KIER conference 2022 Poster 소통상	KIER conference 2022 Poster 소통상	이상민	2022-12-22	한국에너지기술연구원

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/연구장비명	규격(모델명)	개발여부(○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자(YY.MM.DD)	구축비용(천원)	비고(설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

--

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

--

국제 저서 발간

- Advances in Energy Research: 3rd Edition, Book chapter 기고 (과제 사사하였음). 농업용 유용 미생물인 홍색비황세균(Rhodobacter sphaeroides)의 고분자 함량 특성 분석에 대한 내용 기고 (2021-11-03)

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료 예시

성과유형	첨부자료 예시
연구논문	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함)
제품개발(시제품)	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화(상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상 (부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
기탁	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·종자 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 고속 슬러지 분해 장치 scale-up, 5 m ³	○ 고속 슬러지 분해 장치 scale-up 6 m ³	○ 100%
○ 암모니아 저감, >90%	○ 암모니아 저감, 98.5%	○ 100%
○ 슬러지 분해 성능 개선, <20일 (부숙중기)	○ 슬러지 분해 성능 개선, <20일 (부숙완료)	○ 100%
○ 미생물 제제 시제품 생산, 생균수 >1.0x10 ⁷ (CFU/ml)	○ 미생물 제제 시제품 생산, 생균수 9.7x10 ⁹ (CFU/ml)	○ 100%

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 목표치 100% 달성함

2) 자체 보완활동

- 해당 사항 없음

3) 연구개발 과정의 성실성

- COVID-19로 어려운 시국에도 참여 기관간의 적극적인 연구개발을 통해 정량적 기술 목표치를 100% 달성하였으며, 기술이전 2건을 포함하여 성과목표(사업화지표/연구기반지표)를 모두 달성하였음.

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

(단위 : 백만원, %)

총괄과제명	세부과제명	기관명	유형	총 연구개발비 (A)	정부지원 연구개발비 (B)	정부지원 연구개발비 비율 (C=B/A)	성과 유형	기술기여도	
								산정 근거	비율
왕겨를 이용한 약취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술 개발	왕겨를 이용한 약취 저감형 고속 폐유기성 슬러지 분해 기술 개발	한국에너지기술연구원	출연연 (비영리)	260	260	1.000	신규 기술개발	해당 없음	-
		(유)카야시스템	중소기업 (영리)	157	125	0.796	신규 기술개발	①-① 농업회사법인으로 해당 없음	-
계				417	385	-	-	-	-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 신규로 발굴한 *Alcaligenes aquatilis* KIER-1 미생물은 약취의 주원인물질인 암모니아를 효율적으로 제거할 수 있고, 슬러지 분해에도 긍정적인 효과가 있을 가능성이 매우 높음. 이에 향후 후속연구를 통해 단일 균주로서 약취저감 및 슬러지 분해 성능을 평가하고, 기존 EM제제와의 혼합 최적화를 통해 성능이 향상된 약취저감 및 슬러지 분해 유용 미생물 제제를 개발하고자 함.
- (제품화) 지속적인 실증 테스트를 통해 제품 완성도 향상
 - 본 사업을 통해 구축된 고속 폐유기성 슬러지 분해 장치를 활용하여 폐유기성 슬러지 일일 처리량 최적화, 약취저감 성능개선 테스트, 고속 슬러지분해 장치 연속운전 안정성 테스트, 분해산물의 품질 안정성 등 지속적인 테스트를 통해 전공정 및 제품의 안정성 향상
 - 본 사업 및 후속 연구개발을 통해 축적된 연구결과 및 경험을 바탕으로 홍보물을 제작하여 마케팅에 활용
 - 사전에 축산농가들로부터 축산 슬러지 처리 및 약취 문제에 대한 컨설팅을 수행하고 축산슬러지 발생량에 대한 월 단위 사전 모니터링을 통해 농가의 수요를 미리 파악하여 최종제품 규격 및 형태, 운영 방식 등에 적용하여 제품 개발
- (판로개척) 국내외 기술제휴를 통한 판매 확대와 전시회/박람회 참가 및 홍보
 - 국내외 농축산 관련 학회/전시회/박람회 참가를 통한 본 기술 홍보
 - 온·오프라인 판매망을 통해 동시 마케팅 진행
 - 조달청 등록(나라장터 쇼핑몰 등록) 판매망을 이용

- 녹색기술인증, 신기술인증 등 우수제품 인증으로 지자체와 수의계약을 통해 판매 추진
- 축산농가로부터 구매 의향서를 사전에 확보하여 판매처 개척
- 기존에 보유한 유통망을 활용한 판매 촉진
 - ① 축산 슬러지 발생 농가에 고속 슬러지분해 장치를 개별로 판매/설치하여 자체적으로 슬러지를 처리하는 방식을 먼저 추진
 - ② 장치 판매 이후에는 슬러지 분해 미생물 제제 판매로 지속적인 수익 창출
 - ③ 대형축산농가에 대해 슬러지 분해, 처리, 악취 저감, 미생물 제제 공급 등 종합적인 시스템 관리 형태로 연단위 계약

구분	관련사진	비고
유통망		- 기 보유하고 있는 전국 45지점 이상의 미생물 제제 납품 유통망을 활용하여 해당 제품을 홍보/교육하고 유통 확대
마케팅		- 기존의 자사 온라인 판매 쇼핑몰을 활용하여 (www.kayasystem.kr) 제품을 홍보하고 판매 실시 - 스마트폰 앱을 활용한 주문 방식 타진 - SNS를 활용한 제품 홍보

<표> 기술개발 후 주요 판매처 현황

판매처	국가 명	판매 단가 (천원)	예상 연간 판매량(개)	예상 판매기간(년)	예상 총판매금 (천원)	관련제품
대영가축약품	대한민국	80,000	5대	2024년	400,000	고속 슬러지분해 장치
청주가축약품	대한민국	80,000	5대	2024년	400,000	고속 슬러지분해 장치
피그월드농장	대한민국	80,000	1대	2024년	400,000	고속 슬러지분해 장치

○ 사업화를 위한 후속 투자계획

구분	(2023)년	(2024)년	(2025)년	(2026)년	(2027)년	(2028)년
사업화 제품명	고속슬러지 분해장치	고속슬러지 분해장치	슬러지저감 미생물 제제	악취저감 미생물 제제	악취저감/항균 미생물 제제	악취저감/항균 미생물 제제
투자계획(백만원)	80	100	50	50	60	60

○ 신규 미생물소재에 대해서는 아래의 사료관리법에 의거 미생물 보조사료로써 제품화도 추진하고자함.

- ‘농림축산식품부고시 제2022-55호, 사료 등의 기준 및 규격’에 의거 미생물 사료에 대해 고시함
- 제5조 보조사료의 범위 1항 7.미생물제

가. 유익균	락토바실러스 락티스, 락토바실러스 람노서스, 락토바실러스 루테리, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 사케이, 락토바실러스 살리바리우스, 락토바실러스 애시도필러스, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 커바투스, 락토바실러스 크리스파투스, 락토바실러스 파라카제이, 락토바실러스 퍼멘텀, 락토바실러스 페롤렌스, 락토바실러스 플라타렘, 락토바실러스 헬베티쿠스, 로돕슈도모나스 캡슐레이타, 바실러스 렌투스, 바실러스 리체니포미스, 바실러스 서브틸리스, 바실러스 세레우스[도요이에 한함], 바실러스 코아글란스, 바실러스 폴리퍼멘티쿠스, 바실러스 푸밀러스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤, 비피도박테리움 서모필럼, 비피도박테리움 슈도롱검, 비피도박테리움 인판티스, 엔테로코커스 락티스, 엔테로코커스 썬모필러스, 엔테로코커스 웨시엄, 웨이셀라 시바리아, 클로스트리디움 부티리컴, 페디오코커스 세레비시에, 페디오코커스 애시디락티시, 페디오코커스 펜토사세우스, 유익균 배양물
나. 유익곰팡이	모나스쿠스 퍼퓨리어스, 아스퍼질러스 나이거, 아스퍼질러스 오리제
다. 유익효모	맥주효모[사카로마이세스 세르비시에에 한 함], 양조효모[사카로마이세스 세르비시에에 한 함], 잔토필로마이세스 덴드로하우스, 제빵효모[사카로마이세스 세르비시에에 한 함], 조사건조효모, 토롤라효모, 피키아 파리노사, 효모배양물[유익효모의 배양물에 한 함]
라. 박테리오파지	대장균 박테리오파지, 살모넬라 갈리나룸 박테리오파지, 살모넬라 엔테라이티디스 박테리오파지, 살모넬라 티피뮤리움 박테리오파지, 클로스트리디움 퍼프린젠스 박테리오파지
마. 합제	유익균 합제, 유익곰팡이 합제, 유익효모 합제, 박테리오파지 합제, 미생물제 합제 [유익균부터 박테리오파지의 합제를 말함]

- 농림축산식품부령 제571호 사료관리법 시행규칙에 의거 보조사료의 제조업을 등록하려는 자는 사료제조업등록신청서에 시설개요서를 첨부하여 제조시설의 소재지를 관할하는 특별시장·광역시장·특별자치시장·도지사 또는 특별자치도지사(이하 “시·도지사”라 한다)에게 제출하여야 함. 이후 시·도지사가 해당 시설을 검사하고, 그 시설이 기준에 적합하면 사료제조업등록증을 발급받을 수 있음

- 제조업자 또는 수입업자가 법 제12조제1항 본문에 따라 사료의 성분등록을 하려는 경우에는 사료성분등록신청서에 다음 각 호의 서류를 첨부하여 시·도지사에게 제출하여야 함.

1. 사용한 원료의 명칭을 적은 서류
2. 원료배합비율표(배합사료의 경우에만 해당한다)
3. 사료의 제조공정 설명서

○ 본 사업을 통해 개발된 약취 저감 EM제제에 대해서는 다양한 조건에서의 축산농가에서 추가적인 약취 저감 효과 검증 실증연구가 필요함

- 계절별 돈사 약취 발생 빈도 및 EM제제 저감 테스트
- 슬러리 피트 내 슬러지 보관기간에 따른 약취 발생 빈도 및 EM제제 저감 테스트
- 돈사 사육규모 및 사육방식에 따른 약취 발생 빈도 및 EM제제 저감 테스트
- 퇴비사 내 부숙 기간에 따른 약취 발생 빈도 및 EM제제 저감 테스트

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2023	2024	2025	2026	2027
국외논문	SCIE	2				
	비SCIE					
국내논문	SCIE					
	비SCIE					
특허출원	국내	1				
	국외					
특허등록	국내	1				
	국외					
인력양성	학사					
	석사					
	박사					
사업화	시제품개발	1				
	상품출시	1				
	기술이전					
	공정개발	1				
	매출액(단위 : 천원)	10,000	20,000	30,000	30,000	30,000
	기술료(단위 : 천원)	1,000	2,000	3,000	3,000	3,000
비임상시험 실시						
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상				
		2상				
		3상				
	의료기기					
진료지침개발						
신의료기술개발						
성과홍보		1				
포상 및 수상실적		1				
정성적 성과 주요 내용						

참고문헌

- Haouas, C. El Modafar, A. Douira, S. Ibensouda-Koraichi, A. Filali-Maltouf, A. Moukhli, and S. Amir, "Alcaligenes aquatilis GTE53: Phosphate solubilising and bioremediation bacterium isolated from new biotope 'phosphate sludge enriched-compost,'" Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 28, no. 1, pp. 371-379, 2021.
- M. Ajaz, A. Rehman, Z. Khan, M. A. Nisar, and S. Hussain, "Degradation of azo dyes by alcaligenes aquatilis 3C and its potential use in the wastewater treatment," AMB Express, vol. 9, no. 1, 2019.
- Yalaoui-Guellal, S. Fella-Temzi, S. Djafri-Dib, S. K. Sahu, V. U. Irorere, I. M. Banat, and K. Madani, "The petroleum-degrading bacteria alcaligenes aquatilis strain YGD 2906 as a potential source of lipopeptide biosurfactant," Fuel, vol. 285, p. 119112, 2021.
- Y. Dong, Z. Guo, N. Guo, and T. Liu, "One-step removal of calcium, magnesium, and nickel in desalination by Alcaligenes aquatilis via Biomineralization," Crystals, vol. 9, no. 12, p. 633, 2019.
- Adebayo-Tayo and G. Adebami, "Production, characterization and effect of cultural condition on bioflocculant produced by Alcaligenes Aquatilis AP4," Journal of Applied Life Sciences International, vol. 14, no. 2, pp. 1-12, 2017.
- X. Cao, B. Zhao, Y. Wu, J. Huang, H. Wang, X. Sun, and S. Li, "Characterization of alcaligenes aquatilis as a novel member of heterotrophic nitrifier-aerobic denitrifier and its performance in treating piggery wastewater," Bioresource Technology, vol. 354, p. 127176, 2022.

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.