

11-154300
0-0022139
-01

발간등록번호

11-1543000-002139-01

가공계분을 이용한 유기질비료개발 최종보고서
농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및

첨단생산기술개발사업 R&D Report

2018

농림축산식품부

농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료개발 최종보고서

2018. 03. 16.

주관연구기관 / 호성오앤비(주)
협동연구기관 / 목원대학교
(주)판코리아

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기
질비료개발”(개발기간 : 2016. 09. ~ 2017. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 02. 14.

주관연구기관명 : 효성오앤비(주)

(대표자) 박 태 현 (인)



협동연구기관명 : 목원대학교 산학협력단 (대표자) 고 대 식 (인)



참 여 기 관 명 : (주)판코리아

(대표자) 이 중 진 (인)



주관연구책임자 : 김영선

협동연구책임자 : 이효진

참여기관책임자 : 이종진

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	116063-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.01.01.~ 2017.12.31.	단 계 구 분	2/2
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	첨단생산기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료개발			
연구책임자	김영선	해당단계 참 여 연구원 수	총: 17명 내부: 17명 외부: 0명	해당단계 연 구 개 발 비	정부: 150,000천원 민간: 50,000천원 계: 20,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 17명 내부: 17명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 200,000천원 민간: 66,667천원 계: 266,667천원
연구기관명 및 소속부서명	효성오앤비(주)/친환경농업연구소			참여기업명	목원대학교 (주)판코리아
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
요약				보고서 면수 : 203페이지	
<ol style="list-style-type: none"> 1. 1협동기관인 목원대학교에서는 계분발효공정을 개선할 수 있는 미생물을 4종 선발하여 대량배양조건을 구축하였고, 미세캡슐화하여 계분발효에 적용시 계분발효 및 공정개선에 기여하였다. 2. 주관연구기관인 효성오앤비(주)는 목원대학교로부터 선정된 미생물을 대량배양기를 이용하여 배양하였고, 제형화하여 고상미생물제제로 제형화 하였고, 계분발효 시 미생물의 처리 시약 70% 이상의 암모니아가스 발생을 감소시켰다. 계분발효용 수분조질제(탄소원)는 암모니아가스 발생이 가장 적고, 발효효과가 우수한 피트모스를 선정하였고, 약취개선을 위해 부식산과 미생물을 처리하여 가공계분을 생산하였다. 미생물처리 시 발효기간과 암모니아 발생량이 각각 15%와 50% 이상 감소하였다. 20%의 가공계분을 포함하는 유기질비료를 개발하였다. 3. 2협동기관인 (주)판코리아는 목원대학교에서 개발된 미생물제제와 효성오앤비(주)에서 개발된 가공계분 및 유기질비료의 비료학적 특성을 평가하였다. 미생물제제는 유효균주가 비료공정규격에 적합하지 않아 등록이 불가하였다. 가공계분과 유기질비료는 비료공정규격에 적합하여 비료로 등록이 가능하였고, 최적 시비량은 250 kg/10a로 기비처리가 요구되었다. 					

국문 요약문

		코드번호	D-01																											
연구의 목적 및 내용	1. 연구목적: 농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료개발 2. 연구내용 1) 계분 적용 발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화 기술 개발 - 계분 발효촉진 미생물 선발, 대량배양 최적조건 구축, 미세캡슐제형화, 미생물 캡슐제의 생균력 평가, 가공계분의 미생물학적 품질평가 2) 계분발효용 미생물을 이용한 가공계분 및 유기질비료개발 - 선발미생물의 제형화, 가공계분 최적 배합원료 및 배합비율 설정, 가공계분 생산을 위한 최적 발효조건 및 방법 설정, 미생물제제 및 미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 기능성 가공계분 개발, 가공계분을 이용한 친환경 유기질비료 개발 및 등록 3) 가공계분 친환경 비료의 품질 평가 및 시비체계 설정 - 선발미생물, 가공계분, 유기질비료의 비료학적 평가 및 최적시비량 결정																													
연구개발성과	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">항목</th> <th style="width: 20%;">목표</th> <th style="width: 20%;">실적</th> <th style="width: 20%;">달성도(%)</th> <th style="width: 20%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>국내학술논문</td> <td style="text-align: center;">4</td> <td>4건 게재완료</td> <td style="text-align: center;">100</td> <td></td> </tr> <tr> <td>학술발표</td> <td style="text-align: center;">6</td> <td>2016년 1건 2017년 5건</td> <td style="text-align: center;">100</td> <td></td> </tr> <tr> <td>특허출원</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td>특허출원 1건</td> <td style="text-align: center;">100</td> <td></td> </tr> <tr> <td>제품등록</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td>가공계분 1건 유기질비료 2건</td> <td style="text-align: center;">150</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					항목	목표	실적	달성도(%)		국내학술논문	4	4건 게재완료	100		학술발표	6	2016년 1건 2017년 5건	100		특허출원	1	특허출원 1건	100		제품등록	2	가공계분 1건 유기질비료 2건	150	
항목	목표	실적	달성도(%)																											
국내학술논문	4	4건 게재완료	100																											
학술발표	6	2016년 1건 2017년 5건	100																											
특허출원	1	특허출원 1건	100																											
제품등록	2	가공계분 1건 유기질비료 2건	150																											
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	1. 활용계획 - 계분 적용 발효 미생물을 이용한 계분 발효공정 개선(악취저감) - 미세캡슐형 미생물제를 이용한 국내산 가공계분 생산 - 생산된 가공계분을 이용한 유기질비료 생산 판매 2. 기대효과 - 계분 발효형 미생물제제를 이용하여 축산농가에서 발생하는 악취저감 및 환경 개선 - 미세캡슐형 미생물제를 처리하여 가공계분의 생산기술 향상 - 수입에 의존해오던 가공계분 원료를 자체적으로 생산함으로써 친환경 유기농업의 양분균형 수지를 맞출 수 있을 것으로 기대됨. - 국내산 가공계분을 활용하여 고품질 유기질비료를 생산함으로써 생산비 절감 효과가 기대됨. - 농가에서 고품질의 유기질비료를 이용함으로써 작물의 생산량 증대 및 품질 향상으로 농가 소득에 기여할 것으로 판단됨.																													
중심어 (5개 이내)	계분발효	발효공정개선	미생물 미세캡슐화	유기질비료	악취개선																									

< SUMMARY >

	코드번호	D-02																				
Purpose& Contents	<p>1. Purpose: Development of advanced fermentation process of poultry manure by agricultural microbes and of organic fertilizer with fermented poultry manure</p> <p>2. Content</p> <p>1) Encapsulation of microbes prompting composting of poultry manure</p> <ul style="list-style-type: none"> - Screening and selection of microbes prompting composting of poultry manure(MPCPM), investigation of medium condition of MPCPM in plant scale, encapsulation of MPCPM, investigation of viable cell activity for MPCPM, microbiological quality of fermented poultry manure (FPM) <p>2) Development of FPM by MPCPM and organic fertilizer containing FPM</p> <ul style="list-style-type: none"> - Formulation of MPCPM, selection of materials and its ratio for producing FPM, establishment of composting condition to produce FPM, improvement of composting process by suppling MPCPM and of producing FPM, development of eco-friendly organic fertilizer containing FPM <p>3) Establishing application method of eco-friendly organic fertilizer containing FPM</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluation of plant growth or damage by application of MPCPM or FPM, investigation of optimum amount for application organic fertilizer containing FPM 																					
Results	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Item</th> <th style="width: 20%;">Plan</th> <th style="width: 20%;">Result</th> <th style="width: 30%;">Percentage(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Article (Non-SCI)</td> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">100</td> </tr> <tr> <td>Symposium (poster)</td> <td style="text-align: center;">6</td> <td style="text-align: center;">6</td> <td style="text-align: center;">100</td> </tr> <tr> <td>Patent</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">100</td> </tr> <tr> <td>Products</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> <td style="text-align: center;">150</td> </tr> </tbody> </table>		Item	Plan	Result	Percentage(%)	Article (Non-SCI)	4	4	100	Symposium (poster)	6	6	100	Patent	1	1	100	Products	2	3	150
Item	Plan	Result	Percentage(%)																			
Article (Non-SCI)	4	4	100																			
Symposium (poster)	6	6	100																			
Patent	1	1	100																			
Products	2	3	150																			
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> - Improvement of composting process of livestock by microbes encapsuled - Establishment of producing condition of FPM and production of organic fertilizer with FPM - Decreasing cost producing organic fertilizer by replacing foreign materials with FPM - Increasing a crop production and farm products quality by application for organic fertilizer containing FPM 																					
Keywords	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%;">Composting of poultry manure</td> <td style="width: 25%;">Improvement of composting process by microbes</td> <td style="width: 25%;">Encapsulation of microbes</td> <td style="width: 25%;">Organic fertilizer</td> <td style="width: 20%;">Decreasing odor during composting</td> </tr> </table>		Composting of poultry manure	Improvement of composting process by microbes	Encapsulation of microbes	Organic fertilizer	Decreasing odor during composting															
Composting of poultry manure	Improvement of composting process by microbes	Encapsulation of microbes	Organic fertilizer	Decreasing odor during composting																		

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	4
3. 연구수행 내용 및 결과	6
제 1 장 계분발효용 미생물을 이용한 가공계분 및 유기질비료 개발	6
제 2 장 계분 적용 발효촉진 미생물제의 미세캡슐제형과 기술 개발	91
제 3 장 개발비료의 품질평가 및 시비체계 설정	157
제 4 장 연구성과와 결과 및 종합결론	182
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	186
5. 연구결과의 활용계획 등	190
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	191
7. 연구개발성과의 보안등급	191
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	191
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	191
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	192
11. 기타사항	192
12. 참고문헌	192

〈별첨〉 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1-1. 연구개발 목적

- 계분발효공정을 개선하기 위해 농업환경미생물을 처리하고, 수분조절제(탄소원)를 선정하며, 부식산을 처리하여 가공계분을 생산하고, 이를 이용하여 유기질비료를 생산하고자 함.

1-2. 연구개발의 필요성

가. 국내 가축 사육의 변화

- 국내 육류소비의 증가로 소, 돼지 및 가금류의 사육두수가 증가하고 있음.
- 최근 6년간 소, 돼지 및 닭의 사육두수 변화를 조사한 결과, 소의 사육두수는 2015년까지 감소하였으나 2016년 이후 증가하였고, 돼지의 사육두수는 거의 비슷하였으나 서서히 증가하는 경향을 보였으며, 2015년 닭의 사육두수는 1억 4500만 마리에서 1억 6000만 마리로 약 10% 증가하였음(통계청발표자료, 2016).
- 계란과 유계를 생산하는 전업축산농가가 지속적으로 증가되면서 이에 수반되는 양계장 주변의 악취, 수질 오염 등의 환경문제가 심각하게 대두되고 있음.

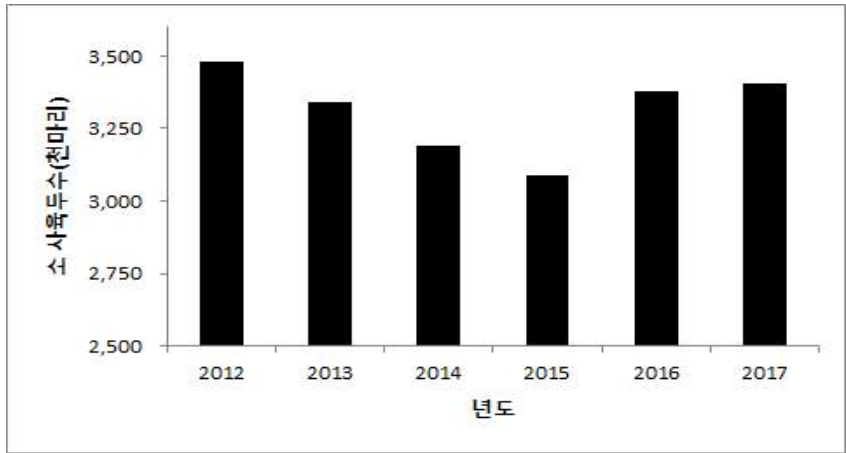


그림 1. 최근 6년간 소 사육두수의 변화.

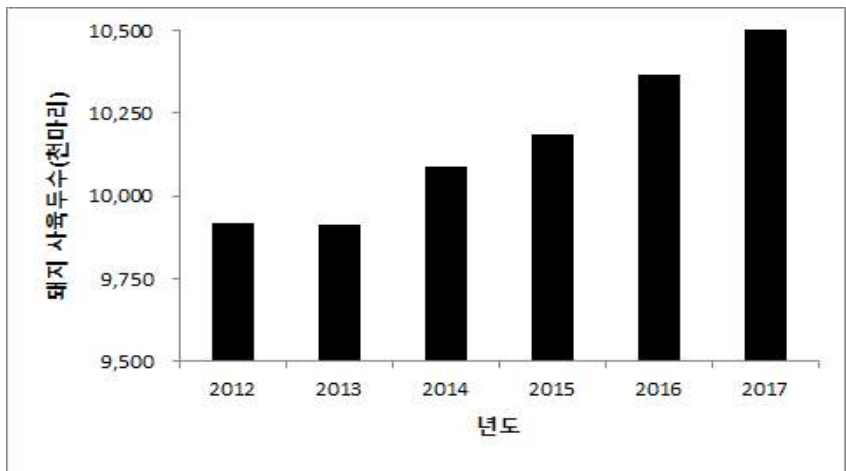


그림 2. 최근 6년간 돼지 사육두수의 변화.

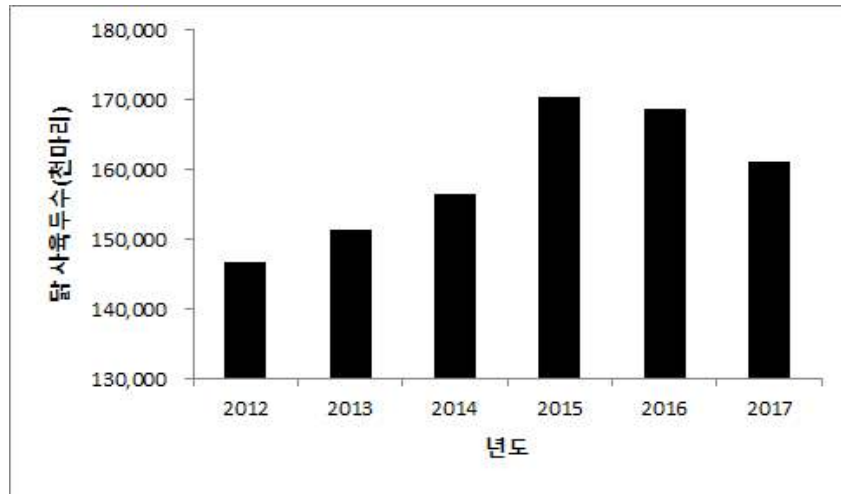


그림 3. 최근 6년간 닭 사육두수의 변화.

나. 국내 계분 생산량 및 활용

- 최근 6년간 국내 닭의 사육 두수에 비례하여 계분 발생량은 증가하였고, 2017년 현재 15,000 톤/년 정도의 계분이 발생함.
- 2016년 이후 2015년 보다 감소하는 경향을 나타내었고 이는 조류인플루엔자 (AI)의 발생으로 살처분된 가금류가 증가하였기 때문으로 판단됨.

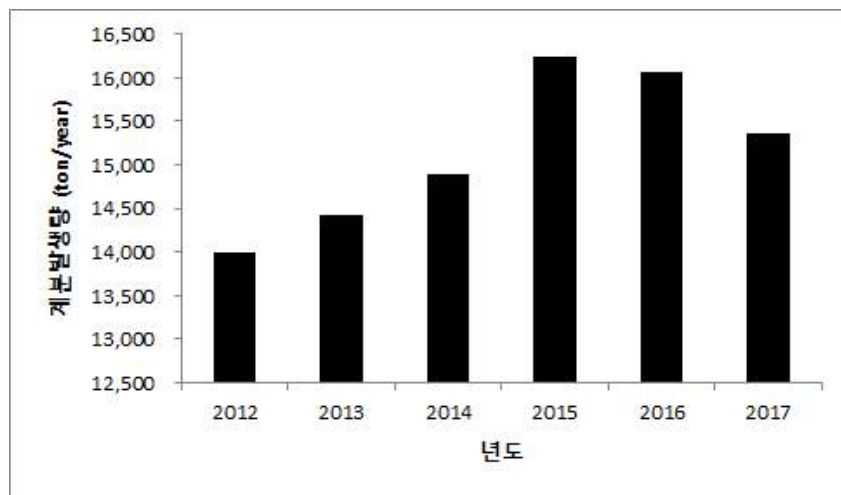


그림 4. 최근 6년간 계분발생량 변화

- 전업양계농가는 지속적으로 증가하여 계분 발생 또한 지속적으로 증가될 것으로 판단되어 계분을 친환경적으로 처리하고 재활용할 수 있는 연구가 필요함.
- 양계농가에서 발생한 계분은 부산물비료의 원료로 사용되고 있고, 발효되지 않은 계분은 가축분퇴비나 퇴비원료로 사용이 가능하고, 발효과정을 거친 가공계분은 유기질비료의 원료로 사용이 가능함.

다. 계분발효의 문제점

- 계분을 친환경 농업에 이용하기 위해서는 가공계분으로 발효하여 유기질비료의 원료로 이용하는 것이 가장 효율적이나 끈적한 오물감과 냄새로 취급하기가 쉽지 않으며 유기물의 부패에 의해 악취와 해충을 발생시킴.
- 계분발효과정에서 발생하는 대표적인 악취물질로는 암모니아, 황화수소 및 유기성 가스 등이 알려져 있다. 이들 악취물질은 가축의 만성적 질병발생 원인이 되며, 대기 환경적 측면에서 독성물질로 분류되어 산업 환경유해물질로 관리되고 있음.
- 계분발효과정에서 암모니아가스나 황화합물과 같은 악취물질은 사업장의 작업환경을 불량하게 할 뿐 아니라 황화물질 등이 산화되면서 시설을 부식시키고, 주변지역으로 확산되어 주민들의 민원이 끊임없이 발생하고 있음.
- 이를 해결하기 위해 계분 퇴비화 시설에 악취개선 시설을 설치 운용되고 있으나 처리효율이 떨어지고, 유지비용이 많이 필요함.

라. 퇴비화 시설의 악취개선기술

- 퇴비화 시설이나 축산현장에서 발생하는 악취를 저감하기 위한 방안으로 물리적 방법, 화학적 방법 및 생물학적 방법 등이 이용되고 있음.
- 물리적 방법은 배기시설에 최종 바이오필터를 설치하여 악취성분을 흡착 및 여과하거나(NCSU, 1997), 냉각 회수법을 이용한 악취물질을 제거하는 방법(USDA, 1998)이고, 화학적 방법은 과망간산칼륨(KMnO₄)이나 과산화수소(H₂O₂) 및 오존과 같은 산화제를 이용하는 방법임.
- 생물학적 방법은 악취성분을 분해하거나 영양원으로 이용하는 미생물을 선발, 배양하여 가축분뇨의 발효과정에서 처리함으로써 악취를 제거하는 기술을 말함.
- 물리적 방법이나 화학적 방법으로 악취를 제거하는 방법들은 현실적으로 경제성 또는 안전성 등의 문제가 남아 있어 실제 농가의 축산현장에서는 적용하기 어렵다는 단점을 가지고 있음.
- 생물학적 처리방법은 물리적 방법이나 화학적 방법에 비해 처리효율은 다소 낮으나 미생물의 유지비용이 물리적 방법보다 적고, 퇴비에 대한 안정성이 증가한다는 장점이 있음.

마. 국내 가공계분의 활용 및 기술개발의 필요성

- 수입에 의존하고 있는 가공계분은 국내에서 발생하는 계분을 발효공정을 통해 가공계분으로 가공하기 위해서는 발효공정 기술개발이 선결되어야함.
- 가공계분 공정의 생물학적 방법에 주로 이용되는 발효 미생물은 계분의 특성을 파악해서 계분 적용 미생물을 발굴할 필요가 있음
- 계분발효과정(60일 이상) 중 급격한 환경변화(고온, 과습, 건조, pH, 산소 부족 등)로 공급된 미생물체의 생균력이 저하되어 활성능력이 감소되어 미생물학적 효과가 미미한 경우가 발생할 수 있으므로 미생물을 이용한 계분의 발효공정방법 개선이 필요함.

- 계분발효과정 중에 공급된 미생물 생균제가 원만하게 정착하여 발효촉진 및 악취개선 효과를 효율적으로 작용하기 위해서는 미생물 생균제를 캡슐화하여 장시간 발효과정 중 서서히 방출되도록 하는 미세캡슐 제형화 기술이 절실히 필요함.
- 국내에서 계분을 농자재로 이용할 수 있는 비료공정규격은 부숙유기질비료 중 가축분 퇴비와 가공계분으로, 특히 가공계분은 다시 유기질비료의 원료로 사용이 가능함.
- 국내에서 이용하는 가공계분은 대부분 외국에서 생산된 가공계분을 수입하여 사용하고 있으며, 그 이용은 점차 증가하고 있음.
- 국내 계분 발생량이 점차 증가함에 따라 계분의 친환경적 처리에 대한 기대감과 가공계분 생산에 대한 관심이 증가하고 있으나 이에 대한 연구는 거의 이뤄지지 않음.

1-3. 연구개발 범위

가. 1차년도

○ 연구개발 내용 및 범위

- 주관연구기관 1(효성오앤비 (주)) : 가공계분 생산을 위한 배합원료선발, 선발미생물의 제형화 및 처리에 의한 계분발효 특성 평가
- 협동연구기관 1(목원대학교) : 계분발효촉진 우수미생물선발, 계분발효촉진 미생물의 대량배양 최적조건 구축
- 협동연구기관 2(주 판코리아) : 국내 가공계분의 특성 및 선발미생물의 작물안전성 평가

나. 2차년도

○ 연구개발 내용 및 범위

- 주관연구기관 1(효성오앤비 (주)) : 미생물을 이용한 계분발효공정 개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료 개발 및 등록
- 협동연구기관 1(목원대학교) : 계분발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화, 계분발효촉진 미생물 캡슐제의 생균력 평가, 가공계분의 미생물학적 품질평가
- 협동연구기관 2(주 판코리아) : 가공계분 유기질비료의 시비 체계 설정

2. 국내외 기술개발 현황

	코드번호	D-04
○ 기술현황		
◇ 계분은 질소함량이 매우 높아 퇴비화 과정에서 질소가 변화하여 다량의 암모니아가스를 배출하는 질소 손실량이 높은 퇴비원료이므로 밀짚이나 제지슬러지 등과 같이 탄소 성분이 높은 원자재와 혼합하여 발효할 때, 계분퇴비의 품질이 향상됨.		
◇ 잠재적 질소함량이 높은 계분을 퇴비화 할 때, 마그네슘이나 인산염 등과 함께 혼합하면 질소의 잔류량이 증가하여 암모니아 발생이 약 40~84% 감소함.		
◇ 계분의 퇴비화 과정 중 amylase, invertase, cellulase, phosphatase, protease의 활성화는 발효가 시작된 후 9~43일 사이에 증가하며, 이 기간 계분퇴비의 발효온도는 60~80℃의 범위를 유지하고 있음.		

- ◇ 계분을 이용하여 퇴비가 완료되기까지의 기간은 약 24~30주 정도의 시간이 소요되며, 부숙이 완료된 퇴비에서 pH는 알칼리성을 나타내고, 무기태 질소는 감소하지만 유기태 질소는 증가하며, 유기물은 26.3%이고, C/N율은 16.2 정도를 나타냄.
- ◇ 계분의 퇴비화 과정에서 EM을 처리하였을 때, C/N율과 수분함량이 감소하여 탄소의 소비가 증가함.
- ◇ 중국에서는 발효된 계분과 돈분을 가축용 사료로 사용하고 있으며, 가축용 사료로 사용되는 발효돈분과 발효계분에서 이산화질소(N₂O) 발생량은 322Gg으로 중국 전체배출량의 56%를 차지함.
- ◇ 미국에서는 발효된 계분을 작물생육용 비료나 토양개량제로 사용할 뿐 아니라 중금속 오염된 지역의 중금속을 안정화하여 복원하는데 사용하고 있고, 특히 식물을 이용한 토양복원 기술인 phytoremediation의 활성제로 사용하고 있음.

○ 시장현황

- ◇ 2018년 기준 지역별 시장의 크기는 현재도 가장 큰 시장을 형성하고 있는 아태지역이 710억 달러 수준으로 북남미를 합한 640억 달러보다 클 것으로 예상됨.
- ◇ 중국, 인도 등의 아시아지역에서도 수요증대가 예측되고, 유럽은 북미의 1/3수준인 120억 달러 정도가 될 것으로 보이며 연평균성장률도 1.7%에 그칠 전망이다.
- ◇ 시장구조는 아태지역이 42% 수준을 계속 유지하고 미주지역이 32% 정도를 차지할 것으로 예상되며, 지역별 비료시장에서 눈에 띄는 부분은 남미의 비료수요 증가가 상대적으로 빨라 17.4%의 비중을 차지할 전망이다.

○ 경쟁기관현황

- ◇ 계분을 발효가공하여 작물생육 및 토양개량용 비료의 원료로 이용하고 있고, 제형화를 통해 유기질비료 및 유기농업 등에 이용하고 있음.
- ◇ 유럽(네덜란드, 이탈리아 등)과 일본 등에서 생산된 가공계분은 국내에 수입되어 유기질비료나 유기농업자재 등으로 판매됨.

○ 지식재산권현황

- ◇ 계분발효를 위한 공정에 대한 특허는 등록되어 있으나 대부분 유효기간이 만료되어 일반적으로 이용하는 공통기술로 사용되고 있음.
- ◇ 계분의 발효공정 개선을 위해 첨가제, 미생물 및 발효효소 등을 이용하고 있음.

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

제 1 장 계분발효용 미생물을 이용한 가공계분 및 유기질비료 개발(효성오앤비(주))

제 1 절 선발미생물의 제형화 및 미생물 특성 평가

1. 미생물의 제형화

가. 액상제형

(1) 안정제 선발

(가) 시험목적

액상제형에서 미생물의 발효에 의해 가스가 발생하여 미생물제제의 변성을 방지하는 제제를 선발하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험에 사용된 미생물은 목원대학교에서 선발한 *Geobacillus caldoxyllosilyticus* 6JCJ-1, *Geobacillus kaustophilus* P11, *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6을 혼합한 미생물 배양액이었다. 미생물의 활성을 안정화시키기 위해 시험에 사용된 안정제는 Sodium benzoate, sodium propionate, potassium sorbate, sodium-EDTA, methyl paraben, resorcinol를 이용하였다.

② 시험방법

Sodium benzoate, potassium sorbate, sodium-EDTA, sodium propionate, methyl paraben, resorcinol을 미생물 배양액에 0.1%, 0.5%, 1.0%, 3.0%, 5% 씩 혼합 한 후, 필름을 이용하여 용기의 입구를 밀봉하고 54℃에서 14일간 보관하였을 때, 필름이 부풀어 오르는 정도를 달관조사하여 가스발생여부를 평가하였다.

(다) 결과

미생물 또는 대사산물 액비의 경우 시간이 경과함에 따라 미생물에 의한 대사 또는 내부물질의 변성 및 분해로 인하여 가스가 발생하게 된다. 이러한 변성 및 분해를 방지하기 위하여 액비 제조 시 방부제 또는 단백질 킬레이트제를 이용하여 효소의 작용을 억제함으로써 미생물에 의한 대사를 억제하는 방법이 사용된다. 미생물 혼합 배양액을 액상으로 제형화하기 위해 안정제 종류 및 함량에 따른 미생물 배양액의 가스발생 양상을 측정한 결과 sodium benzoate, potassium sorbate 및 resorcinol 3종을 3% 이상 첨가하였을 때 가스발생이 없는 것으로 확인하였다. 자사 제품에서 안정제로 사용하던 sodium-EDTA와 방부제로 널리 사용되는 methyl paraben이 낮은 농도에서 효과가 있을 것으로 기대하였으나, 5% 처리구에서도 안정제 효과는 미미한 것으로 확인하였다(표 1).

표 1. 안정제 종류 별 미생물 배양액 가스 발생여부

함량(%)	안정제종류						
	Sodium benzoate	Potassium sorbate	Sodium Propionate	Sodium -EDTA	Methyl paraben	Resocinol	Cotnrol
0.1	++	++	++	++	++	++	++
0.5	++	++	++	++	++	++	
1.0	+	++	++	++	++	+	
3.0	-	-	++	++	++	-	
5.0	-	-	-	+	++	-	

++: 필름이 심하게 부풀어 오름. +: 필름이 약간 부풀어 오름. -: 부풀어 오르지 않음.

(라) 결론

미생물 배양액의 품질유지를 위해 선발된 안정제는 sodium benzoate=resocinol≥potassium sorbate>sodium propionate>sodium-EDTA≥methyl paraben으로 나타났으며, 최종선발된 안정제는 potassium sorbate이었고, 투입량은 3%였다.

(2) 동결방지제 선발

(가) 시험목적

액상제형에서 저온기(동결기)에 미생물제제가 동결되는 것을 막기 위해 동결방지제를 선발하기 위해 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험에 사용된 미생물은 목원대학교 미생물생태자원연구소가 2016년에 선발한 3종의 기능성미생물들인 *G. caldoxyllosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophius* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6을 혼합한 미생물 배양액이었다. 동결방지제는 일반적으로 미생물제제나 생활용품에서 동결방지제로 많이 이용하고 있는 ethylene glycol과 propylene glycol을 이용하였다.

② 시험방법

Ethylene glycol이나 propylene glycol을 미생물 배양액에 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%씩 혼합 한 후 -5℃, -10℃ 및 -13℃에서 4시간정도 보관한 후 동결여부를 조사하였다.

(다) 결과

미생물 배양액에 동결방지제를 첨가하였을 때, -5℃에서는 ethylene glycol 및 propylene glycol 모두 동결되지 않았으며, -10℃에서는 ethylene glycol은 4% 이상, propylene glycol은 6% 이상에서 동결되지 않았다. -13℃에서는 동결방지제 10% 이하로 첨가한 처리구 모두에서 동결되었다. 결과적으로 propylene glycol 보다는 ethylene glycol이 동결방지 효과가 좀 더 우수한 것으로 확인되었다.

표 2. 동결방지제 함량에 따른 미생물 배양액의 동결 여부

종류	온도 (°C)	동결방지제 함량(%)*										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Ethylene glycol	-5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	-10	o	o	o	x	x	x	x	x	x	x	x
	-13	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Propylene glycol	-5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	-10	o	o	o	o	o	x	x	x	x	x	x
	-13	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

* o : 동결, x : 비동결.

(라) 결론

미생물 배양액을 액상으로 제형화하는 경우 저온 시 동결을 방지하기 위해 두 종의 동결방지제의 혼합에 따른 미생물 배양액의 변화(동결여부)로 선발된 동결방지제는 ethylene glycol 이고, 함량은 4%이었다.

(3) 미생물제제 안정화

(가) 시험목적

약취개선 효과가 있는 부식산과 미생물을 혼합 후 보관에 따른 미생물제제의 안정성을 평가하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험에 사용한 부식산은 갈탄으로부터 알칼리로 추출하여 중화시킨 부식산을 이용하였다. 미생물 배양액은 목원대학교가 2016년에 선발한 3종의 기능성미생물을 혼합한 배양액을 이용하였다.

② 시험방법

부식산과 미생물배양액을 부피비 1:1로 혼합하여 25°C 항온기에서 보관하면서 성상의 변화를 확인하였다. 성상의 변화가 나타난 시기에 사진을 촬영하고 이 시기에 미생물의 생균수를 측정하였다. 미생물의 생균수를 측정하기 위해 멸균수를 이용하여 희석하고, 희석액의 100μL를 LB나 NB배지에 도말하여 60°C의 미생물 배양기에 48 시간 정치 후 콜로니 수를 측정하였다.

(3) 결과

선행연구에서 암모니아가스의 발생을 감소시키는 것으로 부식산과 미생물시험을 수행한 결과 미생물과 부식산을 1:1로 혼합하였을 때 효과가 우수한 것으로 조사되어 본 연구에서도 부식산과 3종의 미생물을 혼합하여 제형을 조사하였다.

부식산과 미생물 배양액을 혼합한 액상 미생물제제의 보관기간에 따른 제제의 안전성 평가 결과, 모든 액상 미생물제제는 gel화 되어 원래의 제형에서 변형되었다. 이는 부식산(humic acid)이 미생물 배양액과 반응하여 gel화 되는 것으로 판단되었다. 또한 7일 경과 후 이용액에

서의 미생물 생균수를 조사한 결과 5.4×10^6 cfu/mL에서 3.6×10^5 cfu/mL으로 1/10 이상 감소하였다. 이는 부식산을 분해하고 중화하는 과정에서 다량의 염이 함유되어 있어 삼투압작용에 의해 배양액 중 미생물이 사멸하는 것으로 추정된다.

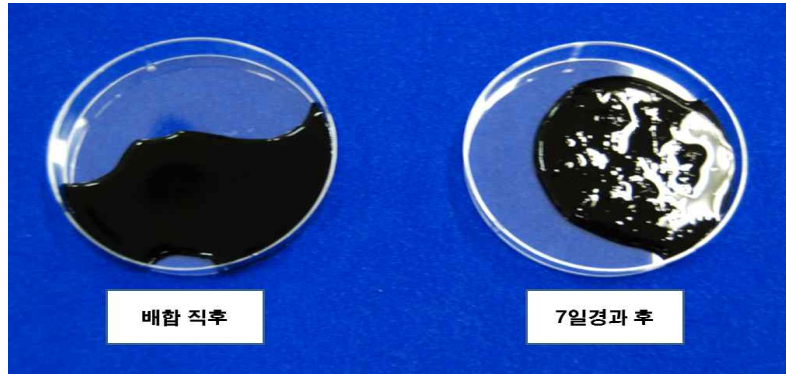


그림 1. 액상 미생물제제의 시간경과에 따른 성상의 변화.

(라) 결론

액상제형에서 악취개선에 효과가 있는 부식산을 미생물의 담체 및 안정제로 사용하고자 하여 부식산과 미생물 배양액을 혼합한 결과, 7일 경과 후 혼합액에서 gel화 현상이 발견되었고, 미생물의 생균수도 1/10 수준으로 감소하였다. 이 결과를 고려할 때, 부식산은 미생물의 액상제형화에 적합하지 않았다.

(4) 액상 미생물제제의 생균수 변화

(가) 시험목적

선발된 안정제와 동결방지제를 혼합한 액상미생물제제의 특성, 안정성 및 유효기간을 조사하기 위해 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험을 위해 *G. caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophius* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6을 혼합한 미생물 배양액(미생물 혼합배양액), 안정제(PS; potassium sorbate) 및 동결방지제(EG; ethylene glycol)를 이용하였으며, 미생물 혼합배양액 93%, 안정제 3%, 동결방지제 4%를 혼합하여 액상제형을 제조하였다.

② 시험방법

액상 미생물제형의 안정성을 조사하기 위해 ‘농약 및 원제의 등록기준’ 중 미생물농약의 분석기준 시험방법에 준하여 실시하였고, 30°C에서 18주 동안 보관하는 방법으로 액상 미생물제제의 안정성 및 유효기간을 평가하였다. 처리구는 대조구(미생물 혼합배양액 처리구)와 액상 미생물제제 처리구로 설정하였고, 제제의 미생물 생균수는 멸균수를 이용하여 희석하고, 희석액의 100 μL를 LB나 NB배지에 도말하여 60°C의 미생물 배양기에 48 시간 정치 후 콜로니 수를 측정하였다. 제제의 미생물 생균수는 7일 간격으로 수행하였다.

(다) 결과

액상 미생물제제의 안정성 및 유효성(유효기간)을 조사하기 위해 제제의 생균수를 측정한 결과는 표 3과 같다. 액상 미생물제제의 유효균주의 생균수는 0일차에 10⁶ cfu/mL을 나타내었으나 7일경과 후 10⁵ cfu/mL, 14일 경과 후 10³ cfu/mL을 나타내어 2주 만에 1/1000 수준으로 감소하였고, 21일에는 희석된 용액에서 검출되지 않았다. 미생물안정성시험(미생물학대시험)은 공정시험법에는 18주간 진행되는 것으로 되어 있으나 2주경과 후 감소폭이 크게 나타나 유효기간을 보증할 수 없어 더 이상의 시험은 진행하지 않았다.

표 3. 액상제형 미생물제제의 보관 기간에 따른 미생물 생균수 변화

구분	미생물 생균수 (cfu/mL)			
	0일차	7일차	14일차	21일차
대조구	6.8 × 10 ⁶	4.8 × 10 ⁵	0.9 × 10 ³	-
액상 미생물제제	5.4 × 10 ⁶	4.2 × 10 ⁵	1.1 × 10 ³	-
t-test	NS	NS	NS	NS

*미생물제제의 보관조건 : 30℃, 정지

(라) 결론

액상 미생물제제의 안정성 및 유효성(유효기간)을 조사한 결과, 유효균주의 감소폭이 크게 나타나 미생물제형으로 적합하지 않았다. 이 결과를 통해 약취개선용 미생물제제는 액상제형으로 제형화할 수 없음을 확인하였다.

나. 고상제형

(1) 고상 미생물제제의 특성

(가) 시험목적

고상 미생물제제를 제형화하고 제제의 특성을 파악하여 최적 제형을 선정하고, 최종제형의 경제성을 분석하기 위해 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 시험재료

미생물을 고상으로 제형화하기 위해 효성오앤비(주)의 미생물제제 제형을 응용하여 활용하였다. 고상제형화를 위해 목원대학교에서 최종 선발된 5종의 미생물을 미세캡슐화된 미생물 캡슐제, 부식산 분말, 증량제(벤토나이트, 부남광산; 카올린, 부남광산) 및 계면활성제(NX-250L, 코실)를 이용하였다.

② 시험방법

미생물제제를 고상으로 제형화하기 위해 미세캡슐화된 미생물균체를 목원대학교로부터 공여받아 이용하였다. 미생물의 고상제형 각 원료별 배합비율은 표 4와 같다. 고상제형 1, 2, 3의 특성은 현수성과 비중을 조사하였고, 이 결과를 바탕으로 경제성을 분석하였다.

표 4. 고상 미생물제제의 배합비

구분	원료별 배합비율 (%)					합계
	부식산분말	미생물균체*	화이트카본	벤토나이트	계면활성제	
제형 1	3	1	1	93	2	100
제형 2	3	1	1	90	5	100
제형 3	3	1	1	85	10	100

*미생물균체는 목원대학교로부터 미세캡슐화된 미생물을 이용함.

(다) 결과

고상 미생물제제를 제형화한 형태는 그림 2와 같다.



그림 2. 고상 미생물제제(왼쪽부터 제형 1, 제형 2, 제형 3).

수화성은 미생물제제가 물과 혼합되는 정도를 조사한 것으로 수화성이 빠를수록 물과 쉽게 혼합되는 것을 의미하며 계면활성제의 함량에 따라 다르게 나타난다. 각 제형별 수화성은 계면활성제 2% 처리구에서 640초로 가장 늦었고, 5%와 10% 처리구에서 각각 31초와 33초로 비슷한 결과를 보였다. 수화성으로 평가할 때, 고상 미생물제제에서 계면활성제의 적정 함량은 약 5%로 판단되었다.

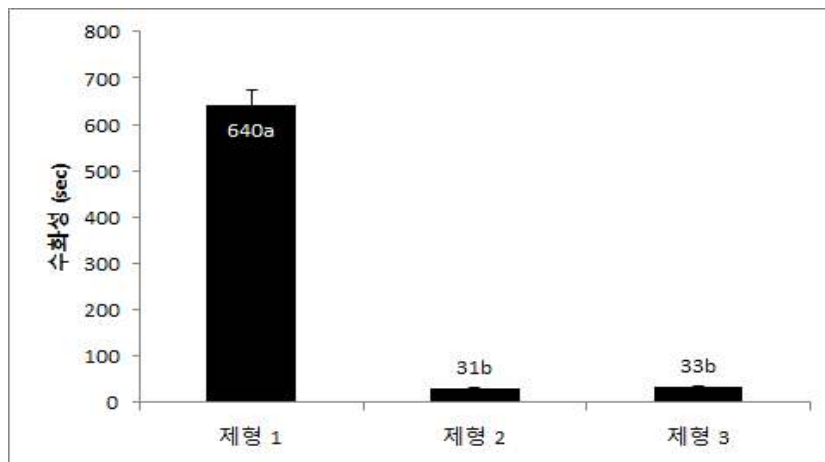


그림 3. 수화제 중 계면활성제 함량에 따른 수화성의 변화.

고상 미생물제제의 제형별 비중을 측정한 결과 0.41~0.44 g/cm³로 계면활성제 함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다(표 5). 이는 증량제에 비해 계면활성제의 비중이 상대적으로 낮아 제제의 비중에 미치는 영향이 적었기 때문으로 판단된다.

표 5. 계면활성제 비율 별 미생물제제(수화제)의 제형별 비중

구분	비중 (g/cm ³)	비고(계면활성제 비율)
제형 1	0.44 a*	2%
제형 2	0.42 a	5%
제형 3	0.41 a	10%

*던컨다중검정($P < 0.05$)

수화성과 비중을 기준으로 평가할 때, 고상 미생물제제의 제형으로서 제형 2를 최종 선정하였고, 제형 2 미생물제제의 생산원가는 842.1 원/kg으로 조사되었다(표 6).

표 6. 고상 미생물제제의 생산원가

원료	원료가격(원/kg)	투입비율(%)	생산원가(원/kg)
부식산	773	3	23.2
미생물	368	1	3.7
화이트카본	3,800	1	38.0
벤토나이트	616	90	554.4
계면활성제	4,455	5	222.8
합계	-	100	842.1

(라) 결론

고상 미생물제제의 최적 제형을 평가하기 위해 제형별 특성을 조사한 결과, 비중은 처리구별 유의차가 없었고, 수화성은 계면활성제를 5% 이상 혼합하는 경우 유사한 특성을 보였다. 미생물제제의 비중과 수화성을 고려하여 최종 제형으로서 계면활성제를 5% 정도 포함하는 제형 2를 선정하였고, 미생물제제 제형 2의 생산원가는 842.1 원/kg으로 나타났다.

(2) 고상 미생물제제의 생균수 변화

(가) 시험목적

제형화된 고상 미생물제제의 안정성 및 유효기간을 평가하기 위해 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

고상 미생물제제에서 시제품 3종의 제형을 시험에 이용하였다.

② 시험방법

고상 미생물제제의 안정성을 조사하기 위해 ‘농약 및 원제의 등록기준’ 중 미생물농약의 분석기준에서 학대시험방법에 준하여 실시하였고, 30℃에서 18주 동안 보관하는 방법을 통해 액상 미생물제제의 안정성 및 유효기간을 평가하였다. 고상 미생물제제의 미생물 생균수는 멸균수를 이용하여 희석하고, 희석액의 100 μL를 LB나 NB배지에 도말하여 60℃의 미생물 배양기에 48 시간 정치 후 콜로니 수를 측정하였다. 제제의 미생물 생균수는 1주, 2주, 3주, 4주, 8주, 12주, 16주, 18주에 시료를 채취하여 조사하였다.

(다) 결과

고상 미생물제제의 안정성 및 유효성(유효기간)을 조사하기 위해 제제의 생균수를 측정한 결과는 그림 4와 같다. 액상 미생물제제의 유효균주의 생균수는 0일차에 10⁸ cfu/mL을 나타내었으나 18주후에는 10⁷ cfu/mL을 나타내어 미생물제제를 10⁶ cfu/mL으로 보정하는 경우 미생물제제의 유효기간은 1년으로 보증할 수 있었다. 시험기간 동안 제형간의 미생물 생균수의 차이는 다소 있었으나 통계적 유의차를 나타내지 않았다.

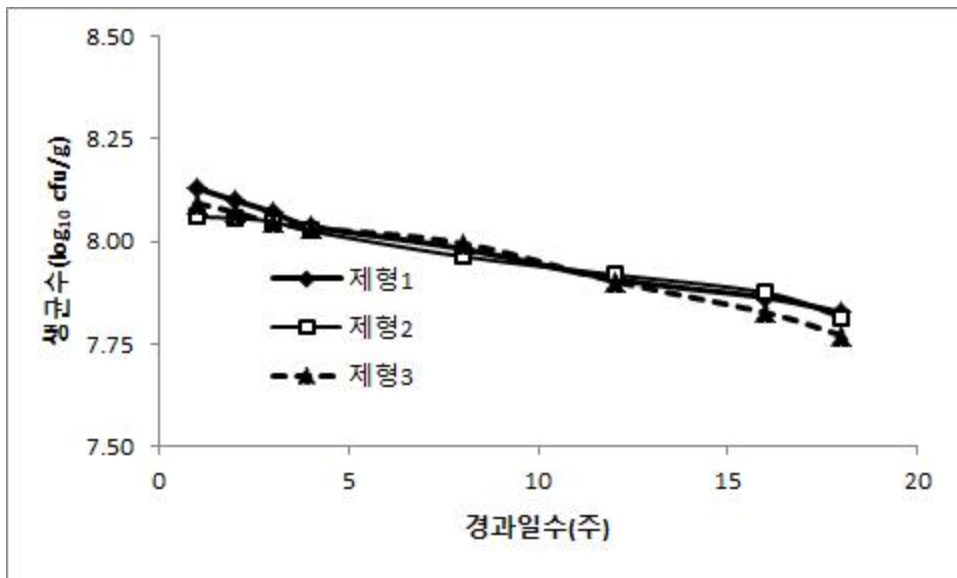


그림 4. 고상 미생물제제의 보관 기간에 따른 미생물 생균수 변화.

*미생물제제의 보관조건 : 30℃, 정치

(라) 결론

고상 미생물제제의 유효균주의 생균수를 조사한 결과 18주 동안 10⁷ cfu/mL 정도를 유지하여 10⁶ cfu/mL로 보정하는 경우 1년 동안 보증할 수 있었다. 따라서 고상 미생물제제는 악취 개선용 미생물제제로서 적절한 제형으로 평가되었고, 수화성과 비중을 고려하는 경우 제형 2가 고상 미생물제제로서 적합하였다.

(3) 고상 미생물제제의 생균수 변화

(가) 시험목적

고상 미생물제제의 보관방법에 따른 유효균주의 변화를 평가하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 시험재료

고상 미생물제제의 시제품 중 최종 선발한 제형 2를 대상으로 시험에 이용하였다.

② 시험방법

고상 미생물제제의 보관 시 환경에 따른 유효미생물의 변화를 확인하기 처리별 생균수를 조사하였다. 온도에 따른 유효미생물의 변화를 조사하기 위해 실온(25℃)을 기준으로 하여 10℃ 높은 온도를 고온(35℃)으로 10℃ 낮은 온도를 저온(15℃)에 보관하면서 유효균주의 변화를 조사하였다. 습도에 따른 유효미생물의 변화를 조사하기 위해 실온(25℃)에서 상대습도 30%와 70%로 설정된 배양기에 보관하면서 유효균주의 변화를 조사하였다. 고상 미생물제제의 미생물 생균수는 멸균수를 이용하여 희석하고, 희석액의 100 μL를 LB나 NB배지에 도말하여 60℃의 미생물 배양기에 48 시간 정치 후 콜로니 수를 측정하였다. 제제의 미생물 생균수는 4주간격으로 시료를 채취하여 총 6회 조사하였다.

(다) 결과

① 온도의 차이에 따른 생균수의 변화

고상 미생물제제의 보관온도별 생균수의 변화는 그림 5와 같다. 15℃, 25℃, 35℃에서 미생물제제의 생균수는 시간의 경과에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였고, 보관온도에 따른 차이는 없었다. 24주경과 후 미생물의 생균수는 10⁶ cfu/g 이상의 수준을 나타내어 미생물제제의 미생물생균수를 10⁶ cfu/g 로 보정하는 경우 1년 정도 보관이 가능할 것으로 판단되었다.

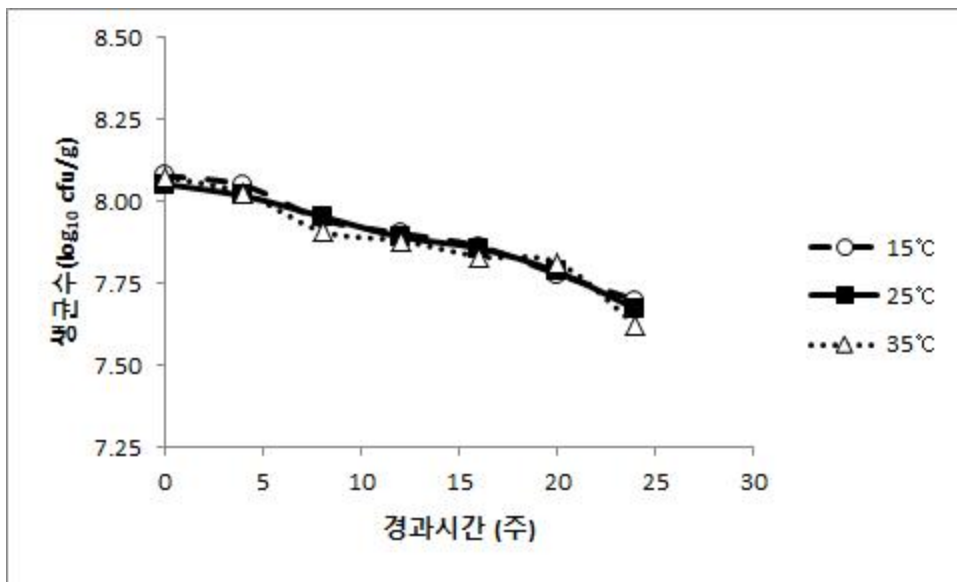


그림 5. 고상 미생물제제의 보관 온도별 미생물 생균수 변화.

② 습도의 차이에 따른 생균수의 변화

습도의 차이에 따른 미생물제제의 유효균주의 변화를 확인하였다(그림 6). 일반적으로 미생물제제 제품을 보관하는 경우 밀봉하여 보관하나 밀봉하는 경우 습도에 영향을 주지 않으므로 용기를 개봉한 후 습도의 변화에 따른 미생물의 생균수를 조사하였다. 온도에서의 변화와 마찬가지로

가지로 시간의 경과에 따라 서서히 감소하였고, 상대습도 70% 처리구에서 미생물의 감소가 크게 나타났다. 24주경과 후 미생물의 생균수는 10^6 cfu/g 이상의 수준을 나타내어 미생물제제의 생균수를 10^6 cfu/g 로 보정하는 경우 1년 정도 보관이 가능할 것으로 판단되었다.

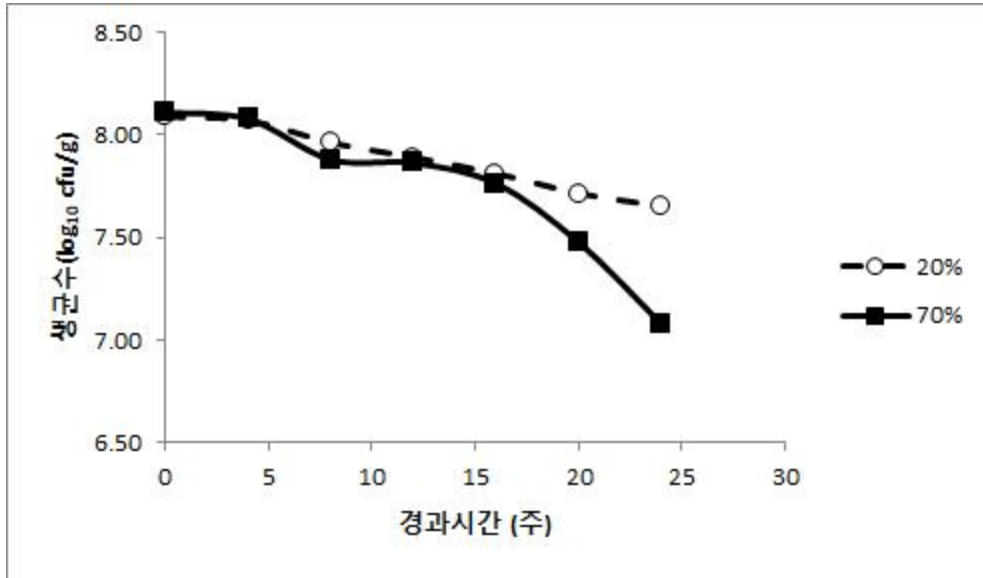


그림 6. 고상 미생물제제의 보관 온도별 미생물 생균수 변화.

(라) 결론

고상 미생물제제의 보관방법에 따른 유효균주의 변화를 평가하고자 시험을 수행한 결과, 미생물제제는 시간의 경과에 따라 생균수가 감소하고, 온도에서는 큰 차이를 나타내지 않았으나 개봉 후 습도가 높은 상태에서 보관하는 경우 생균수의 감소가 크게 나타났다. 그러나 실제로 미생물의 제제의 보관은 밀봉된 상태에서 보관되므로 습도에 따른 영향은 적을 것으로 판단된다.

(4) 고상 미생물제제의 사용방안

(가) 시험목적

약취개선용 고상 미생물제제의 사용방안을 평가하여 적절한 사용방법을 결정하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험에 이용한 고상 미생물제제는 제형 2를 이용하여 시험에 이용하였다.

② 시험방법

고상 미생물제제를 사용방법에 따른 적절 사용법을 평가하기 위해 분말을 직접 계분과 혼합하는 방법, 동력분무기에 넣고 고상으로 살포하는 방법, 물로 희석하여 액상으로 살포하는 방법으로 시험을 진행하였다. 각 시험에 따른 방법은 정량적인 미생물의 추적이 어려워 달관조사를 통해 결과를 확인하였다.

(다) 결과

고상 미생물제제의 적절한 사용을 위해 사용방법에 따른 효과를 조사하였다. 계분과 혼합하는 방법은 미생물제제가 골고루 혼합하는데 어려움이 있어 소량의 시험에서는 가능할 수 있으나 대용량의 처리에서는 불가능하였으며, 혼합 시 소량이 침부되기 때문에 약취개선효과는 미미하였다. 고상 미생물제제를 동력분무기로 살포하는 방법은 직접 혼합을 하는 것보다는 사용이 용이하였으나 미생물제제의 증량제가 비산되면서 시야를 막고, 호흡기에 영향을 줄 수 있어 작업자에게 피해를 줄 수 있었다. 고상 미생물제제를 액상으로 희석하여 사용하는 경우 계분에 초기 수분이 증가한다는 단점이 있으나 적은 양으로도 약취개선효과가 우수하였으며, 기존의 약취개선시설을 이용할 수 있는 장점이 있었다. 세 가지 방법을 비교한 결과, 미생물제제는 물과 희석하여 액상으로 처리하는 것이 적절한 것으로 판단되었다.

(라) 결론

고상 미생물제제의 적절한 사용을 위해 계분과 혼합하는 방법, 동력분무기를 이용해 살포하는 방법 및 액상으로 희석하여 살포하는 방법 등을 비교한 결과 액상으로 희석하여 살포하는 방법이 가장 효율적이었고, 적용확대가 가능하였다.

다. 미생물의 대량배양조건 확립 및 활용방안

(1) 시험목적

선발된 계분발효공정 미생물을 계분발효과정에 사용하기 위해 pilot 배양(100 L)으로 선정된 배지조건이 plant 배양조건(1,000 L)에 적절성을 평가하고, 배양 미생물의 계분발효 및 가축분 퇴비화에 활용하기 위한 방안을 모색하고자 시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 연구는 2017년 5월 효성오앤비(주) 안성공장에서 시행하였다. 미생물은 목원대학교에서 공여받은 5종의 기능성미생물인 *G. caldoxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophilus* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6, *Brevibacillus* sp. ATB1111 및 *Bacillus paralicheniformis* CE103을 이용하였다.

(나) 시험방법

미생물의 배양조건은 목원대학교에서 설정한 pilot의 대량배양조건으로 효성오앤비(주) 안성공장에서 수행하였다. 각 미생물별 대량배양배지조건은 표 7과 같다. 미생물배양은 500 L배양액에 목원대학교에서 각 미생물들의 권장한 최적 농도를 접종하였으며, 1,000 L 대량배양기에서 배양을 수행하였다. 미생물의 배양조건은 50~60℃에서 96시간동안 120 rpm으로 배양하였다. 배양기간 동안 12시간 간격으로 시료를 총 8회 채취하여 생균수를 조사하였다.

배양된 미생물은 수거하여 각 미생물배양액을 동일한 부피로 혼합하였고, 혼합배양액과 수돗물은 1:4로 혼합하여 5배 희석액을 분무액으로 준비하여 효성오앤비(주) 안성공장의 가축분퇴비 제조공장에 분무시설을 이용하여 30초간 살포하였고, 살포 전과 후의 대기 중 암모니아 농도를 측정하였다. 암모니아 농도는 휴대용 암모니아측정기(SA-M201, RS코리아)를 이용하여 측정하였다.

표 7. 선발된 기능성미생물별 대량배양배지조건

구분	<i>P. fimeticola</i> 6JPJ-6	<i>G. caldxylosilyticus</i> 6JCJ-1	<i>G. kaustophilus</i> P11	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB111	<i>B. paralicheniformis</i> CE103
배지원	밀기울	쌀겨	밀기울	쌀겨	쌀겨
탄소원	Cellulose	Sucrose	Starch	Mannitol	Mannitol
질소원	Yeast extract	Yeast extract	Yeast extract	Yeast extract	Malt extract
무기염	K ₂ HPO ₄	K ₂ HPO ₄	K ₂ HPO ₄	-	-

(다) 결과

선발된 기능성 미생물의 대량배양조건에서의 생균수의 변화는 표 8과 같다. 4종의 미생물은 실험실 규모의 pilot 실험에서보다 적은 생균수를 보였다. 미생물별 최대 생균수를 나타내는 시간은 *P. fimeticola* 6JPJ-6, *G. caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophilus* P11, *Brevibacillus* sp. ATB111 및 *B. paralicheniformis* CE103은 각각 84시간, 72시간, 60시간 60시간 및 72시간으로 조사되었고, 미생물 생균수가 10⁶ cfu/mL 이상을 나타내는 배양시간은 84시간까지 가능하여 계분발효공정에 이용할 수 있는 최적배양시간은 72시간에서 84시간으로 판단되었다.

배양된 미생물 혼합액을 가축분퇴비공장의 미생물분무시설을 통해 처리하였다. 암모니아 농도는 미생물처리 전에 약 143 ppm을 나타내었고, 분무 후 약 5분이 경과한 후에 측정하였을 때, 40 ppm으로 약 72%정도 암모니아가스발생이 감소하였다. 이는 선행연구에서 미생물처리에 의한 암모니아가스 감소효과(약 60%)보다 약 10%정도 높았다. 하지만 10~15분이 경과한 후에는 103~132 ppm을 나타내어 미생물을 15분 간격으로 살포하는 것이 적절하였다. 미생물의 분무시간은 30초 이상 실시하는 경우 퇴비의 수분함량이 높아 퇴비의 품질이 감소하였다.

표 8. 선발된 기능성미생물별 대량배양배지조건에서의 생육

시간 (hr)	<i>P. fimeticola</i> 6JPJ-6	<i>G. caldxylosilyticus</i> 6JCJ-1	<i>G. kaustophilus</i> P11	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB111	<i>B. paralicheniformis</i> CE103
	(cfu/mL)				
12	2.3×10 ³	2.1×10 ³	7.4×10 ³	3.8×10 ³	4.4×10 ³
24	3.1×10 ⁴	4.1×10 ⁴	5.9×10 ⁴	4.9×10 ⁴	5.2×10 ⁴
36	1.5×10 ⁵	1.2×10 ⁵	1.4×10 ⁶	2.5×10 ⁵	3.5×10 ⁵
48	3.3×10 ⁵	4.9×10 ⁵	1.5×10 ⁷	8.9×10 ⁵	5.9×10 ⁵
60	1.2×10 ⁶	9.6×10 ⁵	4.6×10 ⁷	2.2×10 ⁶	1.2×10 ⁶
72	4.1×10 ⁶	1.2×10 ⁶	4.4×10 ⁷	2.1×10 ⁶	3.1×10 ⁶
84	4.8×10 ⁶	1.1×10 ⁶	4.5×10 ⁷	1.8×10 ⁶	2.8×10 ⁶
96	3.9×10 ⁶	8.9×10 ⁵	3.2×10 ⁷	1.9×10 ⁵	8.9×10 ⁵

협동기관인 목원대학교에서 제시한 *P. fimeticola* 6JPJ-6, *G. caldoxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophilus* P11, *Brevibacillus* sp. ATB111 및 *B. paralicheniformis* CE103의 대량배지의 단가는 각각 72.65원/L, 52.69원/L, 24.75원/L, 48.838원/L, 50.115원/L로 나타나 *P. fimeticola* 6JPJ-6의 배지가격이 가장 높게 조사되었다. 5개의 미생물을 동일한 부피로 혼합하여 살포하므로 처리되는 미생물의 배지가격은 평균값인 49.80원/L으로 나타났다. 배양액 1 L를 살포할 때, 가축분퇴비는 약 4,000 kg을 생산할 수 있어 가축분퇴비 1 kg을 생산하는데 소요되는 미생물배지의 가격은 0.012원이었다.

(라) 결론

선발된 4종의 계분발효공정 미생물의 대량배양과 활용방안에 대해 조사하고자 수행된 시험 결과는 다음과 같다. 계분발효공정 미생물의 최적 배양시간은 72시간이었고, 생균수는 약 10^6 cfu/mL이었다. 배양된 미생물을 가축분퇴비 시설에 처리한 직 후, 암모니아가스는 72% 감소하였고, 처리주기는 약 15분 간격이었다.

제 2 절 계분발효를 통한 배합 원료 선발 및 악취개선 효과 검정

1. 계분발효 원료 및 미생물처리에 의한 악취개선효과

가. 계분발효 중 발생 가스 모니터링 및 지표가스 성분 결정

(1) 시험목적

계분의 발효과정에서 발생하는 가스를 모니터링 후 지표가스 성분을 결정하여 이후 악취개선 효과 검정에 활용하고자 하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 시험은 효성오앤비(주) 안성공장의 원료보관실에서 수행하였으며, 공시재료는 산란계농장에서 수급된 생계분을 이용하여 조사하였다.

(나) 시험방법

계분 중 악취를 유발하고, 인체에 해를 미치는 성분을 모니터링하기 위해 산업안전보건법 시행규칙 별표 11의 5에 명시된 “작업환경측정 대상 유해인자”를 대상으로 법적 검토를 실시하였고, 그 중에서 현장에서 영향을 줄 수 있는 인자로서 분진, 암모니아, 소음 및 황화수소를 선정하였다. 현장에서의 유해인자 측정은 (주)정보제일산업보건연구소에 의뢰하여 수행하였다.

(3) 결과

(가) 법률적 검토

사람이 느끼는 악취는 방향족 물질을 포함하는 경우가 모두 포함되므로 계분발효과정에서 발생할 수 있는 악취에 관한 연구는 산업안전보건법을 근거로 측정 범위를 한정하여 수행하였다. 산업안전보건법 시행규칙 별표 11의 5에서 작업환경측정 대상 유해인자는 화학적 인자, 물리적 인자, 분진 및 그 밖의 고용노동부 장관이 정하여 고시하는 인체에 해로운 유해인자로 제시하였다. 화학적 인자는 유기화합물류 113종, 금속류 23종, 산 및 알칼리류 17종, 가스 상

태 물질 류 15종 및 시행령 허가 대상 유해물질 12종이 이에 해당한다. 계분발효 시 영향을 줄 수 있는 화학적 인자는 가스 상태 물질류 중에서 암모니아와 황화수소 2종이었다. 물리적 인자는 소음과 고열 2종이었고, 계분발효에 영향을 주는 인자는 기계 소음이었다. 분진은 광물 성분진, 곡물분진, 면분진, 나무분진, 용접 흄, 유리섬유, 석면분진 등이었고, 계분발효과정에서 톱밥이나 수피 및 피트 류 등을 사용함으로 나무분진이 조사항목에 포함되었다. 법률적 검토를 통해 계분발효에서 발생하는 가스의 지표성분으로 화학적인자의 암모니아, 황화수소, 소음 및 나무분진에 대해 선정하였다.

(나) 계분발효 현장의 작업환경측정 대상 유해인자 모니터링

계분의 발효 현장에서 발생하는 가스 및 유해인자를 분석한 결과 분진, 암모니아 및 소음은 각각 0.187 mg/m³, 1.157 ppm, 63.9 db로 측정되었고, 황화수소는 검출되지 않았다(표 9). 측정된 분진, 암모니아 및 소음은 기준보다 낮게 검출되거나 노출되었다. 계분발효과정에서 발생하는 지수로서 소음은 기계에 의한 요소이므로 계분발효의 요소라 할 수 없었고, 분진과 암모니아 중에서 계분의 발효에 의해 직접적인 영향을 미치는 요인 중 노출 지수가 높은 것은 암모니아로 판단되어 이후의 시험에서는 계분발효 시 유해인자로서 암모니아를 대상으로 시험을 진행하였다.

표 9. 계분발효 현장의 가스 및 유해인자 분석

구분	측정값	노출기준	측정방법
분진(mg/m ³)	0.187	1	고체채취법/IC법
암모니아(ppm)	1.157	25	여과채취법/중량분석법
소음(db)	63.9	80	소음노출량계
황화수소(ppm)	불검출	10	고체채취법

(4) 결론

계분의 발효과정에서 발생하는 가스 중 지표성분을 결정하여 악취개선 효과 검토에 활용하고자 지표성분의 법률적으로 검토하고, 모니터링 결과는 다음과 같다. 법률적 검토에서 화학적 인자의 암모니아와 황화수소, 물리적 인자에서 소음, 분진에서는 나무분진이 선택되었고, 작업 현장에서 모니터링 결과 기준이하로 안전하였다. 이들 항목 중 계분발효과정에서 지표성분으로 활용이 가능한 항목은 암모니아로 이것은 작업장의 악취뿐 아니라 작업자에게도 영향을 줄 수 있는 유해인자로 판단되었다.

2. 계분발효 원료의 수분조절제 종류별 암모니아가스 발생시험

가. 시험목적

계분발효 원료 중 수분조절제의 종류에 따른 계분의 암모니아가스 발생여부를 조사하여 수분조절제별 악취개선효과를 평가하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 공시재료

본 연구는 2016년 10월 효성오앤비(주) 친환경농업연구소에서 수행되었다. 시험에 사용된 계분은 산란계 농장에서 수급된 계분을 사용하였고, 수분조절제로서 톱밥, 피트모스 및 코코피트를 사용하였다. 암모니아가스 측정용 발효챔버는 18 L의 플라스틱 밀폐용기를 이용하였다. 발효챔버의 하단으로부터 3 cm 높이에 공기투입구를 설치하였고, 공기투입구를 통해 투입된 공기가 잘 분산될 수 있도록 내부에는 2 inch PVC관을 이용하여 공기 분산구멍(직경 5 mm, 구멍간격 3 cm)을 뚫어주었고, 그 위에 한냉사를 덮어 계분이 공기구멍을 막지 않도록 하였다. 발효챔버 상층부에는 공기배출구를 설치하였고, 암모니아수기용기에 연결하였다(그림 7). 공기투입구에는 밸브를 설치하여 공기배출량을 조절할 수 있도록 하였다. 공기의 공급은 compressor를 이용하였다.

암모니아 수기용액으로는 4% 붕산용액을 이용하였고, 수기된 용액의 암모니아를 조사를 위해 지시약으로서 1% bromo cresol green용액(BCG)과 혼합지시약 용액 (0.125% methyl red + 0.0825% methylene blue; MIR)을, 적정 용액은 0.1N H₂SO₄용액을 이용하였다.

(2) 시험방법

수분조절제 종류에 따른 계분과 수분조절제의 혼합은 중량비를 8:2로 골고루 혼합하여 준비하였다. 각 처리구별 혼합비율은 표 10과 같다. 발효챔버에 혼합된 원료 6 kg을 넣고, 밀봉한 후 하단부에서 밸브를 조절하여 공기 투입량을 3 L/min 으로 일정하게 조절하였고, 6시간 간격으로 15분씩(4회/일) 공급하였다. 계분의 발효과정 중 발생한 암모니아가스의 조사는 시험 시작 후 3일 동안 수기된 암모니아가스를 포집하여 측정하였다. 암모니아가스 수집용기에 4% 붕산용액을 500 mL 넣어 발생한 암모니아가스를 포집하였다.

암모니아가스 수집용기를 분리한 후 지시약을 BCG 1 mL과 MIR 10 mL을 첨가한 후 0.1N H₂SO₄용액으로 적정하여 발효챔버로부터 발생한 암모니아가스의 총량을 측정하였다. 통계분석은 SPSS를 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값의 유의차를 검정하였다.



그림 7. 암모니아가스 측정용 발효챔버의 제작.

표 10. 처리구별 혼합비율

처리구	계분 (중량%)	수분조절제* (중량%)	비고
계분+ 톱밥	80	20	관행구(PSC)
계분+ 피트모스	80	20	피트모스 처리구(PPC)
계분+ 코코피트	80	20	코코피트 처리구(PCC)

*수분조절제는 톱밥, 피트모스 및 코코피트를 사용하였다.

다. 결과

계분발효과정 중 수집된 암모니아가스는 처리구별로 22~145 mg/kg이 검출되었고, 암모니아가스 발생량은 계분+ 톱밥>계분+ 코코피트 처리구>계분+ 피트모스 처리구 순으로 조사되었다 (그림 8). 톱밥에 비해 피트모스나 코코피트 처리구에서 암모니아 발생이 감소한 것은 피트모스나 코코피트가 톱밥에 비해 양이온치환용량이 높아 발생하는 암모니아의 흡착능력과 수분보유능력(함수율)이 우수하여 암모니아를 용해시켰기 때문으로 판단되었다.

계분의 배합원료에서 발생하는 암모니아 흡착능력은 그림 8에서 제시된 바와 같이 계분+ 코코피트 처리구나 계분피트모스 처리구의 전기전도도가 증가하는 결과와 일치하며, 과량의 암모니아를 흡착한 경우 암모니아 발생량은 계분+ 톱밥 처리구와 유사할 것으로 판단된다.

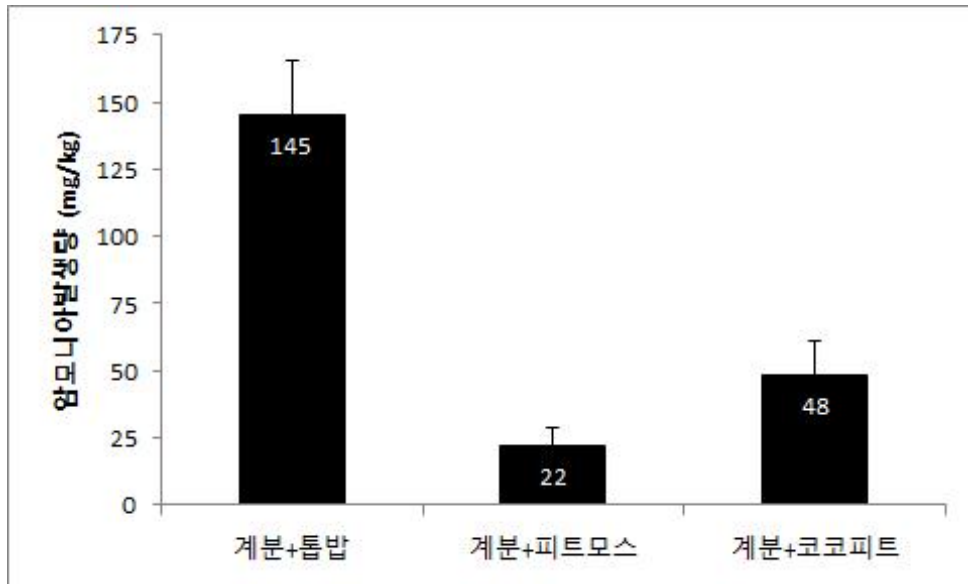


그림 8. 수분조절제별 암모니아가스 발생량. (*에러바는 표준편차를 나타냄).

라. 결론

계분발효 시 수분조절제의 종류에 따라 암모니아가스 발생여부를 조사하였다. 톱밥을 대조구로 하였을 때, 계분발효과정에서 계분+ 톱밥 처리구 대비 피트모스와 코코피트는 각각 85%와 67% 씩 암모니아 발생이 감소하였다. 수분조절제 중에서 피트모스와 코코피트는 암모니아 발생을 줄여주어 계분발효 시 악취를 개선하는데 효과적인 원료로 판단되었다.

3. 미생물의 처리에 따른 암모니아가스 발생시험

가. 시험목적

계분발효과정 중 미생물의 처리에 따른 악취개선여부를 평가하기 위해 시험을 수행하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 공시재료

본 연구는 2016년 10월 효성오앤비(주) 친환경농업연구소에서 수행되었다. 시험에 사용된 계분은 산란계 농장에서 수급된 계분을 사용하였고, 수분조절제로서 톱밥을 사용하였으며, 암모니아가스 측정용 발효챔버는 자체 제작된 챔버를 이용하였다(그림 7). 암모니아가스 수기용액은 4% 붕산용액을, 지시약은 BCG와 MIR을, 적정용액은 0.1N H₂SO₄용액을 이용하였다. 2 미생물배양액은 목원대학교 미생물생태자원연구소가 2016년에 선발한 3종의 기능성미생물들인 *G. caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophius* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6을 혼합 배양액을 공여받아 시험에 이용하였다. 미생물 배양액의 생균수는 10⁷ cfu/mL이었다.

(2) 시험방법

계분과 톱밥은 중량비를 8:2로 골고루 혼합하였고, 발효챔버에 혼합된 원료 6 kg을 넣어 준비하였다. 선행연구에서 미생물 희석액이 전체 계분의 1%를 처리하였을 때, 악취개선효과가 우수하였던 점을 고려하여 미생물 배양액을 20배, 100배, 500배 씩 멸균수와 희석하여 표면에 분무처리하였다(표 11, 그림 9). 미생물을 처리한 후에 덮개를 닫아 밀봉한 후 하단부에서 밸브를 조절하여 공기 투입량을 3 L/min 으로 일정하게 조절하였고, 6시간 간격으로 15분씩(4회/일) 공급하였다. 계분의 발효과정 중 발생한 암모니아가스의 조사는 시험 시작 후 3일 동안 수기된 암모니아가스를 포집하여 측정하였다. 암모니아가스 수집용기에 4% 붕산용액을 500 mL 넣어 발생한 암모니아가스를 포집하였다.

암모니아가스 수집용기를 분리한 후 지시약을 BCG 1 mL과 MIR 10 mL을 첨가한 후 0.1N H₂SO₄용액으로 적정하여 발효챔버로부터 발생한 암모니아가스의 총량을 측정하였다. 통계분석은 SPSS를 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값의 유의차를 검정하였다.



그림 9. 처리구별 미생물 및 미생물제제 처리.

표 11. 처리구별 미생물 처리량 및 처리농도

처리구	처리량 (mL/kg)	미생물농도 (cfu/mL)	비고*
미생물 배양액 500배	0.02	10 ⁴	희석액 1% 처리
미생물 배양액 100배	0.1	10 ⁵	희석액 1% 처리
미생물 배양액 20배	0.5	10 ⁶	희석액 1% 처리

*희석액 처리량은 선행연구를 통해 1% 정도에서 최적의 암모니아 감소효과를 나타냄.

(3) 결과

미생물의 처리에 따른 각 처리구별 암모니아가스 발생량은 92~145 mg/kg으로 미생물의 처리에 따라 다르게 나타났다(그림 10). 대조구, 배양액 500배 처리구, 배양액 100배 처리구 및 배양액 20배 처리구의 암모니아가스 발생량은 각각 145 mg/kg, 120 mg/kg, 97 mg/kg, 92 mg/kg으로 조사되어 배양액 100배 처리구와 배양액 20배 처리구에서 암모니아 발생량이 감소하였다. 대조구를 기준으로 미생물의 처리에 의한 암모니아발생량은 500배 처리구, 배양액 100배 처리구 및 배양액 20배 처리구에서 각각 17.2%, 33.1%, 36.6% 씩 감소하였고, 이 때, 미생물의 농도는 10⁵~10⁶ cfu/mL이었다.

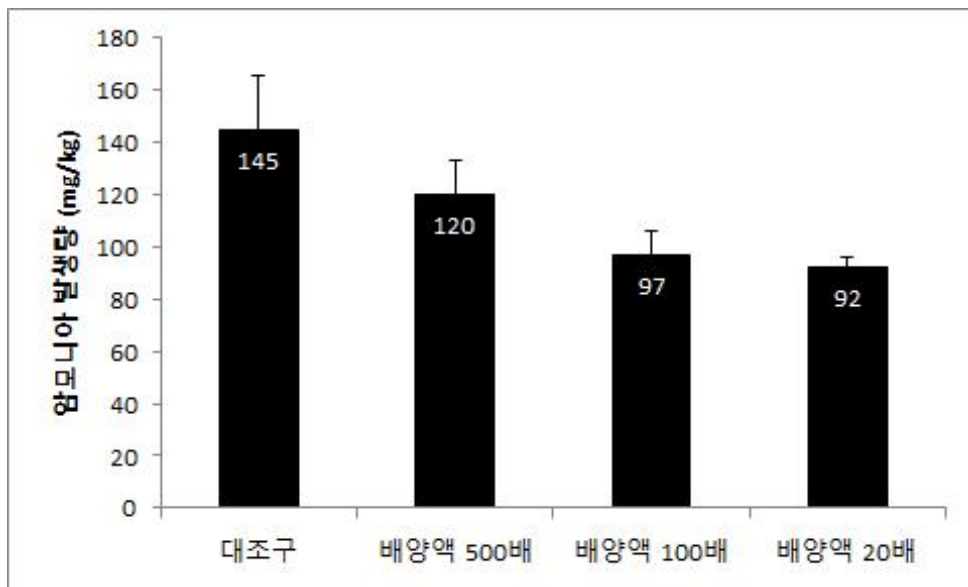


그림 10. 미생물 처리에 따른 계분발효 중 암모니아가스 발생량.
(*에러바는 표준편차를 나타냄).

(4) 결론

계분발효과정 중 미생물의 처리에 따른 악취개선여부를 평가하기 위해 시험을 수행한 결과, 미생물 배양액 20~100배 희석액에서 계분의 암모니아 발생이 약 33~37% 정도 감소하였다. 계분발효 시 미생물을 처리하고자 하는 경우 10⁵~10⁶ cfu/mL이며, 미생물의 처리에 따른 악취개선효과가 있는 것으로 판단되었다.

3. 미생물제제 제형별 부식산과 혼용처리에 따른 암모니아가스 발생시험

(1) 시험목적

계분발효과정 중 미생물제제의 제형별 부식산과 혼용처리 시 악취개선여부를 평가하기 위해 시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 연구는 2016년 10월 효성오앤비(주) 친환경농업연구소에서 수행되었다. 시험에 사용된 계분은 산란계 농장에서 수급된 계분을 사용하였고, 수분조절제로서 톱밥을 사용하였으며, 암모니아가스 측정용 발효챔버는 자체 제작된 챔버를 이용하였다(그림 7). 암모니아수기용액은 4% 붕산용액을, 지시약은 BCG와 MIR을, 적정용액은 0.1N H₂SO₄용액을 이용하였다. 미생물제제는 *G. caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophius* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6을 혼합하여 제형화한 액제와 수화제를 이용하여 시험을 수행하였다. 미생물제제는 액상제형(액제)와 고상제형(수화제)으로 미생물 생균수는 10⁷ cfu/mL이었다. 부식산은 효성오앤비(주)에서 갈탄으로부터 알칼리 추출하여 얻은 부식산을 이용하였다.

(나) 시험방법

계분과 톱밥은 중량비를 8:2로 골고루 혼합하였고, 발효챔버에 혼합된 원료 6 kg을 넣어 준비하였다. 선행연구에서 미생물제제 희석액이 전체 계분량의 1%를 처리하였을 때, 악취개선효과가 우수하였던 점을 고려하여 미생물제제를 20배와 100배 씩 증류수와 희석하여 표면에 분무처리하였다(표 12, 그림 9). 미생물을 처리한 후, 덮개를 닫아 밀봉한 후에 하단부에서 밸브를 조절하여 공기 투입량을 3 L/min 으로 일정하게 조절하였고, 6시간 간격으로 15분씩(4회/일) 공급하였다. 계분의 발효과정 중 발생한 암모니아가스의 조사는 시험 시작 후 3일 동안 수기된 암모니아가스를 포집하여 측정하였다. 암모니아가스 수집용기에 4% 붕산용액을 500 mL 넣어 발생한 암모니아가스를 포집하였다.

암모니아가스 수집용기를 분리한 후 지시약을 BCG 1 mL과 MIR 10 mL을 첨가한 후 0.1N H₂SO₄용액으로 적정하여 발효챔버로부터 발생한 암모니아가스의 총량을 측정하였다. 통계분석은 SPSS를 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값의 유의차를 검정하였다.

표 12. 처리구별 미생물 처리량 및 처리농도

처리구	부식산 (mg/kg)*	미생물농도 (cfu/mL)	비고
액제 100배	1.6	10 ⁵	희석액 1% 처리
액제 20배	8	10 ⁶	희석액 1% 처리
수화제 100배	1.6	10 ⁵	희석액 1% 처리
수화제 20배	8	10 ⁶	희석액 1% 처리

*부식산 농도는 선행연구에서 최소 1.6 mg/kg 이상을 처리할 때, 암모니아가스 감소효과를 나타냄.

(3) 결과

미생물을 액제와 수화제로 제형화하여 부식산과 함께 처리하였을 때, 각 처리구별 암모니아 가스 발생량은 15~145 mg/kg으로 미생물제제의 제형 및 처리량에 따라 다르게 나타났다(그림 11). 미생물을 액제로 제형화하여 부식산과 함께 처리하였을 때, 암모니아가스 발생량은 대조구, 액제 100배 처리구, 액제 20배 처리구에서 각각 145 mg/kg, 78 mg/kg, 15 mg/kg이 검출되어 계분발효 중 액제 처리에 의한 암모니아가스 발생은 46%와 90% 정도씩 감소하였다. 또한, 수화제로 제형화 하였을 때, 암모니아가스 발생량은 대조구, 수화제 100배 처리구, 수화제 20배 처리구에서 각각 145 mg/kg, 56 mg/kg, 21 mg/kg이 검출되어 계분발효 중 수화제 처리에 의한 암모니아가스 발생은 61%와 86% 정도씩 감소하였다. 미생물제제의 제형별 암모니아가스 발생 감소는 두 처리구에서 큰 차이를 보이지 않았으나 100배 처리구를 기준으로 비교할 때, 액제보다는 수화제가 좀 더 효율적인 것으로 판단되었다.

계분발효 시 미생물 배양액을 처리한 경우 암모니아의 발생량이 33~37% 정도 감소하였으나 액제(미생물 배양액)와 부식산을 혼용하여 처리하는 경우 45~90% 정도로 부식산의 처리에 따른 상승효과가 크게 나타났다. 특히 부식산의 처리량이 8 mg/kg인 경우 미생물제제의 제형에 관계없이 암모니아 발생이 크게 감소하였다. 이는 부식산이 양이온 치환용량이 높아 암모니아를 흡착하기 때문으로 판단된다.

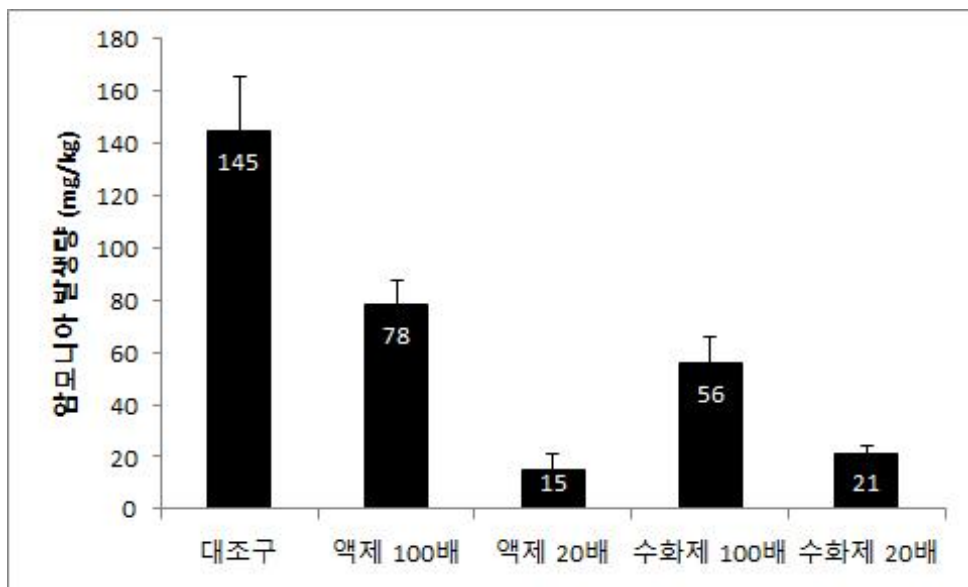


그림 11. 미생물 제형 별 계분발효 중 암모니아가스 발생량.
(*에러바는 표준편차를 나타냄).

(4) 결론

계분발효과정 중 미생물제제와 부식산의 혼용처리에 따른 악취개선여부를 평가하기 위해 암모니아가스 발생을 조사하였다. 미생물제제의 제형 중에서는 액제보다는 수화제에서 처리효과가 우수하였고, 부식산의 처리에 의해 암모니아가스 발생량 감소가 향상되었다. 부식산의 처리량에 따라 암모니아가스 발생량이 크게 감소하였다. 이 결과들은 계분발효 시 미생물과 부식산의 혼용처리 시 암모니아가스 발생을 감소시켜 악취개선효과를 나타내고 있음을 나타낸다.

4. 가공계분 생산을 위한 계분발효 시험

가. 계분 및 수분조절제의 특성 분석

(1) 계분의 종류별 특성

(가) 시험목적

계분발효를 위해 계분의 종류별 특성을 분석하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험을 위해 수거된 계분은 산란계 농장에서 직접 수거된 생계분(이하 ‘생계분’)과 양계 농장에서 수거 후 1~3일 정도 보관한 후 일반적으로 퇴비공장으로 반출되는 계분(이하 ‘일반계분’)을 수거하여 시험에 이용하였다.

② 시험방법

수거된 계분의 일부를 수거하여 시료를 채취하고, 채취된 계분은 비료의 품질검사 및 시료채취 기준에 준하여 수분, 유기물, 질소, 인산, 칼리, 유기물대 질소비 등을 분석하였다. 수분은 105℃ 건조법, 유기물은 회화법, 질소는 Kjeldahl 증류법, 인산은 UV-spectrophotometer에서 molybdate-vanadate법, 그리고 칼리는 염광광도계를 이용하여 원자흡광분광법으로 분석을 실시하였다.

(다) 결과

생계분은 일반계분에 비해 수분함량은 높고, 유기물함량, 질소, 인산 및 칼리함량은 상대적으로 낮았으나 유기물대 질소비는 10.0으로 비슷한 결과를 나타내었다. 하지만, 건물중을 기준으로 생계분과 일반계분을 비교하는 경우 생계분과 일반계분의 유기물, 질소, 인산 및 칼리 함량은 비슷하게 나타났다(표 13). 생계분과 일반계분의 차이를 나타낸 것은 수분함량의 차이에 의해 기인한 것으로 보이며, 실제 계분을 발효하는 과정에서는 큰 영향을 주지 않을 것으로 판단되었다. 다만 본 연구에서는 계분의 발효 시 수분함량을 고려하여 수분함량이 약 56%를 나타내었던 일반계분을 계분발효 시험에 이용하였다.

표 13. 계분 종류 별 분석 결과

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
생계분	77.1	16.3 (71.3)*	1.60 (7.0)	0.80 (3.5)	0.65 (2.8)	10.0
일반계분	56.3	30.3 (69.3)	2.93 (6.7)	1.17 (2.7)	0.95 (2.2)	10.3

*괄호는 건물중을 기준으로 계분의 유기물 및 양분함량을 보정한 값을 나타냄.

(라) 결론

계분의 종류 별 이화학적 특성을 조사한 결과, 생계분과 일반계분은 수분함량의 차이에 따라 biomass에서는 차이를 나타내었으나 dry matter에서는 비슷한 특성을 나타내었다. 생계분과

일반계분은 계분발효에서 큰 차이를 나타내지 않을 것으로 보였다.

(2) 수분조절제의 종류별 특성

(가) 시험목적

계분발효를 위해 수분조절제의 종류별 특성을 분석하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험을 위해 수거된 수분조절제는 톱밥, 피트모스, 코코피트, 수피 등이었다. 톱밥과 수피는 가축분을 발효하여 퇴비화하는데 가장 일반적으로 사용되는 수분조절제였다. 이와 비슷한 특성을 나타내는 것으로 알려진 피트모스와 코코피트를 수분조절제로 사용하고자 선정하였다.

② 시험방법

수분조절제의 분석은 이화학성을 분석하기 위해 비료의 품질검사 및 시료채취 기준에 준하여 수분, 유기물, 질소, 인산, 칼리, 유기물대 질소비 등을 분석하였다. 수분은 105℃ 건조법, 유기물은 회화법, 질소는 Kjeldahl 증류법, 인산은 UV-spectrophotometer에서 molybdate-vanadate법, 그리고 칼리는 염광광도계를 이용하여 원자흡광분광법으로 분석을 실시하였다. 수분조절제의 물리적 특성을 평가하기 위해 상토의 표준분석법에 준하여 수분함유량(수분포텐셜)과 비중을 분석하였다. 수분조절제의 유기물 조성을 평가하기 위해 사료분석법에 준하여 리그닌, 헤미셀룰로오스, 셀룰로오스 등과 같은 섬유소함량을 분석하였다. 섬유소분석은 충남대 농업과학연구소의 사료분석실에 의뢰하여 분석하였다. 이 외에 수분조절제에서 발생할 수 있는 약취여부를 관능시험으로 조사하였다.

(다) 결과

① 수분조절제의 이화학적 특성

2종의 톱밥의 수분함량, 유기물 및 질소는 각각 9.8~42.3%, 57.6~89.7%, 0.05~0.09%이었고, 수분함량을 고려할 때 비슷하였다. 유기물대 질소비는 997~1,152 정도로 탄소함량이 높게 나타내었다(표 14). 수피는 수분, 유기물, 질소 및 유기물대 질소비는 각각 34.1%, 56.3%, 0.29%, 272로 나타나 톱밥에 비해 질소함량이 낮았다. 피트모스는 리투아니아산 2종(피트모스 1, 피트모스 3)과 에스토니아산 1종(피트모스 2)을 분석하였고, 형태에 따라 수분함량, 유기물함량 및 질소함량은 20.1~73.4%, 25.5~55.3%, 0.23~0.66%의 범위를 나타내었으며, 유기물대 질소비는 리투아니아산 피트모스 2종은 111이었고, 에스토니아산 피트모스는 118로 피트모스 채취 장소에 따라 약간 다른 특성을 보였다. 코코피트는 매트형태로 수분함량은 6.0%이었고, 유기물함량, 질소함량 및 유기물대 질소비는 85.5%, 0.22%, 389로 조사되었다. 톱밥, 수피, 피트모스, 코코피트는 원료의 종류와 생산지에 따라 다소 차이를 보였고, 유기물대 질소비를 기준으로 각 원료 중 탄소함량의 비율은 톱밥>코코피트>수피>피트모스 순으로 나타났다.

표 14. 계분 종류 별 분석 결과

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
톱밥 1	9.8	89.7	0.09	0.03	0.02	997
톱밥 2	42.3	57.6	0.05	0.02	0.01	1,152
수피	34.1	56.3	0.29	0.07	0.20	272
피트모스 1 (L)	73.4	25.5	0.23	0.02	0.02	111
피트모스 2 (E)	20.1	78.4	0.66	0.04	0.02	118
피트모스 3 (L)	43.5	55.3	0.50	0.02	0.01	111
코코피트	6.0	85.5	0.22	0.01	0.58	389

② 수분조절제의 물리적 특성

각 수분조절제의 비중은 수분조절제의 종류에 따라 차이는 있으나 0.19~0.23 g/cm³으로 비슷하여 원료에 따른 차이를 나타내지 않았다(표 15). 반면에 함수율은 피트모스>코코피트=톱밥>수피 순으로 나타나 원료의 수분보유능은 피트모스에서 가장 높은 것으로 나타났다. 관능시험을 통해 수분조절제 종류별 악취를 조사한 결과, 처리구별 차이를 나타내지 않았고, 시험에 이용한 수분조절제에서는 악취가 발생하지 않았다.

표 15. 수분조절제 종류별 물리적 특성 분석

구분	비중	수분보유능*	악취지수**
	(g/cm ³)	(%)	
톱밥 1	0.21	709	1.7
톱밥 2	0.21	899	1.6
수피	0.23	386	1.4
피트모스 1 (L)	0.19	1,209	1.9
피트모스 2 (E)	0.20	1,104	1.2
피트모스 3 (L)	0.21	1,337	1.3
코코피트	0.23	895	1.0

*수분보유능은 건물중을 기준으로 환산된 값임.

**악취지수는 악취발생여부를 기준으로 1~5의 범위에서 수행했으며, 1은 악취없음, 5는 악취심함으로 관능시험을 통해 조사함.

③ 수분조절제의 섬유소 함량

수분조절제 종류별 섬유소 분석결과, 톱밥, 수피, 피트모스 및 코코피트 모두 섬유소 중에서 리그닌과 셀룰로오스 함량이 상대적으로 높았고, 헤미셀룰로오스는 상대적으로 낮았다(표 16). 리그닌은 11.34~44.83%의 범위로 코코피트에서 가장 높았고, 헤미셀룰로오스는 1.07~

14.47%로 피트모스 2에서 가장 높았으며, 셀룰로오스는 6.18~39.94%로 톱밥 1에서 가장 높았다. 섬유소 함량은 20.68~78.87%로 각 원료별로 차이를 보였으나 이는 각 원료의 수분함량에 의한 것으로 판단되었다. 총 유기물 중 섬유소의 비율을 조사한 결과, 70.4~92.2%로 코코피트>톱밥>피트모스>수피 순으로 조사되었다.

표 16. 수분조절제 종류별 섬유소 함량분석

구분	리그닌	헤미셀룰로오스	셀룰로오스	섬유소 합계	유기물중 섬유소 비율
	(%)				
톱밥 1	27.03	8.58	39.94	75.55	84.2
톱밥 2	15.90	7.34	28.44	51.68	89.7
수피	11.58	4.44	23.60	39.62	70.4
피트모스 1 (L)*	11.34	3.16	6.18	20.68	81.1
피트모스 2 (E)	21.20	14.47	32.29	64.94	82.8
피트모스 3 (L)	16.27	10.32	18.87	45.96	83.1
코코피트	44.83	1.07	32.97	78.87	92.2

*피트모스는 원산지에 따라 리투아니아산(L)과 에스토니아산(E)으로 구분하였다.

(라) 결론

계분발효 시험을 위해 수분조절제 종류별 시험을 수행한 결과, 수분조절제의 종류에 따라 다른 특성을 나타내었고, 각 수분조절제별 특성은 비슷하였다. 유기물대 질소비가 가장 높은 수분조절제는 톱밥이었고, 수분보유능이 우수한 수분조절제는 피트모스였으며, 섬유소함량이 가장 높은 수분조절제는 코코피트였다. 이 결과를 통해 수분조절제별 계분발효 시험에 사용될 원료로서 유기물 중 섬유소함량비율이 80% 이상을 나타낸 톱밥, 피트모스 및 코코피트를 선발하였다.

나. 수분조절제의 1차 선발시험 및 작물재배시험

(1) 수분조절제 종류 별 계분발효 특성

(가) 시험목적

가공계분 생산 시 수분조절제로서 톱밥을 대신하여 코코피트나 피트모스 등의 활용가능성을 평가하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

본 연구는 2016년 9월부터 11월까지 경기도 안성시에 위치한 효성오앤비(주) 퇴비공장에서 3개월 동안 수행하였다. 계분의 발효 시험에서 계분은 퇴비공장 주변의 양계농가에서 반출되는 것으로 수분함량이 56.3%이었고, 수분조절제는 톱밥, 피트모스 및 코코피트를 이용하였으며, 그 각각의 이화학적 특성은 표 17과 같다.

표 17. 계분발효 원료의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
계분	56.3	30.3	2.93	1.17	0.95	10.3
톱밥	32.5	64.9	0.16	0.02	0.02	405.6
피트모스	43.5	55.3	0.50	0.02	0.01	110.6
코코피트	6.0	85.5	0.22	0.01	0.58	388.6

② 시험방법

수분조절제 종류별 발효 시험을 위해 계분단독 처리구, 계분+톱밥 처리구, 계분+피트모스 처리구 및 계분+코코피트 처리구로 구분하여 시험을 진행하였고, 톱밥, 피트모스 및 코코피트는 계분의 무게에 비례하여 20%씩 넣고 배합하였다(표 18, 그림 12). 배합 후에는 계분발효에 적합하도록 초기 수분을 60%로 조절하였고, 각각의 처리구당 250 kg씩 적재하였다(그림 13). 시험기간 동안 공기는 주입하지 않았고, 주당 3회 씩 뒤집기를 실시하였다.

표 18. 계분발효 처리구별 배합비율

처리구	배합비율(% , w/w)				비고
	계분	톱밥	피트모스	코코피트	
계분단독	100				P
계분+톱밥	80	20			PS
계분+피트모스	80		20		PP
계분+코코피트	80			20	PC



그림 12. 원료 혼합후 처리구별 성상.



그림 13. 계분발효 원료 선발시험.

계분의 발효특성분석을 위해 온도변화, 수분함량변화, pH, 전기전도도(EC), 유기물(OM), 전 질소(T-N), 유기물대 질소비(OM/N) 등을 조사하였다. 계분발효 기간 중 시료의 채취는 10월 5일, 10월 10일, 10월 14일, 10월 17일, 10월 19일, 10월 21일, 10월 25일, 10월 28일, 11월 1일, 11월 4일, 11월 9일, 11월 11일, 11월 17일에 실시하였다. 계분더미의 온도변화는 디지털온도계(A1.T9304C, Daihan, Korea)를 이용하여 수시로 측정하였고, 수분함량은 건조법, pH와 EC는 1:5법, OM은 회화법 및 T-N은 켈달중류법, 인산은 바나도몰리브데이트법, 칼리는 원자흡광법으로 농촌진흥청의 비료의 품질검사 및 시료채취기준에 준하여 분석하였다.

(다) 결과

① 온도의 변화

계분발효과정 중 온도의 변화는 처리구에 따라 차이를 나타내어 계분단독 처리구와 계분+톱밥 처리구는 처리 후 온도가 상승하였고, 약 20일이 경과한 후부터 점차 감소하기 시작하였으며, 시험 시작 30일 경과 후 30℃정도를 나타내어 발효가 종료되었다(그림 14). 계분+ 피트

모스 처리구와 계분+코코피트 처리구는 발효 시작 후 약 30일 동안 50~55℃ 범위를 나타내었고, 이후 감소하기 시작하여 50일 경과 후 30℃ 정도를 나타내어 발효가 종료되었다. 발효 온도를 기준으로 볼 때, 계분 처리구나 계분+톱밥 처리구는 계분+피트모스 처리구나 계분+코코피트 처리구보다 약 10일 정도 발효 종료 시기가 빠르게 나타났다.

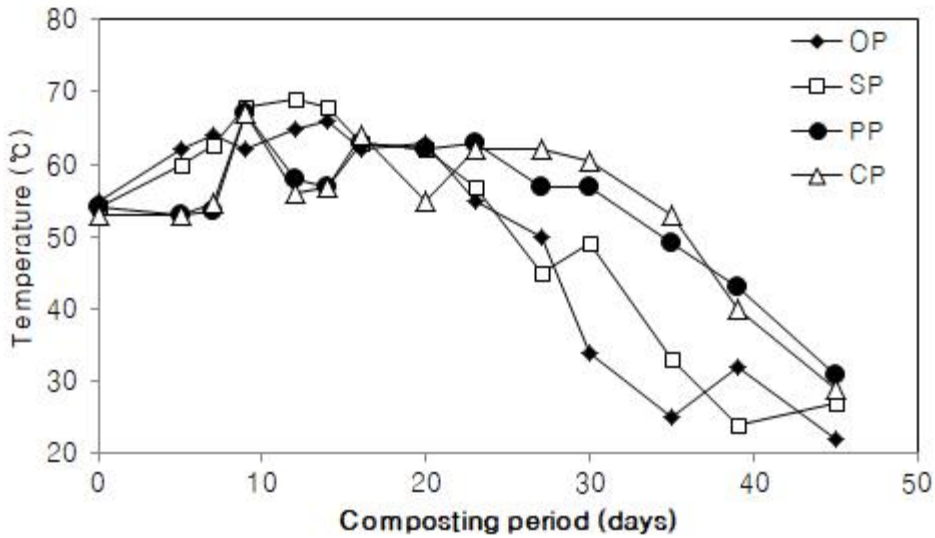


그림 14. 계분발효 중 처리구별 온도 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+톱밥 처리구, PP: 계분+피트모스 처리구, CP: 계분+코코피트 처리구)

② 수분함량의 변화

수분함량은 계분단독 처리구나 계분+톱밥 처리구는 발효 시작 후 10일이 경과하면서 서서히 감소하는 경향을 보였으나 계분+피트모스 처리구나 계분+코코피트 처리구는 발효기간 동안 수분함량이 변화가 거의 없었다(그림 15).

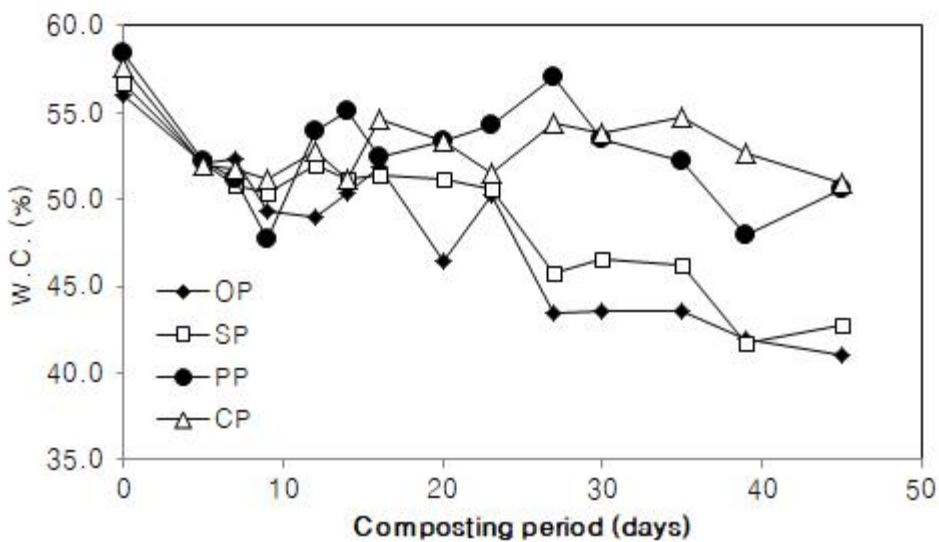


그림 15. 계분발효 중 처리구별 수분함량 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+톱밥 처리구, PP: 계분+피트모스 처리구, CP: 계분+코코피트 처리구)

③ pH 변화

계분의 발효과정 중 pH의 변화는 처리구별로 약간의 차이가 있었으며 서서히 증가하는 경향을 나타내었다(그림 16). 이는 계분의 발효과정에서 단백태 질소가 암모니아태 질소로 변하는 암모늄화 작용에 의한 것으로 판단된다.

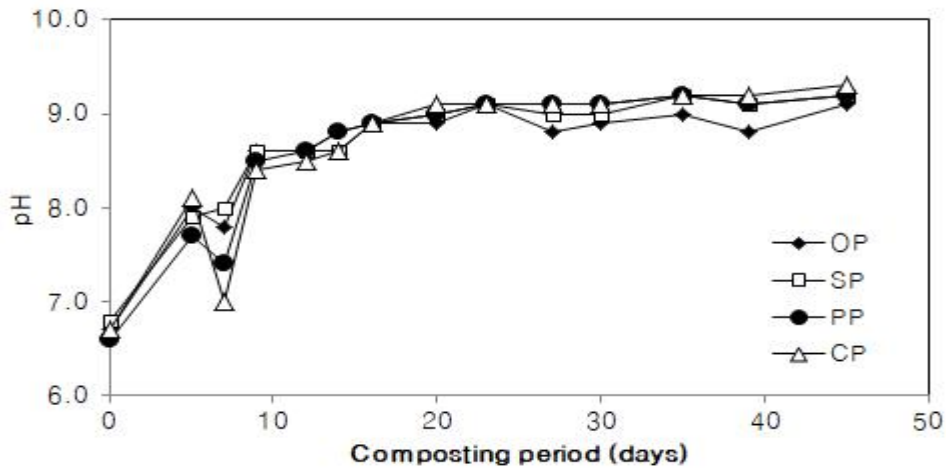


그림 16. 계분발효 중 처리구별 pH 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

④ 전기전도도(EC) 변화

처리구별 전기전도도의 변화는 14일이 경과할 때까지는 비슷한 경향을 보였으나 이후 처리구별 전기전도도의 차이가 나타났고, 시간이 경과할수록 점차 증가하는 경향을 보였다(그림 17). 계분발효 20일 경과 후부터 시험 종료 후까지 각 처리구별 전기전도도는 계분+코코피트 처리구>계분단독 처리구=계분+피트모스 처리구>계분+톱밥 처리구에서 순으로 나타났다.

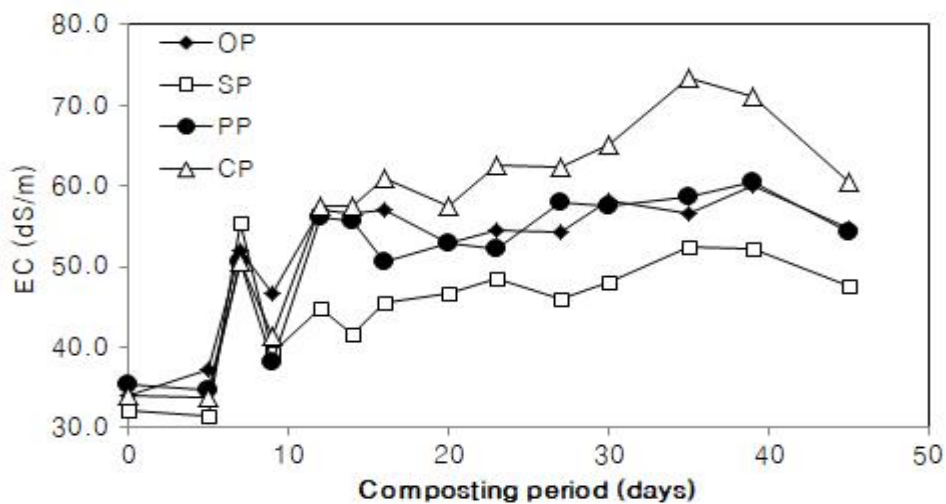


그림 17. 계분발효 중 처리구별 전기전도도 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑤ 유기물함량 변화

계분발효 중 유기물함량은 계분발효 후 14일 경과시기부터 차이를 나타내었고, 상대적으로 계분+ 톱밥 처리구에서 유기물함량이 높았으며, 계분단독 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 코코피트 처리구는 비슷한 경향을 보였다(그림 18).

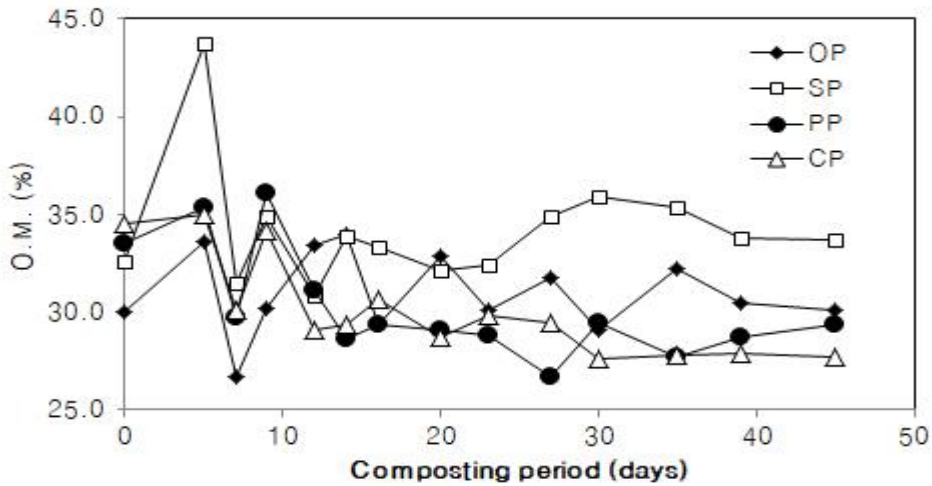


그림 18. 계분발효 중 처리구별 유기물함량 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑥ 질소함량 변화

질소의 함량은 시기에 따라 큰 변화를 나타내지 않았으나 계분+ 톱밥 처리구는 계분발효 30일 경과까지 상대적으로 낮았고, 계분단독 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 코코피트 처리구는 비슷한 경향을 보였으나 이후에는 모든 처리구에서 큰 차이를 나타내지 않았다(그림 19).

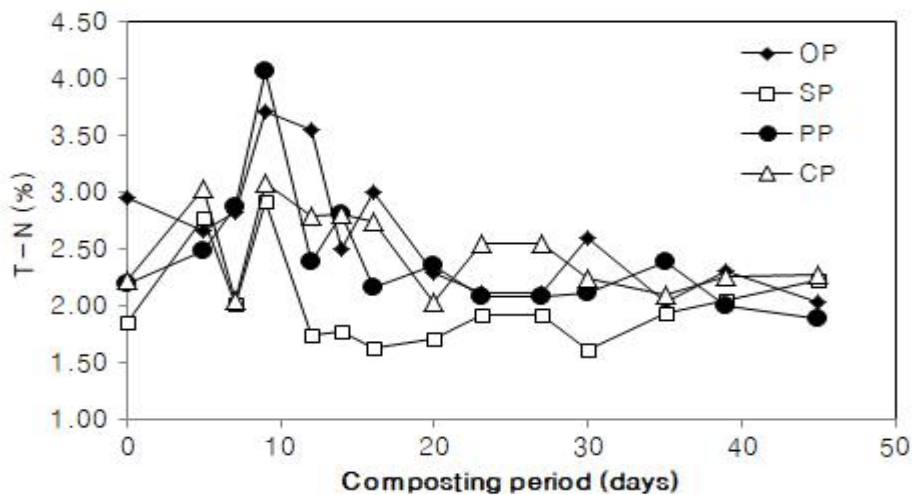


그림 19. 계분발효 중 처리구별 질소함량 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑦ 유기물대 질소비 변화

유기물대 질소비는 유기물함량이 높고, 질소함량이 상대적으로 낮았던 계분+ 톱밥 처리구에서 높았고, 계분단독 처리구, 계분+ 피트모스 처리구 및 계분+ 코코피트 처리구는 비슷한 경향을 나타내었다(그림 20).

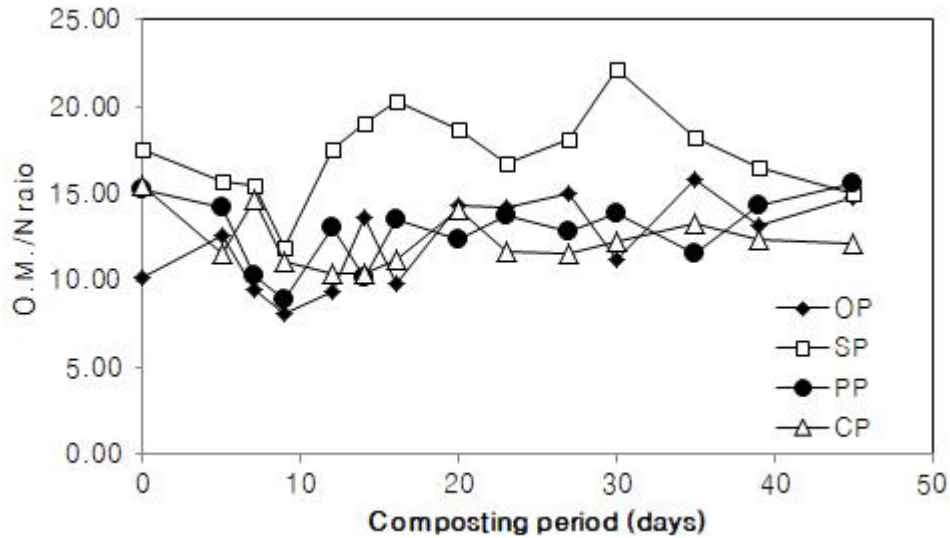


그림 20. 계분발효 중 처리구별 유기물대 질소비 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑧ 인산함량의 변화

계분의 발효 중 인산함량의 변화는 계분발효 7일 경과이후부터 서서히 증가하는 경향을 보였고, 탄소원을 포함하지 않았던 계분단독 처리구에서 상대적으로 높았고, 비슷한 양의 탄소원을 공급한 계분+ 톱밥 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 코코피트 처리구는 비슷한 인산함량을 나타내었다(그림 21). 이는 수분조절제의 공급여부에 의한 희석효과로 판단된다.

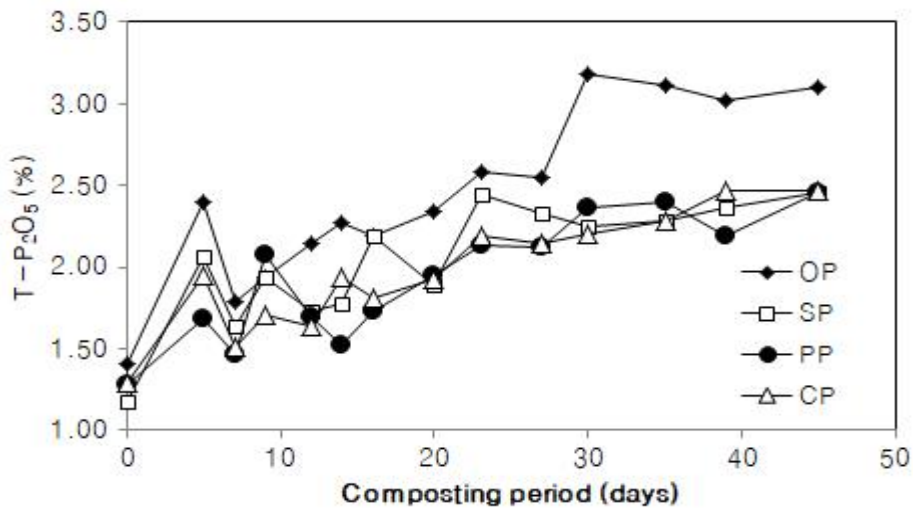


그림 21. 계분발효 중 처리구별 인산함량 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑨ 칼리함량의 변화

칼리의 함량도 인산함량과 마찬가지로 10월 12일(7일 경과)이후부터 서서히 증가하였고, 계분단독 처리구에서 상대적으로 높았고, 탄소원을 공급한 계분+ 톱밥 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 코코피트 처리구는 비슷한 칼리함량을 나타내었다(그림 22).

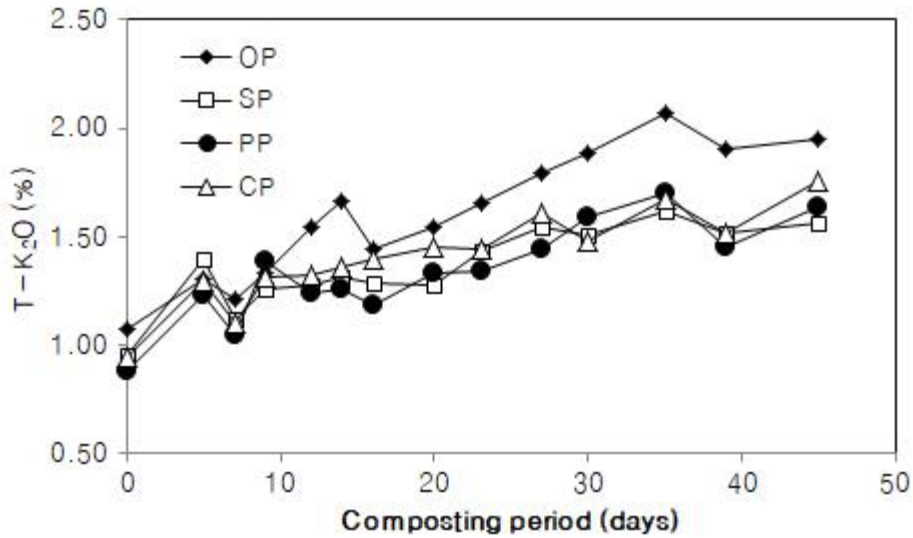


그림 22. 계분발효 중 처리구별 인산함량 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 톱밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

⑩ 미생물의 변화

계분혼합 후 미생물생균수의 변화는 초기에 10^8 cfu/g ($8.8 \pm 0.1 \log_{10}$ cfu/g)이었으나 시험 종료 후에는 10^3 cfu/g ($3.8 \pm 0.2 \log_{10}$ cfu/g)로 감소하였고, 처리구간 차이는 나타나지 않았으며 비슷한 경향을 나타내었다. 미생물 종류별로 조사한 결과 계분단독 처리구와 계분+ 피트모스 처리구에서는 세균은 검출되었으나 사상균은 검출되지 않았고, 계분+ 톱밥 처리구나 계분+ 코코피트 처리구에서는 배합 직후인 10월 5일 조사에서는 세균과 사상균이 함께 검출되었으나 발효가 시작된 이후에는 세균만 검출되었다(표 19). 사상균이 발효과정에서 발견되지 않은 것은 20~30℃로 계분의 발효온도가 50℃이상으로 사상균의 생육에 적합하지 않은 온도였기 때문으로 판단되었다.

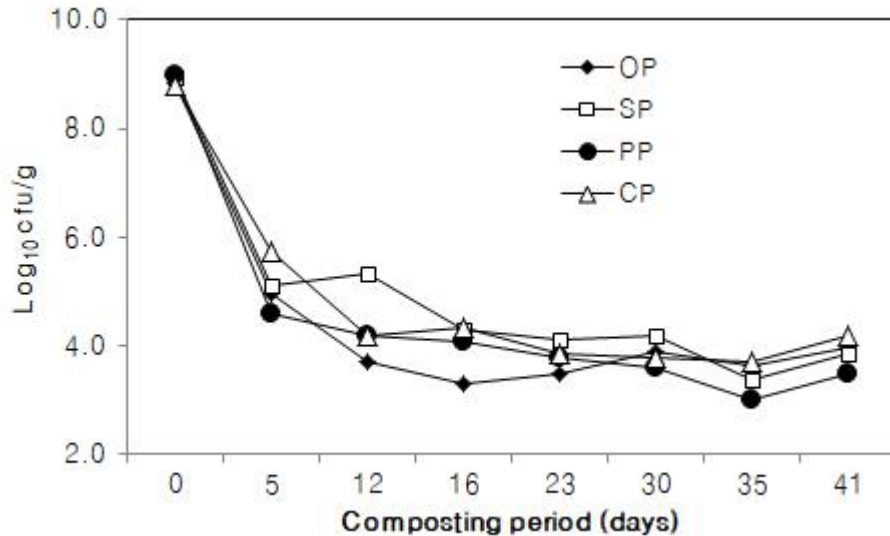


그림 23. 계분발효 중 처리구별 생균수 변화. (OP: 계분단독 처리구, SP: 계분+ 퉁밥 처리구, PP: 계분+ 피트모스 처리구, CP: 계분+ 코코피트 처리구)

표 19. 계분발효과정 중 미생물의 변화

처리구	미생물 종류	조사일(월/일)							
		10/5	10/10	10/17	10/21	10/28	11/4	11/9	11/17
계분단독	세균	6.94×10^8	8.90×10^4	5.00×10^3	2.00×10^3	3.00×10^3	8.00×10^3	4.25×10^3	9.50×10^3
	사상균	-	-	-	-	-	-	-	-
계분+ 퉁밥	세균	8.72×10^8	1.27×10^5	2.10×10^5	2.00×10^4	1.30×10^4	1.60×10^4	2.35×10^3	7.00×10^3
	사상균	5.00×10^5	-	-	-	-	-	-	-
계분+ 피트모스	세균	9.78×10^8	3.90×10^4	1.60×10^4	1.20×10^4	6.00×10^3	4.00×10^3	1.05×10^3	3.00×10^3
	사상균	-	-	-	-	-	-	-	-
계분+ 코코피트	세균	6.01×10^8	5.63×10^5	1.60×10^4	2.20×10^4	7.00×10^3	6.00×10^3	6.30×10^3	1.55×10^4
	사상균	3.00×10^6	-	-	-	-	-	-	-

㉠ 가공계분의 이화학분석

㉡ 주성분 분석

발효 계분의 이화학성을 분석하여 가공계분의 기준에 적합한지를 평가한 결과, 수분은 20% 이하를 나타내어 기준에 적합하였고, 유기물은 41.0~47.8%로 가공계분의 규격인 30% 이상을 나타내었으며, 질소, 인산, 칼리함량의 합계는 10.65~12.83%로 가공계분의 기준인 6% 이상을 나타내어 가공계분의 규격에 적합하였다(표 20). 발효계분 중 질소함량은 3.46~4.64%로 계분단독 처리구에서 가장 낮았고, 계분+ 코코피트 처리구에서 가장 높았다. 계분+ 퉁밥 처리구와 계분+ 피트모스 처리구는 비슷하였다.

표 20. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소			유기물대 질소비
			(%)			
계분단독	19.6	41.0	3.46	5.07	3.13	11.9
			11.66			
계분+ 톱밥	19.3	47.6	3.92	4.12	2.61	12.1
			10.65			
계분+ 피트모스	19.7	47.8	3.83	4.79	3.16	12.5
			11.78			
계분+ 코코피트	19.5	45.4	4.64	4.79	3.40	9.8
			12.83			
가공계분의 비료공정규격	20% 이하	30% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 6% 이상			-



그림 24. 계분발효 종료 후 처리구별 성상.

㉔ 유해성분 분석

발효계분의 유해성분 조사 결과 계분단독 처리구는 아연함량이 기준량보다 약간 높게 나타나 비료공정규격에 적합하지 않아 가공계분으로서 검토가 필요하였다(표 21). 계분+ 톱밥 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 코코피트 처리구에서 아연을 포함한 일부 원소가 검출되었으나 가공계분의 규격보다 낮아서 비료공정규격에 적합하였다.

표 21. 시험 종료 후 발효 계분의 유해성분

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연
	(mg/kg)							
계분	ND*	ND	ND	ND	22.74	106.9	16.12	508.7
톱밥	ND	ND	ND	ND	17.23	86.8	12.24	464.1
피트모스	ND	ND	ND	ND	4.31	89.9	4.72	453.5
코코피트	ND	ND	ND	ND	10.37	91.9	8.36	485.1
가공계분규격	20	2	1	50	90	120	20	500

*ND: not detected (불검출, 검출한계 미만).

(라) 결론

계분발효과정을 통해 가공계분 제조가능성을 평가하고자 계분과 피트모스, 코코피트 및 톱밥을 혼합하여 계분 처리구, 계분+톱밥 처리구, 계분+피트모스 처리구 및 계분+코코피트 처리구를 두어 발효특성을 조사하고, 발효완료 후 건조한 가공계분의 작물에 대한 재배시험을 수행한 결과는 다음과 같다. 온도는 원료 배합 6시간 경과 후 50℃이상을 나타낸 후 계분 처리구와 계분+톱밥 처리구는 약 25일 정도 유지되었고 발효 종료 시기는 35일 경이었으며, 계분+피트모스 처리구와 계분+코코피트 처리구는 약 35일 정도 유지, 발효 종료 시기는 약 45일 경이었다. 계분 처리구와 계분+톱밥 처리구는 시간의 경과에 따라 서서히 수분함량이 감소하였으나 계분+피트모스 처리구와 계분+코코피트 처리구는 시험 기간 동안 50% 정도의 수분을 유지하였다. 계분발효과정 중 pH와 EC는 시간의 경과에 따라 증가하였고, 계분+피트모스 처리구와 계분+코코피트 처리구의 EC가 계분+톱밥 처리구보다 높았고, pH와 유기물대 질소비는 비슷하였다. 가공계분의 특성분석결과, 수분, 유기물 및 질소, 인산, 칼리의 총 합량은 가공계분기준에 적합하였다. 가공계분은 톱밥으로 발효한 가공계분보다 피트모스나 코코피트를 이용하여 발효한 가공계분에서 작물생육이 향상되었다. 이상의 결과를 종합할 때, 계분발효 시 수분조절제로서 톱밥을 대신하여 피트모스나 코코피트를 사용하여 생산된 가공계분의 품질이 향상하였고, 이들을 이용한 작물재배에서 생육 및 생산성이 증가하였다.

(2) 수분조절제 종류 별 가공계분의 작물재배시험

(가) 시험목적

수분조절제 종류 별로 발효하여 얻어진 가공계분의 처리에 의한 작물에 대한 시비효과를 평가하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

가공계분을 이용한 작물재배시험은 2016년 11월부터 2017년 1월까지 3개월간 대전광역시 소재의 효성오앤비(주) 친환경농업연구소의 비닐하우스에서 수행하였다. 공시작물은 상추(백일청치마, 동부팜), 케일(제일케일, 제일종묘) 및 갓(청갓, 농우바이오)를 이용하였고, 농자재 판매상에서 종자를 구매하여 사용하였다. 퇴비화를 통해 발효와 건조가 완료된 가공계분을 이용하였고, 이화학적 특성은 표 18과 같다. 시험에 사용에 사용된 토양은 사양토였고, pH와 전기전도도는 각각 6.5와 0.53 dS/m를 나타내어 상추, 케일 및 갓을 재배하기 적합한 토양이었다 (표 22).

표 22. 시험전 토양의 이화학적 특성

pH	EC	T-N	OM	Av-P ₂ O ₅	Exchangeable cation				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
(1:5)	(dS/m)	(g/kg)		(mg/kg)	(cmol ⁺ /kg)				
6.5	0.53	4.5	96.2	647	1.0	13.0	5.4	1.0	19.4

② 시험방법

원예용 상토를 포설한 트레이에 상추, 케일 및 갓 종자를 2016년 10월 24일에 파종하여 약 5주간 유묘를 관리하였다. 작물 정식 전 계분발효물인 가공계분을 600 kg/10a수준으로 전층 시비하고 15일이 경과한 후 생육상태가 비슷한 유묘를 선별하여 각 처리구에 2016년 12월 7일 정식하였다. 처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구, 혼합유박비료를 처리한 대조구, 가공계분 1 처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구; 계분단독 처리구), 가공계분 2 처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구; 계분+ 톱밥 처리구), 가공계분 3 처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구; 계분+ 피트모스 처리구) 및 가공계분 4 처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구; 계분+ 코코피트 처리구)로 설정하였다. 처리구 면적은 4 inch 육묘용 포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(5반복)으로 배치하였다. 가공계분 및 대조구(혼합유박비료)의 시비량은 농가에서 사용하는 관행적인 시비량인 600 kg/10a를 추천량(기준량)으로, 1,200 kg/10a을 추천배량으로 설정하였으며, 각각 2016년 12월 7일에 전층시비하였다(표 23, 그림 25, 26, 27). 시비 후 15일이 경과한 2016년 12월 22일에 생육상태가 비슷한 묘목을 작물별로 선별하여 각 처리구에 정식하였다. 재배기간 중 관수는 매일 1~2회 이뤄졌고, 시험기간 중 병충해는 발생하지 않아 작물보호제는 사용하지 않았다. 작물의 생육조사는 시험 종료 후 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중을 조사하였다. 엽록소는 엽록소측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, SPSS12.01을 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값을 비교하였다.

표 23. 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	600	2016. 12. 7.	혼합유기질비료*
가공계분 1 추천량	600	2016. 12. 7.	계분단독발효
가공계분 1 추천배량	1,200	2016. 12. 7.	계분단독발효
가공계분 2 추천량	600	2016. 12. 7.	계분+ 톱밥
가공계분 2 추천배량	1,200	2016. 12. 7.	계분+ 톱밥
가공계분 3 추천량	600	2016. 12. 7.	계분+ 피트모스
가공계분 3 추천배량	1,200	2016. 12. 7.	계분+ 피트모스
가공계분 4 추천량	600	2016. 12. 7.	계분+ 코코피트
가공계분 4 추천배량	1,200	2016. 12. 7.	계분+ 코코피트



그림 25. 가공계분의 처리에 따른 상추의 생육(위: 정식직후, 아래: 수확직전; 왼쪽부터 대조구, 가공계분 1 정량, 가공계분 1 배량, 가공계분 2 정량, 가공계분 2 배량, 가공계분 3 정량, 가공계분 3 배량, 가공계분 4 정량, 가공계분 4 배량, 무처리).



그림 26. 가공계분의 처리에 따른 케일의 생육(위: 정식직후, 아래: 수확직전; 왼쪽부터 대조구, 가공계분 1 정량, 가공계분 1 배량, 가공계분 2 정량, 가공계분 2 배량, 가공계분 3 정량, 가공계분 3 배량, 가공계분 4 정량, 가공계분 4 배량, 무처리).



그림 27. 가공계분의 처리에 따른 갯의 생육(위: 정식직후, 아래: 수확직전; 왼쪽부터 대조구, 가공계분 1 정량, 가공계분 1 배량, 가공계분 2 정량, 가공계분 2 배량, 가공계분 3 정량, 가공계분 3 배량, 가공계분 4 정량, 가공계분 4 배량, 무처리).

(다) 결과

① 상추재배시험결과

무처리구와 비교할 때, 대조구와 가공계분 처리구에서 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다(표 24). 건물중을 기준으로 무처리구의 상추 생산량을 비교할 때, 가공계분 처리구는 28.6~358.8% 정도 증가하여 유기질비료원으로 적합하였다. 하지만 혼합유기질비료와 비교하였을 경우 가공계분 처리구에서 상추의 생육 및 생산량은 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 가공계분에서 질소함량이 낮았기 때문으로 판단되었고, 가공계분 생산 시 사용한 수분조절제의 종류에 따라 상추의 생육 및 생산량이 다르게 나타났다. 다만, 질소함량이 대조구와 비슷한 처리구 중에서 가공계분 3과 가공계분 4에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않아 혼합유박 비료와 비슷한 비료효과를 나타내었다.

표 24. 가공계분의 처리에 따른 상추의 생육시험결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	2.26d*	11.5f	10.9e	6.4e	10.2e	1.19f
대조구	2.82a	17.5b	17.4a	10.7a	56.9a	5.63a
가공계분1 정량	2.36cd	12.5ef	13.6d	8.1d	22.1d	2.29e
가공계분1 배량	2.43bcd	16.6bc	16.1b	9.5bc	41.8b	3.49c
가공계분2 정량	2.37cd	12.3ef	13.3d	7.5d	17.5d	1.53f
가공계분2 배량	2.36cd	14.7cd	14.3cd	8.1d	23.3d	2.40e
가공계분3 정량	2.50cd	12.8def	13.8d	8.2d	23.4d	2.37e
가공계분3 배량	2.86a	16.4bc	16.7ab	10.3ab	44.9b	3.95b
가공계분4 정량	2.64abc	14.2de	15.1c	9.0c	30.9c	2.88d
가공계분4 배량	2.71ab	21.2a	17.4a	10.7a	61.9a	5.46a

*던컨다중검정($P<0.05$)

② 케일재배시험결과

무처리구와 비교할 때, 가공계분 3과 4 처리구에서 엽수, 생물중 및 건물중 등이 증가하였다(표 25). 건물중을 기준으로 무처리구와 케일의 생산량을 비교할 때, 가공계분 1 정량, 가공계분 3 및 가공계분 4의 배량 처리구에서 약 13.0~50.2% 정도 증가하여 가공계분 3과 4는 유기질비료원으로 적합하였다. 하지만 가공계분 2는 무처리구나 대조구보다 케일의 생산량이 감소하는 것으로 나타나 유기질비료원료로서 사용하는데 제한적인 것으로 판단되었다. 가공계분의 정량으로 대조구와 비교할 때, 가공계분 3과 4처리구에서 케일의 생육과 생산량이 증가하였다. 이들 결과를 종합할 때, 케일재배시험에서는 가공계분 3과 4가 적합한 것으로 판단되었다.

표 25. 가공계분의 처리에 따른 케일의 생육시험결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	3.78a*	7.2bc	16.8cd	9.3bc	16.5bc	2.31bc
대조구	3.71a	7.7ab	16.8cd	9.4bc	16.1bc	2.00bc
가공계분1 정량	3.49a	7.7ab	18.6ab	10.2ab	20.6ab	2.63ab
가공계분1 배량	3.48a	7.2bc	17.1bc	9.9abc	17.0bc	2.17bc
가공계분2 정량	3.48a	7.0bc	15.8cd	8.5c	12.4c	1.51c
가공계분2 배량	3.50a	6.7c	15.2d	9.0bc	14.4bc	2.00bc
가공계분3 정량	3.58a	7.7ab	17.0bc	9.7abc	16.7bc	2.30bc
가공계분3 배량	3.49a	8.1a	15.5cd	9.3bc	18.7abc	2.61ab
가공계분4 정량	3.67a	8.2a	16.5cd	9.2bc	18.2abc	2.44abc
가공계분4 배량	3.70a	7.3abc	19.1a	10.9a	24.0a	3.47a

*던컨다중검정($P<0.05$)

③ 잣재배시험결과

무처리구와 비교할 때, 대조구와 가공계분 처리구는 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 무처리구보다 유사하거나 증가하는 경향을 보였다(표 26). 건물중을 기준으로 무처리구와 잣의 생산량을 비교할 때, 가공계분 처리구는 약 28.9~220.4% 정도 증가하여 가공계분의 잣에 대한 생육증대효과가 인정되어 가공계분은 유기질비료로서 적합한 것으로 판단되었다. 대조구와 비교할 때, 질소 처리량이 비슷했던 가공계분 3과 4의 배량 처리구에서 대조구와 비슷한 건물중을 나타내었다. 이들 결과를 종합할 때, 잣재배시험에서는 가공계분 3과 4가 적합한 것으로 판단되었다.

표 26. 가공계분의 처리에 따른 잣의 생육시험결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	3.69b*	10.5bc	12.8d	5.0e	7.3f	1.52f
대조구	4.42a	13.8a	18.4a	7.1a	19.9ab	4.14ab
가공계분1 정량	4.05ab	15.3a	15.0bc	5.3de	12.8cde	2.51de
가공계분1 배량	4.13ab	14.8a	16.1b	6.1bc	16.4bc	3.41bc
가공계분2 정량	4.00ab	10.2c	14.2c	5.0e	9.2ef	1.96ef
가공계분2 배량	4.00ab	13.5ab	14.6c	5.6cde	11.7de	2.46e
가공계분3 정량	4.25a	14.8a	15.5bc	5.6cde	15.6bcd	3.26cd
가공계분3 배량	4.25a	14.2a	16.2b	5.8cd	16.6bc	3.38bc
가공계분4 정량	4.31a	13.0abc	18.1a	6.6ab	17.5b	3.41bc
가공계분4 배량	4.42a	14.3a	19.0a	6.8a	23.5a	4.87a

*던컨다중검정($P<0.05$)

(라) 결과

수분조절제가 다른 가공계분 1~4 중에서 작물생육에 적합한 가공계분을 선발하고자 상추, 케일 및 갓 등을 이용하여 작물재배시험을 수행하였다. 가공계분 처리구는 상추와 갓에서 무처리구보다 15% 이상 증가하여 시비효과가 인정되어 유기질비료 및 유기질비료 원료로서 적합하였다. 가공계분 중에서 1과 2는 대조구보다 생산량이 감소하였고, 가공계분 3과 4는 대조구와 비슷하거나 증가하였다. 이들의 결과를 통해 볼 때, 작물생육에 적합한 가공계분은 가공계분 3이나 4로 조사되어 가공계분 생산 시 수분조절제는 코코피트나 피트모스가 적절하였다.

다. 수분조절제 2차선발시험

(1) 시험목적

일반적으로 수분조절제로 많이 사용되는 톱밥과 비슷한 특성을 나타내는 팽화왕겨가 계분발효 시 수분조절제로서의 가능성 여부를 비교하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 연구는 2017년 5월부터 6월까지 경기도 안성시에 위치한 효성오앤비(주) 안성공장에서 2개월 동안 수행하였다. 계분의 발효 시험에서 계분은 퇴비공장 주변의 양계농가에서 반출되는 것으로 수분함량이 51.6%이며, 수분조절제로는 톱밥, 피트모스, 팽화왕겨 1.3 및 팽화왕겨 3.0 등을 이용하였고, 이화학적 특성은 표 27과 같다.

표 27. 계분발효 원료의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
계분	51.6	30.7	1.84	1.34	0.97	16.7
톱밥	32.5	64.9	0.16	0.02	0.02	405.6
피트모스	53.3	45.6	0.42	0.13	0.02	108.6
팽화왕겨 1.3	6.5	79.6	0.36	0.12	0.18	221.1
팽화왕겨 3.0	8.1	77.2	0.35	0.10	0.17	220.6

(나) 시험방법

수분조절제 종류별 발효 시험을 위해 계분+ 톱밥 처리구, 계분+ 피트모스 처리구, 계분+ 팽화왕겨1.3 처리구 및 계분+ 팽화왕겨3.0 처리구로 구분하여 시험을 진행하였고, 톱밥, 피트모스 및 팽화왕겨는 C/N율을 고려하여 중량비로 10%씩 넣고 배합하였다(표 28). 배합 후에는 계분발효에 적합한 50% 정도를 나타내어 수분을 공급하지 않았고, 각각의 처리구당 1,000 kg씩 적재하였다(그림 28). 시험기간 동안 공기는 주입하지 않았고, 주당 1~2회 씩 뒤집기를 실시하였다.

표 28. 계분발효 처리구별 배합비율

처리구	배합비율(% , w/w)		비고
	계분	수분조절제*	
계분+ 톱밥	90	톱밥 10	PS
계분+ 피트모스	90	피트모스 10	PP
계분+ 팽화왕겨1	90	팽화왕겨1 10	PD1.3
계분+ 팽화왕겨2	90	팽화왕겨2 10	PD3

*수분조절제로는 톱밥, 피트모스, 팽화왕겨1 (1.3 mm), 팽화왕겨2(3.0 mm)를 사용함



그림 28. 수분조절제 2차 선발시험

계분의 발효 특성을 분석하기 위해 온도변화, 수분함량변화, 유기물(OM), 전질소(T-N), 유기물대 질소비(OM/N) 등을 조사하였다. 계분발효 기간 중 시료의 채취는 5월 9일, 5월 16일, 5월 19일, 5월 25일, 6월 1일, 6월 9일에 실시하였다. 계분더미의 온도변화는 디지털온도계(A1.T9304C, Daihan, Korea)를 이용하여 수시로 측정하였고, 수분함량은 건조법, OM은 회화법 및 T-N은 켈달증류법, 인산은 바나도몰리브데이트법, 칼리는 원자흡광법으로 농촌진흥청의 비료의 품질검사 및 시료채취기준에 준하여 분석하였다. 암모니아태 질소는 2M KCl로 추출하여 켈달증류법으로 정량하였다.

(3) 결과

(가) 온도의 변화

계분발효 중 처리구별 온도의 변화는 그림 29와 같다. 혼합 직후인 5월 9일에는 37.5~40.0℃의 범위를 나타내었고, 처리구간 유의차는 나타나지 않았다. 7일이 경과한 5월 16일에는 56.0~62.2℃의 범위를 나타내어 계분의 발효가 진행되고 있었다. 이후 온도는 시험 종료시기인 6월 9일까지 60℃의 범위를 나타내었고, 처리구간 차이를 나타내지 않았다. 1차 수분조절제 시험에서 30일경 발효가 완료된 것을 기준으로 발효 시험은 30일 동안 진행되었고, 이후에는 건조시기를 가졌다. 건조장치가 설치단계에 있어 송풍기를 이용해 건조하였고, 건조시기에는 온도를 측정하지 않았다. 수분조절제와 계분을 혼합한 이후 계분더미의 온도변화는 나타나지 않아 수분조절제의 종류에 따른 발효온도의 변화는 확인할 수 없었다.

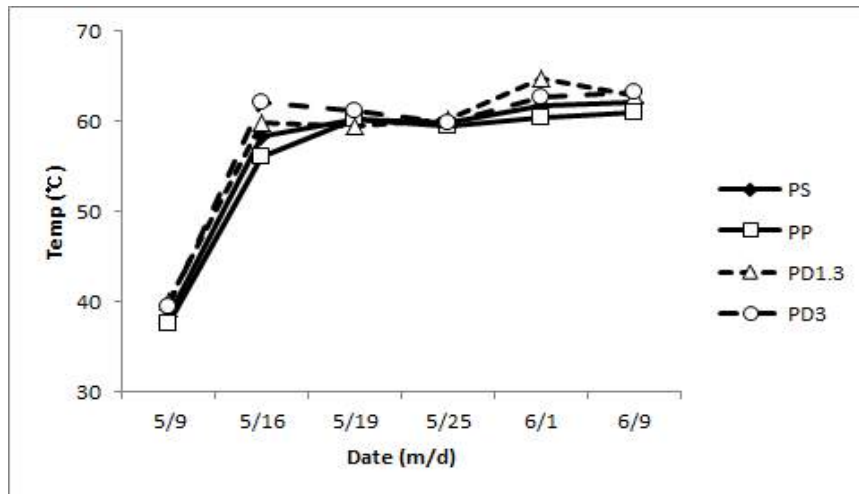


그림 29. 계분발효과정 중 온도의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(나) 수분의 변화

계분과 수분조절제를 혼합한 5월 9일의 수분함량은 $50 \pm 2\%$ 로 퇴비화에 적합하였다. 시험기간 중 수분함량은 점차 감소하는 경향을 나타내었다(그림 30). 계분의 발효가 시작된 후 10일 동안은 수분함량의 변화가 거의 나타나지 않았고, 이후 수분함량이 감소하기 시작하였다. 시험 종료 시기인 6월 9일(30일차)의 처리구별 수분함량은 $39 \pm 2\%$ 를 나타내어 배합직후 보다 10% 정도 차이를 나타내었다. 시험 종료 후 계분과 수분조절제 종류별 발효계분더미 별 수분함량은 통계적 유의차를 나타내지 않았고, 수분조절제의 종류에 따른 수분함량의 변화는 나타나지 않았다. 시험이 종료된 후 수분함량은 평균 39%정도를 나타내어 가공계분으로 사용하고 비료로 등록하기 위해서는 건조의 시간이 필요하였다. 건조기가 설치되지 않아 송풍기를 이용하여 자연건조 하였고, 가공계분의 기준인 20% 이하의 수분을 나타내는데 약 15일 이상이 소요되었고, 암모니아의 발생이 많아 송풍기를 이용해 건조하는 방법은 질소의 손실이 많아 건조장치의 설치가 필요하였다.

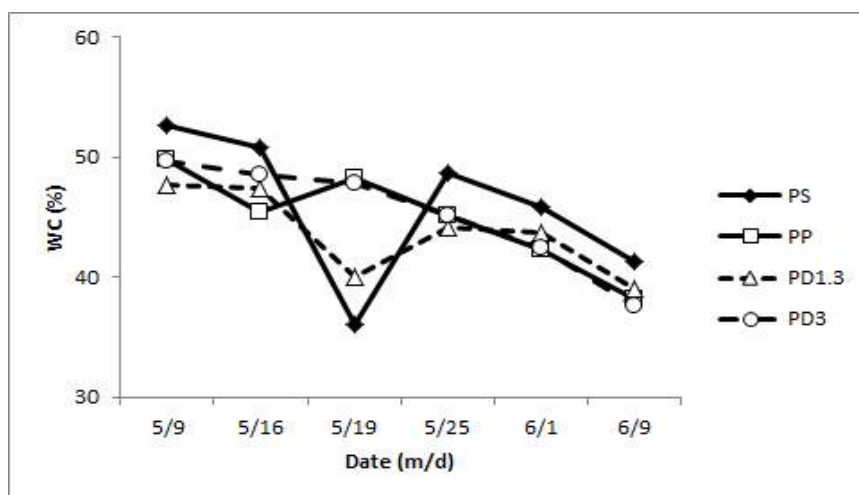


그림 30. 계분발효과정 중 수분함량(water content; WC)의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(다) 유기물의 변화

계분과 수분조절제별 혼합 후 처리구별 유기물의 변화는 그림 31과 같다. 배합 직후의 유기물함량은 35±1%로서 처리구별 차이를 나타내지 않았다. 5월 19일 조사에서 계분+ 톱밥 처리구(PS)에서 유기물함량이 증가한 것은 수분함량이 상대적으로 낮았기 때문으로 판단된다. 시험 종료 후 처리구별 유기물함량을 비교할 때, 계분+ 피트모스 처리구(PP)와 계분+ 팽화왕겨 처리구(PD1.3, PD3)은 비슷하였으나 계분+ 톱밥 처리구(PS)는 상대적으로 낮은 유기물함량을 나타내었다.

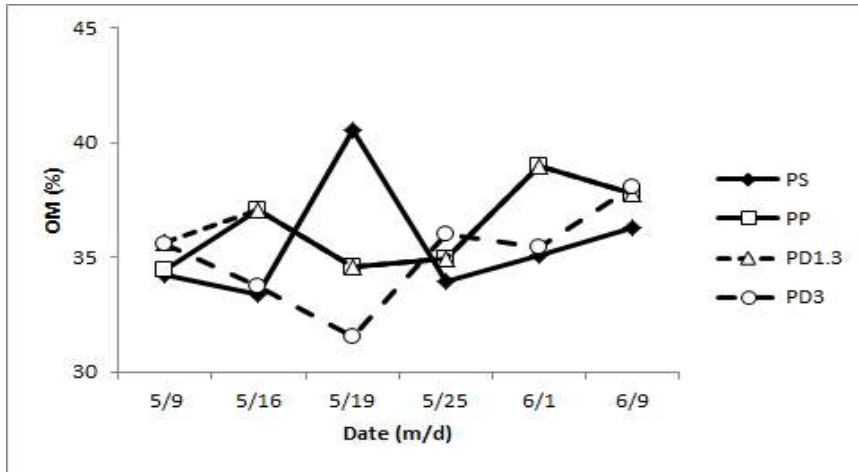


그림 31. 계분발효과정 중 유기물함량(organic matter; OM)의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(라) 질소의 변화

계분과 수분조절제별 발효기간 중 발효계분의 질소함량의 변화는 그림 32와 같다. 처리구별로 다소 차이는 있으나 피트모스와 톱밥을 수분조절제로 발효한 가공계분은 질소의 농도가 증가한 반면에 팽화왕겨는 감소하는 경향을 나타내어 팽화왕겨의 처리에 의한 질소손실이 발생할 수 있음을 추정할 수 있었다.

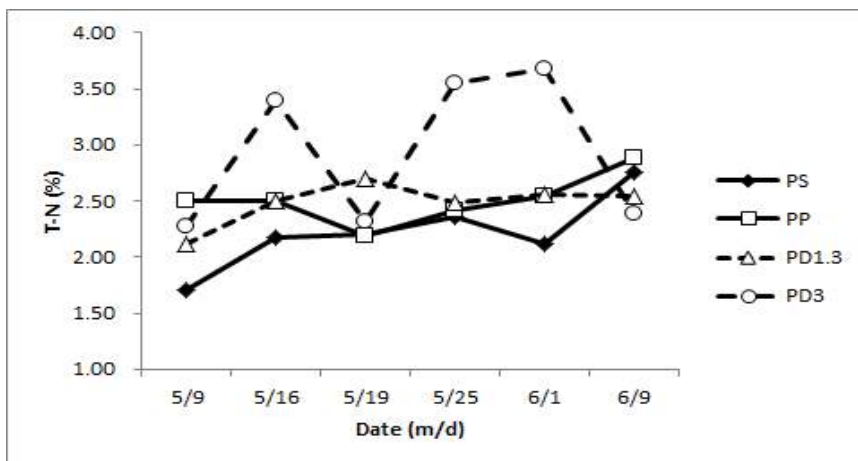


그림 32. 계분발효과정 중 질소함량(total nitrogen; T-N)의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(마) 유기물대 질소의 변화

계분발효 중 유기물대 질소비는 계분과 수분조절제를 혼합한 직후에는 13.7~20.1을 나타내어 수분조절제의 종류에 따라 차이를 나타내었다(그림 33). 유기물대 질소비가 가장 높았던 처리구는 톱밥 처리구(PS)였고, 가장 낮았던 처리구는 피트모스 처리구(PP)였다. 그러나 시험 종료시기에는 13.1~15.9로 톱밥 처리구(PS)와 피트모스 처리구(PP)는 비슷한 경향을 나타내었고, 팽화왕겨 처리구는 상대적으로 약간 낮았지만 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

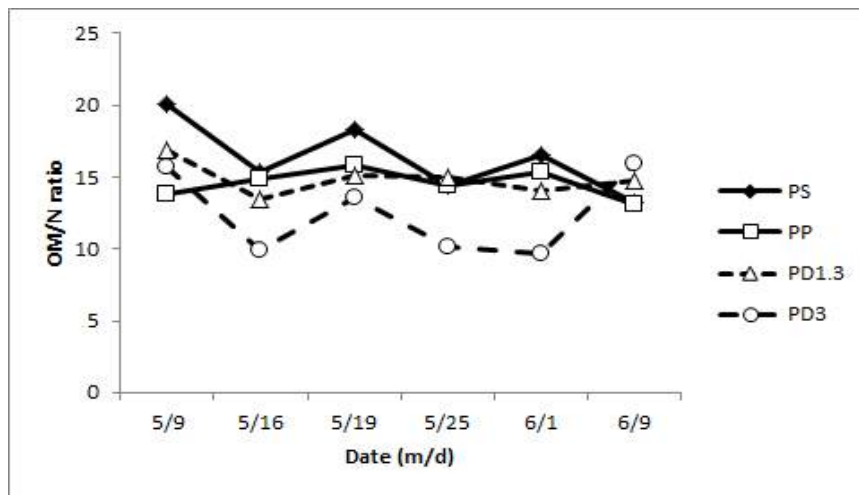


그림 33. 계분발효과정 중 유기물대 질소비(OM/N ratio)의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(바) 인산의 변화

계분의 발효기간 중 인산의 함량은 시료 채취 시기 별로 다소 차이는 있었으나 큰 변화는 나타나지 않았다(그림 34). 시험 종료 후 수분조절제 종류에 따른 인산함량의 차이는 나타나거나 처리구별 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

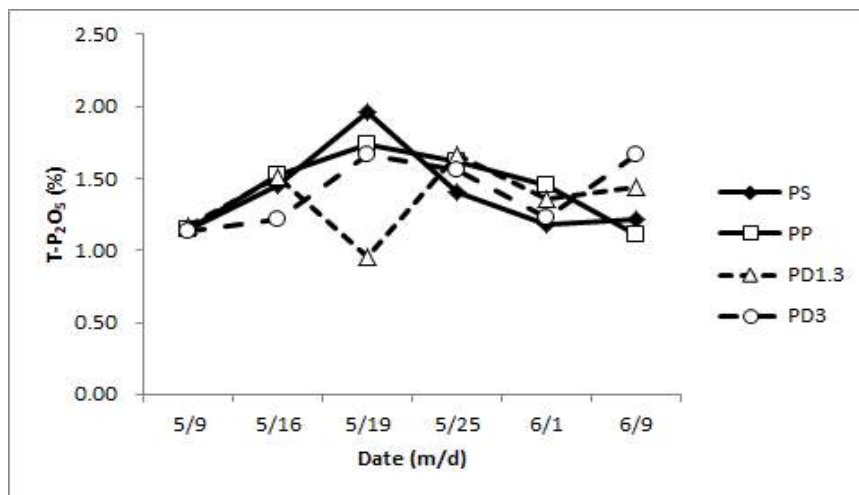


그림 34. 계분발효과정 중 인산함량의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(사) 칼리의 변화

계분의 수분조절제 종류별 발효과정에서 칼리의 함량은 발효 시간의 경과에 따라 증가하는 경향을 나타내었다(그림 35). 배합 직후인 5월 9일에는 0.7~1.1%의 범위를 나타내었으나 시험 종료 후에는 1.5~2.1%로 약 2~3배정도 증가하였다. 이는 계분발효과정에서 단백질 질소에서 암모니아태 질소로 형태가 변하며 공기 중으로 휘산되는 질소와 달리 칼리는 계분더미에 존재하고 있었기 때문으로 판단되며, 수분의 감소에 따라 증가한 것으로 판단된다. 시험 종료 후 수분조절제 종류에 따라 칼리의 함량은 다르게 나타났으나 통계적 유의차를 나타내지 않았다.

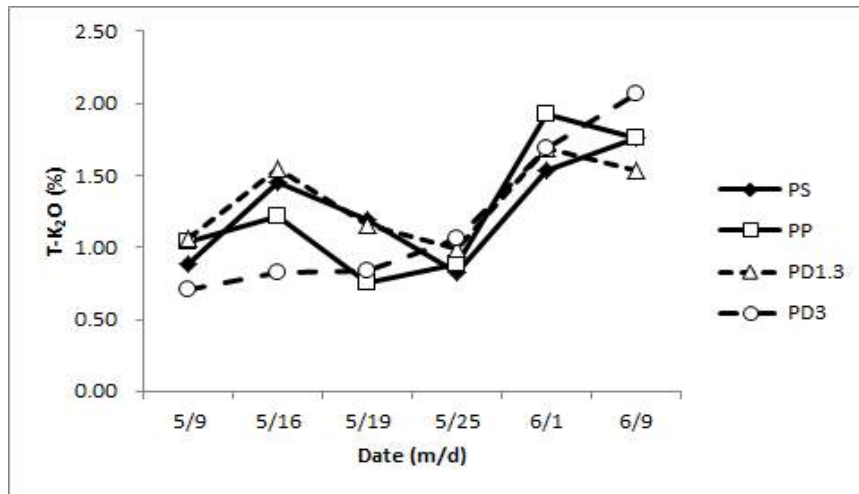


그림 35. 계분발효과정 중 칼리함량의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(아) 암모니아태 질소의 변화

계분발효과정에서 계분더미 중 암모니아태 질소의 변화는 그림 36과 같다. 배합 직후인 5월 9일에는 약 3,003~3,482 mg/kg을 나타내어 처리구간 차이를 나타내지 않았다. 5월 16일과 5월 19일 조사에서 피트모스 처리구(PP)는 계분더미 중 암모니아태 질소함량이 높았으나 톱밥 처리구(PS)와 팽화왕겨 처리구(PD1.3, PD3)는 상대적으로 낮았다. 이는 피트모스가 톱밥이나 팽화왕겨에 비해 양이온치환용량이 높아 암모니아 흡착능력이 우수했기 때문으로 판단된다. 본 연구에서도 자재별 암모니아 흡착능을 시험한 그림 8에서도 비슷한 특성을 나타내었다. 하지만, 5월 25일 조사에서 처리구별 차이를 나타내지 않은 것은 계분의 분해에 따라 다양한 유기산이 발생하면서 암모니아태 질소를 흡착하고 있었기 때문으로 판단되었다.

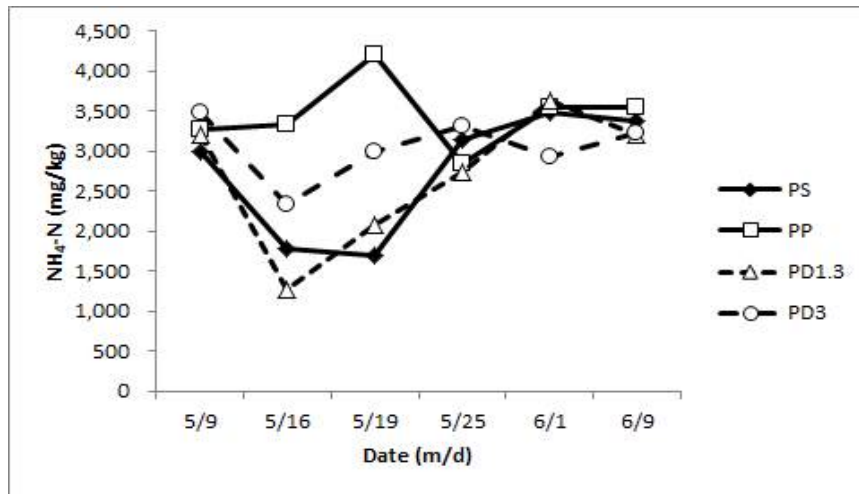


그림 36. 계분발효과정 중 암모니아태 질소함량의 변화.

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(자) 암모니아태 질소 대 총질소의 비율

수분조절제 종류별 계분의 발효기간 중 암모니아태 질소와 총질소의 비율을 조사하였다(그림 37). 계분더미 중 암모니아태 질소함량이 높다는 것은 계분더미 중 암모니아 흡착량이 많았고, 암모니아의 휘산이 상대적으로 적었다는 것을 의미하여 악취발생이 상대적으로 낮다고 추정할 수 있고, 반면에 암모니아태 질소의 비율이 낮다는 것은 계분더미 중 암모니아태 질소의 함량이 적고 공기 중으로 휘산된 양이 많다는 것으로 악취발생이 많다고 추정할 수 있다. 따라서 이 결과를 통해 악취를 개선하는 수분조절제는 피트모스 처리구(PP)인 것으로 판단된다. 피트모스가 양이온치환용량이 높아 암모니아 흡착이 우수했던 점을 고려한다면 흡착능력이 우수한 부식산분말을 추가적으로 처리한다면 악취개선에 도움이 될 것으로 판단되었다.

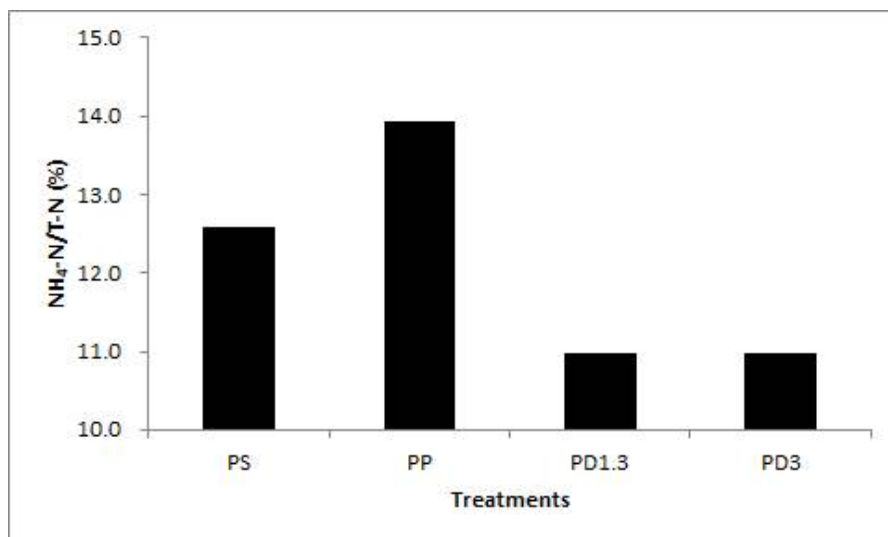


그림 37. 계분발효 후 암모니아태 질소 대 총질소의 비율(평균값).

(PS: 계분+ 톱밥, PP: 계분+ 피트모스, PD1.3: 계분+ 팽화왕겨1, PD3: 계분+ 팽화왕겨2)

(차) 가공계분의 성분함량

발효가 완료된 후 건조된 가공계분의 이화학성을 분석하여 가공계분의 비료공정규격기준에 적합성 여부를 평가한 결과, 수분은 20%이하를 나타내어 기준에 적합하였고, 유기물은 47.6~51.6%로 가공계분의 규격인 30% 이상을 나타내었으며, 질소, 인산, 칼리함량의 합계는 7.43~8.28%로 가공계분의 기준인 6% 이상을 나타내어 가공계분의 규격에 적합하였다(표 29). 가공계분 중 질소함량은 2.76~3.65%로 계분+ 톱밥 처리구에서 가장 낮았고, 계분+ 피트모스 처리구에서 가장 높았다. 생산된 가공계분의 품질 조사에서 피트모스를 처리한 가공계분 처리구의 질소, 인산, 칼리의 함량이 가장 높고, 작물의 생육과 품질에 가장 큰 영향을 주는 질소함량이 높아 수분조절제로서 피트모스가 가장 우수한 것으로 평가하였다.

표 29. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
톱밥	19.1	50.3	2.76	1.93	2.74	18.2
			7.43			
피트모스	19.7	47.6	3.65	1.89	2.74	13.0
			8.28			
팽화왕겨1.3	19.2	51.6	3.44	1.69	2.90	15.0
			8.03			
팽화왕겨3.0	19.6	50.2	3.05	2.05	2.53	16.4
			7.63			
가공계분의 비료공정규격	20% 이하	30% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 6% 이상			-

(4) 결론

가공계분을 생산하기 위한 수분조절제 종류별 계분의 발효 시험을 수행한 결과는 다음과 같다. 시험기간 동안 온도, 수분, 질소, 유기물대 질소비, 인산 및 칼리 등은 각 처리구별 차이를 나타내지 않았다. 시험 종료 후 유기물함량은 톱밥 처리구(PS)에서는 약간 낮았고, 피트모스 처리구(PP)와 팽화왕겨 처리구(PD1.3, PD3)에서는 상대적으로 높았다. 시험기간 중 암모니아태 질소나 시험기간 동안의 암모니아태 질소와 총질소비 평균값과 시험 종료 후 질소, 인산, 칼리의 합량은 피트모스 처리구에서 가장 높았다. 이러한 결과들을 종합할 때, 수분조절제로서 피트모스가 적합한 것으로 확인되었다.

라. 부식산분말의 처리에 따른 계분발효 특성

(1) 시험목적

선행연구에 따르면 부식산분말 3% 처리는 가축분퇴비의 발효에서 악취를 개선하고, 발효를 촉진하는 것으로 알려져 있어 계분발효 시 부식산분말 3% 처리 시 악취를 개선하였고, 발효 효과를 개선할 수 있는 부식산 처리시기를 평가하기 위해 시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 연구는 2017년 5월부터 6월까지 경기도 안성시에 위치한 효성오앤비(주) 안성공장에서 2개월 동안 수행하였다. 계분의 발효 시험에서 계분은 퇴비공장 주변의 양계농가에서 반출되는 것으로 수분함량이 51.6%이며, 수분조절제로는 피트모스를 사용하였으며, 악취개선 및 발효개선제로서 부식산분말을 이용하였고, 그 각각의 이화학적 특성은 표 30과 같다.

표 30. 계분발효 원료의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
계분	51.6	30.7	1.84	1.34	0.97	16.7
피트모스	53.3	45.6	0.42	0.13	0.02	108.6
부식산분말	16.3	75.4	0.92	ND*	ND	82.0

*ND: not detected (불검출, 검출한계 미만).

(나) 시험방법

부식산분말의 처리시기별 계분의 발효특성을 조사하기 위해 표 29와 같이 처리구를 설정하였다. 계분과 피트모스를 혼합한 대조구, 부식산분말을 피트모스와 함께 혼합한 0일차 처리구(PPH0), 부식산분말을 발효 시작 후 10일경에 처리한 10일차 처리구(PPH10), 부식산분말을 발효종료시기인 발효 시작 30일경에 처리한 30일차 처리구(PPH30)로 구분하였고, 계분과 피트모스는 C/N율을 고려하여 중량비로 10%씩 넣고 배합하였다(표 31). 배합 후에는 퇴비화에 적합하도록 초기 수분을 50%로 조절하였고, 각각 처리구당 1,000 kg씩 적재하였다(그림 38). 시험기간 동안 공기는 주입하지 않았고, 주당 1~2회 씩 뒤집기를 실시하였다.

표 31. 계분발효 처리구별 배합비율

처리구	배합비율(% , w/w)			비고
	계분	피트모스	부식산분말	
대조구	90	10	-	PP
0일차 처리*	90	10	3	PPH-0d
10일차 처리	90	10	3	PPH-10d
30일차 처리	90	10	3	PPH-30d

*계분+ 피트모스에 추가적으로 부식산분말 3% 처리하여 원료 배합량이 대조구 대비 총 103%였음.



그림 38. 부식산분말 추가에 따른 계분발효 및 악취개선 시험.

(왼쪽부터 대조구, 부식산분말 0일차 처리구, 부식산분말 10일차 처리구 부식산분말 30일차 처리구)

계분의 발효 특성을 분석하기 위해 온도변화, 수분함량변화, 유기물(OM), 전질소(T-N), 유기물대 질소비(OM/N) 등을 조사하였다. 퇴비화 기간 중 시료의 채취는 5월 9일, 5월 16일, 5월 19일, 5월 25일, 6월 1일, 6월 9일에 실시하였다. 퇴비의 온도변화는 디지털온도계 (A1.T9304C, Daihan, Korea)를 이용하여 수시로 측정하였고, 수분함량은 건조법, OM은 회화법 및 T-N은 켈달증류법, 인산은 바나도몰리브데이트법, 칼리는 원자흡광법으로 농촌진흥청의 비료의 품질검사 및 시료채취기준에 준하여 분석하였다. 암모니아태 질소는 2M KCl로 추출하여 켈달증류법으로 정량하였다.

(3) 결과

(가) 온도의 변화

부식산 처리시기별 계분발효 중 온도의 변화는 그림 39와 같다. 혼합 직후인 5월 9일에는 36.5~39.2℃의 범위를 나타내었고, 처리구간 유의차는 나타나지 않았다. 7일이 경과한 5월 16일에는 56.0~62.1℃의 범위를 나타내어 계분의 발효가 진행되고 있었다. 이후 온도는 시험 종료시기인 6월 9일까지 60℃의 범위를 나타내었고, 처리구간 차이를 나타내지 않았다. 시험 종료 후에는 송풍기를 이용해 건조하였고, 건조시기에는 온도를 측정하지 않았다. 시험과정에서 계분더미의 온도변화는 부식산 처리 및 처리 시기별 발효온도의 변화는 확인할 수 없었다.

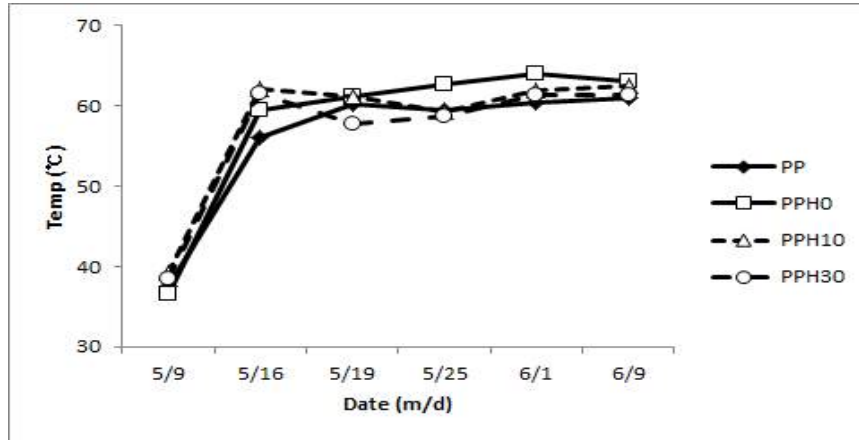


그림 39. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 온도 변화.
 (PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차 ,
 PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(나) 수분의 변화

부식산 처리 시기별 계분의 발효과정 중 수분함량의 변화는 그림 40과 같다. 5월 9일의 수분함량은 $50 \pm 2\%$ 로 퇴비화에 적합하였고, 시험기간 중 수분함량은 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 수분함량의 변화는 계분의 발효가 시작된 후 10일 동안은 거의 나타나지 않았고, 이후 점차적으로 수분함량이 감소하기 시작하였다. 시험 종료 시기인 6월 9일(30일차)의 처리구별 수분함량은 $39 \pm 2\%$ 를 나타내어 배합직후 보다 10%정도 차이를 나타내었다. 시험 종료 후 부식산처리구에서 5~9% 정도 수분이 더 감소하였으나 가공계분으로 사용하기 위해서는 건조의 시간이 필요하였다. 건조기가 설치되지 않아 송풍기를 이용하여 자연건조 하였고, 가공계분의 기준인 20% 이하의 수분을 나타내는데 약 15일 이상이 소요되었고, 암모니아의 발생이 많아 자연건조하는 방법은 질소의 손실이 많아 건조장치의 설치가 필요하였다.

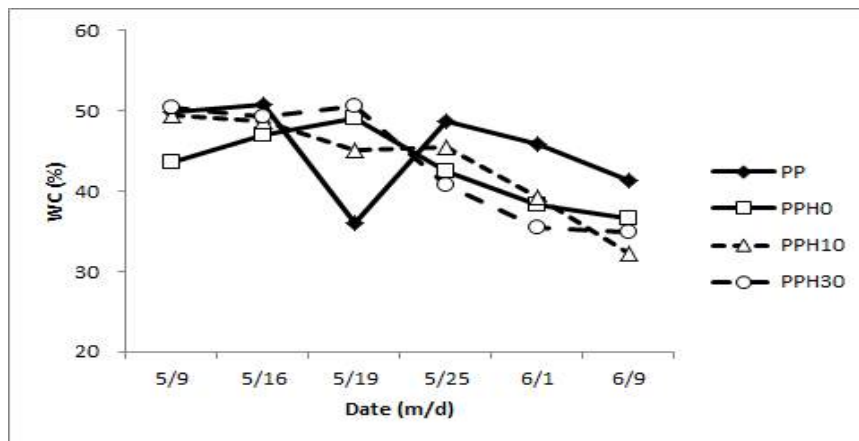


그림 40. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 수분함량 변화.
 (PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차 ,
 PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(다) 유기물의 변화

부식산분말의 처리에 의한 유기물의 변화는 시간의 경과에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었다(그림 41). 배합 직후의 유기물함량은 33.2~38.5%의 범위를 나타내었고, 부식산분말 0일차 처리구(PPH0)에서 높게 나타났으며, 이는 배합 시 부식산분말을 3% 혼합하였기 때문으로 판단된다. 시험 중 유기물의 함량은 부식산분말 10일차 처리구(PPH10)는 5월 25일 조사에서 유기물함량이 증가하였고, 부식산분말 30일차 처리구(PPH30)는 6월 9일 조사에서 유기물함량이 증가하였다. 시험 종료 후 계분 더미 중 유기물함량은 부식산분말 처리구에서 유기물함량이 증가하였고, 이는 부식산분말이 유기물 원료로 작용했기 때문으로 판단된다.

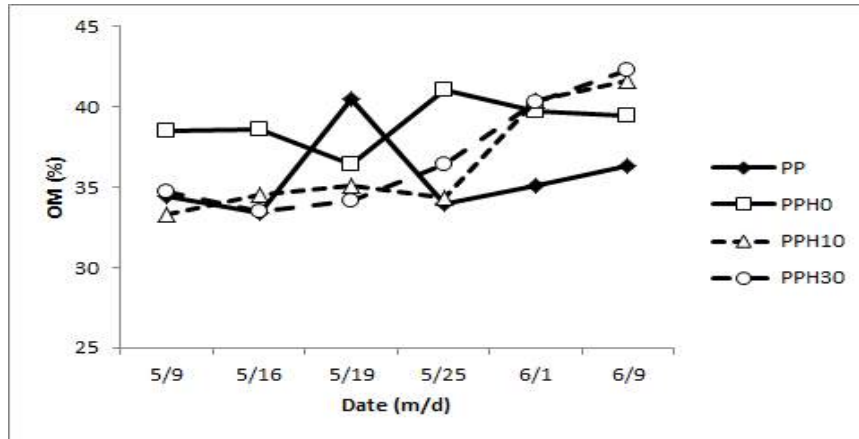


그림 41. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 유기물함량 변화.

(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차, PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(라) 질소의 변화

계분발효 시 부식산분말 처리시기별 질소함량의 변화는 그림 42와 같다. 부식산분말 0일차 처리구와 10일차 처리구에서 질소함량이 점차 증가하였고, 대조구와 부식산분말 30일차 처리구는 약간 낮았다. 시험 종료 후 계분더미 중 질소함량은 부식산분말 0일차 처리구(PPH0)에서 가장 높았으나 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

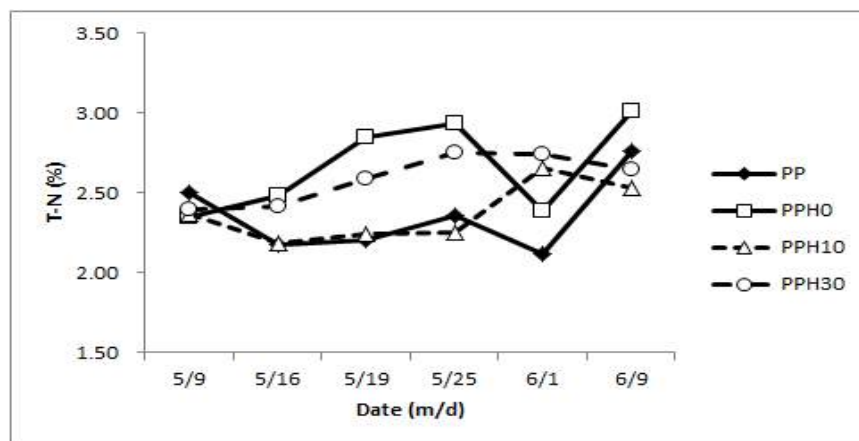


그림 42. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 질소함량 변화.

(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차, PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(마) 유기물대 질소의 변화

계분발효 중 부식산의 첨가에 따른 유기물대 질소비는 5월 9일에 13.8~16.4을 나타내었고, 부식산분말을 공급한 PPH0 처리구에서 약간 높게 나타났다(그림 43). 시험 종료 후 유기물대 질소비는 13.1~16.4를 나타내었고, 처리구별 차이는 나타나지 않았다.

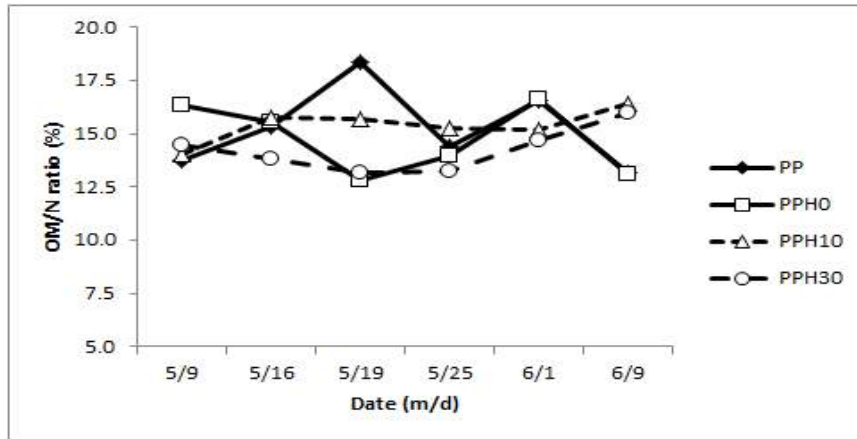


그림 43. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 유기물대질소비 변화.
(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차, PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(바) 인산의 변화

부식산 첨가 시기별 계분의 발효 중 인산의 함량은 처리구별 차이를 나타내지 않았고, 비슷한 함량변화를 나타내었다(그림 44).

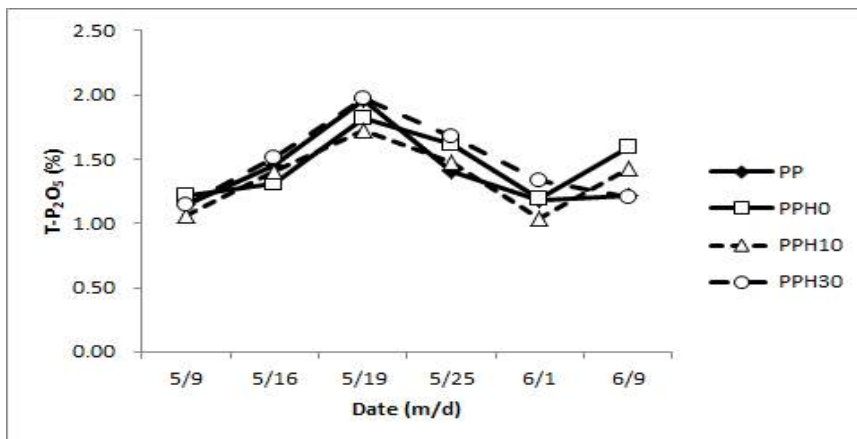


그림 44. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 인산함량 변화.
(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차, PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(사) 칼리의 변화

부식산분말 처리 시기별 계분의 발효과정 중 칼리의 함량은 시간의 경과에 따라 증가하는 경향을 나타내었다(그림 45). 배합 직후인 5월 9일에는 0.8~1.0%의 범위를 나타내었으나 시험 종료 후에 1.7~2.0%로 약 2배정도 증가하였다. 시험 종료 후 수분조절제 종류에 따라 칼리의 함량은 다르게 나타났으나 통계적 유의차를 나타내지 않았다.

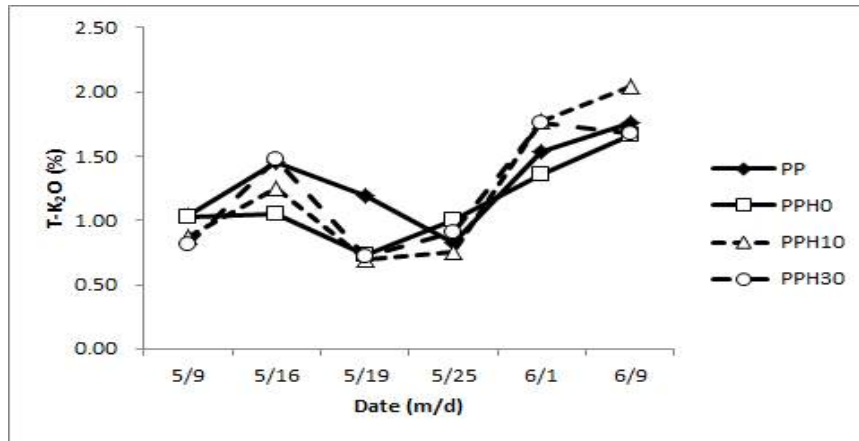


그림 45. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 칼리함량 변화.

(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차 , PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(아) 암모니아태 질소의 변화

부식산분말의 처리에 따른 계분발효과정 중 암모니아태 질소의 변화는 그림 46과 같다. 배합 직후인 5월 9일에는 약 3,268~5,398 mg/kg을 나타내어 처리구별로 약간의 차이를 나타내었으나 5월 25일 조사 이후 처리구별 암모니아태 질소의 차이는 나타나지 않았다.

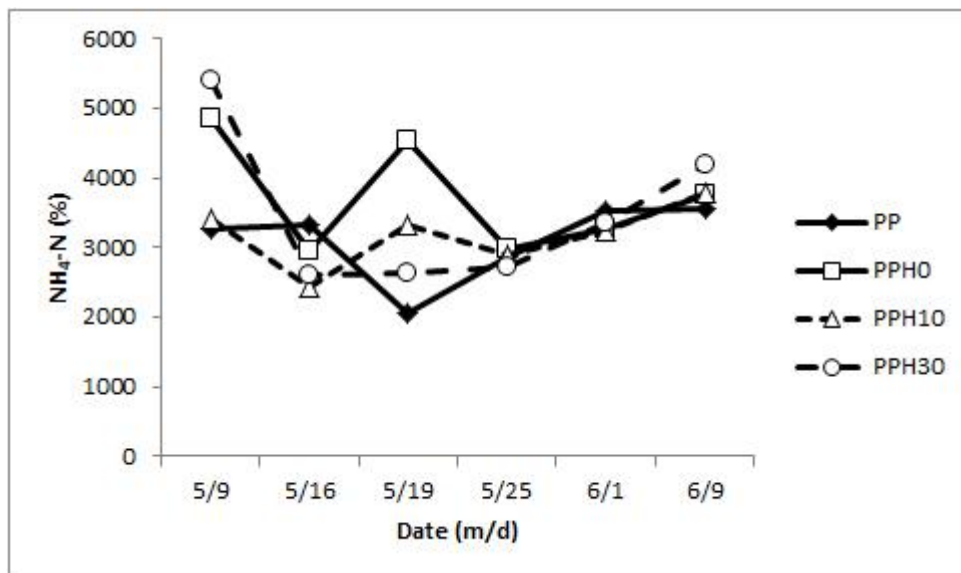


그림 46. 계분발효 중 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 암모니아태 질소함량 변화.

(PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차 , PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(자) 암모니아태 질소대 총질소의 비율

부식산분말 처리 시기별 발효기간 동안 계분더미 중 암모니아태 질소와 총질소의 비율을 조사하였다(그림 47). 부식산 처리시기별 다소 차이는 있었으나 부식산분말 0일차 처리구에서 총질소 중 암모니아태 질소의 비율이 증가하여 부식산분말은 원료와 함께 처리하는 것이 적절하였다.

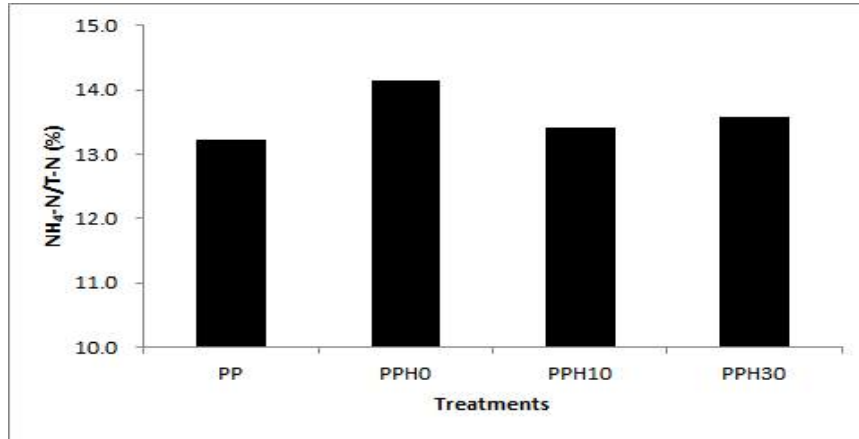


그림 47. 계분발효 종료 후 부식산분말 처리 시기별 계분더미의 암모니아태 질소와 총질소함량비(평균값). (PP: 계분+ 피트모스, PPH0: PP+ 부식산분말 0일차, PPH10: PP+ 부식산분말 10일차, PPH30: PP+ 부식산분말 30일차)

(차) 암모니아가스 측정 및 악취지수

계분발효 중 부식산분말의 처리에 따라 시기별 계분더미 중 암모니아가스를 측정하였다(표 32). 부식산분말을 처리한 후 암모니아가스가 감소하나 시간이 경과하면서 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았다. 이는 부식산분말이 양이온치환용량이 높아 흡착력이 우수하여 혼합 직후에는 암모니아가스를 흡착하나 흡착능력을 초과하게 되면 발생하는 암모니아가스를 지속적으로 방출하기 때문으로 추정된다. 그러나 달관조사를 통해 악취를 평가할 경우 부식산분말의 처리 시 악취지수가 감소하였다(자료는 보이지 않음).

표 32. 계분발효과정 중 암모니아가스 측정

계분발효원료	챔버에서 흡입한 암모니아가스 (ppm)		
	5월 16일	6월 1일	6월 9일
대조구	2,049a	1,973a	2,133a
부식산분말 0일차 처리	1,786b	1,869ab	2,017a
부식산분말 10일차 처리	1,978a	1,762b	1,869b
부식산분말 30일차 처리	2,109a	2,037a	1,679b

*암모니아가스는 간이챔버에서 기기가 안정화 될 때까지 흡입하여 측정된 것으로 실제 대기 중의 농도와 차이가 있음.

(카) 가공계분의 성분함량

발효가 완료된 후 건조된 가공계분의 이화학성을 분석하여 가공계분의 비료공정규격기준에 적합성을 평가한 결과, 수분은 20%이하를 나타내어 기준에 적합하였고, 유기물은 47.6~54.5%로 가공계분의 규격인 30% 이상을 나타내었으며, 질소, 인산, 칼리함량의 합계는 7.11~8.29%로 가공계분의 기준인 6% 이상을 나타내어 가공계분의 규격에 적합하였다(표 33). 가공계분 중 질소함량은 2.86~3.65%로 대조구에서 가장 높았으나 부식산분말 처리구와 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

표 33. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
			(%)			
대조구	19.7	47.6	3.65	1.89	2.74	13.0
			8.29			
부식산분말 0일차처리	19.6	52.2	3.13	1.73	3.01	16.7
			7.87			
부식산분말 10일차처리	19.4	50.4	2.86	1.75	2.51	17.6
			7.11			
부식산분말 30일차처리	19.5	54.5	2.93	1.63	2.63	18.6
			7.19			
가공계분의 비료공정규격	20% 이하	30% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 6% 이상			-

(4) 결론

가공계분을 생산 시 악취를 개선하기 위해 부식산분말의 처리 시기별 계분의 발효 시험을 수행한 결과는 다음과 같다. 시험기간 동안 온도, 수분, 질소, 인산 및 칼리 등은 각 처리구별 차이를 나타내지 않았다. 시험 종료 후 유기물함량과 유기물대 질소비는 유기물원인 부식산을 처리한 계분더미에서 높게 나타났고, 처리시기에 영향을 받았다. 시험기간 중 암모니아태 질소나 시험기간 동안의 암모니아태 질소와 총질소비 평균값으로 볼 때, 부식산분말 0일차 처리구에서 높았고, 시험 종료 후 질소, 인산, 칼리의 합량은 피트모스 처리구와 부식산분말 0일차 처리구에서 높게 나타났다. 이러한 결과들을 종합할 때, 가공계분의 생산 시 악취개선을 위해 부식산분말을 공급하는 경우 원료배합 시 혼합하는 것이 적합한 것으로 판단되었다.

마. 미생물처리에 의한 계분발효공정시험

(1) 시험목적

선발된 악취개선미생물의 처리에 의한 계분의 발효공정개선을 평가하기 위해 시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 연구는 2017년 5월부터 6월까지 경기도 안성시에 위치한 효성오앤비(주) 안성공장에서 2개월 동안 수행하였다. 계분의 발효 시험에서 계분은 퇴비공장 주변의 양계농가에서 반출되는 것으로 수분함량이 51.6%이며, 수분조절제로는 피트모스를 사용하였으며, 약취개선 및 발효개선제로서 부식산분말을 이용하였고, 그 각각의 이화학적 특성은 표 34와 같다.

표 34. 계분발효 원료의 이화학적 특성

계분발효원료	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
계분	51.6	30.7	1.84	1.34	0.97	16.7
피트모스	53.3	45.6	0.42	0.13	0.02	108.6
부식산분말	16.3	75.4	0.92	ND*	ND	82.0
미생물제제**	9.8	ND	ND	ND	ND	ND

*ND: not detected (불검출, 검출한계 미만).

**미생물제제는 목원대학교에서 공여된 4종의 기능성미생물인 *G. caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *G. kaustophius* P11, *P. fimeticola* 6JPJ-6 및 *Brevibacillus* sp. ATB1111을 이용하여 제형화한 제제로서 제형은 수화제였고, 미생물생균수는 7.2×10^7 cfu/g이었었음.

(나) 시험방법

계분의 발효를 위해 계분, 피트모스 및 부식산분말을 각각 87%, 10% 및 3% 씩 중량비로 혼합하였다. 처리구는 미생물제제를 처리하지 않은 대조구와 미생물제제를 처리한 미생물 처리구로 구분하였다(표 35). 미생물제제의 처리는 목원대학교에서 공여받은 미세캡슐화된 캡슐제를 시험전에 5%처리하여 혼합하였고, 효성오앤비에서 고상으로 제형화한 미생물제제 1 kg을 수돗물 20 L에 희석하여 분무기에 담아 계분더미에 골고루 살포하였으며, 살포는 주 1회 실시하였다. 배합 후에는 계분의 수분을 조사한 결과, 발효에 적합한 50%를 나타내어 수분을 공급하지 않았고, 각 처리구당 5,000 kg씩 적재하였다(그림 48). 시험기간 동안 공기는 주입하지 않았고, 주당 1~2회 씩 포크레인을 이용하여 뒤집기를 실시하였다.

표 35. 계분발효 처리구별 배합비율

처리구	배합비율(% w/w)			미생물제제
	계분	피트모스	부식산	
대조구	87	10	3	-
미생물 처리구	87	10	3	1 kg/5 ton*

*미생물제제는 20배 희석하여 살포함.



그림 48. 미생물처리에 의한 계분발효공정개선시험(좌: 대조구, 우: 미생물 처리구).



그림 49. 포크레인을 이용한 원료 혼합.

계분의 발효 특성을 분석하기 위해 온도변화, 수분함량변화, 유기물(OM), 전질소(T-N), 유기물대 질소비(OM/N) 등을 조사하였다. 계분발효 기간 중 시료의 채취는 5월 9일, 5월 16일, 5월 19일, 5월 25일, 6월 1일, 6월 9일에 실시하였다. 계분더미의 온도변화는 디지털온도계(A1.T9304C, Daihan, Korea)를 이용하여 수시로 측정하였고, 수분함량은 건조법, OM은 회화법 및 T-N은 켈달증류법, 인산은 바나도몰리브데이트법, 칼리는 원자흡광법으로 농촌진흥청의 비료의 품질검사 및 시료채취기준에 준하여 분석하였다. 암모니아태 질소는 2M KCl로 추출하여 켈달증류법으로 정량하였고, 미생물제제 처리 전과 후의 암모니아가스는 휴대용 암모니아가스 측정기(SA-M201, RS코리아)를 이용하여 측정하였다. 미생물처리에 의한 발효기간을 평가하기 위해 발아지수를 6월 1일, 6월 9일, 6월 16일에 시료를 채취하여 조사하였다.

(3) 결과

(가) 온도의 변화

미생물처리에 따른 계분발효 중 온도의 변화는 그림 50과 같다. 혼합 직후인 5월 9일에는 $38.0 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 의 범위를 나타내어 처리구간 유의차는 나타나지 않았고, 시험기간 동안 거의 비슷한 온도를 나타내어 처리구간 차이를 나타내지 않았다. 시험 종료 후인 6월 9일에는 송풍기를 이용해 건조하였고, 건조시기에는 온도를 측정하지 않았다. 계분발효 시 미생물의 처리에 따른 온도의 변화는 확인할 수 없었다.

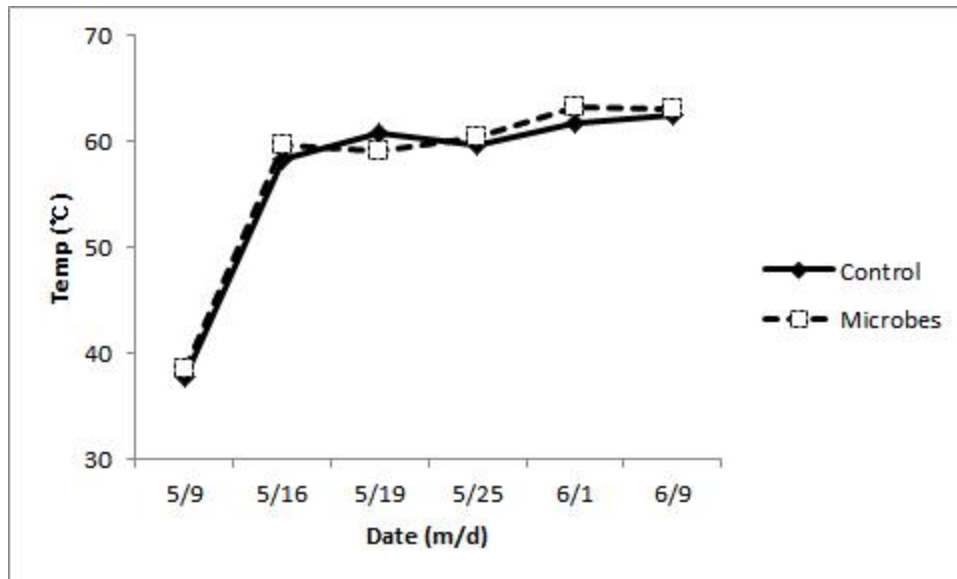


그림 50. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 온도 변화.

(나) 수분의 변화

미생물의 처리에 의한 계분발효과정 중 수분함량의 변화는 그림 51과 같다. 원료 배합 직후인 5월 9일 조사에서는 대조구는 48%, 미생물 처리구는 50%를 나타내어 처리구간 차이를 나타내지 않았고, 시간이 경과할수록 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 시험 종료 시 수분함량은 대조구보다 미생물 처리구에서 수분함량이 더 감소되었으나 모두 40% 이상의 수분함량을 나타내어 가공계분의 기준인 20%이하로 낮추기 위해서는 건조과정이 필요하였다. 본 연구에서는 시험을 위해 전체 발효량 중에서 일부를 펼쳐서 송풍기를 이용해 건조하였다.

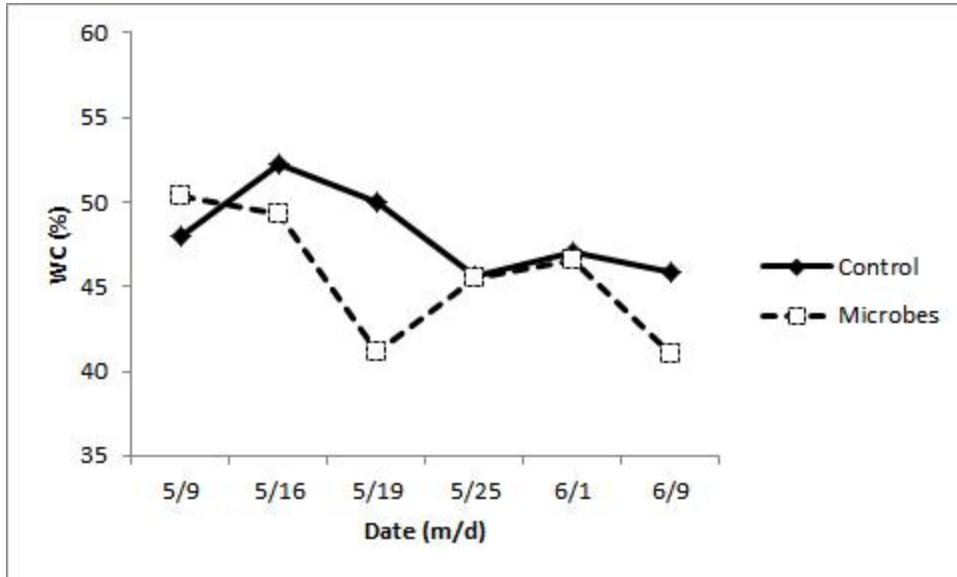


그림 51. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 수분함량 변화.

(다) 유기물의 변화

계분발효과정에서 미생물의 처리에 의한 유기물의 변화는 미생물 처리구에서 유기물함량이 증가하는 경향을 보였다(그림 52). 이는 미생물의 처리에 의해 계분 중 유기물함량이 증가한 것은 아니고, 유기물을 조사하는 과정에서 계분더미의 바이오매스로 분석하였기 때문에 미생물 처리구에서 같은 시기에 상대적으로 수분함량이 낮았기 때문에 증가한 것으로 보인다. 건물중을 기준으로 두 처리구를 비교하였을 때, 유기물함량은 처리구간 차이를 나타내지 않았다(자료는 보이지 않음).

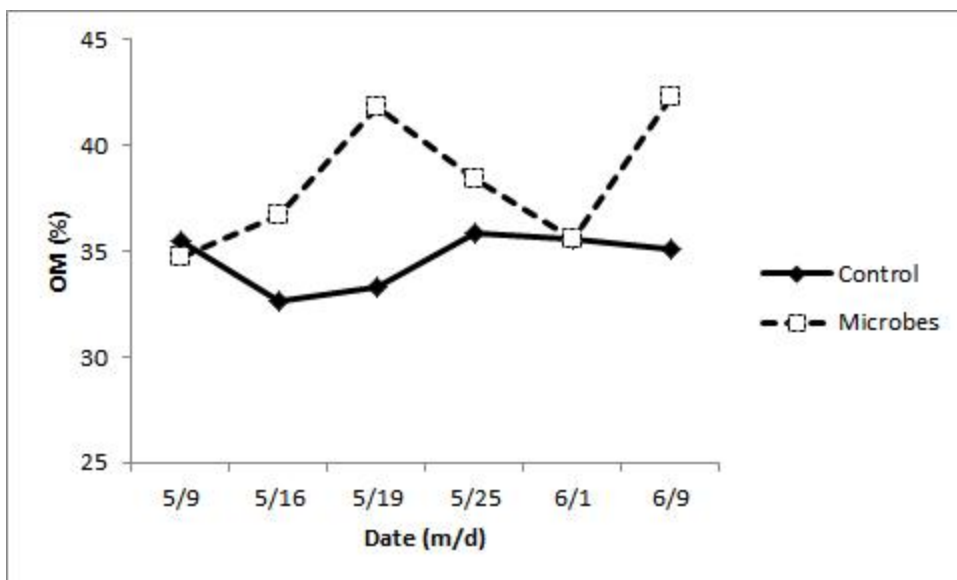


그림 52. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 유기물함량 변화.

(라) 질소의 변화

미생물의 처리에 의한 계분발효과정 중 질소함량의 변화는 그림 53과 같다. 약간의 차이는 있으나 두 처리구의 질소함량의 변화는 비슷하게 나타났고, 미생물의 처리 유무에 따른 계분 중 질소함량의 차이는 나타나지 않았다.

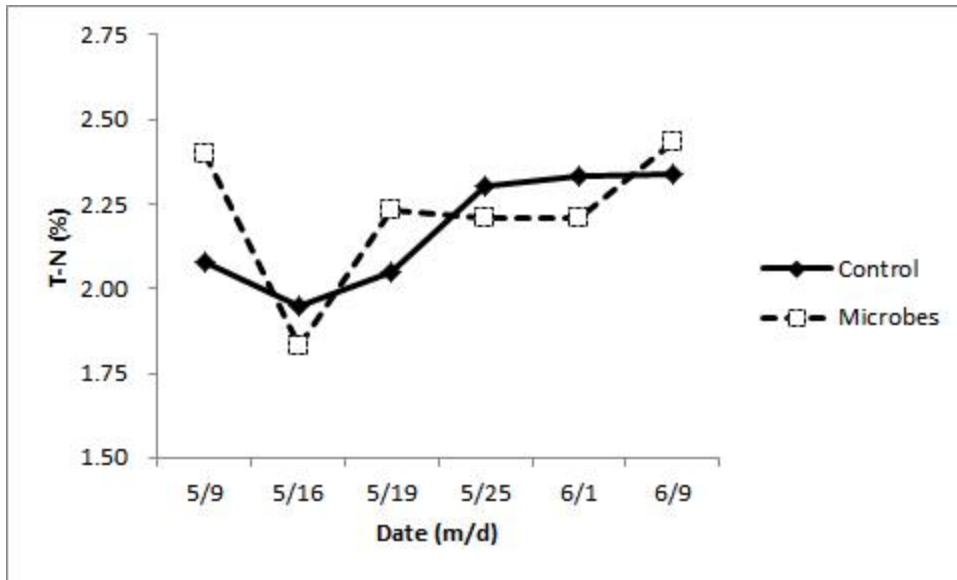


그림 53. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 질소함량 변화.

(마) 유기물대 질소비의 변화

계분발효과정에서 미생물을 처리한 계분에서 유기물대 질소비의 변화는 그림 54와 같다. 대조구에서는 시간의 경과에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었고, 미생물 처리구에서도 시간의 경과에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 배합 직후 채취한 시료에서 유기물대 질소비가 계분발효과정 중 계분발효 시료들과 다른 경향을 나타낸 것은 원료의 배합과정에서 다소 차이가 있었기 때문으로 판단된다.

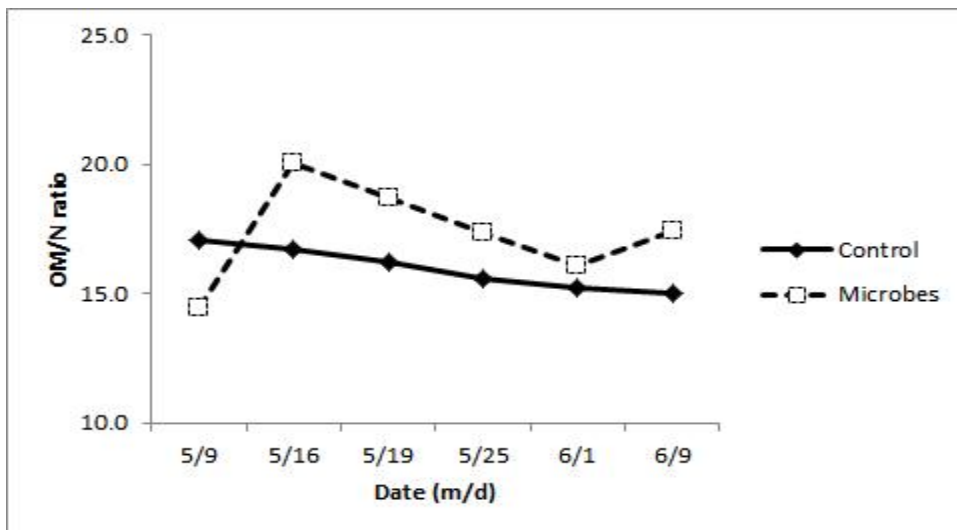


그림 54. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 유기물대 질소비 변화.

(바) 인산의 변화

계분발효 시 미생물의 처리에 따른 인산의 변화는 그림 55와 같다. 두 처리구의 인산함량의 변화는 비슷하게 나타나 미생물의 처리에 의한 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

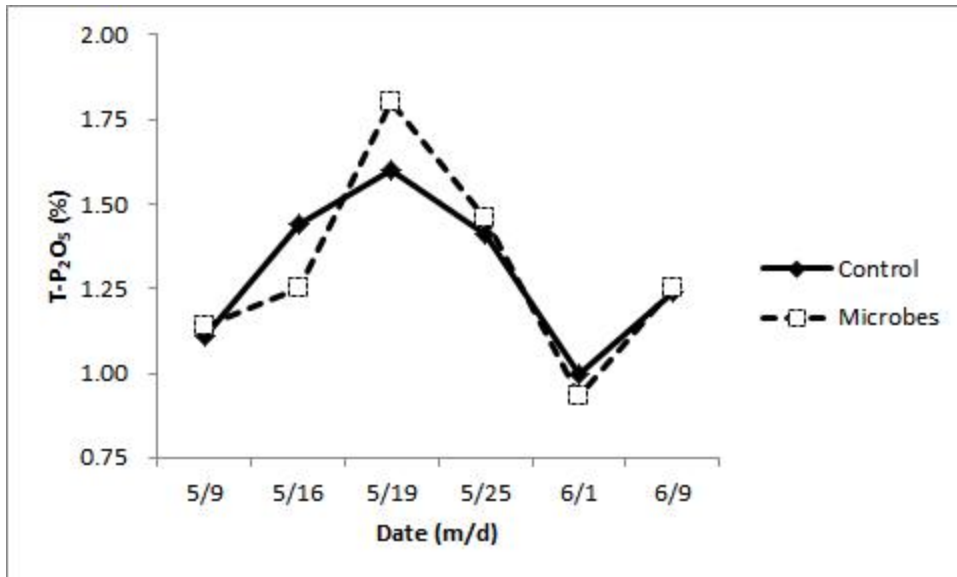


그림 55. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 인산함량 변화.

(사) 칼리의 변화

계분발효 시 미생물 처리에 따른 계분 중 칼리함량의 변화는 그림 56과 같다. 처리구별 칼리함량은 다소 차이가 있으나 비슷한 경향을 나타내어 미생물의 처리가 가공계분의 칼리함량 변화에 미치는 영향은 미미하였다.

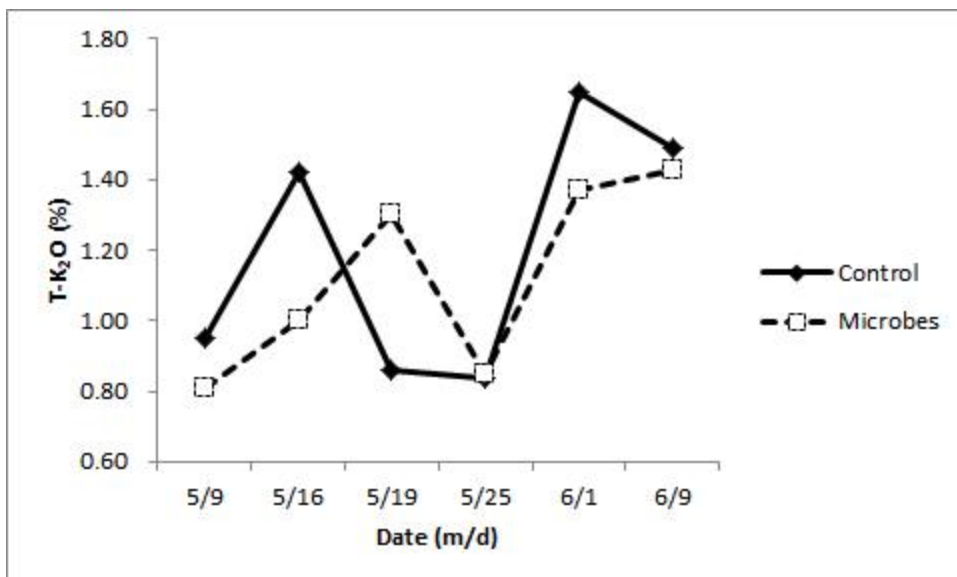


그림 56. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 칼리함량 변화.

(아) 암모니아태 질소의 성분함량

계분발효과정에서 미생물의 처리에 의한 계분 더미 중 암모니아태 질소의 변화는 그림 57과 같다. 암모니아태 질소는 점차 감소하는 경향을 보였고, 시험 종료 시 미생물처리에 의해 암모니아태 질소함량이 감소하였으나 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

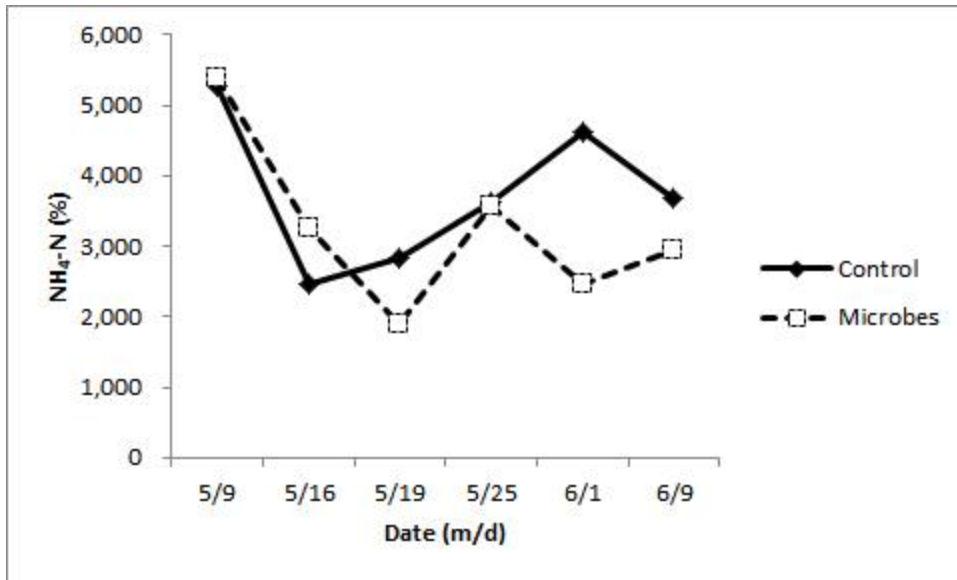


그림 57. 계분발효 중 미생물 처리에 따른 계분더미의 암모니아태 질소함량 변화.

(자) 암모니아가스 발생

계분발효 중 미생물 후 계분 더미 중 암모니아가스의 발생여부는 발효 초기인 5월 16일과 발효종료시기인 6월 9일에 조사하였다. 5월 16일 조사에서는 미생물처리 전 대조구와 미생물 처리구는 각각 146 ppm과 139 ppm을 나타내었고, 미생물처리 후 미생물 처리구는 약 58 ppm을 나타내어 미생물처리 후 암모니아가스 발생량이 약 58.3% 감소하였다. 6월 9일 조사에서는 미생물처리 전 대조구와 미생물 처리구의 암모니아가스는 각각 217 ppm과 103 ppm으로 조사되어 미생물 처리구에서 암모니아가스 발생량이 약 52.5% 감소한 것으로 나타났다.

(차) 계분발효 중 발아지수

계분발효과정에서 미생물의 처리에 의한 계분 더미 중 발효정도를 조사하기 위해 발아지수를 통해 부숙도를 평가하였다(표 36). 6월 1일 조사에서는 대조구와 미생물 처리구에서 각각 54와 68을 나타내어 퇴비의 부숙도 기준인 70이하로 나타나 발효과정이 더 필요하였다. 6월 9일 조사에서는 대조구와 미생물 처리구가 각각 59와 79를 나타내어 미생물 처리구에서 발효가 완료되었음을 확인하였다. 대조구의 발효완료시점을 파악하기 위해 7일 경과 후인 6월 16일 조사에서 대조구와 미생물 처리구는 73과 72를 나타내어 모두 부숙이 완료되어 발효가 종료되었음을 확인하였다. 발효종료시점이었던 6월 16일을 기준으로 계분발효 시기까지 대조구는 39일이 소요되었고, 미생물 처리구는 약 30일정도가 소요되어 미생물처리 시 약 17.9%의 발효기간이 단축되는 것을 확인하였다.

표 36. 계분발효기간 중 부숙도 변화

처리구	6월 1일 (23일)*	6월 9일 (32일)	6월 16일 (39일)	부숙도기준
대조구	54	59	73	70 이상
미생물 처리구	68	79	72	70 이상

*괄호안의 숫자는 시험시작 후 경과일수를 나타냄.

(카) 가공계분의 성분함량

발효가 완료된 후 건조된 가공계분의 이화학적성을 분석하여 가공계분의 비료공정규격기준에 대한 적합성을 평가하였다(표 37). 수분은 20%이하를 나타내어 기준에 적합하였고, 유기물은 약 49%로 가공계분의 규격인 30% 이상을 나타내었으며, 질소, 인산, 칼리함량의 합계는 7.14~7.76%로 가공계분의 기준인 6% 이상을 나타내어 가공계분의 규격에 적합하였다. 가공계분 중 질소함량은 대조구에서 2.66%, 미생물 처리구에서 2.78%로 미생물을 처리한 가공계분에서 약간 높았으나 통계적 유의차는 나타나지 않았다.

표 37. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

처리구	수분함량	유기물	질소	인산	칼리	유기물대 질소비
	(%)					
대조구	19.7	49.2	2.66	1.74	2.74	18.5
			7.14			
미생물 처리구	19.2	49.0	2.78	1.73	3.25	17.6
			7.76			
가공계분의 비료공정규격	20% 이하	30% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 6% 이상			-

(타) 미생물 이용에 의한 발효공정개선 및 발생비용

계분발효과정에서 미생물의 처리에 의해 가공계분의 발효과정 중 이화학적성의 차이는 나타나지 않았다. 하지만 미생물의 처리 시 52.5~58.3%정도 암모니아가스 발생량이 감소하였고, 부숙도를 기준으로 평가할 때, 계분발효공정은 약 17% 정도 단축되는 것을 확인할 수 있었다. 시험 종료 후 미생물 처리에 따른 질소, 인산, 칼리의 합계량은 약 8.7% 증가하였다.

미생물의 처리하여 가공계분을 생산하는 경우 미생물제제의 비용은 캡슐제는 18.4 원/kg이 소요되었고, 수화제 제형의 미생물제제는 1회 처리 시 약 0.17원/kg이 소요되어 계분발효기간 동안 총 4회 처리한다고 가정하였을 때, 약 0.68원/kg이 소요되었으며, 5톤 시험에서 수행하지 않았으나 대량배양한 미생물을 처리하는 경우 약 0.012원/kg이 소요될 것으로 예상되어 가공계분 생산 시 미생물의 처리비용은 약 19.1원/kg으로 판단되었다.

(4) 결론

가공계분을 생산 시 계분의 발효공정을 개선하기 위해 미생물의 처리에 따른 계분의 발효 시험을 수행한 결과는 다음과 같다. 시험기간 동안 온도, 수분, 유기물, 질소, 유기물대 질소비, 인산, 칼리 및 암모니아태 질소 등은 각 처리구별 차이를 나타내지 않았다. 시험 종료 후 가공계분에 대한 이화학적 특성의 분석결과, 미생물을 처리한 가공계분에서 질소, 인산 및 칼리의 합계량이 증가하여 가공계분 생산 시 미생물을 처리하는 것이 적합한 것으로 판단되었다.

마. 가공계분의 비료학적 검토

(1) 시험목적

발효과정을 통해 생산된 가공계분의 주성분과 유해성분을 분석하여 비료공정규격에 대한 적합성을 평가하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

시험에 사용된 가공계분은 계분, 피트모스 및 부식산분말을 각각 87%, 10% 및 3% 씩 중량 비로 혼합하여 30일간 발효 후 15일간 건조한 가공계분을 이용하였다.

(나) 시험방법

발효 및 건조 과정을 거쳐 생산된 가공계분은 수분함량, 유기물, 질소, 인산, 칼리, 염분, 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 구리, 니켈, 아연 등을 비료의 시료채취 및 품질검사방법(농촌진흥청, 2017)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 105℃ 건조법, 유기물은 전기로를 이용한 회화법, 질소는 Kjeldahl 법, 인산은 UV-spectrophotometer를 이용하여 Molybdate-vanadate 법, 그리고 칼리, 염분, 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 구리, 니켈 등은 유도결합플라즈마(ICP)를 이용하여 분석하였다.

(3) 결과

(가) 주성분 함량

비료등록을 위해 생산한 가공계분의 수분, 유기물, 질소, 인산 및 칼리는 각각 9.3%, 50.1%, 2.62%, 4.65%, 3.65%였고, 질소, 인산 및 칼리 전량의 합이 10.92%로 가공계분의 공정규격에 적합하였다(표 38).

표 38. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
가공계분	9.3	50.1	2.62	4.65	3.65
			10.92		
비료공정규격	20% 이하	30% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 6% 이상		

(나) 유해성분 함량

가공계분의 유해성분 함량은 구리와 아연이 다소 높게 검출되었으나 비료공정규격에 적합하여 유기질비료로 사용이 가능하였다(표 39).

표 39. 최종제품의 유해성분 함량

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
	(mg/kg)								(%)
가공계분	ND	ND	ND	ND	7.2	99.8	3.3	484.2	0.85
비료공정 규격	20 이하	2 이하	1 이하	50 이하	90 이하	120 이하	20 이하	500 이하	0.9 이하

(4) 결론

계분, 피트모스 및 부식산분말을 혼합한 후 발효과정에서 미생물을 처리하여 생산된 가공계분의 주성분과 유해성분을 분석한 결과, 주성분과 유해성분 모두 비료공정규격에 대한 적합하여 유기질비료로 등록이 가능하였다. 생산된 가공계분은 유기질비료뿐 아니라 유기질비료의 원료로 사용이 가능하였다.

제 3 절 가공계분 시제품 및 최종제품의 특성 및 작물재배시험

1. 가공계분을 이용한 유기질비료 개발시험(시제품)

가. 1차 시제품 시험

가공계분발효 시 수분조절제로 주로 사용되는 톱밥과 본 연구에서 최종선발된 수분조절제인 피트모스로 생산된 가공계분을 이용하여 생산한 혼합유기질비료의 이화학적 특성 및 작물재배 효과를 평가하고자 시험을 수행하였다.

(1) 시제품제작을 위한 대량생산조건 설정

(가) 시험목적

가공계분을 유기질비료의 원료로 이용하여 유기질비료를 생산하고자 할 때, 유기질비료의 대량생산공정을 설정하기 위해 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시제품의 생산공정에 사용된 원료는 본 연구에서 생산된 가공계분[수분조절제로서 톱밥을 이용한 가공계분(톱밥가공계분)과 피트모스를 이용한 가공계분(피트모스가공계분)], 유기질비료의 원료로서 가장 널리 이용되는 아주까리유박, 유기질비료의 인산 성분을 보충하기 위해 사용하는 미강과 골분을 이용하였고, 각각의 성분함량은 표 40과 같다.

표 40. 시제품을 생산하기 위해 이용한 유기질비료 원료들의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
톱밥가공계분*	19.8	54.9	4.08	2.91	2.03
피트모스가공계분	19.7	57.7	4.05	2.69	2.33
아주까리유박	11.0	80.1	4.48	1.70	1.12
미강	11.9	79.6	219	3.79	1.82
골분	8.1	28.7	2.71	22.40	0.22

*시제품생산에 이용한 가공계분은 최종으로 생산된 가공계분이 아니라 수분조절제 선발시험 시 생산한 가공계분을 이용함.

② 시험방법

본 시험은 2016년 10월 효성오앤비(주) 아산공장에서 수행하였다. 톱밥가공계분을 원료로 하여 유기질비료 시제품을 생산한 톱밥계분 처리구와 피트모스가공계분을 원료로하여 유기질비료시제품을 생산한 피트모스계분 처리구로 구분하였고, 가공계분의 혼합량에 따라 10%, 20%, 30%, 95%로 구분하였다. 또 가공계분의 증가량만큼 아주까리유박을 감소시켜 제형화하였으며, 제형화의 조건은 현재 공장에서 사용하는 유기질비료 생산조건을 원료의 배합에 맞도록 변경하여 설정하였다(표 41). 시제품의 생산은 공장의 생산라인 중 제형화장치만 이용하여 수동으로 생산하였다(그림 58).

표 41. 시제품을 생산하기 위해 이용한 유기질비료 원료들의 처리구별 배합비율

처리구	톱밥 가공계분	피트모스 가공계분	아주까리 유박	미강	골분	합계
톱밥가공계분10	10	-	85	3	2	100
톱밥가공계분20	20	-	75	3	2	100
톱밥가공계분30	30	-	65	3	2	100
톱밥계분95	95	-	-	3	2	100
피트모스가공계분10	-	10	85	3	2	100
피트모스가공계분20	-	20	75	3	2	100
피트모스가공계분30	-	30	65	3	2	100
피트모스가공계분95	-	95	-	3	2	100



그림 58. 시제품 생산을 위한 제형화 시험. A: 제형화 장치, B: 원료투입, C: 제형 후 건조.

(다) 결과

시제품의 입상제형 시 생산성을 분석하기 위해 충남 아산지역에 위치한 효성오앤비(주)에서 운용중인 입상제형기(ITALY-LAMEC, 300HP)를 이용하여 생산한 결과, 지름 5 mm, 길이 10 mm의 규격으로 효율적인 대량생산을 위해 원료혼합시간은 2분, 회전수는 180~200 rpm의 조건을 설정할 수 있었다. 이와 같은 조건에서 생산량은 10 ton/hr이었으며(표 42), 생산된 시제품은 그림 59와 같다. 생산된 시제품은 효성오앤비(주)의 유기질비료 생산조건과 동일한 조건에 생산이 가능하였고, 제품화할 경우 유기질비료 생산라인의 조건을 변경하지 않고 제품을 생산할 수 있었다. 이후 진행된 시제품 생산 시험은 유기질비료의 생산조건에 준하여 시험되었다.

표 42. 시제품의 대량생산 조건

원료혼합시간			2분
입상제형조건	입상제형기 크기	둘레	1978 cm
		홀규격	φ 5 mm
	회전수		180~200 rpm
	생산량		10 ton/hr



그림 59. 생산된 시제품.

(라) 결론

시제품의 입상제형조건은 효성오앤비(주)의 유기질비료와 동일한 조건에서 생산이 가능하여 대량생산이 가능하였다. 이후 생산되는 시제품 생산시험은 설정된 대량생산조건으로 시험을 수행하였다.

(2) 1차 시제품의 이화학적 특성

(가) 시험목적

1차 시제품의 배합비율별 이화학적 특성을 조사하여 비료공정규격에 대한 적합성을 평가하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

시험에 사용된 가공계분을 함유하는 유기질비료는 표 40과 같이 배합하여 표 41의 방법으로 얻어진 1차 시제품이었다.

② 시험방법

생산된 시제품의 수분함량, 유기물, 질소, 인산 및 칼리 등을 비료의 시료채취 및 품질검사 방법(농촌진흥청, 2017)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 105℃ 건조법, 유기물은 전기로를 이용한 회화법, 질소는 Kjeldahl 법, 인산은 UV-spectrophotometer를 이용하여 Molybdate-vanadate 법, 그리고 칼리는 염광광도계를 이용한 원자흡광광도법을 이용하여 분석하였다.

(다) 결과

① 톱밥가공계분을 원료로 생산한 유기질비료

톱밥가공계분을 원료로 하여 생산한 유기질비료의 이화학적 특성은 표 43과 같다. 톱밥가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 수분함량은 9.7~20.6%, 유기물함량은 54.0~82.0%, 질소함량은 4.02~4.41%, 인산함량은 2.02~2.82%, 칼리함량은 1.17~1.73% 그리고 질소, 인산, 칼리 합계량은 7.60~8.57%를 나타내었다. 혼합유기질비료의 비료공정규격을 기준으로 비료적

합성을 평가한 결과 톱밥가공계분10~30 처리구는 비료공정규격에 적합하여 유기질비료로서 사용이 가능하였으나 톱밥가공계분95는 유기물함량이 54.0%로 기준인 60%에 도달하지 못해 혼합유기질비료의 기준에 적합하지 않았다.

표 43. 톱밥가공계분을 배합하여 제형화한 혼합유기질비료의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
톱밥가공계분10	9.7	82.0	4.41	2.02	1.17
톱밥가공계분20	11.5	77.4	4.20	2.34	1.25
톱밥가공계분30	12.0	75.4	4.13	2.32	1.23
톱밥가공계분95	20.6	54.0	4.02	2.82	1.73
비료공정규격	-	60% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 7% 이상		

② 피트모스가공계분을 원료로 생산한 유기질비료

피트모스가공계분을 원료로 하여 생산한 유기질비료의 이화학적 특성은 표 44와 같다. 톱밥가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 수분함량은 9.2~20.4%, 유기물함량은 52.9~81.1%, 질소함량은 3.96~4.45%, 인산함량은 2.19~2.98%, 칼리함량은 1.27~1.84% 그리고 질소, 인산, 칼리 합계량은 7.94~8.78%를 나타내었다. 혼합유기질비료의 비료공정규격을 기준으로 비료적합성을 평가한 결과 톱밥가공계분10~30 처리구는 비료공정규격에 적합하여 유기질비료로서 사용이 가능하였으나 피트모스가공계분95는 유기물함량이 52.9%로 기준인 60%에 도달하지 못해 혼합유기질비료의 기준에 적합하지 않았다.

표 44. 피트모스가공계분을 배합하여 제형화한 혼합유기질비료의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
피트모스가공계분10	9.2	81.1	4.45	2.22	1.27
피트모스가공계분20	11.4	76.9	4.37	2.19	1.40
피트모스가공계분30	11.7	74.5	4.41	2.40	1.32
피트모스가공계분95	20.4	52.9	3.96	2.98	1.84
비료공정규격	-	60% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 7% 이상		

톱밥가공계분을 원료로 생산한 유기질비료(톱밥가공계분 처리구)와 피트모스가공계분을 원료로 생산한 유기질비료(피트모스가공계분 처리구)를 비교할 때, 톱밥가공계분 처리구의 유기질비료가 시각적으로 거칠었고, 경도가 약간 낮았다(자료는 제시하지 않음).

(라) 결론

톱밥을 수분조절제로 발효하여 얻어진 톱밥가공계분과 피트모스를 수분조절제로 하여 얻어진 피트모스가공계분을 아주까리유박, 미강 및 골분과 배합하여 제형화한 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 분석하였다. 톱밥가공계분과 피트모스가공계분을 원료로 한 혼합유기질비료 중 가공계분이 10~30% 정도 함유된 경우에는 비료공정규격에 적합하였으나 95% 정도 함유된

경우에는 비료공정규격에 적합하지 않았다. 톱밥가공계분이나 피트모스가공계분은 모두 유기질 비료의 원료로 사용이 가능하였으나 피트모스가공계분을 원료로 생산한 유기질비료의 시각적 품질이나 경도가 톱밥가공계분으로 생산한 유기질비료에 비해 우수하였다.

(3) 1차 시제품의 작물재배시험

(가) 시험목적

톱밥가공계분과 피트모스가공계분으로 생산한 혼합유기질비료인 1차 시제품 중 가공계분의 종류 및 혼합량에 대한 적절한 처리량을 평가하고자 재배시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

본 시험은 2016년 9월부터 12월까지 4개월간 효성오앤비(주) 시험용 비닐하우스에서 수행되었다. 공시토양은 사양토로서 작물재배에 적합한 토양이었고, 이화학적 특성은 표 45와 같다. 공시작물은 상추(백일청치마; 동부팜), 오크리프(적오크; 동부팜) 및 치커리(치커리, 농우바이오)로 농자재 판매상에서 구매하여 사용하였다. 시험에 사용된 공시비료의 성분함량은 표 43, 44와 같다.

표 45. 시험 전 토양의 이화학적 특성

pH	EC	T-N	OM	Av-P ₂ O ₅	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
(1:5)	(dS/m)	(g/kg)		(mg/kg)	(cmol ⁺ /kg)				
6.7	0.57	4.3	89.3	675	1.0	12.8	5.1	0.9	18.2

② 시험방법

원예용 상토를 포설한 트레이에 상추, 오크리프 및 치커리 종자를 2016년 9월 28에 파종하여 약 5주간 육묘를 관리하였다. 작물 정식 전 1차 시제품을 600 kg/10a수준으로 전층시비하고 15일이 경과한 후 생육상태가 비슷한 육묘를 선별하여 각 처리구에 2016년 11월 15일 정식하였다. 처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구, 대조구, 톱밥가공계분10 처리구, 톱밥가공계분20 처리구, 톱밥가공계분30 처리구, 톱밥가공계분95 처리구, 피트모스가공계분10 처리구, 피트모스가공계분20 처리구, 피트모스가공계분30 처리구 및 피트모스가공계분95 처리구로 구분하였다(표 46, 그림 60, 61, 62). 작물재배는 4 inch 육묘용 포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(5반복)으로 배치하였고, 관수는 매일 1~2회 실시하였으며, 시험기간 중 병충해는 발생하지 않았다. 작물의 생육조사는 시험 종료 후 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중을 조사하였다. 엽록소는 엽록소측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, SPSS12.01을 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값을 비교하였다.

표 46. 1차 시제품의 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
톱밥가공계분10	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
톱밥가공계분20	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
톱밥가공계분30	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
톱밥가공계분95	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
피트모스가공계분10	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
피트모스가공계분20	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
피트모스가공계분30	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료
피트모스가공계분95	600	2016. 11. 15.	혼합유기질비료



그림 60. 1차 시제품의 처리에 의한 상추의 생육시험.



그림 61. 1차 시제품의 처리에 의한 오크리프의 생육시험.



그림 62. 1차 시제품의 처리에 의한 치커리의 생육시험.

(다) 결과

① 상추의 생육조사 결과

가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 처리에 따른 상추의 생육조사결과는 표 47과 같다. 처리구 중에서 톱밥가공계분20, 피트모스가공계분10 및 피트모스가공계분30 처리구에서 상추의 엽록소, 엽폭, 생물중 및 건물중이 대조구보다 증가하였고, 건물중을 기준으로 생산량을 평가할 때, 생산량이 가장 높은 처리구는 피트모스가공계분10 처리구였다. 톱밥가공계분 처리구 중에서 상추의 생육이 가장 우수한 처리구는 톱밥가공계분20 처리구로 가공계분을 20% 함유하여 유기질비료를 제조하였을 때, 작물생육이 향상되었다. 피트모스가공계분 처리구 중에서 상추의 생육이 우수한 처리구는 피트모스가공계분10, 20, 30 처리구로 피트모스가공계분을 약 10~30% 함유하는 것이 작물생육에 효과적이었고, 작물생육이 가장 우수한 처리구는 피트모스가공계분10 처리구였다. 톱밥가공계분과 피트모스가공계분을 원료로 생산한 유기질비료를 비교할 때, 톱밥가공계분보다는 피트모스가공계분을 이용하여 생산한 유기질비료 처리구에서 상추의 건물중(생산량)이 증가하였다. 이러한 결과들을 종합할 때, 가공계분을 유기질비료의 원료로 사용하는 경우 톱밥가공계분보다는 피트모스가공계분을 원료로 생산한 혼합유기질비료에서 작물 생육이 우수하였고, 이 때 혼합유기질비료 중 가공계분의 함량은 약 10~20%로 나타났다. 상추의 생육이 가장 우수한 처리구는 피트모스가공계분이 10% 함유된 혼합유기질비료였다.

표 47. 1차 시제품의 처리에 의한 상추의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	1.19c	11.3d	10.9b	5.1e	7.0f	1.10f
대조구	1.75ab	15.3c	15.8ab	7.8bcd	23.5de	3.84d
톱밥가공계분10	1.79a	16.2c	15.7ab	8.1abcd	24.7cd	3.86d
톱밥가공계분20	1.79a	16.2c	17.0b	8.2abc	31.5b	5.47b
톱밥가공계분30	1.71ab	15.3c	24.0a	7.2cd	24.8cd	4.08d
톱밥가공계분95	1.82a	15.7c	14.7ab	7.1d	21.1e	3.31e
피트모스가공계분10	1.79a	18.8a	18.1ab	9.0a	38.0a	6.30a
피트모스가공계분20	1.65ab	15.8c	16.6ab	8.1abcd	27.4c	4.59c
피트모스가공계분30	1.70ab	17.2b	17.3ab	8.7ab	30.7b	5.26b
피트모스가공계분95	1.58b	15.3c	15.7ab	7.4cd	24.0de	3.85d

*던컨다중검정($P<0.05$).

② 오크리프의 생육조사 결과

가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 처리에 따른 상추의 생육조사결과는 표 48과 같다. 처리구 중에서 톱밥가공계분10, 피트모스가공계분10, 피트모스가공계분20, 피트모스가공계분30은 오크리프의 엽록소, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 대조구보다 증가하였다. 건물중을 기준으로 생산량을 평가할 때, 톱밥가공계분10, 톱밥가공계분20, 톱밥가공계분30, 피트모스가공계분10, 피트모스가공계분20 및 피트모스가공계분30에서 대조구보다 생산량이 증가하였다. 톱밥가공계분10, 20, 30 처리구들과 피트모스가공계분10, 20, 30 처리구들은 대조구보다 오크

리프의 생육이 증가하였다. 피트모스가공계분 유기질비료 처리구는 생물중이나 건물중 뿐 아니라 엽장, 엽폭 등이 대조구나 톱밥가공계분 유기질비료 처리구보다 증가하였고, 피트모스가공계분 유기질비료에서 오크리프의 생육과 생산량이 증가하여 유기질비료의 원료 중 피트모스가공계분이 작물생육에 좀 더 효과적이었다. 톱밥가공계분이나 피트모스가공계분을 원료로 유기질비료를 생산할 때, 가공계분의 혼합비율에 따른 차이는 크게 나타나지 않았다. 이러한 결과들을 종합할 때, 가공계분을 유기질비료의 원료로 사용하는 경우 톱밥가공계분보다는 피트모스가공계분을 이용하여 생산한 유기질비료 처리구에서 오크리프의 생육이 균일하였고, 생산량이 증가하였다.

표 48. 1차 시제품의 처리에 의한 오크리프의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	2.56bc*	12.7c	7.3e	2.7g	2.4g	0.29g
대조구	2.31c	16.8a	13.0cd	7.2def	14.9ef	1.20e
톱밥가공계분10	2.72bc	17.0a	15.2ab	8.6bc	22.3c	1.74b
톱밥가공계분20	2.69bc	17.8a	14.1bc	7.5de	19.0d	1.37d
톱밥가공계분30	2.70bc	16.8a	14.6ab	8.0cd	22.5c	1.60c
톱밥가공계분95	2.71bc	17.7a	13.2cd	6.8ef	16.3de	1.18e
피트모스가공계분10	2.88b	16.8a	15.2ab	9.1ab	27.2ab	2.01a
피트모스가공계분20	2.96ab	17.9a	15.8a	9.7a	29.9a	2.08a
피트모스가공계분30	334a	17.0a	15.5ab	9.6a	26.7b	2.08a
피트모스가공계분95	2.43c	15.2b	12.2d	6.5f	12.2f	0.82f

*던컨다중검정($P<0.05$).

③ 치커리의 생육조사 결과

가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 처리에 따른 치커리의 생육조사결과는 표 49와 같다. 처리구 중에서 톱밥가공계분10 처리구는 치커리의 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 대조구보다 증가하였고, 톱밥가공계분20 처리구는 치커리의 엽수와 건물중에서 대조구보다 증가하였다. 건물중을 기준으로 생산량을 평가할 때, 톱밥가공계분10, 톱밥가공계분20, 톱밥가공계분95, 피트모스가공계분10, 피트모스가공계분20 및 피트모스가공계분30 처리구에서 대조구보다 생산량이 증가하였고, 생산량이 가장 높은 처리구는 톱밥가공계분10 처리구였다. 톱밥가공계분10, 20, 30 처리구들과 피트모스가공계분10, 20, 30 처리구들은 대조구보다 치커리의 생육이 증가하였다. 톱밥가공계분이나 피트모스가공계분을 원료로 유기질비료를 생산할 때, 가공계분의 수분조절제 종류나 가공계분에 따른 차이는 나타나지 않았으나 피트모스가공계분 유기질비료 처리구에서 균일한 생육을 나타내었다. 결과들을 종합할 때, 가공계분을 유기질비료의 원료로 사용하는 경우 톱밥으로 발효된 계분보다는 피트모스로 발효된 계분을 이용하여 생산한 유기질비료에서 작물 생육이 균일하였고, 가공계분을 유기질비료의 원료로 사용가능한 범위는 약 10~30%로 조사되었다.

표 49. 1차 시제품의 처리에 의한 치커리의 생육조사결과

치커리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리	2.80c*	9.3c	7.0c	5.0c	4.1g	0.46e
대조구	3.65ab	12.5ab	11.0b	8.0b	17.5ef	1.79c
톱밥가공계분10	3.88a	12.7ab	13.6a	9.6a	23.8a	2.75a
톱밥가공계분20	3.67ab	13.3a	13.0ab	8.7ab	20.4bcde	2.38b
톱밥가공계분30	3.62ab	12.8a	12.2ab	8.0b	18.0de	1.90c
톱밥가공계분95	3.72ab	13.2a	12.7ab	7.9b	18.5cde	2.14b
피트모스가공계분10	3.67ab	13.2a	13.2ab	9.1ab	21.8ab	2.34b
피트모스가공계분20	3.24b	13.3a	13.2ab	8.7ab	21.4abc	2.24b
피트모스가공계분30	3.42ab	13.2a	12.9ab	8.9ab	21.0abcd	2.24b
피트모스가공계분95	3.46ab	10.8bc	12.3ab	8.5ab	14.6b	1.50d

*던컨다중검정($P < 0.05$).

(라) 결론

가공계분의 수분조절제의 종류와 가공계분의 혼합량에 따른 작물의 생육을 조사하여 유기질 비료로서 적합한 가공계분의 수분조절제를 결정하고, 적절한 가공계분 혼합량을 결정하고자 시험을 수행하였다. 작물의 생육이 개선되고, 균일한 생육을 이루며, 생산량이 증가하는 가공계분은 피트모스를 수분조절제로 발효하여 생산한 가공계분을 함유하는 유기질비료였다. 이들 유기질비료에서 피트모스가공계분이 10~30%정도 혼합된 처리구에서 작물생육과 생산량이 증가하였다.

(4) 결론

시제품의 입상제형조건은 효성오앤비(주)의 유기질비료와 동일한 조건에서 생산이 가능하여 대량생산이 가능하였다. 톱밥을 수분조절제로 발효하여 얻어진 톱밥가공계분과 피트모스를 수분조절제로 하여 얻어진 피트모스가공계분을 아주까리유박, 미강 및 골분과 배합하여 제형화한 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 분석한 결과, 가공계분을 10~30% 정도 함유한 유기질비료에서 비료공정규격에 적합하였다. 가공계분 중에서 피트모스가공계분을 이용하여 생산한 유기질비료는 작물의 생육을 개선하고, 균일한 생육을 이루며, 생산량이 증가하였다. 이러한 결과들을 종합할 때, 가공계분을 유기질비료의 원료로 이용하는 경우 피트모스가공계분을 약 10~30%정도 사용하는 것이 유기질비료의 품질을 개선하고 작물생육을 증대시킨다는 것을 알 수 있었다.

나. 2차 시제품 시험

가공계분의 배합비율별 혼합유기질비료의 이화학적 특성 및 작물생육효과를 평가하고자 시험을 수행하였다.

(1) 2차 시제품의 이화학적 특성

(가) 시험목적

가공계분의 배합비율별 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 조사하여 최적 배합비율을 결정하고자 시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

2차 시제품의 생산공정에 사용된 원료는 2016년 10월부터 12월까지 10톤 규모로 발효된 피트모스가공계분(이하 가공계분), 유기질비료의 원료로서 가장 널리 이용되는 아주까리유박, 유기질비료의 인산 성분을 보충하기 위해 사용하는 미강을 이용하였고, 각각의 성분함량은 표 50과 같다.

표 50. 2차 시제품을 생산하기 위해 이용한 유기질비료 원료들의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
가공계분*	16.0	44.8	2.53	4.42	2.65
아주까리유박	11.0	80.1	4.48	1.70	1.12
미강	11.9	79.6	219	3.79	1.82

*2차 시제품생산에 이용한 가공계분은 1차 시제품 시험에서 선정된 가공계분인 피트모스를 수분조절제로 하여 생산한 피트모스가공계분을 이용함.

② 시험방법

본 시험은 2017년 2월 효성오앤비(주) 안성공장에서 수행하였다. 가공계분의 혼합량에 따라 20%, 30%, 50% 처리구로 구분하였고, 가공계분의 증가량만큼 아주까리유박을 감소시켜 제형화하였으며, 원료의 배합비율 및 유기질비료의 대량생산 조건은 각각 표 51 및 표 42과 같다.

표 51. 2차 시제품을 생산하기 위해 이용한 유기질비료 원료의 배합비율

구분	가공계분	아주까리유박	미강	합계
	(%)			
가공계분20	20	77	3	100
가공계분30	30	67	3	100
가공계분50	50	47	3	100

생산된 2차 시제품의 수분함량, 유기물, 질소, 인산 및 칼리 등을 비료의 시료채취 및 품질 검사방법(농촌진흥청, 2017)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 105℃ 건조법, 유기물은 전기로를 이용한 회화법, 질소는 Kjeldahl 법, 인산은 UV-spectrophotometer를 이용하여 Molybdate-vanadate 법, 그리고 칼리는 염광광도계를 이용한 원자흡광광도법을 이용하여 분석하였다.

(다) 결과

가공계분의 배합비율별 혼합유기질비료의 이화학적 특성은 표 52와 같다. 가공계분을 함유하는 혼합유기질비료의 수분함량은 9.1~10.6%, 유기물함량은 69.8~75.5%, 질소함량은 3.70~4.11%, 인산함량은 2.58~2.70%, 칼리함량은 2.11~1.53% 그리고 질소, 인산, 칼리 합계량은 8.26~8.51%를 나타내었다. 혼합유기질비료의 비료공정규격을 기준으로 비료적합성을 평가한 결과 모든 처리구에서 비료공정규격에 적합하여 유기질비료로서 사용이 가능하였다.

표 52. 2차 시제품의 가공계분 배합비율 별 이화학적 특성

처리구	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
가공계분20	10.6	75.5	4.07	2.66	1.53
가공계분30	9.1	77.4	4.11	2.58	1.70
가공계분50	9.4	69.8	3.70	2.70	2.11
비료공정규격	-	60% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 7% 이상		

(라) 결론

가공계분, 아주까리유박 및 미강과 배합하여 제형화한 후 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 분석한 결과, 모든 처리구에서 비료공정규격에 적합하였고, 유기질비료로서 사용이 가능하였다.

(2) 2차 시제품의 작물재배시험

(가) 시험목적

2차 시제품 중 가공계분의 혼합량에 따른 유기질비료의 작물재배시험을 수행하여 작물생육이 우수한 가공계분 혼합량을 결정하고자 재배시험을 수행하였다.

(나) 재료 및 방법

① 공시재료

본 시험은 2017년 1월부터 4월까지 4개월간 효성오앤비(주) 시험용 비닐하우스에서 수행되었다. 공시토양은 사양토로서 작물재배에 적합한 토양이었고, 이화학적 특성은 표 53와 같다. 공시작물은 상추(백일청치마; 동부팜), 배추(삼락얼갈이; 동부팜) 및 무(알타리무, 동부팜)로 농자재 판매상에서 구매하여 사용하였다. 시험에 사용된 공시비료의 성분함량은 표 52와 같다.

표 53. 시험 전 토양의 이화학적 특성

pH	EC	T-N	OM	Av-P ₂ O ₅	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
(1:5)	(dS/m)	(g/kg)		(mg/kg)	(cmol ⁺ /kg)				
6.7	0.62	3.9	74.3	634	1.0	11.9	5.4	0.7	16.2

② 시험방법

원예용 상토를 포설한 트레이에 상추, 배추 및 무 종자를 2017년 1월 26에 파종하여 약 30 일간 유묘를 관리하였다. 2차 시제품을 600 kg/10a수준으로 2017년 2월 14일에 전층시비하고 15일이 경과한 후 생육상태가 비슷한 유묘를 선별하여 각 처리구에 2017년 2월 28일에 정식하였다. 처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구, 대조구, 가공계분20 처리구, 가공계분30 처리구 및 가공계분50 처리구로 구분하였다(표 54, 그림 63, 64, 65). 작물재배는 4 inch 육묘용 포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(5반복)으로 배치하였고, 관수는 매일 1~2 회 실시하였으며, 시험기간 중 병충해는 발생하지 않았다. 작물의 생육조사는 시험 종료 후 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중을 조사하였다. 엽록소는 엽록소측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, SPSS12.01을 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구 간 평균값을 비교하였다.

표 54. 2차 시제품의 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	600	2017. 2. 14.	혼합유기질비료
가공계분20	600	2017. 2. 14.	혼합유기질비료
가공계분30	600	2017. 2. 14.	혼합유기질비료
가공계분50	600	2017. 2. 14.	혼합유기질비료



그림 63. 2차 시제품의 처리에 의한 상추의 생육시험.



그림 64. 2차 시제품의 처리에 의한 배추의 생육시험.



그림 65. 2차 시제품의 처리에 의한 무의 생육시험.

(다) 결과

① 상추의 생육조사결과

2차 시제품의 처리에 따른 상추의 생육조사결과는 표 55와 같다. 무처리구와 비교할 때, 대조구와 2차 시제품 처리구는 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다. 대조구와 2차 시제품 처리구와 비교 시 2차 시제품 처리구 중에서 가공계분20 처리구는 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중에서 대조구와 비슷하였고, 가공계분30 처리구와 가공계분50 처리구는 대조구보다 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 감소하였다. 이는 가공계분의 질소함량이 약 2.5%으로 상대적으로 낮아 펠릿으로 제형화 할 때, 제형화된 유기질비료의 질소함량이 낮아졌기 때문으로 판단된다. 상추 생육조사결과를 종합할 때, 2차 시제품 처리구에서 상추의 생육이나 생산량은 대조구와 비슷한 처리구는 가공계분20 처리구로 시중에 판매되는 혼합유기질비료의 특성 및 품질을 나타내기 위해서는 가공계분을 20%정도 혼합하는 것이 적절한 것으로 판단되었다.

표 55. 2차 시제품의 처리에 의한 상추의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	2.08c*	18.0b	9.2c	5.0c	17.0d	2.35c
대조구	2.75a	20.5a	12.9a	8.3a	48.0a	6.09a
가공계분20	2.55ab	20.5a	12.9a	8.1ab	50.0a	5.83a
가공계분30	2.49ab	18.3b	12.2a	8.1a	39.8b	4.43b
가공계분50	2.37bc	20.3a	11.3b	7.3b	32.5c	4.00b

*던컨다중검정($P<0.05$).

② 배추의 생육조사결과

2차 시제품의 처리에 따른 배추의 생육조사결과는 표 56과 같다. 무처리구와 비교할 때, 대조구와 2차 시제품 처리구는 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다. 대조구와 2차 시제품 처리구를 비교할 때, 2차 시제품 처리구 중에서 가공계분20 처리구과 가공계분30 처리구는 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중에서 대조구와 비슷하였다. 가공계분50 처리구는 엽수, 엽폭, 생물중, 건물중은 대조구와 비슷하고, 건물중은 대조구보다 유사하였다. 배추 생육조사결과를 종합할 때, 2차 시제품 처리구에서 배추의 생육이나 생산량이 대조구와 비슷한 처리구는 가공계분 20% 처리구와 30% 처리구로 조사되었고, 시중에 판매되는 혼합유기질비료의 특성

및 품질을 나타내기 위해서는 계분을 20~30%정도 첨가하는 것이 적절한 것으로 판단되었다.

표 56. 2차 시제품의 처리에 의한 배추의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	2.84a*	14.8b	8.0c	4.2b	11.7c	1.70c
대조구	2.73a	16.5a	12.8a	6.6a	29.1a	4.13ab
가공계분20	2.77a	18.0a	13.1a	6.4a	32.8a	4.78a
가공계분30	2.91a	18.5a	12.5b	6.8a	31.6a	4.71a
가공계분50	2.82a	16.7a	12.2b	6.5a	28.2a	3.66b

*던컨다중검정($P < 0.05$).

③ 무의 생육조사결과

2차 시제품 처리에 따른 무의 생육조사결과는 표 57과 같다. 무처리구와 비교할 때, 대조구와 2차 시제품 처리구는 엽수, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다. 대조구와 2차 시제품 처리구와 비교 시 2차 시제품 처리구 중에서 가공계분30 처리구는 엽수, 엽장, 생물중 및 건물중에서 대조구와 유사한 경향을 보였다. 가공계분20 처리구와 가공계분50 처리구는 엽장, 엽폭, 생물중, 건물중은 대조구보다 낮았다. 무의 생육조사결과를 종합할 때, 2차 시제품 처리구에서 무의 생육이나 생산량이 대조구와 비슷한 처리구는 가공계분이 30% 혼합된 시제품 처리구였다.

표 57. 2차 시제품의 처리에 의한 무의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	3.51a	8.7b	10.2b	4.0d	15.7c	2.29c
대조구	3.61a	10.5a	15.5a	5.9a	39.4a	5.03a
가공계분20	3.47a	9.3ab	12.5b	4.9bc	25.0bc	3.23bc
가공계분30	3.60a	9.3ab	13.3ab	5.3b	32.8ab	4.01ab
가공계분50	3.64a	9.2ab	10.6b	4.7c	19.5bc	2.82bc

*던컨다중검정($P < 0.05$).

(라) 결론

2차 시제품 중 가공계분의 혼합량에 따른 유기질비료의 작물재배시험을 수행하여 작물생육이 우수한 가공계분 혼합량을 결정하고자 재배시험을 수행하였다. 상추재배시험에서 2차 시제품 처리구 중 가공계분 20% 처리구에서 대조구와 유사한 상추생육이나 생산량을 나타내었다. 배추재배시험에서 2차 시제품 처리구 중 가공계분 20~30% 처리구에서 대조구와 유사한 생육 및 생산량을 나타내었으며, 무생육시험에서 2차 시제품 처리구 중 가공계분이 30% 처리구에서 대조구와 비슷한 무의 생육이나 생산량을 나타내었다. 이 결과들을 종합할 때, 혼합유기질비료 중 가공계분을 20~30%로 혼합하여 생산하는 것이 작물생육과 품질개선에 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

(3) 1차, 2차 시제품시험 결론

가공계분, 아주까리유박 및 미강과 배합하여 제형화한 후 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 분석한 결과, 모든 처리구에서 비료공정규격에 적합하였고, 유기질비료로서 사용이 가능하였다. 2차 시제품 중 가공계분의 혼합량에 따른 유기질비료의 작물재배시험을 수행하여 작물생육이 우수한 가공계분 혼합량을 결정하고자 재배시험을 수행한 결과, 유기질비료 중 가공계분을 30% 이하로 혼합하여 생산할 때, 작물의 생육과 품질을 개선하는 것으로 확인되었다.

2. 가공계분을 이용한 유기질비료 개발시험(최종제품)

가. 최종제품의 생산 및 특성

(1) 시험목적

가공계분을 함유하는 유기질비료(혼합유기질비료)의 주성분과 유해성분을 분석하여 비료공정규격에 대한 적합성을 평가하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

시험에 사용된 유기질비료는 가공계분, 아주까리유박, 미강 및 골분 등을 이용하였고, 각각의 이화학적 특성은 표 58과 같다.

표 58. 최종제품 생산에 이용한 유기질비료 원료들의 이화학적 특성

구분	수분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)				
가공계분*	9.3	50.1	2.62	4.65	3.65
아주까리유박	11.0	80.1	4.48	1.70	1.12
미강	11.9	79.6	2.19	3.79	1.82
골분	8.1	28.7	2.71	22.40	0.22

*가공계분은 2017년 6월에 계분, 피트모스, 부식산 및 미생물을 처리하여 생산한 가공계분임.

(나) 시험방법

본 시험은 2017년 9월 효성오앤비(주) 안성공장에서 수행하였다. 원료의 배합비율은 각각 표 59와 같다. 가공계분은 1차 시제품과 2차 시제품에서 작물생육이 대조구와 유사하거나 우수했던 가공계분 20% 처리구를 최종 선정하였고, 미강과 골분은 제형화 및 혼합유기질비료 중 사용량을 고려하여 미강 13%, 골분 7%를 혼합하였다. 유기질비료의 대량생산조건은 표 38과 같다.

표 59. 최종제품을 생산하기 위한 유기질비료 원료들의 배합비율

구분	가공계분	아주까리유박	미강	골분	합계
최종제품*	20	60	13	7	100

*최종제품은 비료공정규격 상 혼합유기질비료에 속함.

최종제품은 수분함량, 유기물, 질소, 인산, 칼리, 염분, 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 구리, 니켈, 아연 등을 비료의 시료채취 및 품질검사방법(농촌진흥청, 2017)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 105℃ 건조법, 유기물은 전기로를 이용한 회화법, 질소는 Kjeldahl 법, 인산은 UV-spectrophotometer를 이용하여 Molybdate-vanadate 법, 그리고 칼리, 염분, 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 구리, 니켈 등은 유도결합플라즈마(ICP)를 이용하여 분석하였다. 최종제품의 경시적 품질변화를 확인하기 위해 제품의 냄새 및 입자강도를 조사하였다. 냄새는 제품에서의 냄새발생여부에 따라 1~5의 범위(1: 악취 없음, 5: 악취 심함)에서 달관조사를 통해 지수로 조사하였고, 입자강도는 입자강도계를 이용하여 조사하였다.

(3) 결과

(가) 주성분 함량

비료등록을 위해 생산한 가공계분의 유기물, 질소, 인산 및 칼리는 각각 82.2%, 3.82%, 2.62%, 1.11%였고, 질소, 인산 및 칼리 전량의 합이 7.55%로 가공계분의 공정규격에 적합하였다(표 60).

표 60. 발효 시험 종료 후 건조한 가공계분의 이화학적 특성

구분	유기물	질소	인산	칼리
	(%)			
혼합유기질비료	82.2	3.82	2.62	1.11
		7.55		
비료공정규격	60% 이상	질소, 인산, 칼리 전량의 합계량 7% 이상		

(나) 유해성분 함량

가공계분의 유해성분 함량은 구리와 아연 등이 검출되었으나 비료공정규격에 적합하여 유기질비료로 사용이 가능하였다(표 61).

표 61. 최종제품의 유해성분 함량

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
	(mg/kg)								(%)
가공계분	ND*	ND	ND	ND	5.6	17.3	1.8	56.7	0.11
비료공정규격	20 이하	2 이하	1 이하	50 이하	90 이하	120 이하	20 이하	400 이하	2.0 이하

*ND: not detected, 불검출, 검출한계 이하.

(다) 최종제품에 대한 냄새 및 입자강도의 경시적 변화

최종제품의 냄새지수의 변화는 최종제품을 처음 생산한 2017년 8월에 대조구(혼합유기질비료)와 최종제품의 냄새지수가 각각 1.4와 1.6을 나타내었고, 처리구간 유의차는 나타나지 않아 가공계분을 혼합하여 생산한 유기질비료는 악취를 확인할 수 없었다. 약 6개월이 경과한 후 2018년 2월에 최종제품의 냄새지수를 확인한 결과, 대조구와 최종제품은 각각 1.4를 나타내어 악취발생여부를 확인할 수 없었다(그림 66).

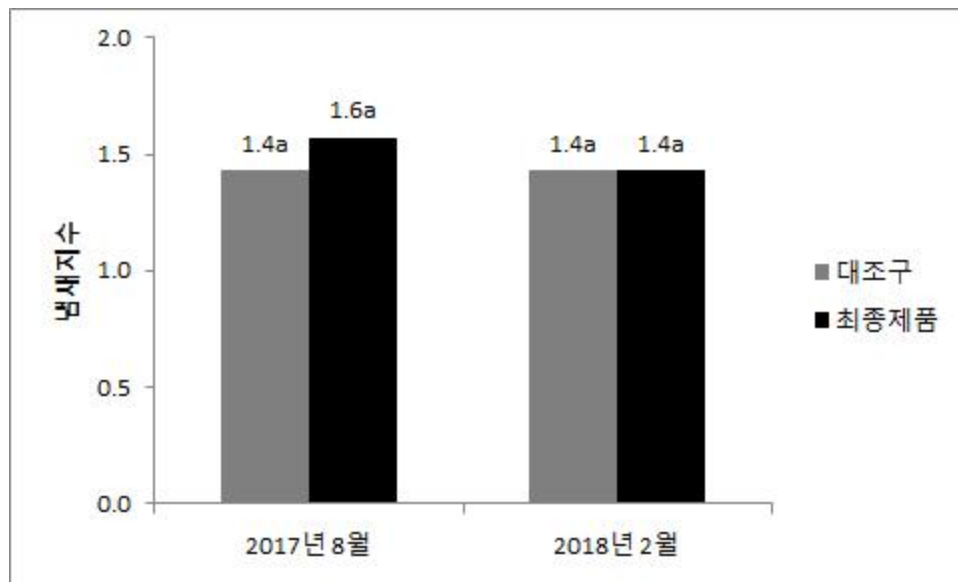


그림 66. 최종제품에서 냄새지수의 경시적 변화.

최종제품에 대한 입자강도를 조사하였다(그림 67). 2017년 8월 제품 생산 후 최종제품과 대조구(혼합유기질비료)의 입자강도는 6.6 kg/cm와 6.9 kg/cm로 조사되었고, 통계적 유의차를 보이지 않아 최종제품은 혼합유기질비료와 유사한 입자강도를 나타내었다. 제품 생산 후 6개월이 경과한 2018년 2월에 최종제품과 대조구의 입자강도를 조사한 결과, 최종제품과 대조구는 6.5 kg/cm와 6.7 kg/cm를 나타내어 시간경과 후 유기질비료들의 입자강도변화는 나타나지 않았다. 최종제품과 대조구의 입자강도는 시간의 경과에 따라 약간 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의차를 나타내지 않아 시간이 경과하여도 입자강도는 유지되는 것으로 나타났다.

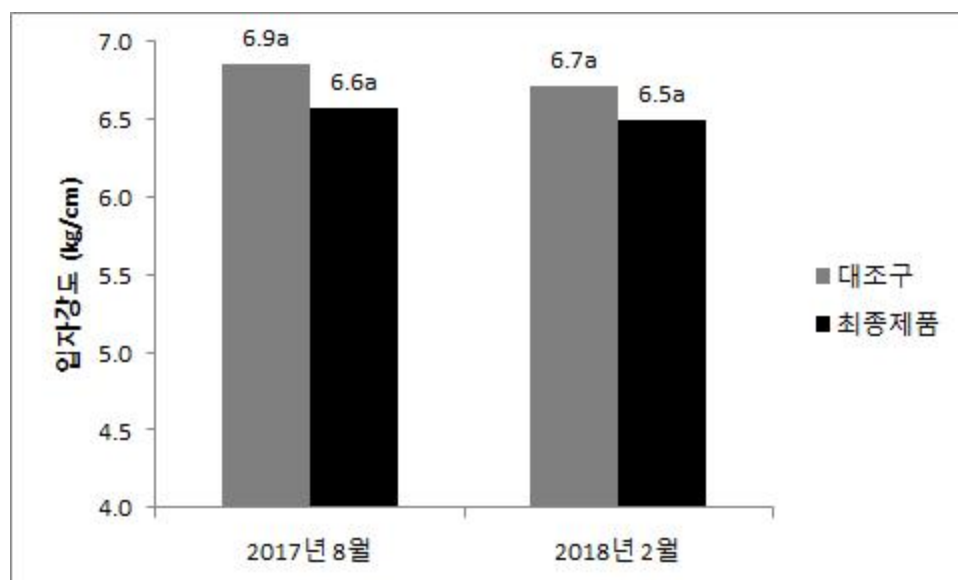


그림 67. 최종제품에서 입자강도의 경시적 변화.

(라) 경제성 평가

최종제품은 혼합유기질비료로서 유기질비료의 경제성을 분석하기 위해 당사에서 생산하는 혼합유기질비료 생산단가를 비교하였다(표 62). 시중에서 판매되는 혼합유기질비료1은 약 423.9 원/kg을 나타낸 반면 최종제품은 161.24 원/kg으로 나타나 최종제품에서 163% 정도 생산단가가 감소하였고, 최종제품에서 가공계분을 아주까리유박으로 대신한 혼합유기질비료2는 191.3 원/kg으로 최종제품의 생산원가가 약 18.6%정도 감소하였다.

표 62. 유기질비료 배합비율 별 생산단가 (단가: 원/kg; 비율: %)

구분	단가	혼합유기질1**		혼합유기질2		최종제품	
		비율	단가	비율	단가	비율	단가
아주까리유박	170	25	42.5	80	136	60	102.0
대두유박	640	42	268.8	0	0	0	0
채종유박	420	15	63	0	0	0	0
가공계분*	19.7	0	0	0	0	20	3.94
미강	280	10	28	13	36.4	13	36.4
골분	270	8	21.6	7	18.9	7	18.9
생산단가	-	423.9		191.3		161.24	

*가공계분은 자체생산으로 원료구입비가 발생하지 않아 원료가격은 산정하지 않았고, 발효과정에서 소요되는 미생물배지 비용인 19.7 원/kg만 원료가격으로 산정함.

**혼합유기질비료1은 당사의 판매중인 농협계통비료이고, 혼합유기질비료2는 최종제품에서 가공계분을 아주까리유박으로 대신한 경우의 혼합유기질비료임.

(4) 결론

가공계분, 아주까리유박, 미강 및 골분을 혼합한 후 유기질비료로 제형화하여 생산한 유기질비료(혼합유기질비료)의 주성분과 유해성분을 분석한 결과, 주성분과 유해성분 모두 비료공정규격에 대한 적합하여 유기질비료로 등록이 가능하였다. 또한 최종제품의 생산은 유기질비료원료 중 수입원료를 대체할 수 있어 유기질비료의 생산단가가 감소하여 유기질비료 생산비를 낮출 수 있었다.

나. 최종제품의 작물재배시험

(1) 시험목적

2차 시제품 중 가공계분의 혼합량에 따른 유기질비료의 작물재배시험을 수행하여 작물생육이 우수한 가공계분 혼합량을 결정하고자 재배시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 공시재료

본 시험은 2017년 8월부터 9월까지 2개월간 효성오앤비(주) 시험용 온실에서 수행되었다. 공시토양은 원예용상토(보급자리, 원예용상토)로서 작물재배에 적합하였다. 공시작물은 상추(오

양; 농우바이오)와 배추(로저브릭스; 흥농씨앗)로 농자재 판매상에서 묘목으로 구매하여 사용하였다. 시험에 사용된 공시비료의 성분함량은 표 56과 같다.

(나) 시험방법

처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구, 대조구, 유기질비료 추천반량 처리구, 유기질비료 추천량 처리구 및 유기질비료 추천배량 처리구로 구분하였고(표 63, 그림 68, 69), 작물 재배는 4 inch 육묘용 포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(5반복)으로 배치하였다. 최종제품(혼합유기질비료, 유기질비료)의 시비는 추천반량, 추천량 및 추천배량 처리구에서 각각 300 kg/10a, 600 kg/10a, 1,200 kg/10a수준으로 2017년 8월 16일에 전층시비하고 15일이 경과한 후 생육상태가 비슷한 육묘를 선별하여 각 처리구에 2017년 8월 31일에 정식하였다. 관수는 매일 1~2회 실시하였으며, 시험기간 중 병충해는 발생하지 않았다. 작물의 생육조사는 시험 종료 후 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중을 조사하였다. 엽록소는 엽록소측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, SPSS12.01을 이용하여 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값을 비교하였다.

표 63. 2차 시제품의 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	600	2017. 8. 16.	혼합유기질비료
추천 반량	300	2017. 8. 16.	혼합유기질비료
추천량	600	2017. 8. 16.	혼합유기질비료
추천 배량	1,200	2017. 8. 16.	혼합유기질비료



그림 68. 최종제품의 처리에 의한 상추의 생육시험.

(왼쪽부터 대조구, 추천 반량 처리구, 추천량 처리구, 추천 배량 처리구, 무처리구를 나타냄.)



그림 69. 최종제품의 처리에 의한 배추의 생육시험.

(왼쪽부터 추천 배량 처리구, 추천량 처리구, 추천 반량 처리구, 대조구, 무처리구를 나타냄.)

(다) 결과

① 상추의 생육조사결과

최종제품의 처리에 따른 상추의 생육조사결과는 표 64와 같다. 무처리구와 비교할 때, 대조구와 최종제품 처리구들은 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다. 대조구와 비교 시 최종제품 처리구들은 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않았다. 다만 추천 반량 처리구는 통계적 유의차는 없으나 대조구보다 생육이나 품질이 감소하는 경향을 보였다. 상추시험에서 최종제품의 추천시비량은 300 ~ 600 kg/10a로 조사되었으나 시험용 포트가 4 inch로서 상추의 재식거리에 미치지 못해 포장에서의 시험을 통한 시비량 설정시험이 필요하였다.

표 64. 최종제품의 처리에 의한 상추의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	2.12a*	18.5a	18.3b	10.3b	65.4b	3.15c
대조구	2.05a	19.8a	25.5a	15.6a	103.6a	3.65ab
추천 반량	2.18a	17.8a	26.2a	15.5a	92.8a	3.49b
추천량	2.07a	19.3a	24.1ab	14.8a	103.9a	3.89a
추천 배량	2.22a	19.5a	23.5ab	14.6a	102.2a	3.89a

*던컨다중검정(P<0.05).

② 배추의 생육조사결과

최종제품의 처리에 따른 배추의 생육조사결과는 표 65와 같다. 무처리구와 비교할 때, 대조구와 최종제품 처리구들은 엽록소, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중이 증가하였다. 대조구와 비교 시 최종제품 처리구들은 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않았다. 부추시험에서 최종제품의 추천시비량은 300 ~ 600 kg/10a로 상추시험결과와 유사하게 나타났으나 시험용 포트가 4 inch로서 상추의 재식거리에 미치지 못해 포장에서의 시험을 통한 시비량 설정시험이 필요하였다.

표 65. 최종제품의 처리에 의한 배추의 생육조사결과

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	2.64b*	20.2a	19.4b	9.4b	56.8b	3.46b
대조구	3.73a	20.3a	27.5a	12.5a	75.7a	4.07a
추천 반량	3.37ab	19.7a	29.2a	13.3a	78.3a	3.89ab
추천량	2.83c	19.0a	28.9a	12.8a	88.1a	4.08a
추천 배량	3.05bc	20.0a	28.2a	12.6a	88.6a	4.17a

*던컨다중검정(P<0.05).

(라) 결론

2차 시제품 중 가공계분의 혼합량에 따른 유기질비료의 작물재배시험을 수행하여 작물생육이 우수한 가공계분 혼합량을 결정하고자 재배시험을 수행하였다. 상추재배시험에서 최종제품 처리구들은 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않았다. 배추재배시험에서 최종제품 처리구들은 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않아 처리구별 차이를 나타내지 않았다. 이들 결과를 종합할 때, 최종제품은 대조구와 유사한 작물생육을 나타내어 기존의 혼합유기질비료를 대신하여 사용이 가능하였다.

(3) 결론

가공계분, 아주까리유박, 미강 및 골분을 혼합한 후 유기질비료로 제형화하여 생산한 유기질비료(혼합유기질비료)의 주성분과 유해성분을 분석한 결과, 주성분과 유해성분 모두 비료공정규격에 대한 적합하여 유기질비료로 등록이 가능하였다. 최종제품 처리구들은 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않아 기존의 혼합유기질비료를 대신하여 사용이 가능하였다.

제 2 장 계분 적용 발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화 기술개발(목원대학교)

제 1 절 계분발효촉진 우수미생물 선발

1. 고온성 단백질분해효소 생성균주 확보

목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 보유 중인 단백질분해효소생성 균주(253균주)를 대상으로 1% skim milk가 함유된 평판배지에 접종하여 60°C에서 3일간 배양하면서 집락체 주위에 형성된 투명환(clear zone)을 측정하여 단백질 분해능을 조사하였다. 단백질 분해능 선택 배지(skim milk agar) 상에서 직경 0.5 cm 크기 이상의 분해능을 나타낸 9균주를 1차 선발하였다(그림 70).

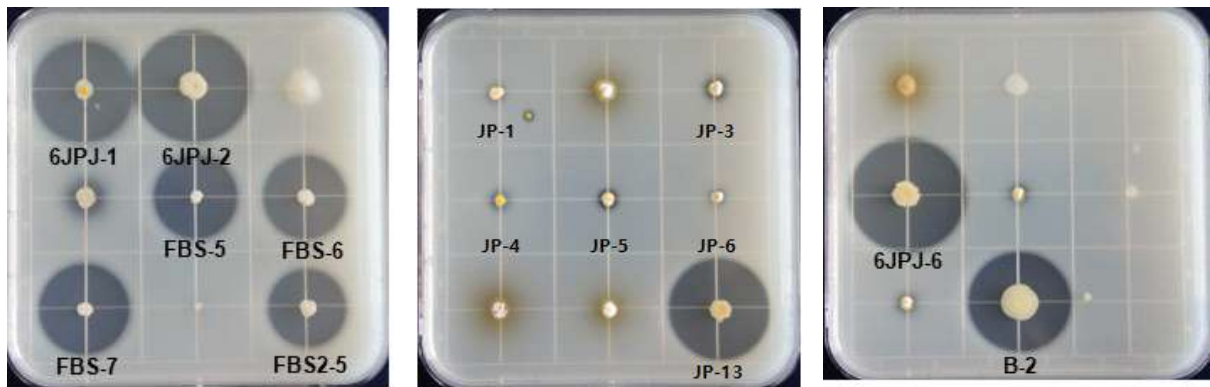


그림 70. 고온성 단백질분해효소 생성균주 선발

고온성 단백질분해 우수균주로 선발된 9균주를 대상으로 Anson의 방법에 의거하여 단백질 분해효소 활성능을 측정하였다. 조효소 추출을 위해 60°C에서 3일간 NB 배지에 배양 후 균체를 제거하여 조효소액을 추출하였다. 각 균주로부터 추출된 조효소를 이용하여 고온성 단백질 분해효소 활성능을 측정한 결과, 6JPJ-6 균주가 47.6 unit/ml로 가장 높은 활성능이 확인되었다. 반면 6JPJ-6 균주를 제외한 나머지 균주는 20 unit/ml 미만의 효소활성능을 나타내었다(그림 71). 상기의 결과로부터 6JPJ-6 균주가 고온성 단백질분해효소 우수균주로 최종선발 되었다.

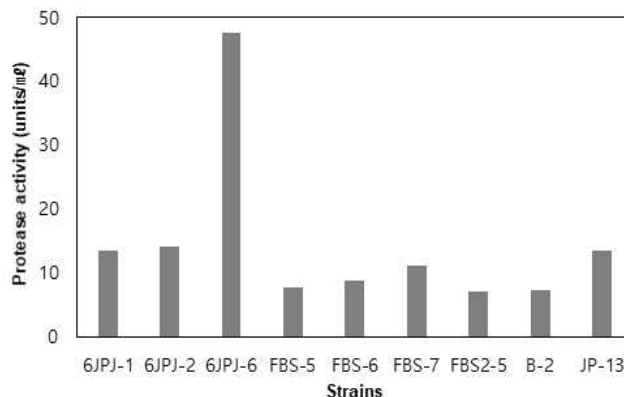


그림 71. 고온성 단백질분해효소 활성능 측정

2. 고온성 섬유소분해효소 생성균주 확보

목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 보유 중인 섬유소분해효소생성 균주(475균주)를 대상으로 0.4% C.M.C (carboxymethyl cellulose)와 congo red 0.06% 가 함유된 평판배지에 접종하여 60℃에서 3일 간 배양하면서 집락체 주위에 형성된 투명환(clear zone)을 측정하여 섬유소 분해능을 조사하였다. 섬유소 분해능 선택배지(CMC agar) 상에서 직경 0.3 cm 크기 이상의 분해능을 나타낸 13균주를 1차 선발하였다(그림 72).

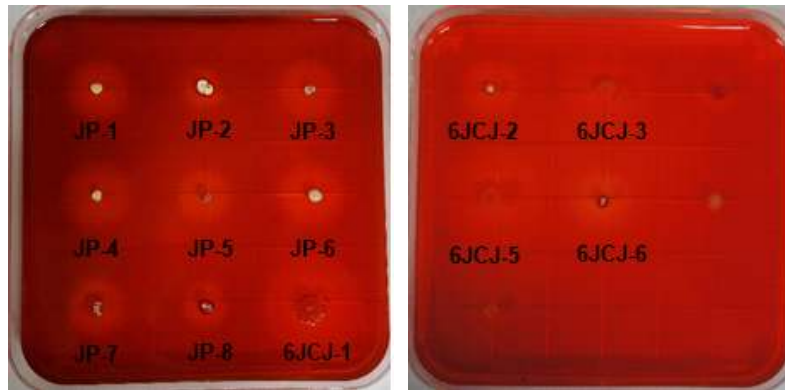


그림 72. 고온성 섬유소분해효소 생성균주 선발

고온성 섬유소분해 우수균주로 선발된 13균주를 대상으로 DNS 법에 의거하여 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다. 조효소 추출을 위해 60℃에서 3일간 NB 배지에 배양 후 균체를 제거하여 조효소액을 추출하였다. 각 균주로부터 추출된 조효소를 이용하여 고온성 섬유소분해효소 활성능을 측정한 결과, 6JCJ-1 균주가 29.7 unit/ml로 가장 높은 활성능을 보였다. 반면 6JCJ-1 균주를 제외한 나머지 균주는 15 unit/ml 미만의 효소활성능을 나타내었다(그림 73).

상기의 결과로부터 6JCJ-1 균주가 고온성 섬유소분해효소 우수균주로 최종선발 되었다.

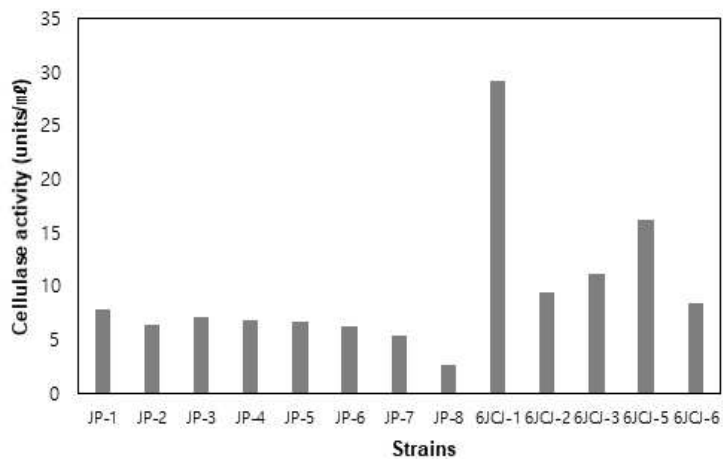


그림 73. 고온성 섬유소분해효소 활성능 측정

3. 고온성 인산가용화세균 확보

목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 보유 중인 인산가용화세균(85균주)를 대상으로 0.5% tri-calcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$]가 함유된 Pikovskaya 평판배지에 접종하여 60°C에서 3일간 배양하면서 집락체 주위에 형성된 투명환(clear zone)을 측정하여 인산염 가용화를 조사하였다. 인산염 가용화 선택배지(Pikovskaya agar) 상에서 직경 0.4 cm 크기이상의 분해능을 나타낸 3균주를 1차 선발하였다(그림 74).

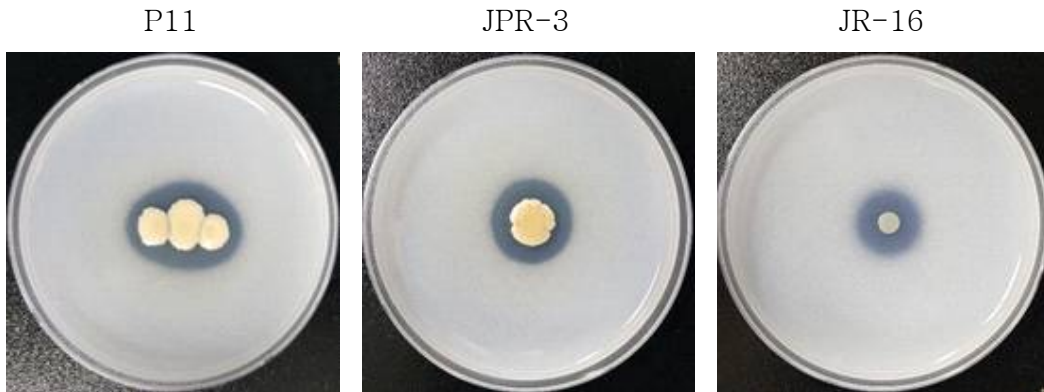


그림 74. 고온성 인산가용화세균 선발

고온성 인산가용화 우수균주로 선발된 3균주를 대상으로 vanadomolybdophosphoric acid colorimetric법에 의거하여 인산 가용화능을 측정하였다. 조효소 추출을 위해 60°C에서 3일간 NB 배지에 배양 후 균체를 제거하여 조효소액을 추출하였다. 각 균주로부터 추출된 조효소를 이용하여 고온성 인산 가용화능을 측정한 결과, P11 균주가 169mg/L로 가장 높은 활성능이 확인되었다. 반면 JPR-3 균주와 JR-16 균주는 100 mg/L 미만의 인산 가용화능을 나타내었다(그림 75).

상기의 결과로부터 P11 균주가 고온성 인산가용화 우수균주로 최종선발 되었다.

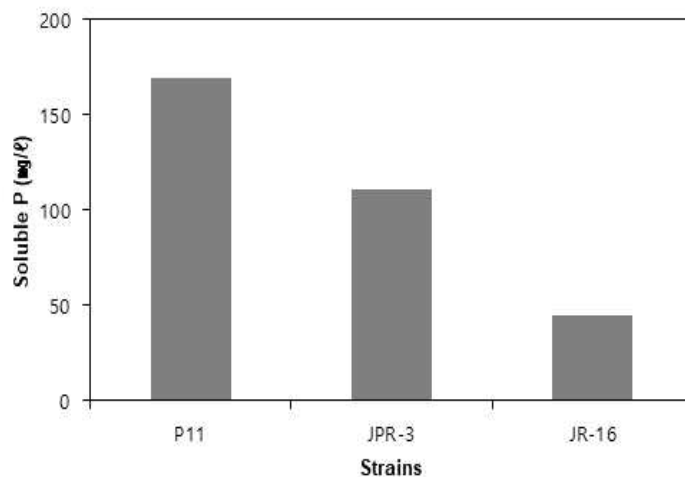


그림 75. 고온성 인산 가용화능 측정

4. 고온성 암모니아산화세균 확보

축산분뇨 퇴비시료로부터 분리한 고온성 암모니아산화세균 168균주를 대상으로 2 mM의 $(NH_4)_2SO_4$ 를 첨가한 무기염 배지에 접종하여 암모니아산화능을 측정한 후 비교하였다. 호기 및 혐기적 배양을 통해 순수 분리한 암모니아산화세균의 암모니아산화능을 측정한 결과, 약 50% 이상의 산화능을 나타낸 5균주를 1차 선별하였다(그림 76).

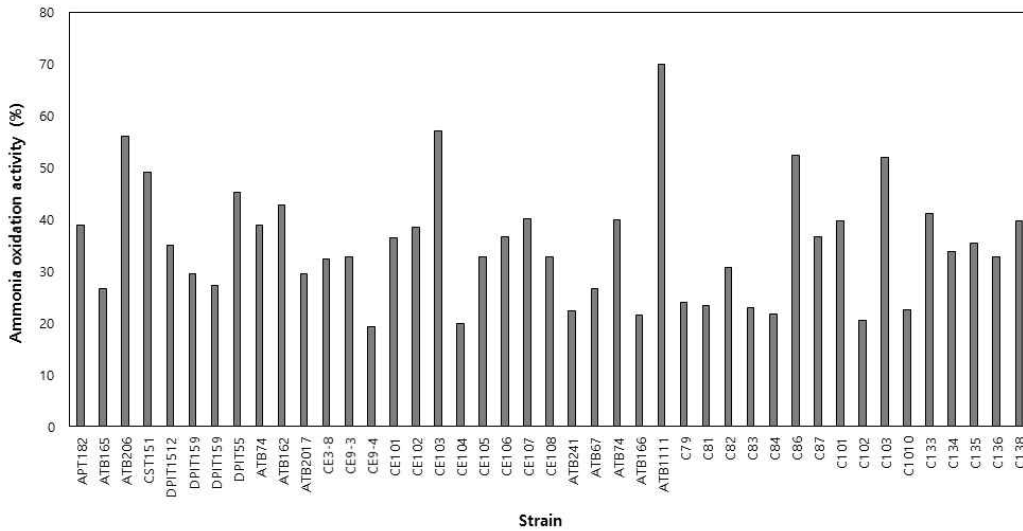


그림 76. 고온성 암모니아 산화능 비교

고온성 암모니아산화세균으로 선별된 5균주를 대상으로 암모니아산화능을 측정하였다. 조효소 추출을 위해 50°C에서 3일간 AOB 배지에 배양 후 균체를 제거하여 조효소액을 추출하였다. 각 균주로부터 추출된 조효소를 이용하여 고온성 암모니아산화능을 측정한 결과, 약 60~70% 이상의 암모니아산화능을 보인 ATB1111 균주와 CE103 균주를 최종선발 하였다. (그림 77).

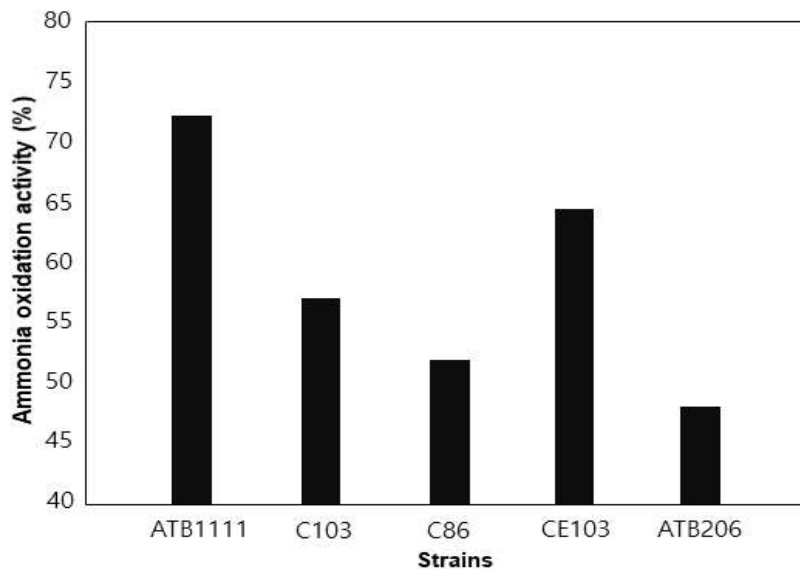


그림 77. 고온성 암모니아산화능 측정.

<계분발효촉진 우수미생물 선발 최종 결론>

목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 보유중인 미생물을 대상으로 고온성 단백질분해세균, 섬유소분해세균, 인산가용화세균, 암모니아산화세균 등 계분발효 촉진 우수미생물을 선발한 결과 다음과 같이 총 5균주가 확보하였다.

<계분발효촉진 우수미생물 선발>

분해세균	균주명	분해능
단백질분해세균	6JPJ-6	47.6unit/ml
섬유소분해세균	6JCJ-1	29.7unit/ml
고온성 인산가용화 세균	P11	169mg/l
고온성 암모니아산화세균	ATB1111	70%
	CE103	60%

제 2 절 계분발효촉진 우수미생물의 계통분류

1. 고온성 단백질분해효소생성 세균 6JPJ-6 균주의 계통학적 위치

고온성 단백질분해효소생성 세균 6JPJ-6 균주에 대한 16S rRNA 유전자 염기서열을 결정하고 NCBI/EzBioCloud를 이용하여 계통학적 위치를 검토하였다. 각 염기서열은 CLUSTAL W algorithm을 이용하여 alignment하고 근린 결합법에 의거한 MEGA 5.0 program으로 계통수를 작성하였다.

고온성 단백질분해효소생성 세균 6JPJ-6 균주는 Firmicutes 계통군의 *Planifilum* 속에 속하였으며, 근연종들과 유사도를 조사한 결과, *Planifilum fimeticola* H0165^T와 99.8%의 높은 상동성을 나타내어 *Planifilum fimeticola*로 동정되었다(그림 78).

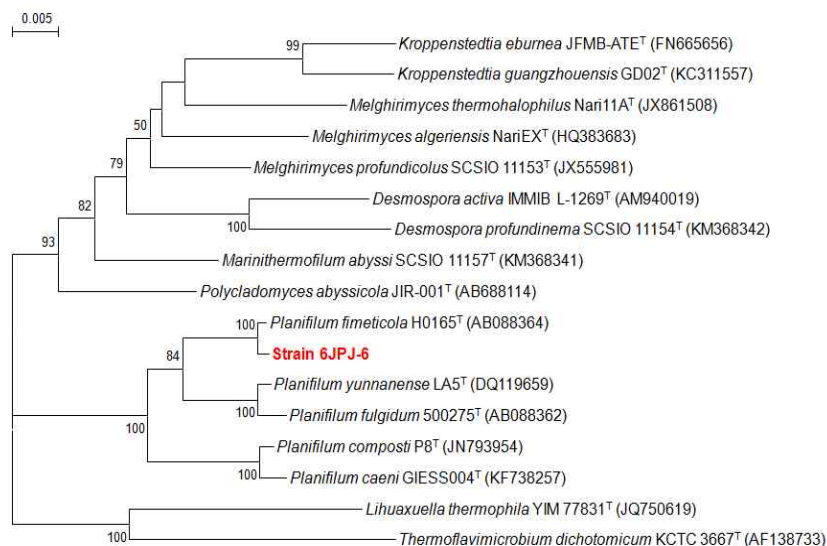


그림 78. 고온성 단백질분해효소생성 세균 6JPJ-6 균주의 계통학적 위치.

2. 고온성 혐유소분해효소생성 세균 6JCJ-1 균주의 계통학적 위치

고온성 혐유소분해효소생성 세균 6JCJ-1 균주에 대한 16S rRNA 유전자 염기서열을 결정하고 NCBI/EzBioCloud를 이용하여 계통학적 위치를 검토하였다. 각 염기서열은 CLUSTAL W algorithm을 이용하여 alignment하고 근린 결합법에 의거한 MEGA 5.0 program으로 계통수를 작성하였다.

고온성 혐유소분해효소생성 세균 6JCJ-1 균주는 Firmicutes 계통군의 *Geobacillus* 속에 속하였으며, 근연종들과 유사도를 조사한 결과, *Geobacillus caldoxylosilyticus* NBRC 107762^T와 99.8%의 높은 상동성을 나타내어 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 로 동정되었다(그림 79).

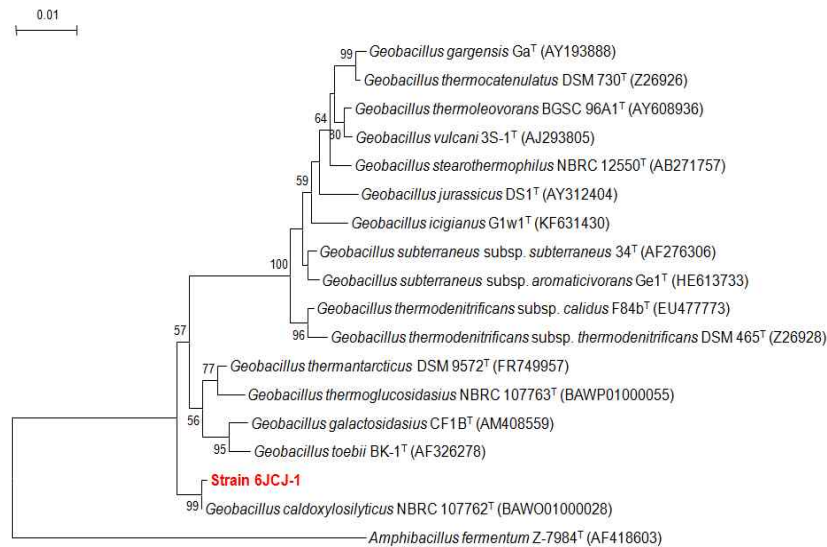


그림 79. 고온성 혐유소분해효소생성 세균 6JCJ-1 균주의 계통학적 위치.

3. 고온성 인산가용화세균 P11 균주의 계통학적 위치

고온성 인산가용화세균 P11 균주에 대한 16S rRNA 유전자 염기서열을 결정하고 NCBI/EzBioCloud를 이용하여 계통학적 위치를 검토하였다. 각 염기서열은 CLUSTAL W algorithm을 이용하여 alignment하고 근린 결합법에 의거한 MEGA 5.0 program으로 계통수를 작성하였다.

고온성 인산가용화세균 P11 균주는 Firmicutes 계통군의 *Geobacillus* 속에 속하였으며, 근연종들과 유사도를 조사한 결과, *Geobacillus kaustophilus* NBRC 102445^T와 99.8%의 높은 상동성을 나타내어 *Geobacillus kaustophilus*로 동정되었다(그림 80).

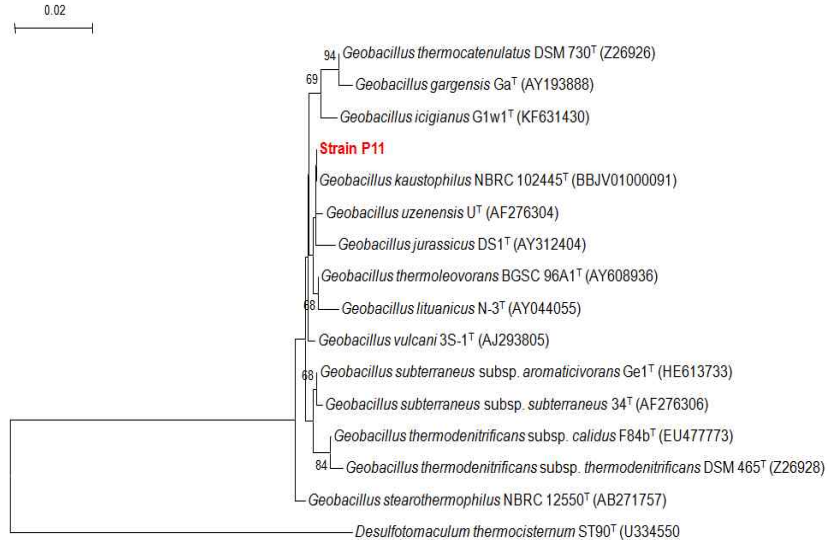


그림 80. 고온성 인산가용화세균 P11 균주의 계통학적 위치.

4. 고온성 암모니아산화세균의 계통학적 위치

고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주와 CE103 균주에 대한 16S rRNA 유전자 염기서열을 결정하고 NCBI/EzBioCloud를 이용하여 계통학적 위치를 검토하였다. 각 염기서열은 CLUSTAL W algorithm을 이용하여 alignment하고 근린 결합법에 의거한 MEGA 5.0 program으로 계통수를 작성하였다.

고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주는 Firmicutes 계통군의 *Brevibacillus* 속에 속하였으며, 근연종들과 유사도를 조사한 결과, *Brevibacillus aydinogluensis* DSM 7064^T와 99.1% 그리고 *Brevibacillus thermoruber* DSM 7064^T와 98.2%의 상동성을 나타내어 *Brevibacillus* sp.로 동정되었다(그림 81).

현재 LPSN (list of prokaryotic names with standing in nomenclature)에 등록된 *Brevibacillus* 속은 22종으로 종간 16S rRNA 유전자 염기서열 상동성이 높아 추후, 동정을 위해 다상분류법에 의거한 동정이 요구되었다.

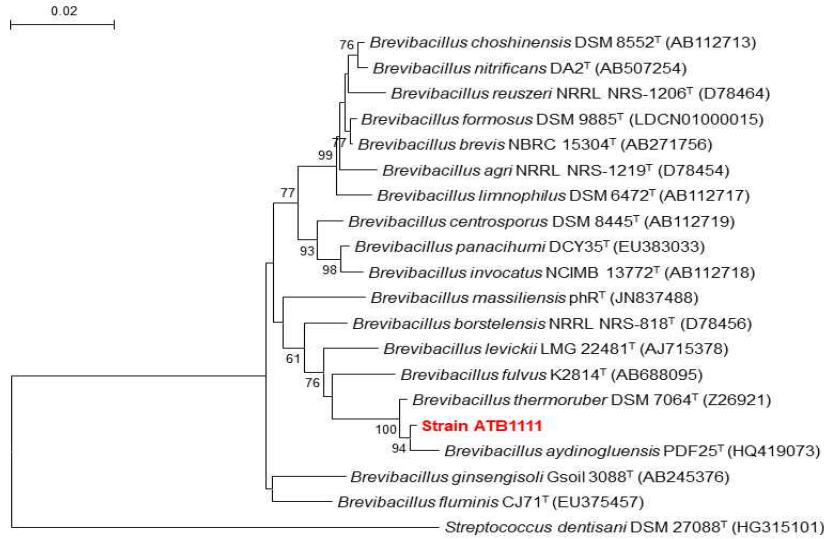


그림 81. 고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주의 계통학적 위치.

고온성 암모니아산화세균 CE103 균주는 Firmicutes 계통군의 *Bacillus* 속에 속하였으며, 근연종들과 유사도를 조사한 결과, *Bacillus paralicheniformis* KJ-16^T, *Bacillus licheniformis* KJ-16^T와 99.7% 그리고 *Bacillus glycinifementans* GO-13^T와 99.1%의 높은 상동성을 나타내어 16S rRNA 유전자 염기서열 해석에 의한 종 동정에 한계가 있음이 확인되었다(그림 82).

상기의 균주는 중간 16S rRNA 유전자 상동성이 99% 이상으로 나타난 *Bacillus* group I 에 속하였으며, 이들 *Bacillus* 속 균주들은 16S rRNA gene 유의도가 매우 높아 house keeping gene을 분석하여 표준균주와 비교 동정이 요구되었다.

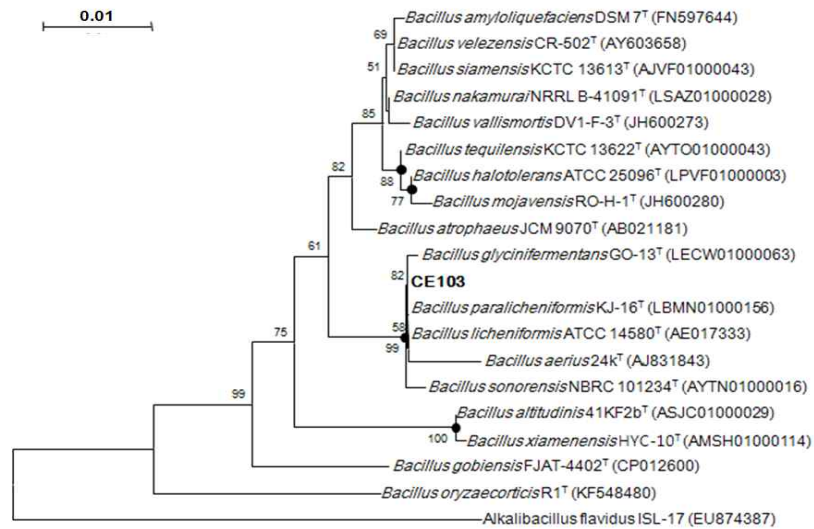


그림 82. 고온성 암모니아산화세균 CE103 균주의 계통학적 위치.

<계분발효촉진 우수미생물 계통분류 최종 결론>

목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 보유중인 미생물을 대상으로 고온성 단백질분해세균, 섬유소분해세균, 인산가용화세균, 암모니아산화세균 등 계분발효 촉진 우수미생물을 선발하여 계통학적 위치를 살펴본 결과 다음과 같이 나타났다.

<최종 선발된 계분발효촉진 우수미생물의 계통학적 위치>

선발균주	동정명
단백질분해세균	<i>Planifilum fimeticola</i>
섬유소분해세균	<i>Geobacillus caldoxylosilyticus</i>
고온성 인산가용화 세균	<i>Geobacillus kaustophilus</i>
고온성 암모니아산화세균	<i>Brevibacillus</i> sp. <i>Bacillus paralichenifomis</i>

제 3 절 계분발효촉진 미생물의 대량배양 최적조건 구축

미생물제제를 생산하기 위해서는 미생물의 대량배양이 필수적으로 이루어져야 한다. 그러나 일반적으로 미생물 배양에는 주로 고가의 상업용 배지를 사용하기 때문에 원료가 저렴하고 균체의 회수가 용이할 뿐만 아니라 균주의 특성을 높일 수 있는 배양배지가 필요하다. 또한 미생물제제의 경우 인공합성원료의 사용이 금지되어있어 이에 맞는 원료를 선정하거나 불필요한 영양분의 첨가를 최소화시켜야한다. 최근에는 이러한 문제점을 해결하기 위해 미생물의 특성에 적합한 산업용 배지를 개발하고 있으며, 주원료로는 콩 부산물, 맥아추출물, 감자전분, 밀기울, 쌀겨와 같은 식물성 원료를 이용하거나 미생물 생육에 필요한 기질(탄소원, 질소원, 무기염 등)을 첨가하고 있다.

본 연구에서는 제 1장에서 선발된 발효촉진 미생물을 대상으로 대량배양 최적조건을 구축하기 위해 저렴하고 미생물 배양의 용이한 원료를 선정하고, 생육에 필요한 기질(첨가제)을 활용하여 균주의 특성에 적합한 산업용 배지를 선정하였다. 또한 이에 맞는 배양조건(온도, pH, 교반속도 등), 배양기간 등을 선정하여 산업용 배지로의 이용가능성에 대하여 연구하고자 하였다.

1. 고온성 단백질분해효소 생성 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 최적배지 조건

(1) 배양배지 선정

고온성 단백질분해효소 생성 우수균주로 최종선발된 6JPJ-6 균주의 단백질분해효소 생성을 위한 최적배지를 조사하기 위하여 Nutrient broth (NB), Luria-Bertani broth (LB), Tryptic soy broth (TSB), Glucose yeast broth (GYB) 그리고 R2A broth (R2B) 배지를 이용하여 생육능과 단백질분해 활성능을 평가하였다. 배양은 60°C에서 3일간 120rpm으로 일정하게 조절하여 생균수를 측정된 결과, NB 배지와 TSB배지, LB 배지 간에 큰 차이를 보이지 않고 $8.2 \times 10^6 \sim 10^7$ CFUs/ml 비슷한 생육양상을 보였다(그림 83).

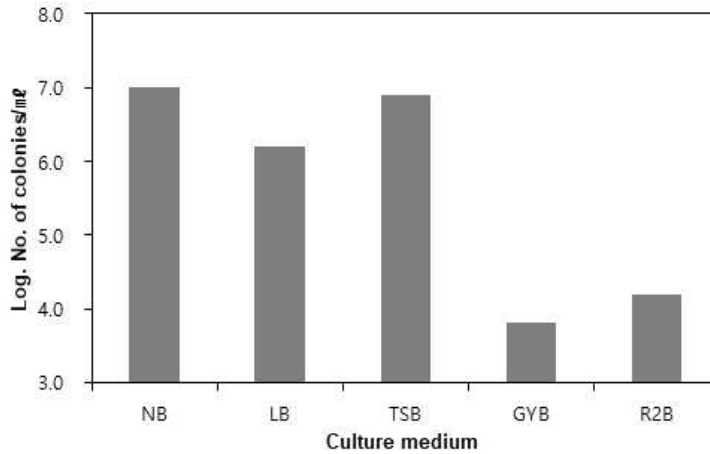


그림 83. 배양배지에 따른 생균수 측정.

6JPJ-6 균주배양액에서 조효소를 추출하여 단백질분해효소 활성능을 측정된 결과, LB 배지에서 48.6 units/ml로 높은 효소활성을 나타내었으며, TSB 배지(16.2 units/ml)보다 약 3배 이상 높은 활성능을 나타내었다. 이상의 결과로부터 LB 배지가 단백질분해효소 생성을 위한 최적 배지임이 확인되었다(그림 84).

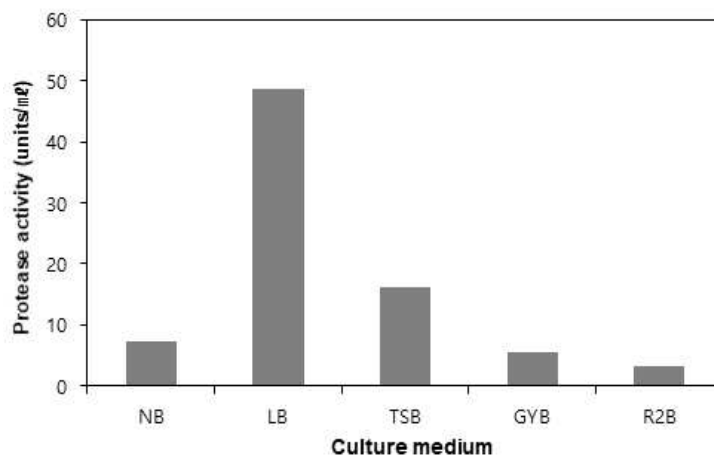


그림 84. 배양배지에 따른 단백질분해효소 활성능.

(2) 탄소원 첨가에 따른 효과

고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 탄소원을 조사하기 위해 NH_4Cl 과 yeast extract

를 제외한 무기염기초배지에 6종류의 탄소원(cellulose, glucose, lactose, maltose, starch, sucrose)을 각각 1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다. *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 생육을 측정한 결과, cellulose, lactose, maltose, starch 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 cellulose를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 66).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 6종류의 탄소원 중 cellulose, lactose, maltose, starch 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구(5.2±0.5 units/ml)보다 효소 활성이 증가하였으며, 그 중 cellulose를 첨가한 경우 24.1±1.1 units/ml로 최대 활성을 나타내었다.

표 66. 탄소원 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

탄소원 (1.0%, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	Protease activity (units/ml)
None	0.02	5.2±0.5
Cellulose	0.064	24.1±1.1
Glucose	0	0
Lactose	0.04	8.4±0.3
Maltose	0.034	14.6±0.5
Starch	0.042	14.2±1.0
Sucrose	0.023	12.2±0.9

상기의 결과로부터 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 탄소원으로 cellulose를 선정하였다.

(3) 질소원 첨가에 따른 효과

고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 질소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract 를 제외한 무기염기초배지에 선정된 탄소원 cellulose를 1% 첨가하고, 6종류의 질소원(beef extract, gelatin, peptone, tryptone, yeast extract, skim milk, soybean)을 각각 0.5% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조, 60°C에서 3일 동안 배양 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다.

Planifilum fimeticola 6JPJ-6 균주의 생육을 측정한 결과, beef extract, peptone, tryptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 yeast extract 를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 67).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 7종류의 질소원 중 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구(24.1±1.1 units/ml)보다 효소 활성(31.2±0.7 units/ml)이 증가하였으며, 그 외 6종류는 효소 활성능이 감소하는 것으로 확인되었다.

표 67. 질소원 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

질소원 (0.5 %, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	Protease activity (units/ml)
None (only 1.0% cellulose)	0.064	24.1±1.1
Beef extract	0.124	15.3±0.8
Gelatin	0.035	9.5±1.2
Peptone	0.145	19.2±0.3
Tryptone	0.177	21.2±1.2
Yeast extract	0.282	31.2±0.7
Skim milk	0.022	6.2±1.0
Soybean	0.045	11.6±0.4

상기의 결과로부터 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 질소원으로 yeast extract를 선정하였다.

(4) 무기염 첨가에 따른 효과

고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 무기염을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 최적 탄소원으로 선정된 cellulose와 최적 질소원으로 선정된 yeast extract를 각각 1.0% 그리고 0.5%를 첨가하였다. 6종류의 무기염(CaCO₃, K₂HPO₄, KH₂PO₄, KCl, MgSO₄·7H₂O, FeSO₄)을 각각 0.1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다.

Planifilum fimeticola 6JPJ-6 균주의 생육을 측정한 결과, CaCO₃, K₂HPO₄, KH₂PO₄ 그리고 MgSO₄·7H₂O 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 CaCO₃, K₂HPO₄ 그리고 KH₂PO₄를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 68).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 6종류의 무기염 중 CaCO₃, K₂HPO₄ 그리고 KH₂PO₄ 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구(31.2±0.7 units/ml)보다 효소 활성이 증가하였으며, 그 중 K₂HPO₄를 첨가한 경우 36.2±0.9 units/ml로 최대 활성을 나타내었다.

표 68. 무기염 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

무기염 (0.5 %, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	Protease activity (units/ml)
None (only 1.0% cellulose+ 0.5% yeast extract)	0.282	31.2±0.7
CaCO ₃	0.312	32.6±1.2
K ₂ HPO ₄	0.455	36.2±0.9
KH ₂ PO ₄	0.345	33.2±1.0
KCl	0.065	11.7±1.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.332	19.2±0.8
FeSO ₄	0.012	5.2±1.3

상기의 결과로부터 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 고온성 단백질분해효소 생성을 위한 최적 무기염으로 K₂HPO₄를 선정하였다.

(5) 배양조건(온도, pH)에 따른 효과

고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 최적배양온도 그리고 초기 pH에 따른 균체 생육과 단백질분해효소 활성능을 측정하기 위해 40, 50, 55, 60, 65 그리고 70°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다. 최적 배양온도는 55-65°C이었으며, 60°C에서 배양할 경우 311.2 units/ml로 높은 활성능을 나타내었으며 70°C 이상에서 생육이 불가능한 것으로 확인되었다(그림 85). 최적 pH는 6-8에서 최적생육을 보이며, pH 7 일 때 321.6 units/ml로 높은 활성능을 나타내었다. 이와 같은 결과로 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주는 온도 60°C, 산도 pH 7.0에서 단백질분해효소 활성이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

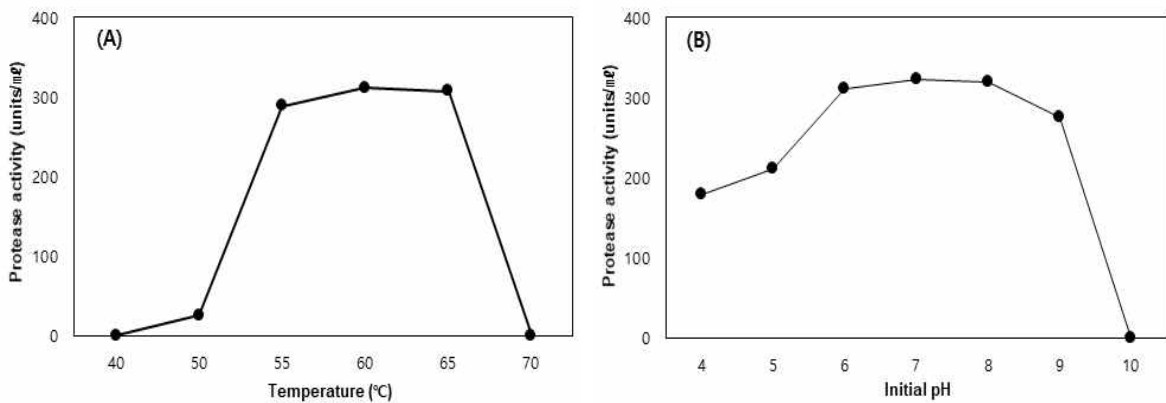


그림 85. 배양온도(A)와 초기 pH (B)에 따른 단백질분해효소 활성 비교.

(6) 교반속도(rpm)에 따른 효과

교반속도에 따른 고온성 단백질분해효소 활성능을 평가하기 위하여 상기에서 결정된 온도(60°C)와 산도(pH 7.0)를 유지하면서 교반속도를 0, 50, 100, 150 그리고 200 rpm으로 설정하여 3일 동안 배양한 후 단백질분해효소 활성능을 측정하였다. 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 단백질분해효소 활성능을 측정한 결과, 교반속도 100~150 rpm에서 311.1 ± 0.5 units/ml로 높은 활성능을 나타내었으며, 교반속도 180 rpm 이상일 경우 단백질분해효소 활성이 감소하는 것으로 확인되었다(그림 86).

이상의 결과로부터 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 단백질분해효소 생성을 위한 최적 교반속도는 120 rpm으로 결정하였다.

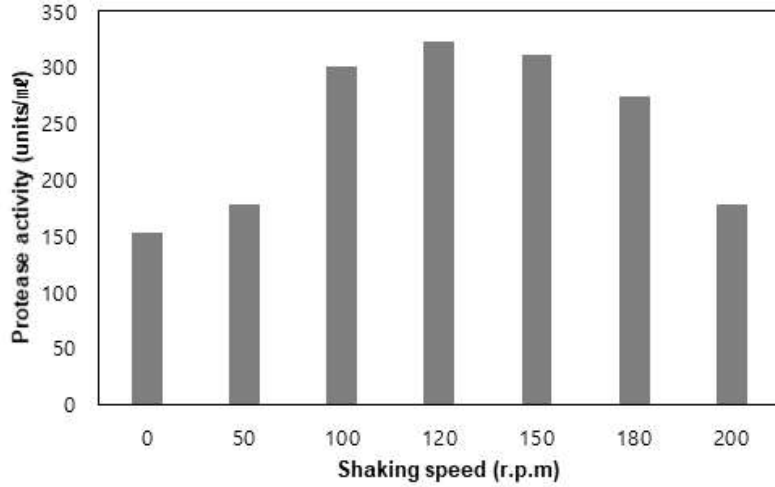


그림 86. 교반속도에 따른 단백질분해효소 활성 비교.

(7) 최적접종 농도 설정

고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위하여 실험실 내 소용량 규모인 10ℓ 액상발효기를 이용하여 균주의 접종농도에 따른 균체 생육과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다. 균주의 대량배양에 사용된 배지로는 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 최적배지(LB + 1.0% cellulose + 0.5% yeast extract)에 균주 배양액을 2, 5, 10% 농도로 각각 접종하고 최적배양온도인 60℃에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 생육능을 측정한 결과, 5%의 접종농도에서 5.2×10^7 cells/ml로 가장 우수한 생육능을 나타내었다(그림 87). 이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 단백질분해 효소 활성능을 측정한 결과, 접종 농도 5~10% 농도에서 큰 차이없이 355.5 units/ml로 높은 활성능을 나타내었다.

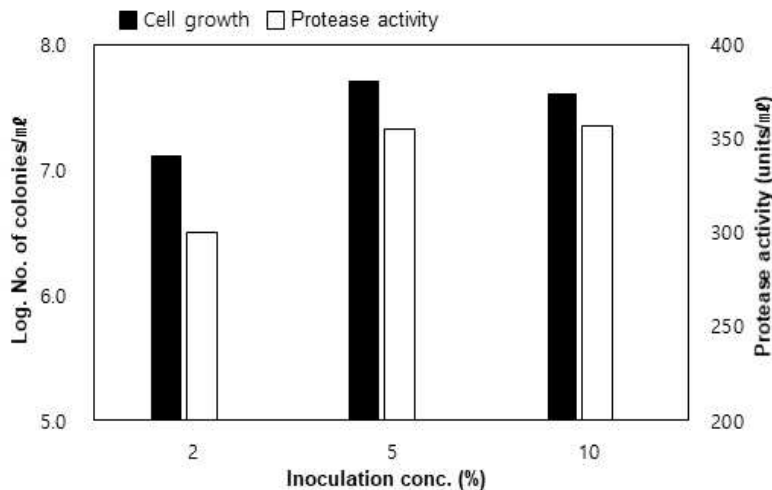


그림 87. 접종농도에 따른 균체 생육과 단백질분해효소 활성능

이상의 결과로, 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 최적접종 농도는 5%로 결정하였다.

(8) 최적배양기간 설정

고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 최적배양기간을 조사하기 위해 10ℓ 액상발효기에 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60℃에서 120 rpm으로 7일간 진탕 배양한 후 1일 간격으로 균체 생육능과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다. 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 생육능을 측정한 결과, 2일 후부터 급격히 증가하면서 7일단 약 10^7 cells/ml의 생균력을 유지하는 것으로 나타내었다(그림 88). 이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 단백질분해 효소 활성능을 측정한 결과, 생육이 증가되는 시기인 3일 후부터 7일까지 최대 300 units/ml 이상 효소활성능을 유지하는 것으로 나타내었다.

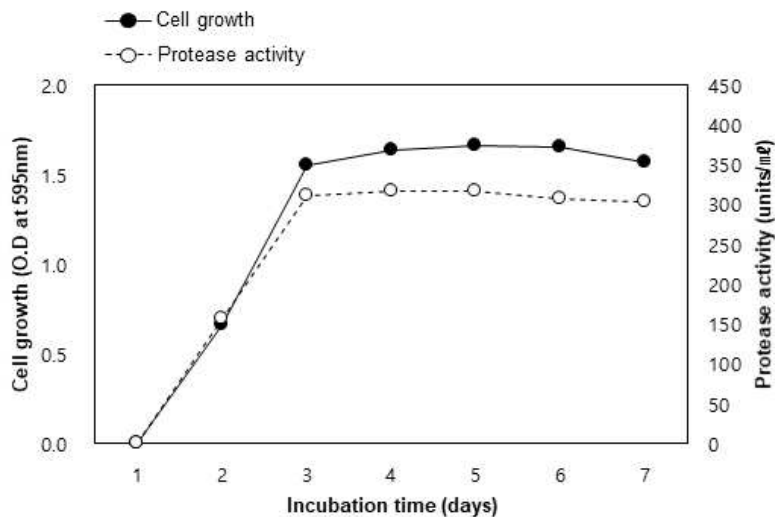


그림 88. 배양기간에 따른 균체 생육과 단백질분해효소 활성능.

이상의 결과로, 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 최적배양배지, 배양조건을 확립한 결과, 기초배지보다 약 7배 이상 단백질분해효소 활성능이 증가하는 것으로 나타났다(표 69).

표 69. 대량배양을 위한 최적배지 및 최적배양 조건 구축

종류	배양조건
배양배지	LB
탄소원	Cellulose 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K ₂ HPO ₄ 0.1%
배양온도(℃)	60℃
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
접종농도(%)	5
배양기간(day)	3

(9) 대량배양을 위한 산업용배지 원료 설정

현재, 미생물을 이용하는 친환경 미생물제제나 유기농자재의 개발에는 인공합성원료의 사용이 금지되어 있어 콩 부산물, 맥아추출물, 감자전분, 밀기울, 쌀겨와 같은 식물성 원료가 미생물 발효를 위한 주원료로 이용되고 있다. 따라서 단백질분해효소 생성을 대량생성하기 위한 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 산업화배지를 선정하고자 식물성 원료인 감자전분, 밀기울 그리고 쌀겨를 배양배지의 영양원으로 사용하여 균체 생육능과 단백질분해 효소 활성능을 조사하여 선정하고자 하였다.

1) 감자전분을 이용한 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 생육능
고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 감자전분을 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육능과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다.

감자전분을 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2% 농도에서 4.1×10^7 cells/ml의 생육능을 나타내었으며, 단백질분해효소 활성능 또한 77.2 units/ml로 가장 높은 활성능을 나타내었다(그림 89). 반면, 5% 이상의 농도를 첨가할 경우, 균체의 생육능과 단백질분해효소 활성능을 저해시키는 것으로 확인되었다.

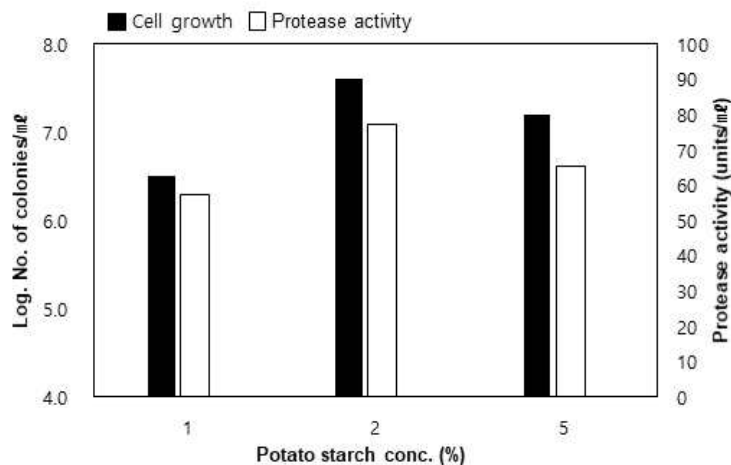


그림 89. 감자전분의 농도에 따른 균체 생육과 단백질분해 효소 활성능 비교.

2) 밀기울을 이용한 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 생육능
고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 밀기울을 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육능과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다.

밀기울을 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2% 농도에서 1.7×10^8 cells/ml의 생육능을 나타내었으며, 단백질분해효소 활성능 또한 456.2 units/ml로 가장 높은 활성능을 나타내었다(그림 90).

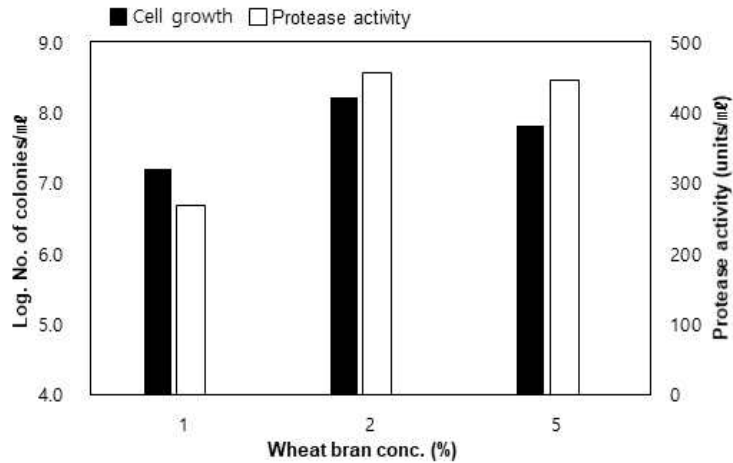


그림 90. 밀기울의 농도에 따른 균체 생육과 단백질분해 효소 활성능 비교.

3) 쌀겨를 이용한 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 생육능 고온성 단백질분해세균 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 쌀겨를 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육능과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다.

쌀겨를 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2% 농도에서 2.2×10^6 cells/ml의 생육능을 나타내었으며, 단백질분해효소 활성능 또한 156.5 units/ml로 가장 높은 활성능을 나타내었다(그림 91).

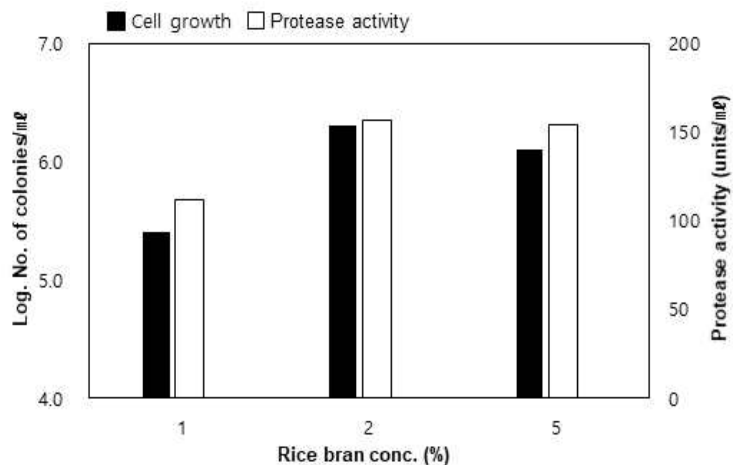


그림 91. 쌀겨의 농도에 따른 균체 생육과 단백질분해 효소 활성능 비교.

이상의 결과로 감자전분, 밀기울, 쌀겨를 대상으로 균주 성장과 단백질분해 활성능을 비교한 결과 식물원 원료인 밀기울을 2% 농도로 첨가하였을 때 균체 생육과 단백질분해효소 생성이 증가하는 것으로 나타나 대량배양을 위한 산업화배지의 원료로 밀기울을 최종 선정하였다(표 70).

표 70. 대량배양을 위한 산업화배지 비교

식물성 원료	농도(%)	생균수 (cells/ml)	Protease activity (units/ml)
감자전분	2	4.1×10^7	77.2
밀기울	2	1.7×10^8	313.5
쌀겨	2	7.8×10^7	317.2

<고온성 단백질분해효소 생성세균 대량배양조건 최종 결론>

고온성 단백질분해세균으로 선발된 *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 균주의 대량배양조건은 다음과 같다.

<고온성 단백질분해세균 대량배양을 위한 최적조건 확립>

종류	배양조건
탄소원	Cellulose 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K_2HPO_4 0.1%
배양온도(°C)	60°C
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
균주 접종농도(%)	5
배양기간(day)	3
산업배지 원료	밀기울 2%

2. 고온성 섬유소분해효소 생성 *Geobacillus caldxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 최적배지 조건

(1) 배양배지 선정

고온성 섬유소분해효소 생성 우수균주로 최종 선발된 6JCJ-1 균주의 섬유소분해효소 생성을 위한 최적배지를 조사하기 위하여 Nutrient broth (NB), Luria-Bertani broth (LB), Tryptic soy broth (TSB), Glucose yeast broth (GYB) 그리고 R2A broth (R2B) 배지를 이용하여 생육과 섬유소분해 활성능을 평가하였다. 균주는 60°C에서 3일간 120 rpm으로 배양하여 생균수를 측정한 결과, $2.2\sim 3.4 \times 10^6$ CFU/ml로 NB 배지, LB 배지 그리고 TSB 배지에서 가장 높은 생균수를 나타내었다(그림 92).

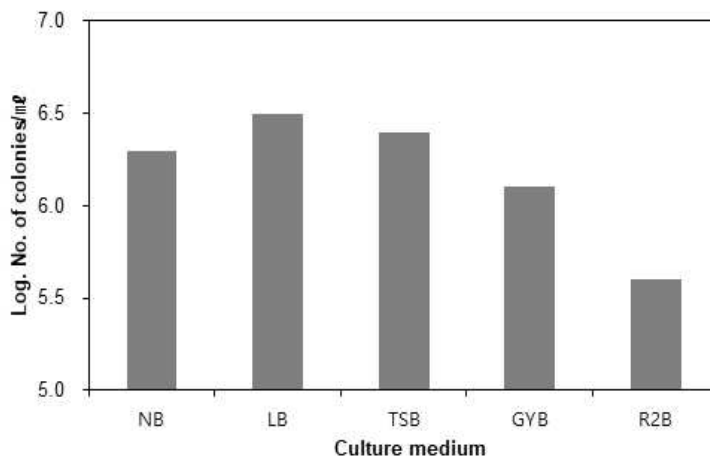


그림 92. 배양배지에 따른 생균수 측정.

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 섬유소분해효소 활성능을 측정한 결과, NB 배지에서 24.6 units/ml로 높은 효소활성을 나타내었으며, LB 배지(6.3 units/ml)와 TSB 배지(12.7 units/ml)보다 약 2~4배 이상 높은 활성능을 나타내었다. 이상의 결과로부터 NB 배지가 섬유소분해효소 생성을 위한 최적배지임이 확인되었다(그림 93).

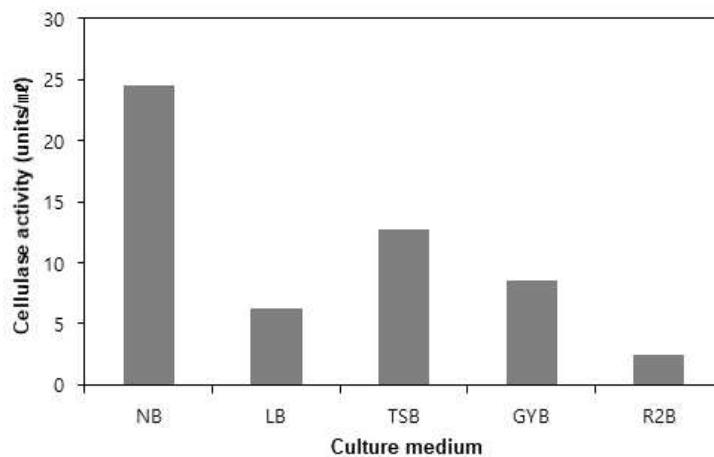


그림 93. 배양배지에 따른 섬유소분해효소 활성능.

(2) 탄소원 첨가에 따른 효과

고온성 혐유소분해효소 생성을 위한 최적 탄소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 6종류의 탄소원(cellulose, glucose, lactose, maltose, starch, sucrose)을 각각 1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다. *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 생육을 측정한 결과, cellulose, glucose, lactose, maltose 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 sucrose를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 71).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 6종류의 탄소원 중 cellulose, maltose 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구(7.4±0.3 units/ml)보다 효소 활성이 증가하였으며, 그 중 sucrose를 첨가한 경우 17.2±0.5 units/ml로 최대 활성을 나타내었다.

표 71. 탄소원 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

탄소원 (1.0%, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	Cellulase activity (units/ml)
None	0.011	7.4±0.3
Cellulose	0.033	11.6±0.4
Glucose	0.08	5.9±1.0
Lactose	0.022	6.2±0.3
Maltose	0.025	7.7±1.1
Starch	0	0
Sucrose	0.045	17.2±0.5

상기의 결과로부터 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 고온성 혐유소분해효소 생성을 위한 최적 탄소원으로 sucrose를 선정하였다.

(3) 질소원 첨가에 따른 효과

고온성 혐유소분해효소 생성을 위한 최적 질소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 선정된 탄소원 sucrose를 1% 첨가하고, 7종류의 질소원(beef extract, gelatin, peptone, tryptone, yeast extract, skim milk, soybean)을 각각 0.5% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다.

Geobacillus caldoxylosilyticus 6JCJ-1 균주의 생육을 측정한 결과, beef extract, peptone, tryptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 yeast extract를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 72).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 7종류의 질소원 중 beef extract, peptone, tryptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구 (17.2 ± 0.5 units/ml)보다 효소 활성이 증가하였으며, 그 중 yeast extract를 첨가한 경우 29.2 ± 0.5 units/ml로 최대 활성을 나타내었다.

표 72. 질소원 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

질소원 (0.5 %, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	cellulase activity (units/ml)
None (only 1.0% sucrose)	0.045	17.2 ± 0.5
Beef extract	0.115	21.6 ± 1.1
Gelatin	0.033	11.2 ± 0.7
Peptone	0.113	19.3 ± 1.2
Tryptone	0.254	20.2 ± 1.1
Yeast extract	0.324	29.2 ± 0.5
Skim milk	0.094	9.3 ± 0.9
Soybean	0.042	8.3 ± 1.3

상기의 결과로부터 *Geobacillus caldxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 고온성 섬유소분해효소 생성을 위한 최적 질소원으로 yeast extract를 선정하였다.

(4) 무기염 첨가에 따른 효과

고온성 섬유소분해효소 생성을 위한 최적 무기염을 조사하기 위해 NH_4Cl 과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 최적 탄소원으로 선정된 sucrose와 최적 질소원으로 선정된 yeast extract를 각각 1.0% 그리고 0.5%를 첨가하였다. 6종류의 무기염(CaCO_3 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , KCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4)을 각각 0.1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C 에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 조효소액의 활성을 측정하였다.

Geobacillus caldxylosilyticus 6JCJ-1 균주의 생육을 측정한 결과, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , KCl 그리고 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 CaCO_3 , K_2HPO_4 그리고 KH_2PO_4 를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 73).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 효소 활성을 측정한 결과, 6종류의 무기염 중 K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , KCl 그리고 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구 (29.2 ± 0.5 units/ml)보다 효소 활성이 증가하였으며, 그 중 K_2HPO_4 를 첨가한 경우 33.6 ± 1.1 units/ml로 최대 활성을 나타내었다.

표 73. 무기염 종류에 따른 균체 생육과 효소 활성능 측정

무기염 (0.1 %, w/v)	균체 생육 (O.D 595nm)	Cellulase activity (units/ml)
None (only 1.0% sucrose + 0.5% yeast extract)	0.324	29.2±0.5
CaCO ₃	0.056	14.3±0.7
K ₂ HPO ₄	0.453	33.6±1.1
KH ₂ PO ₄	0.421	31.2±1.3
KCl	0.366	29.1±0.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.412	30.2±0.4
FeSO ₄	0.04	10.4±1.1

상기의 결과로부터 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 고온성 섬유소분해효소 생성을 위한 최적 무기염으로 K₂HPO₄ 가 선정하였다.

(5) 배양조건(온도, pH)에 따른 효과

Geobacillus caldoxylosilyticus 6JCJ-1 균주의 최적배양온도 그리고 초기 pH에 따른 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능을 측정하기 위해 40, 50, 60, 70, 80 그리고 90℃에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 단백질분해효소 활성능을 측정하였다. 최적 배양온도는 60℃로, 60℃에서 배양할 경우 356.4 units/ml로 높은 활성능을 나타내었으며 85℃ 이상에서 생육이 불가능한 것으로 확인되었다(그림 94). 최적 pH는 7-8에서 최적생육을 보이며, pH 7 일 때 345.4 units/ml로 높은 활성능을 나타내었다. 이와 같은 결과로 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주는 온도 60℃, 산도 7.0에서 단백질분해효소 활성이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

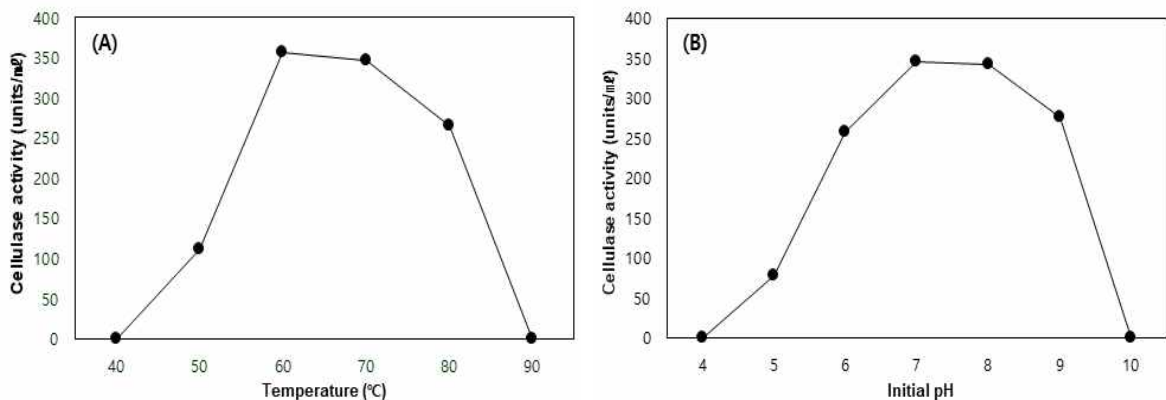


그림 94. 배양온도(A)와 초기 pH (B)에 따른 섬유소분해효소 활성 비교.

(6) 교반속도(rpm)에 따른 효과

교반속도에 따른 고온성 섬유소분해효소 활성능을 평가하기 위하여 배양조건은 60°C에서 pH 7.0으로 조절하고 교반속도를 0, 50, 100, 150 그리고 200 rpm으로 설정하여 3일 동안 배양한 후 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다. 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 섬유소분해효소 활성능을 측정한 결과, 교반속도 100~150 rpm에서 355.2 units/ml로 높은 활성능을 나타내었으며, 교반속도 180 rpm 이상일 경우 섬유소분해효소 활성이 떨어지는 것으로 확인되었다(그림 95).

이상의 결과로부터 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 섬유소분해효소 생성을 위한 최적 교반속도로 120 rpm이 확인되었다.

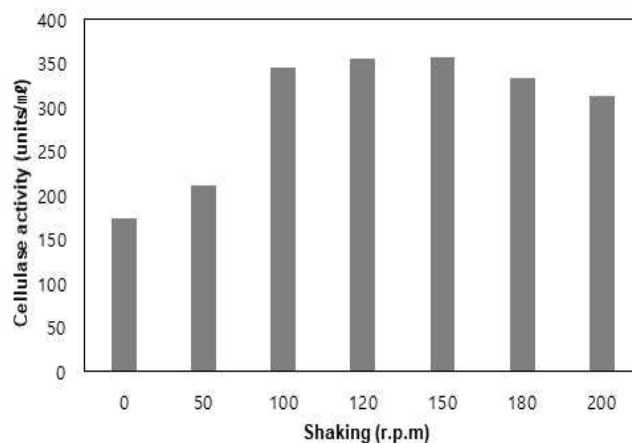


그림 95. 교반속도에 따른 섬유소분해효소 활성 비교.

(7) 최적접종 농도 설정

고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위하여 실험실 내 소용량 규모인 10ℓ 액상발효기를 이용하여 균주의 접종농도에 따른 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다. 균주의 대량배양에 사용된 배지로는 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 최적배지(NB + 1.0% sucrose + 0.5% yeast extract + 0.1% K₂HPO₄)에 균주 배양액을 2~10% 농도로 각각 접종하고 최적배양온도인 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 생육능을 측정한 결과, 2~10%의 접종농도에서 1.4~2.7×10⁷ cells/ml로 높은 생육능을 나타내었다(그림 96). 이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 섬유소분해효소 활성능을 측정한 결과, 접종 농도 2%와 5% 농도에서 344.5 units/ml로 비슷한 활성능을 나타내었다.

이상의 결과로, 경제성 등을 고려하여 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위한 최적접종 농도는 2%로 확인되었다.

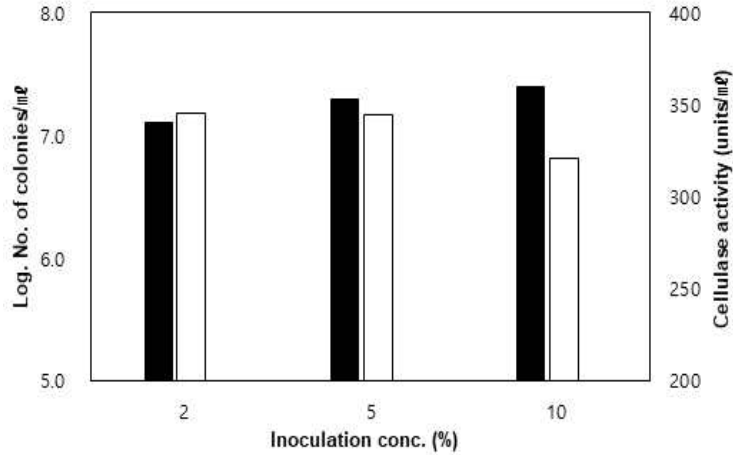


그림 96. 접종농도에 따른 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능.

(8) 최적배양기간 설정

고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위한 최적배양기간을 조사하기 위해 10l 액상발효기에 균주 배양액을 2% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 7일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다.

고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 생육을 측정한 결과, 3일 동안 급격히 증가하면서 그 후로 약 10^7 cells/ml의 생균력을 유지하는 것으로 나타내었다 (그림 97). 이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 섬유소분해효소 활성능을 측정한 결과, 생육이 증가되는 시기인 3일 후부터 7일까지 약 350 units/ml의 효소 활성능을 유지하는 것으로 나타내었다.

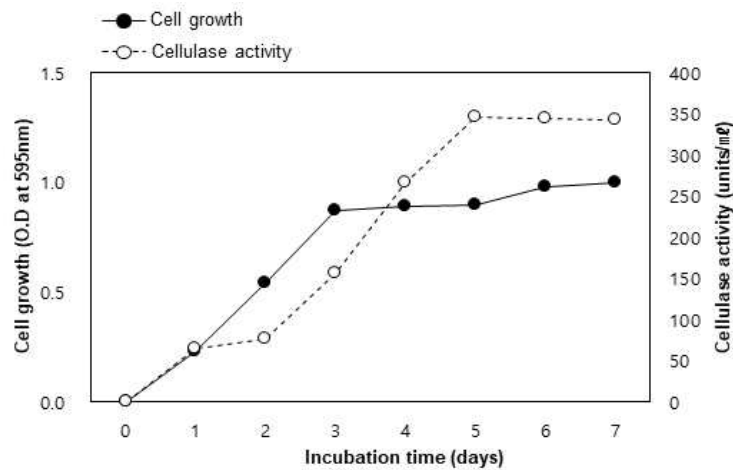


그림 97. 배양기간에 따른 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능.

이상의 결과로, 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량 배양을 위한 최적배양배지, 배양조건을 확립한 결과, 기초배지보다 약 15배의 섬유소분해효소 활성능이 증가하는 것으로 나타났다(표 74).

표 74. 대량배양을 위한 최적배지 및 최적배양 조건 구축

종류	배양조건
배양배지	NB
탄소원	Sucrose 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K ₂ HPO ₄ 0.1%
배양온도(°C)	60°C
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
접종농도(%)	2
배양기간(day)	5

(9) 대량배양을 위한 산업용배지 원료 설정

1) 밀기울을 이용한 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 생육능

고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 밀기울을 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 2% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 5일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다.

밀기울을 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2~5% 농도에서 $1.7\sim 4.4 \times 10^7$ cells/ml의 생육을 나타내었으며, 섬유소분해효소 활성능 또한 약 530 units/ml로 높은 활성능을 나타내었다(그림 98).

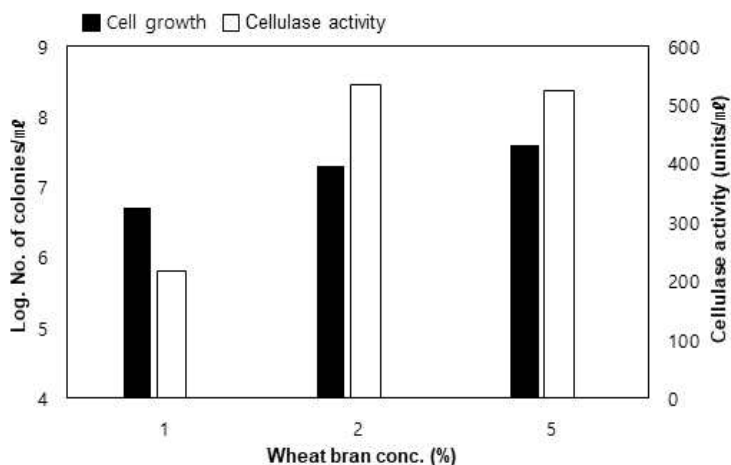


그림 98. 밀기울의 농도에 따른 균체 생육과 섬유소분해 효소 활성능 비교.

2) 쌀겨를 이용한 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 생육능

고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 쌀겨를 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 2% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 5일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 섬유소분해효소 활성능을 측정하였다.

쌀겨를 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2~5% 농도에서 $1.6\sim 3.4\times 10^8$ cells/ml의 생육을 나타내었으며, 섬유소분해효소 활성능 또한 약 580 units/ml로 높은 활성능을 나타내었다 (그림 99).

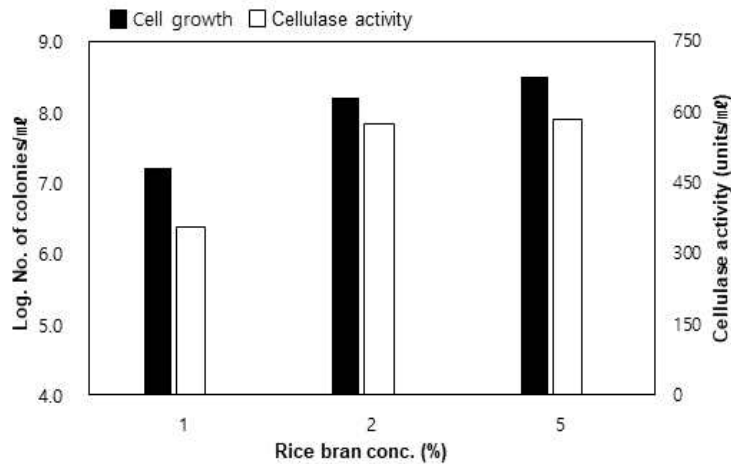


그림 99. 쌀겨의 농도에 따른 균체 생육과 섬유소분해 효소 활성능 비교.

이상의 결과로, 또한 식물성 원료인 밀기울 또는 쌀겨를 대상으로 섬유소분해 활성능을 비교한 결과 원료 차이에 관계없이 2% 농도로 첨가하였을 때 약 580 units/ml로 유사한 효소 활성능을 나타내었다(표 75).

표 75. 대량배양을 위한 산업화배지 비교

Medium	농도(%)	균체 생육 (CFU/ml)	Cellulase activity (units/ml)
밀기울	2	2.1×10^7	534.6
쌀겨	2	3.5×10^8	576.3

상기의 결과를 통해서 고온성 섬유소분해세균 *Geobacillus caldoxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양을 위한 최적배양배지는 가장 저렴하고 수급이 용이한 쌀겨를 주원료로 활용하는 것이 적합하다고 판단되었다.

<고온성 섬유소분해효소 생성세균 대량배양조건 최종 결론>

고온성 섬유소분해효소 생성균주로 선발된 *Geobacillus caldxylosilyticus* 6JCJ-1 균주의 대량배양조건은 다음과 같다.

<고온성 섬유소분해세균 대량배양을 위한 최적조건 확립>

종류	배양조건
탄소원	Sucrose 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K ₂ HPO ₄ 0.1%
배양온도(℃)	60℃
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
접종농도(%)	2
배양기간(day)	5
산업배지 원료	쌀겨 2%

3. 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 최적배지 조건

(1) 배양배지 선정

고온성 인산가용화세균 우수균주로 최종 선발된 P11 균주의 인산염 가용화효소 생성을 위한 최적배지를 조사하기 위하여 Nutrient broth (NB), Luria-Bertani broth (LB), Tryptic soy broth (TSB), Glucose yeast broth (GYB) 그리고 R2A broth (R2B) 배지를 이용하여 생육과 인산염 가용화능을 평가하였다. 균주는 60℃에서 3일 동안 120 rpm으로 배양하여 생균수를 측정한 결과, 1.4×10⁷ CFU/ml로 LB 배지에서 가장 높은 생균수를 나타내었다(그림 100).

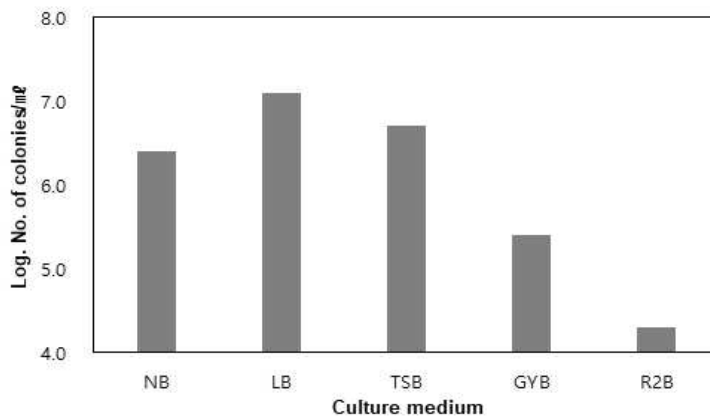


그림 100. 배양배지에 따른 생균수 측정.

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 인산염 가용화능을 측정한 결과, LB 배지에서 166.2 mg/l의 가용성 인산이 생성되었으며, NB 배지(67.2 mg/l)와 TSB 배지(77.3 mg/l)보다 약 2배 이상 높은 생성능을 나타내었다. 이상의 결과로부터 LB 배지가 고온성 인산가용화효소 생성을 위한 최적배지임이 확인되었다(그림 101).

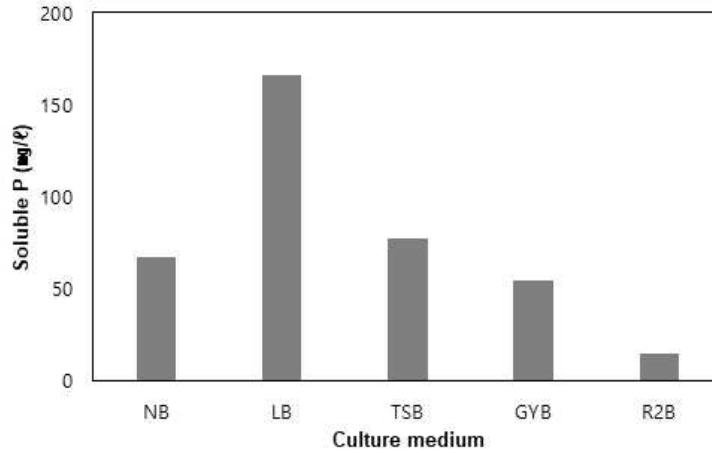


그림 101. 배양배지에 따른 인산염 가용화능 비교.

(2) 탄소원 첨가에 따른 효과

고온성 인산염가용화효소 생성을 위한 최적 탄소원을 조사하기 위해 NH_4Cl 과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 6종류의 탄소원(cellulose, glucose, lactose, maltose, starch, sucrose)을 각각 1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 인산염 가용화능을 측정하였다. *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 생육을 측정한 결과, cellulose, glucose, lactose, maltose, starch 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 starch를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 76).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 인산염 가용화능을 측정한 결과, 6종류의 탄소원 중 cellulose, glucose, lactose, maltose, starch 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구($11.7 \pm 0.7 \text{ mg/l}$)보다 가용성 인산의 생성량이 증가하였으며, 그 중 starch를 첨가한 경우 $49 \pm 0.2 \text{ mg/l}$ 로 높은 생성능을 나타내었다.

표 76. 탄소원 종류에 따른 균체 생육과 인산염 가용화능 비교

Carbon source (1.0%, w/v)	Cell growth (O.D 595nm)	Soluble P (mg/l)
None	0.024	11.7 ± 0.7
Cellulose	0.063	15.3 ± 1.1
Glucose	0.056	16.7 ± 1.4
Lactose	0.064	16.4 ± 0.9
Maltose	0.072	26 ± 0.4
Starch	0.189	49 ± 0.2
Sucrose	0.087	36 ± 1.1

상기의 결과로부터 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 고온성 인산가용화효소 생성을 위한 최적 탄소원으로 starch를 선정하였다.

(3) 질소원 첨가에 따른 효과

고온성 인산염가용화효소 생성을 위한 최적 질소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 선정된 탄소원 starch를 1% 첨가하고, 7종류의 질소원 (beef extract, gelatin, peptone, tryptone, yeast extract, skim milk, soybean)을 각각 0.5% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60℃에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 인산염 가용화능을 측정하였다.

Geobacillus kaustophilus P11 균주의 생육을 측정한 결과, peptone, tryptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 yeast extract 를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 77).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 인산염 가용화능을 측정한 결과, 7종류의 질소원 중 beef extract, peptone, tryptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구(49±0.2 mg/ℓ)보다 가용성 인산의 생성량이 증가하였으며, 그 중 yeast extract를 첨가한 경우 96±0.9 mg/ℓ로 높은 생성능을 나타내었다.

표 77. 질소원 종류에 따른 균체 생육과 인산염 가용화능 비교

Nitrogen source (0.5 %, w/v)	Cell growth (O.D 595nm)	Soluble P (mg/ℓ)
None (+ 1.0% starch)	0.189	49±0.2
Beef extract	0.327	75±1.4
Gelatin	0.172	43±0.7
Peptone	0.271	84±0.8
Tryptone	0.343	73±1.1
Yeast extract	0.444	96±0.9
Skim milk	0.113	24±1.3
Soybean	0.159	29±1.1

상기의 결과로부터 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 고온성 인산가용화효소 생성을 위한 최적 질소원으로 yeast extract를 선정하였다.

(4) 무기염 첨가에 따른 효과

고온성 인산염가용화효소 생성을 최적 무기염을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 최적 탄소원으로 선정된 starch와 최적 질소원으로 선정된 yeast extract를 각각 1.0% 그리고 0.5%를 첨가하였다. 6종류의 무기염(CaCO₃, K₂HPO₄, KH₂PO₄, KCl, MgSO₄·7H₂O, FeSO₄)을 각각 0.1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60℃에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 인산염 가용화능을 측정하였다.

Geobacillus kaustophilus P11 균주의 생육을 측정한 결과, K₂HPO₄, KH₂PO₄ 그리고

MgSO₄·7H₂O 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 K₂HPO₄와 MgSO₄·7H₂O를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다(표 78).

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 인산염 가용화능을 측정된 결과, 6종류의 무기염 중 K₂HPO₄와 MgSO₄·7H₂O 첨가 시 무기염을 첨가하지 않은 대조구(96±0.9 mg/l)보다 가용성 인산의 생성량이 증가하였으며, 그 중 K₂HPO₄를 첨가한 경우 116.2±0.4 mg/l의 높은 생성능을 나타내었다.

표 78. 무기염 종류에 따른 균체 생육과 인산염 가용화능 비교

무기염 (0.1 %, w/v)	Cell growth (O.D 595nm)	Soluble P (mg/l)
None (+ 1.0% starch+ 0.5% yeast extract)	0.444	96±0.9
CaCO ₃	0.345	39.3±1.1
K ₂ HPO ₄	0.557	116±0.4
KH ₂ PO ₄	0.496	99±0.7
KCl	0.177	31±1.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.512	102±0.9
FeSO ₄	0.032	14.2±1.2

상기의 결과로부터 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 고온성 인산가용화효소 생성을 위한 최적 무기염으로 K₂HPO₄가 선정하였다.

(5) 배양조건(온도, pH)에 따른 효과

고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 최적배양온도 그리고 초기 pH에 따른 균체 생육과 인산염 가용화능을 측정하기 위해 40, 50, 60, 70, 80 그리고 90℃에서 3일 동안 배양하였다. 최적 배양온도는 60℃이었으며, 60℃에서 배양할 경우 465.3 mg/l의 가용성 인산의 생성량을 나타내었으며, 70℃ 이상에서는 가용성 인산의 생성량이 급격하게 낮아지는 것으로 확인되었다(그림 102, A). 최적 pH는 7-8에서 최적생육을 보이며, pH 7 일 때 467 mg/l의 높은 생성능을 나타내었다(102, B). 이와 같은 결과로 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주는 온도 60℃, 산도는 pH 7.0에서 인산가용화효소 생성이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

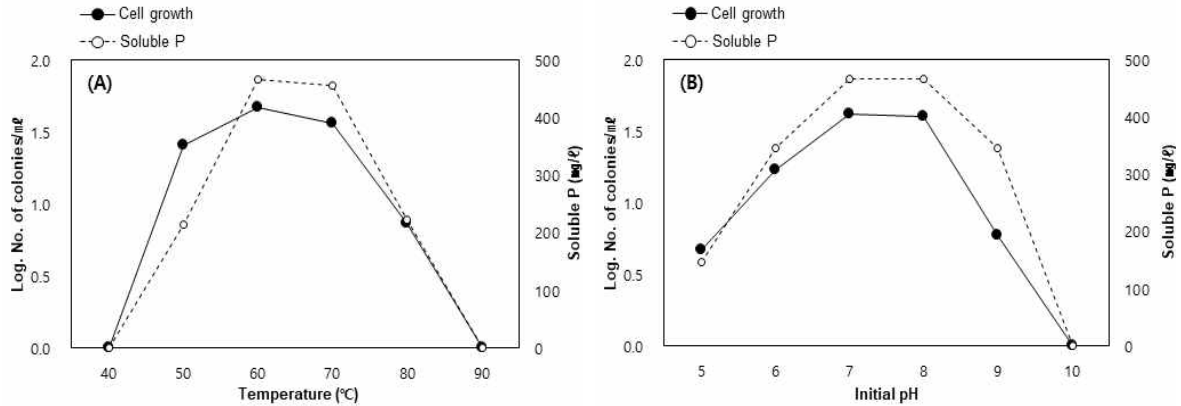


그림 102. 배양온도(A)와 초기 pH (B)에 따른 인산염 가용화능 비교.

(6) 교반속도(rpm)에 따른 효과

교반속도에 따른 고온성 인산염 가용화능을 평가하기 위하여 0, 50, 100, 120, 150, 180 그리고 200 rpm으로 설정하여 최적배지의 pH 7.0으로 제조하고 60°C에서 3일 동안 배양한 후 인산염 가용화능을 측정하였다. 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 인산염 가용화능을 측정한 결과, 교반속도 100~120 rpm에서 479 mg/l의 가용성 인산 생성량이 증가하였으며, 교반속도 150 rpm 이상일 경우 가용화 인산의 생성량이 급격히 감소하는 것으로 확인되었다(그림 103).

이상의 결과로부터 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 인산가용화효소 생성을 위한 최적 교반속도로 120 rpm이 확인되었다.

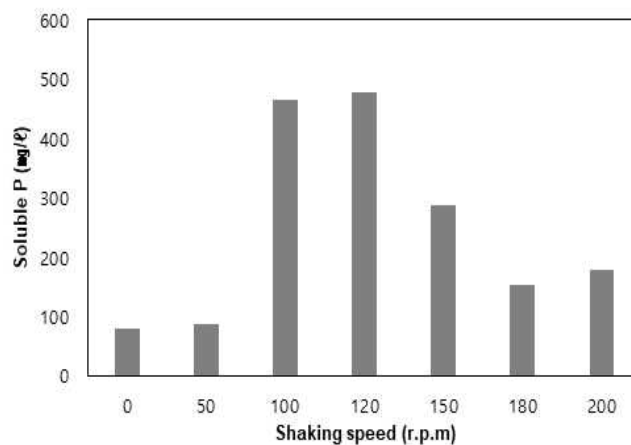


그림 103. 교반속도에 따른 인산염 가용화능 비교.

(7) 최적접종 농도 설정

고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위하여 실험실 내 소용량 규모인 10ℓ 액상발효기를 이용하여 균주의 접종농도에 따른 균체 생육과 인삼염 가용화능을 측정하였다. 균주의 대량배양에 사용된 배지로는 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 최적배지(LB + 1.0% starch + 0.5% yeast extract + 0.1% K₂HPO₄)에 균주 배양액을 2~10% 농도로 각각 접종하고 최적배양온도인 60℃에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 생육능을 측정한 결과, 5~10%의 접종농도에서 8.1×10⁷ CFU/ml로 높은 생육능을 나타내었다(그림 104).

이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 인삼염 가용화능을 측정한 결과, 접종 농도 5~10% 농도에서 435 mg/ℓ의 가용화 인산 생성량을 나타내었다.

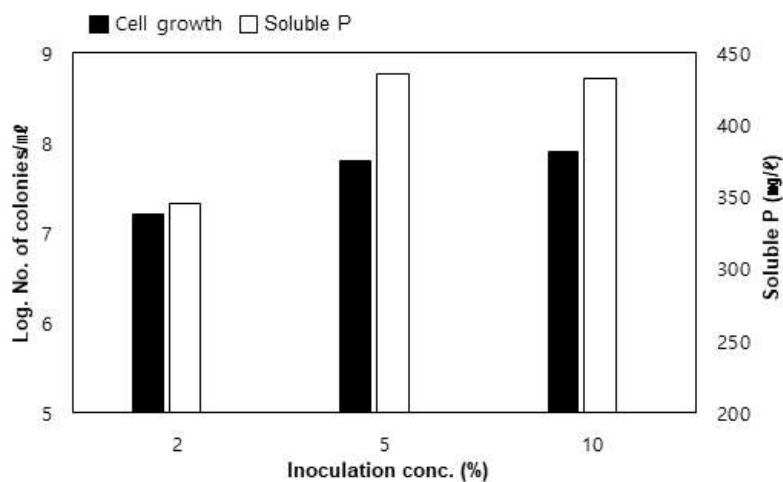


그림 104. 접종농도에 따른 균체 생육과 인삼염 가용화능.

이상의 결과로, 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 최적접종 농도는 5%로 확인되었다.

(8) 최적배양기간 설정

고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 최적배양기간을 조사하기 위해 10ℓ 액상발효기에 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60℃에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 인삼염 가용화능을 측정하였다.

고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 생육능을 측정한 결과, 24시간 이내 급격히 증가하면서 3일 동안 약 10⁷ CFU/ml의 생균력을 유지하는 것으로 나타내었다(그림 105).

이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 인삼염 가용화능을 측정한 결과, 생육이 증가되는 시기인 1일 후부터 3일까지 최대 약 500 mg/ℓ의 가용화 인산이 생성되었다.

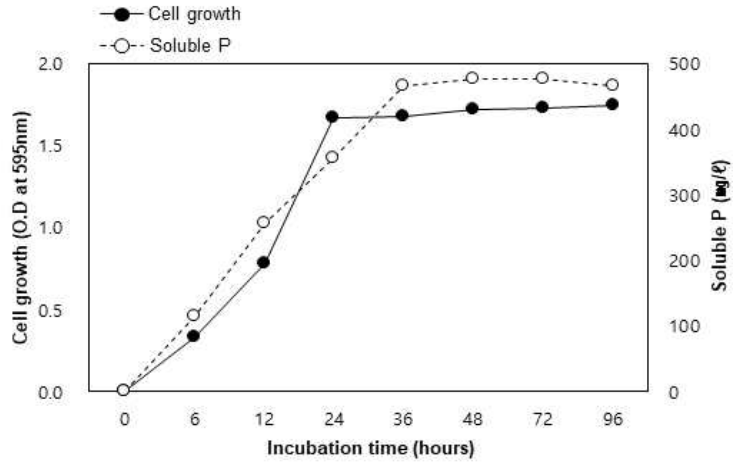


그림 105. 배양기간에 따른 균체 생육과 인산염 가용화능.

이상의 결과로, 고온성 인산가용화세균섬유소분해세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 최적배양배지, 배양조건을 확립한 결과, 기초배지보다 약 3배의 가용성 인산의 생성량이 증가하였다(표 79).

표 79. 대량배양을 위한 최적배지 및 최적배양 조건 구축

종류	배양조건
배양배지	LB
탄소원	Starch 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K ₂ HPO ₄ 0.1%
배양온도(°C)	60°C
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
접종농도(%)	5
배양기간(day)	3

(9) 대량배양을 위한 산업용배지 원료 설정

1) 감자전분을 이용한 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 생육능
 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 감자전분을 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 인산염 가용화능을 측정하였다.

감자전분을 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 2~5% 농도에서 $3.4\sim 6.6 \times 10^8$ CFU/ml의 생육을 나타내었으며, 인산염 가용화능 또한 611.2 mg/l로 가용화 인산이 생성되었다(그림 106).

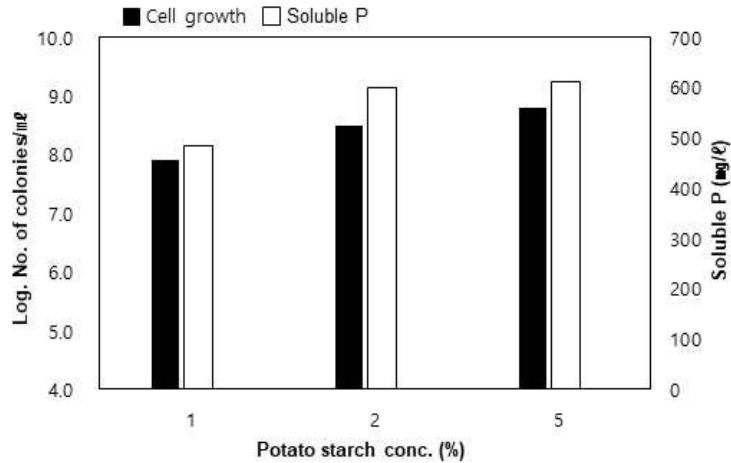


그림 106. 감자전분의 농도에 따른 균체 생육과 인산 가용화능 비교.

2) 밀기울을 이용한 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 생육능 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 밀기울을 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육능과 인산염 가용화능을 측정하였다.

밀기울을 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 1~5% 농도에서 2.7×10^8 CFU/ml의 생육을 나타내었으며, 인산염 가용화능 또한 613.4 mg/l로 가용화 인산이 생성되었다(그림 107).

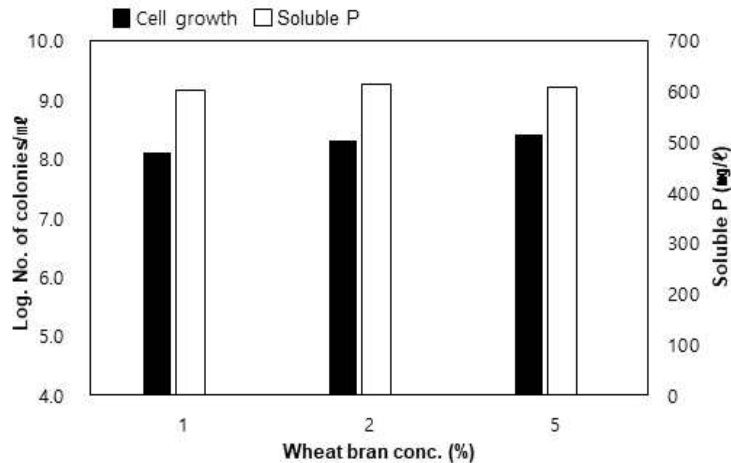


그림 107. 밀기울의 농도에 따른 균체 생육과 인산 가용화능 비교.

3) 쌀겨를 이용한 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 생육능 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 쌀겨를 1, 2, 5% 농도로 첨가하여 균주 배양액을 5% 농도로 접종하고 60°C에서 120 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육능과 인산염 가용화능을 측정하였다.

쌀겨를 첨가한 배지에서의 생육을 측정한 결과, 1~5% 농도에서 5.6×10^7 CFU/ml의 생육능을 나타내었으며, 인산염 가용화능 또한 267.3 mg/l로 가용화 인산이 생성되었다(그림 108).

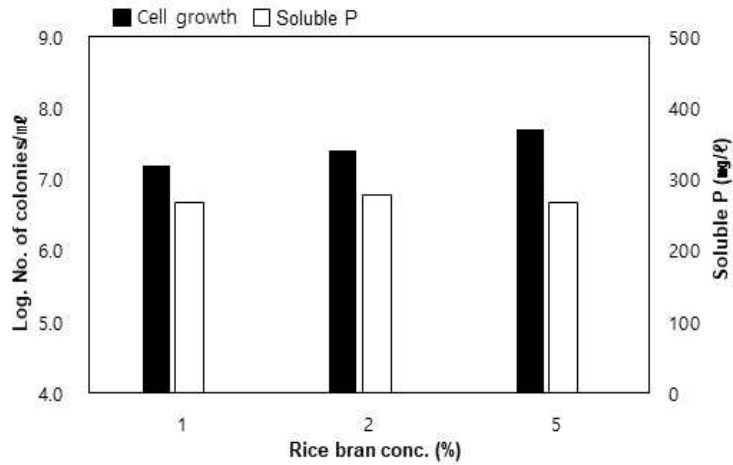


그림 108. 쌀겨의 농도에 따른 균체 생육과 인산 가용화능 비교.

이상의 결과로, 또한 식물성 원료인 감자전분, 밀기울 또는 쌀겨를 대상으로 인산가용화능을 비교한 결과 밀기울을 2% 농도로 첨가하였을 때 613.4 mg/l의 가용성 인산이 가장 많이 생성되는 것으로 나타나 고온성 인산가용화세균 *Geobacillus kaustophilus* P11 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 밀기울로 결정하였다(표 80).

표 80. 대량배양을 위한 산업화배지 비교

Medium	농도(%)	생균수 (CFU/ml)	Soluble P (mg/l)
감자전분	5	3.3×10^8	611.2
밀기울	2	2.2×10^8	613.4
쌀겨	5	5.5×10^7	267.3

<고온성 인산가용화세균 대량배양조건 최종 결론>

고온성 인산가용화세균으로 선발된 *Geobacillus kaustophilus* P11균주의 대량배양조건은 다음과 같다.

<고온성 단백질분해세균 대량배양을 위한 최적조건 확립>

종류	배양조건
탄소원	Starch 1%
질소원	Yeast extract 0.5%
무기염	K_2HPO_4 0.1%
배양온도(°C)	60°C
배지산도(pH)	7.0
교반속도(rpm)	120
접종농도(%)	5
배양기간(day)	3
산업배지 원료	밀기울 2%

4. 고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주와 CE103 균주의 최적배지 조건

(1) 배양배지 선정

고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주와 CE103 균주의 암모니아산화능 효과를 높이기 위한 최적배지를 조사하기 위하여 Nutrient broth (NB), Luria-Bertani broth (LB), Tryptic soy broth (TSB), *Bacillus* Selection Broth (BSB), Starch Casein Broth (SCB) 그리고 R2A broth (R2B) 배지를 이용하여 생육과 암모니아산화능을 평가하였다. ATB1111 균주와 CE103 균주의 생육을 측정한 결과, 6가지 배양배지 모두 생육이 가능하였으며, TSB 배지에서 가장 높은 생균수를 나타내었다(그림 109).

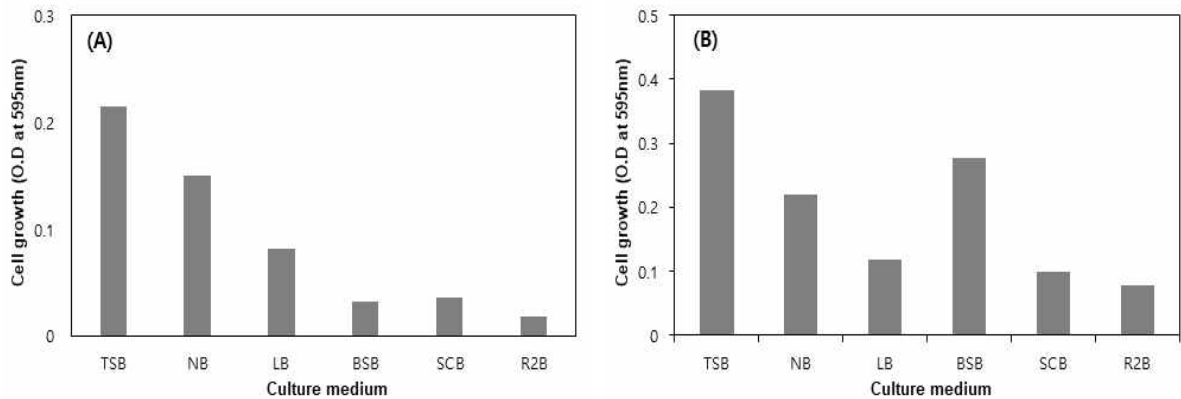


그림 109. 배양배지에 따른 생균수 측정. (A), ATB1111 균주; (B) CE103 균주

이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 암모니아산화능을 측정한 결과, ATB1111 균주와 CE103균주는 TSB 배지에 약 80%의 높은 산화능을 나타내었으며, 나머지 5종의 배지에서는 암모니아산화능이 저해되는 것으로 나타내었다(그림 110). 이상의 결과로부터 고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주와 CE103 균주의 암모니아산화능 효과를 높이기 위한 최적배지로 TSB 배지가 선정되었다.

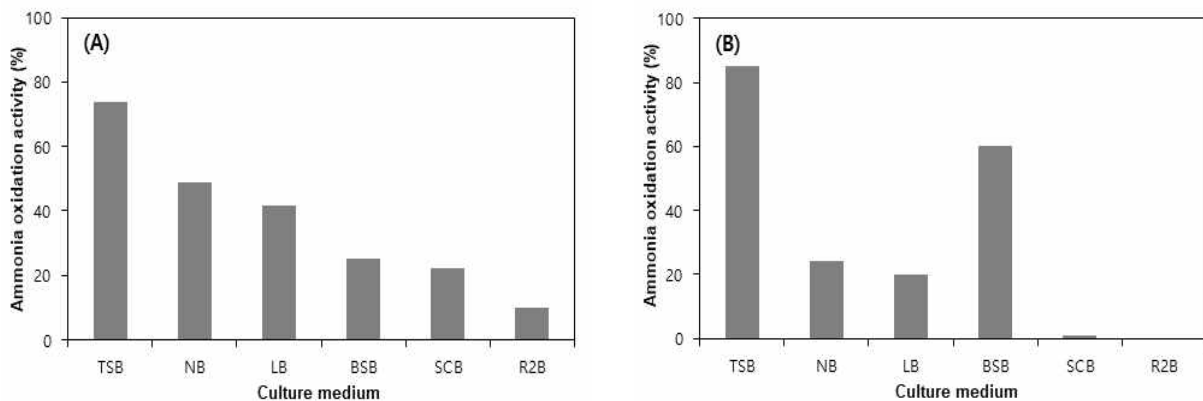


그림 110. 배양배지에 따른 암모니아산화능 비교. (A), ATB1111 균주; (B) CE103 균주

(2) 탄소원 첨가에 따른 효과

고온성 암모니아산화능 효과를 높이기 위한 최적 탄소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 8종류의 탄소원(glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, ribose, starch 그리고 sucrose)을 각각 1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 50°C에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 암모니아산화능을 측정하였다. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 질소원에 따른 효과 결과는 표 81에 표기하였다.

Brevibacillus sp. ATB1111 균주의 생육을 측정한 결과, glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, ribose 그리고 sucrose 첨가 시 탄소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 lactose와 mannitol을 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다. 이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 암모니아산화능을 측정한 결과, 8종류의 탄소원 중 mannitol를 첨가할 경우 약 70%의 암모니아산화능을 나타내었다.

B. paralicheniformis CE103 균주의 경우, mannitol을 첨가할 경우, 균체 생육과 약 50%의 암모니아산화능을 나타내었다.

표 81. 탄소원 종류에 따른 균체 생육과 암모니아산화능 비교

탄소원 (1.0%, w/v)	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111		<i>B. paralicheniformis</i> CE103	
	균체 생육 (O.D 595nm)	암모니아산화능 (%)	균체 생육 (O.D 595nm)	암모니아산화능 (%)
None	0.011	0	0.011	0
Glucose	0.022	8	0.032	32
Lactose	0.057	47	0.030	28
Maltose	0.022	21.7	0.039	43.6
Mannitol	0.043	65	0.050	48
Mannose	0.042	40.7	0.020	0
Ribose	0.025	39.5	0.030	23
Starch	0.011	0	0.030	2
Sucrose	0.033	19.3	0.042	43.9

상기의 결과로부터 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 고온성 암모니아산화능 효과 증진을 위한 최적 탄소원으로 mannitol을 선정하였다.

(3) 질소원 첨가에 따른 효과

고온성 암모니아산화능 효과 증진을 위한 최적 질소원을 조사하기 위해 NH₄Cl과 yeast extract를 제외한 무기염기초배지에 최적탄소원으로 선정된 mannitol을 첨가하고, 7종류의 질소원(beef extract, casamino acid, malt extract, N-Z casein, peptone, tryptone 그리고 yeast extract)을 각각 0.1% 첨가하여 배지의 pH를 7.0으로 제조하고 60℃에서 3일 동안 배양한 후 균체 생육과 암모니아산화능을 측정하였다. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 질소원에 따른 효과 결과는 표 82에 표기하였다.

Brevibacillus sp. ATB1111 균주의 생육을 측정한 결과, beef extract, peptone 그리고 yeast extract 첨가 시 질소원을 첨가하지 않은 대조구보다 균체 생육이 높았으며, 그 중 yeast extract를 첨가한 경우 가장 높은 생육도를 나타내었다. 이들 균주배양액에서 조효소를 추출하여 암모니아산화능을 측정한 결과, 8종류의 탄소원 중 yeast extract를 첨가할 경우 약 70%의 암모니아산화능을 나타내었다.

B. paralicheniformis CE103 균주의 경우, malt extract를 첨가할 경우, 균체 생육과 약 80%의 암모니아산화능을 나타내었다.

표 82. 질소원 종류에 따른 균체 생육과 암모니아산화능 비교

질소원 (1.0%, w/v)	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111		<i>B. paralicheniformis</i> CE103	
	균체 생육 (O.D 595nm)	암모니아산화능 (%)	균체 생육 (O.D 595nm)	암모니아산화능 (%)
None	0.043	65	0.05	48
Beef extract	0.064	62	0.060	56.8
Casamino acid	0.029	1.1	0.002	12
Malt extract	0.021	41.5	0.07	76.1
N-Z casein	0.029	42.6	0.046	36.2
Peptone	0.061	62.8	0.059	49.2
Tryptone	0.046	63.8	0.026	3
Yeast extract	0.086	67.1	0.07	72.8

상기의 결과로부터 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 고온성 암모니아산화능 효과 증진을 위한 최적 질소원으로 yeast extract와 malt extract를 선정하였다.

(5) 배양조건(온도, pH)에 따른 효과

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 최적배양온도 그리고 초기 pH에 따른 균체 생육과 암모니아산화능을 측정하기 위해 28, 37, 45, 50, 60 그리고 70°C에서 2일 동안 배양하였다.

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 최적 배양온도는 50-60°C로, 50°C에서 배양할 경우 약 90%이상의 암모니아산화능을 나타내었으며, 70°C 이상에서는 생육이 불가능한 것으로 확인되었다(그림 111A). 최적 pH는 7-9에서 최적생육을 보이며, pH 7일 때 약 92%의 암모니아산화능을 나타내었다(그림 111B).

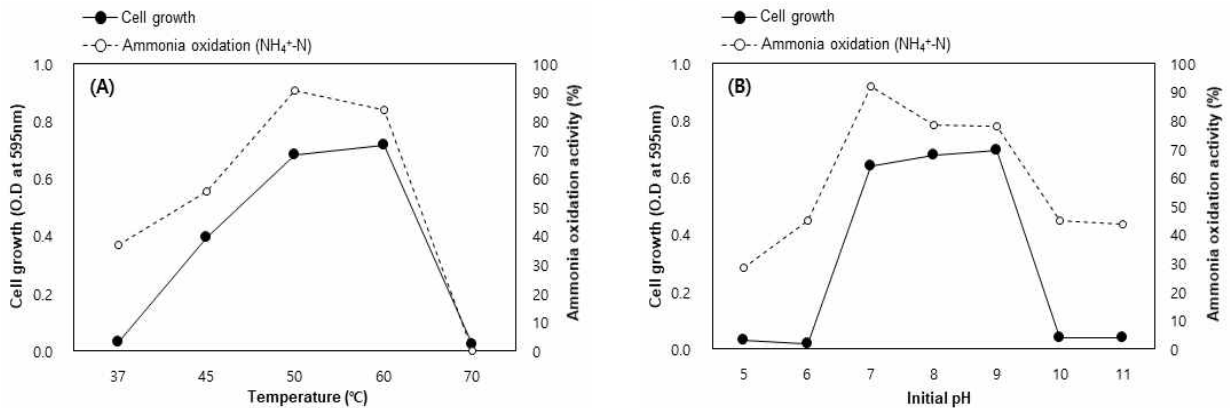


그림 111. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 최적배양조건. (A), 배양온도; (B), 초기 pH

고온성 암모니아산화세균 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 최적 배양온도는 37-50°C로, 50°C에서 배양할 경우 약 90%이상의 암모니아산화능을 나타내었으며, 70°C 이상에서는 생육이 불가능한 것으로 확인되었다(그림 112A). 최적 pH는 7-8에서 최적생육을 보이며, pH 7일 때 약 80%의 암모니아산화능을 나타내었다(그림 112B).

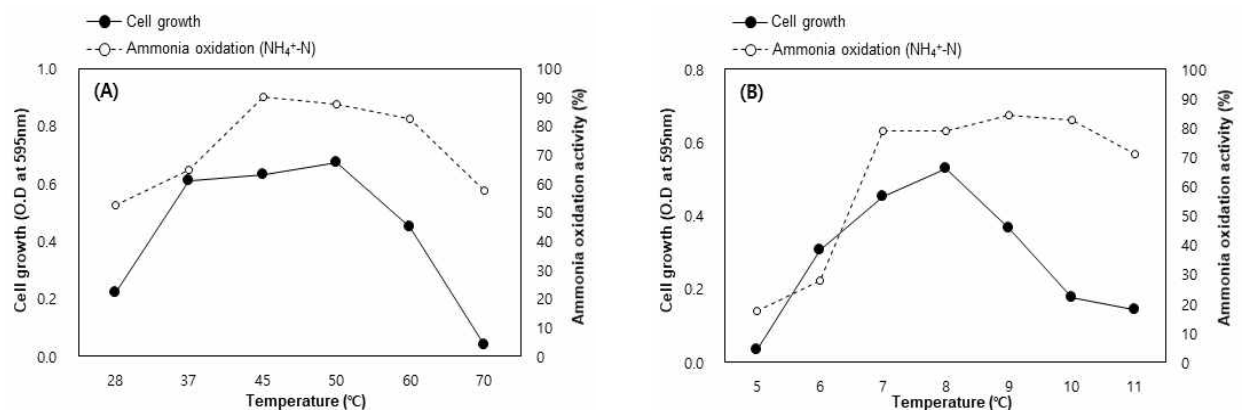


그림 112. *B. paralicheniformis* CE103 균주의 최적배양조건. (A), 배양온도; (B), 초기 pH

이와 같은 결과로 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주는 온도 50°C, 산도는 pH 7.0에서 암모니아산화능이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

(6) 교반속도(rpm)에 따른 효과

교반속도에 따른 고온성 암모니아산화능을 평가하기 위하여 0, 50, 100, 150, 그리고 200 rpm으로 설정하여 최적배지의 pH 7.0으로 제조하고 50℃에서 2일 동안 배양한 후 암모니아산화능을 측정하였다.

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 암모니아산화능을 측정한 결과, 교반속도 0~100 rpm에서 약 90% 이상의 높은 산화능을 나타내었으며, 교반속도 150 rpm 이상일 경우 암모니아산화능이 급격히 감소하는 것으로 확인되었다(그림 113).

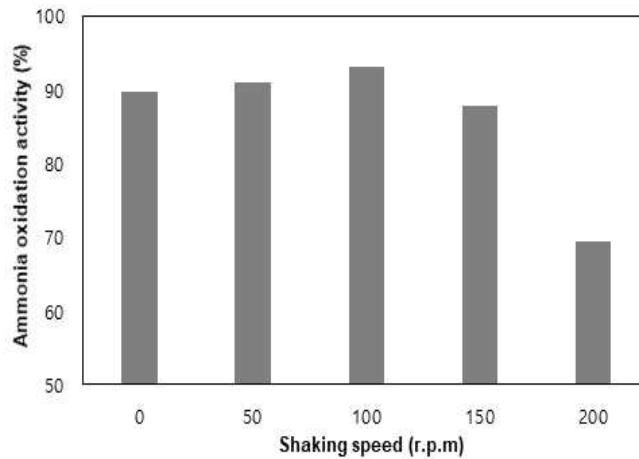


그림 113. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 교반속도에 따른 암모니아산화능 비교

고온성 암모니아산화세균 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 암모니아산화능을 측정한 결과, 교반속도에 관계없이 약 90% 이상의 높은 산화능을 나타내었다(그림 114).

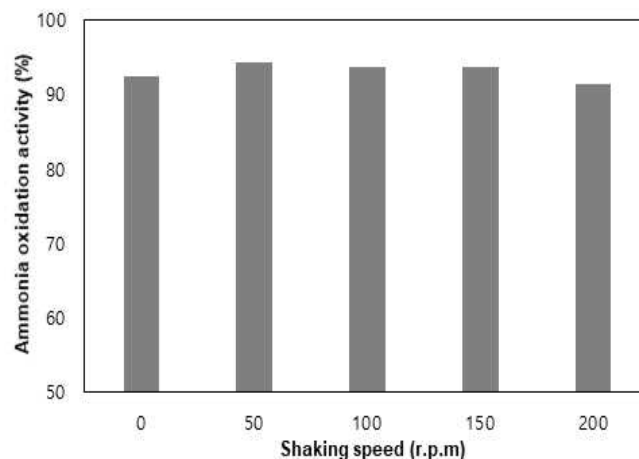


그림 114. *B. paralicheniformis* CE103 균주의 교반속도에 따른 암모니아산화능 비교

이와 같은 결과로 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주는 교반속도 100 rpm에서 암모니아산화능이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

(7) 최적접종 농도 설정

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양을 위하여 실험실 내 소용량 규모인 10ℓ 액상발효기를 이용하여 균주의 접종 농도에 따른 균체 생육과 암모니아산화능을 측정하였다. 균주의 대량배양에 사용된 배지로는 최적배지조건에 균주 배양액을 2~10% 농도로 각각 접종하고 최적배양온도인 50℃에서 100 rpm으로 2일간 진탕 배양한 후 생육능을 측정하였다.

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 생육을 측정한 결과, 접종농도가 높아질수록 생육은 증가하였으며, 암모니아산화능은 접종량에 관계없이 약 90% 이상의 높은 산화능을 나타내었다(그림 115, 116).

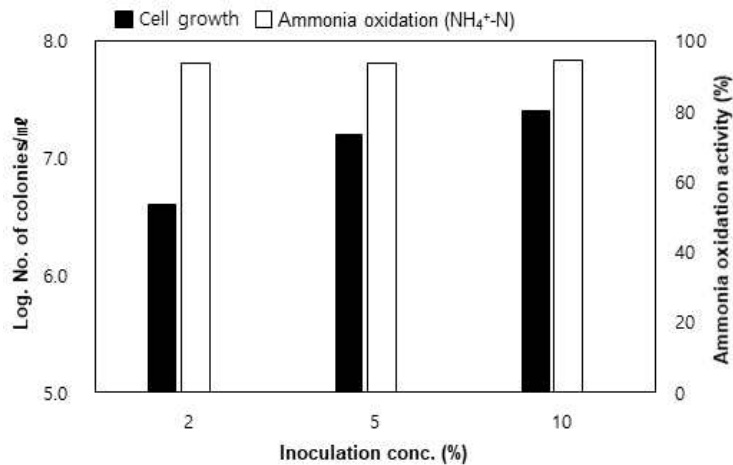


그림 115. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 최적접종농도 설정

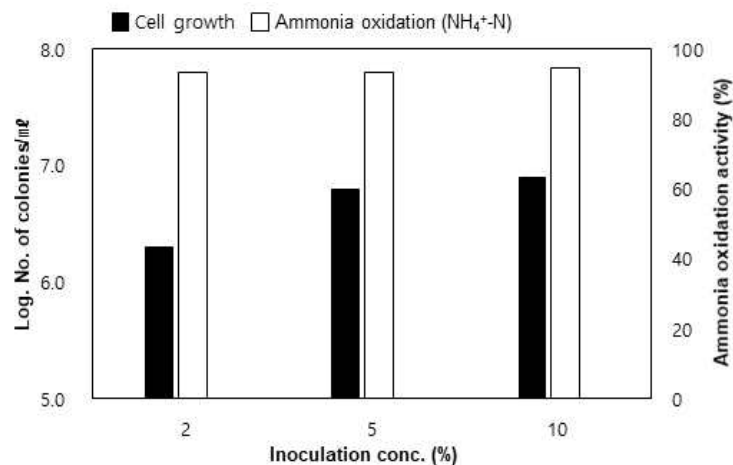


그림 116. *B. paralicheniformis* CE103 균주의 최적접종농도 설정

이상의 결과로, 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양을 위한 최적접종 농도는 2%로 확인되었다.

(8) 최적배양기간 설정

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양을 위한 최적배양기간을 조사하기 위해 10ℓ 액상발효기에 균주 배양액을 2% 농도로 접종하고 50℃에서 100 rpm으로 3일간 진탕 배양한 후 균체 생육과 암모니아산화능을 측정하였다.

고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 생육능을 측정한 결과, 두 균주 모두 6시간 이후 급격히 증가하면서 3일 동안 약 10⁷ CFU/ml의 생균력을 유지하는 것으로 나타내었다(그림 117, 118).

이들 균주배양액을 통해 조효소액을 추출한 후, 암모니아산화능을 측정한 결과, 생육이 증가되는 시기인 6시간 이후부터 3일까지 최대 약 90%이상의 암모니아산화능을 나타내었다.

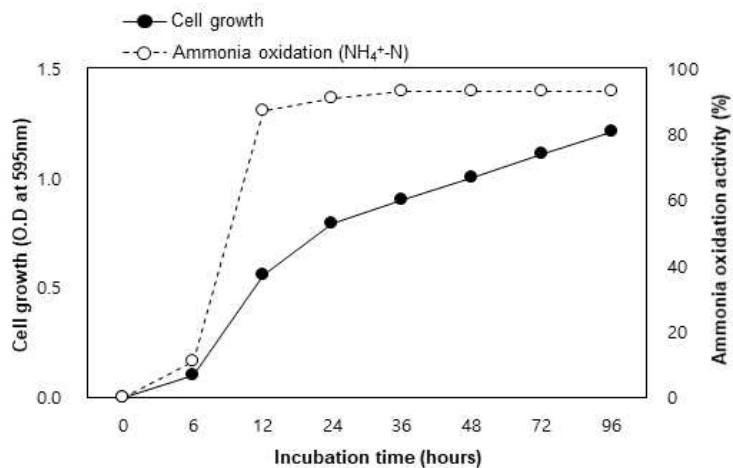


그림 117. *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 최적배양기간 설정.

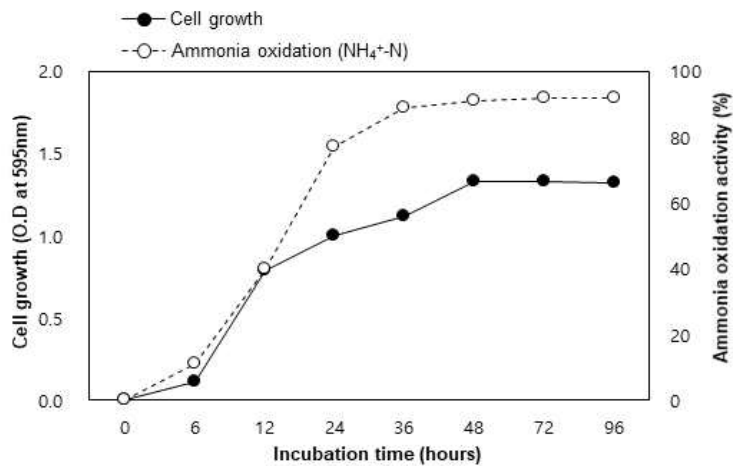


그림 118. *B. paralicheniformis* CE103 균주의 최적배양기간 설정.

이상의 결과로, 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양을 위한 최적배양배지, 배양조건을 확립한 결과, 기초배지보다 약 10% 이상 암모니아 산화능이 증가하였다(표 83).

표 83. 대량배양을 위한 최적배지 및 최적배양 조건 구축

종류	배양조건	
	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111	<i>B. paralicheniformis</i> CE103
배양배지	TSB	TSB
탄소원	Mannitol 1.0%	Mannitol 1.0%
질소원	Yeast extract 0.1%	Malt extract 0.1%
배양온도(°C)	50	50
배양산도(pH)	7.0	7.0
교반속도(rpm)	100	0~100
접종농도(%)	2	2
배양기간(시간)	24	24

(9) 대량배양을 위한 산업용배지 원료 설정

1) 식물성원료를 이용한 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주의 생육능
 고온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103
 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 감자전분, 밀기울 그리고 쌀겨를 1, 2, 5% 농도로 첨가하
 여 균주 배양액을 2% 농도로 접종하고 50°C에서 100 rpm으로 1일간 진탕 배양한 후 균체
 생육능과 암모니아산화능을 측정하였다.

두 균주 모두 감자전분을 첨가한 배지에서의 암모니아산화능을 측정한 결과, 산화능이 저해
 되는 것으로 확인되어 결과에서 제외하였다.

밀기울을 첨가한 배지에서의 생육과 암모니아산화능을 측정한 결과, 1~5% 농도에서 1.1×10^7
 CFU/ml의 생육을 나타내었으며, 암모니아산화능의 경우 밀기울에 농도와 관계없이 약 80% 이
 상의 산화능을 나타내었다(그림 119 A, B).

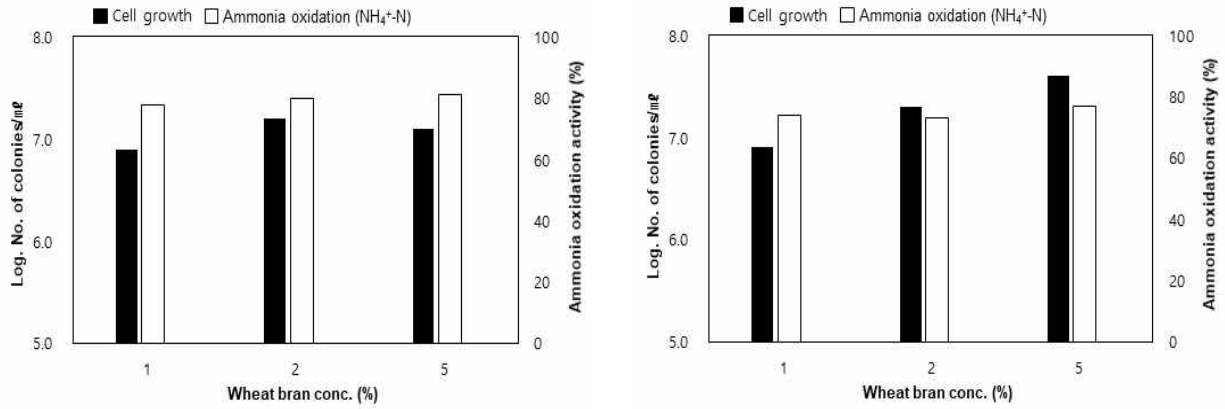


그림 119. 밀기울의 농도에 따른 균체 생육과 암모니아산화능 비교.

쌀겨를 첨가한 배지에서의 생육과 암모니아산화능을 측정 한 결과, 1~5% 농도에서 7.8×10^6 CFU/ml의 생육을 나타내었으며, 암모니아산화능의 경우 2~5% 농도에서 약 80% 이상의 산화능을 나타내었다(그림 120 A, B).

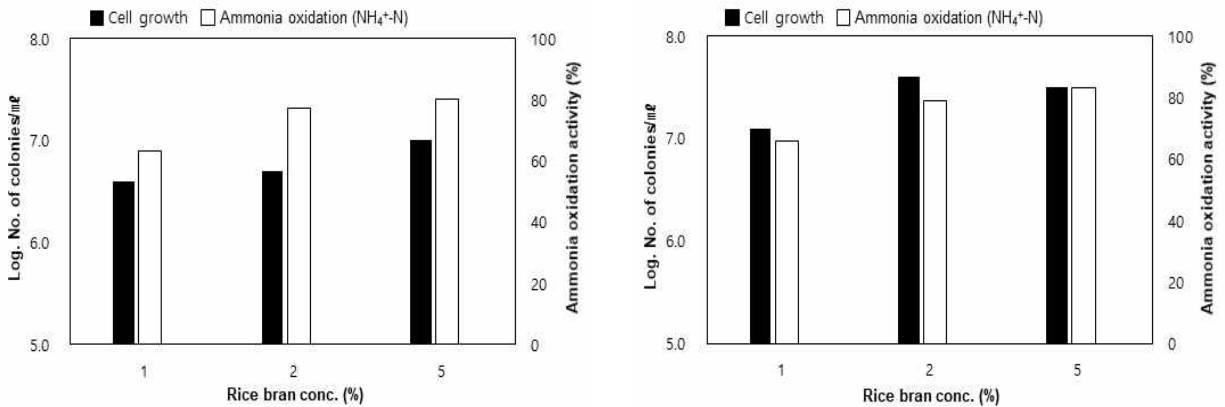


그림 120. 쌀겨의 농도에 따른 균체 생육과 암모니아산화능 비교.

이상의 결과로, 또한 식물성 원료인 감자전분, 밀기울 또는 쌀겨를 대상으로 암모니아산화능을 비교한 결과 쌀겨를 2% 농도로 첨가하였을 때 약 80% 이상의 암모니아산화능을 나타내고 온성 암모니아산화세균 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양을 위한 영양원으로 밀기울로 결정하였다(표 84).

표 84. 대량배양을 위한 산업화배지 비교

Medium	<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111			<i>B. paralicheniformis</i> CE103 균주		
	농도(%)	생균수 (CFU/ml)	암모니아 산화능	농도(%)	생균수 (CFU/ml)	암모니아 산화능
밀기울	1	1.6×10^7	77	1	2.4×10^7	74
쌀겨	2	2.2×10^6	79	1	3.1×10^6	83

<고온성 암모니아산화세균 대량배양조건 최종 결론>

고온성 암모니아산화세균으로 최종 선발된 *Brevibacillus* sp. ATB1111 균주와 *B. paralicheniformis* CE103 균주의 대량배양조건은 다음과 같다.

<고온성 암모니아산화세균 대량배양을 위한 최적조건 확립>

종류	<i>Brevibacillus</i> sp.	<i>B. paralicheniformis</i>
	ATB1111	CE103
	배양조건	
탄소원	Mannitol 1.0%	Mannitol 1.0%
질소원	Yeast extract 0.1%	Malt extract 0.1 %
배양온도(℃)	50	50
배지산도(pH)	7.0	7.0
교반속도(rpm)	120	0~100
접종농도(%)	2	2
배양기간(day)	1	1
산업배지 원료	쌀겨 2%	쌀겨 2%

본 연구를 통해 선발된 발효촉진미생물 5종에 대한 대량배양법에 따른 미생물배지의 경제성을 분석한 결과 24.75~72.65 원/kg으로 조사되어 산업배지로서 적합한 가격으로 판단되었다 (표 85).

표 85. 선발된 기능성미생물의 경제성분석

원료		고온성 단백질분해세균		고온성 섬유소분해세균		고온성 인산가용화세균		고온성 암모니아산화세균			
		6JPJ-6		6JCJ-1		P11		ATB1111		CE103	
종류	가격 (원/kg)	비율 (%)	단가 (원/kg)	비율 (%)	단가 (원/kg)	비율 (%)	단가 (원/kg)	비율 (%)	단가 (원/kg)	비율 (%)	단가 (원/kg)
Cellulose	5,320	1.0	53.2								
Mannitol	4,260							1.0	42.6	1.0	42.6
Starch	530					1.0	5.3				
Sucrose	3,190			1.0	31.9						
Yeast extract	638	0.5	3.19	0.5	3.19	0.5	3.19	0.1	0.638		
Malt extract	1,915									0.1	1.915
K ₂ HPO ₄	12,000	0.1	12.00	0.1	12.00	0.1	12.00				
쌀겨	280			2.0	5.6			2.0	5.6	2.0	5.6
밀기울	213	2.0	4.26			2.0	4.26				
합계			72.65		52.69		24.75		48.838		50.115

제 4 절 계분발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화

미생물의 캡슐화는 불안정한 세포를 외부환경으로부터 보호하고, 생존력을 안정적으로 유지할 수 있는 기술로 식품, 화장품, 의약 등 다양한 분야에 이용되고 있다(Reinccius, 1991; Cho et al., 2008; Zanphorlin *et al.*, 2010). 캡슐화하기 위해 이용되는 방법은 사출방식(extrusion)과 유화방식(emulsion)으로 나뉘며, 사출방식의 경우 코팅 물질로서 Na-alginate를 주로 이용하고 있으며, 유화방식의 경우는 K-carrageenan, cellulose acetate phthalate (CAP), 키토산, 젤라틴, Na-alginate 등이 이용되고 있다.

우리는 이전 연구를 통해 식품미생물 캡슐제에 주로 사용되고 있는 캡슐화 소재를 대상으로 캡슐의 형성과 생존력을 안정적으로 유지할 수 있는 소재를 선택하기 위하여 각 캡슐소재의 특성과 생존력에 대해 조사하였다(표 86). 각 소재별 생존력 평가 결과, Na-alginate와 K-carrageenan에서 $5.3\sim 7.4\times 10^7$ CFU/g로 가장 높은 생존력을 나타내었다.

표 86. 캡슐 소재 특성

캡슐 소재	특성
Na-alginate	<ul style="list-style-type: none"> • 점성이 높고 겔 형성능이 뛰어나다. • Ca^{2+} 과 결합하여 하이드로겔을 쉽게 생성.
Microcrystalline cellulose	<ul style="list-style-type: none"> • 단단한 입자 형성 가능하고 용액에 쉽게 해리됨. • 습식 및 건식 과립 또는 직접 압축과 같은 다양한 제약 공정에 사용가능함.
carboxy methyl cellulose	<ul style="list-style-type: none"> • 물에 대한 용해성과 내염성 그리고 가용성이 있음. • 인체에 무해, 무독함.
K-carrageenan	<ul style="list-style-type: none"> • 홍조류를 고온의 알칼리성 수용액으로 추출한 점질성 다당류 • 응고력이 약하고 점성이 강함.
agarose	<ul style="list-style-type: none"> • 3,6-anhydro-L-galactose의 구조를 가짐. • 보수 성, 응고성, 점탄성 등이 뛰어나다.
Gelatin	<ul style="list-style-type: none"> • 필수 아미노산 함량이 적은 불완전 단백질인 천연 고분자임. • 점성이 높고 팽윤하는 성질을 가지고 있음.

출처: 알리바바(<https://korean.alibaba.com/>)

본 연구에서는 겔 형성이 용이하고 값이 저렴한 Na-alginate를 활용하여 캡슐화 최적 조건을 확립하고 생성된 미생물 캡슐제의 생존력을 평가하였다.

1. 미세캡슐 제형화

(1) 다시마로부터 Na-alginate 추출: 알칼리 가용법

캡슐화 소재로 사용되는 Na-alginate는 갈조류의 대표적인 다당류로서, 친수성 염의 형태로 물에서 쉽게 수화되며, 그 수용액에 칼슘이온을 첨가하면 열에 안정한 겔을 형성 할 수 있어 캡슐화 재료로 널리 이용되고 있다(Vandenberg *et al.*, 2001; Rousseau *et al.*, 2004). 하지만, 현재 시판되고 있는 Na-alginate (Sigma Co.USA)의 경우 상온에서 용해시키는데 시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

본 연구에서는 Na-alginate 캡슐소재의 대량 확보하기 위해 천연소재인 다시마로부터 Na-alginate를 직접 추출(알칼리 가용법)하고 캡슐의 형성능과 생균력 안정성에 대한 조사를 수행하고자 하였다.

건조 다시마의 불순물을 제거하기 위해 증류수를 1:30 (w/v) 비율로 첨가하고 80℃에서 30분간 열처리하여 여액을 제거하였다. 불순물이 제거된 다시마에 1% Na₂CO₃ solution을 1:20 (w/v) 비율로 첨가하여 80℃에서 4시간 열처리하였다. 시료무게의 80배의 증류수를 첨가하고 whatman filter paper No. 4를 이용하여 여과하였다. 여과액에 10% HCl을 이용하여 pH 2로 조절하고 원심분리기(high speed refrigerated centrifuge 22k, Hanil)를 사용하여 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액은 버리고 침전물을 수거하였다. 수거된 침전물은 20배의 50% EtOH을 첨가한 후, 10% NaOH를 사용하여 pH 7.0로 중화시키고 멸균된 거즈로 여과하였다. 여과된 추출물은 100% EtOH과 아세톤을 1:1 (v/v)로 섞은 후 추출물을 세척하고 24시간 동안 자연건조 하였다(표 87).

표 87. 알칼리 가용법을 이용한 다시마 내 alginate 추출 공정법

추출과정	방법
I. 불순물제거	<ul style="list-style-type: none"> ■ 증류수 첨가(1:30) ■ 75℃, 30분간 열처리
II. 알긴산 추출	<ul style="list-style-type: none"> ■ 1% Na₂CO₃ solution 첨가(1:20) ■ 75℃, 4시간 열처리
III. 여과	<ul style="list-style-type: none"> ■ whatman paper No. 4 이용해서 여과 ■ 침전물 제거
IV. 침전 및 분리	<ul style="list-style-type: none"> ■ pH 2.0으로 조정(10% HCl) ■ 상등액 제거(원심분리) ■ 침전물 + 50% EtOH 첨가(1:20) ■ pH 7.0으로 조정(10% NaOH)
V. 세척 및 정제	<ul style="list-style-type: none"> ■ 아세톤:100% EtOH (1:1) 처리
VI. 건조	<ul style="list-style-type: none"> ■ Air dry 24 h

(2) 미세캡슐 제형화 조건 구축

1) 미세캡슐 제형화 공정

캡슐화 제작법 중 사출(extrusion)방법은 음이온 또는 중성복합 다당류 (hydrocolloid)로 캡슐을 만드는 방법으로 균체를 Na-alginate와 혼합 한 후 실린저나 노즐을 통해 경화용액 즉 CaCl_2 용액에 낙하시키며, 비용이 저렴하고 적절한 겔의 크기를 조절할 수 있는 장점이 있어 캡슐 제작이 활용일 용이하다. 우리를 이전 연구를 통해 캡슐 장치를 주문 제작하였으며, 저속 연동펌프를 이용한 micro-nozzle방식을 선택하여 설계하였으며 Na-alginate와 미생물 배양액을 혼합한 용액을 그림 10-A에 나타낸바와 같이 micro-nozzle을 통하여 CaCl_2 용액에 떨어뜨려 겔을 형성하도록 제작하였다(그림 121).

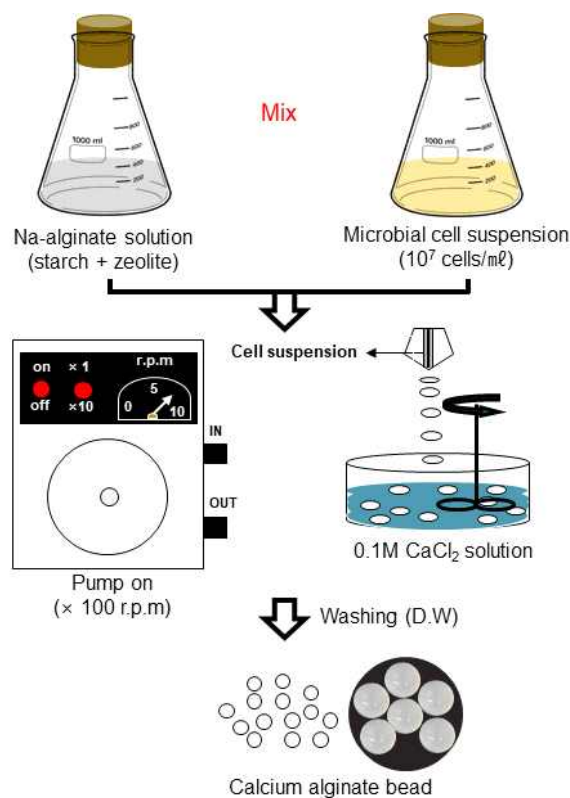


그림 121. 미세캡슐 제형화 공정 과정.

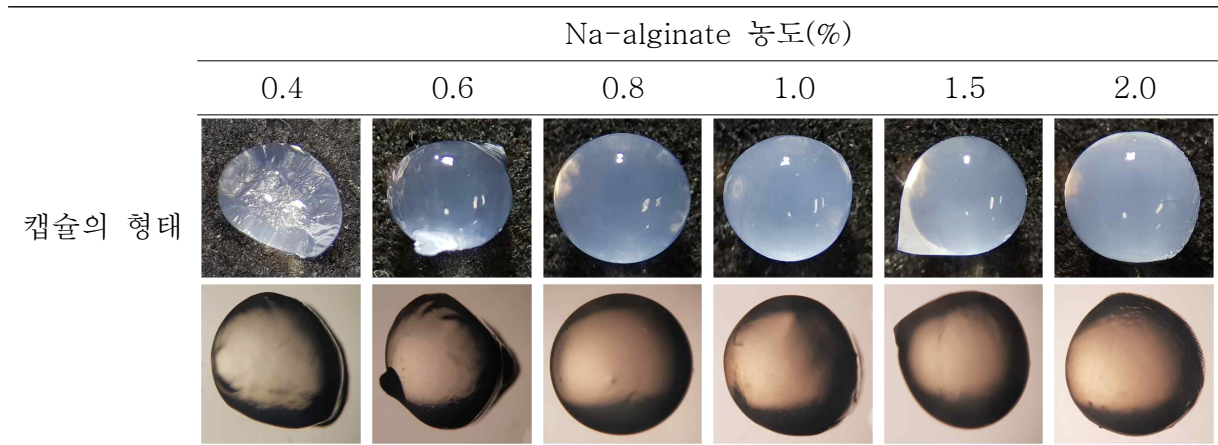
2) 미세캡슐 농도 설정

① Na-alginate 농도 설정

알칼리추출법을 이용하여 추출된 Na-alginate를 다양한 농도로 첨가하여 캡슐화한 미생물제의 형태학적 특징을 해부현미경(Leicazoom 2000,×35)으로 관찰하고 생존력을 측정하였다.

Na-alginate의 농도를 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 그리고 2.0%로 각각 첨가하여 캡슐의 형태를 관찰한 결과, 0.8~2.0%의 캡슐의 경우 단단하고 규칙적인 형태를 나타내었다(표 88). 반면, 0.6% 미만의 경우, 캡슐이 풀어지거나 불안정한 형태를 나타내었다.

표 88. Na-alginate 농도에 따른 캡슐의 형태학적 특성



최적의 Na-alginate 농도를 선별하기 위해 선발된 계분발효적용 우수균주를 대상으로 생균수를 측정된 결과, 발효 촉진미생물(6JPJ-6, 6JCJ-6, P11)의 경우, 1%의 Na-alginate 농도에서 10^7 CFU/g의 생균력을 나타내었으며, 암모니아산화세균인 ATB1111 균주는 0.8%의 Na-alginate 농도에서 10^7 CFU/g의 생균력을 유지하는 것으로 확인되었다(표 89).

상기의 결과로 단단하고 규칙적인 형태와 크기가 일정한 0.8~1.0% 농도의 Na-alginate를 겔형성을 위한 최적 농도로 선정하였다.

표 89. 안정제(starch) 농도에 따른 생균수

Starch 농도 (%)	미세캡슐 내 생균수(CFU/g)				
	발효촉진 미생물			악취(암모니아)저감 미생물	
	6JPJ-6	6JCJ-1	P11	ATB1111	CE103
0.6	1.8×10^5	2.6×10^5	7.6×10^6	1.2×10^5	3.2×10^5
0.8	4.2×10^6	3.1×10^6	8.4×10^6	2.6×10^7	4.6×10^7
1.0	2.8×10^7	1.9×10^7	2.7×10^7	4.2×10^7	3.6×10^7
1.5	1.2×10^7	2.3×10^7	1.6×10^7	2.2×10^7	4.2×10^7
2.0	1.7×10^7	1.9×10^7	0.9×10^7	1.2×10^7	1.2×10^7

② 안정제 농도 설정


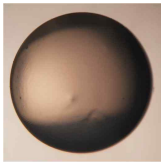

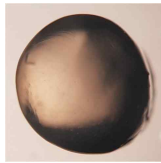

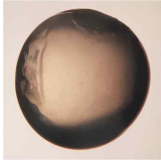

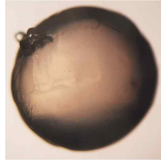

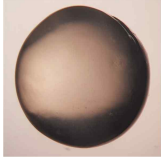

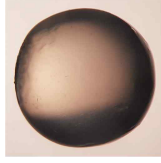

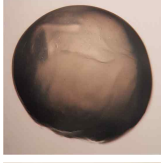

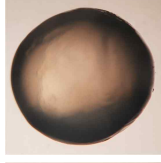

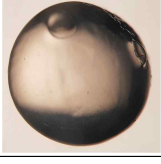

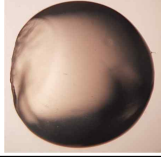
미생물 캡슐제 내 미생물 생존력을 증진시키기 위하여 키토산, C.M.C, starch를 안정제로 사용하고 있다. 퇴비화 미생물 캡슐제 개발을 위해 저렴한 가격으로 구입이 용이하며 캡슐 내 미생물의 생존력이 높은 starch를 안정제로 활용하고자 하였다. 겔형성제로 선정된 0.8% 농도의 Na-alginate와 1.0% 농도의 Na-alginate에 starch를 농도별(0~2.0%)로 각각 첨가하여 캡슐의 형태와 생균수를 측정하였다.

0.8% 농도의 Na-alginate에 starch를 0.5%, 1.0%, 1.5% 그리고 2.0% 농도로 첨가하여 캡슐의 형태를 관찰한 결과, 1.0% 농도의 starch를 첨가할 경우 단단하고 크기가 일정하며, 규칙

적인 형태의 특징을 나타내었다. 반면, 1.0% 미만 또는 이상일 경우, 크기가 작고 불규칙한 형태를 유지하며, 캡슐 안에 기포가 발생하였다(표 90).

1.0% 농도의 Na-alginate에 starch를 0.5%, 1.0%, 1.5% 그리고 2.0% 농도로 첨가하여 캡슐의 형태를 관찰한 결과, starch를 1.0% 이상의 첨가할 경우 단단하고 크기가 일정하며, 규칙적인 형태의 특징을 나타내었다. 반면, 1.0% 미만에서는 0.8% 농도의 Na-alginate에서 나타났던 형태로 크기가 작고 불규칙한 특징을 보였다.

표 90. 보조제(starch)를 첨가한 캡슐의 형태학적 특성

Starch 농도 (%)	캡슐 형태			
	0.8 % Na-alginate		1.0 % Na-alginate	
0				
0.5				
1.0				
1.5				
2.0				

안정제인 starch의 농도별 캡슐의 생균수를 측정된 결과, 발효 촉진미생물의 경우 1.0% Na-alginate+1.0% starch를 첨가하여 캡슐화한 시료에서 $3.8 \times 10^7 \sim 1.8 \times 10^8$ CFU/g으로 생균력을 유지하였다(표 91).

약취저감 미생물의 경우도, 0.8% Na-alginate+1.0% starch를 사용한 캡슐의 경우, 7.7×10^7 CFU/g으로 생균력을 유지하였다(표 24). 두 조건 모두 안정제인 starch를 첨가한 캡슐화 시료의 생균수는 큰 차이가 없었으며, 캡슐의 형태는 starch의 농도가 1.0%일 경우 견고하고 규칙적인 형태를 나타내었다.

이상의 결과로부터 미생물제의 캡슐화를 위한 최적의 캡슐화 소재로 0.8~1.0% 농도의 Na-alginate에 1.0% 농도의 starch와 같은 보조제를 혼합하여 사용할 경우 경제적이고, 생균력을 유지하는데 보다 안정적이라고 판단되었다.

표 91. 안정제(starch) 농도에 따른 생균수

Starch 농도 (%)	미세캡슐 내 생균수(CFU/g)				
	발효촉진 미생물			악취(암모니아)저감 미생물	
	6JPJ-6	6JCJ-1	P11	ATB1111	CE103
0	2.8×10^7	1.9×10^7	2.7×10^7	2.6×10^7	2.6×10^7
0.5	3.1×10^7	1.1×10^7	2.8×10^7	1.1×10^7	2.8×10^7
1.0	4.1×10^7	3.8×10^7	1.8×10^8	7.7×10^7	3.7×10^7
1.5	4.9×10^7	2.9×10^7	1.1×10^8	3.6×10^7	1.3×10^7
2.0	3.2×10^7	2.6×10^7	2.8×10^7	4.2×10^7	1.7×10^7

③ 무기소재 농도 설정

미생물 캡슐화를 위한 무기소재의 수분 흡수율은 미생물의 생균력을 결정하는데 중요한 인자가 된다. 무기소재로 zeolite와 bentonite, 활석, 질석 등이 있으며, zeolite를 첨가한 캡슐에서 높은 생균력을 나타내었으며, 가격이 저렴하며 흡착력이 우수한 zeolite를 첨가하여 캡슐내 생균수를 측정하고자 하였다. 최적의 캡슐 소재로 선발된 0.8, 1.0% 농도의 Na-alginate와 1.0% 농도의 starch를 첨가하고 무기소재인 zeolite를 농도별로 각각 혼합하여 캡슐화 한 후 생균수를 비교한 결과, 1.0% 이상일 경우 zeolite 첨가하기 않은 캡슐제보다 약 10배 이상의 생균수(10^8 CFU/g)를 높은 생균수를 나타내었다(표 92). 특히, 1% 농도의 zeolite를 첨가하면 캡슐의 형태가 견고하고 갈라짐이 나타나지 않았으며, 생균수 또한 일정하게 유지되는 것으로 확인되었다.

표 92. 무기소재(zeolite) 농도에 따른 생균수

Zeolite 농도 (%)	미세캡슐 내 생균수(CFU/g)				
	발효촉진 미생물			악취(암모니아)저감 미생물	
	6JPJ-6	6JCJ-1	P11	ATB1111	CE103
0	4.1×10^7	3.8×10^7	1.8×10^8	7.7×10^7	3.7×10^7
0.5	2.8×10^7	4.6×10^7	3.2×10^8	4.5×10^7	6.5×10^7
1.0	9.0×10^8	1.1×10^8	5.1×10^8	3.9×10^8	5.6×10^8
1.5	7.2×10^8	2.2×10^8	1.1×10^8	2.6×10^8	1.1×10^8
2.0	6.9×10^8	1.1×10^8	2.3×10^8	1.1×10^8	3.2×10^8

(3) 복합 보조제를 사용한 미생물 캡슐제의 생균수 비교

발효촉진 미생물과 약취저감 미생물의 최적캡슐소재로 선발된 조성을 각각 혼합하여 캡슐화한 후, 생균수를 비교하였다. 발효촉진미생물의 생균수를 측정한 결과, 1.0% Na-alginate에 보조제인 starch를 첨가하여도 10^7 CFU/g의 생균수를 나타내었으며, 흡착제인 zeolite를 1.0% 첨가할 경우, 1.0% Na-alginate만 사용한 캡슐보다 약 10배 이상 높은 생균수를 나타냈다(표 93).

표 93. 복합 보조제를 사용한 발효촉진 미생물 캡슐제의 생균수 비교

캡슐 소재	미세캡슐 내 생균수(CFU/g)		
	6JPJ-6	6JCJ-1	P11
1.0% Na-alginate	2.8×10^7	2.7×10^7	1.9×10^7
1.0% Na-alginate + 1.0% starch	4.1×10^7	3.8×10^7	1.8×10^8
1.0% Na-alginate + 1.0% starch + 1.0% zeolite	0.9×10^8	1.0×10^8	5.1×10^8

약취(암모니아)저감 미생물의 생균수를 측정한 결과, 0.8% Na-alginate에 보조제인 starch를 첨가할 경우 0.8% Na-alginate만 사용한 캡슐보다 약 10% 이상 생균수가 높게 조사되었으며, 흡착제인 zeolite를 1.0% 첨가할 경우에도 0.8% Na-alginate만 사용한 캡슐보다 약 100배 이상 높은 생균수를 나타냈다(표 94).

표 94. 복합 보조제를 사용한 약취저감 미생물 캡슐제의 생균수 비교

캡슐 소재	미세캡슐 내 생균수(CFU/g)	
	ATB1111	CE103
0.8% Na-alginate	1.2×10^6	2.6×10^6
0.8% Na-alginate + 1.0% starch	2.3×10^7	3.7×10^7
0.8% Na-alginate + 1.0% starch + 1.0% zeolite	1.2×10^8	1.4×10^8

이상의 결과로부터 미생물을 캡슐화 할 경우 안정제인 starch와 흡착제인 zeolite를 같이 첨가한 캡슐제가 장기간동안 균주의 생균력을 안정하게 유지할 수 있는 것으로 판단되었다.

2. 미생물제의 미세캡슐 제형화의 장기보존 기술개발

(1) 보존 온도에 따른 장기보존 효과 검증

보존 온도에 따른 생균력을 측정하기 위해 캡슐제(Na-alginate + starch)를 4℃와 50℃에 보관하여 약 60일 동안 생균력을 검증하였다. 생균수는 균질기(Homogenizer)를 이용하여 캡슐을 분쇄하고 희석평판법에 의거하여 측정하였다.

4℃에 보관한 캡슐제의 생균력을 측정한 결과, 60일 동안 약 90% 이상의 생균력을 유지하였으며, 캡슐의 형태도 유지되었다. 반면, 50℃에 보관한 캡슐제의 경우, 60일 후 30-50% 이상 생균력이 감소하였으며, 캡슐의 형태가 수분이 빠져 터지거나 불규칙한 형태를 유지하였다(그림 122).

이상의 결과로부터 미세캡슐제를 보관할 경우, 높은 온도보다 낮은 온도에서 보관할 시 캡슐제의 생균력을 안정하게 장기간 유지할 수 있는 것으로 판단된다.

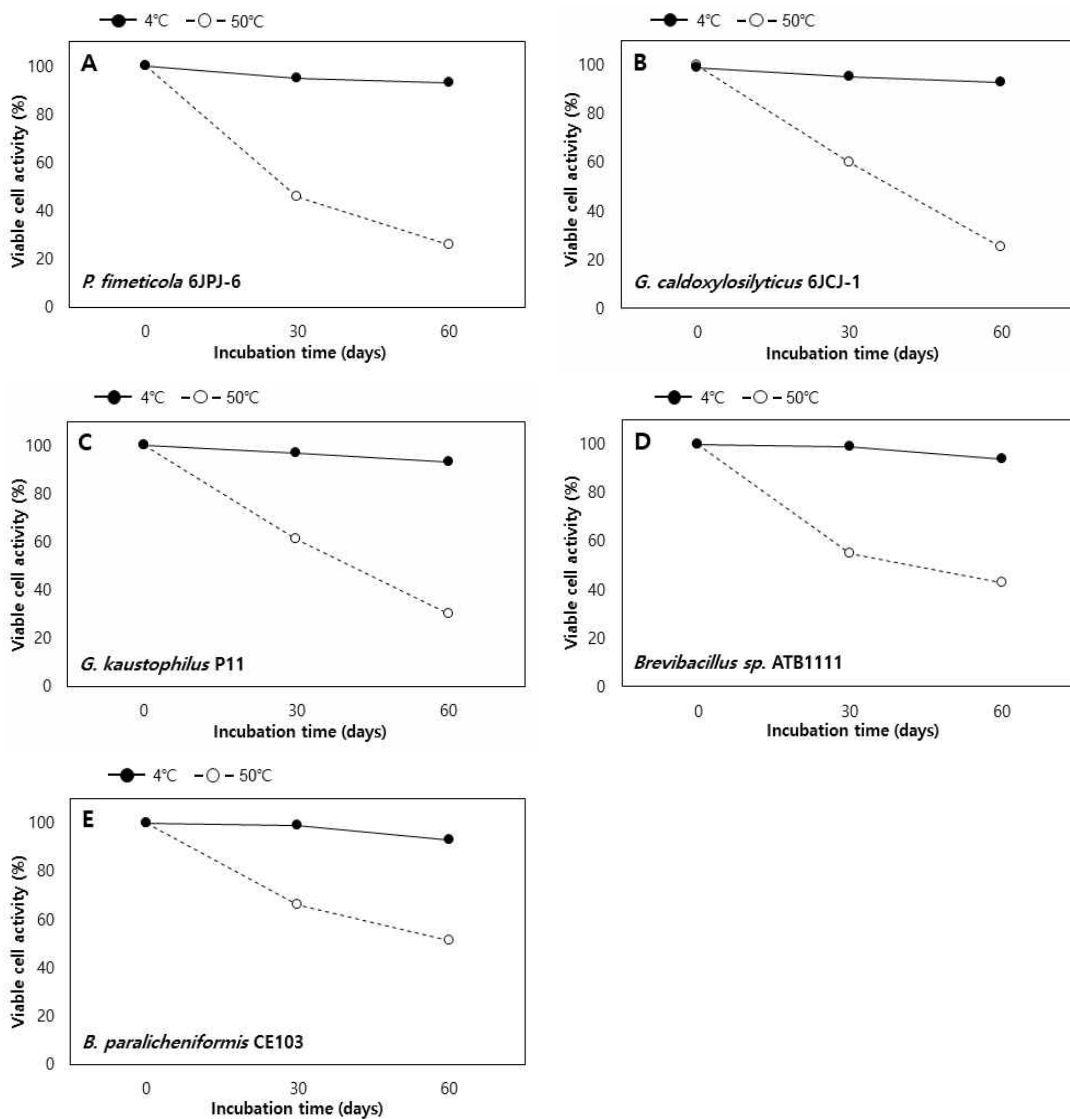


그림 122. 코팅제(복합보조제) 처리에 따른 미세캡슐제의 생균력 비교.

(2) 보조제에 따른 장기보존 효과 검증

미생물제를 캡슐화 하는 주요목적은 유통·보존 중에 수분 및 산소와의 영향을 적절히 조절하여 미생물의 생존력을 높이는 데 있다. 보조제를 첨가한 캡슐제의 보존기간에 따른 생존수를 비교하였다. 생존제와 캡슐제는 4℃에서 일정하게 보관하였으며, 균질기(Homogenizer)를 이용하여 캡슐을 분쇄하고 희석평판법에 의거하여 측정하였다.

캡슐화하지 않은 모든 생존제는 30일 이후 90% 이상 생존력이 급격하게 감소하였으며, 60일 내에 모두 사멸하여 검출되지 않았다.

고온성 단백질분해효소 생성세균 6JPJ-6 균주를 이용한 캡슐제의 생존수를 측정한 결과, 약 30일 경과한 후 약 10% 정도 생존수가 감소하였으며, 보관기간이 오래될수록 생존력이 감소하는 것으로 나타났다. 최종 200일 후에는 약 55%의 생존력을 유지하였다(그림 123A).

고온성 섬유소분해효소 생성세균 6JCJ-1 균주를 이용한 캡슐제의 생존수를 측정한 결과, 약 30일 경과한 후 약 10% 정도 생존수가 감소하였으며, 보관기간이 오래될수록 생존력이 감소하는 것으로 나타났다. 최종 200일 후에는 약 50%의 생존력을 유지하였다(그림 123B).

고온성 인산가용화세균 P11 균주를 이용한 캡슐제의 생존수를 측정한 결과, 약 30일 경과한 후 약 5% 정도 생존수가 감소하였으며, 보관기간이 오래될수록 생존력이 감소하는 것으로 나타났다. 최종 200일 후에는 약 60%의 생존력을 유지하였다(그림 123C).

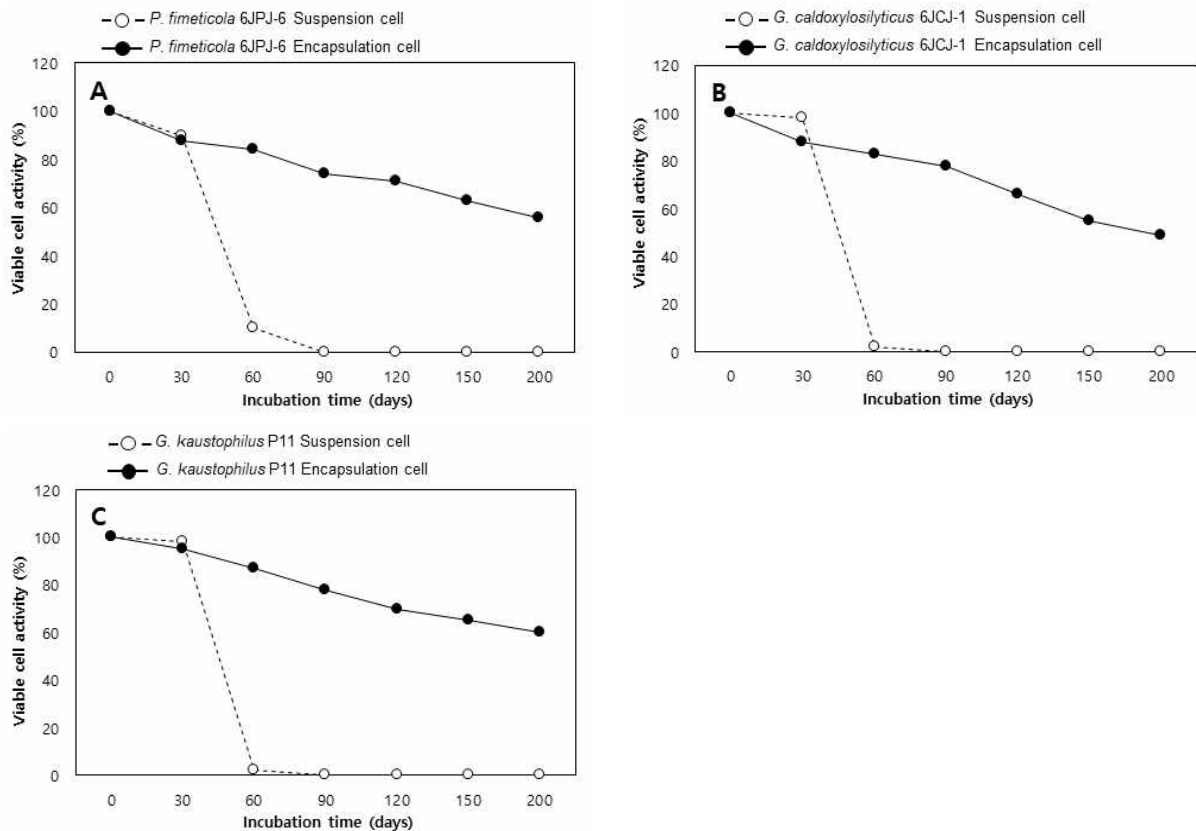


그림 123. 보조제에 따른 발효촉진 미세캡슐제의 생존력 비교.

고온성 암모니아산화세균 ATB1111 균주와 CE103 균주를 이용한 캡슐제의 생균수를 측정 한 결과, 약 30일 경과한 후 약 5% 정도 생균수가 감소하였으며, 보관기간이 오래될수록 생균 력이 감소하는 것으로 나타났다. 최종 200일 후에는 약 40~50%의 생균력을 유지하였다(그림 124A, B).

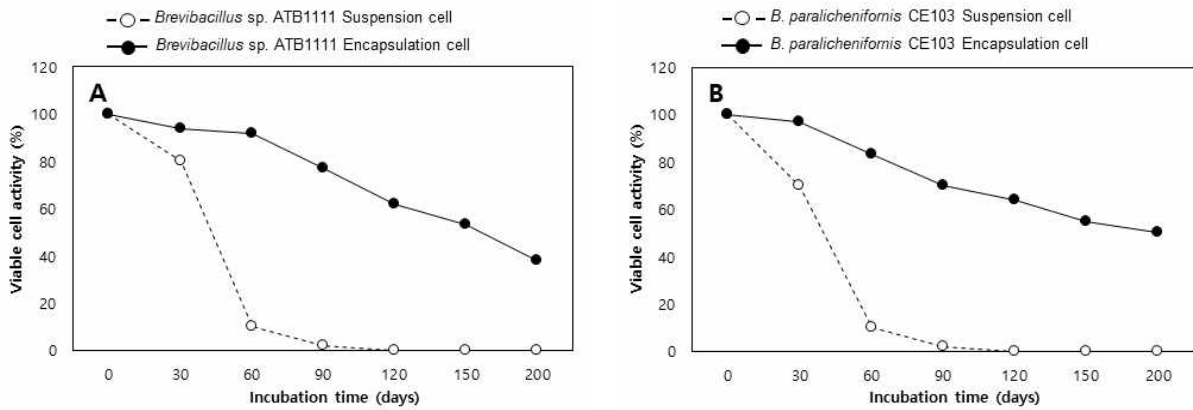


그림 124. 보조제에 따른 약취저감(암모니아) 미세캡슐제의 생균력 비교.

이상의 결과로부터 미세캡슐제의 경우캡슐화 하지 않는 생균제보다 장기간 생균력을 유지 할 수 있는 것으로 확인되었다. 하지만, 캡슐제 또한 보관기간이 길어질수록 생균력이 점차 감 소하고 안정성을 유지할 수 있음을 알 수 있다. 그러나 효모를 이용한 캡슐제의 경우 세균에 비하여 생균력 안정성이 불안정하게 나타나 생균력을 증진 시킬 수 있는 보조제 개발에 관한 연구가 절실히 요구되었다.

(3) 코팅제(복합 보조제) 처리에 따른 장기보존 효과 검정

앞서 실험한 결과에 따르면 보조제(starch)를 첨가한 캡슐제의 경우, 보관기간이 200일 이후 지나면 생균력이 약 50% 이상 감소하는 것으로 나타났다. 본 연구에서는 장기간 보관하였을 때 생균력이 안정적으로 유지되는 소재를 개발하는 것에 목적을 두었다. 캡슐제의 수분을 유지 시켜주며 미생물을 흡착시킬 수 있는 무기소재인 zeolite를 캡슐제에 첨가하여 장기간 보관시 생균력이 유지되는지 확인하였다.

캡슐제는 4℃에서 일정하게 보관하였으며, 균질기(Homogenizer)를 이용하여 캡슐을 분쇄하 고 회석평판법에 의거하여 측정하였다.

모든 캡슐제에 무기소재인 zeolite를 첨가했을 경우, 첨가하지 않은 캡슐제보다 약 80% 이 상의 생균력을 유지하였으며, 200일 이후에도 안정적으로 유지되는 것으로 확인되었다(그림 125).

이상의 결과로부터 미생물을 캡슐화 할 경우 무기소재인 zeolite를 첨가한 캡슐제가 starch 를 첨가한 캡슐제에 비하여 생균력을 장기간 안정하게 유지할 수 있는 것으로 판단된다.

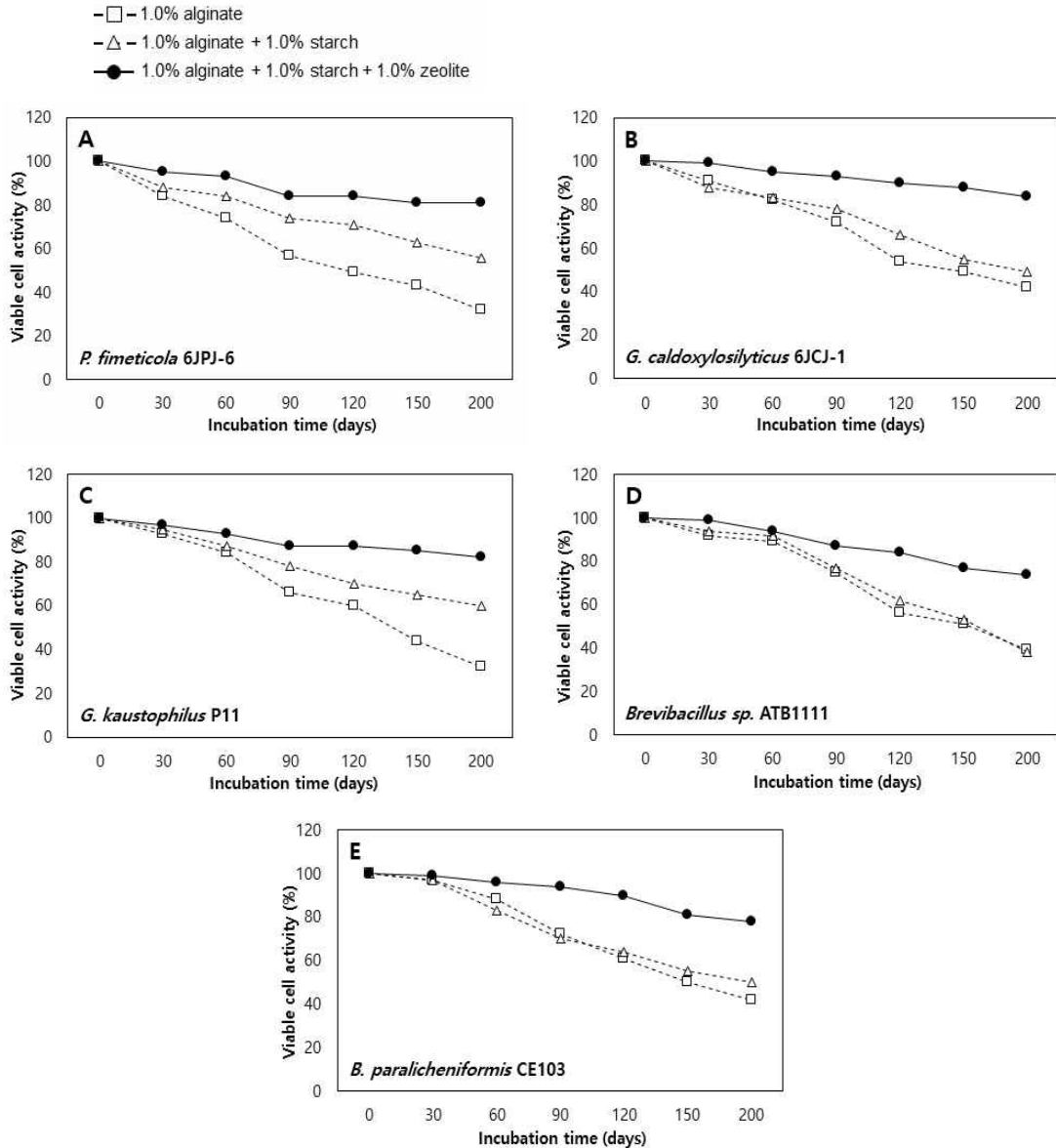


그림 125. 코팅제(복합보조제) 처리에 따른 미세캡슐제의 생균력 비교.

(4) 건조방법에 따른 미세캡슐제의 생균력

건조방법에 따른 미세캡슐제의 캡슐 형태와 생균력을 평가하기 위해 건조온도를 실온과 40°C로 설정하고 1시간 동안 건조시켰다. 건조된 캡슐의 생균수 측정은 캡슐 1알당 무작위로 선정하여 캡슐의 형태와 생균수를 측정하였다.

실온에서 건조한 캡슐의 형태를 관찰한 결과, 건조하기 전 상태와 비슷한 형태를 유지하고 있었다(표 95). 이들 캡슐을 무작위로 선발하여 생균수를 측정한 결과, 10^3 CFU/capsule의 생균력을 유지하는 것으로 확인되었다.

표 95. 실온(25℃)에서 건조 후 미세캡슐제의 형태 및 생균수 비교





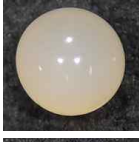















미생물	캡슐 형태		캡슐제 내 생균수 (CFU/capsule)	
	0h	1h	0h	1h
<i>P. fimeticola</i> 6JPJ-6			3.2×10^3	3.2×10^3
<i>G. caldxylosilyticus</i> 6JCJ-1			2.6×10^3	2.4×10^3
<i>G. kaustophilus</i> P11			3.2×10^3	2.9×10^3
<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111			3.2×10^3	3.0×10^3
<i>B. paralicheniformis</i> CE103			3.4×10^3	3.4×10^3

표 96. 중온(40℃)에서 건조 후 미세캡슐제의 형태 및 생균수 비교

미생물	캡슐 형태		캡슐제 내 생균수 (CFU/capsule)	
	0h	1h	0h	1h
<i>P. fimeticola</i> 6JPJ-6			3.6×10^3	2.2×10^2
<i>G. caldxylosilyticus</i> 6JCJ-1			4.8×10^3	0.9×10^2
<i>G. kaustophilus</i> P11			3.3×10^3	1.1×10^2
<i>Brevibacillus</i> sp. ATB1111			3.0×10^3	1.6×10
<i>B. paralicheniformis</i> CE103			3.1×10^3	0.9×10

중온(40℃)에서 건조한 캡슐의 형태를 관찰한 결과, 수분이 빠져 구멍이 생기거나 불규칙한 형태를 나타내었다. 이들 캡슐을 무작위로 선발하여 생균수를 측정한 결과, 캡슐에 따라 불안정한 생균력을 나타내었다(표 96). 이상의 결과로, 실온에서 캡슐을 건조했을 때 캡슐의 형태와 생균력을 안정적으로 유지할 수 있다. 하지만, 공기 중에 노출될 위험이 있어 추후 건조방법을 재구성할 필요가 있다고 판단되었다.

<계분발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화 최종결론>

선발된 계분발효적용 우수균주의 생균력을 유지시키기 위한 계분발효촉진 미생물제의 제형화 조건 및 경제성분석결과는 다음과 같다.

<고온성 단백질분해세균 대량배양을 위한 최적조건 확립>

종류	조건 (%)
Na-alginate	0.8~1.0
안정제	Starch 1.0
무기소재 복합보조제	Zeolite 1.0%
미세캡슐 건조방법	실온(25℃)
경제성	Na-alginate 2,130 원/kg × 1% = 21.3 원/kg Starch 530 원/kg × 1% = 5.3 원/kg Zeolite 160 원/kg × 1% = 1.6 원/kg 미생물 34 원/kg × 100 배 농축* × 10% = 340 원/kg 미세캡슐화 제형 단가 368.2 원/kg

*미생물배양액 중 균체를 회수하는 과정에서 99.5% 이상의 액상배지는 제거되어 농축됨.

제 5 절 계분발효촉진 미생물 캡슐제의 생균력 평가

1. 생균제와 캡슐화 미생물제의 계분발효 촉진 효과

(1) 대용량(200 kg) 계분발효 시험 설계

선발된 계분발효촉진 우수미생물을 대상으로 계분 퇴비화 과정에 따른 발효촉진 및 악취저감(암모니아)능을 평가하기 위해 안성에 위치한 효성오앤비 안성공장에서 진행하였다. 계분발효챔버는 가로 1.2 m, 세로 1.0 m, 높이 1.0 m이고, 발효과정동안 우수의 피해를 막기 위해 나무판을 설치하였다(그림 126).

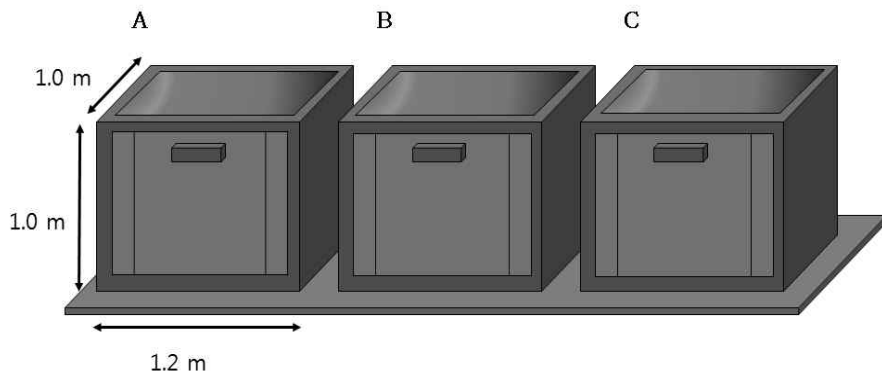


그림 126. 계분퇴비화 장비 설계.

계분발효 시험은 총 40일 동안 진행되었으며, 무처리구, 생균제, 캡슐제로 처리구를 나눠 실험을 하였다. 계분퇴비 배합 비율은 표 97에 나타내었으며, 피트모스 20%, 미생물처리 5%로 설정하고, 수분함량은 50%로 맞춰 진행하였다. 무처리구는 물 이외엔 첨가하지 않았으며, 캡슐제와 생균제는 10^7 cells/ml의 발효촉진 미생물을 계분발효 1일차에 처리하였다. 계분발효가 진행되는 동안 온도, pH 그리고 암모니아가스 발생량을 측정하였으며, 1~2일 간격으로 뒤집기를 해주었다. 또한 퇴비 시료를 채취하여 미생물군의 변화를 관찰하였다.

표 97. 계분발효 시험의 처리구별 배합 조건

처리구	계분(분뇨)	피트모스(20%)	미생물 처리(5%)
무처리구	160 kg	40 kg	-
생균제	150 kg	40 kg	10 l
캡슐제	150 kg	40 kg	10 kg

(2) 계분발효과정 중 물리·화학적 변화

1) 계분발효과정 중 온도 변화

계분발효과정 중 온도의 변화는 발효속도와 미생물의 활성에 영향을 미치는 중요한 요인이 된다. 본 연구에서는 각 처리구별 계분발효과정에 따른 온도 변화를 측정하였다.

미생물을 처리하기 전인 계분과 피트모스 배합 후 초기 온도는 37°C를 나타내었다. 각 처리구에 따라 미생물을 처리하여 24시간 발효 후 모든 시험구에서는 50°C 이상 온도가 증가하였다. 계분발효 7일 째 무처리구는 64.5°C, 생균제는 70°C, 캡슐제의 온도는 66°C로 측정되었다. 계분발효 16일 째 모든 처리구에서 60°C 이하로 감소하였고 31일 째 42°C를 나타낸 후 온도가 다시 증가하였다. 계분발효 종료시기인 발효 40일 째에는 35°C 이하의 온도를 나타내어 계분발효과정 중 처리구에 따른 온도의 차이는 나타나지 않았다(그림 127).

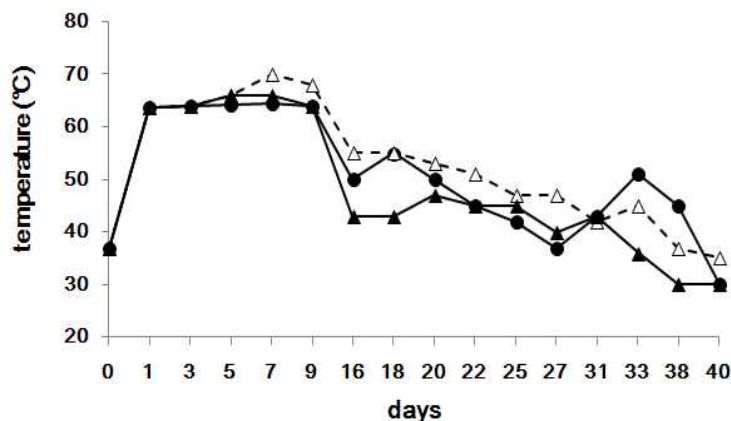


그림 127. 계분발효과정 중 온도 변화.

2) 계분발효과정 중 pH 변화

계분발효과정 중 암모니아와 같은 질소 화합물은 퇴비의 pH를 변화시키는 원인이 된다 (Cardenas *et al.*, 1989; Yun *et al.*, 2012). 대용량 규모의 계분발효과정 중 pH는 무처리구 및 생균제와 캡슐제를 구분하여 측정하였다. 모든 처리구의 계분과 수분조절제의 배합 후 pH

는 8.6~8.9를 나타내었다. 무처리구의 pH는 퇴비 발효 40일 쯤에 pH 9.0로 측정되었다. 생균제와 캡슐제는 퇴비 발효 40일 쯤에 pH 9.0으로 측정되었다(그림 128). 모든 처리구의 계분발효과정 중 pH의 변화는 큰 차이를 나타내지 않았다.

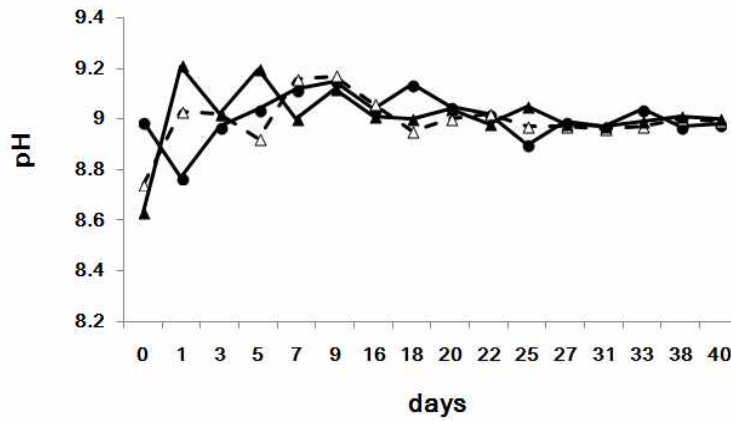


그림 128. 계분발효과정 중 pH 변화.

(3) 계분발효과정 중 미생물처리에 따른 암모니아가스 저감 효과

무처리구와 생균제 그리고 캡슐제의 대응량 규모 계분발효과정 중 암모니아가스 발생량을 측정한 결과, 모든 처리구의 초기 암모니아 발생량은 26 ± 1.5 ppm으로 측정되었다. 계분발효 7일 쯤 무처리구와 생균제의 경우 2,842~3,040 ppm의 암모니아 발생량을 나타내었고 캡슐제의 경우 계분발효 7일 쯤 2,238 ppm으로 604~804 ppm으로 낮은 암모니아 발생량이 측정되었다. 발효 20일 쯤 무처리구의 경우 1,267 ppm의 암모니아 발생량이 측정되었고 생균제와 캡슐제는 765~890 ppm으로 무처리구보다 377~502 ppm으로 낮은 암모니아 발생량이 측정되었다. 계분의 발효가 완료되는 계분발효 40일 쯤에는 무처리구의 경우, 1,664 ppm의 암모니아 발생량이 측정되었다. 생균제의 경우 417 ppm이 측정되었고 캡슐제의 경우, 326 ppm이 측정된다. 무처리구는 미생물 처리구에 비해 약 5배 높은 암모니아 발생량을 나타내었고 캡슐제에서 생균제 처리구보다 약 90 ppm의 높은 암모니아 저감능을 나타내어 캡슐제는 계분발효과정에서 암모니아가스를 안전하고 효율적으로 제거하는데 매우 효과적인 방법으로 판단되었다(그림 129).

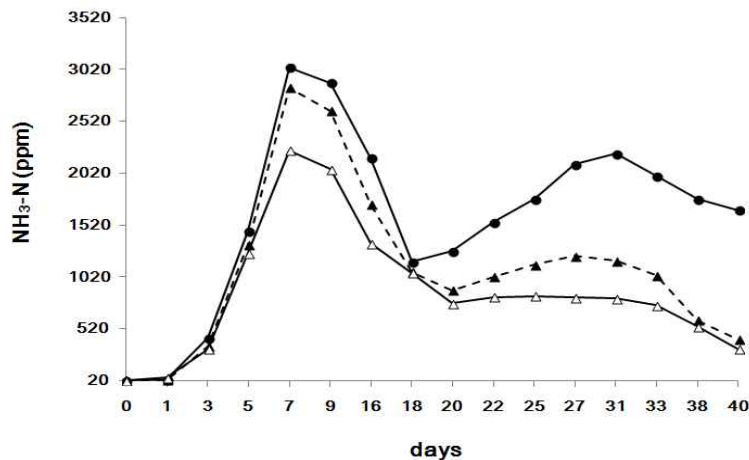


그림 129. 계분발효과정 중 암모니아가스 발생량 측정.

Ryckeboer 등(2003)은 축산 분뇨 퇴비화를 위해 암모니아가스의 효율적인 제거는 분뇨의 비료화에 있어 매우 중요하다고 보고되었으며 Kim 등(2016)이 분리한 *Bacillus subtilis*을 이용하여 암모니아가 대량 발생하는 퇴비 발효 9일간 암모니아 약취저감을 확인하였을 때 무처리구 보다 46%의 암모니아 저감을 확인하였다. 그러나 60°C 이상의 퇴비화 시설 현장에서 미생물의 활성은 환경 인자의 변화와 함께 감소를 나타나게 된다(Finstein *et al.*, 1982). 본 연구를 통해 계분발효과정 중 발생하는 암모니아를 효과적으로 제거하기 위하여 고온성 암모니아산화세균 캡슐제를 제작하였고 퇴비화 모델 실험을 통해 캡슐제가 생균제보다 고온성 암모니아산화세균의 생균력 유지와 암모니아를 효율적으로 제거 가능성을 확인하였다.

(4) 계분발효과정 중 우점미생물 분석

1) 계분발효과정 중 일반세균 밀도변화

계분발효과정에서 일반세균의 밀도를 측정하기 위해 NA (nutrient medium, difco, USA) 배지 활용하여 희석평판법에 의거하여 미생물의 밀도를 측정하였다. 계분발효 초기에는 $2.3 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^7$ CFU/g로 분포하였으며, 발효 16~20일 후에는 미생물 처리구(생균제, 캡슐제)가 무처리구보다 약 10배 이상 높은 분포율을 나타내었다. 발효 중기인 22~25일 후에는 캡슐제 처리구에서 생균제보다 약 10배 이상의 높은 분포율을 나타내었다. 계분발효 진행이 끝난 발효 40일 후에는 미생물 처리구(생균제, 캡슐제)가 무처리구보다 약 10배 이상 낮은 분포율을 보였다(그림 130).

이상의 결과로, 계분발효과정 중 중기에서 후숙기로 갈수록 일반세균의 밀도는 증가하는 것으로 나타났다.

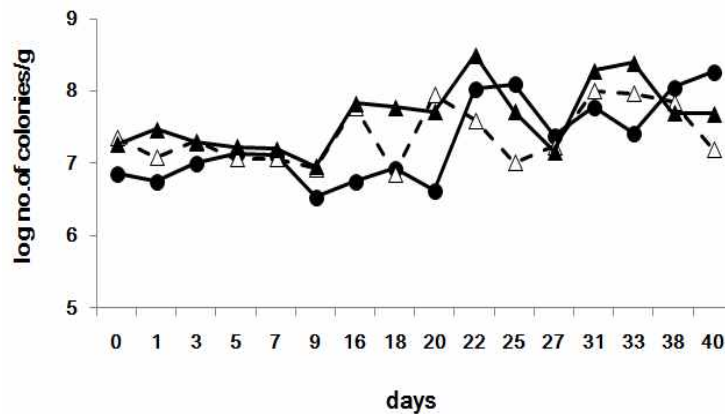


그림 130. 계분발효과정 중 일반세균 밀도변화.

2) 계분발효과정 중 포자형성세균(바실러스) 밀도 변화

계분과정에서 포자형성세균의 밀도를 측정하기 위해 *Bacillus* 선택배지를 이용하여 희석평판법에 의거하여 미생물의 밀도를 측정하였다.

발효 초기의 포자형성세균의 분포율을 측정한 결과, 모든 처리구에서 10^5 CFU/g로 분포하였으며 발효 7일 후에는 2.0×10^4 CFUs/g으로 분포율이 감소하였다. 또한 모든 처리구에서는 온도 변화에 따라 포자형성세균의 분포율이 변하여 온도 변화에 민감하였으며, 발효 16일 후에는 10^5 CFU/g으로 분포율이 증가하였다. 퇴비화 진행이 끝난 발효 40일 후에는 10^5 CFU/g으로 분포하였으며, 처리구 별 밀도 변화는 크게 나타나지 않았다(그림 131).

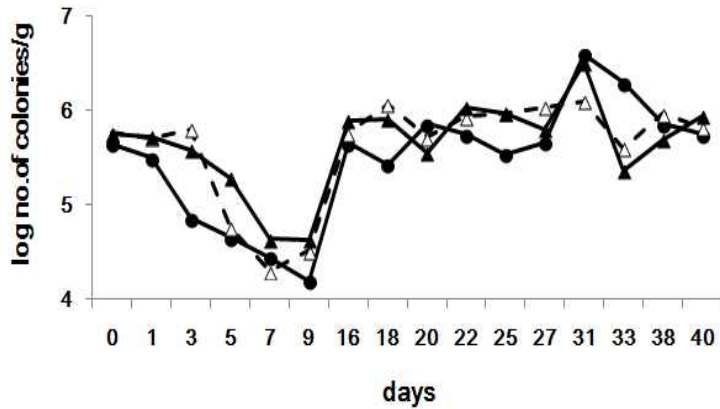


그림 131. 계분발효과정 중 포자형성세균(*Bacillus* spp.)의 밀도변화.

3) 계분발효과정 중 고온성 암모니아산화세균 밀도 변화

계분발효과정 중 고온성 암모니아산화세균(thermophilic ammonia oxidizing bacteria: TAOB)의 밀도의 변화를 확인하기 위해 무처리구와 생균제, 캡슐제를 40일 동안 측정하여 비교하였다. 계분과 수분조절제 배합 후 무처리구의 밀도는 1.6×10^6 CFUs/g으로 측정되었고 생균제는 3.5×10^6 CFUs/g이고 캡슐제는 2.2×10^6 CFUs/g으로 측정되었다. 계분발효 5일 째 무처리구는 3.1×10^6 CFUs/g으로 측정되었다. 생균제는 5.6×10^6 CFUs/g, 캡슐제는 8.7×10^6 CFUs/g으로 측정되었다. 발효 16일 째 무처리구와 TAOB 생균제 및 캡슐제 처리구는 각각 3.87×10^5 CFUs/g, 9.4×10^5 CFUs/g, 9.9×10^5 CFUs/g으로 측정되었다. 퇴비 발효 40일 째 무처리구는 1.3×10^4 CFUs/g, 생균제는 5.6×10^4 CFUs/g으로 측정되었다. 캡슐제는 7.6×10^4 CFUs/g으로 측정되어 퇴비 발효 기간 동안 TAOB 캡슐제의 밀도는 무처리구보다 약 6배 높게 확인되었고 캡슐제를 처리한 계분발효과정에서 고온성 암모니아 산화세균의 밀도는 무처리구와 생균제 처리구보다 높게 나타내었다(그림 132).

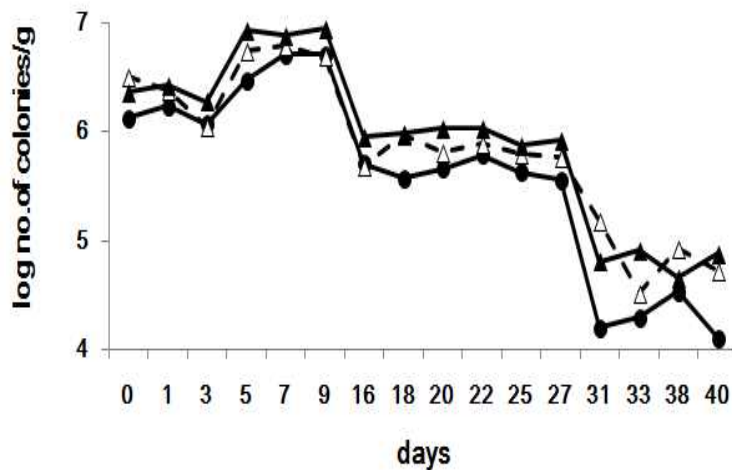


그림 132. 계분발효과정 중 암모니아산화세균의 밀도변화.


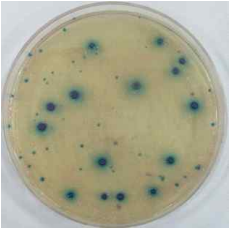

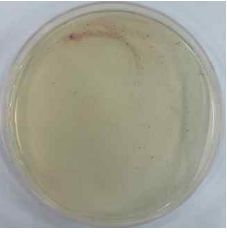
















3. 가공계분의 미생물학적 품질평가

(1) 가공계분의 품질검사

계분발효과정 종료 후 가공계분의 품질평가를 위해 병원성미생물(병원성대장균, 병원성살모넬라, 황색포도상구균, 리스테리아 모노사이토제네스, 바실러스 세레우스) 5종 검사를 실시하였다. 각각의 선택배지에 가공계분 원액을 3반복으로 100 μ l씩 분주하고 도말하여 배양하며, 24시간 단위로 생육상을 확인하였다.

무처리구의 병원성미생물 5종에 대한 분석을 한 결과, 병원성대장균(*Escherichia coli*)이 검출되었으며, 미생물 캡슐제를 처리한 처리구에서는 병원성미생물 5종 모두 검출되지 않았다(표 98).

표 98. 가공계분의 병원성미생물 5종 평가






시험항목	무처리구		캡슐제	
<i>Escherichia coli</i>				
<i>Salmonella</i> spp.				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Listeria monocytogenes</i>				
<i>Bacillus cereus</i>				

(2) 최종제품에 안정성 평가

1) 최종제품의 병원성미생물 평가

최종 개발된 유기질비료 내 품질평가를 위해 병원성미생물 검사를 실시하였다. 각각의 선택 배지에 최종제품 원액을 3반복으로 100 μ l씩 분주하고 도말하여 배양하며, 24시간 단위로 생육상을 확인하였다. 병원성미생물 5종에 대한 분석 결과, 모두 미생물이 검출되지 않는 것으로 확인되었다(표 99).

표 99. 최종제품의 병원성미생물 5종 평가

<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>
				
불검출	불검출	불검출	불검출	불검출

2) 최종제품의 저장기간 및 저장온도에 따른 미생물상 측정

최종제품의 저장기간 및 저장온도에 따른 품질평가를 위해 약 6개월 동안 4 $^{\circ}$ C와 실온에서 제품을 보관하면서 병원성미생물(병원성대장균, 병원성살모넬라, 황색포도상구균, 리스테리아 모노사이토제네스, 바실러스 세레우스) 5종 검사를 실시하였다.

저장온도(4 $^{\circ}$ C와 실온)와 저장기간 동안 최종제품 내 미생물상을 조사한 결과, 병원미생물 5종에 대해 검출되지 않았다. 이상의 결과로, 최종제품 내 병원성미생물 5종 모두 불검출되어 유기질비료 등록이 가능한 제품으로 판단되었다(표 35).

표 100. 저장기간 또는 저장 온도에 따른 최종제품 내 병원성미생물 5종 평가

병원성미생물	1개월	3개월	6개월
<i>Escherichia coli</i>	불검출	불검출	불검출
<i>Salmonella</i> spp.	불검출	불검출	불검출
<i>Staphylococcus aureus</i>	불검출	불검출	불검출
<i>Listeria monocytogenes</i>	불검출	불검출	불검출
<i>Bacillus cereus</i>	불검출	불검출	불검출

<계분발효촉진 미생물 캡슐제의 생균력 최종결론>

계분발효촉진 미생물 캡슐제의 생균력을 평가하기 위하여 대용량퇴비화를 유도하여 무처리구와 생균제, 미생물캡슐제간의 생균력, 암모니아산화세균의 밀도, 암모니아가스 저감능, 병원성미생물 5종 검사를 통해 품질을 평가하였다.

<계분발효촉진 미생물캡슐제의 품질 평가>

구 분	결 과
캡슐화 미생물제제	암모니아가스 저감능 우수
고온성 암모니아 산화세균의 밀도	무처리구와 생균제에 비해 높게 유지
가공계분의 안정성 평가	병원성미생물 5종 불검출
시제품 안정성 평가	병원성미생물 5종 불검출

제 3 장 개발 비료의 품질 평가 및 시비체계 설정((주)판코리아)

제 1 절 국내 가공계분의 특성 및 선발미생물의 작물안정성 평가

1. 국내 가공계분의 특성 조사

가. 연구목적

본 시험은 국내에 시판중인 가공계분의 이화학적 특성과 염분 및 유해성분을 조사하여 가공계분의 특성을 파악하고자 한다.

나. 재료 및 방법

(1) 공시재료

분석에 사용된 가공계분은 국내에 시판중인 8개 제품을 수집하여 분석하였다.

(2) 시험방법

수집된 가공계분은 질소, 인산, 칼리, 유기물, 수분, 염산불용해물, 염분, 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 구리, 니켈, 아연 등을 비료의 품질검사방법 및 시료채취기준(농촌진흥청, 2015-23호)에 준하여 분석하였다. 질소는 Kjeldahl 법, 수분함량은 105℃ 건조법, 유기물은 전기로를 이용한 회화법, 염산불용해물은 토사법, 그리고 인산, 칼리, 염분, 비소, 카드뮴, 수은 납, 크롬, 구리, 니켈 등은 유도결합플라즈마(ICP)를 이용하여 분석하였다.

다. 결과

(1) 국내 시판 가공계분의 주성분 분석

국내 시판 가공계분의 주성분 및 염산 불용해물 분석 결과는 표 101과 같다. 가공계분의 질소, 인산, 칼리 함량 합계량은 8개 제품 모두 6% 이상으로 조사되었으며, 유기물함량은 37~72%, 수분은 6~17%, 염산불용해물은 1~11%로 비료공정규격에 적합한 수준을 보였다.

표 101. 국내 시판 가공계분 주성분 및 염산불용해물 분석

구분	질소	인산	칼리	유기물	수분	염산불용해물
	(%)					
A	2.81	3.99	2.64	41.98	6.03	3.29
B	2.41	4.17	2.69	37.48	14.43	11.41
C	4.19	3.06	2.56	61.38	9.78	8.01
D	3.58	3.50	3.27	60.45	10.91	10.91
E	3.11	5.03	2.47	62.85	12.58	2.00
F	3.56	4.12	2.52	53.55	10.69	7.61
G	2.62	6.59	4.31	39.01	17.35	6.50
H	3.90	2.40	2.80	72.40	14.10	4.30
비료공정규격	합계량 6 이상			30 이상	20 이하	30 이하

(2) 국내 시판 가공계분의 유해성분 및 염분 분석

국내 시판 가공계분의 유해성분 분석 결과는 표 102와 같다. 가공계분 8개 제품 모두 구리와 아연이 검출되었지만, 비료공정규격에 적합수준의 결과를 보였다. 비소, 카드뮴, 수은, 납, 크롬, 니켈 등은 비료공정규격에 제시된 기준보다 낮았고, 염분도 비료공정규격인 0.9% 이하로 조사되었다.

표 102. 국내 시판 가공계분 유해성성분 및 염분 분석(건물중)

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
	(mg/kg)								(%)
A	불검출*	불검출	불검출	불검출	불검출	34.12	불검출	387.90	0.79
B	불검출	불검출	불검출	불검출	2.36	69.69	불검출	390.29	0.82
C	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	58.43	불검출	257.69	0.86
D	불검출	불검출	불검출	3.09	불검출	73.26	불검출	315.65	0.64
E	0.39	0.37	불검출	불검출	불검출	44.62	불검출	335.64	0.66
F	0.37	불검출	불검출	불검출	26.11	49.35	10.04	396.19	0.81
G	불검출	불검출	불검출	불검출	20.09	59.08	14.24	493.63	0.77
H	0.03	불검출	불검출	불검출	5.33	67.10	불검출	337.88	0.64
비료공정규격	20 이하	2 이하	1 이하	50 이하	90 이하	120 이하	20 이하	500 이하	0.9 이하

* 불검출 : 정량한계 이하

라. 결론

국내에 시판되는 가공계분 8개 제품에 대한 주성분 및 유해성분 분석 결과를 살펴보면, 주성분 분석에서 질소, 인산, 칼리 함량 합계량은 평균 10.39%로 비료공정규격 6% 이상 보다 높게 조사되었으며, 유기물, 수분, 염산불용해물도 비료공정규격에 적합한 결과를 나타냈다.

유해성분 분석에서 8개 제품 모두 중금속함량과 염분이 비료공정규격에 제시된 기준보다 낮아 가공계분 공정규격에 적합하였다.

2. 미생물제제의 식물안전성 시험

가. 연구목적

본 시험은 목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 개발한 미생물제제의 비료학적 특성 분석과 미생물제제의 포트 재배시험을 통해 작물의 생육 효과와 피해를 평가하고자 수행하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 공시재료

본 시험은 2016년 10월 28일부터 21일간 (주)판코리아의 시험연구용 온실에서 수행되었다. 공시토양은 사양토로서 pH가 6.42인 약산성으로 작물재배에 적합한 수준이었으며, 이화학적

특성은 표 103과 같이 나타내었다. 공시작물은 배추(황복, 농우바이오), 상추(열풍, 권농종묘), 오이(조은백다다기, 흥농씨앗), 고추(녹광, 흥농씨앗) 및 콩(대풍)으로 농자재 판매상에서 종자를 구매하여 사용하였다.

시험에 사용된 미생물제제의 화학성 및 유해성분은 표 104, 105와 같다. pH는 7.49로 약알칼리성이었으며, 질소 0.15%, 인산 0.14%, 칼리 0.035%로 분석되었으며, 석회와 고토는 검출되지 않았다. 유해성분은 모두 불검출 되었으며, 염분은 0.36%를 나타내었다.

표 103. 작물재배시험 전 토양 화학성 분석 결과

pH (1:5)	EC	T-N	O.M	Av.-P ₂ O ₅	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
	(dS/m)	(%)			(mg/kg)	(cmol _c /kg)			
6.42	1.85	0.18	1.77	204	1.47	6.74	1.69	0.99	10.89

표 104. 미생물제제 화학성 분석 결과

pH	EC	T-N	T-P ₂ O ₅	T-CaO	T-MgO	T-K ₂ O
	(dS/m)	(%)				
7.49	6.41	0.15	0.14	불검출*	불검출	0.035

* 불검출 : 정량한계 이하

표 105. 미생물제제 유해성분 및 염분 분석 결과

비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
(mg/kg)								(%)
불검출*	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출	0.36

* 불검출 : 정량한계 이하

(2) 시험방법

시험을 위해 원예용 상토를 채운 트레이에 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩 종자를 2016년 10월 7일에 파종하여 약 21일 간 유묘를 관리하였고, 완전히 활착된 유묘를 재배시험에 이용하였다.

재배시험은 농촌진흥청 고시 제2013-13호(2013.6.18.) 유기농자재 공시 및 품질인증기준 중 제8조 검사 및 시험방법에 준하여 수행하였으며, 처리구는 무처리구, 미생물제제를 500배 처리한 기준량구, 250배 처리한 2배량구로 구분하였고(표 106), 포트는 직경 100 mm, 높이 89 mm 규격의 포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(3반복, 반복 당 5포트, 포트 당 1 주 이상)으로 배치하였다. 미생물제제를 작물 정식 전에 관주하였으며, 정식 후 7일(11월 9일), 14일(11월 16일), 21일(11월 23일)에 걸쳐 외관상 비해 유무를 3회 조사하였고, 사진 촬영을 실시하였다. 재배기간 관수는 매일 1회 실시하였고, 병충해는 발생하지 않았다.

표 106. 처리구별 시비방법

처리구	시비량(회석배수)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
기준량구	500	2016. 10. 28	미생물제제
2배량구	250	2016. 10. 28	미생물제제

토양 분석은 시험 전에 채취하여 자연 풍건 후 2mm체로 조제하여 분석에 이용하였다. 토양 화학성 분석은 pH와 전기전도도(Electrical conductivity; EC), 유기물(Organic matter; O.M), 전질소(Total nitrogen; T-N), 유효인산(Available phosphate; Av-P₂O₅) 및 치환성 양이온(exchangeable cations; K, Ca, Mg, Na) 및 양이온치환용량(cation exchangeable capacity; CEC)을 농업과학기술 연구조사분석기준(농촌진흥청, 2012)에 준하여 실시하였다. 생육조사는 작물 정식 후 21일째(11월 23일) 초장과 엽수를 조사하였다.

다. 결과

(1) 작물별 생육 조사 결과

미생물제제 처리에 따른 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩에 대한 생육 조사 결과는 표 107과 같다. 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩 생육 조사 결과에서 초장은 무처리구보다 기준량 및 2배량 처리구가 각각 21~29%, 19~31%, 19~35%, 19~34% 및 8~16% 정도 증가하는 경향을 나타냈다. 그리고 엽수도 기준량 및 2배량 처리구가 무처리구보다 증가하는 결과를 보였다. 생육결과에 따른 통계처리결과 5% 유의수준에서 초장, 엽수는 기준량 및 2배량 처리구가 무처리구와 유의성이 인정되지 않았다.

표 107. 작물별 생육 조사 결과

작물	처리구	초장(cm)	엽수(ea)
배추	무처리구	7.2 ^{a*}	6.7 ^a
	기준량구	8.7 ^a	7.5 ^a
	2배량구	9.3 ^a	7.7 ^a
상추	무처리구	7.0 ^a	5.1 ^a
	기준량구	8.4 ^a	6.0 ^a
	2배량구	9.2 ^a	6.5 ^a
오이	무처리구	7.2 ^a	4.0 ^a
	기준량구	8.6 ^a	4.1 ^a
	2배량구	9.8 ^a	4.5 ^a
고추	무처리구	8.0 ^a	6.4 ^a
	기준량구	9.5 ^a	7.5 ^a
	2배량구	10.7 ^a	8.0 ^a
콩	무처리구	15.5 ^a	11.1 ^a
	기준량구	16.8 ^a	11.7 ^a
	2배량구	18.0 ^a	12.5 ^a

* 던컨다중검정(P<0.05).

(2) 작물별 비해 조사 결과

미생물제제 처리에 따른 작물별 비해 조사 결과는 표 108과 같고, 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩 생육과정 중 비해 유무 사진은 그림 133, 134, 135, 136, 137에 나타내었다. 작물재배 7일째, 14일째, 21일째에 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩의 비해 조사 결과 각각 0으로 조사되었다.

작물별 생육과정 중 비해 유무 사진을 살펴보면(그림 133, 134, 135, 136 및 137), 배추, 상추, 오이, 고추, 및 콩 재배 21일 동안 무처리구와 비교하여 미생물제제 기준량 및 2 배량 처리구에서 비해로 판단될 만한 특이한 증상 등은 나타나지 않았다.

표 108. 작물별 비해 조사 종합 결과

작 물	처 리 구	비해(0~4)			비해 증상
		7일	14일	21일	
배 추	기 준 량 구	0	0	0	없음
	2 배 량 구	0	0	0	없음
상 추	기 준 량 구	0	0	0	없음
	2 배 량 구	0	0	0	없음
오 이	기 준 량 구	0	0	0	없음
	2 배 량 구	0	0	0	없음
고 추	기 준 량 구	0	0	0	없음
	2 배 량 구	0	0	0	없음
콩	기 준 량 구	0	0	0	없음
	2 배 량 구	0	0	0	없음

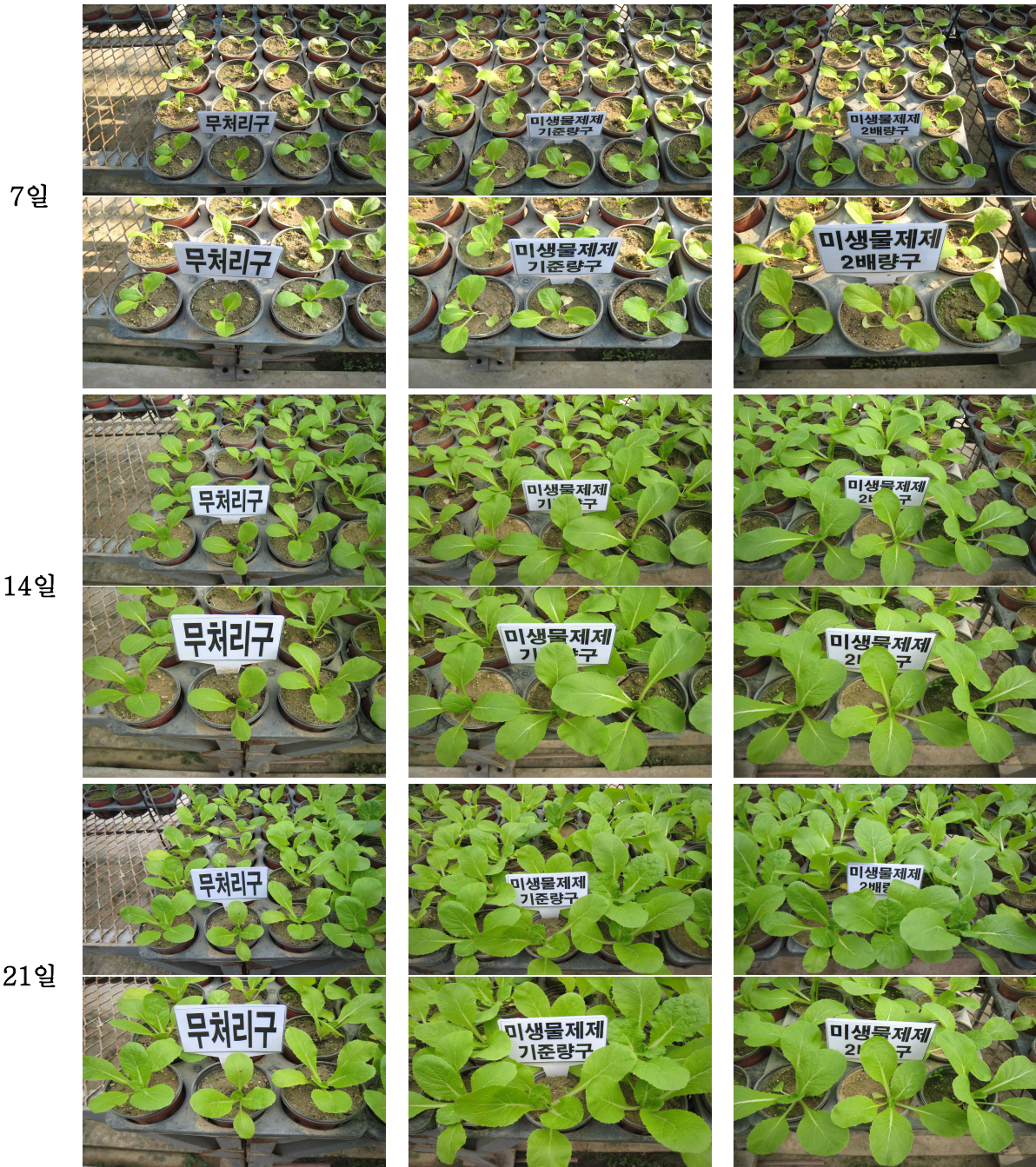


그림 133. 배추 생육과정 중 비해 유무 사진.

7일



14일



21일



그림 134. 상추 생육과정 중 비해 유무 사진.

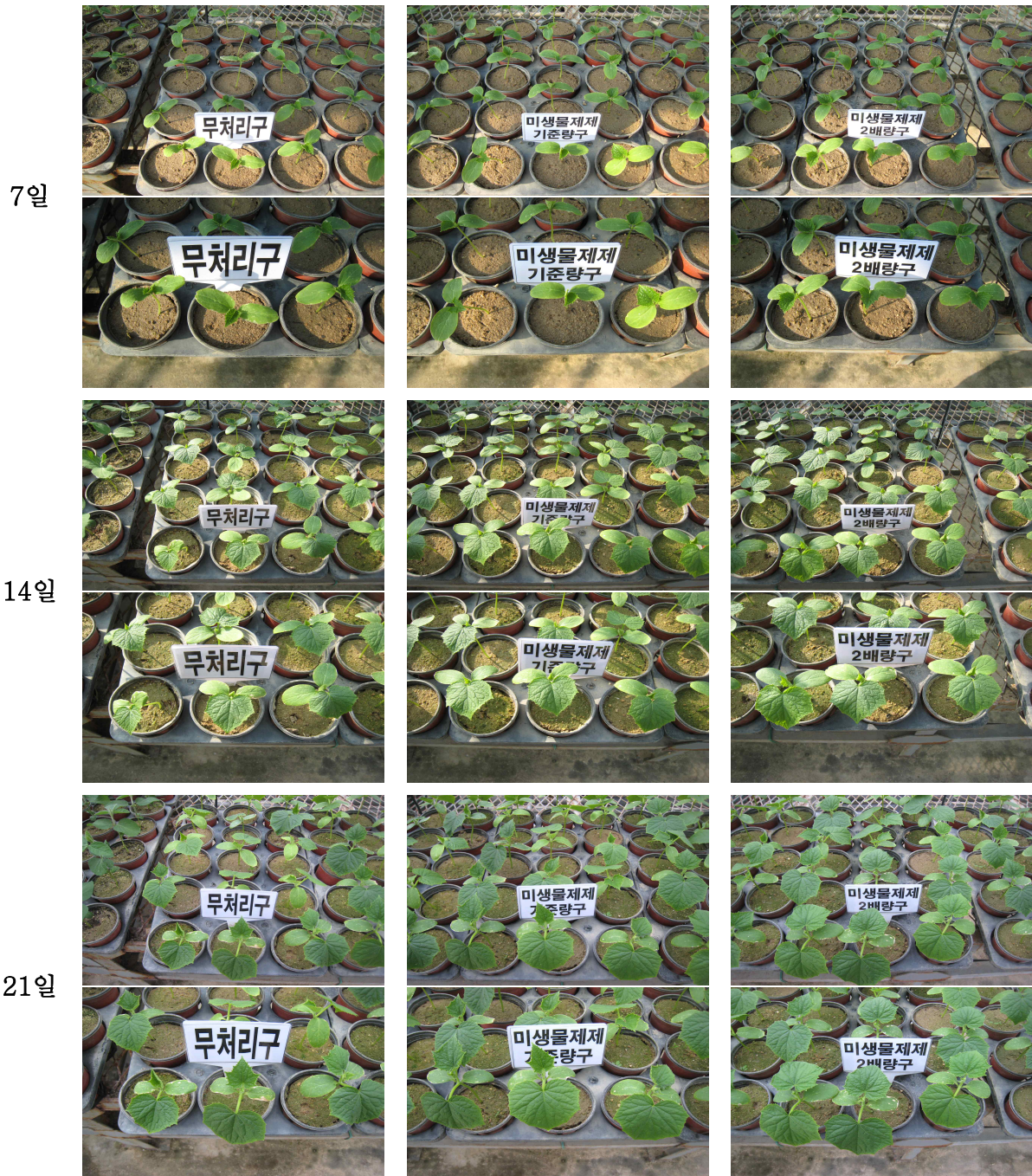


그림 135. 오이 생육과정 중 비해 유무 사진.

7일



14일



21일



그림 136. 고추 생육과정 중 비해 유무 사진.

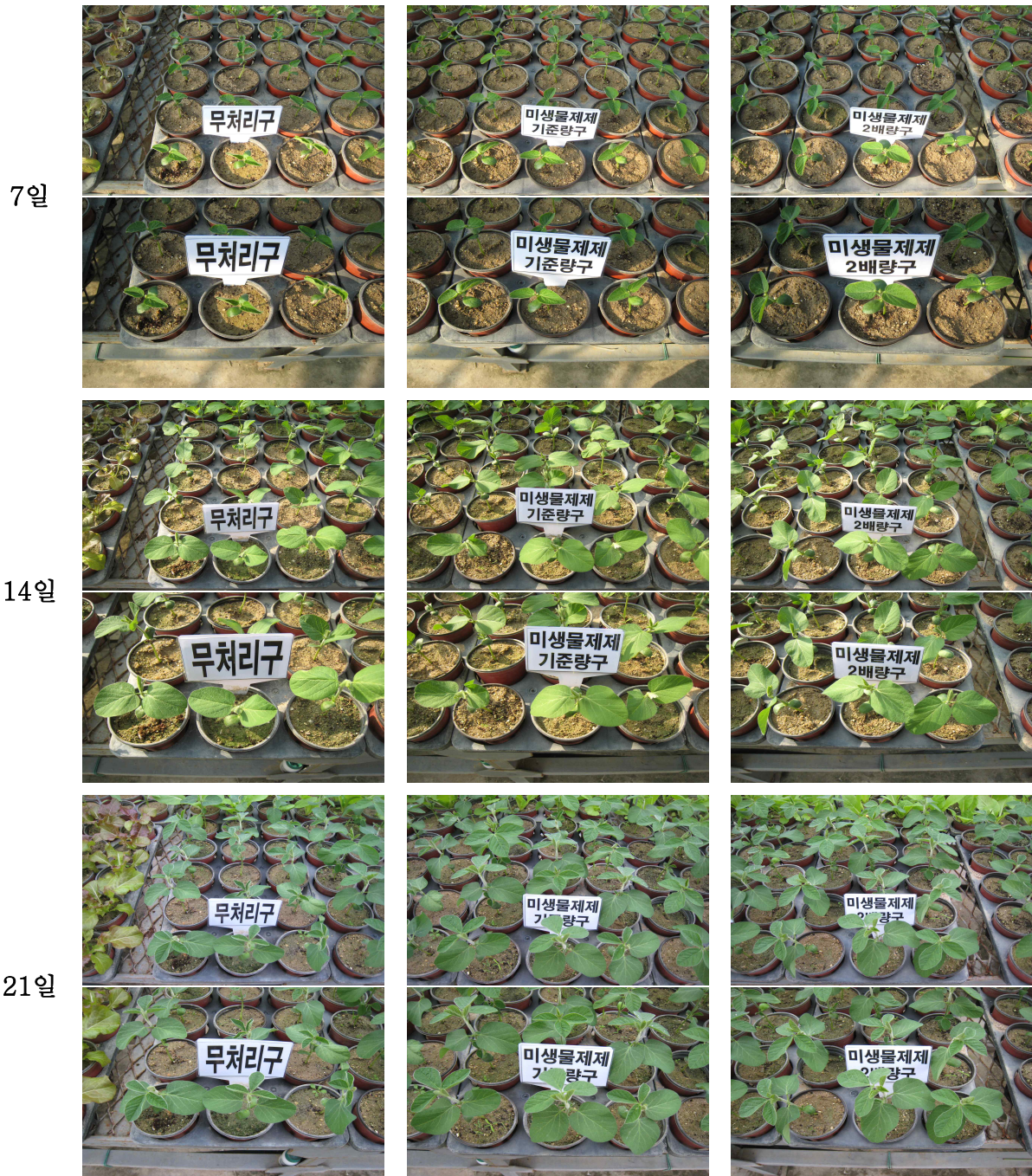


그림 137. 콩 생육과정 중 비해 유무 사진.

라. 결론

미생물제제 처리에 따른 작물의 생육 조사에서 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩은 무처리구보다 기준량 및 2배량 처리구보다 초장과 엽수가 각각 8~35%, 5~29% 정도 증가하는 결과를 보였다. 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩에 대한 비해 시험 결과를 보면, 비해도 조사에서는 모든 작물이 비해 0으로 조사되었으며, 비해 유무 사진에서도 비해로 판단될 만한 피해 및 특이한 증상은 발견되지 않았다. 결론적으로, 전 시험기간을 통하여 미생물제제 시비에 따른 배추, 상추, 오이, 고추 및 콩의 유식물체에 대한 비해 증상이 발생되지 않아 비해가 없는 것으로 판단된다.

3. 미생물제제의 비료적합성 평가

가. 연구목적

본 시험은 목원대학교 미생물생태자원연구센터에서 개발한 미생물제제의 비료공정규격에 대한 적합성을 평가하고자 수행하였다.

나. 재료 및 방법

미생물제제의 비료공정규격에 대한 적합성을 평가하기 위해 “비료공정규격”의 부산물비료 중 미생물비료 기준을 참조하였다.

다. 결과

현재 비료관리법에서는 비료공정규격에 제시되지 않은 미생물은 환경이나 인축에 안전성이 검증이 필요하여 비료등록이 어렵거나 불가능하므로 기능성 미생물을 농업적으로 이용하기 위해서는 비료공정규격을 통한 검토가 필요하다. 비료관리법에서 미생물제제에 대한 비료공정규격은 표 109에 제시하였다.

본 연구에서 사용된 미생물은 목원대학교에서 공여받은 기능성미생물인 *Geobacillus caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *Geobacillus kaustophius* P11, *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6 및 *Brevibacillus* sp. ATB1111등 4종이었다. 비료공정규격을 확인한 결과, *Geobacillus caldxylosilyticus* 6JCJ-1, *Geobacillus kaustophius* P11, *Planifilum fimeticola* 6JPJ-6은 허용가능한 균주가 아니었고, *Brevibacillus* sp. ATB1111은 *Brevibacillus brevis*와 *Brevibacillus formosus*에 속한다면 사용이 가능하나 현재 미생물동정에서 종명을 확정할 수 없어 사용이 불가능하였다. 따라서 본 연구에 사용된 균주를 이용하여 토양미생물제제로 사용할 수 없었지만 계분발효에서는 발효공정에 사용한 후 건조하여 가공계분을 생산하여 미생물의 활성을 감소시키는 조건에서는 제한적으로 사용이 가능한 것으로 판단되었다.

표 109. 비료공정규격에서 제시된 토양미생물제제에 사용할 수 있는 미생물 및 생균수

비료의 종류	규격 및 함량 (미생물 유효균주의 종류 및 최소보증균수)	함유할 수 있는 유해성분의 최대량
01. 토양미생물제제 (미생물 효소)	<i>Aspergillus oryzae</i> 1×10 ⁵ 이상, <i>Aspergillus niger</i> 1×10 ⁵ 이상, <i>Bacillus subtilis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Bacillus natto</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Bacillus megaterium</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Bacillus polymyxa</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Bacillus licheniformis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Bacillus brevis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Brevibacillus brevis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Brevibacterium linens</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Brevibacterium flavum</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Burkholderia cepacia</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Candida utilis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Helicosporium nizamabadense</i> 1×10 ⁵ 이상, <i>Klebsiella mobilis</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Lactobacillus plantarum</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Paenibacillus polymyxa</i> 1×10 ⁶ 이상, <i>Rhizopus delma</i> 1×10 ⁵ 이상, <i>Rhizopus japonicus</i>	1.다음 병원성미생물은 불검출 대장균O157:H7 (<i>Escherichia coli</i> O157:H7), 살 모 넬 라 (<i>Salmonella</i> spp.) <산설 2011. 11. 1.> 2.건물중에 대하여 비소 20mg/kg 카드뮴 2mg/kg 수은 1mg/kg

<p> 1×10^5이상, <i>Rhizopus oryzae</i> 1×10^5이상, <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 1×10^6이상, <i>Rhodobacter capsulata</i> 1×10^6이상, <i>Rhodobacter capsulatus</i> 1×10^6이상, <i>Rhodobacter rubrum</i> 1×10^6이상, <i>Rhodopseudo-monas sphaeroides</i> 1×10^6이상, <i>Rhodopseudo-monas viridis</i> 1×10^6이상, <i>Rhodopseudo-monas capsulata</i> 1×10^6이상, <i>Pseudomonas fluorescens</i> 1×10^6이상, <i>Pseudomonas putida</i> 1×10^6이상, <i>Pseudomonas mildenbergii</i> 1×10^6이상, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1×10^6이상, <i>Saccharomyces sake</i> 1×10^6이상, <i>Saccharomyces anamensis</i> 1×10^6이상, <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> 1×10^6이상, <i>Streptococcus lactis</i> 1×10^6이상, <i>Streptococcus thermophilus</i> 1×10^6이상, <i>Streptococcus cremoris</i> 1×10^6이상, <i>Streptomyces griseus</i> 1×10^6이상, <i>Streptomyces niger</i> 1×10^6이상, <i>Streptomyces griseochromogenes</i> 1×10^6이상, <i>Streptomyces asoensis</i> 1×10^6이상, <i>Trichoderma harzianum</i> 1×10^5이상, <i>Trichoderma hamatum</i> 1×10^5이상 <i>Acetobacter peroxydans</i> 1×10^6이상, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 1×10^6이상, <i>Alcaligenes defragrans</i> 1×10^6이상, <i>Ampelomyces quisqualis</i> 1×10^5이상, <i>Arthrobotry oligospora</i> 1×10^6이상, <i>Azospirillum brasilense</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus macerans</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus mojavensis</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus pumilus</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus vallismortis</i> 1×10^6이상, <i>Bacillus velezensis</i> 1×10^6이상, <i>Brevibacillus formosus</i> 1×10^6이상, <i>Brevibacterium otitidis</i> 1×10^6이상, <i>Burkholderia pyrrocinia</i> 1×10^6이상, <i>Candida kefir</i> 1×10^6이상, <i>Candida valida</i> 1×10^6이상, <i>Cellulomonas fimi</i> 1×10^6이상, <i>Cellulomonas turbata</i> 1×10^6이상, <i>Frateuria aurentia</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus casei</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus casei subsp rhamnosus</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus confusa</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus fermentum</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus paracasei</i> 1×10^6이상, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 1×10^6이상, <i>Lactococcus lactis</i> 1×10^6이상, <i>Lysinibacillus boronitolerans</i> 1×10^6이상, <i>Lysinibacillus fusiformis</i> 1×10^6이상, <i>Lysobacter antibioticus</i> 1×10^6이상, <i>Microbacterium aurum</i> 1×10^7이상, <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> 1×10^6이상, <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> 1×10^5이상, <i>Paecilomyces japonica</i> 1×10^5이상, <i>Paecilomyces lilacinus</i> 1×10^5이상, <i>Paenibacillus amyolyticus</i> 1×10^6이상, <i>Paenibacillus azoreducens</i> 1×10^6이상, <i>Paenibacillus chibensis</i> 1×10^6이상, <i>Paenibacillus lentimorbus</i> 1×10^6이상, <i>Paenibacillus macerans</i> 1×10^6이상, <i>Pediococcus cerevisiae</i> </p>	<p> 납 50mg/kg 크롬 90mg/kg 구리 120mg/kg 니켈 20mg/kg 아연 300mg/kg </p>
---	--

<p> 1×10^6 이상, <i>Pediococcus halophilus</i> 1×10^6 이상, <i>Photobacterium luminescens</i> 1×10^6 이상, <i>Photobacterium luminescens</i> 1×10^6 이상, <i>Pichia anomala</i> 1×10^6 이상, <i>Pichia deserticola</i> 1×10^6 이상, <i>Pichia stipitis</i> 1×10^6 이상, <i>Pseudomonas jessenii</i> 1×10^6 이상, <i>Pseudomonas maltophilia</i> 1×10^6 이상, <i>Pseudomonas nitroreducens</i> 1×10^6 이상, <i>Pseudomonas panipatensis</i> 1×10^6 이상, <i>Rhodobacter azotoformans</i> 1×10^6 이상, <i>Rhodopseudomonas palustris</i> 1×10^6 이상, <i>Stephanoascus ciferrii</i> 1×10^6 이상, <i>Streptomyces carpinensis</i> 1×10^6 이상, <i>Streptomyces fradiae</i> 1×10^6 이상, <i>Streptomyces halstedii</i> 1×10^6 이상, <i>Streptomyces violaceusniger</i> 1×10^6 이상, <i>Tetrathlobacter kashmirensis</i> 1×10^6 이상 </p>
--

라. 결론

미생물제제의 비료공정규격에 대한 적합성을 평가한 결과 본 연구에 사용한 4종의 기능성비료는 비료공정규격에 적합하지 않아 현재는 사용이 불가능하였다.

제 2 절 가공계분 및 가공계분 첨가 유기질비료의 시비 체계 설정

1. 가공계분의 안정성 평가 및 작물재배시험

가. 연구목적

선발미생물제제를 첨가한 가공계분의 주성분 및 유해성분을 분석하여 비료공정규격 적합성을 검토하고, 가공계분의 시비량에 따른 상추의 생육에 미치는 영향과 안정성을 평가하고자 재배시험을 수행하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 공시재료

본 시험에 사용된 공시비료의 주성분 및 유해성분 함량은 표 110, 111과 같다. 시중가공계분과 가공계분 시제품의 주성분 및 유해성분 함량은 비료공정규격에 적합하였다.

그리고 계분과 가공계분에 대한 항생물질 검사 결과를 표 112에 나타냈다. Charm II 검사법에 의한 계분과 가공계분의 항생물질 검사 결과 테트라사이클린계, 베타락탐계, 설파계, 마크로라이드계, 아미노글리코시드계 모두 검출되지 않았다.

표 110. 공시비료의 주성분 및 염산불용해물 분석

구분	질소	인산	칼리	유기물	수분	염산불용해물
	(%)					
시중가공계분	3.03	3.18	2.44	47.22	19.52	2.91
가공계분 시제품	3.77	3.30	2.51	46.17	17.98	2.31
비료공정규격	합계량 6 이상			30 이상	20 이하	30 이하

표 111. 공시비료의 유해성성분 및 염분 분석

(건물중)

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
	(mg/kg)								(%)
시중가공계분	불검출*	불검출	불검출	불검출	9.08	23.07	5.74	276.94	0.43
가공계분	불검출	불검출	불검출	불검출	2.99	96.42	1.66	352.26	0.78
비료공정규격	20 이하	2 이하	1 이하	50 이하	90 이하	120 이하	20 이하	500 이하	0.9 이하

* 불검출 : 정량한계 이하

표 112. 계분 및 가공계분의 항생물질 분석

구분	테트라사이클린계	베타락탐계	설패계	마크로라이드계	아미노글리코시드계
계분	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출
가공계분	불검출	불검출	불검출	불검출	불검출

그리고 공시토양은 사질양토로서 상추재배에 적합한 토양이었고, 이화학적 특성은 표 113과 같다. 공시작물은 상추(열풍, 권농종묘)로 농자재 판매상에서 종자를 구입하여 사용하였다.

표 113. 상추 재배시험 전 토양 화학성 분석 결과

pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M	Av.-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
					(cmol _c /kg)				
7.47	2.13	0.20	1.52	201	1.41	6.02	3.02	0.56	13.04

(2) 시험방법

시험을 위해 원예용 상토를 포설한 트레이에 상추종자를 2017년 3월 20일에 파종하여 약 25일 간 유묘를 관리하였고, 완전히 활착된 유묘를 재배시험에 이용하였다.

처리구는 무처리구와 시중가공계분을 처리한 대조구 및 가공계분 처리구(기준량구 및 2배량구)로 구분되었고, 각 처리구 면적은 3 m² (2 m × 1.5 m)이었으며, 총 시험면적은 36 m²이었고, 난괴법(3반복)으로 배치하였다. 가공계분 및 대조구(시중가공계분)의 시비량은 비료의 품질검사 및 시료채취기준에 준하여 250 kg/10a을 기준량으로 설정하였고, 2배량구는 500 kg/10a을 2017년 3월 30일에 전층시비 후 경운하였다. 시비 후 15일이 경과한 2017년 4월 14일에 생육상태가 비슷한 상추묘를 선별하여 각 처리구에 정식하였다. 재배기간 중 관수는 매일 1~2회 이뤄졌고, 병충해는 발생하지 않았다(표 114, 그림 138, 139).

표 114. 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	250	2016. 3. 30	시중가공계분
기준량구	250	2016. 3. 30	가공계분 시제품
2배량구	500	2016. 3. 30	가공계분 시제품

분석용 토양시료는 시험 전과 시험 종료 후 채취하였고, 채취된 시료는 분석을 위해 풍건 후 체질하여 보관하였다. 토양화학성 분석은 pH와 전기전도도(Electrical conductivity; EC), 유기물(Organic matter; O.M), 전질소(Total nitrogen; T-N), 유효인산(Available phosphate; Av-P₂O₅) 및 치환성 양이온(exchangeable cations; K, Ca, Mg, Na) 및 양이온치환용량(cation exchangeable capacity; CEC)를 농업과학기술 연구조사분석기준(농촌진흥청, 2012)에 준하여 실시하였다.

상추의 생육조사는 엽록소함량, 엽수, 엽장, 엽폭, 수확량을 조사하였다. 상추의 처리구별 생육은 던컨다중검정을 통해 처리구간 평균값을 비교하였고, SPSS 12를 이용하여 통계분석을 실시하였다.



그림 138. 처리구별 시비 사진.



그림 139. 상추 수확 전 전경.

다. 결과

가공계분 시비량에 따른 토양 화학성 분석 결과는 표 115와 같다. 시험 전보다 시험 후 pH와 전질소, 유기물 함량 등이 감소하였다. 시험 후 처리구간의 토양 화학성 변화를 살펴보면, 2배량구의 pH가 7.31로 가장 높았으며, 가공계분 처리량이 높아질수록 증가하는 경향을 보였다. 가공계분 처리량이 높아질수록 전질소와 유효인산 및 양이온함량이 증가하는 경향을 보였으며, 대조구보다 대부분 높은 결과를 나타냈다. 이는 대조구보다 가공계분 시제품의 질소, 인산 및 양이온 함량 등이 높게 함유되어 있었기 때문으로 판단된다.

표 115. 시험 종료 후 토양화학성 분석결과

처리구	pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M (%)	Av.-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
						K	Ca	Mg	Na	
						(cmol _c /kg)				
무처리구	7.06	2.20	0.12	1.42	136	1.24	5.58	2.54	0.46	11.83
대조구	7.28	2.21	0.15	1.44	174	1.26	5.69	2.58	0.48	12.01
기준량구	7.27	2.23	0.16	1.45	181	1.29	5.72	2.60	0.51	12.11
2배량구	7.31	2.24	0.19	1.50	206	1.34	5.76	2.66	0.57	12.42

가공계분 시제품의 시비량에 따른 상추 생육 및 수량조사 결과를 표 116에 나타내었다. 상추 생육조사결과에서 무처리구보다 대조구, 기준구 및 2배량 처리구가 엽록소, 엽수, 엽장 및 수확량이 증가하였다. 그리고, 엽장과 엽폭은 대조구보다 가공계분을 기준량과 2배량으로 시비한 처리구에서 3~6%, 4~6% 정도 높은 결과를 보였으며, 엽록소함량도 3~5% 정도 높았다. 수확량 조사에서 대조구보다 기준구 및 2배량 처리구가 4~8% 정도 높았으며, 2배량 처리구가 6.59 kg/3m²로 가장 높은 결과를 보였다. 생육결과에 따른 통계처리결과 5% 유의수준에서 기준구 및 2배량 처리구는 대조구와 유의성이 인정되지 않았다.

표 116. 가공계분 시비량별 상추 생육 조사

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	수확량 (kg/3m ²)
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		
무처리구	2.28 ^b	15.0 ^a	23.1 ^a	15.0 ^a	5.81 ^a
대조구	3.05 ^{ab}	15.8 ^a	24.5 ^a	15.8 ^a	6.10 ^a
기준량구	3.19 ^{ab}	16.4 ^a	25.3 ^a	16.4 ^a	6.37 ^a
2배량구	3.29 ^a	16.8 ^a	25.9 ^a	16.8 ^a	6.59 ^a

*던컨다중검정($P < 0.05$).

라. 결론

상추의 포장재배 실험 후 토양의 화학성 변화에서 시험전보다 모든 처리구에서 pH와 총질소, 유기물함량, 치환성 양이온 등이 감소하였다. 그리고 대조구보다 가공계분 시제품을 시비한 처리구에서 pH와 총질소 및 치환성 양이온 등은 증가하는 경향을 보였다. 이는 대조구 비료보다 가공계분 시제품에 함유된 양분함량이 좀 더 높았기 때문인 것으로 판단된다.

상추의 생육 및 수량조사 결과를 보면, 엽장과 엽폭이 대조구보다 기준구 및 2배량 처리구에서 각각 3~6%, 4~6% 정도 높았으며, 엽수도 대조구보다 가공계분 시제품을 시비한 처리구에서 3~6% 정도 증가하는 결과를 나타냈다. 수확량은 대조구보다 기준구 및 2배량 처리구가 4~8% 정도 높았으며, 2배량 처리구가 6.59 kg/3m²으로 가장 높은 결과를 보였다.

결론적으로, 전 실험기간을 통하여 가공계분 시제품의 시비량에 따른 상추의 생육 비해 증상은 발생하지 않았으며, 가공계분 시제품이 시중가공계분에 비해 상추 생육 및 수확량 증가에 효과가 있는 것으로 판단된다.

2. 가공계분이 첨가된 유기질비료의 상추 재배시험

가. 연구목적

선발미생물을 처리하여 얻어진 가공계분을 첨가한 유기질비료의 주성분 및 유해성분을 분석하여 비료공정규격 적합성을 검토하고, 유기질비료의 제형 및 시비량에 따른 상추의 생육을 조사하여 식물재배에 적절한 제형 및 적정 시비량 설정을 위해 포트 및 포장 재배시험을 수행하였다.

나. 가공계분이 첨가된 유기질비료의 상추 포트재배시험

(1) 재료 및 방법

본 시험에 사용된 공시비료의 주성분 및 유해성분 함량은 표 117, 118과 같다. 대조구비료(혼합유기질비료)와 가공계분이 첨가된 유기질비료(이하 최종제품)의 주성분 및 유기물함량은 비료공정규격에 적합하였으며, 유해성분과 염분함량도 비료공정규격에 적합한 수준의 결과를 나타냈다.

표 117. 공시비료의 주성분 분석

구분	질소	인산	칼리	유기물
	(%)			
대조구	3.65	3.35	1.25	74.27
최종제품	3.92	3.62	1.54	78.26
비료공정규격	2중 이상의 합계량 7 이상			60 이상

표 118. 공시비료의 유해성분 및 염분 분석

(건물중)

구분	비소	카드뮴	수은	납	크롬	구리	니켈	아연	염분
	(mg/kg)								(%)
대조구	불검출*	불검출	불검출	불검출	6.03	5.41	불검출	65.71	0.25
최종제품	불검출	불검출	불검출	불검출	12.23	13.45	2.18	91.50	0.20
비료공정규격	20 이하	2 이하	1 이하	50 이하	90 이하	120 이하	20 이하	400 이하	2.0 이하

* 불검출 : 정량한계 이하

그리고 공시토양은 사질양토로서 상추재배에 적합한 토양이었고, 화학적 특성을 표 119에 나타냈다. 공시작물인 상추(열풍, 권농종묘)는 직접 파종하여 30일 간 유묘를 관리하여 완전히 활착된 상추묘를 재배시험에 이용하였다.

표 119. 상추 재배시험 전 토양 화학성 분석 결과

pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M (%)	Av.-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
						(cmol _c /kg)			
7.61	2.64	0.19	1.47	284	6.44	1.46	0.40	0.88	11.18

처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구와 혼합유기질비료를 처리한 대조구, 최종제품을 분말로 처리한 최종제품 분말처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구) 및 입상으로 처리한 최

중제품 입상처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구)로 구분하였고, 1/5,000a 와그너포트를 사용하였으며, 완전임의배치법(3반복)으로 배치하였다. 최종제품 및 대조구(혼합유기질비료)의 시비량은 농촌진흥청의 비료시험 기준에서 정한 유기질비료의 적정시비 기준에 의거 250 kg/10a을 추천량(기준량)으로 설정하였고, 최종제품의 추천 2배량은 500 kg/10a으로 정하여 2017년 6월 29일에 분말제형 최종제품과 입상제형 최종제품을 전층시비하였다. 시비 후 15일이 경과한 2017년 7월 14일에 생육상태가 비슷한 유묘를 선별하여 정식하였다. 재배기간 중 관수는 매일 1회 실시하였고, 병충해는 발생하지 않았다(표 120, 그림 140)

표 120. 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	250	2017. 6. 29	혼합유기질비료
분말제형 기준량	250	2017. 6. 29	최종제품
분말제형 2배량	500	2017. 6. 29	최종제품
입상제형 기준량	250	2017. 6. 29	최종제품
입상제형 2배량	500	최종제품	



그림 140. 최종제품 제형 및 처리량별 상추의 생육(왼쪽: 생육 14일째, 오른쪽: 생육 28일째).

(3) 결과

최종제품 제형별 상추 포트재배 실험 토양 화학성 분석 결과는 표 121과 같다. 시험 전 토양보다 상추 재배 후 토양의 pH와 치환성 양이온은 감소하였지만, 유기물은 최종제품 분말 및 입상 처리구가 증가하는 경향을 보였다. 대조구보다 최종제품을 분말 및 입상으로 시비한 처리구에서 총질소, 유기물 및 치환성 양이온 함량이 증가하는 결과를 나타냈는데, 이것은 대조구

비료보다 최종제품의 질소함량과 유기물, 양이온 함량이 높았기 때문으로 보인다.

표 121. 상추 재배시험 후 토양화학성 분석결과

처리구	pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M	Av.-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
						K	Ca	Mg	Na	
						(cmol _c /kg)				
무처리구	7.29	2.45	0.14	1.40	246	5.91	1.14	0.28	0.53	9.86
대조구	7.36	2.59	0.16	1.46	270	6.03	1.23	0.31	0.60	10.17
분말기준량	7.35	2.63	0.17	1.52	276	6.09	1.26	0.32	0.61	10.28
분말2배량	7.39	2.68	0.19	1.62	291	6.14	1.33	0.34	0.63	10.43
입상기준량	7.34	2.64	0.17	1.54	279	6.10	1.29	0.32	0.62	10.33
입상2배량	7.38	2.69	0.20	1.65	298	6.16	1.39	0.35	0.64	10.54

최종제품 제형별 상추 재배 시험의 생육조사 결과를 살펴보면 표 122와 같다. 상추의 엽장과 엽폭은 대조구보다 최종제품 분말 및 입상을 기준량, 2배량으로 시비한 처리구가 4~8%, 3~8% 정도 증가하였으며, 입상 2배량 처리구가 23.1cm, 12.1cm로 가장 높은 결과를 보였고, 엽수와 엽록소도 유사한 경향을 나타냈다. 생물중과 건물중 역시 대조구보다 최종제품을 시비한 처리구가 각각 3~9%, 4~9% 정도 증수되는 효과를 나타냈다. 생육결과에 따른 통계 처리결과 5% 유의수준에서 엽폭, 엽수, 엽록소 및 생물중 등은 분말 및 입상 처리구가 대조구와 유의성이 인정되지 않았지만, 엽장은 분말 및 입상 2배량 처리구가 대조구와 유의성이 인정되었다.

표 122. 최종제품 처리구별 상추 생육조사

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	생물중	건물중
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
무처리구	3.57 ^b	14.0 ^a	19.7 ^c	10.6 ^a	26.0 ^a	1.88 ^a
대조구	3.86 ^a	15.0 ^a	21.3 ^b	11.3 ^a	28.2 ^a	2.04 ^a
분말기준량	4.00 ^a	15.7 ^a	22.2 ^{ab}	11.6 ^a	29.2 ^a	2.13 ^a
분말2배량	4.04 ^a	16.0 ^a	22.7 ^a	11.9 ^a	30.2 ^a	2.18 ^a
입상기준량	4.03 ^a	15.7 ^a	22.3 ^{ab}	11.8 ^a	29.7 ^a	2.15 ^a
입상2배량	4.08 ^a	16.3 ^a	23.1 ^a	12.1 ^a	30.7 ^a	2.23 ^a

*던컨다중검정($P < 0.05$).

(4) 결론

최종제품 제형 및 처리량에 따른 상추 포트 재배 시험의 결과를 살펴보면, 토양 화학성은 초기 토양보다 모든 처리구에서 pH가 감소하는 경향을 보였다. 대조구보다 최종제품 분말 및 입

상 기준량, 2배량 처리구에서 총질소와 유기물, 치환성 양이온 함량이 증가한 것은 최종제품의 좀 더 높은 양분 함량 때문인 것으로 판단된다.

상추의 엽장, 엽폭, 생물중 등은 대조구보다 최종제품 분말 및 입상 기준량, 2배량 처리구에서 증가되는 경향을 보였으며, 최종제품 입상 2배량 처리구에서 가장 높은 생육특성 결과를 보였다.

위 내용을 종합해보면, 대조비료 및 최종제품 시비에 따른 상추의 생육 피해는 발생하지 않았으며, 대조비료보다 최종제품 처리구가 생육 및 수량의 증대 효과를 보였다. 그리고, 분말 및 입상 최종제품 시비에 따른 생육 효과는 유사한 결과를 보였으며, 최종제품의 시비시 편리성을 고려한다면 분말제형보다는 입상제형이 좀 더 효율적인 것으로 판단된다.

다. 가공제분이 첨가된 유기질비료의 상추 포장시험

(1) 시험목적

가공제분이 첨가된 유기질비료(최종제품)의 작물생육 효과 및 시비량 체계를 설정하기 위하여 포장재배시험을 수행하였다.

(2) 재료 및 방법

본 시험은 2017년 8월부터 10월까지 3개월간 대전광역시 유성구에 위치한 농가비닐하우스에서 실시하였다. 공시토양은 사질양토로서 상추재배에 적합한 토양이었고, 화학적 특성은 표 123과 같다.

표 23. 상추 재배시험 전 토양 화학성 분석결과

pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M	Av.- P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
					K	Ca	Mg	Na	
7.58	2.26	0.22	2.06	372	(cmol _c /kg)				14.18
					6.72	3.22	1.68	0.56	

처리구는 유기질비료의 종류에 따라 무처리구와 혼합유기질비료를 시비한 대조구 및 최종제품 처리구(추천량 처리구, 2배량 처리구)로 구분하였고, 각 처리구 면적은 3 m² (2 m × 1.5 m)이었으며, 총 시험면적은 36 m²이었고, 난괴법(3반복)으로 배치하였다. 최종제품 및 대조구(혼합유기질비료)의 시비량은 농촌진흥청의 비료시험 기준에서 정한 유기질비료의 적정시비 기준에 의거 250 kg/10a을 추천량(기준량)으로 설정하였고, 최종제품의 추천 2배량은 500 kg/10a으로 2018년 8월 24일에 전층시비 후 경운하였다. 공시작물인 상추는 직접 파종하여 30일간 유묘를 관리하였고, 시비 후 15일이 경과한 9월 8일에 생육상태가 비슷한 상추묘를 선별하여 각 처리구에 정식하였다. 재배기간 중 관수는 매일 1~2회 이루어졌다(표 124, 그림 141, 142).

표 124. 처리구별 시비방법

처리구	시비량(kg/10a)	시비시기	비고
무처리구	-	-	-
대조구	250	2017. 8. 24	혼합유기질비료
기준량구	250	2017. 8. 24	최종제품
2배량구	500	2017. 8. 24	최종제품

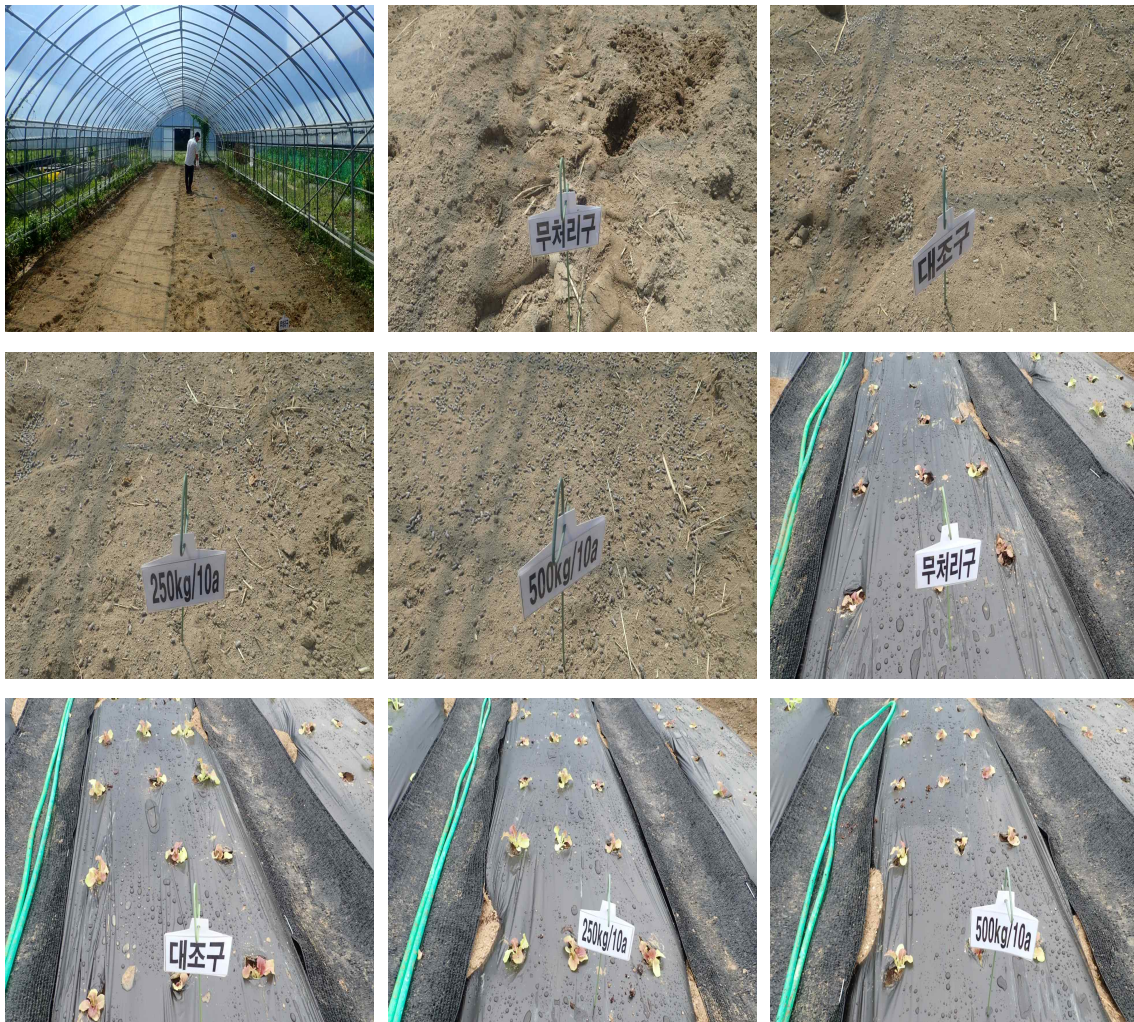


그림 141. 처리구별 시비 및 정식 후 포장.



그림 142. 상추 수확 전 포장.

(3) 결과

최종제품의 시비량에 따른 토양 화학성 분석 결과는 표 125와 같다. 시험 전보다 시험 후 토양의 pH와 총질소 및 유기물함량, 치환성 양이온함량은 감소하였다. 시험 후 처리구간의 토양 화학성 변화를 살펴보면, pH는 최종제품 2배량 처리구가 7.29로 가장 높았지만, 대조구 (8.22)의 pH가 최종제품(8.12)보다 약간 더 높았기 때문에 pH는 대조구가 최종제품 기준량 처리구보다 높았던 것으로 판단된다. 최종제품 처리량이 증가할수록 전질소와 유기물 및 양이온함량은 증가하는 경향을 보였으며, 대조구보다 대부분 높은 결과를 나타냈다. 이는 대조구보다 최종제품의 질소, 유기물 및 양이온 함량 등이 높게 함유되어 있었기 때문으로 판단된다.

표 125. 상추 재배시험 후 토양 화학성 분석결과

처리구	pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	O.M (%)	Av.-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Exchangeable cations				CEC
						K	Ca	Mg	Na	
						(cmol _c /kg)				
무처리구	7.10	2.34	0.13	1.69	302	6.33	2.58	1.33	0.47	12.71
대조구	7.23	2.40	0.16	1.81	317	6.39	2.66	1.40	0.49	12.94
기준량구	7.20	2.41	0.17	1.87	322	6.40	2.70	1.43	0.51	13.03
2배량구	7.29	2.47	0.20	1.98	337	6.48	2.83	1.48	0.54	13.32

최종제품의 시비량에 따른 상추 생육 및 수량조사 결과를 표 126에 나타내었다. 상추 생육 조사 결과에서 무처리구보다 대조구, 기준량 및 2배량 처리구가 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭 및 수확량이 증가하는 경향을 나타냈다. 그리고, 엽장과 엽폭은 대조구보다 최종제품을 기준량과 2배량으로 시비한 처리구에서 3~7%, 4~7% 정도 높은 결과를 보였으며, 엽록소함량도 1~4% 정도 높았다. 수확량 조사에서 대조구보다 기준량 및 2배량 처리구가 5~9% 정도 높았으며, 2배량 처리구가 6.63 kg/3m²로 가장 높은 결과를 보였다. 생육결과에 따른 통계처리결과 5% 유의수준에서 엽장, 엽수, 엽록소 및 수확량은 유의성이 인정되지 않았지만, 엽폭은 2배량 처리구에서 대조구와 유의성이 인정되었다.

표 126. 최종제품 처리구별 상추 생육 및 수량조사

처리구	엽록소	엽수	엽장	엽폭	수확량
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(kg/3m ²)
무처리구	1.88 ^{a*}	29.7 ^a	26.6 ^b	15.3 ^c	5.67 ^a
대조구	2.00 ^a	31.2 ^a	28.0 ^{ab}	16.1 ^{bc}	6.05 ^a
기준량	2.02 ^a	32.1 ^a	28.9 ^{ab}	16.7 ^{ab}	6.37 ^a
2배량	2.09 ^a	33.3 ^a	29.9 ^a	17.2 ^a	6.63 ^a

*던컨다중검정($P < 0.05$).

(4) 결론

상추 포장재배 실험 후 토양의 화학성 변화에서 시험전보다 모든 처리구에서 총질소와 유효인산, 유기물함량, 치환성 양이온 등이 감소하는 경향을 보였다. 그리고 대조구보다 최종제품을 시비한 처리구에서 총질소와 유기물함량 및 치환성 양이온은 증가하였다. 이는 대조구보다 최종제품에 함유된 양분함량이 좀 더 높았기 때문인 것으로 판단된다. 상추의 생육 및 수량조사 결과를 보면, 엽장과 엽폭이 대조구보다 기준량 및 2배량 처리구에서 각각 3~7%, 4~7% 정도 높았으며, 엽수도 대조구보다 최종제품을 시비한 처리구가 3~7% 정도 높은 결과를 보였

다. 수확량은 대조구보다 기준량 및 2배량 처리구가 5~9% 정도 높았으며, 2배량 처리구가 6.63 kg/3m²으로 가장 높았다. 위 내용을 종합적으로 평가해 보면, 최종제품의 시비량에 따른 상추의 생육 피해는 발생하지 않았다. 2배량 처리구가 생육이 가장 우수한 결과를 보였지만, 시비량에 따른 경제성을 감안하면 최종제품을 기준량(250 kg/10a)으로 시비한 처리구가 가장 효율적인 것으로 판단된다.

제 4 장 연구성과와 결과 및 종합결론

제 1 절 연구성과 및 연구결과

1. 연구성과

-논문게재성과 : 4건

년도	논문명	저자명	학술지명	권(호)	구분
2017	수분조절제로서 피트모스 및 코코 피트를 이용한 계분발효 특성 및 시비효과	김영선, 이태순, 조성현, 정제용, 안지예, 이종진, 한기필, 홍주화	유기성 자원학회	25(1)	국내, 비SCI
2017	부식산분말 처리에 따른 가축분퇴비 퇴비화 특성 및 시비효과	이태순, 조성현, 정제용, 안지예, 이종진, 한기필, 홍주화, 김영선	유기성 자원학회	25(2)	국내, 비SCI
2017	친환경 잔디관리를 위한 가축분퇴비 중 기능성미생물의 분리 및 선발	정제용, 김영선, 조성현, 이공주	한국잡초 잔디학회	6(2)	국내, 비SCI
2017	가공계분 함유 혼합유기질비료의 시비효과	김영선, 이태순, 조성현, 정제용, 안지예, 이종진, 한기필, 홍주화	유기성 자원학회	25(3)	국내, 비SCI

-특허출원성과 : 1건

연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2017	암모니아 산화능을 지닌 브레비바실러스 sp. ATB1111균주	황경숙, 이효진, 김수진	대한민국	10-2017-0175795

-기술이전 : 1건

연도	기술이전 명칭	기술이전기관	대표자	기술료
2018	가공계분을 이용한 유기질비료 생산기술	황토영농조합법인	강영옥	협의중

2. 연구결과

가. 기술적 성과

- (1) 국내의 농업에서 사용되는 가공계분은 대부분 외국에서 수입된 것으로 가공계분의 농업적 이용 및 산업화 기술을 확보함.
- (2) 미생물처리에 따른 가축분뇨 발효기술로 악취를 개선함과 친환경적인 가축분뇨의 재활용 및 가축분 퇴비화 공정개선(발효촉진)
- (3) 런던협약의 이행과 친환경 농업에 대한 관심의 증가로 가축분퇴비와 유기질비료의 이용이 급격히 증가하고 있음. 그러나 유기질비료나 가공계분은 주로 외국에서 수입하는 원료를 이용하여 생산하기 때문에 자연순환농업의 관점에서 평가할 때, 국내 양분수지 균형이 맞지 않아 국내용 원자재로 대체하여 사용하여, 자연순환농업에 적용 할 수 있기 때문에 농업환경에 기여하는 바가 큼.

나. 경제적 성과

- (1) 수입에 의존하고 있는 유기질비료의 원료 제한성을 극복하여 원자재 수입비용이 감소하

고, 구내 원료를 사용함으로 유기질비료의 원가 절감을 기대함.

(2) 고품질 유기질비료의 생산으로 친환경 고기능성 유기질비료와 친환경 유기질비료의 수출에 따른 신시장 개척 및 수익창출.

(3) 자연순환농업에 이용되는 가축분뇨액비의 안정화 및 악취개선에 의한 품질향상을 기대함.

3. 종합결론

계분발효 공정을 개선하기 위해 발효 촉진 우수균주로서 고온성 효소활성 세균으로 단백질 분해미생물(*Planifilum fimeticola*) 1종, 섬유소분해미생물(*Geobacillus caldoxylosilyticus*) 1종, 인산가용화효소(*Geobacillus kaustophilus*) 1종을 선발하여 총 3균주를 선발하였고, 악취저감 미생물로서 고온성 암모니아산화세균(*Brevibacillus* sp., *Bacillus paralichenifomis*) 2균주를 선발하였다. 선발된 미생물을 계분발효 공정에 활용하기 위해 균주별 최적배양배지, 최적생육조건, 최적접종농도, 배양시간 및 대량배양을 위한 산업배지를 설정하여 대량배양 최적조건 구축하였다.

미생물 배양액의 액상제형화 시험에서 안정제와 동결방지제는 각각 potassium sorbate (1%)와 ethylene glycol (4%)가 선발되었다. 또한 액상제형에서 악취개선에 효과가 있는 부식산액을 미생물의 담체 및 안정제로 사용하였으나 gel화 현상이 발생하여 부식산액은 미생물의 액상제형에 적합하지 않았다. 액상제형 미생물제제의 안정성 및 유효성 조사에서 유효균주의 유지가 어려워 제형화가 불가능하였다. 미생물제제의 이화학적 및 유해성분은 비료공정규격에 적합하였고, 비해비효시험에서도 비해가 발생하지 않았으나 유효균주들이 비료공정규격에 적합하지 않아 비료등록이 불가능하였다.

고상 미생물제제의 최적 제형화 시험에서 비중과 수화성을 고려하여 고상 미생물제제의 계면활성제는 5%로 결정하였고, 미생물제제의 안전성 및 유효성평가결과 악취개선용 미생물제제로서 적합하였다. 고상 미생물제제의 적절한 사용을 위해 계분과 혼합하는 방법은 액상으로 희석하여 살포하는 방법이 가장 효율적이었다. 선발된 4종의 미생물의 대량배양과 발효공정활용 방안에 대한 조사에서 계분발효공정 미생물의 최적 배양시간은 72시간이었고, 생균수는 약 10^6 cfu/mL이었으며, 배양된 미생물을 가축분퇴비 시설에서 처리 직후 암모니아가스는 약 72% 감소하였고, 처리주기는 약 15분 간격이었다.

계분의 발효과정에서 발생하는 악취의 지표성분으로 작업자에게 영향을 주는 암모니아가스를 선정하였다. 계분발효 시 수분조절제의 종류에 따라 암모니아가스 발생여부를 조사에서 피트모스와 코코피트는 각각 85%와 67% 씩 암모니아 발생이 감소시켜 악취개선효과가 있는 수분조절제로 판단되었다. 계분발효과정 중 미생물의 처리에 따른 악취개선효과는 약 33~37% 정도로 나타나 제형화가 필요하였다. 계분발효과정 중 미생물제제와 부식산의 혼용처리 시 미생물제제의 제형 중에서는 액제보다는 수화제에서 처리효과가 우수하였고, 부식산의 처리에 의해 악취개선효과가 향상되었다.

계분발효 시험을 위해 수분조절제 종류별 시험을 수행한 결과, 수분조절제의 종류에 따라 다른 특성이 다르고, 유기물 중 섬유소함량비율이 80% 이상을 나타낸 톱밥, 피트모스 및 코코피트를 선발하였다. 계분발효과정 중 수분조절제를 선발하기 위해 피트모스, 코코피트 및 톱밥을 계분과 혼합하여 계분발효 시험을 수행한 결과 일반적으로 많이 사용되는 수분조절제인 톱밥을 대신하여 피트모스나 코코피트를 사용할 수 있었고, 이들을 이용해 생산된 가공계분의 품질이 톱밥을 처리한 가공계분보다 향상되었으며, 작물재배에서도 톱밥가공계분보다 생육 및 생산

성이 증가하였다. 피트모스와 팽화왕겨를 이용한 계분발효 시험에서도 수분조절제로서 피트모스를 이용한 가공계분의 품질이 우수하였다. 가공계분을 생산 시 악취를 개선하기 위해 부식산분말의 처리 시기별 계분의 발효 시험에서 부식산분말의 활용은 계분발효과정에서 악취개선효과를 나타내고, 처리시기는 발효공정이 시작되는 원료배합 시기가 적절하였다.

계분발효촉진 미생물제의 미세캡슐화는 고온성 효소활성세균 3종에 대해서는 1.0% alginate, 1.0% starch 및 1.0% zeolite를 혼합하여 제형화하였고, 고온성 암모니아산화세균은 0.8% alginate, 1.0% starch 및 1.0% zeolite를 혼합하여 제형화하였다. 제형화에 따른 균주 보존기간은 200일 경과 시 약 80% 이상 생존하였다. 선발된 미생 미세캡슐제들을 계분발효공정에 적용하였을 때 암모니아 저감 효과는 발효초기에는 583 ± 29 ppm 저감되었고, 발효 중기 353 ± 47 ppm 저감되었다. 계분발효촉진 미세캡슐제의 생균력 평가에서 계분발효과정동안 약 90% 이상 생존되어 생균력을 유지하였고, 무처리구에 비해 약 70% 이상 암모니아가스 저감효과를 나타내었다. 가공계분의 미생물학적 품질평가에서 무처리구에서는 병원성미생물 5종 검출되었으나 캡슐제처리구에서는 병원성미생물 5종 모두 검출되지 않아 안전한 것으로 평가되었다.

계분발효 실증시험에서 수분조절제로서 피트모스를, 기능성첨가제로서 부식산을 혼합한 계분더미에 미생물제제(수화제) 처리효과를 비교한 결과, 발효기간을 약 15%정도 단축하고, 암모니아가스 발생이 약 50%이상 감소하여 계분의 발효공정이 개선되었다. 그 과정에서 생산된 가공계분은 주성분과 유해성분이 모두 비료공정규격에 대한 적합하여 유기질비료로 등록이 가능하였고, 유기질비료나 유기질비료의 원료로 사용할 수 있었다. 가공계분의 시비효과를 평가하기 위해 상추를 대상으로 포장시험을 수행한 결과, 가공계분의 시비는 토양이화학성변화에 미치는 영향은 적었고, 비해현상은 나타나지 않았다. 또한 대조구(시중의 가공계분)와 비교할 때, 가공계분의 시비에 의해 상추의 엽수, 엽장, 엽폭 및 수확량 등이 증가하였다.

시제품의 입상제형조건은 효성오앤비(주)의 유기질비료와 동일한 조건에서 생산이 가능하여 대량생산이 가능하였다. 가공계분의 수분조절제로 최종 선정된 피트모스가공계분과 관행적으로 사용되는 톱밥가공계분을 이용하여 유기질비료를 입상제형화한 결과, 두 시제품 모두 비료공정규격에 적합하였으나 피트모스가공계분을 원료로 생산한 유기질비료의 품질이 우수하였고, 피트모스가공계분(10~30%)이 함유된 유기질비료에서 작물생육과 생산량이 증가하였다.

가공계분이 함유된 유기질비료를 생산하기 위해 가공계분, 아주까리유박 및 미강과 배합하여 제형화한 후 혼합유기질비료의 이화학적 특성을 분석한 결과, 모든 처리구에서 비료공정규격에 적합하였고, 가공계분(20~30%)이 함유된 유기질비료에서 작물의 생육과 품질을 개선되었다.

가공계분(20%), 아주까리유박(%), 미강(%) 및 골분(%)을 혼합한 후 유기질비료로 제형화하여 생산한 최종제품의 주성분과 유해성분을 분석한 결과, 주성분과 유해성분 모두 비료공정규격에 대한 적합하여 유기질비료로 등록하였다. 최종제품의 처리에 의한 작물의 생육은 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등에서 대조구와 통계적 유의차를 나타내지 않아 기존의 혼합유기질비료를 대신하여 사용이 가능하였다.

가공계분이 함유된 유기질비료(최종제품)의 제형별 작물의 생육을 평가한 결과, 토양 중 유기물이나 치환성양이혼이 최종제품 처리구에서 증가하였고, 상추생육조사에서 상추의 생육 피해는 발생하지 않았으며, 대조비료보다 시제품 처리구가 생육 및 수량의 증대 효과를 보였다. 제형별 시험에서 분말 및 입상 제형의 시비에 따른 생육 효과는 유사하였고, 최종제품의 사용 편리성 측면에서 입상제형이 효율적이었다.

최종제품의 시비량별 포장시험결과, 토양화학성의 변화에 미치는 영향은 미미하였다. 상추의 생육 및 수량조사 결과, 엽장, 엽폭 및 수확량이 대조구보 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의성을 나타내지 않아 최종제품의 처리는 대조구와 비슷하였다. 이 결과를 통해 최종제품의 권장시비량은 250 kg/10a로 설정되었고, 유기질비료의 특성상 전량기비로 처리가 가능했다.

제 2 절 사업화 계획

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	- 억원
			향후 3년간 매출	- 억원
		관련제품	개발후 현재까지	52억원
			향후 3년간 매출	100억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : 0.002% 국외 : %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0.002% 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : 0.004% 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		- 위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		- 위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		1년		
	소요예산(백만원)		-		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			-	100	150
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	0.3	0.5
국외		-	-	-	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		-			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)		현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)		-	-	-
	수 출		-	-	-

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

			코드번호	D-06	
4-1. 목표달성도					
제 1세부과제: 계분발효용 미생물을 이용한 가공계분 및 유기질비료 개발					
1차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치
선발미생물의 제형화 및 특성평가	선발미생물의 제형화	2종 이상 제형화 시험	○ 액상제형 - 안정제, 동결방지제 선발 ○ 고상제형 - 제형 3종 개발	100	10
	미생물제제 특성평가	미생물 반응평가 및 특성 분석 여부	○ 액상제형 - 부식산과 반응 사용 불가. ○ 고상제형 - 수화성, 비중 분석	100	10
	미생물제제 제형별 약취저감효과	제형별 암모니아가스 저감 효과 여부	○ 지표성분선정 - 암모니아가스 ○ 미생물처리에 따른 암모니아가스 발생량 측정 ○ 제형별 암모니아가스 발생량 측정	100	15
계분발효 배합원료선발	계분발효원료 특성분석	계분 및 수분조절제 종류별 특성 분석	○ 계분특성 - 이화학성 분석, 2종 이상 ○ 수분조절제 - 이화학성 분석, 4종 이상 - 섬유소 분석 - 수분조절제 종류별 암모니아가스 발생량 측정	100	25
	수분조절제 선택	계분발효 시험을 통한 선택	○ 계분발효 시험 - 수분조절제별 계분발효과정 및 특성 조사 - 수분조절제 종류별 가공계분의 특성분석 - 수분조절제 종류별 가공계분의 작물생육시험 ○ 수분조절제 종류별 암모니아가스 발생량 시험 ○ 수분조절제로서 피트모스 선정	100	40
합계	-	-	-	-	100
2차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치
미생물을 이용한 계분발효공정 개선 및 가공계분생산	미생물제제 특성분석	미생물제제 제형별 유효기간 평가	○ 제형별 미생물학대시험 - 보관 기간에 따른 제형별 미생물 생균수 평가 - 고상제형의 보관방법에 따른 미생물 생균수 평가	100	10

			- 고상제형의 경우 유효기간이 약 6개월 이상 지속가능		
	미생물의 대량배양	대량배양조건 및 살포효과	○ 미생물배양조건 - 4종의 미생물별 배양실시 - 60°C, 120 rpm, 72 시간	100	5
	계분발효공정 개선 시험	미생물담체로서 수분조절제 선발 진행여부 부식산의 처리에 의한 공정 개선여부	○ 수분조절제 2차 선발시험 - 수분조절제로 팽화왕겨와 피트모스 계분발효 시험 → 수분조절제로서 피트모스선발 ○ 부식산 처리 시험 - 계분발효 시 부식산 처리에 의해 악취 및 암모니아가스 발생의 일시적 저감효과 - 부식산 처리시기는 발효 전의 원료 혼합 시기	100	15
	미생물을 이용한 계분발효공정 시험	발효공정 개선에 의한 발효기간 단축 및 암모니아가스 감소	○ 최종가공계분개발시험 - 피트모스, 부식산, 계분을 혼합 및 미생물 처리 후 계분발효 특성 조사 - 미생물 처리구에서 발효기간 15% 이상 단축 - 미생물 처리구에서 시험 종료 후 무처리구 대비 암모니아가스 50% 이상 감소 효과	100	20
	가공계분의 비료적합성 평가	비료적합여부	○ 비료적합성 평가 - 비료공정규격에 적합 및 등록	100	10
가공계분을 이용한 유기질비료 생산	가공계분함량별 유기질비료 특성분석	이화학성분석	○ 비료적합성 평가 - 가공계분함량별 유기질비료 특성분석결과 최대 50%까지 사용이 가능함	100	10
	가공계분함량별 유기질비료 작물재배 시험	작물재배시험	○ 작물생육평가 - 가공계분함량별 작물재배결과 가공계분 20% 처리구에서 작물의 생육과 품질이 개선됨	100	20
	유기질비료의 비료적합성평가	비료적합여부	○ 비료적합성 평가 - 비료공정규격에 적합함 - 비료 등록 완료	100	10
합계	-	-	-	-	100

제 1협동과제: 계분 적용 발효촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화 기술 개발

1차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치

계분발효 우수미생물 선발	우수균주 선발	효소활성능, 암모니아산화능 평가	○ 발효촉진미생물 선발 - 고온성 효소활성세균 3균주 - 고온성 암모니아산화세균 1균주	100	70
대량배양을 위한 최적 배지 설계	최적배지 선정	실험실 조건 (미생물 배양)	○ 대량배양을 위한 최적배지 구축 - 기초배지 - 탄소원, 질소원 첨가	100	30
합계	-	-	-	-	100
2차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치
대량배양을 위한 최적 생육 조건 구축	최적생육 조건 구축	실험실 조건 (미생물 배양)	○ 발효촉진 미생물의 대량배양법 구축 - 산업용배지원료 및 최적접종 농도 선정 - 최적배지 및 최적배양조건 선정	100	30
계분발효촉진 미세캡슐제형화	미세캡슐제의 생균력 효과	미세캡슐제 제작	○ 미세캡슐화 제형화 구축 - 미세캡슐화 소재 및 조건 선정 - 80%이상 생균력 유지	100	30
계분발효촉진 미생물 캡슐제의 생균력 평가	암모니아 저감효과	계분 퇴비화 과정 평가(200kg)	○ 계분 퇴비화 실험 진행 - 퇴비 내 생균력 90% 이상 유지 - 암모니아가스 저감 효과 - 우점미생물 확인	100	30
미생물학적 품질평가	품질검사	병원성미생물 선택배지 활용	○ 가공계분의 품질평가 - 병원성미생물 검정	100	10
합계	-	-	-	-	100

제 2협동과제: 개발 비료의 품질 평가 및 시비체계 설정

1차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치
미생물제제 특성 및 안전성시험	미생물제제의 이화학적 및 유해성분 조사	주성분분석 유해성분분석	○ 이화학적 분석: pH, EC, 질소, 인산, 칼리, 석회, 고토 ○ 유해성분 분석: 중금속 8종 및 염분분석	100	25
	미생물제제의 안전성시험	작물재배시험 비효비해시험	○ 작물재배시험(비해, 비효시험) - 식물: 상추, 배추, 오이, 고추, 콩 ○ 미생물제제의 비료학적 검토	100	45
발효계분 및 원료 이화학적분석	가공계분 이화학적분석	5종이상의 가공계분 분석	○ 가공계분 모니터링 - 8종의 가공계분 분석	100	20
	원료분석	항생물질분석	○ 항생물질 불검출	100	10
합계	-	-	-	-	100
2차년도					
성과목표	단계성과목표	평가방법	개발내용	달성도	가중치
가공계분 이화학적분석 및 작물	가공계분의 이화학적분석	가공계분분석	○ 가공계분분석 - 비료공정규격에 적합함	100	10
	시비량별	포장재배시험	○ 작물재배시험	100	25

재배시험	작물재배시험		- 가공계분 처리 효과 및 비혜 없음 - 가공계분 시비추천량 제시		
가공계분이 첨가된 유기질비료의 작물재배시험	유기질비료 이화학성 분석	유기질비료분석	○ 유기질비료분석 - 비료공정규격에 적합함	100	10
	제형별 작물재배시험	포트재배시험	○ 작물재배시험 - 유기질비료 처리 효과 - 유기질비료 제형별 생육효과	100	25
	시비량별 작물재배시험	포장재배시험	○ 작물재배시험 - 유기질비료 처리 효과 - 유기질비료 비혜 발생 없음 - 유기질비료 시비추천량 제시	100	30
합계	-	-	-	-	100

4-2. 관련분야 기여도

○ 국내 기술 개발 현황

- 국내에 개발된 퇴비화공정 미생물들은 토양, 유기물, 음식물 및 퇴비 등 다양한 원료에서 수집되어왔으나 수집된 미생물들은 미생물의 적정온도에서 생육하여 처리 시 60℃이상의 고온조건인 계분의 퇴비화나 발효조건에서 정착이 어려웠음.
- 국내의 계분은 주로 가축분퇴비의 원료로 사용하여 퇴비화 과정에서 질소의 손실이 많고, 악취가 발생하여 퇴비공정에 대한 개선이 요구되고 있음.
- 계분을 이용하여 주로 가축분퇴비를 생산하고 있으며, 그에 관한 연구가 주를 이뤘으나 유기질비료인 가공계분에 관한 연구는 적었음.

○ 국외 기술 개발 현황

- 계분을 이용하여 가공계분을 생산하는 기술은 국내보다 발달하였고, 제형화하는 기술도 발달하였음.
- 계분 중에는 성분함량이 부족하기 때문에 질소성분이나 인산성분을 보충하여 유기질비료를 생산하고 있음.
- 계분발효를 통해 비료 외에 동물의 사료로 재활용하고자 하는 연구가 진행되고 있음.

○ 기여도

- 본 연구에서 선발된 미생물은 고온조건에서 생육하는 기능성미생물(유기물분해미생물)과 암모니아산화세균으로서 계분발효과정의 고온에서도 생육이 가능하여 정착이 용이한 미생물로서 퇴비공정개선에 효과적인 미생물로 판단됨.
- 또한, 미생물을 미세캡슐로 제형화함으로 계분발효과정에서 고온과 건조 등으로 정착하기 어려운 환경에서 미생물의 정착률을 높이는 기술로 평가되어 향후 퇴비화공정개선 및 계분발효공정에 기여하는 바가 클 것으로 판단됨.
- 수분조절제인 피트모스나 기능성첨가제인 부식산은 계분발효과정에서 발생하는 암모니아가스나 악취 발생을 줄일 수 있는 계분발효원료로서 발효공정을 개선하고, 계분의 품질을 향상시키는데 효율적인 것으로 판단됨.

- 지금까지 국내의 계분발효기술은 주로 가축분퇴비화 기술에 초점이 맞춰져 있었으나 계분을 이용하여 가공계분을 생산하는 것은 처음으로 이뤄진 것으로 연구적 가치 및 산업적 가치가 높다고 판단됨.
- 유기질비료의 원료는 대부분 외국에서 수입하고 있는 원료로서 자연순환농업의 양분수지 측면에서 부정적인 면을 나타내었으나 계분을 발효하여 가공계분으로 이용하는 것은 자연순환농업의 측면에서 유기질비료원료의 수입을 줄여 양분수지격차를 줄일 수 있고, 자연순환농업을 실현할 수 있어 농업환경에 기여하는 바가 크다고 판단됨.

5. 연구결과와 활용계획

	코드번호	D-07
<p>○ 추가 연구의 필요성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 가축분퇴비나 가공계분의 생산에 이용하는 계분은 산란계 농장에서 발생하는 계분으로 계분원료가 다소 제한적이므로 원료를 다양화할 필요가 있음. - 현재 육계농장에서 발생하는 계분은 톱밥대신 왕겨를 사용하고 있어 질소함량이 낮고, 규산함량이 높으며 쉽게 분해되지 않아 퇴비 원료로 이용하지 못하고, 바이오목재연료로 활용하고 있음. - 육계농장에서 발생하는 계분을 발효하여 이용하기 위해서는 가축분퇴비보다 가공계분으로 이용하는 것이 효과적인 것으로 보이나 육계분의 발효가 왕겨에 의해 쉽게 이뤄지지 않는 점을 고려하여 산란계농장의 계분과 적절히 혼합하는 연구를 통해 가공계분화 할 수 있고, 이를 다시 유기질비료원료로 이용할 수 있음. <p>○ 타 연구에의 응용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 계분발효공정에서 악취 및 암모니아가스 발생을 개선하고 발효기간을 단축시키는 미생물은 비슷한 조건의 퇴비공정에 활용이 가능한 것으로 판단됨. - 가축분뇨액비처리시설에 적절한 미생물 스크리닝을 통해 가축분뇨액비의 발효를 촉진하고, 악취발생을 개선하는 생물학적공정을 개발할 수 있음. - 부식산과 미생물을 혼합한 미생물제제는 육계농장의 악취개선문제 해결에 도움이 될 것으로 판단되며, 농장에 적재된 가축분의 악취발생에도 활용할 수 있을 것으로 판단됨. - 가공계분은 유기질비료로서 지효성을 나타내는데 이런 지효성 성분들을 이용해 고기능성 수경재배용 배지를 생산할 수 있을 것으로 기대됨. <p>○ 기업화 추진방안 등 기술</p> <ul style="list-style-type: none"> - 계분을 발효하여 가공계분을 생산하고, 생산된 가공계분을 유기질비료로 이용하는 경우 유기질비료의 원료단가를 줄여 기업의 경쟁력을 강화시킬 수 있음. - 당사는 가공계분을 원료로하는 혼합유기질비료 등록을 완료하였고, 생산 판매할 예정임. - 또한, 당사의 기술을 이용하여 혼합유기질비료를 생산하고자 하는 업체와 기술이전을 통해 수입을 창출할 예정임. - 국내에서는 계분비료에 대한 인지도가 다소 낮으나 중국이나 동남아시아 시장에서는 계분을 활용하고자 하는 수요가 높으므로 당사의 해외지사를 통해 수출도 진행할 예정임. 		

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호	D-08
○ 해당사항 없음	

7. 연구개발결과의 보안등급

코드번호	D-09
○ 보완등급분류 : 일반과제	
○ 결정사유 : ‘국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정’ 제 24조의 4에 해당하지 않음	

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
-	-	-	-	-	-	-	-	-

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

						코드번호	D-11	
○ 연구실 안전 점검 체계 및 실시								
구분		실시시기	실시부서	관련근거	비고			
업무분류	세부내용							
안전점검	일일안전점검	매일	실험실	1.연안법 제 8조 2.원규 제6,7,10 조				
	정기안전점검	매월	실험실	1.연안법 제 8조 2.원규 제6,7,10 조				
	소방시설점검	매월	점검업체	공공기관의 방화관리에 관한 규정 제 15조				
	특별안전점검	하·동절기	시설안전팀					
○ 교육훈련								
구분		실시시기	실시부서	관련근거	비고			
업무분류	세부내용							
안전점검	법정안전교육	년 2회	시설안전팀	1.산안법 제 31조 2. 연구실안전환경조성에 관한 법률 제 18조 3.원규 제 30,31조				

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용 횟수 등)
1	특허 출원	암모니아 산화능을 지닌 브레비바실러스 sp. ATB 1111균주	목원대산 학협력단		대한민국	-	2017.12.20	단독사사	-
2	논문	수분조절제로서 피트 모스 및 코코피트를 이용한 계분발효 특성 및 시비효과	효성오앤 비(주)	제1저자	유기성자원 학회	0.302	2017.03.30	단독사사	-
3	논문	가공계분 함유 혼합유 기질비료의 시비효과	효성오앤 비(주)	제1저자	유기성자원 학회	0.302	2017.09.30	단독사사	-
4	논문	친환경 잔디관리를 위 한 가축분퇴비 중 기 능성미생물의 분리 및 선발	효성오앤 비(주)	제1저자	한국잡초잔 디학회	0.49	2017.05.26	단독사사	-
5	논문	부식산분말 처리에 따 른 가축분 퇴비화 특 성 및 시비효과	효성오앤 비(주)	제1저자	유기성자원 학회	0.302	2017.03.30	단독사사	-

* Impact Factor는 과학기술학회마을에서 제시한 값임.

11. 기타사항

코드번호	D-13
○ 해당사항없음	

12. 참고문헌

코드번호	D-14
<ul style="list-style-type: none"> ○ Anson, M.L. "The Estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with Hemoglobin", <i>Journal of General Physiology</i>. 79-89. (1938). ○ Chang, J.E., Kim, J.W. and Kim, Y.J., "Study on the isolation and characterization of cellulose degrading microorganism from cocopeat", <i>J. of KORRA</i>. 19, pp. 84-89. (2011). ○ Chang, K.W., Hong, J.H., Lee, J.J., Han, K.P. and Kim, N.C., "Evaluation of compost maturity by physico-chemical properties and germination index of livestock manure compost", <i>Kor. J. Soil Sci. Fert.</i> 41, 137-142. (2008). ○ Cho, K.J., Choi, Y.J., Ahn, S.C., Baik, M.Y. and Kim, B.Y. "Encapsulation with Oyster Hydrolysate Using Alginate", <i>Journal of Life Science</i> 18, 708-714. (2008). 	

- Choi, S.Y., Yoon, M.H. and Whang, K.S. “Encapsulation of agro-probiotics for promoting viable cell activity”, *Korea J. Soil Sci. Fert.* 38, 287-293. (2005).
- Choi, S.Y., Yoon, M.H. and Whang, K.S. “Comparison of the gel formation ability and stability of encapsulated microbial inoculant using extractable alginate from sea tangle”, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 49, 170-174. (2006).
- Clescerl, L.S., Greenberg, A.E. and Eaton, A.D. “Standard methods for the examination of water and wastewater”, 20th ed. APHA-AWWA-WEF. Washington, D.C. (1998).
- Finstein, M.S., Lin, K.W. and Fischler, G.E. “Sludge composting and utilization : review of the literature on the temperature inactivation of pathogens”, *New Brunswick, NJ.* (1982).
- Gupta, R., Singal, R., Shankar, A., Kuhad, R.C. and Saxena, R.K. “A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms”, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 40, 255-260. (1994).
- Hwang, K.S., Lee, I.B., Park, J.M. and Yoo, B.S., “Fractional recovery as extractable form of nutrient in composted livestock manure application on soil distributed in Jeju”, *Kor. J. Environ. Agric.* 26, 49-54. (2007).
- Jang, Y.H., Kim, J.W. and Kim, C.S., “Effects of dietary levels of fermented poultry manure on the growth nutrient availability of broiler chicks”, *K.J. Poult. Sci.* 25, 147-155. (1998).
- Jeon, B.S., Choi, H.C., Kim, T.I., Kwon, D.J., Rho, W.G., Kang, H.S., Kim, H.H., Han, D.J., Choi, L. and Park, H.S., “Effects of porous calcium silicate and zeolite on noxious gas from poultry manure”, *J. Anim. Environ. Sci.* 7, 29-32. (2001).
- Kang, H.W., Park, H.M., Ko, J.Y., Lee, J.S., Kim, M.T., Kang, U.G., Lee, D.C. and Moon, H.P., “Investigation on optimal aeration rate for minimizing odor emission during composting poultry manure with sawdust”, *Korean J. Environ. Agric.* 20, 225-231. (2001).
- Kwag, J.H., Choi, D.Y., Park, C.H., Jeong, K.H., Kim, J.H., Yoo, Y.H., Youn, C.K. and Ra, C.S., “Investigation on characteristics of swine manure of optimum volume for escalator reversing composting facility”, *J. Lives. & Env.* 14, 105-122. (2008).
- Kim, B.Y. and Cho, J. K., “Studies on the preventive measures of vegetable crops to gases. 1. Effect of ammonia gas on radish, Chinese cabbage, tomato, and cucumber”, *Kor. J. Soil Sci. Fert.* 20, 139-145. (1987).
- Kim, I.G.. “A comparative study on high efficient composting of food-wastewater using cocopeat and sawdust as bulking agent”, PhD diss. Kyungpook National University. (2010).
- Kim, N.C. and Kim, D.H., “Effect of salinity concentration on aerobic composting of food waste”, *J. of KOWREC.* 8, 124-129. (2000).

- Kim, M.J., Lee, S.J. and Kim, J.T. “Preparation and Stability of Capsaicin-loaded Nanoemulsions by Microfluidization” *The Korean Society of Food and Nutrition* 29, 985-997. (2006).
- Kim, Y.S., Kim, T.S. and Ham, S.K., “The change of soil physicochemical properties by mixture ratio of inorganic soil amendments”, *Kor. Turfgrass Sci.* 23, 271-278. (2009).
- Kim, Y.S., Lee, S.B., Ham, S.K., Lim, H.J. and Choi, Y.C., “Soil physicochemical properties by applied with mixed ratio soldier fly (*Hermetia illucens*) casts”, *Asian J. Turfgrass Sci.* 25, 106-111. (2011).
- Kim, Y.S., Ham, S.K. and Lim, H.J., “Change of soil physicochemical properties by mixed ratio of 4 types of soil amendments used in golf course”, *Kor. Turfgrass Sci.* 24, 205-210. (2010).
- Kim, Y.S., Lee, T.S., Cho, S.H., Jeong, J.Y., An, J.Y., Lee, J. J., Han, K.P. and Hong J. H, “Plant growth responses and characteristics of composting of poultry manure with peatmoss and cocopeat and bulking agent”, *J. of KORRA.* 25, 79-86. (2017).
- Ko, Y.D., Kim, D.H., Kim, J.H., Kang, H.S. and Park, J.H., “Quality and feed value of ensiled whole crop corn with cage layer excreta and concentrate”, *Kor. Grassl. Sci.* 10, 164-171. (1990).
- Korean Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, “Yield of livestock manure in South Korea” (2016).
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H. “Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics for Yoghurt,” *International Dairy Journal.* 13, 3-13. (2003).
- Lee, D.J., Kim, J.K., Jeong, K.H., Cho, W.M. and Ravindran, B., “Characteristic changes of swine manure by air suction composting system”. *J. of KORRA.* 24, 63-74. (2016).
- Lee, J.J., Chang, K.W., Han, K.P., Hong, J.H., Lee, D.S. and Kim, Y.J., “The efficacy assessment and manufacture of kitchen garden soil using livestock manure for an urban agriculture”, *J. of KORRA.* 2, 61-66. (2015).
- Lee, M.J., Park, J.C., Oh, Y.J., Kim, K.H., Kim, H.S., Lee, S.B. and Kim J.G., “Effect of nitrogen fertilization levels on growth and isoflavone content on soybean”, *Kor. J. Crop Sci.* 51(5), pp. 445-450. (2006).
- Miller, F.C., “Thermodynamic and matric water potential analysis in field and laboratory scale composting ecosystem, PhD dissertation, Rutgers University, University Microfilms, Ann Arbor, MI. (1985).
- Min, K.H., Chang, K.W. and Yu, Y.S., “Changes of physico-chemical properties of paper mill sludge amended with pig manure in composting process”, *J. of KOWREC.* 8, 86-92. (2000).

- Oh, W.K., “Dynamics of nitrogen in poultry manure during processing. *Kor. J. Environ. Agric.* 3, 57-62. (1984).
- Reineccius, G.A. “Carbohydrates for flavor encapsulation,” *Food Technol.*, 45, 146-149. (1991).
- Rousseau, I., Le Cerf, D., Picton, L., Argillier, J.F. and Muller, G. “Entrapment and release of sodium polystyrene sulfonate (SPS) from calcium alginate gel beads”, *Euro Polymer J.* 40, 2709-2715. (2004).
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K. and Swings, J. “Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin,” *J Appl Microbiol.* 94, 127-137. (2003).
- Vandenberg, G.W., Drolet, C., Scott, S.L. and de la Noüe, J. “Factors affecting protein release from alginate-chitosan coacervate microcapsules during production and gastric/intestinal simulation”, *J Control Release.* 77, 297-307. (2001).
- Zanzporlin, L.M., Facchini, F.D.A., Vasconcelos, F., Bonugli-Santos, R.C., Rodrigues, A., Sette, L.D., Gomes, E. and Bonilla-Rodriguez G.O. “ Production, Partial Characterization, and Immobilization in Alginate Beads of an Alkaline Protease from a New Thermophilic Fungus,” *Myceliophthora* sp. *The Journal of Microbiology.* 48, 331-336. (2009).

연구개발보고서 초록

과 제 명	농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료 개발				
	Development of advanced fermentation process of poultry manure by agricultural microbes and of organic fertilizer with fermented poultry manure				
주관연구기관	효성오앤비(주)		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 효성오앤비(주)	
참 여 기 업	목원대학교, (주)판코리아			(성명) 김영선	
총연구개발비 (266,667천원)	계	266,667	총 연 구 기 간	2016. 09. 05. ~ 2017. 12. 31. (1년 4월)	
	정부출연 연구개발비	200,000	총 참 연 구 원 수	총 인 원	17
	기업부담금	66,667		내부인원	17
	연구기관부담금			외부인원	0

○ 연구개발 목표 및 성과

농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료개발의 개발 목표로 두었으며, 특허출원 1건, 제품화 3건, 논문(비SCI) 4건, 학술발표 6건 인력양성 4명, 고용창출 1명의 성과를 거두었다.

○ 연구내용 및 결과

효성오앤비(주)는 가공계분 생산을 위한 배합원료를 선별하였으며, 미생물을 이용한 계분발효공정을 개선하였고, 계분발효과정을 통해 생산한 가공계분을 유기질비료로 등록하였으며, 가공계분을 이용한 유기질비료 개발에 성공하여 비료등록을 완료하였다.

목원대학교는 계분발효촉진 미생물을 선별 및 대량배양 최적조건을 구축하고 미세캡슐 제형화시험을 통하여 최적농도 설정 및 미생물의 기능을 개선하였으며, 계분발효 시 악취개선 등과 같은 발효공정개선효과를 나타내었으며, 생산된 가공계분에 대한 미생물학적 품질평가를 수행하였다. 연구수행과정에서 분리된 고온성암모니아세균의 특허출원을 완료하였다.

(주)판코리아는 국내 가공계분의 특성을 조사하고 미생물제제에 대한 비료학적 특성 및 적합성을 평가하였고, 가공계분과 유기질비료의 이화학성 분석을 통해 비료공정규격의 적합성을 평가하고, 시비량별 작물재배시험을 통해 유기질비료의 안정성평가과 시비체계를 설정하였다.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

본 연구를 통해 확보된 기술을 이용하여 계분발효공정개선 기술은 가공계분 생산뿐 아니라 가축분의 퇴비화공정개선에 활용할 수 있으며, 선별된 미생물과 부식산 등으로 제형화한 수화제나 미세캡슐제제는 축산농가나 가축분발효시설 및 가축분발효시설 등에서 악취저감용 제제로 활용이 가능하여 추후 개발·판매할 계획이다. 또한 연구과제를 통해 등록된 가공계분과 유기질비료를 생산할 계획이며, 다양한 제품의 홍보를 통해 제품을 판매할 예정이다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		코드번호	D-15		
	과제번호		116063-2		
사업구분	첨단생산기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	첨단생산기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	농업환경미생물을 이용한 계분발효공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료개발			과제유형	개발
연구기관	효성오앤비(주)			연구책임자	김영선
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	16.09.05~16.12.31	50,000	16,667	66,667
	2차년도	17.01.01~17.12.31	150,000	50,000	200,000
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계		200,000	66,667	266,667
참여기업	목원대학교, (주)판코리아				
상대국	없음		상대국연구기관	없음	

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2018. 02. 13.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
효성오앤비(주)	과장	김영선

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

1. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수)

계분발효공정기술 개발 : 미생물을 투입하여 계분발효 중 악취물질 발생을 저감(무처리구대비 50% 프로 저감)시켰으며, 발효를 촉진시킬 수 있는 발효공정기술 개발하여, 기존 발효 소요기간을 단축시킬 수 있었음. 미생물의 경우 계분발효더미에서 살포직후 암모니아가스 70% 이상 감소효과를 나타냄. 미생물의 캡슐화는 계분발효 실행결과 계분발효더미중 30일간 미생물이 90% 이상 생존.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수)

1. 국내의 축산농가의 가축분 처리(계분 등) 및 자원 재활용하여 국내의 순수제품 기대효과.
2. 미생물처리에 따른 계분발효공정 개선을 통해 친환경적인 계분재활용 및 고품질의 가공계분 생산기술을 확보 및 미생물을 이용한 가축분 퇴비공정개선.
3. 국내의 계분을 발효하여 사용함으로써 유기질비료의 원가 절감을 기대.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

1. 기존 유기질비료에 가공계분을 첨가한 혼합유기질비료를 등록하여, 유기질비료 원료의 해외 의존도 감소를 통하여 비료생산 원가 감소.
2. 기존 유기질비료보다 품질 및 농업생산성 증대로 인하여 수출확대 기대.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

효성오앤비(주)는 계분발효공정개선 기술개발을 통하여 가공계분을 생산할 수 있는 목표를 수행하여 달성하였으며, 그에 따른 가공계분을 이용한 유기질비료 개발 및 등록을 완료함.
목원대는 계분발효촉진 우수미생물을 선발 및 배양조건을 구축완료하여, 미세캡슐화를 완료함. 이에 효성오앤비(주)에 제공 및 가공계분 미생물학적 품질평가를 수행함.
(주)판코리아는 작물의 안정성시험을 수행 및 비료적합성검토하여, 최종제품의 작물재배시험을 수행함.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

논문 4건 발표 : 달성도 100%
학술발표 6건 : 달성도 100%
특허출원 1건 : 달성도 100%

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
고품질 가공계분 생산을 위한 발효기술개발	30	100	1. 발효 촉진 및 악취발생을 감소시키는 배합원료 선발 2. 무처리대비 암모니아가스 발생을 50% 이상 감소 3. 가공계분 비료공정규격에 검토.
계분발효공정개선용 미생물제제 개발	20	100	1. 발효기간 15%이상 단축 2. 무처리대비 암모니아가스 발생을 70%이상 감소
고품질 가공계분을 이용한 고품질 친환경 유기질비료 개발	20	100	1. 가공계분함량 20%이상 유기질비료 개발 완료 2. 유기질비료 비료공정규격검토 및 등록
계분적용 부속촉진 미생물제의 미세캡슐 제형화 기술개발	20	100	1. 계분발효조건 30일 이상 90%이상 생존
미생물을 이용한 퇴비공정개선 기술개발	10	100	1. 무처리대비 암모니아가스 발생을 70%이상 감소, 미생물배양기술 및 살포기술 개발
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 세부기관 및 협동기관에서 연구목표로 둔 연구내용을 검토한 결과, 각각의 연구를 성실히 수행하여 목표의 달성비율을 충족하였음.
- 과제를 통한 성과 중 논문 4건 게재, 학술발표 6회 및 특허출원 1건은 연구과제 계획대로 실행되었고, 사업화는 제품화(비료등록) 2건으로 계획하였으나 총 3건을 등록하여 목표를 초과달성함.
- 또한, 신규인력에 대한 고용창출(1명)이 이뤄져 과제계획보다 초과달성함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 연구과제성과에서 과제 제안 시 논문 5건, 제품화 1건이었으나 연구과제 협약시 논문 4건, 제품화 2건으로 변경되었음.
- 현재 1건의 논문은 심사 중으로 2018년에 게재될 것으로 기대하고 있음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

○ 미생물제제

- 축산농가, 가축분 퇴비화시설 및 계분 발효시설 등과 같이 가축분의 발효를 촉진하고, 악취발생을 줄이는 가축분발효공정 개선제로 활용.
- 자연순환농업 참여 농가 및 가축분뇨발효액비 제조공장의 발효공정개선제로 활용
- 작물재배용 미생물제제로 이용하며, 발효촉진 미생물제제의 경우 골프장의 대취층(유기물층) 분해제 및 녹비촉진제로서 사용이 가능함.

○ 계분발효공정개선 및 가공계분

- 계분발효공정 : 미생물을 이용하여 계분발효 중 악취물질 발생을 저감하고, 발효를 촉진하도록 하여 퇴비화 시설의 공정개선에 이용하고자 함.
- 가공계분 : 계분발효과정을 거쳐 생산된 가공계분은 부산물비료(유기질비료 포함)로 이용하거나 혹은 유기농업자재로 등록하여 친환경농업에 이용할 수 있음.

○ 유기질비료

- 고품질 유기질비료를 이용하여 농업생산성증대 및 친환경농업에 이용할 수 있음.

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

없음

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	농업환경미생물을 이용한 계분발효 공정개선 및 가공계분을 이용한 유기질비료 개발			
주관연구기관	효성오앤비(주)		주관연구책임자	김영선
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	200,000	66,667		266,667
연구개발기간	2016. 09. 05. ~ 2017. 12. 31.			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 비료등록 : 유기질비료 등록 1건	유기질비료 등록 1건 (등록번호 기입함)
② 특허출원 1건 이상	특허출원 등록 1건 (기입할 것 출원번호)
③ 연구논문(비SCI논문 4건이상)	4건 완료
④ 학술발표 6건	6건 완료
⑤ 인력양성 4건	인력양성 6건 (학사졸업 2건, 석사졸업 4건)
⑥ 고용창출 0건	고용창출은 계획은 없었으나, 1명 성과발생

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I							
단위	1건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	4건	6건	4명	건	건			
가중치																				
최종목표	1				2			0				4	6	4						
연구기간내 달성실적	1				3			1				4	6	6						
달성율 (%)	100				150			200				100	100	150						

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	고온성미생물의 제형화를 통한 계분발효공정 개선 기술
②	피트모스, 부식산 및 미생물을 이용한 계분발효공정 개선 기술
③	가공계분을 이용한 유기질비료 생산 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용·유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술					○	○	○			
②의 기술					○		○			
③의 기술				○			○			

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	가공계분을 이용한 유기질비료 생산 기술		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	(협의중) 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	2018. 03.	실용화예상시기 ³⁾	2018. 06.
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	유기질비료 등록		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
 통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.