

농축산용 유용미생물의 대량생산용 실용화 배지 및 발효기술 개발

박준경¹ · 서선일¹ · 한귀환¹ · 김공민¹ · 김대혁^{1,2} · 송재경³ · 김평일^{1,*}

¹(재)농축산용미생물산업육성지원센터, ²전북대학교 자연과학대학 분자생물학과,
³농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 농업미생물과

Development of Practical Media and Fermentative Technique for Mass Cultivation from Agricultural and Livestock Microorganism

Jun-Kyung Park¹, Sun-Il Seo¹, Gui Hwan Han¹, Kong-Min Kim¹,
Dae-Hyuk Kim^{1,2}, JaeKyeong Song³ and Pyoung Il Kim^{1,*}

¹Center for Industrialization of Agricultural and Livestock Microorganisms (CIALM), Jeongeup, Korea

²Department of Molecular Biology, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

³Agricultural Microbiology Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju, Korea

*Corresponding author: pikim30@cialm.or.kr

ABSTRACT

Agricultural and livestock microorganisms including bacteria, yeast and fungi have been used as eco-friendly biological agent in plant growth promoting, disease suppression and odor reduction. In this study, we have optimized culture conditions of three species, such as *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei* that could act as effective biological agent by producing growth-promoting factors to crops. They also reduce harmful odors generated from livestock manure. We made up the optimal media recipes for *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei* named as MMS (glucose 0.5%, soy bean flour 0.8%, NaCl 0.15%, K₂HPO₄ 0.25%, Na₂CO₃ 0.05%, MgSO₄ 0.1%), YSM (dextrose 1%, soytone 0.5%, yeast extract 0.5%) and LSM (glucose 2%, soytone 0.5%, casein milk 0.5%, NaAc 0.5%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄ 0.002%, MnSO₄ 0.05%), respectively. The culture period of three microorganisms were determined on 30 hours in 500 L fermenter. In addition, the maximal cell growth of *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei* was measured as 1.4×10^9 cfu/mL, 6.4×10^8 cfu/mL, 3.3×10^9 cfu/mL, respectively. From above results, we represent that development of practical media and cultural techniques can economize heavily the cost for mass production of agricultural and livestock microorganisms.

Additional key words: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus casei*, Practical media, Fermentative technique

서 론

농업현장에 있어 농약과 비료는 근대 과학기술의

주된 산물로 작물의 품질향상과 생산성 증대 및 병해충으로부터 피해를 감소시키기 위한 연구는 계속되고 있다. 농업의 발달에 따른 농약과 비료의 개발은 작물생산에 있어 엄청난 발전을 이루었으나, 합성화합물질중 독성성분의 무분별한 사용으로 환경오염이 초래되고, 더불어 인류의 건강까지 영향을 미치는 부정적인 측면이 증가되는 문제가 발생되었다. 그로 인해 친환경 농업에 의해 생산된 농산물에 대한 관심이 증가되고 있으며, 국가 차원에서도 이를 장려하고 있다.¹³⁾⁷⁾ 또한 농업 생태계 보존과 이로 인한 환경오염의 피해를 줄이기 위해 농업 부산물을 주재료로한 친환경적 미생물 제제의 생산 및 기술개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 현재, 친환경 농업에서 사용 가능한 미생물제제는 미생물농약, 미생물비료 형태로 사용되고 있고, 이들은 사용목적에 따라 농약관리법, 비료관리법, 친환경유기농자재 목록공시제도로 세분화되어 관리되고 있다. 2007년 친환경유기농자재 목록공시제도를 시작으로 2012년 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행제도가 도입된 이후 매년 1,000종 이상의 제품이 유기농업자재 등록되어 농가에 활용되고 있다.^{12),15)}

미생물제제는 주로 미생물 대량배양을 통한 액상형태나 동결건조 및 분무건조와 같은 제형화 공정을 거쳐 사용하는 것이 일반적이다. 미생물제제로 활용되는 주요 미생물은 고초균, 효모, 유산균, 광합성세균, 슈도모나스, 트리코더마, 아스퍼질러스²⁴⁾⁸⁾ 등이 있으며, 농업용 미생물제제는 주로 작물의 생장촉진과 식물병원균 방제를 위한 작물보호용으로 사용되고 있고, 축산용으로는 사료첨가 및 환경개선 목적으로 사용되고 있다.¹³⁾¹⁴⁾ 이러한 미생물제제를 생산하기 위해서는 대량배양이 필수적으로 이루어져야 하지만 미생물 배양은 주로 고가의 상업용 배지가 사용되는 문제가 있다. 이를 해결하기 위한 대책으로 배양시 사용되는 배지의 비용을 절감하여 농가에 공급하는 것이 급선무이며, 유용미생물의 종류 및 용도별 최적 활용도를 증가시키고, 미생물 배양에 대한 전문성을 강화하여 현장에 적용할 필요가 있다.

최근 연구되고 있는 미생물의 경우 실내수준만의 결과를 토대로 농·축산용 미생물 생산 및 공급이 이루어지고 있다. 하지만, 효과가 검증되지 않은 미생물의 무분별한 사용, 실제 농가현장에서 발생하는 병해충

방제효과의 범위 제한, 재배작물에 대한 유용미생물의 효능 저하로 인해 농·축산물의 품질 하락이 초래되어 미생물제제에 대한 농가들의 불신으로 이어지는 악순환이 반복되고 있는 실정이다.^{4),9),16)} 점차적으로 친환경농업이 활성화되고 친환경농산물에 대한 소비자의 수요 증가로 작물 생육촉진, 병해충 방제 및 환경개선용, 면역증강과 같은 기능을 가진 유용미생물의 수요와 시장이 증가되고 있다.^{6),10),11)} 이를 통해 농업적으로 유의한 효능을 가진 미생물의 개발뿐만 아니라, 이들의 효율적인 현장 활용을 위한 유용미생물의 검증 및 품질관리는 필수적이다.

본 연구에서는 작물생장촉진과 축산 사료첨가 및 환경개선을 위한 농업용 유용미생물을 대상으로 저비용 고효율의 역할을 가지는 친환경적 실용화 배지를 개발⁵⁹⁾하고, 이를 통한 500 L 대용량 발효기의 배양 조건을 확립함으로써 최적 발효기술 개발의 현장 적용 확대를 목표로 한다.

재료 및 방법

1. 유용미생물 선정 및 배양 조건

작물생장촉진용 유용미생물 1종(*Bacillus subtilis*), 축산 사료첨가 및 환경개선용 유용미생물 2종(*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus casei*)에 대한 본 시험을 위해 농촌진흥청 농업유전자원센터(Korean Agricultural Culture Collection)로 부터 분양 받아 사용하였다. 3종 균주의 장기 보존을 위해 20% glycerol를 첨가한 stock을 제조하여 -80℃ 초저온 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다. *B. subtilis* 보존용 배지로 Luria Bertani(LB, BD Difco™: tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g per liter)를 사용하였고, *S. cerevisiae*는 Yeast extract Peptone Dextrose (YPD, BD Difco™: yeast extract 10 g, peptone 20 g, dextrose 20 g per liter)배지를 보존용 배지로, *L. casei*는 *Lactobacilli* MRS(BD Difco™: proteose peptone No.3 10 g, beef extract 10 g, yeast extract 5 g, Dextrose 20 g, sodium acetate 5 g, polysorbate-80 1 g, ammonium citrate 2 g, magnesium sulfate 0.1 g, manganese sulfate 0.05 g, dipotassium phosphate 2g per liter) 배지를 보존용 배지로 사용하였다. 균주의 순수 분리배양을 위해 각 조성의 액체배지와 1.5%

agar를 첨가한 한천배지를 고압멸균기에서 121℃ 15 분간 멸균하여 사용하였으며, 3종의 균주를 한천배지에 도말하여 30℃ 항온배양기에서 24시간 배양 후 생장된 콜로니를 본 연구에 사용하였다.

2. 유용미생물별 배지 최적화 및 대량 배양 조건 탐색

가. 바실러스(*Bacillus subtilis*)

1) 대량배양을 위한 배지 탐색

작물생장촉진 기능을 갖는 유용미생물인 *B. subtilis*의 최적 실용화 배지 개발을 위해 TSB(Tryptic Soy Broth)를 기본으로 탄소원, 질소원, 무기염 조성을 탐색하였다. 상업용 배지인 TSB 배지조성(tryptone, soytone, glucose, NaCl, K₂HPO₄)중 실용화 배지 개발을 위해 탄소원, 질소원에 따른 조성 탐색과 추가 무기염으로 Na₂CO₃, MgSO₄를 포함한 배지 조성을 구성하여 30℃, 150 rpm으로 48시간 동안 진탕 배양하였다. 이 후 최적 조건의 실용화 배지와 국립농업과학원에서 개발한 *Bacillus* 대량배양 실용화 배지인 BSM 배지(soytone 0.5%, glucose 2%)와 배양 효율 비교를 위해 대량배양을 수행하였다.

2) 대량배양 최적조건 탐색

B. subtilis 대량배양 시 실용화 배지와 국립농업과학원에서 개발한 BSM 배지의 배양 효율 비교를 통해 대량배양 최적조건을 확립하고자 5 L jar fermenter의 조건(배양온도, 교반속도, 공기투입량, pH)을 500 L 대용량 발효기에 적용하였다.¹⁶⁾ 1차 종균은 250 mL 삼각플라스크로 준비된 LB 액상 배지 50 mL에 콜로니를 접종하여 30℃, 150 rpm 조건으로 12시간 진탕 배양하였다. 2차 종균은 LB 액상 배지를 5 L jar fermenter에 3 L 준비 후 전체 용량의 1% 농도로 1차 종균 배양액을 접종하여 30℃, 120 rpm, 0.3 vvm 조건에서 9시간 동안 진탕 배양하였다. 본 배양은 실용화 배지 300 L를 포함한 500 L 대용량 발효기에 1% 농도의 종균 배양액을 접종하여 30℃, 100 rpm, 0.4~0.5 vvm 조건에서 36시간 동안 배양하였다. 본 배양 시 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 흡광도와 pH를 측정하였고, 배양액의 영양세포 및 내세포자를 확인하여 실용화 배지와 BSM 배지의 대량배양 효율을

비교하였다.

나. 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)

1) 대량 배양을 위한 배지 탐색

축산 사료첨가 및 환경개선 기능을 갖는 *S. cerevisiae*의 최적 실용화 배지 개발을 위해 국립농업과학원 BSM 배지를 적용하였다. *S. cerevisiae* 실용화 배지 개발을 위한 탄소원 선발로 maltose, fructose, sucrose, dextrose를 이용하였으며, 여기에 질소원으로 yeast extract를 첨가하여 0.5~2.0%까지 농도별 배지를 조성한 후, 상업용 배지인 YPD 배지와 배양 효율을 비교하였다. 이들은 30℃, 150 rpm, 48시간 동안 진탕 배양하였고, 배양 시 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 흡광도(OD_{600nm})를 측정하였다.

2) 대량배양 최적 공정 개발

*S. cerevisiae*의 실용화 배지와 상업용 배지의 배양 효율 비교를 통한 최적 조건을 확립하기 위해 500 L 대용량 발효기를 이용하였고, 5 L jar fermenter 조건을 기초로 하여 배양온도, 통기량, 교반속도 및 pH를 설정하였다. 1차 종균은 250 mL 용량의 삼각플라스크에 YPD 액상 배지 50 mL 제조 후 배양된 콜로니를 접종하여 30℃, 150 rpm으로 12시간 진탕 배양하였다. 2차 종균은 5 L jar fermenter에 3 L의 YPD 액상 배지 제조 후 1차 종균배양액 1%를 접종하여 30℃, 150 rpm으로 9시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 500 L 대용량 발효기에 300 L 실용화 배지를 제조한 후, 배지 용량의 1%인 2차 종균배양액을 접종하여 30℃, 60 rpm, 0.3 vvm으로 30시간 동안 배양하였다. 대량 배양 시 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 흡광도(OD_{600nm})를 측정하였으며, 영양세포 및 내세포자를 YPD 한천배지를 통해 콜로니를 조사하였다.

다. 유산균(*Lactobacillus casei*)

1) 대량 배양을 위한 최적 배지 탐색

*S. cerevisiae*와 동일한 축산 사료첨가 및 환경개선 기능을 갖는 *L. casei*의 최적 실용화 배지 개발을 위해 기본배지인 MRS 조성을 토대로 보다 간편한 유산균 배지 조성을 탐색하였다. 최적 배지 선발을 위한 탄소원의 종류로 glucose, maltose, dextrose, fructose, su-

crose, 질소원으로는 urea, yeast extract, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, tryptone, NaNO_3 , proteose-peptone, KNO_3 , peptone을 사용하였다. 이후, 선발된 최적배지에 기본적인 무기 염인 MgSO_4 , KH_2PO_4 , sodium acetate, tween 80을 추가하여 상업용 배지(MRS)의 배양 효율과 비교하였다. 배양조건은 30℃, 150 rpm으로 12시간 간격으로 배양된 두 배지의 배양액의 흡광도($\text{OD}_{600\text{nm}}$) 통해 비교하였다.

2) 대량배양용 최적 배양조건 탐색

유용미생물 *L. casei*의 최적 대량배양을 위하여 실용화 배지와 상업용 배지(MRS)를 통한 미생물의 배양 효율을 비교하였다. 5 L jar fermenter를 이용하여 배양온도, 통기량, 교반속도, pH 등의 조건을 설정하였으며, 이후 500 L 대용량 발효기를 이용한 최적 대량배양을 수행하였다. 대량배양 시 종균 접종량은 전체 용량의 1%로 설정하였으며, 1차 종균배양은 MRS를 사용하였다. 2차 종균은 5 L jar fermenter에 3 L MRS 액상 배지를 준비하였으며, 1차 종균을 배지 용량의 1%를 접종하여 30℃, 150 rpm, 0.3 vvm으로 9시간 전 배양하였다. 본 배양은 500 L 대용량 발효기에 300 L 실용화 배지를 준비하여 전 배양액 1%를 접종한 후, 30℃, 100 rpm, 0.3 vvm로 36시간 동안 배양하였다. 배양 시 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 영양세포 및 내세포자를 MRS 한천배지에 30℃, 24시간 배양 후 콜로니를 개수하였다.

결과 및 고찰

1. 유용미생물 대량배양용 실용화 배지 선정

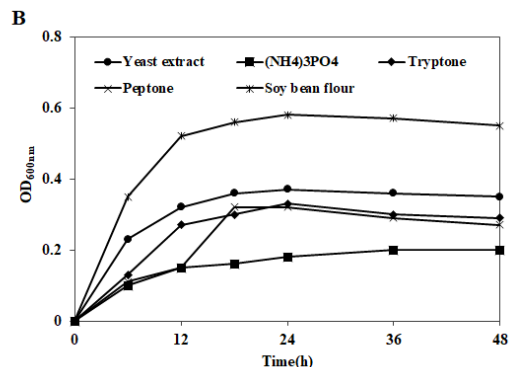
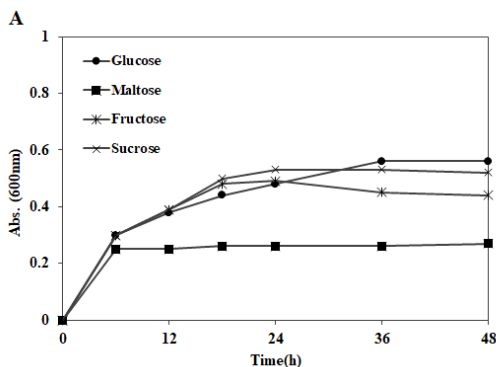


Fig. 1. Optical density of *B. subtilis* by carbon and nitrogen sources.

가. *Bacillus subtilis* 최적 실용화 배지 선정

*B. subtilis*의 최적 실용화 배지 개발을 위해 TSB (Tryptic Soy Broth)를 기본으로 탄소원, 질소원, 무기 염 조성을 탐색하였다. 탄소원으로는 glucose, maltose, fructose, sucrose를 사용하였으며, 질소원으로는 yeast extract, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, tryptone, peptone, soy bean flour를 사용하였다. 각 조성별 배양 결과, 탄소원은 glucose에서 배양 36시간에 0.56의 흡광도($\text{OD}_{600\text{nm}}$)가 측정되었으며(Fig. 1(A)), 질소원은 soy bean flour에서 배양 24시간에 0.58의 흡광도가 측정되었다(Fig. 1(B)). Glucose와 soy bean flour 농도에 따른 흡광도 비교 결과, glucose는 0.5%, soy bean flour는 1.0%가 최적 조건으로 선발되었다(Fig. 2(A)), (Fig. 2(B)). 최적 실용화 배지 선발을 위해 soy bean flour 0.8%, NaCl 0.15%, glucose 0.5%, K_2HPO_4 0.25%, Na_2CO_3 0.05%, MgSO_4 0.1%의 조성을 결정하고 MMS 배지라 명명하였다.

나. *Saccharomyces cerevisiae* 최적 실용화 배지 선정

Bacillus 대량배양용 배지인 BSM를 본 균주에 적용시켜 탄소원(maltose, fructose, sucrose, dextrose)과, 질소원(yeast extract) 추가 및 농도에 따른 배양으로 실용화 배지 개발을 수행하였다. BSM 배지와 상업용 배지(YPD)의 성장률 확인 결과, 배양 48시간에 BSM 배지에서 1.22, YPD 배지에서 1.48의 흡광도($\text{OD}_{600\text{nm}}$)가 측정되어 BSM 배지에서 낮게 나왔지만, 배지 조성의 수정을 통한 실용화 배지 제조의 가능성을 확인하였다(Fig. 3). *S. cerevisiae* 실용화 배지 개발을 위해

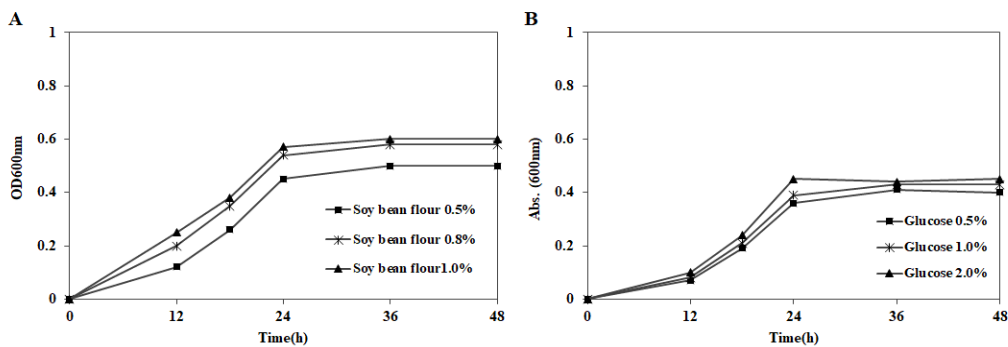


Fig. 2. Optical density of *B. subtilis* by soy bean flour and glucose concentrations.

soytone 0.5%와 탄소원 2% 농도로 배양하였다. 탄소원으로 maltose, fructose, sucrose, dextrose를 선별하여 배양하였다. 최적 탄소원 선별을 위한 배양결과로 dextrose 2% 첨가한 배양액의 흡광도가 배양 36시간에 1.24 값으로 가장 높게 측정되었다(Fig. 4). 이후 탄소원(dextrose)과 질소원(yeast extract)의 적정 농도

결정을 위하여 0.5%, 1.0%, 1.5%, 그리고 2.0%의 농도로 배양하였다. 농도별 배양결과, dextrose 1.0%의 배양 48시간에 흡광도가 1.72, yeast extract 2%의 배양 48시간에 흡광도가 1.73으로 가장 높게 측정되었지만 (Fig. 5(A)), (Fig. 5(B)), 탄소원과 질소원의 적정 농도는 배양농도와 단가를 감안하여 최적 농도를 soytone

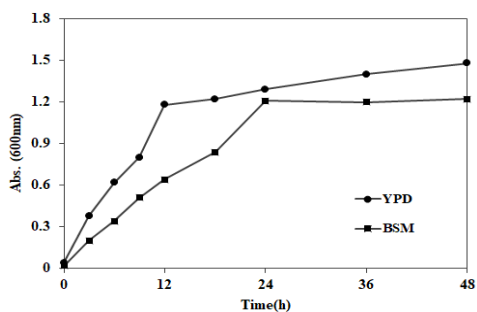


Fig. 3. Comparison of optical density between BSM and YPD medium.

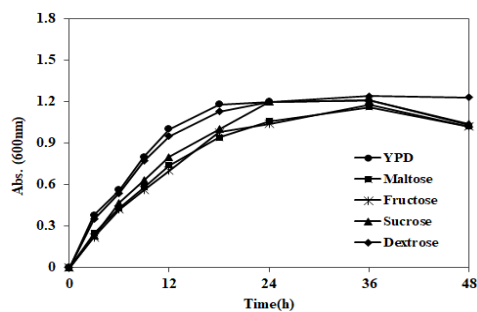


Fig. 4. Optical density of *S. cerevisiae* by five carbon sources.

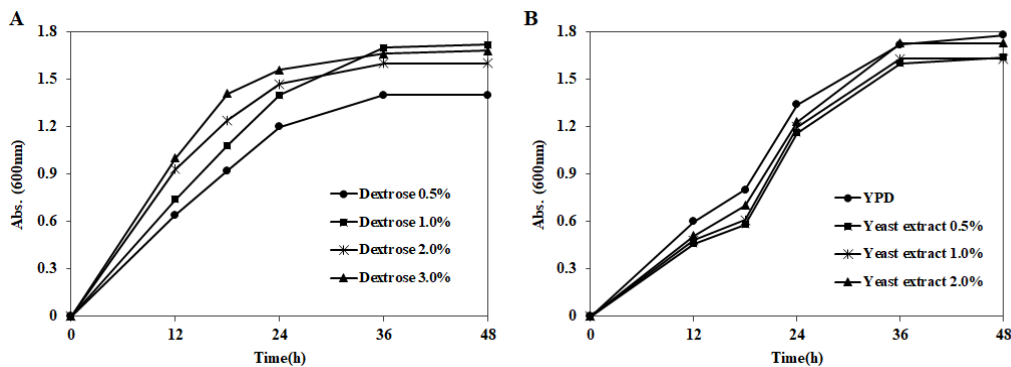


Fig. 5. Determination of optimal concentration of dextrose and yeast extract for *S. cerevisiae* culture.

0.5%, dextrose 1.0%, yeast extract 0.5%로 결정하고, 실용화 배지 YSM으로 명명하였다.

다. *Lactobacillus casei* 최적 실용화 배지 선정

Lactobacillus casei 배양용 실용화 배지 개발을 위해 유산균 기본배지인 MRS 배지의 조성을 토대로 실험을 수행하였다. Soytone과 yeast extract 농도를 0.5%로 하여 탄소원 종류에 따라 흡광도 측정을 통해 비교한 결과, MRS 배지와 큰 차이를 나타냈다(Fig. 6(A)). 이어서 soytone과 yeast extract의 농도 재조정 후 배양한 결과, yeast extract 1.5%와 soytone 0.5%가 가장 좋은 농도를 보였지만, 대조구인 MRS 배지보다 낮게 측정되었다(Fig. 7(A)). 또한 soytone과 glucose의 농도 변경에 따라 흡광도를 측정한 결과, glucose 2%와 soytone 1% 조성이 MRS 배지와 가장 가까운

수치를 보였으나, 배지 조성 단가를 고려하여 최종적으로 soytone 0.5%를 결정하였다(Fig. 7(B)). *Lactobacillus casei* 실용화 배지의 최적 질소원 선별을 위해 6종 질소원의 흡광도 측정 결과, yeast extract 성분이 가장 높은 값을 나타내었고(Fig. 6(B)), 마지막으로 beef extract, yeast extract, casein milk를 이용한 흡광도 측정 결과, 기존 배지인 MRS 보다 높은 농도로 측정되었다(Fig. 8). 이러한 결과들을 바탕으로 최적 실용화 배지를 LSM 배지로 명명하고, 이를 *Lactobacillus casei* 대량배양을 위한 실용화 배지로 결정하였다.

2. 유용미생물 대량배양용 최적 발효기술 개발

가. *B. subtilis* 유용미생물의 대량배양

*Bacillus subtilis*의 MMS배지에 따른 최적 배양조

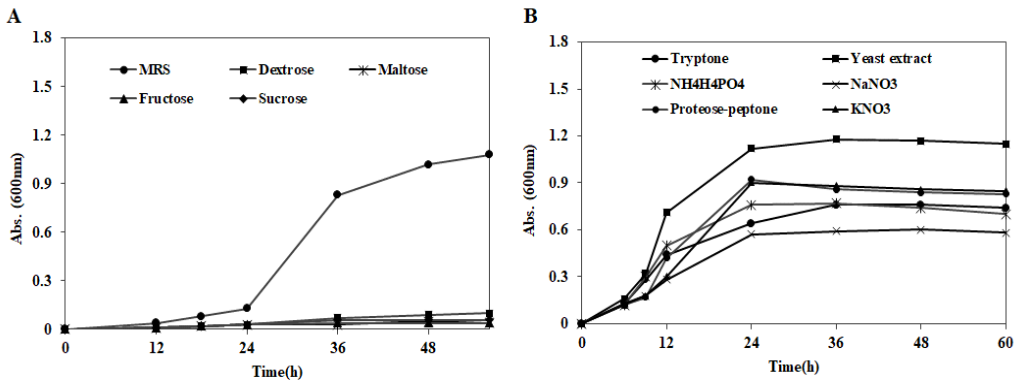


Fig. 6. Determination of optimal carbon and nitrogen source for *L. casei* culture.

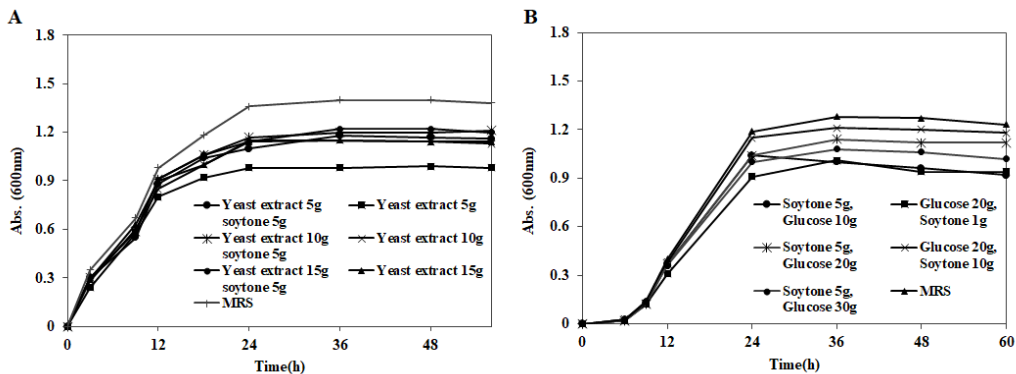


Fig. 7. Determination of optimal concentration of yeast extract-soytone and glucose-soytone by *L. casei* culture.

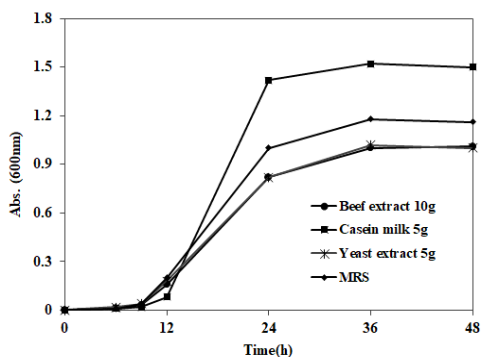


Fig. 8. Optical density of beef extract, yeast extract and casein milk by *L. casei* culture.

건 확립을 위해 500 L 대용량 발효기를 이용하고, 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 영양세포 및 내생포자 형성과 흡광도(OD_{600nm})를 측정하였다. 그 결과, 배양 후 36시간에 MMS 배지는 1.4×10^9 cfu/mL, BSM 배지에서는 1.1×10^9 cfu/mL로 측정되었고 (Fig. 9(A)), 90% 이상 내생포자 형성을 확인하였다. 흡광도는 배양 36시간 후 MMS 배지에서 9.05, BSM 배지에서 7.50으로 측정되었다(Fig. 9(B)). 실용화 배지 MMS를 이용하여 *B. subtilis* 대량배양에 소요되는 비용은 BSM 배지 대비 약 3.3배, TSB 배지 대비 약 20배 정도 저렴한 것으로 조사되었다 (Table 1).

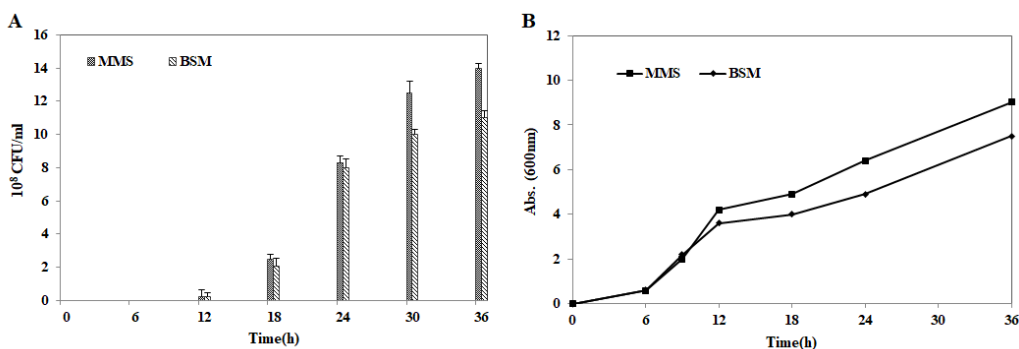


Fig. 9. Comparison of culture profile between MMS and BSM medium by *B. subtilis*.

Table 1. Comparison of the costs between MMS, BSM and TSB medium for *B. subtilis* for mass culture

Component	MMS		BSM		TSB	
	Conc. (%)	Cost (₩)	Conc. (%)	Cost (₩)	Conc. (%)	Cost (₩)
Soy bean flour	0.8	16,000	-	-	-	-
Glucose	0.5	12,000	-	-	0.25	6,000
NaCl	0.15	1,000	-	-	0.5	3,400
K ₂ HPO ₄	0.25	12,100	-	-	0.25	12,100
Na ₂ CO ₃	0.05	1,500	-	-	-	-
MgSO ₄	0.1	1,500	-	-	-	-
Peptone	-	-	-	-	2	858,000
Sucrose	-	-	2.0	21,500		
Soytone	-	-	0.5	125,000		
TOTAL	44,100/ton		146,500/ton		910,100 (3,250,000/BD)	

나. *Saccharomyces cerevisiae* 유용미생물의 대량배양

*Saccharomyces cerevisiae*의 YSM 배지를 통한 대량 배양 조건 확립을 위해 500 L 대용량 발효기를 이용하였다. 5 L jar fermenter 조건을 바탕으로 배양 온도, 통기량, 교반속도 및 pH를 설정하고, YPD 배지와 배양 효율 비교를 통해 최적조건을 확립하였다. YSM 배지에 전배양액의 1%를 접종하여 30℃, 90 rpm, 0.3 vvm으로 30시간 배양한 결과, 6.4×10^8 cfu/mL의 생균수가 측정되었으며, YPD 배지에서는 6.2×10^8 cfu/mL로 측정되었다(Fig. 10(A)). 흡광도의 경우 YSM 배지에서 배양 30시간 후 3.51로 측정되었고, YPD 배지에서는 3.42로 측정되었다(Fig. 10(B)). 또한 *S. cerevisiae* 균주의 대량배양에 소요되는 배지의 단가비용은 YSM 배지가 YPD 배지에 비해 약 5배 정도 저렴한 것으로 조사되었다(Table 2). 이에 따라 개발된 YSM 배지는 *Saccharomyces cerevisiae* 대량배양을 위한 저비용 고효율 배지로 활용 가능하고, 이를 통해 본 유용미생물의 대량 생산 및

농가보급이 가능하다.

다. *Lactobacillus casei*의 대량배양

*Lactobacillus casei*의 최적 대량배양 조건 확립을 위해 LSM 배지를 대상으로 배양효율을 조사하였다. 5 L jar fermenter 조건을 바탕으로 배양온도, 통기량, 교반속도 및 pH를 설정하고, MRS 배지와 배양 효율 비교를 통해 최적조건을 확립하였다. 전배양액 1%를 접종하여 30℃, 100 rpm, 0.3 vvm으로 36시간 배양한 결과, LSM 배지에서 3.3×10^9 cfu/mL의 생균수가 측정되었으며, MRS 배지의 경우 7.0×10^9 cfu/mL의 생균수가 측정되었고, 흡광도 측정값은 각각 2.10, 1.89로 측정되어 두 배지간의 유효성 있는 차이는 나타나지 않았다(Fig. 11(A)), (Fig. 11(B)). 또한, 본 균주의 대량배양에 소요되는 배지의 단가 비용은 LSM 배지가 MRS 배지에 비해 약 50배 정도 저렴한 것으로 조사되었다(Table 3). 이 또한 저비용 고효율 실용화 배지로 활용 가능한 LSM 배지를 통해 해당 유용미생물의 대량생산 및 농가보급이 가능할 것으로 기대된다.

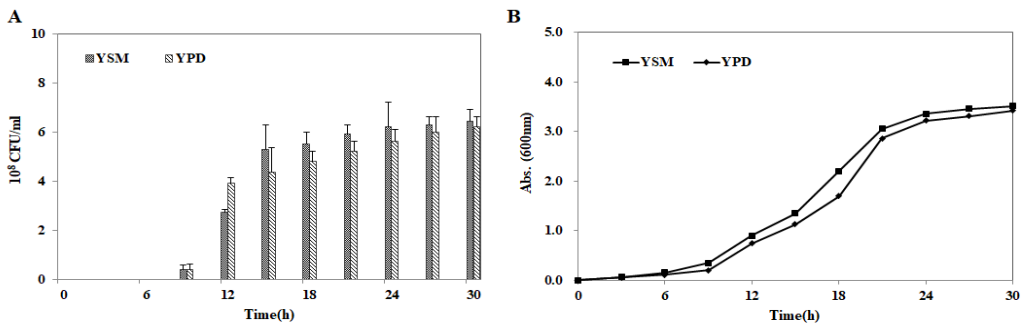


Fig. 10. Culture profiles between YSM and YPD medium by *S. cerevisiae*.

Table 2. Comparison of the costs between YSM and YPD medium for *S. cerevisiae* mass culture

Component	YSM		YPD	
	Conc. (%)	Cost (₩)	Conc. (%)	Cost (₩)
Soytone	0.5	125,000	-	800,000
Peptone	-	-	2	-
Dextrose	1	24,000	2	48,000
Yeast extract	0.5	80,000	1	160,000
TOTAL	229,000/ton		1,008,000/ton	

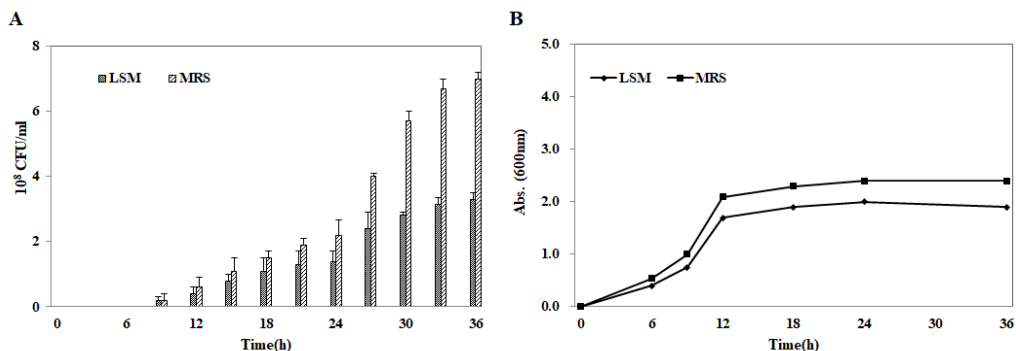


Fig. 11. Culture profiles between LSM and MRS medium by *L. casei*.

Table 3. Comparison of the costs between LSM and MRS medium for *L. casei* mass culture

Component	LSM		MRS	
	Conc. (%)	Cost (₩)	Conc. (%)	Cost (₩)
Soytone	0.5	125,000	* <i>Lactobacili</i> MRS (BD Difco™)	
Glucose	2	48,000		
Casein milk	0.5	230,000		
Na-acetate	0.5	15,000		
Potassium phosphate	0.2	13,000		
Magnesium sulfate	0.002	500		
Manganese sulfate	0.05	2,000		
TOTAL	433,500/ton		400,000/20L	

결 론

다수의 농업용 유용미생물이 지금까지도 연구, 개발을 통해 농업현장에서 폭넓게 활용되고 있으며, 국내의 지역단위 농업기술센터에서는 다양한 유용미생물을 배양하여 농가에 공급하고 있다. 이 중, 가장 많은 부분을 차지하고 있는 미생물로서 고초균(*Bacillus* sp.)이 주를 차지하고 있으며, 추가적으로 유산균 (*Lactobacillus* sp.), 효모(*Saccharomyces* sp.), 광합성 세균 (*Photosynthetic bacteria*) 등이 있으며, 곰팡이나 방선균 등도 꾸준히 활용되고 있다. 이를 통해 본 연구에서는 작물생장촉진과 축산 사료첨가 및 환경개선 활성을 갖는 농업용 유용미생물 3종에 대하여 대량배양 현장 활용기술을 확립하고자 하였다. 저비용 고효율인 실용화 배지를 통한 500 L 대량배양 조건 확립을

통해 유용미생물들의 높은 균수 확보와 농가의 현장 적용 시 이들이 가지는 활성 효율을 더욱 높이고자 하였다.

Bacillus subtilis 대량배양의 경우 실용화 배지인 MMS 배지를 통하여 1.4×10^9 cfu/mL의 생균수 확보가 가능하고, 기존의 BSM 배지 대비 3.3배, TSB 배지 대비 약 20배 저렴한 가격으로 활용이 가능하다. 축산 사료첨가 및 환경개선용 유용미생물인 *Saccharomyces cerevisiae*는 실용화 배지인 YSM 배지를 통해 6.4×10^8 cfu/mL로 배양이 가능하며, 가격적 측면에서도 기존의 YPD 배지보다 약 5배 정도 저렴한 결과를 확보하였다. 또한 *Lactobacillus casei*의 실용화 배지는 LSM 배지로, 대량배양 시 3.3×10^9 cfu/mL의 생균수 확보가 가능하고 대량배양에 소요되는 비용은 LSM 배지가 MRS 배지보다 약 50배 정도 저렴한 결과로

조사되었다. 이러한 결과를 바탕으로 전국의 농업기술원, 시·군 농업기술센터에 배지 정보 및 배양 공정 제공이 이루어질 수 있고, 또한 실용화 배지를 통한 유용미생물 배양 시 비용의 절감 즉, 연간 약 50억 원 이상의 비용 절감이 가능하게 된다. 이와 더불어 농업기술원, 시·군 농업기술센터에서는 유용미생물의 농가 보급 시 품질 및 효능관리 강화, 사용지침 및 농가활용기술 개발로 인한 농가현장 애로 사항 해결을 통하여 친환경 농업 기반이 더욱 확대될 수 있도록 노력해야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ010825)의 지원에 의해 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Kim, Y. C., Kang, B. R., Kim, Y. H. and Park, S. K. 2017. An effective and practical strategy for biocontrol of plant diseases using on-site mass cultivation of chitin-degrading bacteria. *Res. Plant. Dis.* 23(1): 19-34.
- Park, J. Y., Kim, H. W., Kim, H. J., Chun, O. J., Jung, S. J., Choi, W. B., Lee, S. W. and Moon B. J. 2005. Cultivation conditions for mass production of an antagonistic bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* BW-13. *Res. Plant. Dis.* 11(2): 158- 161.
- Lee, H. B., Roh, H. Y., Park, D. J., Lee, S. K., Ko, Y. H., Koh, J. S. and Kim, C. J. 2005. Study on medium ingredient composition for enhancing biomass production and anti-potato common scab activity of *Streptomyces* sp. A020645 as a BCA candidate. *Res. Plant. Dis.* 11(1): 66-71.
- Kim, D. W., Kim, J. T., Choi, S. W., Choi, K. H., So, I. S. and Chun, H. P. 2002. Characterization and optimal condition for mass production of *Streptomyces kasugaensis* A12. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 20(1): 54-59.
- Kim, J. J., Han, J. H. and Lee, S. Y. 2014. Selection of carbon, nitrogen source and carrier for mass production of *Beauveria bassiana*. *The Korean Journal of Mycology* 42(4): 328-332
- Choi, H. J., Kim, Y. E., Bang, J. H., Kim, D. W., Ahn, C. S., Jeong, Y. K. and Joo, W. H. 2011. Characterization of an indigenous antimicrobial substance-producing *Paenibacillus* sp. BCNU 5011. *Koeran Society for Biotechnology and Bioengineering Journal* 26: 100-106.
- Joo, G. J. and Kim J. H. 2002. Optimization of large scale culture of *Bacillus ehimensis* YJ-37 antagonistic to vegetables damping-off fungi. *Korean Journal of Life Science* 12: 242-249.
- Kim, G. H., Oh, S. O., Hur, J. S., Yum, K. J. and Koh, Y. J. 2006. Optimum cultivation conditions for mass production of an antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* BD0310 for development of a microbial agent controlling gray blight of tea plants. *Korean Society of Plant Pathology* 12: 85-90.
- Moon, K. H, Kim, P. H., Yoon, J. W., Sung, J. M. and Kim, S.-W. 1997. Optimization of production medium for mass culture of *Beauveria* sp. C208. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25(6): 606-611.
- Faria, M. R., Wraight, S. P., Mycoinsecticides and mycoacaricides. 2007. A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.* 43: 237-256.
- Jackson, M. A., Dunlap, C. A. and Jaronski, S. T. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *Biol. Control.* 55: 129-145.
- 최은정, 아난담, 홍성준, 박종호, 한은정, 지형진, 서장선, 김용기. 2009. 농업현장에서 활용되는 농업용 미생물의 기능분석. *한국유기농업학회지* 12: 310-311.
- 유재홍, 서장선, 이은영. 2010. 미생물 생균제를 이용한 돈분 악취 저감 연구. *한국냄새환경학회지* 9(4): 203-207.
- 임정수, 한덕우, 이상룡, 황옥화, 조성백,곽정훈.

2015. 혼합미생물 접종에 따른 가축분뇨 유래 냄새 저감 효과. 한국냄새환경학회 학술발표대회 109-110.
15. 정학균, 성재훈, 이현정. 2018. 2018 국내외 친환경농산물 시장현황과 과제. 한국농촌경제연구원 제169호.
16. 송재경 외. 2015. 농업미생물의 지역 현장 활용 기술개발. 국립농업과학원.