

(옆면)

(앞면)

120031
-1

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
농식품연구성과후속지원사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003604-01

유 생 P
래 산 L
을 S
유 기 위 대
기 농 한 응
업 자 미 안
자 생 전
재 물 한
상 품 및 먹
품 화 거
천 리
연 물

PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화

2021. 07. 16.

2021

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

주관연구기관 / 농업회사법인(주)와이앤바이오
협동연구기관 / 한국식품연구원부설 세계김치연구소

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화”(개발기간 : 2020. 04. 20. ~ 2021. 04. 19.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 07. 16.

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)와이앤바이오 (대표자) 장 영 규

협동연구기관명 : 한국식품연구원부설 세계김치연구소 (대표자) 최 학 중



주관연구책임자 : 장 영 규

협동연구책임자 : 정 지 혜

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서

보안등급

일반[], 보안[]

중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		농식품연구성과후속 지원사업			
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원			내역사업명 (해당 시 작성)	-		-			
공고번호	농축 2020-61호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		-				
				연구개발과제번호		120031-1				
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0304	40%	LB1604	30%	LB0504	30%			
	농림식품과학기술분류	PA0301	40%	RA0202	30%	RA0203	30%			
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문	-							
		영문	-							
연구개발과제명		국문	PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화							
		영문	Commercialization of organic materials based on microorganisms and natural products for the production of safe foods as an alternative to the PLS system							
주관연구개발기관		기관명	농업회사법인주식회사 와이앤바이오		사업자등록번호		409-86-10714			
		주소	(우)57380 전남 담양군 대덕면 신등길 82		법인등록번호		205911-0015332			
연구책임자		성명	장O규		직위		대표			
		연락처	직장전화	061-000-0000	휴대전화		010-0000-0000			
			전자우편	000@naver.com	국가연구자번호		0000 0000			
연구개발기간		전체		2020. 04. 20 - 2021. 04. 19(12개월)						
		단계 (해당 시 작성)	1단계	-						
			n단계	-						
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금 지방자치단체 기타()		합계		연구개발비 외 지원금	
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	지원금
총계		140,000	36,000				140,000	36,000	176,000	
1단계	1년차	140,000	36,000				140,000	36,000	176,000	
	n년차									
n단계	1년차									
	n년차									
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고			
공동연구개발기관		한국농수산식품연구원 설계개발연구소	정O혜	선임연구원	010-000 0-0000	000@wikim.r e.kr	공동	정부출연연		
위탁연구개발기관										
연구개발기관 외 기관										
연구개발담당자 실무담당자		성명	최O호		직위		연구원			
		연락처	직장전화	061-000-0000	휴대전화		010-0000-0000			
			전자우편	000@naver.com	국가연구자번호		0000 0000			

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

2021년 06월 18일

연구책임자: 장 영 규

주관연구개발기관의 장: 장 영 규

공동연구개발기관의 장: 최 학 중

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		농식품연구성과후속지원사업		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		해당 사항 없음	
내역사업명 (해당 시 작성)		해당 사항 없음		연구개발과제번호		120031-1	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB0304	40%	LB1604	30%	LB0504	30%
	농림식품 과학기술분류	PA0301	40%	RA0202	30%	RA0203	30%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		해당 사항 없음					
연구개발과제명		PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화					
전체 연구개발기간		2020. 04. 20 - 2021. 04. 19(12개월)					
총 연구개발비		총 176,000천원 (정부지원연구개발비: 140,000천원, 기관부담연구개발비 : 36,000천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)		해당 사항 없음					
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)		해당 사항 없음					
연구개발 목표 및 내용		최종 목표		PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화 - <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 4-2-2 균주(농약분해미생물)을 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재목록 공시 인증 및 제품화 - 함초 추출물(무름병 방제 효과)을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재 목록 공시 인증 및 제품화			
		전체 내용		1. 미생물 유래 토양개량 및 작물 생육용 유기농업자재 개발 - 농약 분해 능력을 갖는 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 4-2-2 균주의 산업용 배지 개발 - <i>A. calcoaceticus</i> 4-2-2 균주의 최적 대량 발효 조건 확립 - 입제형 시제품 개발 및 저장 안정성 확인 2. 식물 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 개발 - 식물 추출물 대량 추출 공정 확립 - 병해관리용(무름병 방제) 식물추출물의 지표성분 확립 및 유효 지속 기간 검증 - 액상형 시제품 개발 및 저장·안정성 확인 3. 개발제품의 유기농업자재 목록 공시 인증 - 친환경 적합성 확인(독성 검사, 현장 적용 시험 등) 4. 개발제품의 제품화 및 사업화 - 대량 생산 공정 확립 및 현장적용 시험 - 제품 디자인 및 포장재 개발			
		1단계 (해당 시 작성)	목표	해당 사항 없음			
			내용	해당 사항 없음			
		n단계 (해당 시 작성)	목표	해당 사항 없음			
내용	해당 사항 없음						
연구개발성과		○ 사업화 지표 : 기술이전 1건, 기술료 10,000천원, 제품화 2건, 매출액 2억 원, 고용창출 3명 ○ 연구기반 지표 : 학술발표 1건, 교육지도 4, 홍보/전시 1건 ○ 기술인증 : 유기농업자재 인증 2건(토양개량 및 작물생육용, 병해관리용)					

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>1. 활용계획</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 개발제품의 유기농업자재 인증 및 제품화 : 2품목(토양개량 및 작물생육용 미생물 제제, 병해관리용 식물추출물제제) ○ 현장적용 : 개발제품은 로컬푸드 및 푸드플랜 생산의 방제 사업 및 원예작물 토양 및 친환경 및 유기농 농산물 생산에 활용 ○ 판매계획 : 각 지자체 및 농협의 지원 사업을 통한 개발제품을 농가에 보급하고, 농협중앙회 유통, 자체 쇼핑몰 구축 및 나라장터 쇼핑몰을 이용하여 판매 ○ 식물 추출물 원료 안정성 확인 및 출하제품에 대한 품질관리기준 확립에 활용 ○ 기존 유기농농업자재 함량미달 제품에 대한 법률적·제도적 관리에 활용(제도개선) ○ 유기농업자재 제품의 유통기술 및 유통기한 설정에 활용가능 ○ 농업인을 위한 제품의 안전사용법 및 사용기준을 설정하는데 활용 <p>2. 기대효과</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ PLS 시행에 따른 토양 및 농산물의 잔류 농약 문제를 해결하고 무름병 방제 효과를 가진 친환경농자재 공급으로 비용 절감 및 농가소득증대에 기여 ○ 친환경 및 지속가능한 농업을 통한 농업생태계 보호 및 환경오염 방지에 기여 ○ 전남도를 시점으로 전국 지자체 예산을 기반으로 사업화가 예상되고 있으며, 이를 통한 소비채널의 형성을 시작으로 전국적으로 확산이 예상된다 ○ 친환경농업육성정책의 부합되는 토양개량 및 병해의 효과적인 방제수단의 도출 및 산업화
---------------------------	---

연구개발성과의 비공개여부 및 사유	해당 사항 없음
-----------------------	----------

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생 물 자 원		정보	실물
			1		1							
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	농약허용물질 목록관리제도		유기농자재		친환경 농업		농약분해		병해 예방			
영문핵심어 (5개 이내)	Positive List System		Organic inputs		Eco-friendly agriculture		Pesticide decomposition		Disease prevention			

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	1
1). 기술개발의 필요성	1
2). 연구개발 목적	1
3). 연구개발 내용(선행연구 포함)	1
4). 개발제품의 개요	4
5). 연구개발 목표 및 내용	6
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	6
1). 연구 수행 과정(재료 및 방법)	6
2). 연구 수행 내용	10
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	52
1). 연구 수행 결과	52
2). 목표 달성 수준	55
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	56
1). 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용	56
2). 자체 보완활동	56
3). 연구개발 과정의 성실성	56
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	56
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	56
별첨 자료 (참고 문헌 등)	58

1. 연구개발과제의 개요

1) 기술개발의 필요성

- 세계적으로 식량 증대를 위해 화학비료와 농약을 다량으로 사용하고, 우리나라 일반적인 농업의 특성상 대부분의 농가에서 작물을 연작하였음. 이러한 결과에 따라 약제 저항성 병해충 출현과 이에 대응한 강한 약효를 가지는 유기합성 농약이 개발되어 사용되었으며, 이는 인축에 대한 독성, 농산물에 잔류 독성, 생태계 파괴 등의 부작용을 나타내며 사회적인 문제로 대두되었고, 농약의 잔류 독성으로 인한 토양 및 수질 등의 환경오염은 심각한 수준임
 - 농림축산식품부는 친환경농식품 산업의 새로운 부가가치 창출 및 지속가능한 농업환경 보전 시스템을 구축을 통해 친환경농업의 외연을 확대하고자 ‘친환경 농산물 인증면적 비율을 2016년도 4.8%에서 2022년도 8% 성장’을 목표로 다양한 정책을 추진 중임.
 - 국립농산물품질관리원에서도 ‘유기농업자재 관리 강화로 친환경농업 육성을 뒷받침 한다’는 목표를 설정하고, 공시제품을 2021년까지 2,000건으로 확대하고 부적합 제품의 비율을 2.0% 이하로 낮춘다고 계획을 수립함.
- 농약 허용물질목록관리(PLS) 제도 도입과 친환경 농산물의 안정적인 생산을 위하여 유기농업자재 사용이 확대되고 있으며, 이 중에서도 잔류농약을 분해할 수 있는 토양 개량제와 병해관리용 자재의 개발이 요구되고 있음.
 - 전용 약제가 전무한 작물을 포함해, PLS 제도 시행에 따른 농약의 범위가 좁아짐과 동시에 안전성 조사의 ‘부적합’ 판정, 해충 및 바이러스의 내성 출현 등 애로사항이 속출되고 있음.
 - 친환경농업에서 병해 방제는 매우 어려운 문제로 농업 현장에서 발생하는 다양한 병해를 저감시키기 위해서는 예방위주의 관리 기술이 요구되며, 다양한 효능을 갖는 농자재 개발이 필요함.
 - 정부에서도 근본적 대책 마련을 수립하고 있으나 현재 광범위한 농작물에 대한 요구에 효과적으로 대응하지 못하고 있는 실정임.
- 최근 유기농업자재의 효과 및 효능의 재현성 부족 등 약효에 대한 낮은 신뢰성과 미생물제제의 경우에는 복합적인 약효 발현 가능성으로 인해 여러 가지 문제점이 드러남.
 - 작물병해충관리용 유기농업자재는 품질에 대한 정확한 평가나 관리가 이루어지지 않음
 - 제품의 생산 후 유통관리 및 유통기한 설정 등에 대한 정확한 지표가 개발되지 못하여 농업인 및 제품 생산자들의 피해가 확산됨.
 - 유기농업자재의 적용 작물 및 사용 목적에 따라 효능을 확인할 수 있는 과학적 데이터 확보가 필요하며, 유효성분의 안정화 기술, 제품의 품질관리기술 개발이 필요함.


2) 연구개발 목적

- 본 연구는 농업기술실용화재단 및 세계김치연구소의 국가연구개발사업을 통해 개발된 2건의 기술(농약 분해능 미생물, 무름병 방제용 식물추출물) 결과를 바탕으로 잔류농약 분해능을 가지는 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재, 무름병 방제 효과를 가지는 병해관리용 유기농업자재 2건의 제품개발 및 사업화를 목적으로 함.

3) 연구개발 내용(선행연구 포함)

- 농약 분해 미생물(*Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2)을 이용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 개발
 - (주)와이앤바이오는 농업기술실용화재단으로부터 ‘농약 분해 능력을 갖는 *A. calcoaceticus* 4-2-2 (KACC 92198P) 및 이를 포함한 농약 분해용 조성물’에 대한 기술을 이전받았음.
 - 이전받은 기술은 살충제나 제초제 등 잔류농약 성분(스피로디클로펜, 스피로세미펜, 스피

로테트라맷, 클로르피리포스, 클로르피리포스메틸, 아트라진, 이미다클로프리드, 디너 테퓨란, 벤타존, 부피리메이트, 디아펜티우론 및 아시플루오르펜을 포함, 특허 등록 10-1970333)을 분해할 수 있는 미생물 복합제 기술로 수확 후 농경지 토양이나 채소 등에 남아 있을 수도 있는 약제를 제거할 수 있으며, 이전받은 기술을 통해 선행연구로 액상제형의 ‘디콤포스 442’ 제품을 출시함(그림 1).



8 2019년 5월27일 월요일 **농산업** 농민과 함께 국민과 함께 **농민신문**

● 흙에 축적된 잔류농약, 미생물로 빠르게 제거 ●

와이엔바이오, 친환경토양개량제 ‘디콤포스442’ 출시


시설하우스 토양에 잔류하는 농약성분을 친환경적으로 없애는 토양개량제가 나왔다.

㈜와이엔바이오(대표 장영규)는 농촌진흥청과 중국 청도농업대학이 공동으로 선별한 미생물을 활용해 토양에 잔류하는 농약성분을 효과적으로 분해하는 토양개량제 <디콤포스442(사진)>를 출시했다고 밝혔다.

업체 측은 따르면 이 제품은 살충제와 제초제 등 농약성분을 분해하는 ‘아시네

토박T4-2-2’ 균주가 주요 성분이다. 독자적인 유전자(플라스미드)를 가지고 있는 이 균주는 농약성분을 분해할 뿐 아니라 이를 에너지원으로 이용한다. 실제로 <디콤포스442>를 10a(300평)당 3t씩 투입한 결과 토양에 잔류하는 ‘스피로 디클로펜’ 성분을 4일 이내에 96.3% 분해하는 효과가 있었다.

와이엔바이오는 농협중앙회와 지역 농·축협이 올해부터 추진하는 ‘시설하우스 토양개량사업’에 맞춰 이 제품을 토양



개량제로 작근 홍보하고 공급한다는 방침이다. 특히 이 제품은 율해부터 농약하용물질 목록관리제도(PLS)가 전면 시행됨에 따른 농가들의 잔류농약에 대한 우려를 불식시키는 데도 큰 역할을 할 것으로 기대를 모은다.

장영규 대표는 “오랜 이어졌기로 토양에 축적된 농약성분을 분해해 제거하는 데 매우 효과적인 제품”이라면서 “잔류농약이 걱정되는 시설재배지 농가들은 적극 활용해달라”고 당부했다.

김기홍 기자 sigmarp@nongmin.com

그림 1. 디콤포스 422(액상형) 제품의 출시 현황

- (기존제품의 문제점) 기존 제품은 액상 제형으로 ① 제품의 효능(균수 감소), ② 유통기한 축소 및 유통 중 품질저하, ③ 제품공급 시기에 따른 단가 상승 등 다양한 문제점이 확인되었으며, 이를 개선 및 보완 할 수 있는 기술개발이 필요함.
- A. calcoaceticus 4-2-2를 작물 및 토양에 살포 시 균주가 현장에서 활성화되고, 농약을 에너지원으로 섭취하여 잔류 농약을 분해하는 특징을 갖고 있음. 그러나 제품이 생산되어 작물 및 토양에 살포되기 전까지는 시간의 경과에 따라 제품의 효능(균수 감소)이 저감되는 문제점이 발생함.
- 그림 2는 제품을 보관하는 차광 창고 내의 실온 조건에서 생산 제품에 대한 균수를 측정 한 결과로 약 6개월 동안 약 10³ CFU/mL의 균수가 감소됨을 확인함. 이러한 결과는 액상 형태의 제품이 유통과정에서 발생하는 다양한 환경 조건과 온도의 변화에 균주의 활성에 큰 영향을 미치는 것으로 예상됨.

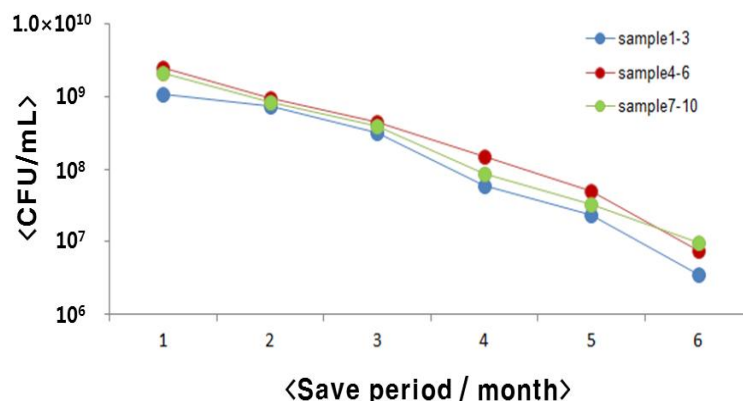


그림 2. 시간 경과에 따른 디콤포스 422 제품의 생균수 확인

- 이에 따라, 고농도의 생산 공정을 보유함에도 불구하고 유효성분의 표기를 대폭 낮춘 수준으로 명시하여야 하며, 이는 유사 제품들과 차별성 측면에서 경쟁력을 확보하지 못하고

있음.

- 제품 유통기한의 축소 설정은 수요 시점에 근거한 주문 제작 형식 등으로 인해 제품 생산 빈도를 소량에 맞추고 동시에 증가되는 생산비용은 고스란히 제품가격에 반영되어 가격 경쟁력 저하를 유발하고 있음.
- 출시 제품의 단점을 보완하여 시장성을 확보하기 위하여 새로운 제형 개발이 필요하며, 이를 위한 산업용 배지 개발, 미생물 최적 발효 조건 확립, 시제품 개발 및 저장·안전성 확인, 최종 제품의 생산 공정 확립을 실시하고, 유기농업자재 목록 공시 인증을 거쳐 제품을 개발하여 사업화를 진행하고자 함.

○ 식물(함초) 추출물을 이용한 무름병 방제 병해관리용 유기농업자재 개발

- 주관기관인 (주)와이앤바이오는 세계김치연구소로부터 ‘무름병 방제 효과를 가지는 식물(함초) 추출물 2종’에 대한 물질이전 계약을 실시하고 본 사업화 연구를 진행하고자 함.
- 무름병은 배추, 상추, 시금치 등 다양한 작물에서 병해를 일으키고 있으며 스트렙토마이신 계열의 농약으로 방제되고 있으나, 스트렙토마이신 저항성 병해균주 출현, 잔류독성 등의 문제점을 나타냄.
- 현재 고시된 병해관리용 유기농업자재의 원료는 식물추출물, 미생물 등이 이용됨. 미생물은 효과는 우수하지만 제품의 공정 관리 및 효율성이 떨어지는 단점을 가지고 있으며, 식물추출물은 효과의 안정성 및 품질관리 측면에 문제가 제기되고 있음.
- 따라서 본 연구과제를 통해 무름병 방제 효과가 우수한 식물(함초) 추출물을 소재로 유기농업자재를 개발하고 병해효과(무름병)의 안정성을 확보 및 품질관리기준을 확립하여 표준화된 제품을 개발하고자 함.
- 이전 기술인 함초의 추출물은 무름병 원인균으로 알려진 *Pectobacterium carotovorum* (PCC) 균주에 대하여 저해 효과가 있으며, 특히 스트렙토마이신 저항성을 가지는 PCC 균주(KACC 18645)에 대해서도 높은 활성을 보임. 배추에 PCC 균주를 인위적으로 접종한 후, 3가지 조건(비 처리구, 함초 추출물 처리, 스트렙토마이신 항생제 처리)으로 방제 효과를 확인한 결과, 함초 추출물이 스트렙토마이신 항생제와 비슷한 수준으로 우수한 방제 효과를 가지는 것으로 확인됨(그림 3).

	비처리구	항생제 처리구	함초 추출물 처리구
<i>P. carotovorum</i> KACC 10371			
<i>P. carotovorum</i> KACC 18645			
<i>P. carotovorum</i> KACC 10225			

그림 3. 함초 추출물의 배추 무름병 방제 효과

- 함초 추출물은 무름병을 일으키는 주요 작물인 배추에 대한 적용 시험이 진행되었으며, 다양한 작물의 유기농업자재로 활용되기 위하여 무름병을 일으키는 작물인 시금치, 상추 등 주요 작물과 스트렙토마이신 계열의 항생제를 사용하고 있는 수박 등의 작물에 대

- 하여 현장적용 실험을 통해 효과를 검증할 필요성이 있음.
- 최종적으로 함초 추출물을 주성분으로 하는 무름병 방제용 유기농업자재 개발을 위하여 소재의 대량 추출공정 확립, 지표성분 확립, 저장 안전성 확인, 시제품 개발 및 대량공정 확립, 유기농업자재 인증, 상품화 및 사업화를 진행하고자 함.

4) 개발제품의 개요

○ 농약분해능을 가지는 미생물을 이용한 토양개량용 유기농업자재

- 개발제품은 최종 입제형으로 기존제품(액상형)의 단점을 보완하고자 산업용 배지를 적용하여 균주의 생산성을 효율화하고 저장기간에 따른 효능이 감소되지 않도록 보완하고자 함.
- 본 과제를 통해 개발되는 최종 제품은 그림 4와 같은 공정을 통해서 개발될 예정이며, 기존 액상제품과 비교 시 자재유형, 제품유형, 제조시기, 초기균수, 제품안전성에서 차별성을 가지는 토양개량 및 작물생육증진용 유기농업자재로 개발됨(표 1).
- 최종 제품은 친환경 농산물 수확을 위해 활용되며, 농약 잔류 기간이 높은 작물(마늘, 양파 등)과 로컬푸드인 상추, 양배추 등과 같이 같은 토양에서 다작으로 다양한 종류의 농약이 검출되는 작물에 대해 활용될 예정임(그림 5).



그림 4. 미생물을 활용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 개발 핵심공정

표 1. 기존 제품과 개발제품의 차별성

	기존제품	개발제품
자재종류	작물생육	토양개량 및 작물생육
제품유형	액상형	입제형
제조시기	수요시점 근거한 생산	수요 예상 시기 이전에 생산가능
제조공정	종균배양→대량배양(기존배지) →최종제품→출고	종균배양→대량배양(산업용배지) →제오라이트 혼합공정→최종제품→ 균주활성 확인→ 출고
초기균수	10 ⁶ CFU/mL	배양액 : 10 ¹¹ CFU/mL 입제제품 : 10 ⁸ CFU/mL
제품단가	20,000원/L	30,000원/5 kg
대상작물	-농약 잔류 기간이 높은 작물 : 마늘, 양파, 배추 등 -일정 토양에서 다작을 하는 작물로 다양한 농약이 검출되는 작물 : 상추, 쌈 채소, 양배추 등 로컬푸드	



그림 5. 개발제품의 활용도

○ 무름병 방제 효과를 가지는 식물추출물 이용한 병해관리용 유기농업자재

- 무름병 발생 대표 작물인 배추에 대한 방제 효과를 검증한 식물(함초) 추출물을 활용한 유기농업자재 제품을 개발하기 위하여 대량 추출공정을 확립이 필요함.
- 무름병 방제 효과를 확인할 수 있는 지표 물질을 선정하고 저장 기간에 따른 지표물질의 함량을 분석하여 제품의 품질 안전성을 확보하고자 함.
- 배추 뿐 만 아니라 무름병 발생 작물인 상추(양상추 포함), 시금치 등에 대한 방제 효과를 확인하고 유기농업자재 인증을 위한 독성 확인, 재배시험 등을 추진함. 제품의 대량 생산 공정을 확립하고 최종 제품 개발을 추진함.
- 최종제품은 무름병을 일으키는 주요작물 및 스트렙토마이신 계열의 항생제를 사용하는 작물에 개발된 제품이 적용될 예정이며, 원료(함초 추출물)의 효과와 관련된 지표 물질을 선정하고 제품의 유효지속 기간 검증을 통한 최종제품이 개발됨(표 1).

표 2. 개발제품의 특징

개발제품	
자재종류	병해관리용
제품유형	액상형
제조공정	식물(함초) 추출물 제조→발효주정 혼합→최종제품→지표물질 함량 검사→ 출고
제품안정성	무름병 방제 효과를 보이는 지표물질 선정 및 저장기간에 따른 함량 확인
제품단가	30,000원/L
대상작물	-무름병 발생 작물 : 배추, 상추, 시금치 등 -스트렙토마이신 계열의 항생제를 사용하는 작물 : 수박 등
타사 제품과 차별성	기존의 병해관리용 유기농업자재 제품의 효과 및 재현성 부족으로 약효에 대한 낮은 신뢰성을 해결하기 위해 무름병 제어 유효성분 중 지표물질을 선정하여 품질에 대한 과학적 근거 제시를 통한 제품화

5) 연구개발 목표 및 내용

(1) 최종목표

- 본 과제의 최종목표는 농업기술실용화재단 및 세계김치연구소의 국가연구개발사업을 통해 개발된 2건의 기술 (농약 분해능 미생물, 무름병 방제용 식물추출물)을 바탕으로 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재와 병해관리용 유기농업자재 2건의 제품개발 및 사업화

(2) 세부목표

- 미생물 유래 토양개량 및 작물 생육용 유기농업자재 개발
 - 농약 분해 미생물인 *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2(KACC 92198P)의 산업용 배지 개발 및 최적 발효 조건 확립
 - *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2 균주의 대량 생산 공정 확립
- 식물 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 개발
 - 식물(함초) 추출물 대량 추출 공정 확립
 - 식물(함초) 추출물 무름병 방제 유효성분에 대한 지표성분 확립
- 제형화 및 저장·안정성 확인
 - 입제형 미생물제제 시제품 개발
 - 액상형 식물추출물제제 시제품 개발
 - 시제품의 저장에 따른 안정성 확인
- 개발제품의 유기농업자재 인증 및 등록
 - 유기농업자재 인증을 위한 친환경 적합성 확인(공인인증기관을 통한 독성 검사, 잔류농약 검사, 약해 시험 등)
 - 공인인증기관을 통한 토양개량 및 작물생육용, 병해관리용 유기농업자재 인증
- 유기농업자재 2품목 제품화 및 사업화
 - 대량 생산공정 확립
 - 현장적용 시험
 - 제품 디자인 및 포장재 개발

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 연구 수행 과정(재료 및 방법)

(1) *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2 산업용 배지 개발

- 농약분해능을 가지는 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 실용화 배지 개발을 위해 MSN 배지(yeast extract, glucose, NaCl, K₂HPO₄, NH₄NO₃, KH₂PO₄, CaCl₂·H₂O, MgSO₄·7H₂O, Fe₂(SO₄)₃ 함유)를 기본으로 탄소원(glucose, fructose, maltose, sucrose), 질소원(yeast extract, tryptone, peptone, soy bean flour), 무기염(K₂HPO₄, Na₂CO₃, MgSO₄) 조성을 탐색하였음. 배지 조성을 달리하여 제조한 후 *A. calcoaceticus* 4-2-2를 1% 접종하여 30℃, 160 rpm 조건으로 48시간 동안 진탕 배양 하면서 4시간 간격으로 배양액을 채취하여 흡광도(OD_{600nm})를 측정함.
- 최적 산업용 배지의 배양 효율을 비교하기 위해 기존 MSN 배지와 개발배지에서 *A. calcoaceticus* 4-2-2를 1% 접종하여 30℃, 160 rpm 조건으로 48시간 동안 진탕 배양 하면서 4시간 간격으로 배양액을 채취하여 흡광도(OD_{600nm}) 및 생균수를 측정함. 또한 대량배양(7 ton) 기준으로 단가를 비교하여 경제성을 분석함.

(2) *A. calcoaceticus* 4-2-2 최적 발효 조건 확립

- *A. calcoaceticus* 4-2-2의 대량 배양 시 산업용 배지를 적용하여 최적 생산조건을 확립하기 위하여 5 L jar fermenter에서 배양 온도(25 °C, 30 °C, 35 °C), 통기조건(0.3 vvm, 0.5 vvm), 교반속도(60 rpm, 80 rpm, 100 rpm) 조건에 따른 균주의 배양 생육도 및 생균수 등을 확인하여 최적 발효조건을 확립함. 5 L jar fermenter의 최적 발효조건 결과를 바탕으로 (주)와이앤바이오에서 대량 균주 생산 조건을 확립함.

(3) *A. calcoaceticus* 4-2-2 대량 발효 조건 확립

- 100 L 배양 공정 확립: *A. calcoaceticus* 4-2-2의 실용화 배지의 대량배양 조건을 확립하고자 협동기간에서 확립된 5 L jar fermenter의 조건을 100 L 발효기에 적용하였음. Seed는 개발된 산업용 배지에서 30°C, 160 rpm 조건으로 24시간 배양하였으며, 동일한 조건으로 2번 계대 배양하여 본 배양액으로 사용하였음. 본 배양은 100 L 배양기에서 30°C, 300 airflow, 0.40 pressure, 60 rpm 조건으로 24시간 동안 배양하면서 4시간 간격으로 배양액을 채취하여 생균수, pH, DO를 측정하였음.
- 10 ton 대량 배양 공정 확립 : 100 L 용량에서 얻어진 조건을 바탕으로 실용화 단계에서 사용하는 10 ton 대용량 배양 조건을 확립함. 개발 배지에서 전 배양된 *A. calcoaceticus* 4-2-2를 전체 볼륨에 1% 접종하여 seed culture로 사용하여 100 L에서 최적화된 배양조건(30°C, 1,500 airflow, 0.40 pressure, 40 rpm)을 바탕으로 적용함. 24시간 동안 배양하면서 4시간 간격으로 배양액을 채취하여 생균수, pH, DO를 측정하였음.

(4) 식물(함초) 추출물 지표성분 확립

- 함초 추출물의 무름병 방제와 관련하여 유효성분을 규명하고 이와 관련된 주요 지표성분 선정하고 품질지표로 확인하기 위한 정량기준을 설정함.
- LC-MS 분석은 UPLC-high resolution tandem MS (SYNAPT G2-Si High Definition Mass Spectrometry, Waters Corp., Milford, USA)를 사용하였고, 분석에 사용된 column은 ACQUITY UPLC HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm, Waters)을 사용하여 분석함. LC/MS 분석 조건은 표 3과 같음.

표 3. LC/MS 분석 조건

Parameter	Condition
Column Temperature and Flow rate	40°C, 0.5 mL/min
Mobile phase	solvent A : water with 0.1% formic acid solvent B : acetonitrile with 0.1% formic acid
Gradient condition	97% phase A for 0-5 min 3-100% linear gradient phase B for 5-16 min 100% phase B for 16-17 min 100-3% reverse linear gradient phase B for 17-19 min 97% phase A for 19-25 min
Injection volume	5 μL
Analysis mode	positive and negative ion modes
Capillary voltage and cone voltage	positive ion mode 2 kV and 40 V negative ion mode 1 kV and 40 V
Primary scan range and scanning time	50 to 1200 Da and 0.2 s
Lock mass	Leucine enkephalin positive ion mode ([M + H] ⁺ = 556.2771) negative ion mode ([M - H] ⁻ = 554.2615)

- LC-MS/MS 분석은 양이온과 음이온 모드로 수행하였고, 분석된 데이터는 Waters UNIFI V1.71 소프트웨어를 사용하여 주요 활성물질을 open database library와 matching하여 확인하였음.

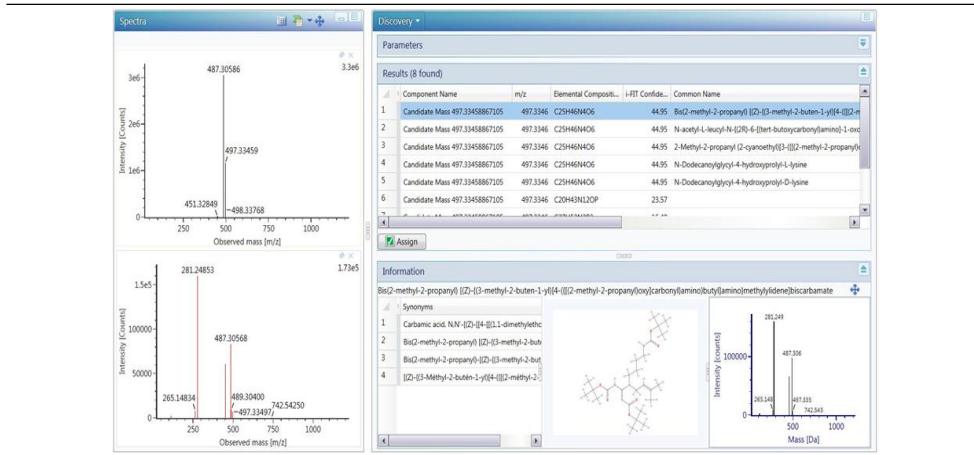


그림 6. 분석결과를 활용한 유효물질 확인 예시

- HPLC-DAD 분석은 Agilent 1200 모델을 이용하여 다음과 같이 진행함. 분석에 사용된 컬럼은 Poreshell 120EC-C18 column(4.6×100 mm, 2.7 μm)을 25°C에서 분석을 수행함. 이동상으로 Acidified water (0.5 % acetic acid, v/v) 및 methanol의 용매를 사용하였고 분석 시간은 20분간 분석하였음. 이동상 유속은 0.5 mL/min이고 시료 주입량은 5 μL 주입함. 검출기는 DAD (UV-Vis)를 이용하여 254 nm에서 검출하였음.
- 분석된 MS 및 HPLC 결과에서 확인된 유효성분 중에서 주요물질을 지표성분으로 설정한 다음, 정량분석을 위한 전처리법과 기기분석조건을 확립함. 함초 추출물을 이용한 병해관 리용 유기농자재 제조공정별 지표성분의 변화를 확인하고, 시제품 지표물질을 분석하여 품질 지표 기준을 확립함(그림 6)

(5) 식물(함초) 추출물 대량 추출 공정 확립

- 식물 추출물 대량 추출공정 확립: 함초에 대한 단계적인 추출공정 scale-up을 통한 대량 추출공정 확립함. 선행 연구결과로 확립된 소규모 추출 공정을 바탕으로 추출 용량, 추출 시간 등의 조건에 따른 무름병 방제 효과를 확인하여 공정을 확립함

(6) *A. calcoaceticus* 4-2-2 주성분으로 하는 유기농업자재 제형화

- ① *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 제형 조건에 따른 안정성 확인: 액상형, 입제형, 분말형 조건으로 제조 후 각각의 시료를 3가지 온도조건(4°C, 20°C)에 저장하면서 1개월 간격으로 균수를 확인함.
 - a. 액상형
 - 시료: *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 배양액(초기 균수 약 10¹⁰ CFU/mL)
 - b. 입제형
 - 시료: *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 배양액(초기 균수 약 10⁸ CFU/g)
 - ° *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 배양액 160 mL + 제오라이트 840 g
 - c. 분말형
 - 시료 : *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 동결건조 분말(초기 균수 약 10⁹ CFU/g)

- 분말 제형 처리 조건(보존제 첨가)
 - ° *A. calcoaceticus* 4-2-2 동결건조 분말 0.1 g
 - ° *A. calcoaceticus* 4-2-2 동결건조 분말 0.1 g + skim milk 0.1 g
 - ° *A. calcoaceticus* 4-2-2 동결건조 분말 0.1 g + malto-dextrin 0.1 g

(7) 토양개량용 및 병해관리용 유기농업자재 2품목 시제품 개발

- 농약 분해 미생물(*A. calcoaceticus* 4-2-2)를 이용한 토양개량 및 작물생육용 시제품 개발: 연구 데이터를 바탕으로 유기농업자재 공시 최소 규격인 1.0×10^6 CFU/mL 이상을 충족하며, 높은 안정성을 가지는 입제 시제품 생산을 생산함. 시제품을 통한 잔류농약 분해 효능 및 제품 안전성을 확인한 후 제품 최종 제조 공정을 확립함.
- 함초추출물을 이용한 병해관리용 시제품 개발: 연구 데이터를 바탕으로 함초를 이용한 최적 추출 조건을 확립하고, 원료 추출물과 발효주정의 혼합비를 구명하여 지표물질의 함량이 보증된 최종 시제품을 생산함. 이후 시제품을 통한 무름병 방제 효능 및 안정성을 확인한 후 제품의 최종 제조 공정을 확립함.

(8) 유기농업자재 인증 신청

- 제품 인증 : 유기농업자재 공인기관인 친환경농산물안전성센터를 활용, 사업 기간 내 2가지 품목의 유기농업자재 목록 공시 인증 신청을 진행하고자 함. 농약 분해 미생물을 주성분으로 하는 유기농업자재의 범위는 토양개량 및 작물 생육용으로, 함초 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재의 범위는 병해관리용으로 진행함.
- 대상 작물 : 농약 분해 미생물을 이용한 토양개량 및 작물 생육용 자재는 과채류 및 엽채류를 대상으로 우선 적용하고, 식물 추출물을 이용한 병해관리용 자재는 무름병을 일으키는 주요작물(배추, 상추 등)을 대상으로 시험함.
- 분석 항목으로, 비료성분 10종, 중금속 8종과 미생물 균수, 동정, 병원성 미생물 5종, 잔류농약 분석 성적서, 비해 시험 5작물 이상 분석 성적서등이 요구되며, 인증 시험 기관에 의뢰하여 분석을 진행함.
- “친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률” 및 유기농업자재 공시 및 품질인증 기준에 의거하여 제품의 적합성을 검토하고 최종 제품을 인증을 취득함.

(9) *A. calcoaceticus* 4-2-2를 주성분으로 하는 유기농업자재의 저장·안정성

(유효균수 유지 기간 검증)

- *A. calcoaceticus* 4-2-2를 주성분으로 하는 유기농업자재 입제형 시제품의 저장기간에 따른 안전성을 확인하기 위하여 저장 및 유통 시 발생 가능한 온도 조건을 가정한 시뮬레이션을 설정하여 월 별 생균수 변화 추이를 확인하여 저장 안전성을 평가함.

(10) 함초 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재의 저장·안정성(유효성분 지속 기간 검증)

- 함초 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재 안정성: 함초 추출물을 주성분으로 하는 병해관리용(무름병 방제) 유기농업자재 시제품에 대하여 선정된 지표물질의 안정성을 평가함. 안정성 평가는 설정온도에서 저장하면서 지표성분 변화를 확인함.
- 함초 추출물 함유 제품의 개봉여부에 따른 유효성분 안정성: 유기농업자재 시제품을 개봉하지 않은 상태와 개봉한 후 같은 온도 조건에 보관하면서 선정된 지표물질을 분석하여 감소율과 반감기를 조사함.

(11) 시제품 활용 현장적용 시험

- 제품 및 포장 디자인 개발 : 온도 변화, 수분 안전성, 유입 광량 등 고려한 차광 밀폐용기를

선발하여 적용하고, 이 때 현장 활용 편의성을 고려한 포장 단위 적용하여 개발하며, “친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률” 및 유기농업자재 공시 및 품질인증 기준, 비료관리법에 적합한 표기 사항을 반영한 제품 디자인을 개발함.

- 현장적용 시험 : 전라남도, 전국 지역농협을 통한 농가의 개발 시제품의 적용 시험 수행

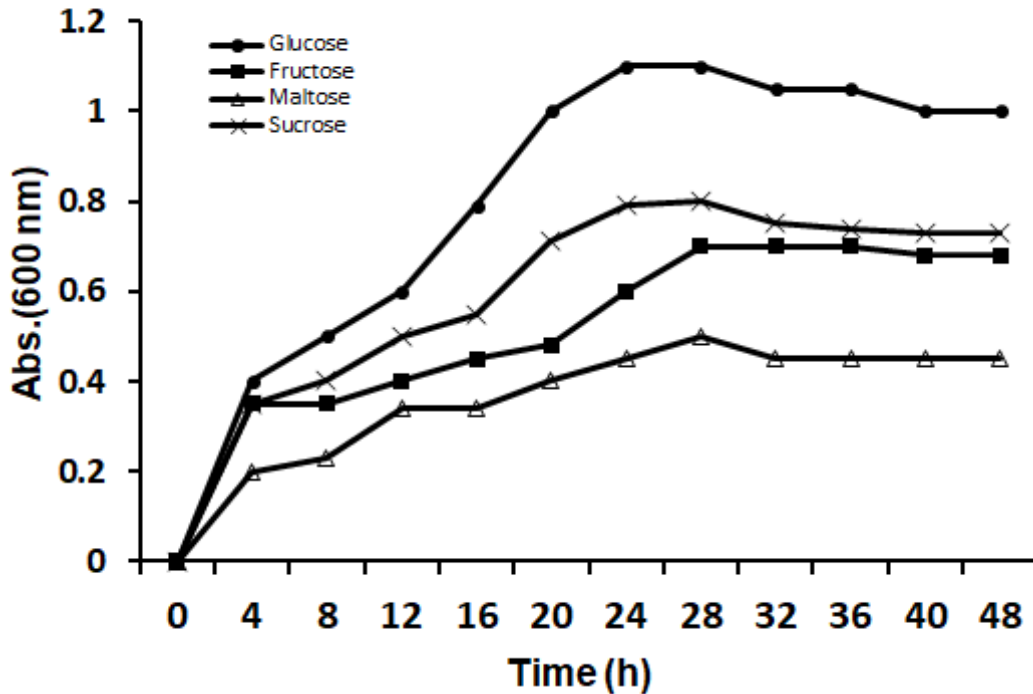
2) 연구 수행 내용

(1) *A. calcoaceticus* 4-2-2 산업용 배지 개발

- *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 산업용 배지 개발을 위해 기존에 사용했던 MSN 배지를 기본으로 하여 탄소원, 질소원, 무기염 조성을 탐색하였음. 탄소원으로는 glucose, fructose, maltose, sucrose를 사용하였으며, 질소원으로는 yeast extract, tryptone, peptone, soy bean flour를 사용하였으며, 무기염은 K_2HPO_4 , Na_2CO_3 , $MgSO_4$ 를 사용함.
- 탄소원은 MSN 배지를 기본 조성으로 하고 탄소원 종류만 변경하여 *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액의 배양시간별 흡광도(OD_{600nm})를 측정한 결과 glucose, sucrose, fructose, maltose 순으로 높은 생육도가 확인됨(그림 7-a). Glucose를 탄소원으로 조성된 배지에서 배양 8시간부터 다른 탄소원보다 높은 생육도가 확인되었으며, 배양 24시간에 1.09의 흡광도(OD_{600nm})가 측정되어 가장 높은 생육도를 나타내었음. Glucose의 농도(0.4%, 0.6%, 0.8%)에 따른 흡광도(OD_{600nm}) 비교 결과 0.6% 및 0.8 첨가 시 생육도가 비슷한 경향으로 확인되었으며, 0.4% 첨가시에는 생육도가 낮아지는 것으로 확인되었음(그림 7-b). 이상의 결과를 바탕으로 탄소원 및 조성 비율은 *A. calcoaceticus* 4-2-2 생육도와 경제성 등을 고려하여 0.6% glucose로 최종 설정하였음.
- 질소원은 MSN 배지를 기본 조성으로 하고 질소원 종류만 변경하여 *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액의 배양시간별 흡광도(OD_{600nm})를 측정한 결과, yeast extract 및 soy bean flour 조성은 비슷한 생육도를 보였으며, tryptone, peptone은 낮은 생육도를 나타내었음(그림 8-a). 가장 높은 배양 생육도는 yeast extract를 첨가한 배지에서 배양 24시간에 1.10의 흡광도(OD_{600nm})가 측정되었음. Yeast extract의 농도(0.6%, 0.8%, 1%)에 따른 흡광도(OD_{600nm})를 비교한 결과, 0.8% 및 1% 첨가 시 최대 생육도가 확인되었으며, 0.6% 첨가 시 생육도가 떨어지는 것을 확인하였음(그림 8-b). 이상의 결과를 바탕으로 질소원 및 조성 비율은 *A. calcoaceticus* 4-2-2 생육도와 경제성 등을 고려하여 0.8% yeast extract로 최종 설정하였음.
- 무기염은 MSN 배지 조성 중 glucose, yeast extract, NaCl을 기본 조성으로 무기염 종류별로 첨가하여 생육도를 확인하였으며, 최종적으로 K_2HPO_4 2.5%, Na_2CO_3 0.5%, $MgSO_4$ 1.0%로 조성을 결정하였음.
- 최종적으로 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 산업용 배지는 glucose 6%, yeast extract 0.8%, NaCl 0.5%, K_2HPO_4 2.5%, Na_2CO_3 0.5%, $MgSO_4$ 1.0%로 조성을 결정하고 ACM 배지로 명명하였음.
- *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 산업용 배지의 배양 효율을 비교하기 위해 ACM 배지 및 MSN 배지에 *A. calcoaceticus* 4-2-2를 배양하여 생균수를 측정한 결과(그림 9), 균주의 생육 활성이 비슷한 수준으로 확인되었으며, 두 배지 모두 28시간에 최대 생균수인 약 13×10^8 CFU로 확인되었음.

log CFU/mL을 나타내었음. 하지만 제조 단가의 비교에서는 MSN 배지보다 ACM 배지가 1.06% 정도 저렴하여 *A. calcoaceticus* 4-2-2 대량 배양 시 ACM 배지를 사용할 경우, 경제적인 측면에서 비용 절감 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료됨(표 4).

(a)



(b)

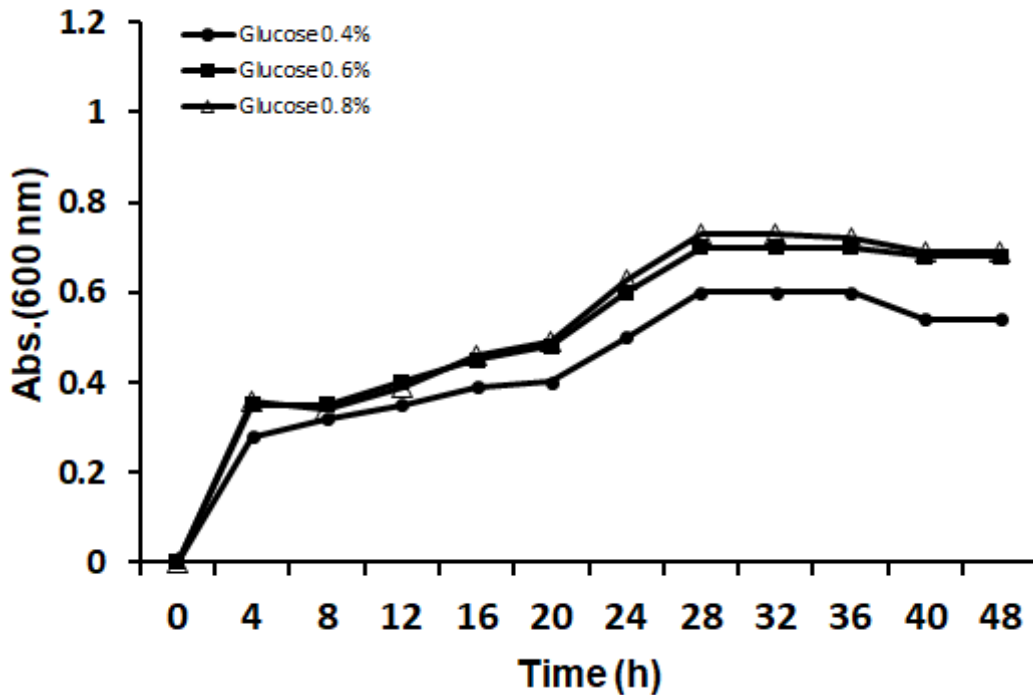
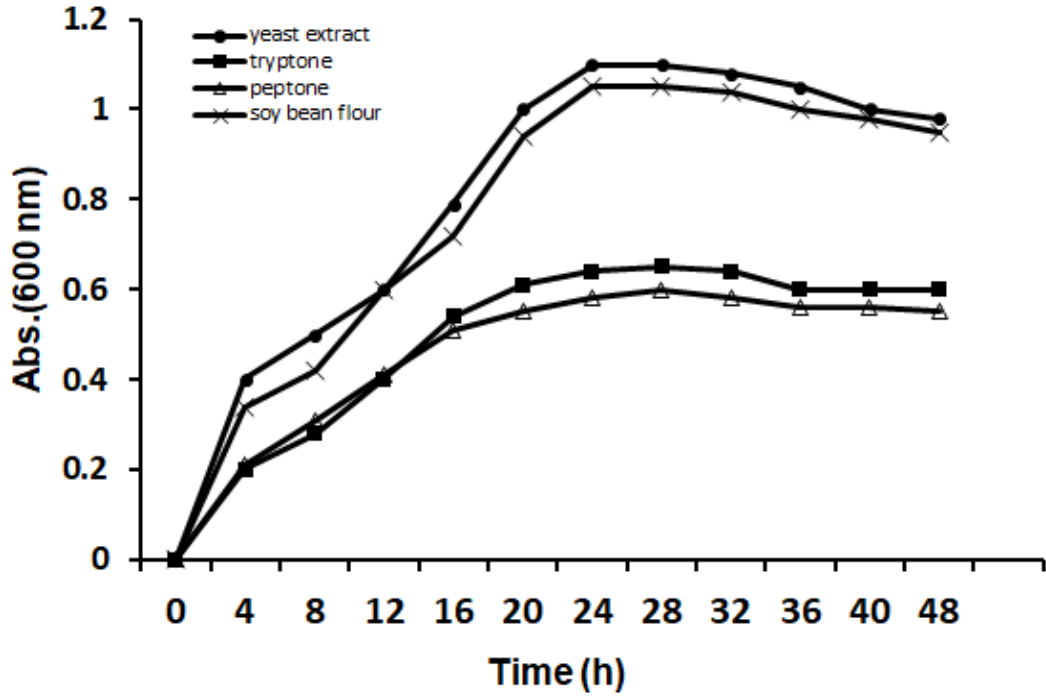


그림 7. *A. calcoaceticus* 4-2-2의 탄소원 조성 및 함량에 따른 흡광도

(a)



(b)

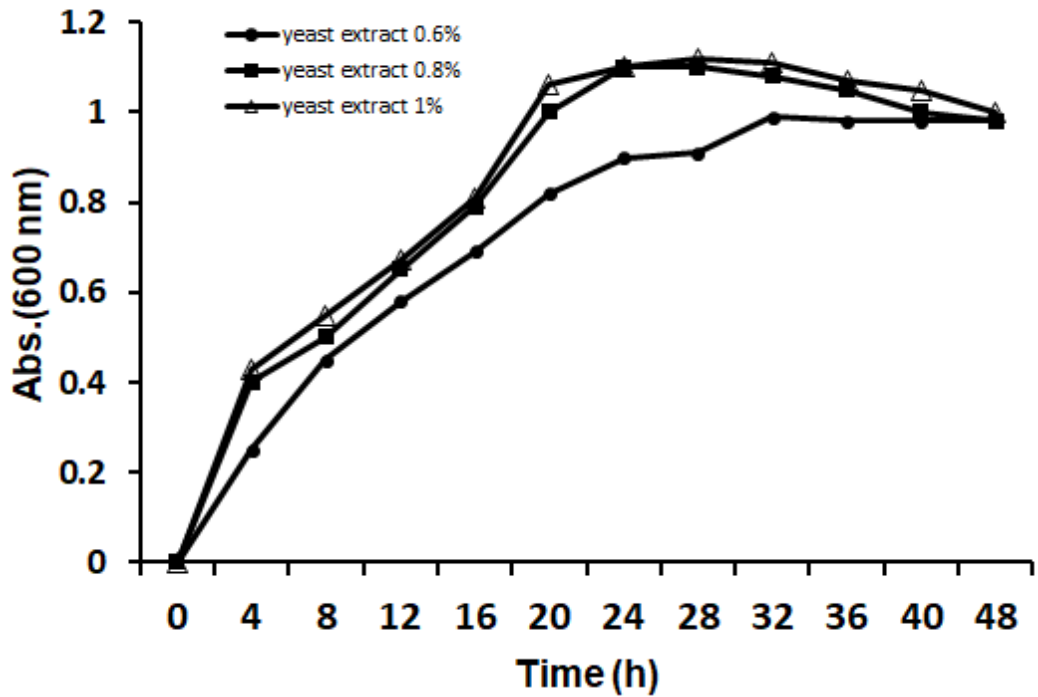


그림 8. *A. calcoaceticus* 4-2-2의 질소원 조성 및 함량에 따른 흡광도

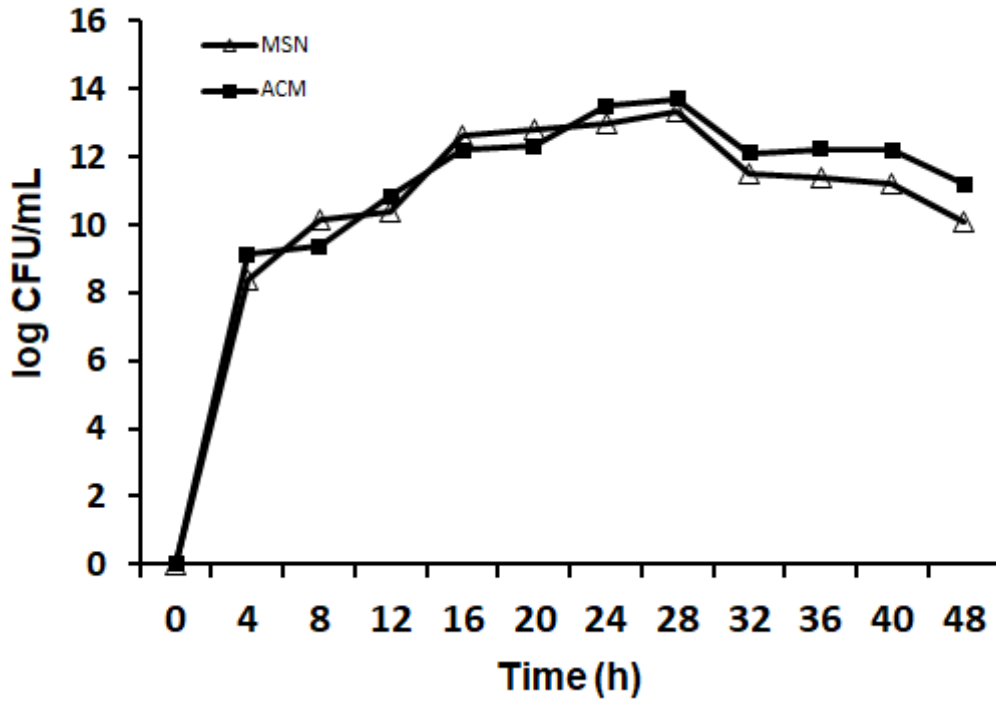


그림 9. ACM 배지 및 MSN 배지에서 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 생균수

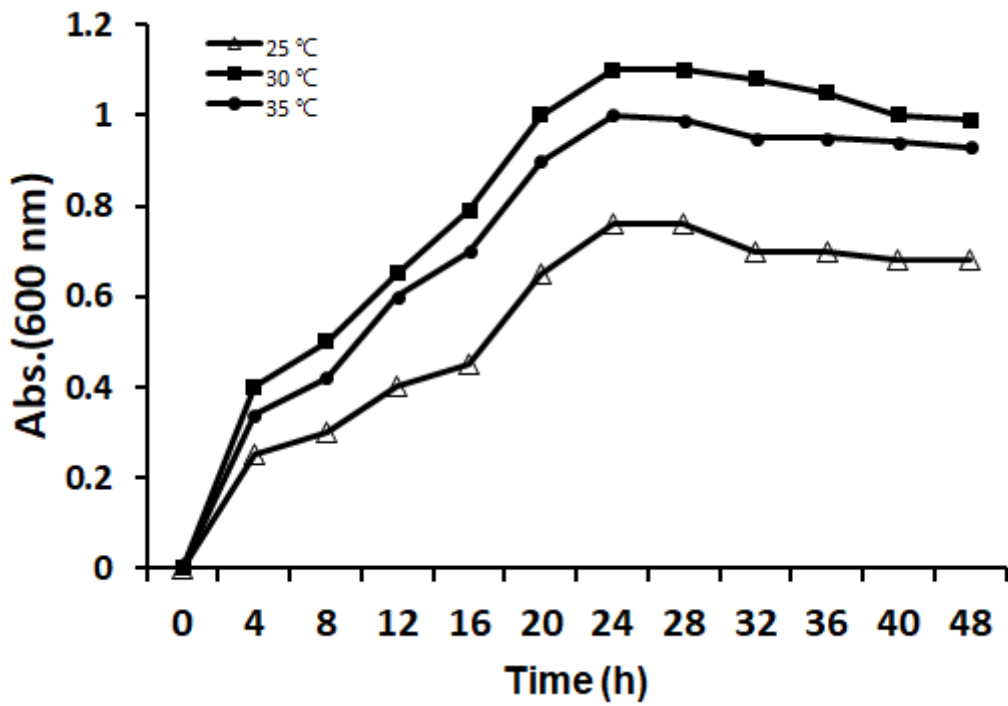
표 4. MSN 배지 및 산업용 배지(ACM 배지) 조성 및 제조 단가 비교

구분	조성	첨가량(g/L)	단가(원/7 ton)
MSN 배지	Yeast extract	8	960,400
	NaCl	1.5	7,140
	Glucose	6	96,600
	K ₂ HPO ₄	2.4	96,096
	NH ₄ NO ₃	1	37,800
	KH ₂ PO ₄	1.2	48,048
	CaCl ₂ ·H ₂ O	0.025	1,050
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	4,816
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	0.008	4,032
	TOTAL		
ACM 배지	Yeast extract	8	960,400
	NaCl	1.5	7,140
	Glucose	6	96,600
	K ₂ HPO ₄	2.5	100,100
	Na ₂ CO ₃	0.5	11,060
	MgSO ₄	1	10,920
	TOTAL		

(2) *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 발효 조건 확립

- *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 발효 조건을 확립하기 위하여 ACM 산업용 배지를 이용하여 배양 온도(25 °C, 30 °C, 35 °C), 통기조건(0.3 vvm, 0.5 vvm), 교반속도(60 rpm, 80 rpm, 100 rpm) 조건을 달리하여 균주를 배양하고 생육도 및 생균수를 측정하였음.
- 배양온도에 따른 *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액의 생육도 및 생균수 측정 결과는 그림 10과 같이 온도에 따른 생육도 및 생균수에서 차이를 보였으며, 30°C에서 가장 최적의 배양 생육도 및 생균수를 나타냈으며, 25°C에서 가장 낮게 확인되었음. 30°C에서 배양 시 24시간에 가장 높은 1.10의 흡광도(OD_{600nm}) 및 약 13 log CFU/mL의 생균수가 확인되었으며, 이상의 결과를 통해 최적 발효 온도를 30°C 설정하였음.
- 통기조건에 따른 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 생육도 및 생균수 결과는 그림 11과 같이 0.3 vvm에 비해 0.5 vvm 통기조건에서 높은 흡광도(OD_{600nm}) 및 생균수를 나타냄. 배양 24시간에 0.3 vvm 통기조건에서는 12.9 log CFU/mL의 균수를 나타내었고, 0.5 vvm 통기조건에서는 약 1 log CFU/mL 높은 13.7 log CFU/mL 균수가 확인됨. 흡광도(OD_{600nm})는 0.5 vvm 통기조건에서는 배양 24시간에 가장 높게 되었으며, 0.3 vvm 조건에서는 28시간에 균수가 가장 높게 확인됨. 이러한 결과를 바탕으로 통기조건을 0.5 vvm으로 설정하였음.
- 교반속도에 따른 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 생육도 및 생균수 결과는 그림 12와 같이 80 rpm 및 100 rpm 조건은 흡광도(OD_{600nm}) 및 생균수가 비슷하게 확인되었으며, 60 rpm 조건은 배양이 서서히 진행되었으나 24시간 최고 생균은 80 rpm 및 100 rpm 조건과 비슷한 수준으로 확인되었음. 80 rpm 및 100 rpm 조건에서는 16~20시간 이후 form 발생이 급격하게 되어 대량배양 시 적합하지 않을 것으로 보이며, 60 rpm 조건에서도 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 배양이 가능한 것으로 사료됨. 이러한 결과를 바탕으로 교반속도 조건은 60 rpm으로 설정하였음.
- 5L Jar fermenter를 이용한 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 최적 발효 조건은 배양온도 30°C, 통기조건 0.5 vvm, 교반속도 120 rpm 조건으로 최종 확립하였으며, 이를 바탕으로 대량 배양 조건을 확립하고자 함.

(a)



(b)

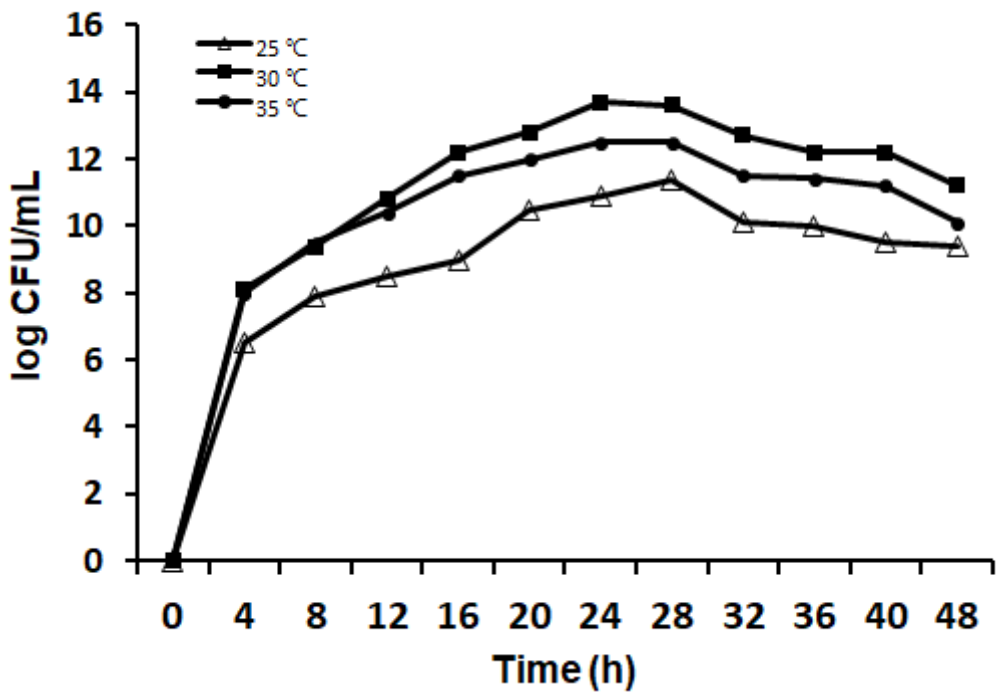
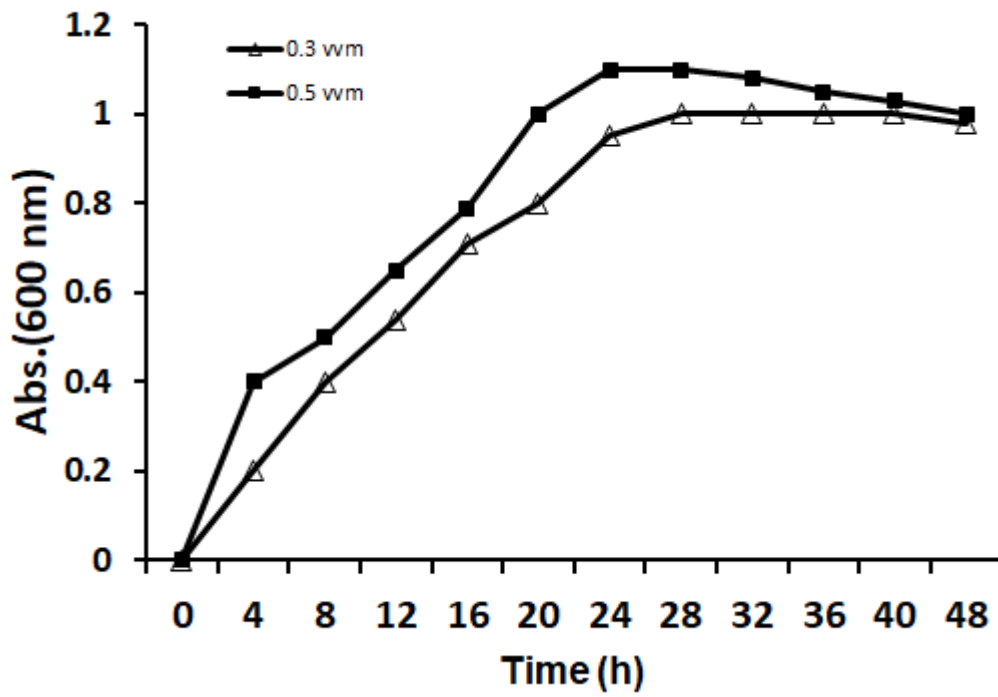


그림 10. *A. calcoaceticus* 4-2-2의 온도 조건에 따른 흡광도(a) 및 생균수(b)

(a)



(b)

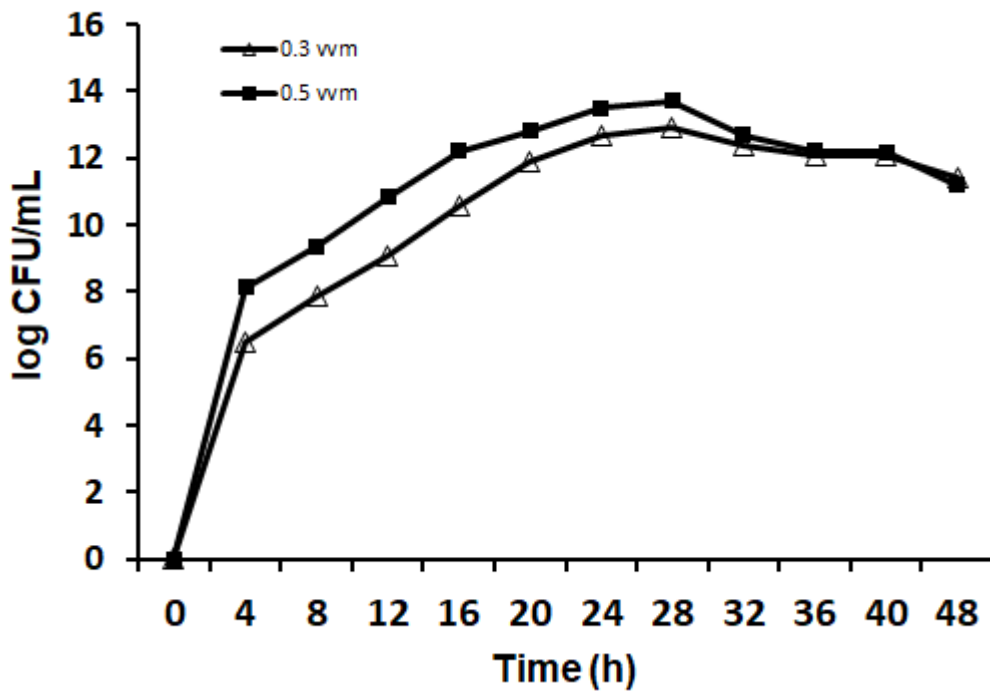
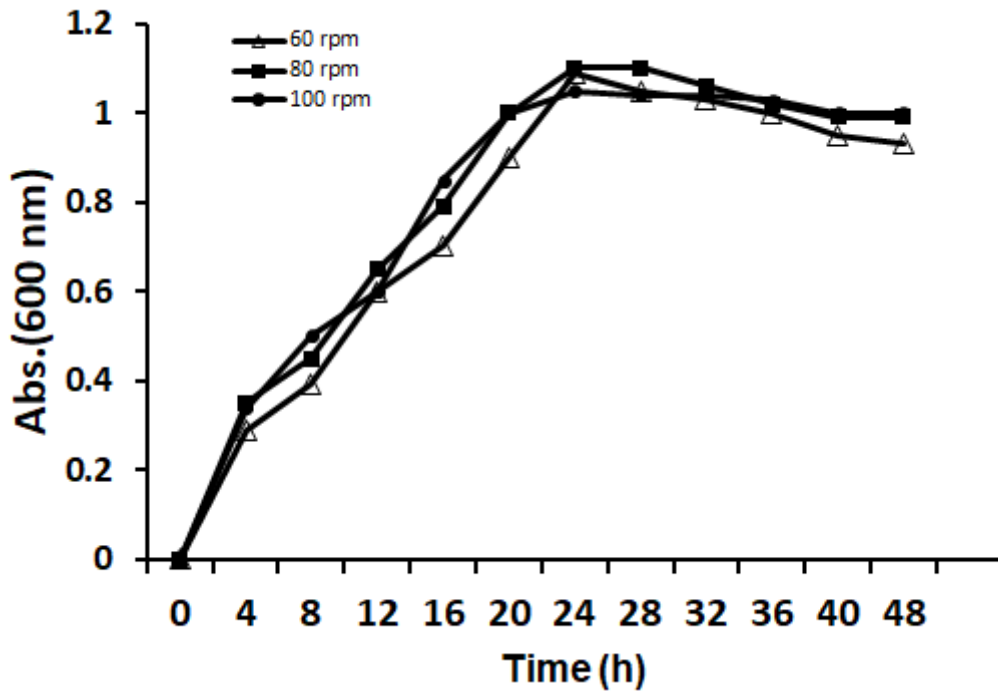


그림 11. *A. calcoaceticus* 4-2-2의 통기조건에 따른 흡광도(a) 및 생균수(b)

(a)



(b)

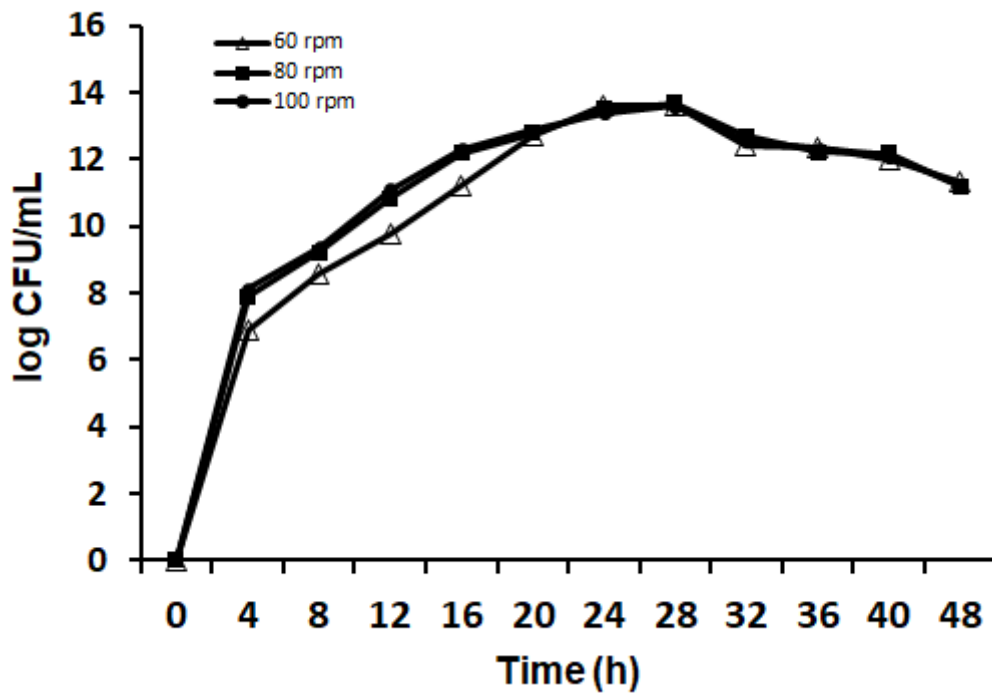


그림 12. *A. calcoaceticus* 4-2-2의 교반속도에 따른 흡광도(a) 및 생균수(b)

(3) *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 대량 발효 조건 확립

- 세계김치연구소에서 확립된 5 L Jar fermenter 최적 배양조건을 활용하여 100 L pilot 발효기에서 *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 seed culture를 배양하여 본 배양에서 1% 접종하고 30℃에서 24시간 배양하였음. 배양 시간에 따른 생균수(viable cells), pH 변화를 확인하고, 용존산소량(dissolved oxygen, DO), form 발생과 over flow등을 고려한 대량 생산 공정을 확립함(표 5-6).

표 5. 100 L 배양기 배양 결과 1차

배양 시간(h)	생균수(CFU/mL)	pH	DO	특이사항
seed	6.9×10^{11}	-	-	
4	7.3×10^4	7.30	100.0	
8	4.2×10^7	7.17	1.1	
12	1.5×10^9	7.12	1.0	Form 발생
14	2.6×10^9	6.99	2.7	
16	2.2×10^{10}	7.06	1.0	Form 증가
18	1.1×10^{11}	7.23	38.8	
20	3.2×10^{11}	7.35	79.6	소포제 투입
22	9.0×10^{10}	7.55	100.0	
24	6.2×10^{10}	7.49	100.0	
배양조건: 100 L 배양기, 온도 30℃, Airflow 300, Pressure 0.40, RPM 60				

표 6. 100 L 배양기 배양 결과 2차

배양 시간(h)	생균수(CFU/mL)	pH	DO	특이사항
seed	7.5×10^{11}	-	-	
4	4.2×10^5	7.11	100.0	
8	5.7×10^8	6.95	30.3	Form 발생
12	1.5×10^{11}	7.00	9.5	Form 증가
14	4.2×10^{11}	7.15	5.6	소포제 투입
16	2.2×10^{11}	7.29	35.6	
18	7.6×10^{10}	7.41	87.7	
20	5.1×10^{10}	7.43	100.0	
22	4.2×10^{10}	7.56	100.0	
24	2.2×10^{10}	7.69	100.0	
배양조건: 100 L 배양기, 온도 30℃, Airflow 1,500, Pressure 0.40, RPM 40				

- 100 L 배양 결과 *A. calcoaceticus* 4-2-2는 생육곡선의 대수기에서 정지기로 넘어가는 사이 균주의 절단이 일어나며, 이 과정에서 form이 발생되는 것으로 확인됨(그림 13).
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양 과정에서 pH와 DO값은 지속적으로 감소하며, 최대 생균수를 나타낸 시점부터 증가하는 경향이 확인됨.
- 대량 배양 조건에 따른 24시간 배양 결과 높은 airflow 조건(1,500)에서 *A. calcoaceticus* 4-2-2의 성장속도가 빠르게 나타났으며, 이를 바탕으로 scale-up을 통한 대량 배양 공정에 활용하였음.

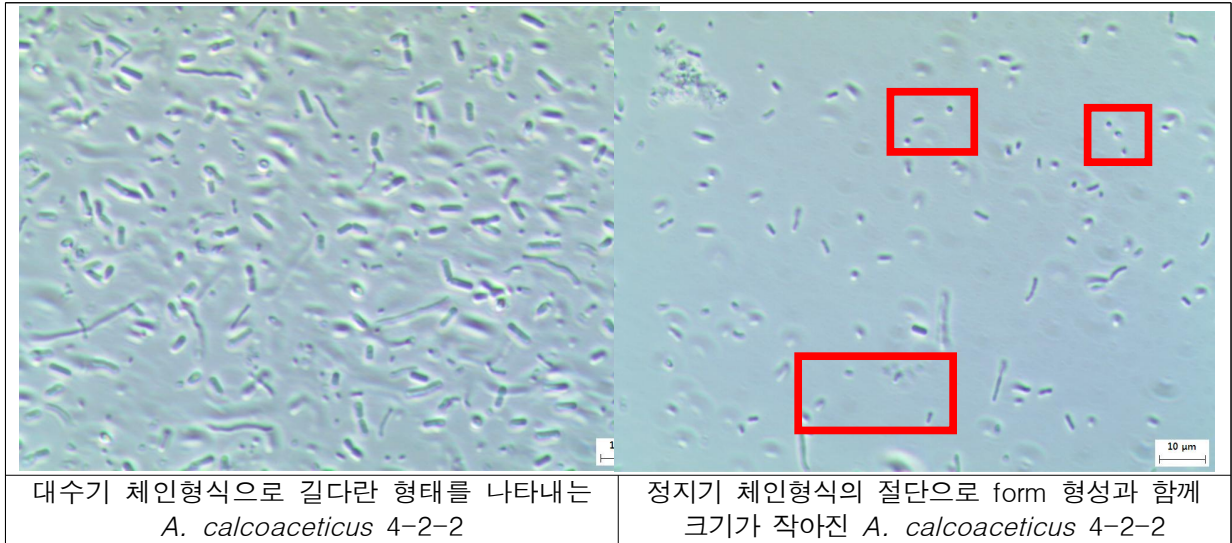


그림 13. *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양 중 현미경 사진

- 100 L 발효기에서 얻어진 조건을 바탕으로 실용화 단계에서 사용하는 1 ton 이상의 대용량 배양 조건을 확립하여 scale-up을 진행하였음(seed culture 1%).
- 10 ton 발효기로 scale-up 결과, 100 L 발효기 최적 배양시간인 14시간에 비해 20시간으로 최적 배양시간이 크게 증가하였음. 원료 미생물 배양 시간이 길어질 경우 사업화에 있어 시간과 비용이 증가하는 점을 보완하고, 오염 위험도가 증가하는 form 발생을 제어하기 위해 폭기량을 가변적으로 설정하여 최적 배양조건을 확립하였음(그림 14, 표 7-8).
- 10 ton 발효기 배양 조건으로 0~8시간까지 airflow 조건을 2,100으로 설정, 이후 form 발생을 고려하여 airflow를 1,500으로 조절한 후 배양을 진행한 결과 배양 16시간에 *A. calcoaceticus* 4-2-2 최대 생균수(5.4×10^{11} CFU/mL)를 확인하였으며, 이를 최적 배양 조건으로 설정하였음(표 7-8).

표 7. 10 ton 배양기 배양 결과 1차

배양 시간(h)	생균수(CFU/mL)	pH	DO	특이사항
seed	7.7×10^{11}	-	-	
4	8.5×10^3	7.01	100.0	
8	2.2×10^6	6.90	85.3	
12	4.2×10^9	6.85	42.1	
14	2.6×10^{10}	6.78	1.1	
16	7.4×10^{10}	6.76	3.5	Form 발생
18	1.5×10^{11}	6.88	23.4	Form 증가
20	5.2×10^{11}	7.00	87.7	
22	4.1×10^{11}	7.15	100.0	소포제 투입
24	1.8×10^{11}	7.32	100.0	
배양조건: 10 ton 배양기, 온도 30°C, Airflow 1,500, Pressure 0.40, RPM 40				

표 8. 10 ton 배양기 배양 결과 2차

배양 시간(h)	생균수(CFU/mL)	pH	DO	특이사항
seed	7.1×10^{11}	-	-	
4	5.4×10^5	6.98	100.0	
8	3.8×10^8	6.85	24.5	
12	4.7×10^{10}	6.74	4.2	Form 발생
14	3.8×10^{11}	6.98	2.3	Form 발생
16	5.4×10^{11}	7.08	10.5	
18	4.6×10^{11}	7.14	5.6	
20	2.1×10^{11}	7.25	48.5	소포제 투입
22	3.2×10^{11}	7.46	97.2	
24	1.2×10^{11}	7.59	100.0	
배양조건: 10 ton 배양기, 온도 30°C, Airflow (0~8 h 2,100; 8~24 h 1,500), Pressure 0.40, RPM 40				



10 ton 발효기((재)농축산용미생물산업육성지원센터)



A. calcoaceticus 4-2-2 배양 과정



A. calcoaceticus 4-2-2 form 발생 현상

그림 14. *A. calcoaceticus* 4-2-2 10 ton 대량배양

(4) 식물(함초) 추출물 지표성분 확립

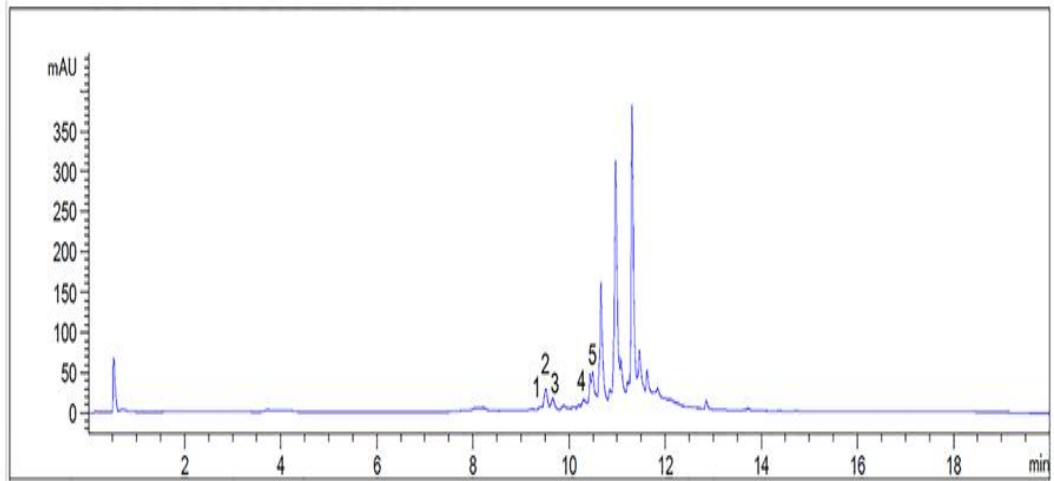
- 본 연구에 사용한 함초는 온라인에서 건조와 동결건조분말(파우더)를 구입하여 별도의 전처리 과정 없이 바로 실험에 사용함. 함초 추출물의 무름병 방제와 관련하여 유효성분을 규명하고 이와 관련된 주요 지표성분 선정하고 품질지표로 확인하기 위하여 LC/MS/MS를 이용하여 스크리닝하여 주요 지표성분을 구조에 따라 분류하였음.
- 분석된 MS 결과에서 확인된 주요 유효성분은 flavonoid류 11종, acid류(지방산, 유기산) 21종, polyphenol류 5종 등 다양한 향균 활성물질을 함초에서 함유하고 있는 것을 확인할 수 있었음. 주요 유효성분은 표 9에 나타내었음.

표 9. 함초의 주요 유효성분

Flavonoid류	3-Hydroxy-7-methoxy baicalein, Izalpinin, Irlone, Alpinetin, Stevein, Corylinal, Pectolarigenin, 5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone (2R,3R)-3,7-Dihydroxy-6-methoxyflavanone, Cardamomin 2-Hydroxy-1-methoxyanthraquinone
Acid류 (지방산, 유기산)	Arachidonic acid, γ -Linoleic acid, Stearidonic acid 9,12,15-Octadecatrienoic acid, Lignoceryl ferulate (E,E)-9-Oxo-octadeca-10,12-dienoic acid, Ethyl linoleate 9,12,15-Octadecatrienoic acid ethyl ester, Eicosanoic acid Akebonoic acid, Pentacosanoic acid, Abietic acid Tianshic acid, 3-O-Acetyl-caffeic acid, Ginkgolic acid 4,8,12-Trimethyl-tridecanoic acid, Phytolaccagenic acid Vernolic acid, Coronaric acid, 9-Octadecenoic acid Siegesbeckic acid,
Polyphenol류	Suffruticosol A, Darutigenol, α -Estradiol, Tungtungmadic acid (3-caffeoyl-4-dihydrocaffeoyl quinic acid)
Coumarin 유도체	7-Hydroxy-5-methoxycoumarin, Erythrocentaurin
Saponin	20(S)-Ginsenoside Rh1 (Ginsenoside Rh1) 20(S)-Ginsenoside Rh2 (Ginsenoside Rh2)
Alkaloid류	Penbutolol, Fawcettine, N-Isobutyl-(2E,4E)-octadecadienamide Carmichaeline
Steroids	Dodemorph, Cortisol, Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one
Flavoring agents	Dibutyl sebacate, p-Methoxybenzylacetone, Ethyl linoleate

- 페놀화합물 분석은 표준물질과의 머무름 시간 및 UV-Vis 스펙트럼의 비교에 기초하여 페놀 화합물의 존재 유무를 확인함. UV-Vis 검출기 254 nm 파장에서 확인된 함초 추출물의 크로마토그램은 vanilic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, chlorogenic acid, sinapic acid의 5 개의 페놀산이 확인됨(그림 15).

(a)



(b)

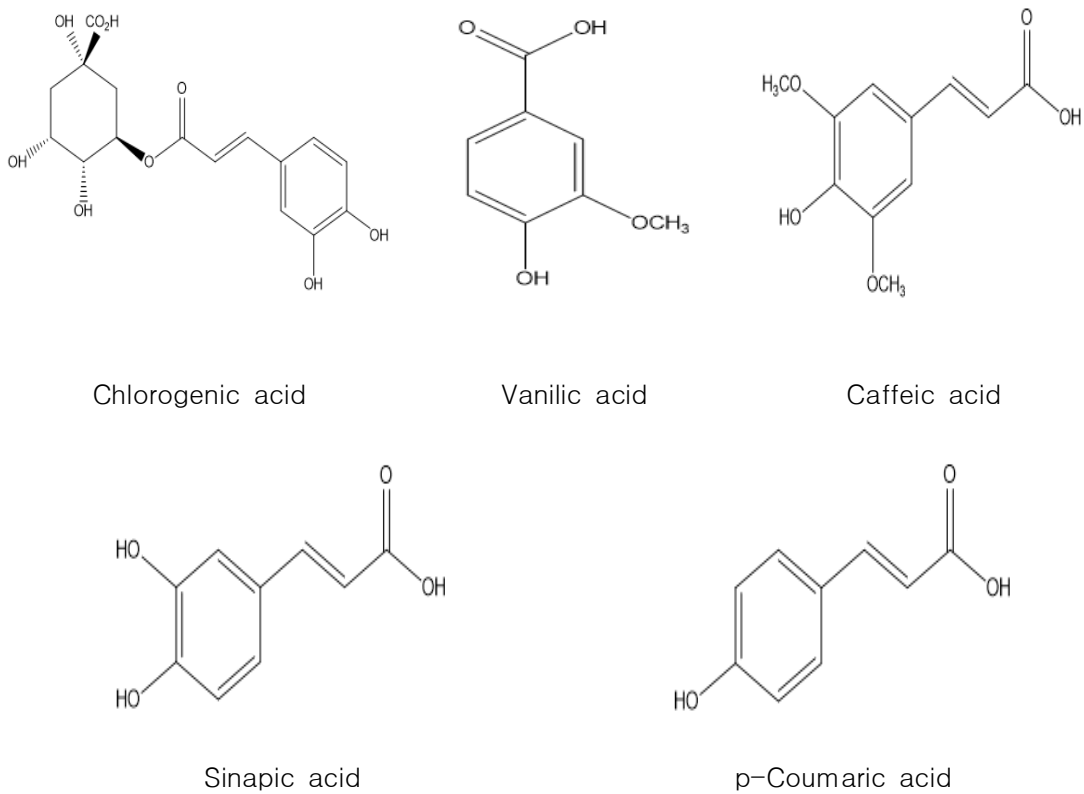


그림 15. 함초 추출물의 HPLC chromatogram (a) 및 주요 성분의 구조식(b)

- MS 및 HPLC 분석을 통해 함초 추출물의 다양한 성분들을 확인하였고, 분석된 다양한 성분을 검토한 결과 페놀산을 1차 지표물질로 선정하여 함량을 분석하였음. 분석결과 1차 지표물질로 선정한 페놀산의 함량을 분석하였으나 유기농업자재 시험연구기관을 선정하지 못해 지표물질을 변경하였음. 분석된 페놀산의 함량의 경우 본 연구에서 유효성분 선정의 기준으로 사용하였음.
- 70% 에탄올에서 추출된 함초 건초와 분말(파우더) 시료는 filter paper(Whatman™ 2 Qualitative Circle 110 mmφ)로 1차 정제 후 여과액을 모은 후, 원심분리기를 이용하여 15,000 rpm에서 2차 정제 후 상층액을 분석시료로 사용하였음.
- 함초 건초와 분말(파우더)의 추출물 효율을 분석한 결과 함초 건초에서 유효성분(caffeic acid, coumaric acid, ferulic acid)이 분말(파우더)보다 많이 용출되는 것을 확인하였음 (표 10).
- 또한, 본 연구에 사용된 함초 파우더의 경우 분말이 너무 미세하여 함초 파우더 추출물을 활용하여 제품화하기 위한 제조공정에서도 분말(파우더)를 사용할 경우 분리와 정제 과정을 추가해야 하는 번거로움이 있어 최종적으로 함초 건초를 사용하여 대량 생산 추출공정을 확립하기로 하였음.

표 10. 함초 건초와 분말(파우더)의 추출기간에 따른 페놀산 함량 비교

(unit : µg/mL)

주차	Caffeic acid		Coumaric acid		Ferulic acid	
	건초	분말	건초	분말	건초	분말
1	3.895	1.289	9.515	6.783	11.290	6.967
5	4.097	1.786	9.950	6.939	12.747	7.274
10	5.662	2.178	10.846	7.099	15.422	8.066

- 또한, 함초 건초의 추출 기간에 따른 효율을 확인하기 위해 15주 동안 상온에서 추출하면서 1주 단위로 시료를 채취하여 유효성분을 분석한 결과, 10주차에서 15주차 때보다 유효 물질이 많이 용출되어 최종적으로 10주차를 최적 추출 시간으로 확립하였음(표 11).

표 11. 함초 건초의 추출기간에 따른 페놀산 함량 비교

(unit : µg/mL)

주차	Caffeic acid	Coumaric acid	Ferulic acid
10	3.083	6.433	9.903
15	2.401	5.928	12.749

- 위의 실험 결과를 바탕으로 최종으로 함초 건초를 이용하여 상온에서 10주를 추출하여 공정으로 확정하였으며, 2차 지표물질로 함초 건초가 함유하고 있는 총 플라보노이드 함량으로 선정함.

- 총 플라보노이드 함량은 유기농업자재 시험검사기관인 강원대학교 (주)친환경농산물안전성센터에 의뢰하여 분석하였고, 분석방법은 UV/Vis spectrophotometer를 이용한 흡광도법으로

Hossain and Rahmam(2011) 법을 적용하여 실험하였음. 분석결과 함초 건조 10주차 시료에서 0.33%의 총 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 확인하였음(시험성적서, 그림 28).

- 함초 추출물을 이용한 병해관리용 유기농자재 제조공정별 지표성분의 변화를 확인하고, 시제품 지표물질을 분석하여 품질 지표 기준을 확립함.

(5) 식물 추출물(함초) 대량 추출 공정 확립

- 함초에 대한 단계적인 추출공정 scale-up을 통한 대량 추출공정 확립하기 위하여 함초 건조 시료를 70% 에탄올로 15주 동안 추출물을 비교 분석하였음.
- 주관기관(Y&Bio)의 상온 추출 공정 확립을 위해 1 ton 대량 추출조를 확보하고 함초 건조 50 kg에 70% 에탄올 500 L를 혼합하여 추출함. 추출 효율을 높이기 위해 하루에 한 번씩 위아래로 섞어주었으며, 일주일마다 샘플링을 진행함. 또한 주차별로 수집된 시료의 유효성분의 함량을 확인하기 위해 HPLC를 이용하여 측정하였음.
- Agilent technologies 1290 infinity 장비를 사용하였고 검출기로는 1260 DAD를 사용하여 190-400 nm 범위를 스캔하였음. 컬럼은 XBridge C18(Waters, 3.5 μ m, 4.6 \times 150 mm)을 사용하였고 용매로는 0.1% formic acid/water와 0.1% formic acid/Acetonitrile을 사용하여 gradient mode로 분석하였음.
- 컬럼의 온도는 30 $^{\circ}$ C, 유속은 1 mL/min으로 흘려주었고 주입량은 10 μ L 조건으로 분석하였음. 분석된 크로마토그램에서 면적을 계산하여 유효성분의 함량이 많은 주차를 최적의 조건으로 선정하였음.
- 최종적으로 선정된 최적조건에서 얻은 함초 추출물은 대용량 감압농축기를 이용하여 농축하였고, 동결건조를 통해 최종 분말 제형으로 제조하였음. 최종적으로 분말제형의 함초 주정 추출물의 수율은 10%로 확인됨.
- 유기농업자재 공시 인증 분석기관의 phenolic acid 성분 분석이 불가능한 사유로 성분 등록을 위한 주성분은 플라보노이드(Total Flavonoid)로 변경 진행하였으며, scale-up을 통한 1ton 대용량 추출 결과 10.89%의 플라보노이드를 포함한 함초 추출물을 제조하여 원료 생산 공정을 확립하였음(그림 17).

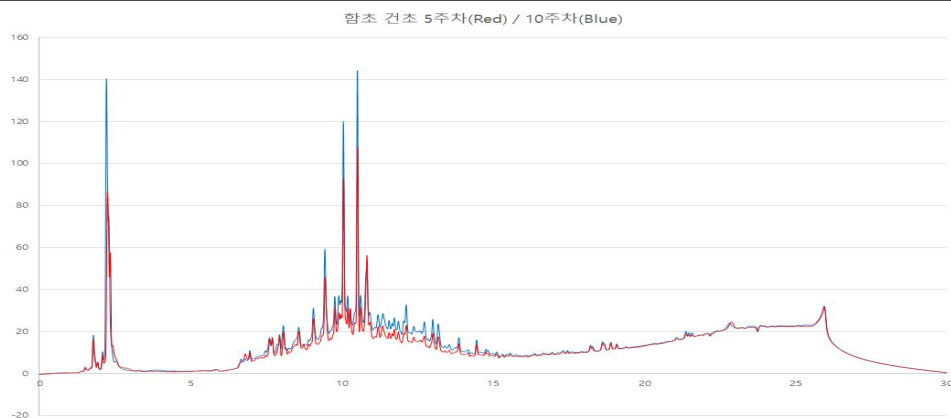


그림 16. 함초 건조 추출물의 유효성분 비교(5주차(빨간선), 10주차파란선))



함초 추출물 제조용 1 ton 추출탱크



추출 효율을 높이기 위한 컴프레서 체결 교반 기능



추출 공정중인 함초 추출물

그림 17. 함초 추출물 제조용 1 ton 추출탱크 및 추출 공정

(6) *A. calcoaceticus* 4-2-2 및 식물추출물 제형화

① *A. calcoaceticus* 4-2-2의 제형 조건에 따른 안정성 확인

- 액상형, 입제형, 분말형 조건으로 제조 후 각각의 시료를 2가지 온도조건(4℃, 20℃)에 저장하면서 1개월 간격으로 균수를 확인한 결과는 그림 18-22와 같음.
- 액상형은 제조 직후 약 10^{10} CFU/mL 균수가 확인되었으며, 4℃에서는 저장 5개월까지 균수의 안정성을 보였으나, 저장 6개월에 약 10^7 CFU/mL로 확인됨. 20℃에서는 저장 1개월부터 균수가 약 10^6 CFU/mL로 감소하였으며, 저장 6개월에 모두 사멸됨(그림 18).
- 입제형은 제조 직후 약 10^8 CFU/g 균수가 확인되었으며, 4℃에서는 저장 3개월에 초기균

수 대비 약 10^2 CFU/g 균수가 감소하였지만 저장 6개월까지 약 10^6 CFU/g의 생균수가 확인됨. 20°C에서는 초기균수에서 저장 2개월까지 균수가 감소하여 약 10^6 CFU/g의 생균수가 확인되었으며, 4°C 저장 조건과 유사하게 저장 6개월까지 생균수가 유지됨(그림 19).

- 분말형의 경우 안정제 미첨가 및 안정제(skim milk, malto-dextrin)를 첨가하여 총 3가지 형태로 제조하였으며, 제조 직후 약 10^9 CFU/g의 균수가 확인됨. 4°C에서는 저장 2개월에 3가지 형태의 분말형 시제품에서 약 10^8 CFU/g의 균수가 확인되었으며, 저장 3개월에 skim milk를 첨가한 시제품은 약 10^7 CFU/g으로, malto-dextrin을 첨가한 시제품 및 안정제를 첨가하지 않은 시제품은 약 10^6 CFU/g의 생균수가 확인됨. 그러나 저장 6개월에 균수가 더 감소하며 3가지 분말형 시제품은 약 $10^5 - 10^6$ CFU/g의 생균수를 유지하였음. 20°C에서는 저장 1개월에 안정제 미첨가 시제품은 약 10^6 CFU/g으로 안정제를 첨가한 2가지 시제품은 약 10^7 CFU/g으로 안정제를 첨가한 시제품의 생균수가 더 높게 확인됨. 그러나 저장 3개월에 3가지 시제품 모두 약 $10^4 - 10^5$ CFU/g의 생균수가 확인되었으며, 저장 6개월에는 생균수가 더 감소되며 약 10^3 CFU/g의 생균수가 확인됨(그림 20-22).
- 이러한 결과는 *A. calcoaceticus* 4-2-2는 열에 불안정하며, 상온(20°C)의 조건에서도 저장기간 및 제형에 따른 안정성이 변화되는 것으로 확인됨. 액상 및 분말 제형의 경우 저온 조건에서는 초기균수 대비 생균수가 잘 유지되나, 상온조건에서는 액상형태는 6개월에 균수가 모두 사멸하였고, 분말형의 경우에도 급격히 감소되는 것을 확인함. 입제의 경우 초기 균수가 액상 및 분말형 보다는 낮지만 저온 및 상온 조건에서 6개월 동안 약 10^6 CFU/g의 생균수를 유지하여 상온 유통의 특성을 고려하였을 때 입제형이 가장 적합할 것으로 판단되어 최종 시제품은 입제형으로 선정함.

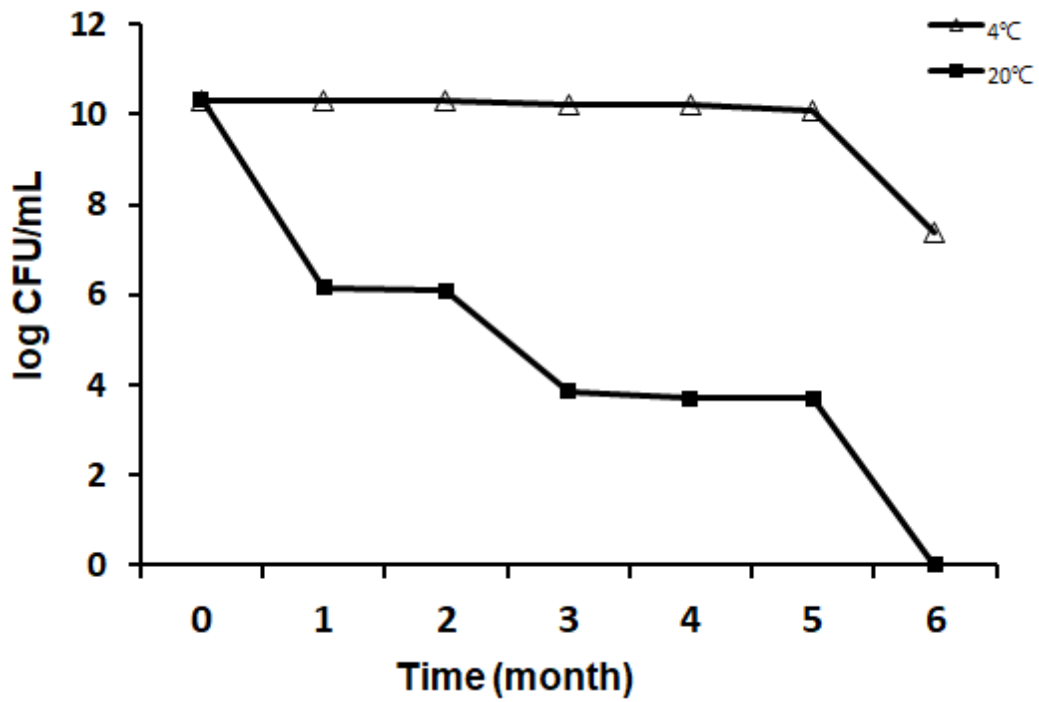


그림 18. *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 액상형 시제품 온도 및 저장기간별 생균수

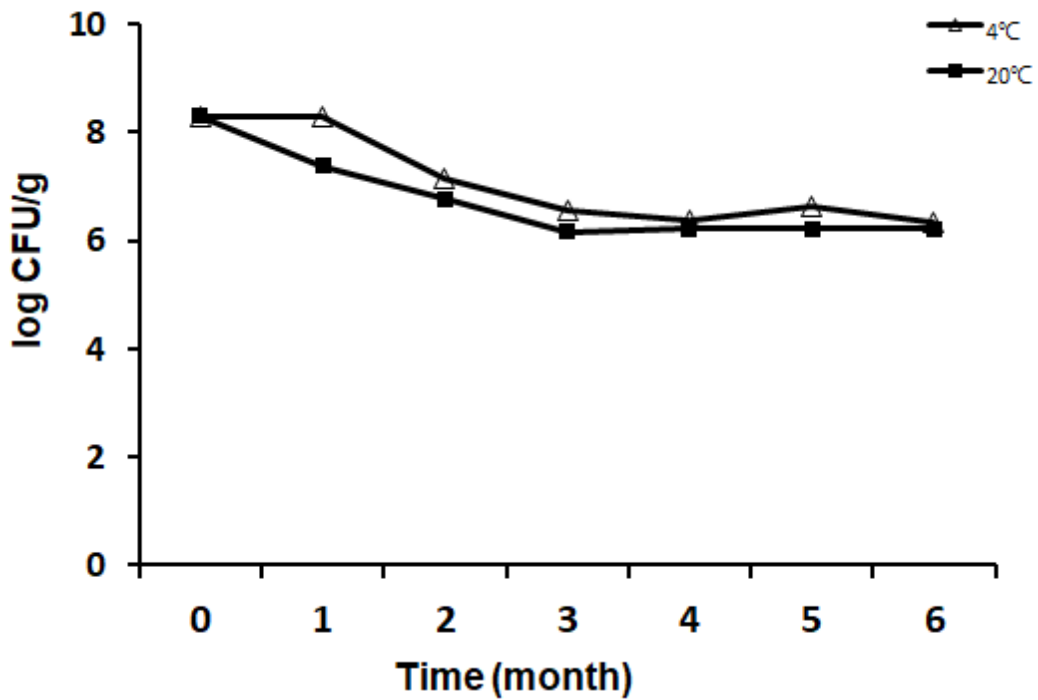


그림 19. *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 입제형 시제품 온도 및 저장기간별 생균수

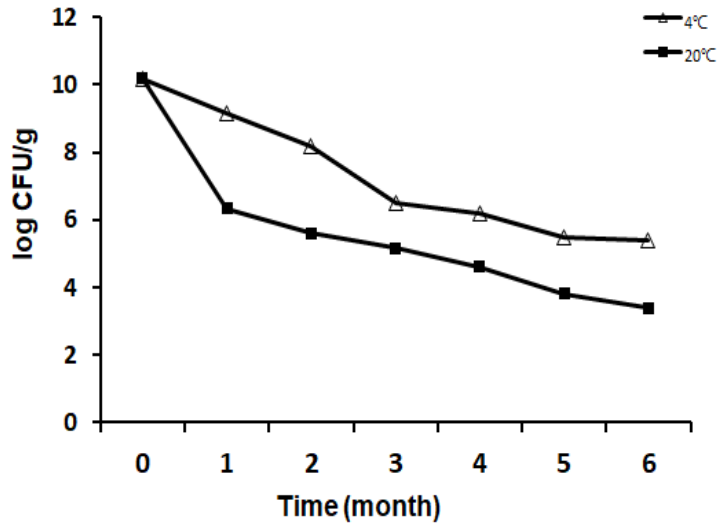


그림 20. *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 분말형 시제품 온도 및 저장기간별 생균수

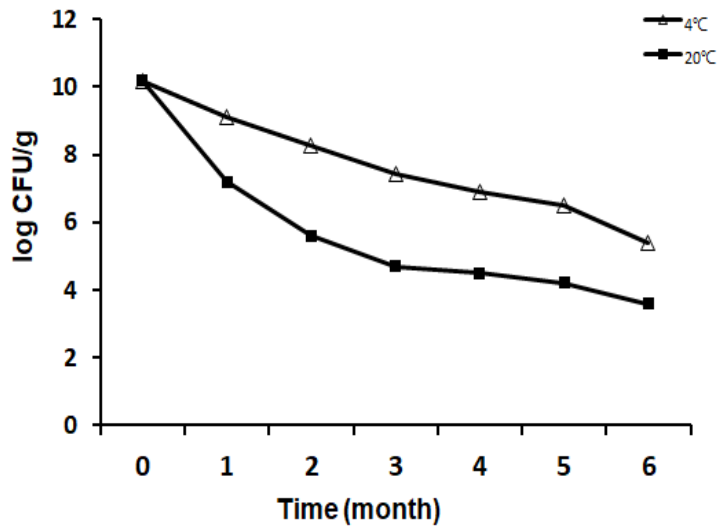


그림 21. *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 skim milk 첨가 분말형 시제품 온도 및 저장기간별 생균수

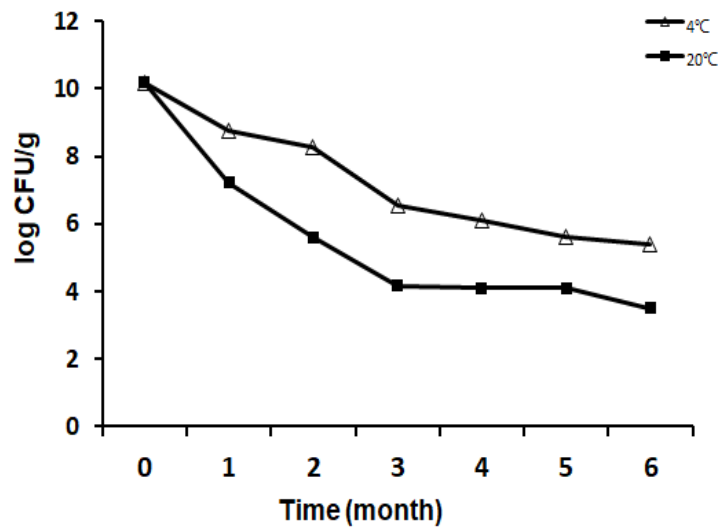





그림 22. *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 malto-dextrin 첨가 분말형 시제품 온도 및 저장기간별 생균수

② *A. calcoaceticus* 4-2-2의 유기농업자재 시제품 제조를 위한 제형화

- *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액의 입제화 및 토양개량 효과를 증진시키기 위하여 안정제로 중금속 흡착 등 토양 개선에 높은 효과를 가지는 제오라이트를 선택하였음.
- 최적 혼합비율을 구명하기 위해 *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액과 제오라이트를 다양한 혼합비로 혼합하여 제품의 성상, 미생물의 생균수를 분석하였으며 그 결과는 표 12와 같음. *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액과 제오라이트 혼합비가 20:80일 경우 가장 높은 생균수가 확인되었으나, 입제 성상에 점성이 생기고 질어지는 현상으로 scale-up을 위한 혼합 조건은 16:84로 선정하였음.

표 12. *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액과 제오라이트 혼합비율에 따른 생균수 확인

혼합비 (<i>A. calcoaceticus</i> 4-2-2 배양액:제오라이트)	10:90	16:84	20:80
생균수	8.6×10^7	3.0×10^8	6.1×10^8
시제품 이미지			

③ 함초 추출물의 유기농업자재 시제품 제조를 위한 제형화

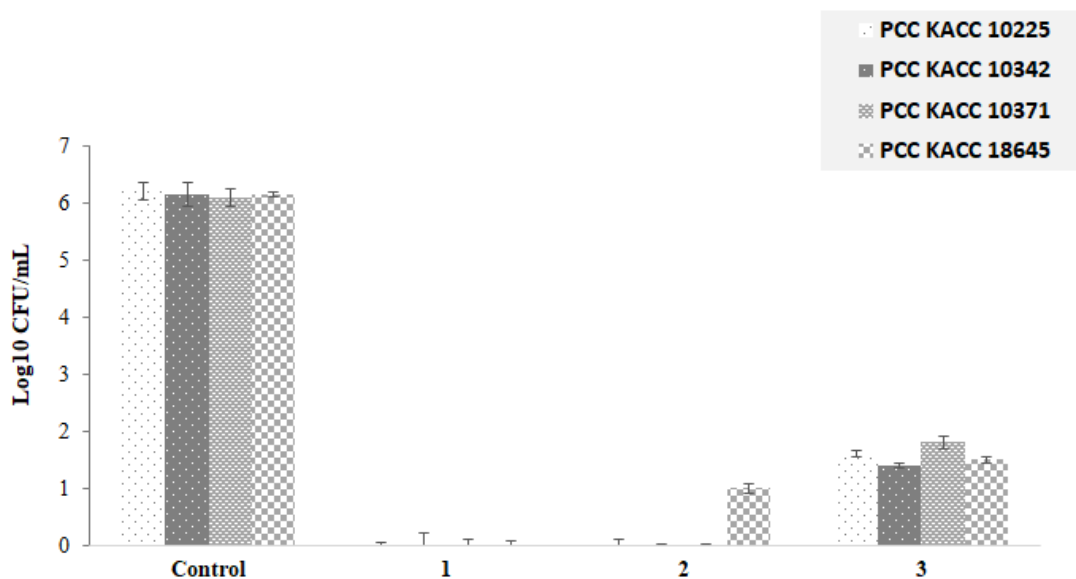


그림 23. 함초 추출물 유기농업자재 시제품 희석비율에 따른 PCC 4종 제어 효과 (1, 시제품 50배 희석액; 2, 시제품 200배 희석액; 3, 시제품 500배 희석액)

- 식물 추출물을 이용한 무름병 방제 유기농업자재의 안정성과 분산성, 효능을 높이기 위하여 유기농업자재에 사용가능한 보조제로 발효주정을 선택하였으며, 원료 함초 추출물의 유효 희석농도를 확인하기 위하여 배추에 무름병을 일으키는 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (PCC)균주를 접종하여 방제 효과를 확인하는 실험을 진행하였음.
- 실험실 조건에서 PCC 6 log CFU/mL 초기 균수에 대하여 시제품을 농도별로 처리하여 48시간 후 제어 효과를 확인한 결과 그림 23과 같이 50배 희석액에서는 4종의 PCC 균주를 완전히 제어하였으며, 200배 희석액에서는 PCC KACC 18645 균주를 제외한 나머지 PCC 균주를 완전히 제어하였음. PCC KACC 18645 균주는 스트렙토마이신 항생제에 대하여 내성을 가진 균주로 균주의 저항성이 높은 것으로 보임. 500배 희석액에서는 4종의 PCC 균주에서 1.4~1.6 log CFU/mL의 균수가 확인됨. 이러한 결과는 함초 추출물을 주 성분으로 하는 유기농업자재 시제품의 희석액은 50~500배에서 모두 제어 효과를 가지나 완벽한 제어를 위하여 50~200배 희석액 조건으로 처리가 필요한 것으로 확인됨.
- Food test는 표 13과 같이 처리하여 7일 동안 무름병 방제 효과를 확인함. 그 결과 함초 추출물의 유기농업자재 시제품 희석비율에 따른 배추의 무름병 방제 효과는 그림 24와 같이 확인됨. 배추에 PCC를 단독으로 처리한 경우 7일차에 무름병이 점차적으로 확산되는 것을 확인하였으며, 시제품을 처리한 경우 50배 희석액부터 500배 희석액까지 방제 효과를 확인하였음. 희석배수가 높아질수록 방제 효과는 감소하는 것으로 보이나, 시제품 무처리 배추와 비교 시 500배 희석액에서도 방제 효과가 확인되어 최종 제품의 희석 배수를 설정 시 500배 처리가 가능할 것으로 사료됨.

표 13. 함초 추출물 유기농업자재 시제품 희석비율에 따른 배추 무름병 방제 효과 확인 처리 조건

시료번호	처리내용
1	PCC 균주 무처리
2	PCC 균주 처리(6 log CFU/g)
3	PCC 균주 처리(6 log CFU/g) + 시제품 50배 희석액
4	PCC 균주 처리(6 log CFU/g) + 시제품 200배 희석액
5	PCC 균주 처리(6 log CFU/g) + 시제품 500배 희석액


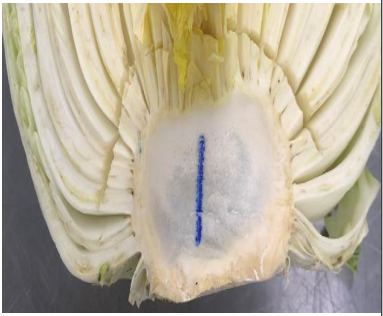
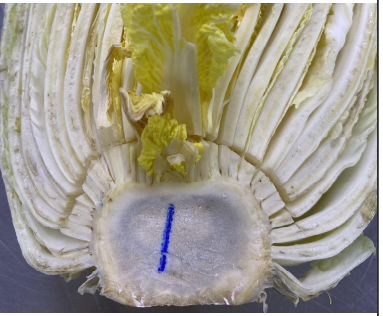







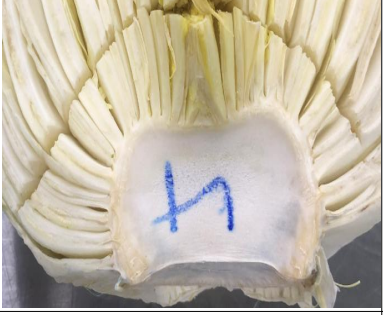




시료 번호	처리기간		
	0 day	4 day	7 day
1			
2			
3			
4			
5			

그림 24. 함초 추출물 유기농업자재 시제품 희석비율에 따른 배추 무름병 방제 효과

(7) 토양개량용 및 병해관리용 유기농업자재 2품목 시제품 개발

① 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재(제품명 : 회복토 입제)

- 영양분해능을 가지는 *A. calcoaceticus* 4-2-2를 주성분으로 하는 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재는 그림 25와 같이 최종 입제형으로 최종 균수는 1.0×10^8 CFU/mL로 시제품이 제조되었으며, 제품명은 ‘회복토 입제’로 명명하였음.
- 연구를 통해 얻어진 최적 배양 조건 및 혼합 비율을 바탕으로 *A. calcoaceticus* 4-2-2 배양액과 제오라이트를 16:84 비율로 혼합하여 자체QC를 통한 생균수 확인 후 시제품을 제조하였음.

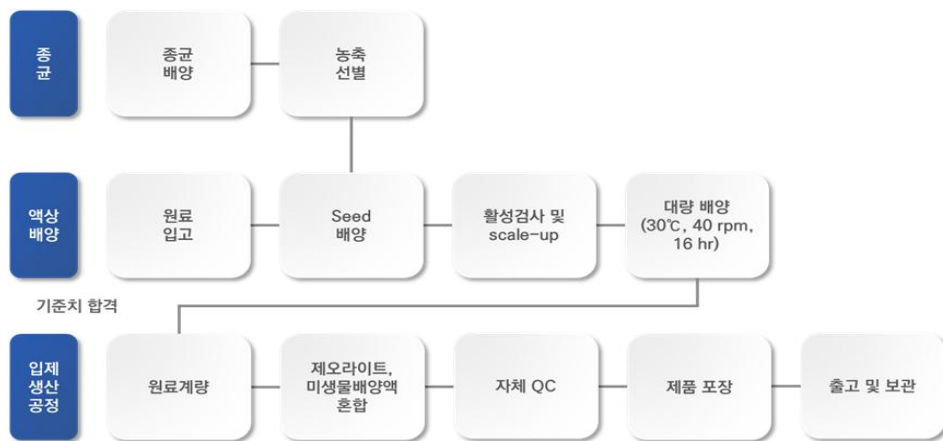


그림 25. 영양 분해 미생물(*A. calcoaceticus* 4-2-2)를 이용한 토양개량 및 작물생육용 시제품 제조 공정도

② 병해관리용 유기농업자재(제품명 : 무름엔)

- 무름병 방제효과를 가지는 함초 추출물을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재는 그림 26과 같이 최종 액상형으로 제조되었으며, 제품명은 ‘무름엔’으로 명명하였음.
- 원료 함초 추출물은 유효성분인 플라보노이드 함량이 10.89%이상 포함하도록 추출되었으며, 이후 연구 결과를 바탕으로 함초 추출물 4%, 발효주정 67%를 포함하는 제조 공정을 확립하여, 자체 QC를 통한 지표성분 함량 확인 후 최종 시제품을 제조하였음.

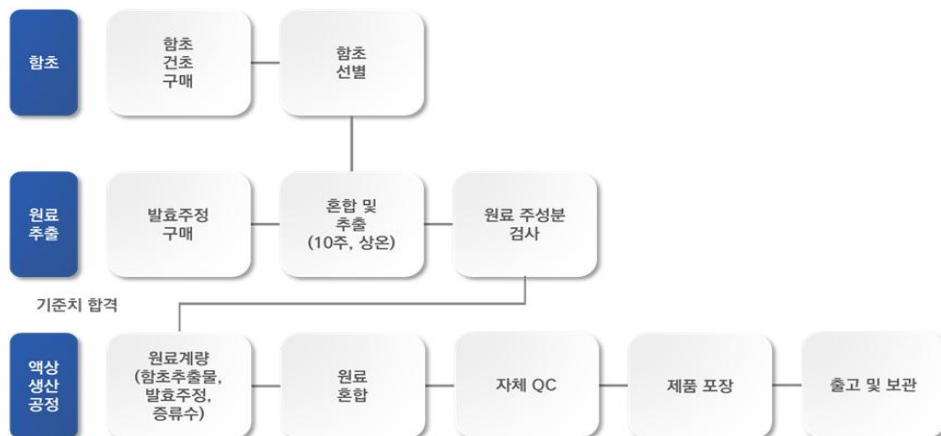


그림 26. 무름병 방제 병해관리용 시제품 제조 공정도



그림 27. 유기농업자재 2종 시제품

(8) 유기농업자재 인증 신청

- 유기농업자재 공시 인증 : 유기농업자재 공시 인증기관인 강원대학교 친환경농산물안전성 센터를 통해 공시 인증을 진행하였음(그림 28).



접수증		접수증	
제 공시-1-2739 호		제 공시-2-2752 호	
접수일 2021. 03. 26.		접수일 2021. 03. 31.	
① 민원명	공시 신규 신청 (제품명: 회복토 입제)	① 민원명	공시 신규 신청 (제품명: 무름엔)
② 민원인	농업회사법인 (주)와이앤바이오	② 민원인	농업회사법인 (주)와이앤바이오
③ 처리완료 예정일	2021. 06. 25.	③ 처리완료 예정일	2021. 06. 30.
④ 처리주무부서	유기농업자재 공시팀(21-NC-0079) 심사원:	④ 처리주무부서	유기농업자재 공시팀(21-NC-0092) 심사원:
⑤ 안내사항	유기농업자재 민원신청 접수 확인 및 처리 절차 안내	⑤ 안내사항	유기농업자재 민원신청 접수 확인 및 처리 절차 안내
<p>민원 접수자: _____ (전화번호: 033-_____)</p> <p>강원대학교 산학협력단 친환경농산물안전성센터장</p> 		<p>민원 접수자: _____ (전화번호: 033-_____)</p> <p>강원대학교 산학협력단 친환경농산물안전성센터장</p> 	
회복토 입제 유기농업자재 공시 신청 접수증		무름엔 유기농업자재 공시 신청 접수증	

그림 28. 유기농업자재 공시 인증 신청서

- 유기농업자재 공시 인증을 위한 분석 : 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 회복토 입제와 병해관리용 유기농업자재 무름엔의 공시 인증을 위해 다음과 같은 분석을 진행하였음(표 14, 15).

① 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 ‘회복토 입제’

표 14. 회복토 입제 유기농업자재 공시 인증을 위한 분석항목 및 공인분석기관

회복토 입제	공인분석기관
미생물 동정, 생균수 및 병원성미생물 5종 분석	(재)전남바이오산업진흥원 친환경농생명연구소
비해 시험(고추, 당근, 들깨, 배추, 상추)	(주)현농 기업부설연구소
잔류농약 분석	(주)현농 기업부설연구소
제오라이트 비료공정규격 분석	비토분석센터
비료성분 10종, 유해성분 8종 분석	비토분석센터

- *A. calcoaceticus* 4-2-2를 이용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재의 경우, 미생물 제제 특성에 따라 미생물 동정, 생균수 및 병원성 미생물 5종 분석을 진행하였으며, 비료 생산규격에 적합도를 확인하기 위한 비료성분 10종, 유해성분 8종 분석을 진행하였음.
- 시제품의 사용에 따른 비해를 확인하기 위해 과채류, 엽채류, 근채류의 대상 작물을 선정하여 비해 시험을 진행하였으며, 제품에 대한 잔류농약 분석을 진행하였음.
- 입제 제형의 원료로 제오라이트가 사용됨에 따라 제오라이트에 대한 비료 공정규격 분석을 진행하였음.
- *A. calcoaceticus* 4-2-2를 이용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 분석 결과 모든 항목에서 특이사항 없이 규격 이상의 결과를 나타내었으며, 이를 바탕으로 유기농업자재 공시 인증을 진행함(그림 29).



비토분석센터(주)

시험 책임자	최유진, 김대환
시험 담당자	최유진, 김대환

분석 성적서

의뢰인	상 호	농업회사법인 주식회사 와이앤라이오	사업자등록번호	409-
	주 소	전라남도		
접수일자	2020. 12. 9	용 도	유기농업자재등록공시	
접수번호	2020-12-B013	시 료 명	희복토입제	

분석(시험)성적 결과 :

분석항목(단위)	분석결과	분석항목(단위)	규격	분석결과
질소전량(%)	0.09	비스(mg/kg)	20이하	1.80
수용성인산(%)	불검출	카드름(mg/kg)	2이하	불검출
수용성칼리(%)	0.03	수은(mg/kg)	1이하	불검출
수용성고도(%)	0.04	납(mg/kg)	50이하	6.71
수용성망간(%)	불검출	크롬(mg/kg)	90이하	0.72
수용성붕소(%)	불검출	구리(mg/kg)	120이하	0.85
수용성질(%)	0.01	니켈(mg/kg)	20이하	0.35
수용성블리브덴(%)	0.0004	마연(mg/kg)	400이하	26.42
수용성적회(%)	0.09	* 유해성분 규격은 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 중 시행규칙 별표 18 제1호 다목2)에 따라 농관 물질이 정하는 유해중금속의 최대허용량(표준은 건물 기준, 액상은 현물기준)을 기재하였음		
수용성규산(%)	0.28			
수분(%)	10.33			

귀하가 당사에 의뢰한 시료에 대한 분석 성적입니다.

2020년 12월 15일

비토분석센터 주식회사



이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로 관련사항 이외의 선전, 소송 등 증거자료로 사용하지할 수 없습니다.

주소: 경기도 안산시 단원구 지원로107, 시화지식산업센터205호 TEL:(031)984-0101 FAX:(031) 984-0105

비료성분 10종, 유해성분 8종 분석



(주) 현농 기업부설연구소
 - (주) 500-757 광주광역시 북구 유봉로 77 전남대학교 친환경농업연구소 510호
 - 전화 062) 590-5912, 팩스 062) 590-5911
 - 운영책임자: 김홍중, 시험책임자: 박주연, 시험담당자: 이효주

■ 문서번호 : HN20-10-209 ■ 과 목 : 잔류농약검사분석서 교부
 ■ 시험일자 : 2020. 12. 09 ■ 방 법 : 표준
 ■ 참 조

시험 성적서

1. 의뢰인

접수번호	HN20-10-209	접수일자	2020. 12. 09
신청인	농업회사법인 주식회사 와이앤라이오		
소재지	전라남도		
비고			

2. 의뢰내역

검사종목	희복토 입제
검사항목	잔류농약 822성분 (Abamectin 외)
용도	유기농업자재 공시용
입장구분	유기농업자재
비고	

3. 시험결과

검사종목	검출성분	검출량 (mg/kg)	비고
희복토 입제	822성분 불검출		

* 상기내용은 제공된 시료에 대한 결과로서 시험된 결과를 유사 대상 시료에 적용할 수 없습니다.
 * 본 성적서는 시험의뢰 목적 이외의 광고, 선전등 상업적인 용도나 임의인 제3자의 용도로 사용하지할 수 없습니다.

2020년 12월 10일

(주) 현농 기업부설연구소장



잔류농약 분석

U20022A



시험 성적서

성명	업체명	㈜와이앤바이오	
주소	전남		
전화		FAX	
명칭	희복토 입제		
형태	입상		
검사항목	미생물동량, 생균수, 병원성미생물검사(E.coli O157:H7, Salmonella sp., Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus)		
용도	유기농업자재 공시용		
시험책임자	(인)	시험담당자	(인)

시험 결과

미생물동량	Acinetobacter calcoaceticus
생균수	7.17×10 ⁷ cfu/g
E.coli O157:H7 (정성)	불검출
Salmonella sp.(정성)	불검출
Staphylococcus aureus (정성)	불검출
Listeria monocytogenes (정성)	불검출
Bacillus cereus (정성)	불검출

2020년 12월 18일

(재)전남바이오산업진흥원
 친환경농생명연구센터장



미생물 동정, 생균수 및 병원성미생물 5종 분석



비토분석센터(주)

시험 책임자	최유진, 김대환
시험 담당자	최유진, 김대환

분석 성적서

의뢰인	상 호	농업회사법인 주식회사 와이앤라이오	사업자등록번호	409-
	주 소	전라남도		
접수일자	2021. 2. 4	용 도	유기농업자재등록공시	
접수번호	2021-02-B005	시 료 명	제오라이트	

분석(시험)성적 결과 :

그 밖의 규격	분석항목(단위)	공정규격	분석결과
	CBC(cmol ⁺ /kg)	80이상	105.33
수분(%)	분말도(%)	850μm이하 90%이상 통과	100
	수분(%)	포장물은 12이하	8.31

귀하가 당사에 의뢰한 시료에 대한 분석 성적입니다.

2021년 2월 19일

비토분석센터 주식회사



이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로 관련사항 이외의 선전, 소송 등 증거자료로 사용하지할 수 없습니다.

주소: 경기도 안산시 단원구 지원로107, 시화지식산업센터205호 TEL:(031)984-0101 FAX:(031) 984-0105

제오라이트 비료공정규격 분석





<p>관리번호 HN21-O-02-02</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">시험 성적서</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">의뢰인</td> <td>업체명</td> <td>(주)와이엔바이오</td> </tr> <tr> <td>주소</td> <td>전남</td> </tr> <tr> <td>연락처</td> <td>061</td> </tr> <tr> <td>공시품</td> <td>명칭</td> <td>회복토 입제</td> </tr> <tr> <td>검사항목</td> <td>식물재배시험 (비해시험)</td> <td>공시약제 처리에 의한 5작물의 비해시험</td> </tr> <tr> <td>용도</td> <td>제출용</td> <td></td> </tr> <tr> <th colspan="3">시험 결과</th> </tr> <tr> <td></td> <td>고추</td> <td>비해없음</td> </tr> <tr> <td></td> <td>당근</td> <td>비해없음</td> </tr> <tr> <td></td> <td>들깨</td> <td>비해없음</td> </tr> <tr> <td></td> <td>배추</td> <td>비해없음</td> </tr> <tr> <td></td> <td>상추</td> <td>비해없음</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;"> <p>2021년 02월 09일</p> <p>(주)현농 기업부설연구소장 </p> </td> </tr> </tbody> </table>	시험 성적서			의뢰인	업체명	(주)와이엔바이오	주소	전남	연락처	061	공시품	명칭	회복토 입제	검사항목	식물재배시험 (비해시험)	공시약제 처리에 의한 5작물의 비해시험	용도	제출용		시험 결과				고추	비해없음		당근	비해없음		들깨	비해없음		배추	비해없음		상추	비해없음	<p>2021년 02월 09일</p> <p>(주)현농 기업부설연구소장 </p>			<p>■ 농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙 [별지 제35호서식]</p> <p>공시번호: 제 공시-2-3-661 호</p> <h3 style="text-align: center;">유기농업자재 공시서</h3> <ol style="list-style-type: none"> 업체명: 농업회사법인 (주)와이엔바이오 대표자 성명: 사업장 소재지: 전라남도 자재의 명칭: 미생물+점토광물 자재의 구분: 토양개량 및 작물생육용 상표명: 회복토입제 주성분(원료)의 종류 및 함량(%): <ul style="list-style-type: none"> - 주성분의 종류 및 함량: <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 1.0×10⁶ cfu/g - 원료의 종류 및 함량: 미생물배양액(<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>) 16%, 제오라이트 84% 유효기간: 2021. 04. 22. ~ 2024. 04. 21. 제조장 주소 또는 수입원산지(국가, 제조사): 전라남도 최초 공시일: 2021. 04. 22. 최초 공시기관: 강원대학교 산학협력단 <p>「친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제38조제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제63조제3항에 따라 위와 같이 유기농업자재 공시임을 증명합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 04월 22일</p> <p style="text-align: center;">강원대학교 산학협력단장 </p> <p style="text-align: right; font-size: small;">210mm×297mm [복사지 150g/m²]</p>
시험 성적서																																									
의뢰인	업체명	(주)와이엔바이오																																							
	주소	전남																																							
	연락처	061																																							
공시품	명칭	회복토 입제																																							
검사항목	식물재배시험 (비해시험)	공시약제 처리에 의한 5작물의 비해시험																																							
용도	제출용																																								
시험 결과																																									
	고추	비해없음																																							
	당근	비해없음																																							
	들깨	비해없음																																							
	배추	비해없음																																							
	상추	비해없음																																							
<p>2021년 02월 09일</p> <p>(주)현농 기업부설연구소장 </p>																																									
비해 시험(고추, 당근, 들깨, 배추, 상추)	회복토 입제 유기농업자재 공시서																																								

그림 29. 회복토 입제 분석, 시험 성적서 및 유기농업자재 공시서

② 병해관리용 유기농업자재 ‘무름엔’

표 15. 무름엔 유기농업자재 공시 인증을 위한 분석항목 및 공인분석기관

무름엔	공인분석기관
주성분 분석(원료 및 제품에 대한 플라보노이드, 에틸알콜 함량)	강원대학교 친환경농산물안전성센터
독성 시험(안점막자극성 시험 외 5종)	(주)한국생물안전성연구소
잔류농약 분석	(주)현농 기업부설연구소
약해 시험(고추, 당근, 들깨, 배추, 상추)	(주)현농 기업부설연구소
약해 시험(수도작-벼)	강원대학교 친환경농산물안전성센터

- 함초 추출물을 이용한 병해관리용 유기농업자재의 인증을 위해 원료 및 제품의 주성분 분석(플라보노이드, 에틸 알콜)을 진행하였음.
- 병해관리용 자재의 약해 여부를 확인하기 위해 무름병 대상작물은 고추, 당근, 배추, 상추를 포함한 총 5개 작물에 대한 약해시험을 진행하였으며, 제품에 포함되어 토양 및 작물에 해를 입힐 수 있는 잔류농약 분석을 진행하였음.
- 유기농업자재 관련 법령에 따라 병해관리용 자재의 독성 시험 5종(안점막자극성, 급성경구독성, 급성 경피 독성, 급성독성, 피부자극성)을 진행하였으며, 경엽 처리 시 자재 비산에 대한 추가실험으로 꿀벌에 대한 급성 접촉 독성시험을 진행하였음.
- 유기농업자재 관련 법령에 따라 병해관리용 자재의 독성 시험 5종(안점막자극성, 급성경구독성, 급성 경피 독성, 급성독성, 피부자극성)을 진행하였으며, 경엽 처리 시 자재 비산에 대한 추가실험으로 꿀벌에 대한 급성 접촉 독성 시험을 진행하였음.
- 꿀벌 급성 접촉 독성 시험의 경우 계절에 따른 시험 제한으로(4월~10월 사이 가능) 벼에 대한 수도작 약해시험을 실시하여 병해관리용(수도작-벼)로 유기농업자재 공시 인증을 완료한 후 현재 병해관리용(경엽 처리-벼, 고추, 당근, 배추, 상추, 들깨)으로 변경을 진행에 있음.
- 함초 추출물을 이용한 병해관리용 유기농업자재 분석 결과 모든 항목에서 특이사항 없이 규격 이상의 결과를 나타내었으며, 이를 바탕으로 유기농업자재 공시 인증을 진행하였음(그림 30).

발급번호 제 EFAP-21-0045-2-A-1 호

이화학적 시험성적서

시험연월일	2021. 1. 14. ~ 1. 22.	제조(수입)년월일 (Batch No.)	-
시험책임자	소속 강원대학교 산학협력단 친환경농산물안전성센터	성명	
시험의뢰자	(주)외이엔바이오		
시료명(제품명)	무름엔		
주성분의 명칭	플라보노이드(Total Flavonoid)		
시험항목	결과(%)	시험방법	
1. 주성분	0.4215	UV/Vis spectrophotometer를 이용한 흡광도법	

1) 본 성적서는 의뢰인이 제공한 시료(제품)에 대한 결과이며, 시료명(제품명)은 의뢰인이 제공하였음.
2) 본 성적서는 의뢰인이 제공한 시료(제품)를 시험한 결과이며, 전체 시료(제품)에 대한 품질을 보증하지 않음.
3) 본 성적서는 광고, 진단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용할 수 없음.

본 성적서는 Hossain, M. A., Rahman, S. M. M. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. Food Research International. 44:672-676. 에 의한 분석법입니다.

2021년 1월 25일

강원대학교 산학협력단
친환경농산물안전성센터

발급번호 제 EFAP-21-0258-A-1 호

이화학적 분석성적서

분석년월일	2021. 03. 18.	제조(수입)년월일 (Batch No.)	2021. 03. 11.	
시험책임자	소속 친환경농산물안전성센터	성명		
분석의뢰자	(주)외이엔바이오			
품목명	무름엔			
유효성분의 명칭 및 함유량	Ethyl alcohol			
분 석 결 과				
분석항목	분석치(%)	분석방법		
1. 유효성분	62.0	식품공전에 따른 주정계법		
2. 물리성	항목	검사결과		
	수화성	- 해당사항 없음 -		
	분말도	- 해당사항 없음 -		
3. 외관	성상	-	색상	-
			냄새	-
4. 시험항목 (의뢰자 기재)				
첨부 자료 ○ 성적계산서 및 크로마토그램				
1) 본 성적서는 고객이 제공한 시료를 시험한 결과로써 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않음. 2) 본 성적서의 결과는 광고, 진단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용하지 않습니다.				

2021년 03월 22일

강원대학교 산학협력단
친환경농산물안전성센터

무름엔 제품 주성분 분석(플라보노이드)

무름엔 제품 주성분 분석(에틸알콜)

발급번호 제 EFAP-21-0045-1-A-1 호

이화학적 시험성적서

시험연월일	2021. 1. 14. ~ 1. 22.	제조(수입)년월일 (Batch No.)	-
시험책임자	소속 강원대학교 산학협력단 친환경농산물안전성센터	성명	
시험의뢰자	(주)외이엔바이오		
시료명(제품명)	함초 추출물		
주성분의 명칭	플라보노이드(Total Flavonoid)		
시험항목	결과(%)	시험방법	
1. 주성분	10.89	UV/Vis spectrophotometer를 이용한 흡광도법	

1) 본 성적서는 의뢰인이 제공한 시료(제품)에 대한 결과이며, 시료명(제품명)은 의뢰인이 제공하였음.
2) 본 성적서는 의뢰인이 제공한 시료(제품)를 시험한 결과이며, 전체 시료(제품)에 대한 품질을 보증하지 않음.
3) 본 성적서는 광고, 진단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용할 수 없음.

본 성적서는 Hossain, M. A., Rahman, S. M. M. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. Food Research International. 44:672-676. 에 의한 분석법입니다.

2021년 1월 25일

강원대학교 산학협력단
친환경농산물안전성센터

발급번호 제 EFAP-21-0142-1-A-1 호

이화학적 분석성적서


분석년월일	2021. 02. 18.	제조(수입)년월일 (Batch No.)	2021. 02. 15.	
시험책임자	소속 친환경농산물안전성센터	성명		
분석의뢰자	(주)외이엔바이오			
품목명	발효주정			
유효성분의 명칭 및 함유량	Ethyl alcohol			
분 석 결 과				
분석항목	분석치(%)	분석방법		
1. 유효성분	93.5	식품공전에 따른 주정계법		
2. 물리성	항목	검사결과		
	수화성	- 해당사항 없음 -		
	분말도	- 해당사항 없음 -		
3. 외관	성상	-	색상	-
			냄새	-
4. 시험항목 (의뢰자 기재)				
첨부 자료 ○ 성적계산서 및 크로마토그램				
1) 본 성적서는 고객이 제공한 시료를 시험한 결과로써 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않음. 2) 본 성적서의 결과는 광고, 진단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용하지 않습니다.				

2021년 02월 19일

강원대학교 산학협력단
친환경농산물안전성센터

함초 추출물 주성분 분석(플라보노이드)

발효주정 주성분 분석(에틸알콜)

시험 성적서		
의뢰인	업체명	(주)와이앤바이오
	주소	전남
	연락처	061-
공시품	명칭	무름엔
검사항목	식품재배시험 (약해시험)	공시약제 처리에 의한 5작물의 약해시험
용도	제출용	
시험 결과		
고추		약해없음
당근		약해없음
들깨		약해없음
배추		약해없음
상추		약해없음
2021년 02월 09일 (주)현농 기업부설연구소장 		

무름엔의 작물(벼)에 대한 농약피해 시험



시험기간 : 2021. 04. 06. ~ 2021. 04. 13.

시험의뢰회사명 : (주)와이앤바이오

시험기관명 : 강원대학교 산학협력단
친환경농산물안전성센터



HYUNNONG

EFAPSC

1/8

약해 시험(고추, 당근, 들깨, 배추, 상추)

약해 시험(수도작-벼)

Study No.: ATE-21015

Final Report

Study No.: ATO-21014

Final Report

최종보고서

New Zealand White계 토끼를 이용한 무름엔의
안점막자극성시험

ATE-21015

최종보고서

랫드를 이용한 무름엔의 급성경구독성시험

ATO-21014



(주) 한국생물안전성연구소



(주) 한국생물안전성연구소

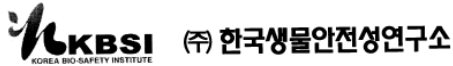
KBSI

KBSI

최종보고서

랫드를 이용한 무름엔의 급성경피독성시험

ATP-21013



KBSI

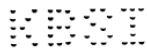
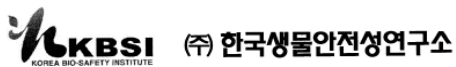
1 page of 16

독성 시험(급성경피독성시험)

최종보고서

New Zealand White계 토끼를 이용한 무름엔의
피부자극성시험

ATD-21014



KBSI

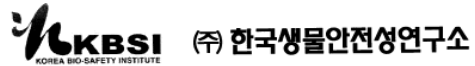
1 page of 17

독성 시험(피부자극성시험)

최종보고서

무름엔의 담수어류 (제브라피쉬, *Brachydanio rerio*)
급성독성시험

ETF-20121



KBSI

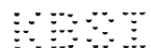
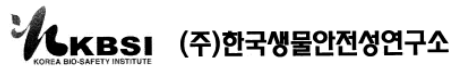
1 page of 16

독성 시험(급성독성시험)

최종보고서

무름엔의
꿀벌 (*Apis mellifera*) 급성접촉독성시험

ETBC-21012



KBSI

1 page of 16

독성 시험(급성접촉독성시험)

(주)현농
 HANONG.CO.LTD

- (주) 현농 기업부설연구소
- (주) 500-757 동주광역시 북구 동흥로 77 건국대학교 친환경농업연구소 510호
- 전화 062) 530-5312, 팩스 062) 530-5311
- 운영책임자: 김승훈, 시험책임자: 박우연, 시험담당자: 이희종

■ 문서번호 : HN20-10-208 ■ 제작 : 잔류농약분석센터 교부
 ■ 시행일자 : 2020. 12. 09 ■ 발송 : 장 조

시험 성적서

1. 의뢰인

검 수 번 호	HN20-10-208	검 수 일 자	2020. 12. 09
신 청 인	농업회사법인 주식회사 와이엔바이오		
수 거 지 번	전라남도		
비 고			

2. 의뢰내역

검 사 품 목	무름엔
검 사 항 목	관류농약 822성분 (Abamectin 외)
용 도	유기농업자재 공사용
인 증 구 분	유기농업자재
비 고	

3. 시험결과

검 사 품 목	검 출 성분	검 출 량 (mg/kg)	비 고
무름엔	822성분 불검출		

* 상기내용은 제공된 시료에 대한 결과로서 시험한 결과물 추가 측정 시료에 적용할 수 없습니다.
 * 본 성적서는 시험뢰의 목적 이외의 광고, 선전용 상업적인 용도나 일체의 해권의 용도로 사용할 수 없습니다.

2020년 12월 10일

(주) 현농 기업부설연구소장

잔류농약 분석



■ 친환경산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙 (별지 제36호서지) (약용)

공시번호: 제 공시-2-4-184 호

유기농업자재 공시서

1. 업체명: 농업회사법인 (주)와이엔바이오
2. 대표자 성명:
3. 사업장 소재지: 전라남도
4. 자재의 명칭: 식물추출물+에틸알콜
5. 자재의 구분: 병해관리용
6. 상표명: 무름엔
7. 주성분(원료)의 종류 및 함량(%):
 - 주성분의 종류 및 함량: Total-Flavonoid, Ethylalcohol
 - 원료의 종류 및 함량: 함초추출물 4%, 발효주정 67%, 보조제 29%
8. 유효기간: 2021. 05. 24. ~ 2024. 05. 23.
9. 제조장 주소 또는 수입원산지(국가, 제조사): 전라남도
10. 최초 공시일: 2021. 05. 24.
11. 최초 공시기관: 강원대학교 산학협력단

「친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제38조제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제63조제3항에 따라 위와 같이 유기농업자재 공시임을 증명합니다.

2021년 05월 24일

강원대학교 산학협력단장



210mmX297mm(백신지 150g/㎡)

무름엔 유기농업자재 공시서

그림 30. 무름엔 분석, 시험 성적서 및 유기농업자재 공시서

- 최종적으로 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재(회복토 입제)와 병해관리용 유기농업자재(무름엔) 총 2건의 유기농업자재 공시 인증을 완료하였으며, 제품으로 출시하였음 (그림 31).



토양개량 및 작물생육용 유기농업자재
회복토 입제(5 kg)



병해관리용 유기농업자재
무름엔(1 L)

그림 31. 유기농업자재 제품 출시 2건

(9) *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주를 주성분으로 하는 유기농업자재의 저장·안정성
(유효 균수 유지 기간 검증)

- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주 입상 제형 시제품의 저장 기간에 따른 안정성을 확인하기 위하여 저장 온도 및 기간에 따른 균체 보존율을 확인하였음. 저장 온도 4℃에서 저장 9개월 동안 *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 생균수를 확인한 결과는 그림 32와 같았음.
- 초기 생균수 8.48 log CFU/g에서 저장 2개월에 7.18 log CFU/g으로 감소하였고, 저장 3개월부터 8개월까지 6.48 ~ 6.79 log CFU/g 수준으로 유지하다가 저장 9개월에는 6.62 log CFU/g로 초기 생균수 대비 78%의 보존율을 확인하였음.
- 저장 온도 20℃에서 저장 9개월 동안 *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 생균수를 확인한 결과는 그림 33과 같았음. 초기 생균수는 8.48 log CFU/g로 저장 1개월에 7.58 log CFU/g에서 저장 3개월까지 6.20 log CFU/g로 계속적으로 감소하였고, 저장 4개월부터 9개월까지 6.08 ~ 6.58 log CFU/g 수준으로 유지하다가 저장 9개월에는 6.26 log CFU/g로 초기 생균수 대비 73%의 보존율이 확인됨.
- 저장 온도 및 기간에 따라 입상제형 시제품에서 *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 생균수를 비교한 결과, 시제품의 저장 기간이 길어짐에 따라 4℃와 20℃ 두 온도 조건에서 균주의 생균수가 감소하는 것이 확인되었음. 또한 저장 온도에 따라 생균수가 급격하게 감소하지 않고 보증균수 수준으로 유지되었지만, 저장 온도 20℃ 보다 4℃에서 균체 보존율이 더 높은 것을 확인하였음.

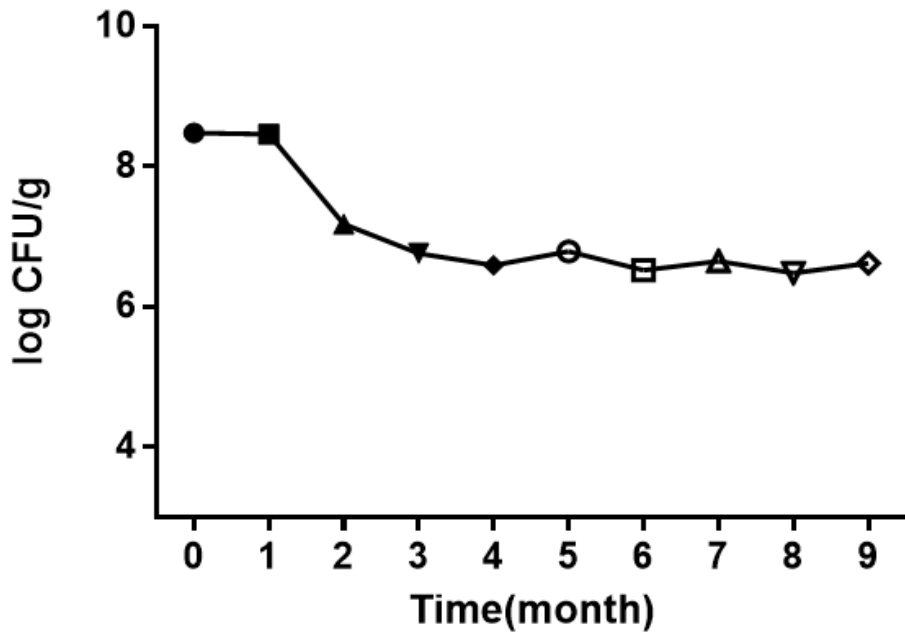


그림 32. 4°C에서 입제형의 저장 기간에 따른 *A. calcoaceticus* 4-2-2 생균수 변화

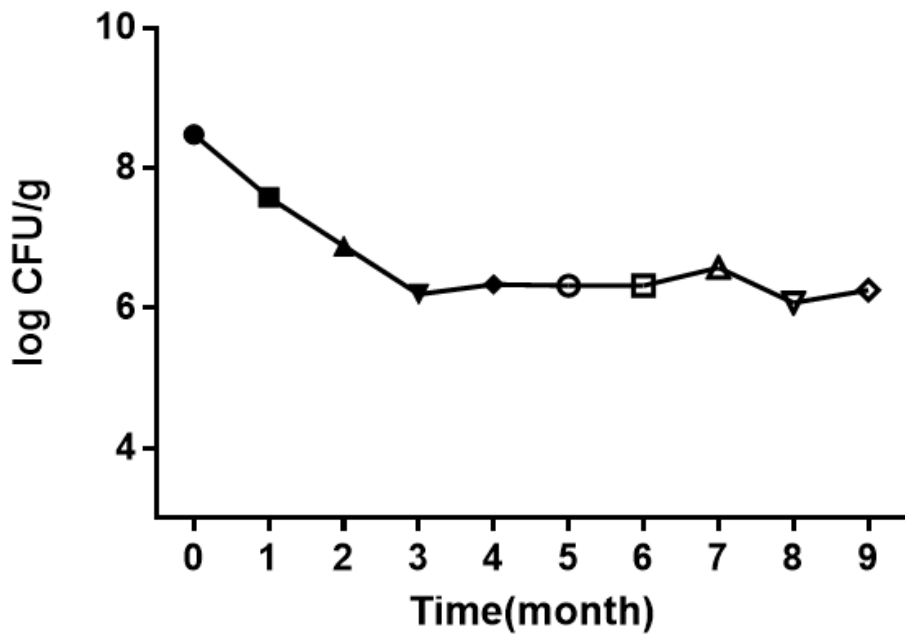


그림 33. 20°C에서 입제형의 저장 기간에 따른 *A. calcoaceticus* 4-2-2 생균수 변화

(11) 함초 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재의 저장·안전성
(유효성분 지속 기간 검증)

- 본 연구에서는 함초 추출물을 유기농업자재로 활용한 제품을 활용하여 지표물질을 중심으로 제품 안전성을 연구함. 그러나 함초 추출물을 이용하여 제조된 제품은 판매되고 있지 않아 반감기의 시험이 불가능하였음.
- 함초 추출물을 함유한 액상제형 시제품을 보관온도(실온, 0°C)에 따른 주요 지표성분(총 플라보노이드)의 변화를 최대 120일 간 저장하며 확인하였음(그림 34).
- 함초 추출물의 지표성분으로 설정한 총 플라보노이드 함량은 Zhishen의 방법에 따라 측정하였음(Zhishen 등, 1999). 시료 500 μL 에 5% NaNO_2 75 μL 를 첨가하여 상온에서 5분간 반응시킨 후에 10% AgCl_3 150 μL 를 첨가하였음. 이 용액에 1 M NaOH 0.5 mL와 증류수 275 μL 를 첨가하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였음. 총 플라보노이드 함량은 catechin (Sigma-Aldrich Co.)을 표준물질로 사용하여 작성한 검량곡선으로 함량을 계산한 후에 시료 mL당 μg catechin equivalent(CE)로 나타내었음.
- 상온 실험결과, 총 실험기간 동안 함초 추출물이 함유된 시제품에서 품질변화는 관찰되지 않았음. 주요지표 성분의 함량의 경우 저장기간 120일 동안 90%이상 함유하는 것을 확인할 수 있었음.
- 0°C 실험결과, 총 실험기간 동안 함초 추출물이 함유된 시제품에서 품질변화는 관찰되지 않았고, 주요지표 성분의 함량의 경우 상온 실험결과보다 조금 높았으나 큰 변화는 관찰되지 않았음.
- 함초 추출물을 함유한 개발된 유기농업자재의 경우 상온에서도 120일 동안 주요 지표성분의 함량 변화 없이 안전하게 유지되는 것을 확인할 수 있었음.

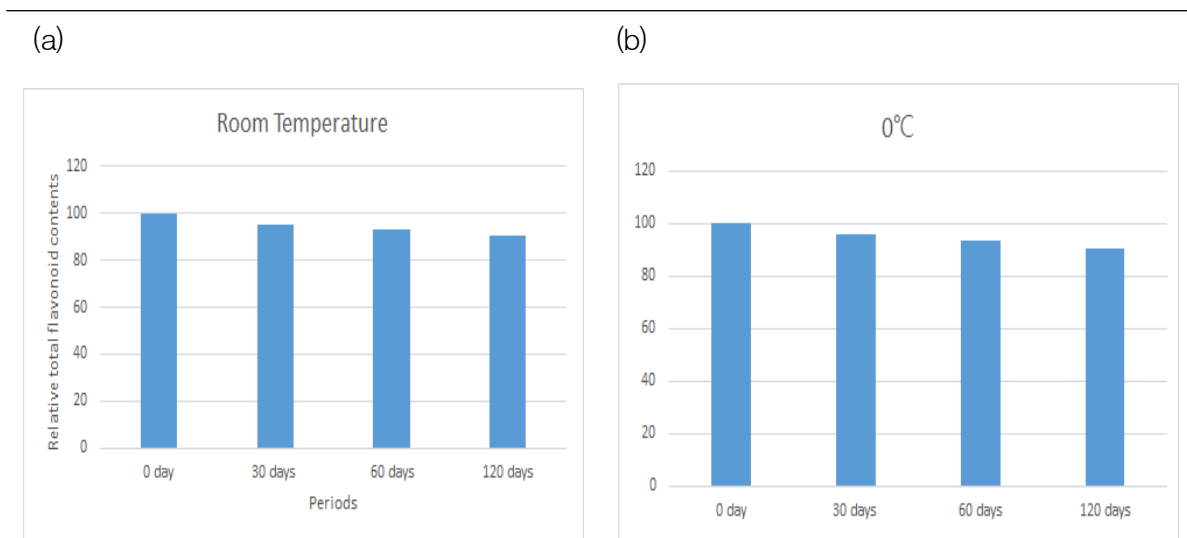


그림 34. 함초 추출물이 함유된 시제품의 온도별, 기간별 주요 유효성분 함량 비교

(10) 시제품 활용 현장적용 시험

① 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재(제품명 : 회복토 입제)

- 잔류농약 분해 미생물(*A. calcoaceticus* 4-2-2)을 이용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 시제품을 생산하여 잔류 농약 피해를 입은 농가를 섭외, 효능확인을 위한 현장 실증 시험을 진행하였음(그림 35, 36).
- 현장 실증 시험을 진행한 농가는 전남 장성군에 위치한 블루베리 농가로, 침투형 수화제인 지오판 수화제(Thiophanate-methy)을 권장 희석배수 및 사용량 보다 고농도, 지속적으로 사용하여 토양에서 높은 함량의 잔류농약이 검출됨을 확인하였음.



전남 장성군 블루베리 농가 전경

잔류농약 분석을 위한 무처리 토양 샘플 채취

그림 35. 전남 장성군에 위치한 블루베리 농가 현장 실증 시험

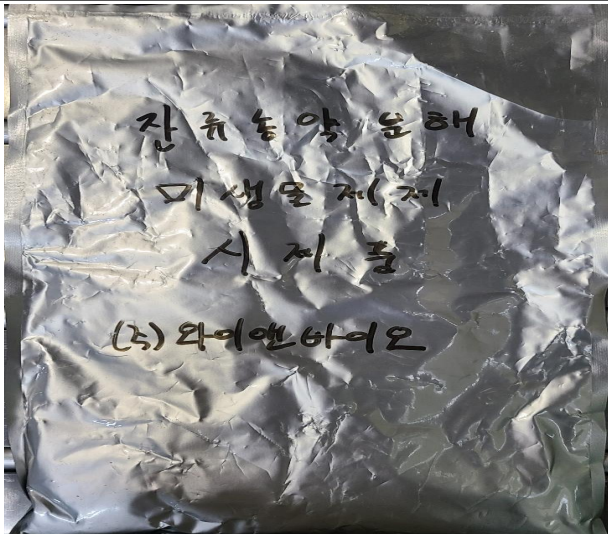
표 16. 전남 장성군 블루베리 농가 무처리 토양시료 잔류농약 분석 결과

시료채취	검출성분	검출량 (mg/kg)
2021.03.22	Azoxystrobin	0.216
	Carbendazim	4.265
	Fludioxonil	0.008

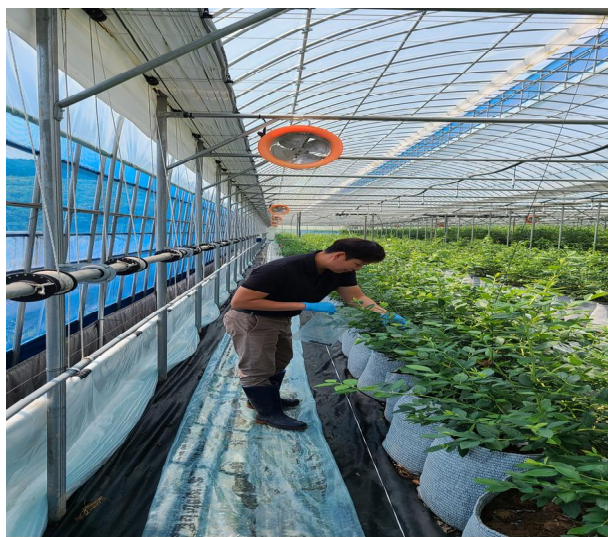
- 무 처리 토양시료의 잔류농약을 분석한 결과 매우 높은 함량의 Carbendazim을 비롯하여 Azoxystrobin, Fludioxonil 성분도 검출되었음.
- 본 토양의 잔류농약 분해를 위한 시제품 현장 실증 시험은 정확한 효능 확인을 위해 1개월의 기간에 걸쳐 실시하였음.



잔류농약 피해 농가 시제품 전달 및 제품 설명



미생물을 통한 잔류농약 분해 시제품



시제품 사용 후 토양분석을 위한 샘플 채취

그림 36. 전남 장성군에 위치한 블루베리 농가 현장 실증 시험

- 잔류 농약 분해능을 가진 입제형 미생물제제 시제품은 블루베리 포트마다 20~50 g 살포 하였으며, 7일 간격으로 3회 처리를 진행하였고, 매 처리시마다 미생물의 잔류 농약 분해 능이 발현될 수 있도록 7일 후 해당 토양 샘플을 채취하여 분해능을 확인하였음.

표 17. 전남 장성군 블루베리 농가 시제품 1차 처리 토양시료 잔류농약 분석 결과

시료채취	검출성분	검출량 (mg/kg)
2021.03.29	Azoxystrobin	0.039
	Carbendazim	1.362
	Fludioxonil	0.016

- 시제품 1회 처리 후 농약분해활성으로 무처리구 대비 Azoxystrobin이 81% 감소하여 가장 높은 분해율을 보였으며, 높은 함량이 검출된 Carbendazim의 경우 68% 감소로 가장 많은 양(2.903 mg/kg)이 분해됨을 확인하였음.

표 18. 전남 장성군 블루베리 농가 시제품 2차 처리 토양시료 잔류농약 분석 결과

시료채취	검출성분	검출량 (mg/kg)
2021.04.06	Azoxystrobin	0.037
	Carbendazim	1.079
	Fludioxonil	*N.D

*N.D : Not detected

- 시제품 2회 처리 후 농약분해활성으로 1차 처리 대비 Azoxystrobin이 소량 감소하였으며, Carbendazim의 경우 20% 감소율을, Fludioxonil 성분은 검출되지 않아 농약 분해 미생물을 통한 농약분해활성을 확인하였음.

표 19. 전남 장성군 블루베리 농가 시제품 3차 처리 토양시료 잔류농약 분석 결과

시료채취	검출성분	검출량 (mg/kg)
2021.04.12	Azoxystrobin	0.015
	Carbendazim	0.907
	Fludioxonil	*N.D

*N.D : Not detected

- 시제품 3회 처리 후 최종적으로 무처리구 대비 Azoxystrobin 성분은 93% 감소, Carbendazim의 경우 55.3% 감소(2.358 mg/kg 감소), Fludioxonil 성분 100% 감소되어 농약 분해 미생물을 통한 농약분해활성이 매우 효과적으로 발현됨을 확인하였음.

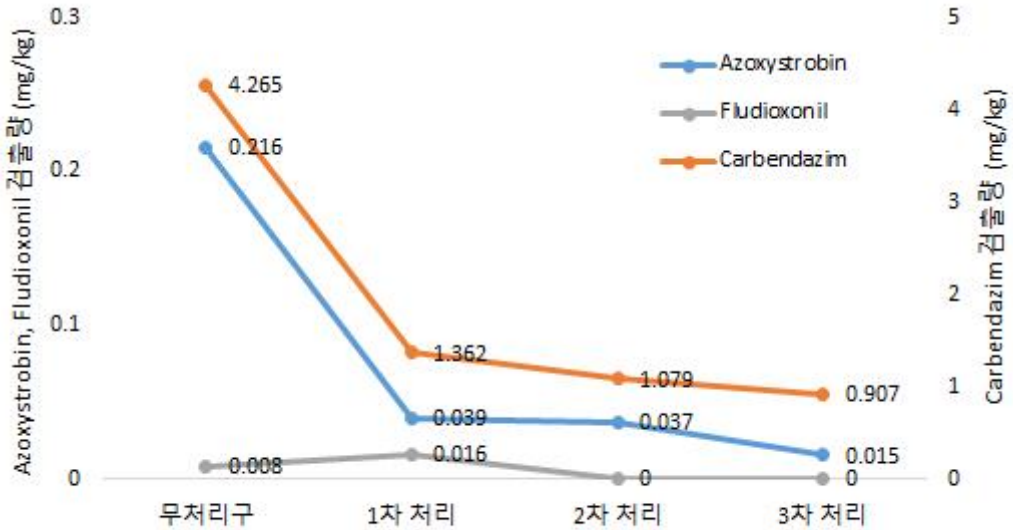


그림 37. 전남 장성군 블루베리 농가 잔류농약 분해 현장 실증 시험 결과

- 추가적으로 본 시제품을 3회 사용 후 새롭게 형성된 블루베리 과실에 대한 잔류농약 분석을 진행한 결과는 다음과 같음(표 20).

표 20. 전남 장성군 블루베리 농가 시제품 3차 처리 후 형성된 블루베리 과실 잔류농약 분석 결과

시료채취	검출성분	검출량 (mg/kg)
2021.04.12	Azoxystrobin	*N.D
	Carbendazim	0.016
	Fludioxonil	*N.D

*N.D : Not detected

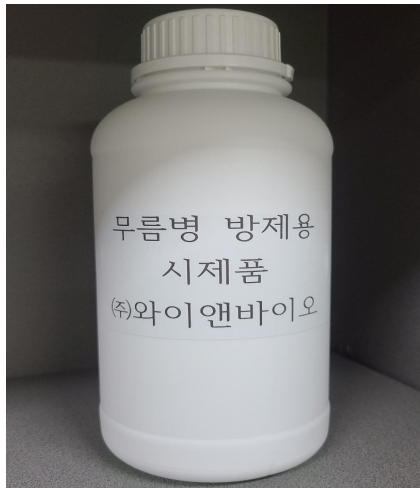
- 추가실험 결과 새롭게 형성된 블루베리 과실에서 Azoxystrobin과 Fludioxonil 성분은 검출되지 않았으며, Carbendazim은 허용기준(0.2 mg/kg)내의 매우 낮은 양이 검출되어 시제품을 통한 토양 잔류농약 분해와 동시에 작물에 대한 잔류농약 분해를 확인하였음.

② 병해관리용 유기농업자재(제품명 : 무름엔)

- 함초 추출물을 이용한 병해관리용 유기농업자재 시제품을 생산하여 무름병 피해를 입은 농가를 섭외, 효능확인을 위한 현장 실증 시험을 진행하였음(그림 38).
- 현장 실증 시험을 진행한 농가는 전남 담양군에 위치한 소규모 농가로, 토양에서 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (PCC)균주가 확인되었으며, 무름병 예방을 위해 배추 정식 후 7일 간격 3회 처리하였으며, 무처리구와 200배 희석, 500배 희석 처리구로 분류하여 무름병 방제 효과를 확인하였음.



전남 담양군 배추 농가 전경



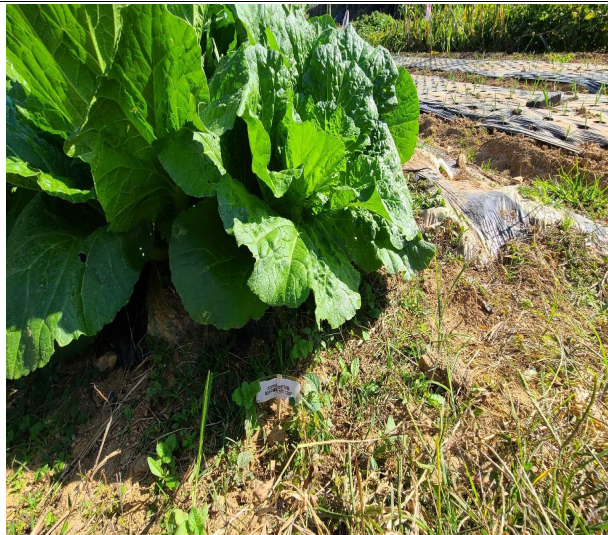
함초 추출물을 이용한 무름병 방제용 시제품

그림 38. 전남 장성군에 위치한 블루베리 농가 현장 실증 시험

- 무름병 방제용 시제품 3차 처리 후 배추의 상태를 육안으로 확인한 결과 무처리구 배추에서는 무름 현상이 진행되고 있었으나, 무름병 방제용 시제품 200배, 500배 희석 처리구에서는 무름 현상이 나타나지 않음(그림 39).
- 본 현장 실증 시험 결과를 바탕으로 함초 추출물을 이용한 무름병 방제용 시제품의 무름병 원인균 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (PCC)균주 활성 및 무름 현상에 대한 발병을 억제하는 것으로 확인되었음.



무처리구



무름병 방제용 시제품 200배 희석 처리구(좌 : 처리 전, 우 : 3차 처리 후)



무름병 방제용 시제품 500배 희석 처리구(좌 : 처리 전, 우 : 3차 처리 후)

그림 39. 전남 장성군에 위치한 블루베리 농가 현장 실증 시험

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구 수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

- 농약분해미생물(*A. calcoaceticus* 4-2-2)의 산업용 배지 개발
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 최적 발효 조건 확립
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 대량 발효 조건 확립
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주를 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재 (입제형) 시제품 개발
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주를 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재 목록 공시 인증
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주를 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재의 균주 생존수 유지 기간 검증
- 무름병 방제 효과를 가지는 함초 추출물의 지표성분 확립
- 무름병 방제 효과를 가지는 함초 추출물의 대량 추출 공정 확립
- 무름병 방제 효과를 가지는 함초 추출물을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재 시제품 개발
- 무름병 방제 효과를 가지는 함초 추출물을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재 목록 공시 인증
- 무름병 방제 효과를 가지는 함초 추출물을 주성분으로 병해관리용 유기농업자재의 유효 성분 지속 기간 검증

(2) 정량적 연구개발성과

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2020~2021)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문 (비SCI)	목표(단계별)	1	1	-
		실적(누적)	-	-	-
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	기술실시 (이전)	목표(단계별)	0	0	-
		실적(누적)	1	1	-
	기술료	목표(단계별)	0	0	-
		실적(누적)	10,000	10,000	-
	제품화	목표(단계별)	2	2	30
		실적(누적)	2	2	-
	매출액	목표(단계별)	200,000	200,000	25
		실적(누적)	200,000	200,000	-
	고용창출	목표(단계별)	2	2	15
		실적(누적)	3	3	-
	기술(제품) 인증	목표(단계별)	2	2	20
		실적(누적)	2	2	-
	시제품 제작	목표(단계별)	2	2	-
		실적(누적)	2	2	-
	교육지도	목표(단계별)	2	2	5
		실적(누적)	4	4	-
홍보(전시)	목표(단계별)	1	1	5	
	실적(누적)	1	1	-	
계	목표(단계별)	-	-	100	
	실적(누적)	-	-	-	

* 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCI, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신제품 등

을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.

- * 2」 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 실제 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국식품영양과학회 2020년도 국제심포지엄 및 제 71차 정기학술대회	정혜, 김현, 박연	2020.10.21.	제주국제컨벤션센터	대한민국

[기술적 성과]

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		
1	유기농업자재 (토양 개량 및 작물생육용) 공시 인증	강원대학교 산학협력단	회복토 입제	공시-2-3-661호	2021.04.22.	대한민국
2	유기농업자재 (병해관리용) 공시 인증	강원대학교 산학협력단	무름엔	공시-2-4-184호	2021.05.24.	대한민국

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	회복토 입제	2020.12.01	(주)와이앤바이오	-	농업	1년	강원대학교 산학협력단	2021.04.22.
2	무름엔	2020.12.01	(주)와이앤바이오	-	농업	1년	강원대학교 산학협력단	2021.05.24.

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	기술이전	함초 추출물을 유효성분으로 포함하는 배추 무름병 원인균 억제용 향균 조성물	(주)와이앤바이오	2020.12.03.	10백만 원	10백만 원

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	기술이전	신제품 개발	국내	회복토 입제	기술이전 및 지원사업을 통한 신제품 개발	(주)와이앤바이오	176,277	-	2021년	5년
2	기술이전	신제품 개발	국내	무름엔	기술이전 및 지원사업을 통한 신제품 개발	(주)와이앤바이오	58,077	-	2021년	5년

* 1」 기술이전 또는 자기실시

* 2」 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3」 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
회복토 입제	2021년	176,277	-	176,277	제품 판매를 통한 매출 발생
무름엔	2021년	58,077	-	58,077	제품 판매를 통한 매출 발생
합계		234,354	-	234,354	

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	2021년	
1	농식품연구성과후속 지원사업	㈜와이앤바이오	3	0	3
합계			3	0	3

□ 고용 효과

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

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도	농식품연구성과 후속지원사업	-	-	234,354	-	3	-
기대 목표	농식품연구성과 후속지원사업	-	-	200,000	-	2	-

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원
1	유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개	2021.02.19.	비료 판매점 직원	들녘마트 사무실	4명
2	유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개	2021.03.29.	농약사 직원	함열농약사 사무실	3명
3	유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개	2021.04.16.	보성농협 직원	보성농협 사무실	3명
4	유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개	2021.05.07.	창평 농가	창평면 식당	3명

[사회적 성과]

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	전시	(재)농축산용미생물산업육성지원센터	(재)농축산용미생물산업육성지원센터 현장 전시	21.04.26~21.04.30 (5일)

[그 밖의 성과](해당사항 없음)

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

- 기술이전: 1건
- 기술료 : 10,000천원
- 학술발표: 1건

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)															
○ 제품화 2건	○ 유기농업자재 제품화 2건 <ul style="list-style-type: none"> - <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 4-2-2 균주(농약분해미생물)을 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재(제품명: 회복토 입제) 목록 공시 인증 및 제품화 1건 - 함초 추출물(무름병 방제 효과)을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재(제품명: 무름엔) 목록 공시 인증 및 제품화 1건 	○ 100%															
○ 매출액 200백만 원	○ 매출액 234백만 원 <ul style="list-style-type: none"> - 회복토 입제 매출액(국내) 176백만 원 - 무름엔 매출액(국내) 58 백만 원 	○ 117%															
○ 고용창출 2명	○ 고용창출 3명 <ul style="list-style-type: none"> - 연구인력 2명 - 생산인력 1명 	○ 150%															
○ 기술인증 2건	○ 기술인증 2건	○ 100%															
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">제품명</th> <th style="text-align: center;">인증내용</th> <th style="text-align: center;">최초 공시기관</th> <th style="text-align: center;">최종 공시일</th> <th style="text-align: center;">인증 유효기간</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">회복토 입제</td> <td style="text-align: center;">토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재</td> <td style="text-align: center;">강원대학교 산학협력단</td> <td style="text-align: center;">2021.04.22</td> <td style="text-align: center;">2021.4. 22 - 2024.4.21.</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">무름엔</td> <td style="text-align: center;">병해관리용 유기농업자재</td> <td style="text-align: center;">강원대학교 산학협력단</td> <td style="text-align: center;">2021.05.24</td> <td style="text-align: center;">2021.5. 24 - 2024.5.23.</td> </tr> </tbody> </table>	제품명	인증내용	최초 공시기관	최종 공시일	인증 유효기간	회복토 입제	토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.04.22	2021.4. 22 - 2024.4.21.	무름엔	병해관리용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.05.24	2021.5. 24 - 2024.5.23.	
제품명	인증내용	최초 공시기관	최종 공시일	인증 유효기간													
회복토 입제	토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.04.22	2021.4. 22 - 2024.4.21.													
무름엔	병해관리용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.05.24	2021.5. 24 - 2024.5.23.													
○ 교육지도 2건	○ 교육지도 4건 <ul style="list-style-type: none"> - 교육내용: 유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개 - 기간: 2021. 2. 19 - 2021. 5. 7 - 참석대상: 비료 판매점, 농약사, 농협, 농가 - 교육인원 : 총 13명 	○ 200%															
○ 홍보전시 1건	○ 홍보전시 1건 <ul style="list-style-type: none"> - (재)농축산용미생물산업육성지원센터 현장 전시 - 홍보기간: 21.04.26 - 21.04.30 (5일) 	○ 100%															

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 논문 지표의 경우 비SCI를 목표로 설정하였지만, 연구기간 동안 SCI를 목표로 진행하고자 하여 당초 예상보다 늦어지게 됨. 6월 투고를 목표로 진행되어 향후 성과활용기간 1년차에 논문이 게재되도록 하겠음.

2) 자체 보완활동

- 해당사항 없음.

3) 연구개발 과정의 성실성

- 주관기관과 협동기관은 당초 연구개발 목표 및 수행내용에 대하여 각 기관별 연구내용을 성실하게 수행하였으며, 유기적인 결과 활용으로 정성적 목표를 100% 달성하였음. 또한, 연구 성과물의 사업화를 통한 제품화, 매출액, 고용창출 등의 목표를 100% 달성하였음.

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- PLS 시행에 따른 토양 및 농산물의 잔류 농약 문제를 해결하고 무름병 방제 효과를 가진 친환경농자재 공급으로 비용 절감 및 농가소득증대에 기여
- 친환경 및 지속가능한 농업을 통한 농업생태계 보호 및 환경오염 방지에 기여
- 전남도를 시점으로 전국 지자체 예산을 기반으로 사업화가 예상되고 있으며, 이를 통한 소비채널의 형성을 시작으로 전국적으로 확산이 예상됨
- 친환경농업육성정책의 부합되는 토양개량 및 병해의 효과적인 방제수단의 도출 및 산업화

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 개발제품의 유기농업자재 인증 및 제품화 : 2품목(토양개량 및 작물생육용 미생물제제, 병해관리용 식물추출물제제)
- 현장적용: 개발제품은 로컬푸드 및 푸드플랜 생산의 방제 사업 및 원예작물 토양 및 친환경 및 유기농 농산물 생산에 활용
- 판매계획: 각 지자체 및 농협의 지원 사업을 통한 개발제품을 농가에 보급하고, 농협중앙회 유통, 자체 쇼핑몰 구축 및 나라장터 쇼핑몰을 이용하여 판매
- 식물 추출물 원료 안정성 확인 및 출하제품에 대한 품질관리기준 확립에 활용
- 기존 유기농농업자재 함량미달 제품에 대한 법률적·제도적 관리에 활용(제도개선)
- 유기농업자재 제품의 유통기술 및 유통기한 설정에 활용가능
- 농업인을 위한 제품의 안전사용법 및 사용기준을 설정하는데 활용

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	1	
	비SCIE	-	
	계	1	
국내논문	SCIE	-	
	비SCIE	-	
	계	-	
특허출원	국내	-	
	국외	-	
	계	-	
특허등록	국내	-	
	국외	-	
	계	-	
인력양성	학사	-	
	석사	-	
	박사	-	
	계	-	
사업화	상품출시	2	
	기술이전	-	
	공정개발	-	
제품개발	시제품개발	-	
비임상시험 실시		-	
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	-
		2상	-
		3상	-
	의료기기	-	
진료지침개발		-	
신의료기술개발		-	
성과홍보		1	
포상 및 수상실적		-	

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화 (영문) Commercialization of organic materials based on microorganisms and natural products for the production of safe foods as an alternative to the PLS system				
주관연구기관	농업회사법인(주)와이앤바이오		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 농업회사법인(주)와이앤바이오	
협 동 기 관	한국식품연구원부설 세계김치연구소			(성명) 장 규	
총연구개발비 (단위: 천원)	계	176,000	총 연구 기간	2020. 04. 20 ~ 2021. 04. 21. (1년)	
	정부출연 연구개발비	140,000	총 참 여 수	총 인원	6 명
	기업부담금	36,000		내부인원	3 명
	연구기관부담금			외부인원	3 명

○ 연구개발 목표 및 성과

PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화

- *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2 균주(농약분해미생물)을 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재 목록 공시 인증 및 제품화
- 함초 추출물(무름병 방제 효과)을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재 목록 공시 인증 및 제품화

○ 연구내용 및 결과

1. 미생물 유래 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 개발

- 농약 분해 능력을 갖는 *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2 균주의 산업용 배지 개발
- *A. calcoaceticus* 4-2-2 균주의 최적 대량 발효 조건 확립
- 입제형 시제품 개발 및 저장 안정성 확인

2. 식물 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 개발

- 식물 추출물 대량 추출 공정 확립
- 병해관리용(무름병 방제) 식물추출물의 지표성분 확립 및 유효지속 기간 검증
- 액상형 시제품 개발 및 저장·안정성 확인

3. 개발제품의 유기농업자재 목록 공시 인증

- 친환경 적합성 확인(독성 검사, 현장 적용 시험 등)

4. 개발제품의 제품화 및 사업화

- 대량 생산 공정 확립 및 현장적용 시험
- 제품 디자인 및 포장재 개발

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 유기농업자재 제품화 2건

- *Acinetobacter calcoaceticus* 4-2-2 균주(농약분해미생물)을 주성분으로 하는 토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재(제품명: 회복토 입제) 목록 공시 인증 및 제품화 1건
- 함초 추출물(무름병 방제 효과)을 주성분으로 하는 병해관리용 유기농업자재(제품명: 무름

엔) 목록 공시 인증 및 제품화 1건

2. 매출액 234백만 원

- 회복토 입제 매출액(국내) 176백만 원
- 무름엔 매출액(국내) 58 백만 원

3. 고용창출 3명

- 연구인력 2명
- 생산인력 1명

4. 기술인증 2건

제품명	인증내용	최초 공시기관	최종 공시일	인증 유효기간
회복토 입제	토양 개량 및 작물생육용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.04.22	2021.4. 22 - 2024.4.21.
무름엔	병해관리용 유기농업자재	강원대학교 산학협력단	2021.05.24	2021.5. 24 - 2024.5.23.

5. 교육지도 4건

- 교육내용: 유기농업자재 개발 제품에 대한 교육 및 소개
- 기간: 2021. 2. 19 -2021. 5. 7
- 참석대상: 비료 판매점, 농약사, 농협, 농가
- 교육인원 : 총 13명

6. 홍보전시 1건

- (재)농축산용미생물산업육성지원센터 현장 전시
- 홍보기간: 21.04.26 - 21.04.30 (5일)

7.. 연구성과 활용계획

- 개발제품의 유기농업자재 인증 및 제품화 : 2품목(토양개량 및 작물생육용 미생물제제, 병해 관리용 식물추출물제제)
- 현장적용: 개발제품은 로컬푸드 및 푸드플랜 생산의 방제 사업 및 원예작물 토양 및 친환경 및 유기농 농산물 생산에 활용
- 판매계획: 각 지자체 및 농협의 지원 사업을 통한 개발제품을 농가에 보급하고, 농협중앙회 유통, 자체 쇼핑몰 구축 및 나라장터 쇼핑몰을 이용하여 판매
- 식물 추출물 원료 안정성 확인 및 출하제품에 대한 품질관리기준 확립에 활용
- 기존 유기농농업자재 함량미달 제품에 대한 법률적·제도적 관리에 활용(제도개선)
- 유기농업자재 제품의 유통기술 및 유통기한 설정에 활용가능
- 농업인을 위한 제품의 안전사용법 및 사용기준을 설정하는데 활용

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		120031-1	
사업구분	농식품연구성과후속지원사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농식품연구성과후속지원사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화			과제유형	(개발)
연구개발기관	농업회사법인주식회사 와이앤바이오 한국식품연구원부설 세계김치연구소			연구책임자	장규정
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020. 04. 20. ~ 2021. 04. 19.	140,000	36,000	176,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
계	2020. 04. 20. ~ 2021. 04. 19.	140,000	36,000	176,000	
참여기업	농업회사법인주식회사 와이앤바이오				
상대국			상대국연구개발기관		

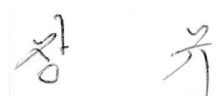
2. 평가일 : 2021. 06. 16.

3. 평가자(연구책임자) : 장규

소속	직위	성명
농업회사법인주식회사 와이앤바이오	대표이사	장규

4. 평가자(연구책임자) 확인 : 장영규

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 보통

- 본 연구개발결과는 기존 특허 출원된 기술을 기반으로 사업화를 위한 대량 배양, 대량 추출 조건 확립 및 이를 통한 최적 생산 공정 확립에 의의가 있음.
- 기존 개발기술의 사업화 특성 상 최종성과는 기술의 개량, 개선이 아닌 제품화이기 때문에 연구개발의 창의성에서는 아쉬운 모습을 나타내나, 높은 효능과 안정성을 가지는 시제품의 대량 생산 공정을 확립하여 최종 제품화 및 유기농업자재 인증을 받은 부분은 사업성에 있어 우수한 결과라고 판단됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

- 친환경 원료인 미생물과 천연추출물을 이용한 친환경 제품의 개발은 농가의 생산력 향상 및 소득 증대에 도움이 되며 소비자층 또한 만족하여 기업, 생산농가, 농산물 소비자가 모두 만족하는 순환적 사업구조가 체계화 될 것으로 판단됨.
- 본 연구개발을 통해 얻어진 원천기술은 추후 농촌산업의 발전에 도움이 되며 보다 높은 효능을 가진 신제품의 개발로 이어져 선순환 사업 구조를 정비할 수 있음.
- 국내 농업에서 유기농업자재시장의 발전을 주도하여 현장적용 및 기술개발을 통한 특허 및 상품화로 경제적 이익의 창출 효과가 나타나며, 미생물 제제 및 천연 추출물 제제 국산화로 외화절감 및 국내 농업분야의 내수활성을 유도할 수 있음.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

- 잔류농약 분해 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 회복토 입제 : PLS 제도 도입에 대비하여 개발된 기존 액상형 제제를 개선한 입제형 신제품으로 잔류농약을 효과적으로 분해하는 효능은 그대로 유지하며, 유효 균수의 안정성 증진 및 간편한 사용과 사용 시기에 제한을 받지 않는 장점을 통해 관행 농업으로 높은 잔류 농약이 포함된 토양 및 작기 전환에 따른 잔류농약 피해를 해결할 수 있을 것으로 판단됨.
- 무름병 방제 병해관리용 유기농업자재 무름엔 : 기존 무름병 방제에 사용된 스트렙토마이신 계열 농약을 대체 또는 스트렙토마이신 저항성 균주를 방제 할 수 있는 함초 추출물 병해관리제는 토양과 작물에 해를 끼치지 않고 잔류하여 무름병 원인균만을 억제하는 효능이 있음. 배추뿐만 아니라 무름병 발생 작물인 상추, 시금치 등에 대해서도 적용가능하며, 해당 작물의 정식 후 경엽 처리를 통해 무름병에 대한 피해를 해결할 수 있을 것으로 판단됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

- 주관연구기관인 (주)와이앤바이오와 협동연구기관인 세계김치연구소는 사업계획서에 작성한 대로 소규모 최적 조건 확립, 공정 최적화, 대량 공정 확립, 안정성 및 현장 실증 시험, 유기농업자재 인증 및 제품화 등의 연구개발단계를 분류하여 기관별 유기적인 소통을 통해 계획된 연구를 성실하게 수행하였으며, 최종적으로 연구 개발에 대한 정성적, 사업화에 대한 정량적 성과를 100%로 성공적으로 수행하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 보통

- 연구개발 당해연도 비SCI 논문 게재를 목표로 설정하였으나, 연구기간동안 SCI를 목표로 진행하여 당초 예상보다 늦어지게 되었으며, 과제 종료 향후 1년 내 논문 게재를 목표로 하고 있음.
- 논문 실적을 대체하여 한국식품영양과학회 2020년도 국제심포지엄 및 제 71차 정기학술대회에 참가하여 개발된 연구 성과에 대해 발표를 진행하였음.
- 전남 도청을 포함한 각 시군 지자체, 농협 자재센터 등에 개발제품의 전시를 계획하였으나, 코로나19의 확산으로 지자체 및 농협의 출입이 제한되어 부득이 농업 미생물 관련 기업, 연구소, 농가의 접근이 많은 (재)농축산용미생물산업육성지원센터 로비에 5일간 제품 전시를 진행하였음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
미생물 유래 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 개발	20	100	연구개발을 통해 성공적으로 미생물 유래 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재를 개발하였음.
식물 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 개발	20	100	연구개발을 통해 성공적으로 식물 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재를 개발하였음.
제형화 및 저장·안정성 확인	10	100	연구개발을 통해 성공적으로 제형화 및 높은 저장·안정성을 확인하였음.
개발제품의 유기농업자재 인증 및 등록	20	100	미생물 유래 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 회복토 입제, 함초 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 무름엔의 공시 인증을 완료하였음.
유기농업자재 2품목 제품화 및 사업화	30	100	미생물 유래 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 회복토 입제, 함초 추출물 유래 병해관리용 유기농업자재 무름엔의 제품화 및 사업화를 통한 매출 목표를 달성하였음.
합계	100	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 연구개발과제에 참여한 주관연구기관 (주)와이앤바이오와 협동연구기관 세계김치연구소는 유기적인 소통을 통해 사업계획서를 기반으로 연구개발을 성실하게 수행하였으며, 정성적인 연구 목표를 100% 달성하였음.
- 본 연구개발을 바탕으로 잔류농약 분해 미생물을 주성분으로 하는 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재와 함초 추출물을 주성분으로 하는 무름병 방제 병해관리용 유기농업자재의 최적 대량 생산 공정을 확립하였으며, 최종적으로 2개 제품의 유기농업자재 공시 인증 및 사업화를 통한 매출(234백만 원)이 발생하였음.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 본 연구과제는 주관연구기관인 (주)와이앤바이오(기업)과 협동연구기관 세계김치연구소(정부출연연구소)가 공동 진행한 과제로 세계김치연구소에서 진행된 선행연구(산업용 배지개발, 지표물질 선정 등) 및 Lab-scale 규모의 공정 확립에 관련된 연구를 진행하였으며, 이 결과를 토대로 (주)와이앤바이오가 대량 생산 공정, 현장 실증 시험, 제품 유기농업자재 등록 및 사업화를 진행하여 기관별 역할을 분담하여 연구 과제를 성공적으로 수행하였음.
- 본 과제는 연구성과후속지원사업으로 성과 지표에서 사업화 지표의 가중치를 90%로 설정하여 과제를 추진하였으며, 당초 계획대비 100% 달성하였음. 또는 목표 외 실적으로 기술이전(기술료 10백만원)을 추가 달성하였음. 이러한 사업화 지표 및 목표 달성에 대하여 평가 시 고려가 필요함.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 본 연구개발을 통해 사업화된 잔류농약 분해 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재와 무름병 방제 병해관리용 유기농업자재 2제품이 제품화 되었으며, 해당 제품의 지자체 사업 및 전국적인 판매 진행을 위해 홍보·마케팅 사업에 참고할 선행 연구 자료로 활용 예정임.
- 또한 본 연구 과제를 통해 확립된 미생물의 배지 최적화조건, 최적 배양조건, 대량 배양조건과 식물 추출물의 최적 추출조건 및 대량 추출조건 등 연구결과를 바탕으로 추후 미생물과 추출물을 이용한 신제품 개발에 적극 활용하여 추가적인 연구 사업을 통한 고용창출 등 기업성장의 원동력으로 사용하며, 동시에 농업 및 유기농업자재 시장 발전에 앞장 설 계획임.

IV. 보안성 검토

○ 해당사항 없음

1. 연구책임자의 의견

○ 해당사항 없음

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

○ 해당사항 없음

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화			
주관연구개발기관	농업회사법인(주)와이앤바이오		주관연구책임자	징 규
연구개발비 (단위 : 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	140,000	38,000	-	178,000
연구개발기간	2021. 04. 20. ~ 2021. 04. 19. (12개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(제품 홍보 마케팅 자료로 사용) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 제품화 2건	유기농업자재 제품화 2건(목표 달성)
② 매출액 200백만 원	매출액 234백만 원(초과 달성)
③ 고용창출 2명	고용창출 3명(초과 달성)
④ 기술인증 2건	기술인증 2건(목표 달성)
⑤ 교육지도 2건	교육지도 4건(초과 달성)
⑥ 홍보전시 1건	홍보전시 1건(목표 달성)

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용액)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T 평 가 제 도	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문 S C I	비 S C I			논 문 평 균 I F	학 술 발 표	
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치								30	25		15	20				5			5
최종 목표								2	200		2	2	1	1		2			1
당해 년도	목표							2	200		2	2		1		2			1
	실적							2	234		3	2		0		4			1
달성률 (%)								100	117		150	100		0		200			100

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 4-2-2(KACC 92198P)균주 산업용 배지 개발 및 최적 발효 기술
②	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 4-2-2(KACC 92198P)균주 대량 생산 공정
③	식물(함초) 추출물 지표성분 설정 및 대량 추출 공정

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술										√
②의 기술										√
③의 기술										√

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	미생물을 이용한 신제품 개발 시 본 연구개발을 통해 얻어진 산업용 배지 및 최적 발효 기술을 활용 또는 응용하여 해당 미생물에 최적화된 산업용 배지 개발 및 최적 발효 기술 확립에 사용할 수 있음.
②의 기술	미생물을 이용한 신제품 개발 시 본 연구개발을 통해 얻어진 미생물 대량 생산 공정을 활용 또는 응용하여 최적화된 대량 생산 공정 확립에 사용할 수 있음.
③의 기술	식물 추출물을 이용한 신제품 개발 시 본 연구개발을 통해 얻어진 지표 물질 및 대량 추출 공정의 활용 또는 응용을 통해 최적화된 추출물 대량 추출 공정 확립에 사용할 수 있음.



7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용액)
	특허출원	특허등록	품종등록	SMART 평가액	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출		투자유치	논문	비SCI			논문평균인	학술발표	
단위	건	건	건	백만원	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치							30	25		15	20				5			5	
최종목표							2	200		2	2				2			1	
연구기간내 달성실적							2	200		3	2				4			1	
연구종료후 성과장출 계획								300		1		1			2			1	

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함): 해당사항 없음.

종료과제 성과요약서

과제명 (연구기관, 책임자)	PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화																																							
	주관기관(1세부)		1협동		-																																			
	농업회사법인주식회사 와이앤바이오		한국식품연구원부설 세계김치연구소		-																																			
연구기간	2020.04.20. ~ 2021.04.19.(1년)		'2020년		총 예산 (정부출연금, 억)																																			
			1.4		1.4																																			
연구목적	<ul style="list-style-type: none"> ○ (배경) 농약 허용물질목록관리(PLS) 제도 도입과 친환경 농산물의 안정적인 생산을 위한 유기농업자재 사용의 확대로 잔류농약을 분해할 수 있는 토양개량 및 작물생육용 자재와 스트렙토마이신 계열 항생제를 대체할 수 있는 천연물 유래 무름병 방제 병해관리용 유기농업자재의 필요성 증가 ○ (목적) PLS 대응 안전한 먹거리 생산을 위한 미생물 및 천연물 유래 유기농업자재 상품화 																																							
핵심연구내용 및 성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물 유래 토양개량 및 작물 생육용 유기농업자재 개발 : 농약 분해 능력을 갖는 <i>Acinetobacter</i> sp. 균주의 산업용 배지를 개발하고 최적 대량 발효 조건을 확립, 시제품의 안정성을 확인 ○ 천연물 유래 병해관리용 유기농업자재 개발 : 식물(함초) 추출물의 대량 추출 공정을 확립하고 시제품의 지표성분 및 유효지속 기간 등을 검증 ○ 개발제품의 유기농업자재 공시 인증 및 등록 : 농약 분해 미생물을 이용한 토양개량 및 작물생육용 유기농업자재와 무름병 방제 효과를 가진 천연물 유래 병해관리용 유기농업자재 공시 인증 ○ 개발제품의 제품화 및 사업화 : 대량 생산공정 확립 및 현장적용 시험을 통해 완성된 제품의 사업화를 통해 매출 																																							
대표성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 2건의 유기농업자재 공시 인증(토양개량 및 작물생육용 1건, 병해관리용 1건) ○ 유기농업자재 2품목 제품화 및 사업화를 통한 매출 목표 달성(목표 200백만원, 실적 234백만원) 																																							
연구의 의의 및 파급효과	<p>[파급효과1] 유기농업자재 매출 상승</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">품목</th> <th colspan="2">2019년도</th> <th colspan="2">2020년도</th> <th colspan="2">2021년도 (5월 현재)</th> </tr> <tr> <th>매출 (백만원)</th> <th>전년대비 증가율(%)</th> <th>매출 (백만원)</th> <th>전년대비 증가율(%)</th> <th>매출 (백만원)</th> <th>전년대비 증가율(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>유기농업자재 (추출물)</td> <td>16.7</td> <td></td> <td>11.5</td> <td>-31.1</td> <td>58.1</td> <td>405.2</td> </tr> <tr> <td>유기농업자재 (미생물)</td> <td>38.3</td> <td></td> <td>112.5</td> <td>193.7</td> <td>176.3</td> <td>56.7</td> </tr> <tr> <td>합 계</td> <td>55</td> <td></td> <td>124</td> <td>125.5</td> <td>234.4</td> <td>89</td> </tr> </tbody> </table>						품목	2019년도		2020년도		2021년도 (5월 현재)		매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)	매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)	매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)	유기농업자재 (추출물)	16.7		11.5	-31.1	58.1	405.2	유기농업자재 (미생물)	38.3		112.5	193.7	176.3	56.7	합 계	55		124	125.5	234.4	89
품목	2019년도		2020년도		2021년도 (5월 현재)																																			
	매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)	매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)	매출 (백만원)	전년대비 증가율(%)																																		
유기농업자재 (추출물)	16.7		11.5	-31.1	58.1	405.2																																		
유기농업자재 (미생물)	38.3		112.5	193.7	176.3	56.7																																		
합 계	55		124	125.5	234.4	89																																		

[파급효과2] 유기농업자재 인증 품목 증가
(기존 유기농업자재 공시 인증 제품)

			
스테미엔 (공시-3-3-138)	회복토 (공시-3-3-300)	총잡스 (공시-2-5-238)	균잡스 (공시-2-4-162)
토양개량 및 작물생육용	토양개량 및 작물생육용	충해관리용	병해관리용

(신규 유기농업자재 공시 인증 제품)

	
(신규) 회복토입제 (공시-2-3-661)	(신규) 무름엔 (공시-2-4-184)
토양개량 및 작물생육용	병해관리용

- 친환경 원료인 미생물과 천연추출물을 이용한 친환경 제품의 개발은 농가의 생산력 향상 및 소득 증대에 도움이 되며 소비자층 또한 만족하여 기업, 생산농가, 농산물 소비자가 모두 만족하는 순환적 사업구조가 체계화 될 것으로 판단됨.
- 본 연구개발을 통해 얻어진 원천기술은 추후 농촌산업의 발전에 도움이 되며 보다 높은 효능을 가진 신제품의 개발로 이어져 선순환 사업 구조를 정비할 수 있음.
- 국내 농업에서 유기농업자재시장의 발전을 주도하여 현장적용 및 기술개발을 통한 특허 및 상품화로 경제적 이익의 창출 효과가 나타나며, 미생물 제제 및 천연 추출물 제제 국산화로 외화절감 및 국내 농업분야의 내수활성을 유도할 수 있음.

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 본 연구과제를 통해 자사 유기농업자재 판매 매출이 크게 증가하였으며, 2021년 5월 기준 전년도 전체 유기농업자재 매출과 비교해 추출물 매출은 405.2% 증가, 미생물제 매출은 56%증가하여 남은 2021년 제품 판매를 진행할 경우 전년대비 유기농업자재 판매 매출은 약 150% 이상 증가할 것으로 판단됨. ○ (주)와이앤바이오는 공시 인증이 완료된 4개 제품을 보유하고 있으나, 본 연구과제를 통하여 2개 제품(토양개량 및 작물생육용 유기농업자재 회복토입제, 병해관리용 유기농업자재 무름엔)의 추가 인증을 받아 총 6개의 유기농업자재를 보유해 시장 점유율을 높일 수 있는 발판을 마련하였음.
<p>특이사항 (연구수행 중 에피소드, 연구수행 계기 등)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 농약 허용물질목록관리(PLS) 제도 도입과 친환경 농산물의 안정적인 생산을 위하여 유기농업자재 사용이 확대되고 있으며, 이 중에서도 잔류농약을 분해할 수 있는 토양개량 및 작물생육용 자재와 스트렙토마이신 계열 농약을 대체할 수 있는 병해관리용 자재의 필요성이 증가함에 따라 본 연구과제를 수행하게 됨
<p>용어해설</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유기농업자재 : 유기농산물 생산, 제조·가공 또는 취급하는 과정에서 사용할 수 있는 허용물질을 원료 또는 재료로 하여 만든 제품 (국립농산물품질관리원)

주 의

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