

보안 과제(), 일반 과제(✓) / 공개(✓), 비공개()발간등록번호(✓)

첨단생산기술개발 사업

발간등록번호

11-1543000-002559-01

바이오황을 이용한 비료 및 농약 혼합 제품 개발 최종보고서

2019.03.15.

주관연구기관 / 제주대학교 산학협력단
협동연구기관 / 에코바이오홀딩스 (주)

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “바이오황을 이용한 비료 및 농약 혼합 제품 개발”(개발기간 : 2017. 04. 21. ~ 2018. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 03. 15.

주관연구기관명 : 제주대학교산학협력단 (대표자) 도 양 희 (인)

협동연구기관명 : 에코바이오홀딩스(주) (대표자) 송 호 순 (인)

주관연구책임자 : 현 해 남

세부연구책임자 : 전 용 철

협동기관책임자 : 한 무 호

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	117015-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.04.21. ~ 2018.12.31	단 계 구 분	(2)/ (2)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	침단생산기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	바이오황을 이용한 비료 및 농약 혼합 제품 개발			
연구책임자	현 해 남	해당단계 참여연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 32명 내부: 28명 외부: 4명	총 연구개발비	정부:400,000천원 민간:140,000천원 계:540,000천원
연구기관명 및 소속부서명	제주대학교 생명자원과학대학			참여기업명 에코바이오홀딩스 (주)	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- 바이오황과 비료 및 살충제 혼합시 비료의 수용성 양분과 농약의 유효성분 농도는 변화 없었음, 고추재배 실험에서 바이오황 (황 50%)은 1,000~2,000배 희석하여 비료와 혼합 또는 단독으로 엽면살포 추천함. 감귤적용시험에서 500 배에서 가장 방제효과 좋았음. 바이오황은 비닐과 파이프의 부식에 안전함. 바이오황은 기존 농자재에 혼합하여 사용하는 보조제로서의 가치가 큼.
- 바이오황에 의한 항미생물 활성을 조사한 결과 감귤궤양병균, 감귤검은점무늬병균, 오이탄저병균, 감자역병균, 고추역병균 등에서 군사생장 억제효과. bio-test에서 오이탄저병과 감귤검은점무늬병을 각각 95%와 90%의 방제효과 있었고, 형광현미경과 주사전자현미경을 이용하여 관찰결과 오이탄저병은 병원균의 부착기 형성 감소 및 형태적 변형, 감귤검은점무늬병은 군사 생장이 억제됨.
- 바이오황을 하루 10톤 이상 생산용량 시설 완비, 내수용 및 수출용 바이오황 시제품 2종 개발, 바이오황 25% 제품은 유기농업자재 공시 (공시번호:1-6-030) 자재로 등록. 페루에서 굴응애와 아보카도의 적색거미 억제효과를 확인하여 수출활로 개척예상. 중국(CAC) 및 국내농업 박람회 참석 및 제품 홍보

보고서 면수: 104

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 에코바이오가 수도권매립지에서 발생한 황화수소(H₂S)를 미생물공법으로 생산한 2~10 μm 크기의 바이오황의 살진균 기작 및 원리를 밝히고 비료, 농약 혼합제품을 개발하여 일일 5~10톤 생산용량의 시설을 완비하여 국내 시장뿐만 아니라 세계적인 신제품을 개발하는 것을 목표로 함. ○ 바이오황은 유기농업자재 공시 및 품질인증 제품(공시 1-6-014 및 품질인증 1-6-002)이며, “흙과 비료와 벌레 이야기” 밴드를 통해 2년간 약 7,000여 농가에 무료 공급하여 현장 효과 확인, 개선점 등을 수집하고 있음. 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 바이오황의 함수율을 평균적으로 45~55% 범위로 조절하는 기술 개발 및 하루 10톤 이상 생산용량 시설 완비 ○ 내수용 (병해충관리용 바이오황 25%;10L, 1L, 0.5L, 0.25L) 및 수출용(병해충관리용 바이오황 40%; 10L, 0.5L, 0.25L, 0.1L, 벌크형) 시제품 출시. ○ 바이오황 25% 제품은 유기농업자재 공시(공시번호:1-6-030) 자재로 등록 ○ 바이오황에 의해 살진균 효과는 오이탄저병 병원균의 부착기 형성 감소, 감귤검은점무늬병 균사 생장을 억제하는 병방제 기작 구명. ○ 고추재배 실험에서 바이오황 (황 50%)은 1,000~2,000배로 희석하여 비료와 혼합 또는 단독으로 엽면살포 추천. ○ 물 및 기존 황 제품과 비교해서 바이오황은 비닐과 파이프의 부식에 차이가 없음. ○ 바이오황과 살충제 혼합 시 유효성분의 기준농도는 변화 없음. ○ 포장에서 감귤더덩이병, 귤응애, 감귤검은점무늬병은 500배에서 가장 방제효과가 좋았음. ○ 논문게재 1건(게재수락), 학술발표 9건, 인력양성(식사) 4명, “흙과 비료와 벌레이야기” 밴드 회원에게 바이오황 시제품 552톤 무상공급하고 밴드 내 바이오황 사용 후기 및 교육 1062건. ○ 페루에서 귤응애 및 아보카도의 적색거미 억제효과 확인하여 수출활로 개척 ○ 2018 중국국제농화학 및 작물보호박람회(CAC) 및 2018 케이팜 귀농귀촌 박람회 참석 및 제품 홍보 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 연구 종료 시점에 “흙과 비료와 벌레 이야기” 밴드 회원을 통한 홍보 및 현장 적용. ○ 농업현장에서 바이오황과 비료 및 농약 혼합사용은 바이오황의 살진균 효과와 비료의 양분 및 살충 효과를 동시에 볼 수 있어 상승작용이 기대되며, 기존 농자재에 혼합하여 사용하는 보조제로서의 제품 가치가 매우 높을 것으로 예상됨. ○ 병방제 기작을 구명함으로써 살진균 효과의 학문적 근거를 마련하였고, 국내 및 세계 유기농업자재 시장 진입을 위한 기반을 확보함. ○ 국내 판매용은 소규모 포장 판매 방식(0.5, 1.0, 5.0, 10L 용량), 수출용은 벌크형(용량 1톤) 용량으로 제품화할 계획 ○ 해외 기업과의 제휴 및 설비투자 등 다국적 거래선을 구축하여 세계 유기농업자재 시장에 진입할 계획임. ○ 참여기업은 “황화수소 분리 및 바이오황 전환기술”과 “바이오황 현탁액 함수율 조절을 위한 탈수 공정”기술을 보유하고 있으므로 본 연구 성과를 결합하면 원천 특허 획득이 기대됨. 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>바이오황</p>	<p>비료</p>	<p>살균제</p>	<p>바이오황-비료</p>	<p>바이오황-농약</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

제 1 장 연구개발과제의 개요	6
제 1 절 연구 개발의 목적, 필요성 및 범위	6
제 2 장 연구수행 내용 및 결과	12
제 1 절 세부과제별 연구내용 및 결과	13
1. 바이오황-비료, 농약 제품개발	13
2. 주요 식물 병원균에 대한 바이오황의 항미생물 활성, Bio-test를 통 한 방제수준 측정	51
3. 바이오황을 이용한 비료 혼합제품 공정 개발	72
제 2 절 연구 개발 성과 및 결과	93
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	102
제 1 절 목표 달성도	102
제 2 절 관련 분야 기여도	104
제 4 장 연구결과의 활용 계획 등	105
붙임. 참고 문헌	106

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구 개발의 목적, 필요성 및 범위

1. 연구개발 목적

- 에코바이오가 수도권매립지 발생 H₂S를 미생물 공법으로 생산한 2~10μm 크기의 바이오황의 살진균 기작 및 원리를 밝히고 비료, 농약 혼합 제품을 개발하여 일일 5~10톤 생산용량의 시설을 완비하여 국내 시장뿐만 아니라 세계적인 신제품을 개발하기 위함.

2. 연구개발의 필요성

가. 바이오황의 생산

- 바이오황 생산회사인 에코바이오(www.ecobioholdings.com, KOSDAQ 상장기업, 참여기업, 협동과제)는 수도권 매립지에서 메탄가스로 전력을 생산하는 기업으로 전력생산량은 50MW/h로 세계 최대 규모이며, 바이오황은 전력 생산과정에서 수도권매립지에서 발생하는 H₂S를 NaOH로 용해시키고 Thiobacillus속 미생물이 먹이로 사용하고 배설하는 것임.
- 에코바이오의 바이오황 생산시설은 세계에서 가장 큰 규모의 바이오황 생산시설이며, 생산 시설비는 약 500억 원이 소요되었으며 연간 약 10,000톤이 생산됨.
- 바이오황 생산과정은 수도권매립지에서 발생하는 매립가스(메탄가스, 황화수소가스)가 ① scrubber로 유입시켜 ② NaOH 용액으로 H₂S로 정제하여 메탄가스는 전력용으로 이용하며, ③ NaOH와 반응시킨 HS⁻를 생성시키고(반응식 H₂S_(liquid) + OH⁻ → HS⁻_(liquid) + H₂O) ④ Bioreactor로 이송시켜 ⑤ Bioreactor에서 공기 주입을 통한 산화 및 미생물을 이용하여 S⁰를 생성시키며(반응식 HS⁻_(liquid) + 1/2 O₂ + S⁰ + OH⁻) ⑥ Sulphur handling 과정에서 바이오황(Bio-S)를 분리하여 생산함. 생산된 바이오황의 크기는 2~10μm의 크기를 가짐.





그림1. 바이오황의 생산과정 및 특성.

나. 기존 황과의 차별성

- 국내 유기농자재 목록에 30여종의 황 기반 제품이 등록되어 있으나, 바이오황 형태의 제품은 존재하지 않음. 국내 황 함유 농약 제품은 모두 무기 황제인 석회유황합제나 황토유황, 자닦유황 형태로 농가 자가 제조 기술의 수준에 머물러 있음.
- 바이오황은 기존의 석회유황합제, 황토유황과는 달리 미생물공법으로 생산되는 친수성의 2~10 μ m 입자이며, pH 8 내외, 황 농도 50% 내외, 밀도 1.35 g/cm³로 비닐 및 농자재를 부식시키지 않으며, 비료 또는 농약과의 혼합이 가능할 것으로 예상되는 살진균용 자재임.

표1. 바이오황과 기존 황 기반 제품 비교

구분	바이오황	황 기반 기존 제품 (석회유황합제, 황토유황)	
형태	 Bio sulfur	 Sulfur(side view)	
친수성 여부	친수성, 입자형태	친수성이 아님	
입자 크기	2~10 μ m	-	
원료 출처	H ₂ S	석유화학, 화산분출 황	
생산 방법	미생물 공법	황에 가성소다를 첨가하여 화학적 반응에 의한 제조	
생산량 및 방법	에코바이오 일일 20톤 생산	농가에서 자가 제조	
제품 특성(pH)	pH 8	pH 12	
농기자재 부식	없음	철 등을 부식시키기 때문에 하우스 사용 못함	
비닐 부식	없음	하우스 비닐 부식시킴	
타 약제와 혼합	혼합가능성	가능할 것으로 예상 (본 연구과제 내용)	불가능함.
	이유	친수성이기는 하지만 2~10 μ m 의 입자로 비료, 농약의 특성에 따라 혼합 가능성이 매우 큼 (본 연구과제의 내용)	높은 pH로 비료, 농약과 혼합시 화학반응 발생

다. 바이오황의 농업 현장 적용 시도

- 2014년도부터 생산된 바이오황은 용도를 찾지 못해 처리에 고민하고 있었으며, 2015년부터 연구책임자가 운영하고 있는 “흙과 비료와 벌레 이야기” 네이버밴드 회원 약 7,000여 명에게 무료 공급하여 농업용 살진균제로서의 가능성을 확인하고 있음.
- 밴드를 통해 7,000농가에 무료 공급한 양은 500여 톤이며, 바이오황 사용 농가들의 사용경험, 효과, 문제점, 요구사항들을 정리한 수집 자료는 약 1,500쪽(2017. 3월 기준)이며, 기존 황제품(석회유황합제, 황토유황 등, pH 12)에 비해 pH가 중성에 가까워 하우스의 비닐, 철

근을 부식시키지 않으며, 토양살균으로 적절하며, 다른 약제와의 혼용의 가능성이 커서 기호도가 매우 높았음.



그림 2. 신제품 개발을 위한 자료 축적과 농업용 사용 사례.

- “흙과 비료와 벌레 이야기” 밴드에 게시된 바이오황 경험에서 흰가루병 방제효과에 대한 농가 사용 후기 예.

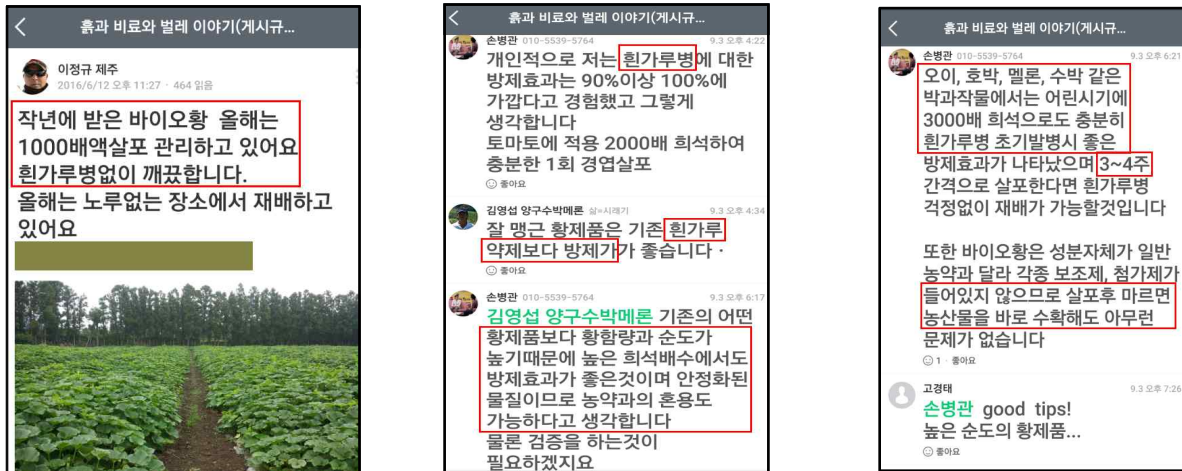


그림 3. 밴드에 게시한 농가 현장 바이오황 흰가루병 효과의 예.

- 바이오황은 유기농업자재 공시(공시 1-6-014 및 품질인증 1-6-002)을 받았음. 2017. 3월 유기농업자재 공시 제품은 1,400여개 이며, 품질인증 제품이 20개임을 감안하면 본 연구 원료인 바이오황의 안정성과 농업적 활용 가능성은 매우 높음.

공시 및 품질인증원형 정보			
공시번호	공시-1-6-014	자재종류	병해출판인증
상표명	해코바이오황	자재명	황
가격	7,000원 0.5L, 12,000원 1L, 140,000원 20L, 4,000,000원 1ton	등록일자	2015.10.10.
공시(품질인증)기간	2015.10.10. ~ 2018.10.09.	제조회사	해코바이오올딩(주)
사업자등록번호	229-81-28817	연락처	02-3483-2900
책임보험가입여부		농약비료등록대부	
주소(제조장주소)	인천광역시 서구 벽석동 58(수도권 대법지 내)		
주 성분(원료)의 총량 함유량(%)	황 50		

공시 및 품질인증원형 정보			
공시번호	품질인증-1-6-002	자재종류	병해출판인증
상표명	해코바이오황	자재명	황
가격	7,000원 0.5L, 12,000원 1L, 12,000원 1L, 4,000,000원 1ton	등록일자	
공시(품질인증)기간	2016.06.30. ~ 2019.06.29.	제조회사	해코바이오올딩(주)
사업자등록번호	229-81-28817	연락처	02-3483-2900
책임보험가입여부	X	농약비료등록대부	X
주소(제조장주소)	인천광역시 서구 벽석동 58(수도권 대법지 내)		
주 성분(원료)의 총량 함유량(%)	황 50		

그림 4. 유기농자재 공시 및 품질인증 (공시1-6-014, 품질인증-1-6-002).

- 유기농업자재 공시 및 품질인증 과정에서 한국생물안전성연구원에서 바이오황 자체의 흰가루병, 점박이 응애에 대한 효과 시험이 있음(유기농업자재 공시 및 품질인증 용도로 사용됨).



그림 5. 한국생물안전성연구원의 흰가루병 및 응애 방제효과.

라. 선행 연구 내용

(1) 바이오황의 생산기술

- 참여기업(협동과제)의 바이오황 생산기술은 여러 연구를 통해 개발되었으며, 품질을 높이기 위한 연구가 진행되고 있음. 그 내용은 다음과 같음
- 정부지원 연구: 주관연구기관/연구책임자 : 에코바이오홀딩스(주)/임동원, 연구과제명: 황화수소 분리와 바이오황 전환기술 및 중질가스 활용기술개발. 기술분류: 실용, 총연구기관 : 2016.6.~2019.4, 참여기업/실시기업: 에코바이오홀딩스주식회사
- 연구내용: 수도권 매립지에서 매립가스 중에서 고농도 배출되는 황화수소를 분리제거효율을 높여 단순 바이오황 전환 효율을 최대화 시키는 공정 최적화 기술
- 본 연구와의 차별성 및 연계성: 위 선행 연구는 매립가스 중 CH₄가스를 중질가스로 정제하는 단계에서 고농도 황화수소를 제거하는 공정을 안정화시키는 위한 목적으로 바이오황 최적화하는 공정최적화 기술개발 연구임. 이 기술을 활용하여 전환된 바이오황을 활용한 다양한 응용제품을 개발할 수 있는 원료물질로 사용이 가능하며, 이 원료물질을 활용한 특정용도의 제품을 개발하고자 하는 것임.

마. 연구개발의 필요성

(1) 농업인의 바이오황의 농업 현장 사용에서 평가한 장점 및 요구사항

- 약 2년간 “흙과 비료와 벌레 이야기” 밴드를 통해 7,000여 농가에 공급(①, ②)하고 사용 후기를 분석한 결과는 아래와 같음.

- 흰가루병 등의 곰팡이병에 90% 이상의 방제효과가 있음. 민달팽이에도 500배로 희석하여 사용하면 효과가 매우 높았음.
 - 일부 응애 등에 대해 방제효과 있었음. 민달팽이에도 500배로 희석하여 사용하면 효과가 매우 높았음.
 - 피부, 옷에 묻어도 피해가 없어서 기존 황제품인 석회유황합제, 황토유황과 차별화가 이루어짐.
 - 바이오 황이 기존 석회유황합제, 황토유황과는 달리 하우스 비닐 및 철근 등의 부식이 없음(황토유황은 비닐, 철근 부식으로 하우스에서 사용하지 못함)
 - 벌에 대한 피해가 없음.
- 기술개발 연구 요구 사항은 사용의 편리성 및 효과를 높이기 위해 다음과 같은 요구사항이 있었음.
- 살진균 효과가 높은 이유에 대한 방제기작, 원리.
 - 일손을 줄이기 위해 바이오황과 비료를 혼합하여 살포할 수 있는 바이오황-비료 혼합기술 및 제품.
 - 살진균 효과와 살충효과가 동시에 나타날 수 있는 바이오황-살충제 혼합 기술 및 제품.
 - 현재 끈적끈적한 현탁액 형태의 제품에서 분말형태, 분산도를 높일 수 있는 기술 등
 - 이와 같은 제품이 개발되는 경우에 하우스 재배, 엽채류, 과수 등에 광범위하게 적용시킬 수 있으며, 세계적인 제품으로 발전 가능성이 높음.

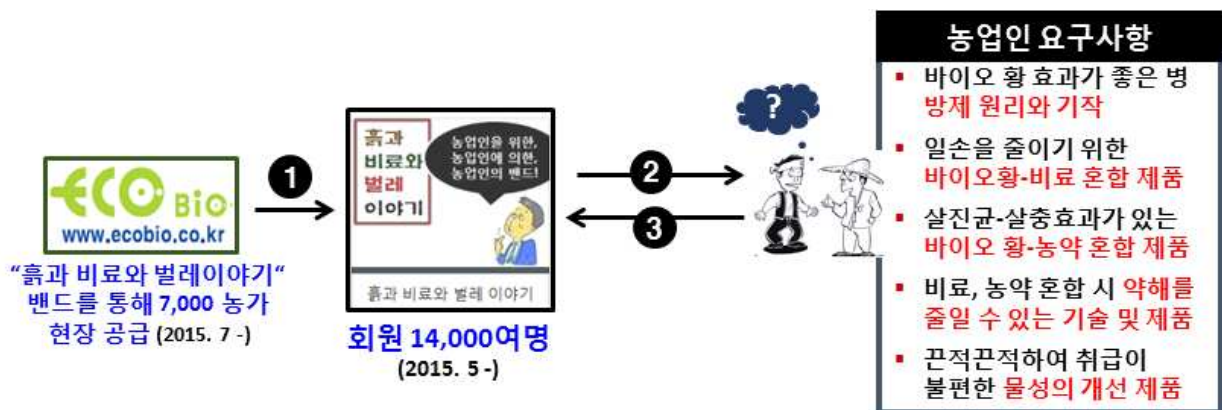


그림 6. 바이오황에 대한 농업 현장 사용 평가 및 요구사항.

(2) 농업현장에서의 중요성 및 확장성

- 농사 현장에서는 살진균 효과와 비료 또는 농약과 혼용하여 사용할 수 있는 제품을 원하고 있으나 기존 황제품의 높은 pH 때문에 혼용의 문제점을 갖고 있음.
- 바이오황-비료, 바이오황-농약 혼용 제품이 개발되는 경우 농업인의 일손 줄이기, 양분공급 효과 및 살충효과를 동시에 볼 수 있기 때문에 양분관리, 병해충 관리에 매우 큰 기여를 할 수 있음.

- 바이오황 생산기술은 최근에 개발된 기술로 유럽의 세라디스사에서 생산 판매하고 있으나 기술개발 수준은 초기단계에 머물고 있음.
- 바이오황-비료, 바이오황-농약 혼합 기술 및 제품 개발이 성공하는 경우에 국내뿐만 아니라 외국에서도 호평 받는 신개념 농자재로 시장을 확보할 수 있을 것임.

3. 연구개발 범위

- 바이오황을 사용하는 농가의 공통된 요구사항은 1) 바이오황의 곰팡이병 등에 효과가 있는 방제 원리와 기작, 2) 바이오황-비료 혼합 시 나타나는 약해 문제점 및 동시에 살진균 효과와 양분을 공급할 수 있는 제품, 3) 바이오황-살충제 혼합 시 나타나는 약해 문제점 및 살진균-살충효과를 얻을 수 있는 제품, 4) 바이오황이 토양에 첨가되었을 때 나타나는 토양성질의 변화 등이었음.
- 따라서 본 연구에서 개발하고자 하는 핵심기술은
 - 바이오황과 분말형 원예용 비료, 수용성 4종복비, 미량요소복합비료를 혼합하는 기술 및 토양성질에 미치는 요인
 - 바이오황과 살충제를 혼합했을 때 약해가 나타나지 않는 적정 농도 및 적정 혼합 기술 및 제품
 - 주요 식물 병원균에 대한 바이오황의 항미생물 활성, Bio-test를 통한 방제수준
 - 전자현미경을 이용한 작물병 억제기작
 - 농사현장에서 즉시 물에 녹여 사용할 수 있는 바이오황-비료, 바이오황-농약 혼합 제품 개발임.
 - 현재 국내법으로는 비료, 농약 등의 농자재에 유기농업자재를 혼합할 수 없는 상황임. 따라서 사용자 편의에 의해 무농약, GAP, 유기농 농가를 우선으로 효과를 상승시킬 수 있는 보조제 개념으로 제품을 개발하여 시장에 진입시키고 점차 일반농가에 확산시킬 예정임.

제 2 장 연구수행 내용 및 결과

○ 본 연구의 추진전략은 연구개발 추진도와 같이

- ① 제1세부과제는 에코에너지에서 생산하는 바이오황을 원료로 비료, 농약 혼합 재료로 사용한 신제품 개발을 위하여 비료와 농약을 혼합했을 때 바이오황의 물성, 비료와 농약의 약효에 미치는 영향, 작물재배, 토양 성질에 미치는 영향, 약해를 감소시키기 위한 희석배수를 조사.
- ② 제2세부과제는 바이오황 자체의 살진균 활성검증, Bio-test를 통해 선발된 작물 병에 대한 방제수준, 작물병 억제 기작을 구명하며, 바이오황의 살진균 억제 및 방어기작에 대한 결과를 구축.
- ③ 제1세부과제 책임자가 관리하고 있는 “흙과 비료와 벌레 이야기”를 통해 농가 현장에 공급하여 엽면살포용, 토양살균용, 동계방제용 제품개발 방향, 효과, 사용 편리성, 약해, 희석농도의 적정성, 개선점 등을 수집.
- ④ 제1, 2세부과제 성과를 종합적으로 정리하여 에코바이오의 제품개발 방향을 결정하고
- ⑤ 에코바이오는 제품의 효과를 높이기 위해 분산/현탁, 안정성을 높이기 위한 제품생산, QC, 5~10톤/일 생산용량 시설 완비하여 연구 종류 시 2~13개 제품을 출시.
- ⑥ 연구개발 성과의 특허 출원 등의 지식재산권 확보 및 농림수산물기술기획평가원에 기술료 납부 및 추가 기술개발 요청.
- ⑦ 국내 시장을 기반으로 중국, 아시아, 남미 등에 우선 수출을 추진하며(기존에 가공하지 않은 바이오황을 매년 300~1500톤 벌크 상태로 중국, 남미 수출했음), 점차 유럽 등으로 수출을 확대시켜 나갈 것임.

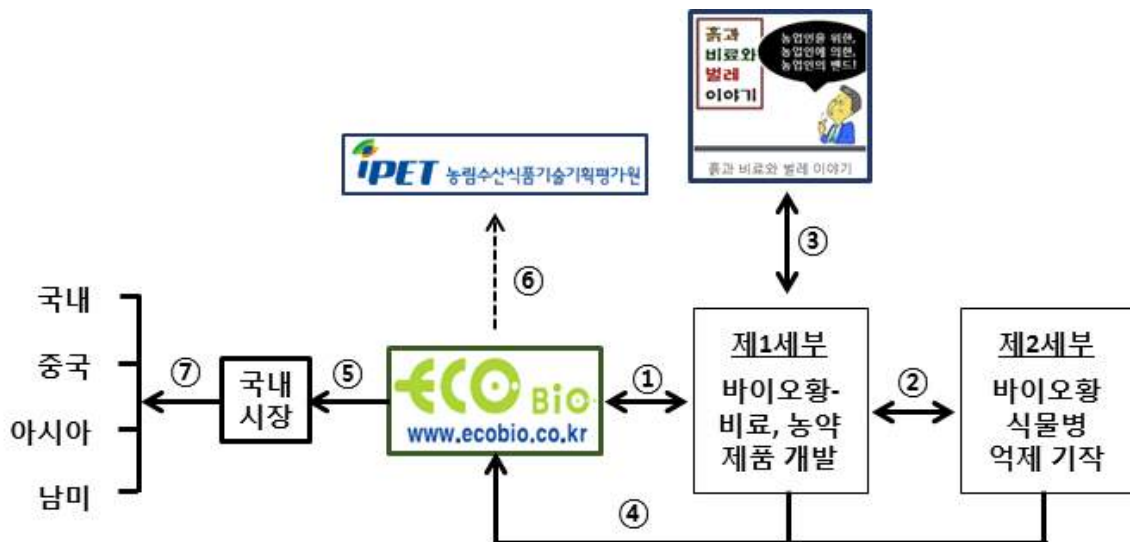


그림 7. 연구 개발 추진도.

제1절 세부과제별 연구내용 및 결과

1. 1세부과제: 바이오황-비료, 농약 제품개발

가. 바이오황 현탁액의 분산효과를 높일 수 있는 약제 선발

- 현재 생산되는 바이오 황은 끈적끈적한 현탁액 상태이므로 물에 희석하여 사용할 때 분산도가 낮아 침강되는 문제점을 갖고 있음.
- 농가에서 바이오황 현탁액을 토양소독이나 엽면시비를 할 때 바이오황 입자가 침강되지 않고 오래 지속할 수 있는 방법을 개발하기 위해 바이오 황 현탁액을 물에 희석하여 분산효과를 높일 수 있는 약제를 선발하기 위함.
- 선발된 전착제와 혼합된 바이오황을 고추 엽에 실제 처리하여 용액의 확산성을 관찰함.

(1) 연구 방법

- 바이오 황 현탁액을 500배, 1,000배, 2,000배, 3,000배로 물을 이용하여 희석한 후에 1 L 메스실린더에 바이오 황 희석액을 넣고 6종류의 전착제 (표. 1-1)를 각각의 제품에 제시된 사용량을 혼합한 후 0 (혼합즉시), 3, 5, 10, 15, 20, 24시간 동안 정치하여 바이오황 입자의 침강 깊이를 측정.

표 1-1. 전착제의 유효성분 및 실험에 사용한 적용량.

시료 구분	품목명	유효성분	사용량 (mL/20L)	적용량 (mL/1L)	적용 작물
A	파라핀 유탁제	Paraffin	20	1	고추, 배, 복숭아, 사과
B	폴리옥시에틸렌 메틸폴리실록세인 액제	Polyoxyethylene methylpolysiloxane	3.3	0.165	고추, 사과, 복숭아
C	카바 액제	Blend of alkylaryl Polyethoxylate, Sodium salt of alkylsulfonated alkylate	10	0.5	벼
D	전착제	Polyoxy ethylene alkylarylether, Sodiumligno	7~10	0.5	-
E	실록세인 액제	Siloxane	6.7~10	0.5	벼, 고추, 오이, 수박, 장미
F	스프레더스티커분산성액제	Spreader-sticker	5	0.25	고추, 사과

- 바이오황 현탁액을 물을 이용하여 500배로 제조하고, 1 L 메스실린더에 바이오황 희석액과 제1세부과제에서 육안 침강 실험을 통해 선발된 전착제(분산제) 3종을 혼합하여 정치하고, 10, 30, 60, 240, 1,200, 1,440분에 각각 7, 14, 21, 28 cm 깊이에서 용액을 채취하여 바이오황

의 입자 크기 분포를 Laser particle Sizer (FRITSCH, 독일, 측정범위 0.01~2,000 μm) 이용하여 측정함.

- 3종의 전착제가 혼합된 바이오황 회석액 10 μl 를 고추엽에 가하고 용액의 퍼지는 현상을 관찰함.

(2) 연구 결과

- 바이오 황의 침강을 육안으로 관찰했을 때 1,000배 2,000배, 및 3,000배로 희석한 바이오 황에서는 침강이 일어나지 않았으나, 500배 희석에서는 20시간 후 약 11 cm 침강됨 (그림 1-1).
- 전착제 중 A 제품 (유효성분 Paraffin)을 0.1% 처리했을 때 24시간 후에도 바이오 황 입자는 침강되지 않고 1 L 메스실린더에 퍼져있었으며, 분산효과가 가장 좋았음.

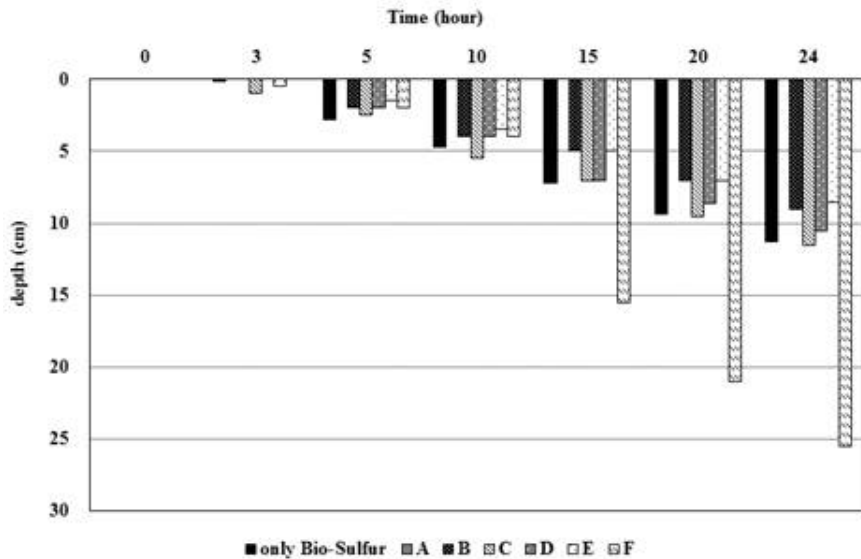


그림 1-1. 6종 전착제와 바이오황 500배액 혼합액의 침강 깊이 측정.

- 바이오황과 전착제 혼합액의 입자 크기 분포를 Laser particle Sizer 이용하여 측정한 결과 30분까지 모든 처리구에서 2.0~2.9 μm 를 유지하고 있었으나 1시간 이후부터 바이오황 처리구 (전착제 무처리구)에서 가장 먼저 황 입자가 침강되었음 (표 1-2).
- 전착제 C는 20 시간, 전착제 E는 4시간 후부터 메스실린더 상층부에서 황 입자가 침강되었고, 24시간 후에는 28 cm 깊이에서 약 1.5 μm 입자 크기 분포를 나타냈음.
- 전착제 중 A 제품 (유효성분 Paraffin)을 0.1% 처리했을 때 24시간 후에도 바이오 황 입자는 침강되지 않고 1 L 메스실린더에 퍼져있었으며, 분산효과가 가장 좋았음.
- 전착제가 혼합된 바이오 황 회석액 10 μl 를 고추 엽에 가하고 용액의 퍼지는 현상을 관찰했을 때 E제품(유효성분 Siloxane)이 다른 전착제 보다 확산성이 큰 것으로 나타남.

표 1-2. 전착제에 의한 바이오황 현탁액 500배 희석액의 입자크기 분포.

처리구	deth (cm)	10분	30분	60분	240분	1200분	1440분
		μm	μm	μm	μm	μm	μm
Bio-S	7	2.8	2.6	ND [†]	ND	ND	ND
	14	2.8	2.9	2.6	ND	ND	ND
	21	2.9	2.8	3.1	ND	ND	ND
	28	2.7	2.8	2.8	2.2	ND	ND
A+Bio-S	7	2.5	2.0	1.5	1.1	1.1	1.2
	14	2.7	2.5	1.9	1.8	1.2	1.2
	21	2.4	2.3	2.2	1.5	1	1.5
	28	2.5	2.4	1.4	1.5	1.1	2
C+Bio-S	7	2.7	2.4	1.9	1.9	ND	ND
	14	2.8	2.8	2.3	1.3	1.2	ND
	21	2.9	2.9	2.6	2	1.2	ND
	28	2.8	2.9	2.5	2.2	1.5	1.3
E+Bio-S	7	2.8	2.6	1.8	ND	ND	ND
	14	2.8	2.4	2.5	1.5	ND	ND
	21	2.7	2.7	2.7	1.4	1.9	ND
	28	2.7	2.8	2.7	2	1.5	1.7

† Not determined



Only Bio-Sulfur 500 X



Only Bio-Sulfur 1,000 X



Only Bio-Sulfur 2,000 X



Only Bio-Sulfur 3,000 X



Bio-S 500 X + C제품



Bio-S 1,000 X + C제품



Bio-S 2,000 X + C제품



Bio-S 3,000 X + C제품



Bio-S 500 X + E제품



Bio-S 1,000 X + E제품



Bio-S 2,000 X + E제품



Bio-S 3,000 X + E제품



Bio-S 500 X + A제품



Bio-S 1,000 X + A제품



Bio-S 2,000 X + A제품



Bio-S 3,000 X + A제품

그림 1-2. 바이오황 희석액과 전착제 혼합액을 고추엽에 처리한 사진.

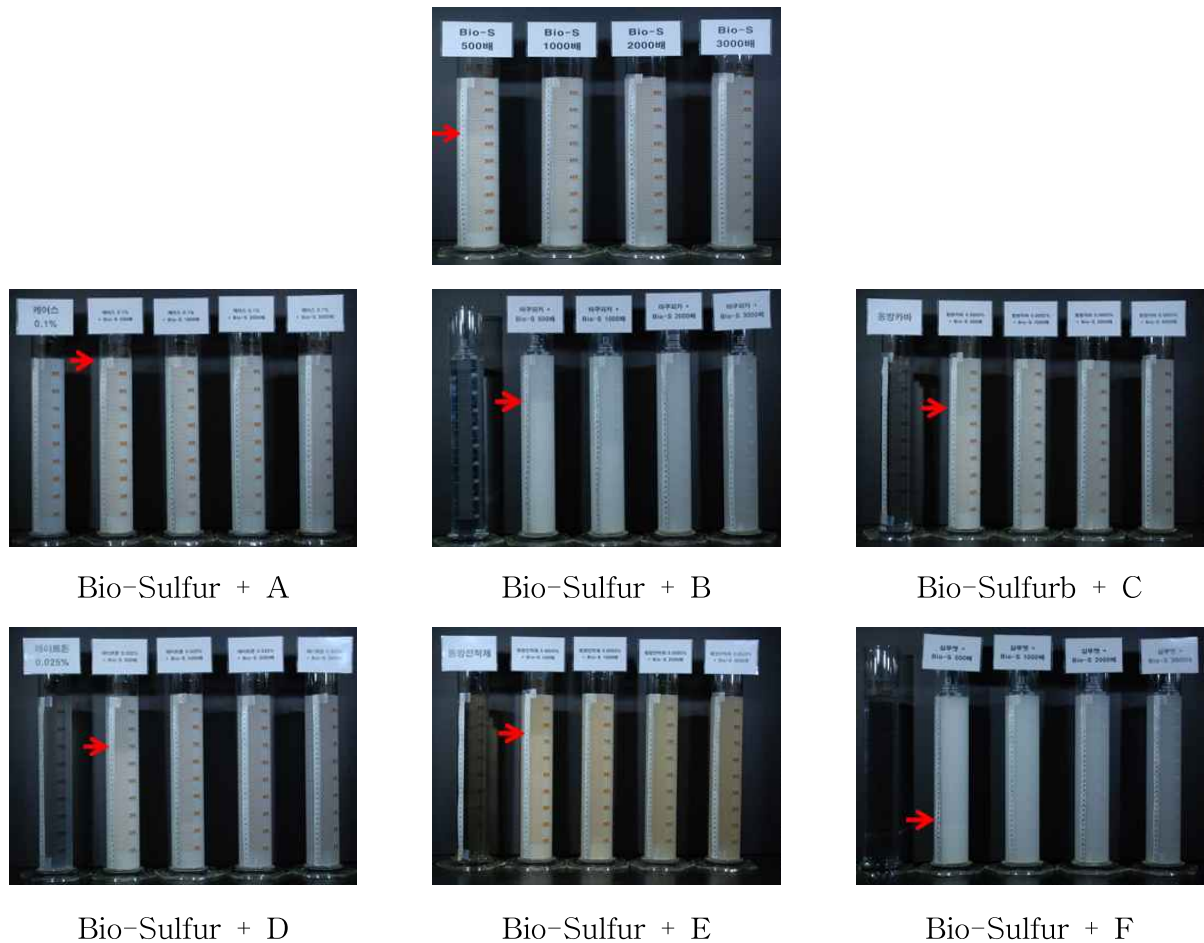


그림1-3. 24시간 후 바이오황 및 6가지 전착제에 의한 바이오황 현탁액의 침강실험 사진.

나. 바이오황과 비료 혼합 가능성 조사

(1) 바이오황-비료 혼합액의 성분함량 변화 조사

- 농업현장에서 병 방제 목적으로 바이오 황을 살포하고 있으며, 비료와 혼용하여 사용하게 되면 병 방제와 양분공급을 동시에 할 수 있어 일손을 줄일 수 있을 것으로 기대됨.
- 바이오 황 현탁액과 비료를 혼합했을 때 엽면시비를 통해 식물이 쉽게 이용할 수 있는 수용성 성분 함량 변화를 조사하였음.

(1) 연구 방법

- 바이오 황 현탁액을 500배, 1,000배, 2,000배, 3,000배로 희석.
- 6 종류: NK비료 (0.2%), 21복합비료 (0.2%), 4종복비 (0.1%), 미량요소복합비료 (0.1%), 붕소비료 (0.05%), 칼슘비료 (0.0125%)
- 비료종류에 따라 0.05~0.2%로 제조하여 바이오 황 희석액에 혼합하고 1, 10, 24시간 동안 진탕시킨 후 여과하여 ICP-OES (JY 138 ULTRACE)로 분석.

(2) 연구 결과

(가) NK 분말비료의 수용성 성분 함량 변화

○ 24시간 진탕 후에도 수용성 질산태질소와 칼륨 성분은 황 입자에 흡착되지 않고 유지됨.

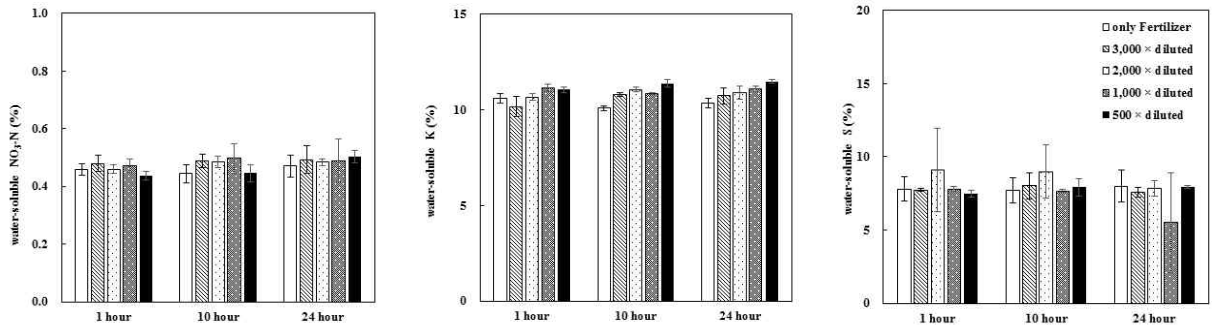


그림 1-4. NK 비료의 수용성 질산태질소와 칼륨 함량 변화.

(나) 21-17-17 복합비료의 수용성 성분 함량 변화

○ 21-17-17 복합비료를 물에 녹이거나 바이오 황 현탁액에 비료를 혼합했을 때 수용성 성분의 함량에 변화는 없었음.

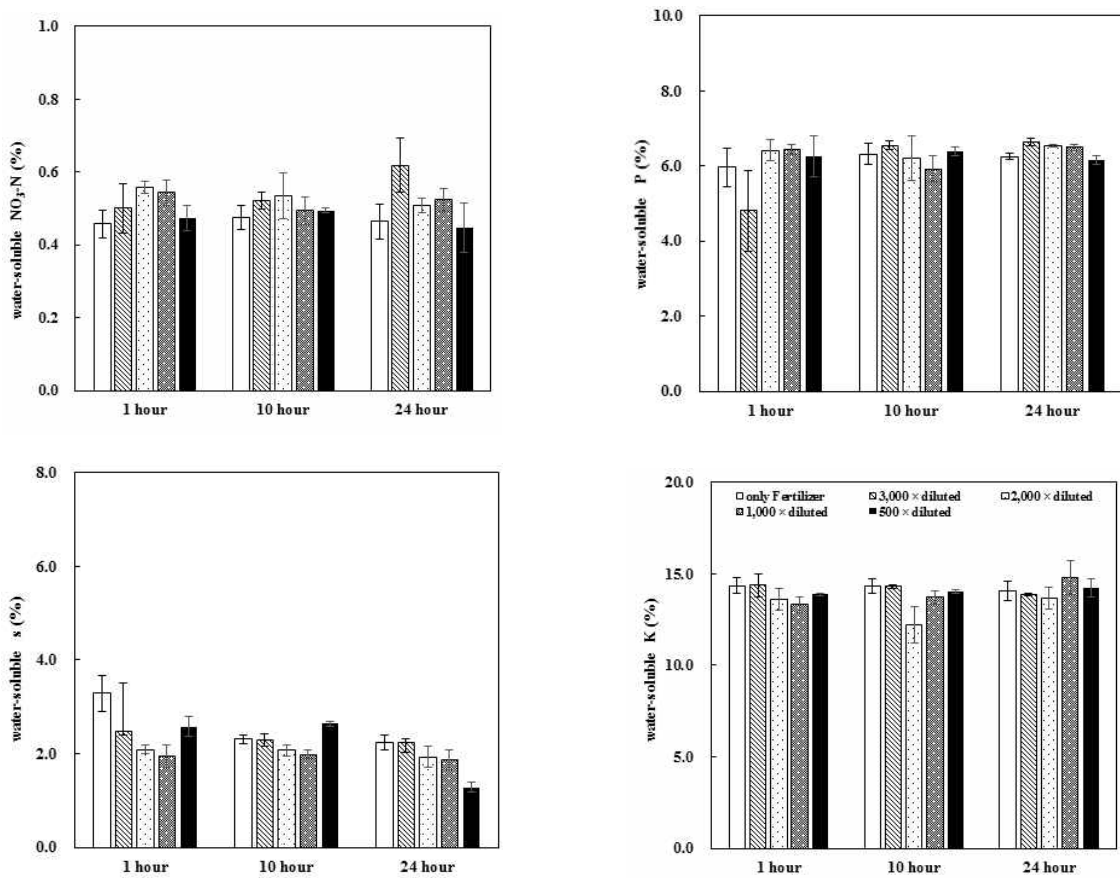


그림 1-5. 21-17-17 복합비료의 수용성 질산태 질소, 인 및 칼륨 함량 변화.

(다) 미량요소 복합비료의 수용성 성분 함량 변화

- 미량요소 복합비료는 농업현장에서 엽면시비에 사용되는 비료로 붕소, 구리, 철, 망간, 몰리브덴, 아연 등이 함유되어 있어 바이오황과 혼합하여 사용하기에 이점이 많은 비료임.
- 본 실험에 사용된 비료 중 아연, 붕소, 철 망간은 바이오 황 희석농도와 시간 경과에 따라 수용성 양분이 변화는 없었음.
- 그러나 구리 성분은 시간이 경과함에 따라 바이오황 현탁액 500와 1,000배에서 수용성 구리 함량이 감소하는 경향이였다. 대체로 농업현장에서는 바이오황 현탁액을 2,000배로 희석하여 사용하고 있으므로, 본 실험결과 2,000배까지는 수용성 구리 함량이 10시간까지 물에 녹인 수용성 구리함량과 농도차가 크지 않아 농가 현장의 작업시간과 바이오황 희석농도를 고려할 때 바이오 황과 미량요소 복합비료를 혼합하여 사용 가능할 것으로 생각됨.

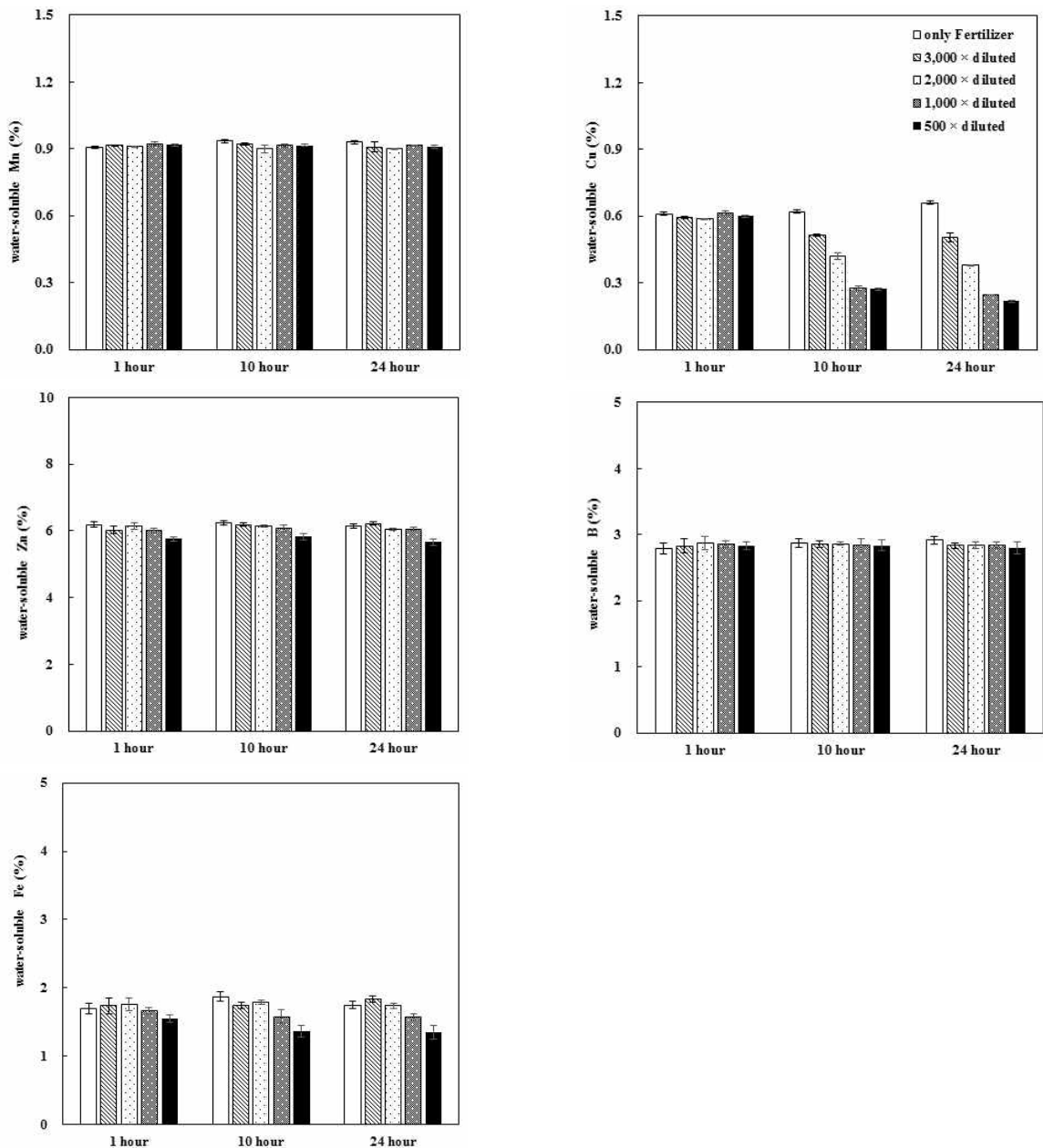


그림 1-6. 미량요소 복합비료의 수용성 망간, 구리, 아연, 붕소 및 철 함량 변화.

(라) 4종 복합비료의 수용성 성분 함량 변화

- 4종 복합비료는 미량요소 복합비료와 같이 엽면시비용에 사용되며 질소전량, 수용성 인산, 수용성 칼리 성분 및 미량원소가 함유된 비료임.
- 본 실험에서는 칼륨, 마그네슘, 망간, 붕소는 바이오 황 회석액과 혼합 후에도 수용성 양분의 함량을 유지하고 있었음.
- 인산 및 아연 성분은 바이오 황 농도가 높아짐에 따라 각각의 수용성 양분이 감소하는 경향을 보여 바이오 황에 인산과 아연 성분이 흡착된 것으로 생각됨. 2,000배 희석까지는 바이오황과 혼합하지 않은 수용성 인산, 아연 함량과 큰 차이를 보이지 않아 엽면시비 할 경우 작물의 양분공급에는 문제가 없을 것으로 생각됨.

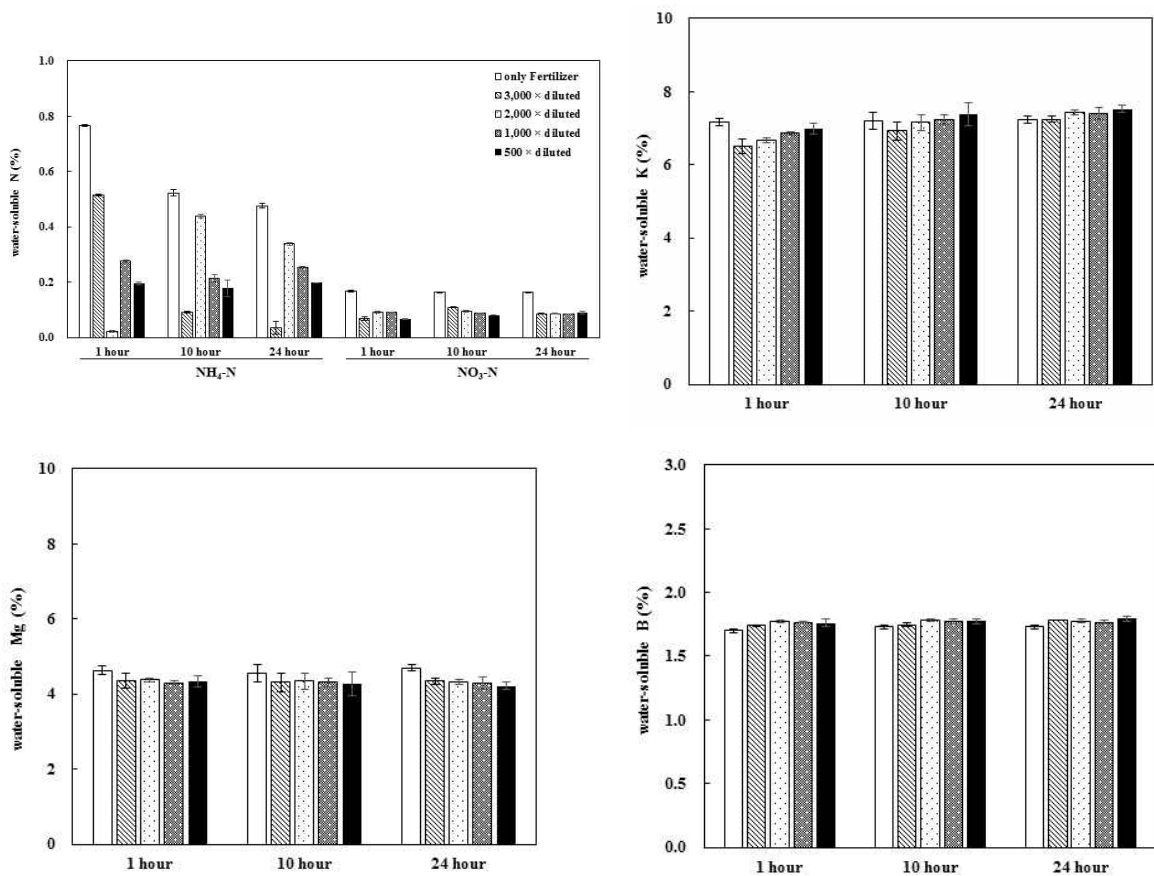


그림 1-7. 4종 복합비료의 수용성 질소, 칼륨, 고토, 붕소 함량변화.

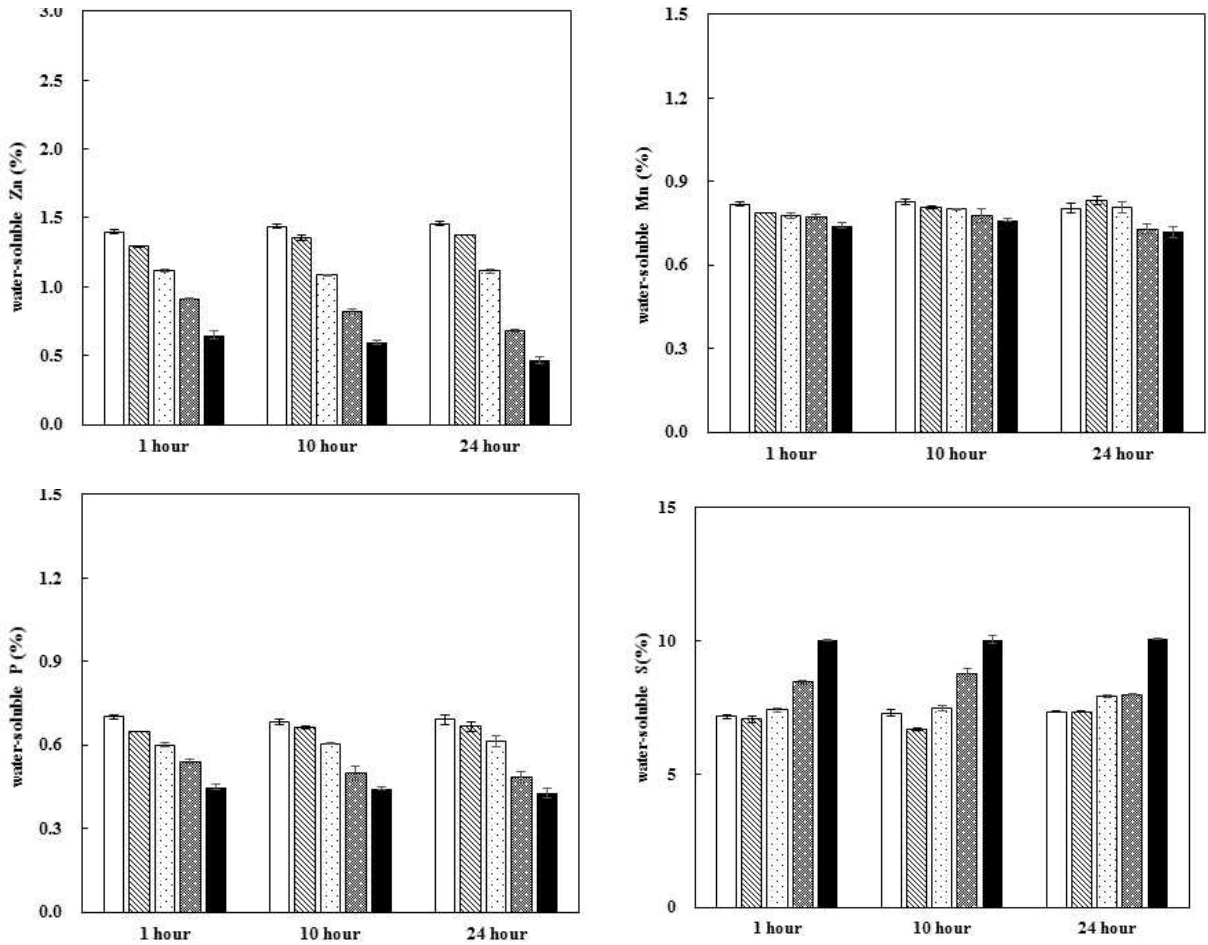


그림 1-8. 4종 복합비료의 수용성 아연, 망간, 붕소, 인산 및 황 함량 변화.

(마) 칼슘과 붕소비료의 수용성 성분 변화

○ 24시간 진탕 후에도 수용성 칼슘과 붕소 성분은 황 입자에 흡착되지 않고 유지됨.

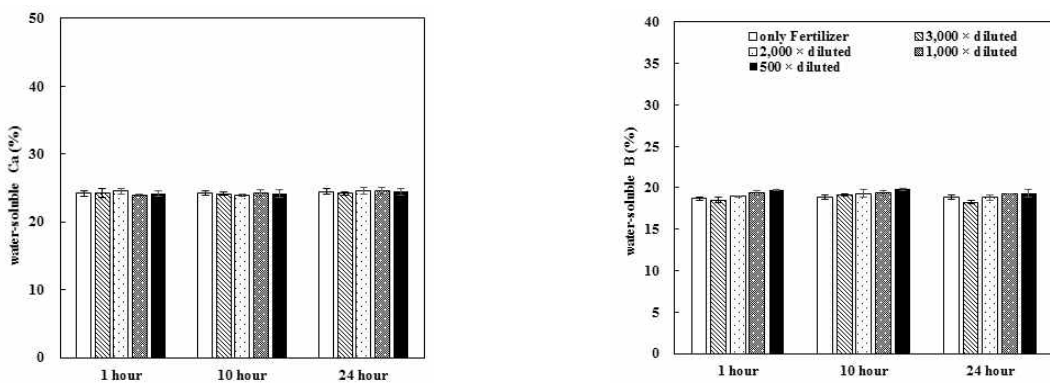


그림 1-9. 칼슘과 붕소비료의 수용성 함량 변화.

○ 바이오 황과 6종의 비료를 혼합하여 수용성 성분의 변화를 조사한 결과를 종합해 보면 비료 종류에 따라 수용성 양분의 함량이 차이를 보이고 있음.

○ 특히 엽면시비로 이용되고 있는 4종 복비와 미량요소 복합비료의 수용성 양분에서 바이오

황 혼합하였을 때 수용성 양분이 감소하는 경향을 보이고 있었음.

- 이와 같은 결과는 Pearson의 HSAB(Hard and soft acid and base) 이론에 의해 황의 형태에 따라 Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} 등과 결합력이 높기 때문에 수용성 성분과 황이 흡착되는 것으로 생각됨.
- 바이오 황의 희석농도를 2,000배로 희석할 경우 아연, 구리 및 인산의 수용성 양분은 유지되고 있으므로 바이오 황의 희석비율을 조절하여 사용한다면 비료와 혼합하여 사용 할 수 있을 것으로 판단됨.

다. 공시재료(고추)에 관주처리 및 바이오황-비료 혼용 살포 후 생육상황 및 토양 성질의 변화 조사

(1) 바이오황 관주처리 (1차년도)

(가) 연구방법

- 공시작물을 고추로 하여 제주대학교 생명자원과학대학 시설하우스에서 포트재배로 2017년 9월 10일~11월 20까지 수행하였음.
- 시험에 사용된 토양은 미사질 양토인 농암갈색 화산회토로 토양의 이화학적 특성은 표1-3과 같이 유효인산이 낮은 토양이었음.
- 시비량 (N-P₂O₅-K₂O)은 19-11.2-14.9 kg/10a 당 기준으로 토양에 화학비료를 혼합하였고 포트에 고추를 정식하였음. 시험토양에 퇴비는 사용하지 않았음.
- 토양관주 처리구는 바이오 황 현탁액을 2,000배로 희석하여 5일 간격으로 400 mL를 토양에 관주해 주었고, 대조구는 같은 량의 물을 처리하였음.
- 토양 분석은 1개월 간격으로 토양을 채취하여 농촌진흥청 토양 및 식물체 분석법에 준하여 pH, EC, 유기물, 총 질소, 유효인산, 유효황 및 교환성양이온을 분석하였음.

표 1-3. 시험 전 토양의 이화학적 특성.

항목	pH (1:5)	EC (dS m ⁻¹)	유기물 (%)	질소 (%)	유효 황 (mg kg ⁻¹)	유효인산 (mg kg ⁻¹)	교환성양이온(cmol _c kg ⁻¹)			
							K	Ca	Mg	Na
시험전	5.1	0.29	6.8	0.23	77.2	34.2	0.27	1.06	0.52	0.07

(나) 연구 결과

- 전기전도도, 유효인산 및 칼륨 함량은 재배 시작 전에 혼합한 화학비료의 영향으로 초기에 급증하는 경향을 보였음.
- 조사기간 동안 유기물, 총 질소 및 유효인산 함량은 두 처리구 간 유의적인 차이가 없었음.
- 고추 재배 기간 동안 바이오황 처리구에서 유효황 함량이 증가함에 따라 pH가 무처리구에 비해 약 0.2~0.5 감소하였고, 작물 수확 후에는 유효황 함량이 감소함에 따라 pH가 증가하는 경향이었으며, 유효 황 함량과 pH 간에는 유의적인 상관관계가 있었음 ($R^2=0.9075$, $p<0.05$).
- 재배기간 이후에는 토양의 수분관리를 작물 재배기간보다 낮게 유지됨에 따라 두 처리구 모두에서 전기전도도와 교환성양이온(K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺) 함량이 증가하는 경향을 보였음.

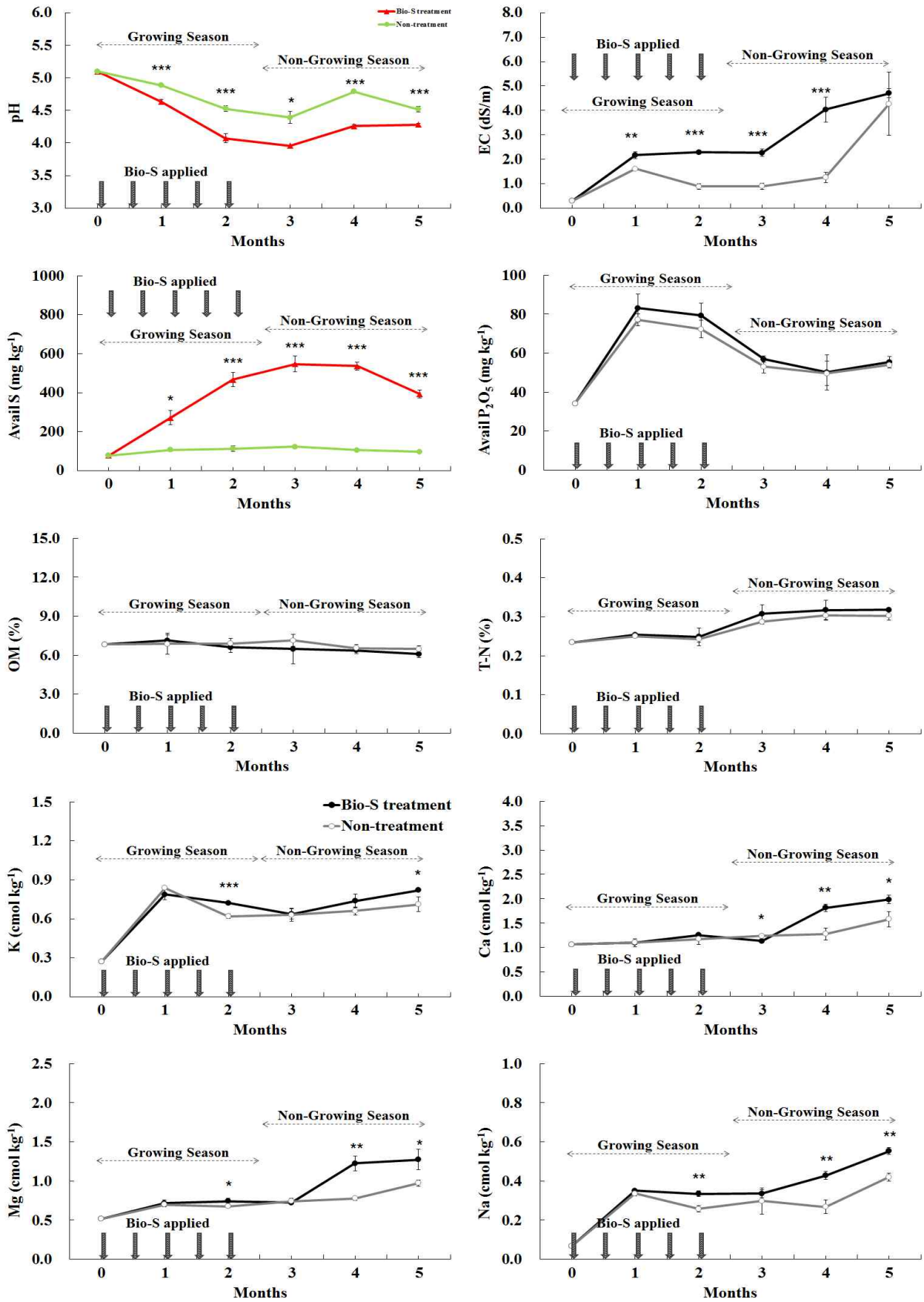


그림 1-10. 바이오황 관주처리에 의한 토양 화학성 변화.

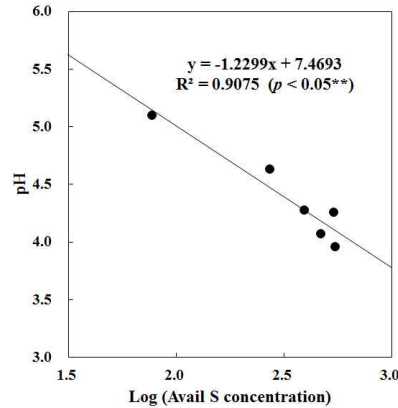


그림 1-11. 바이오황 처리에 의한 토양 pH와 유효 황 농도와의 상관관계.

(2) 관주처리 및 기존 황제품 및 바이오황과 염화칼슘 혼합액의 엽면시비(2차년도)

(가) 연구방법

- 제주대학교 생명자원과학대학 시설하우스에서 2018년 5월부터 9월까지 수행하였음.
- 시험에 사용된 고추 (품종명: 신와매워)는 2018년 5월 22일에 시설하우스 내 4반복 완전임의배치법으로 배치된 포트(지름 18 cm, 높이 18 cm)에 모종을 이식하였음.
- 관주 처리구는 대조구, 바이오황 현탁액을 1,000배, 500배, 250배로 희석한 처리구를 두었음.
- 관주 처리는 2018년 7월 17일에 각 처리구별로 400 mL를 토양에 관주해주었고, 대조구는 같은 양의 물을 처리하였음.
- 관주처리 토양 분석은 처리 1, 20, 40, 60일 후 채취하고, 고추 식물체 분석은 처리 60일 후 채취하였으며, 농촌진흥청 토양 및 식물체 분석법에 준하여 토양 화학성 및 고추의 무기양분 흡수량을 조사하였음.
- 엽면시비 처리구는 대조구, 석회유황 및 황토유황을 각각 1,000배로 희석한 처리구, 바이오황 현탁액을 2,000배, 1,000배, 500배로 희석한 처리구, 염화칼슘을 0.2%로 희석한 처리구, 희석된 바이오황 현탁액에 각각 0.2% 염화칼슘을 혼합한 처리구를 두었음.
- 엽면시비 처리는 고추 생육상황을 고려하여 모종 이식 50일 후인 2018년 7월 16일부터 분무기를 이용하여 7일 간격으로 9회에 걸쳐 경엽살포하였고, 대조구는 처리구와 동일한 방법으로 물을 처리하였음.
- 엽면시비 토양은 고추 수확 시기에 채취하였고, 고추는 처리 시작 후 2주 간격으로 5회에 걸쳐 7 cm 이상의 고추를 채취하였으며, 처리 시작 60일 후인 2018년 8월 13일에 잎, 줄기 및 뿌리를 채취하였음.
- 채취한 고추는 상단부, 중앙부 및 하단부로, 잎은 구엽과 신엽으로, 줄기는 구줄기와 신줄기로 구분하였고, 뿌리는 식물체 1개의 뿌리 전체를 분석하였으며, 식물체의 생육과 무기성분의 농도를 조사하였음.

표 1-4. 시험에 사용된 바이오황 현탁액의 수용성 양분 함량.

pH (1:5)	EC (dS m ⁻¹)	SO ₄ (%)	NO ₃ (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)	Cl (%)
8.05	42.7	2.29	1.32	0.92	1.16	0.76	6.55	1.42

표 1-5. 시험 전 토양의 이화학적 특성.

항목	pH (1:5)	EC (dS m ⁻¹)	유기물. (%)	질소 (%)	유효 황 (mg kg ⁻¹)	유효인산 (mg kg ⁻¹)	교환성양이온(cmol _c kg ⁻¹)			
							K	Ca	Mg	Na
시험전	5.1	0.49	8.0	0.30	52.6	47.4	0.50	1.24	0.61	0.28



모종 이식 30일 후



모종 이식 70일 후



모종 이식 70일 후

그림 1-12. 시설하우스 내 고추 재배 전경 사진.

(나) 관주처리 연구결과

① 토양의 화학성 변화

- 토양의 pH는 처리 1일 후 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하였으나, 처리 20일 후부터는 모든 처리구에서 6.5~6.8로 차이 없었음.
- 전기전도도는 처리 1일 후 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하였고, 처리 20일 후에는 21 복합비료(21-17-17)를 추가 시비한 영향으로 모든 처리구에서 증가하였으며, 40일 후부터는 충분한 양의 물을 관개함으로써 다시 감소하였음.
- 유기물 및 총 질소 함량은 모든 처리구에서 차이 없었음.
- 유효인산과 교환성 양이온 함량은 처리 20일 후 21복합비료(21-17-17)를 추가 시비한 영향으로 모든 처리구에서 증가하였으며, 40일 후부터는 다시 감소하였음.
- 유효 황 함량은 대조구에서 9.72~11.8 mg kg⁻¹이었고, 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하였으며, 처리 20일 후 바이오황을 500배로 희석한 처리구에서 116 mg kg⁻¹으로 가장 높았음. 처리 40일 후부터는 충분한 양의 물을 관개함으로써 유효황 함량은 대조구와 차이가 없었음.

표 1-6. 바이오황 토양관주에 의한 토양화학성 변화.

처리	pH (1:5)	EC (dS m ⁻¹)	유기물 (%)	질소 (%)	유효 인산 (mg kg ⁻¹)	유효 황 (mg kg ⁻¹)	교환성 양이온(cmol _c kg ⁻¹)			
							K	Ca	Mg	Na
대조구	6.9	0.38	6.4	0.22	49.8	9.72	0.76	4.52	3.29	0.57
처리 바이오황 1,000배	7.1	0.26	5.1	0.20	49.6	16.4	0.81	4.82	3.37	0.52
1일 후 바이오황 500배	6.9	0.30	6.1	0.21	38.3	20.9	0.74	4.29	2.98	0.54
바이오황 250배	6.5	0.48	6.3	0.24	56.8	44.1	0.83	3.47	2.09	0.48
대조구	6.5	1.67	5.6	0.24	151	11.8	1.57	3.57	2.95	0.59
처리 바이오황 1,000배	6.5	1.17	5.1	0.21	171	48.9	1.57	3.84	3.27	0.56
20일 후 바이오황 500배	6.6	1.17	5.0	0.20	166	88.6	1.62	4.27	3.19	0.57
바이오황 250배	6.5	1.12	4.7	0.19	219	116	1.70	3.92	3.02	0.54
대조구	6.6	0.17	6.0	0.19	77.4	10.1	0.69	4.08	2.57	0.52
처리 바이오황 1,000배	6.5	0.13	5.5	0.22	78.2	13.3	0.57	3.44	2.21	0.50
40일 후 바이오황 500배	6.6	0.14	5.0	0.19	79.7	13.8	0.57	4.47	2.52	0.51
바이오황 250배	6.6	0.14	4.5	0.19	74.3	18.4	0.49	4.36	2.40	0.50
대조구	6.6	0.17	5.7	0.20	75.1	10.1	0.58	3.91	3.04	0.50
처리 바이오황 1,000배	6.6	0.17	5.5	0.19	78.8	11.4	0.50	4.23	2.70	0.50
60일 후 바이오황 500배	6.7	0.18	5.2	0.19	71.9	11.8	0.50	4.87	2.86	0.49
바이오황 250배	6.8	0.18	5.5	0.20	73.9	11.7	0.51	5.20	2.97	0.53

② 생육 변화

- 바이오황 관주처리 60일 후 식물체 높이, 과실 수 및 건물중은 모든 처리구에서 각각 111~124 cm, 292~330 개, 32.0~35.2 g/plant로 차이 없었음.

표 1-7. 관주처리 60일 후 식물체 높이, 과실 수 및 건물중.

처리	식물체 높이 (cm)	과실	
		개수	건물중 (g/plant)
대조구	124 ^a	294 ^a	32.9 ^a
바이오황 1,000배	122 ^a	292 ^a	32.0 ^a
바이오황 500배	113 ^a	330 ^a	35.2 ^a
바이오황 250배	111 ^a	314 ^a	33.9 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

③ 고추의 무기양분 농도 및 흡수량 변화

- 바이오황 현탁액을 1,000배, 500배, 250배로 희석하고 관주처리 60일 후 고추, 잎 및 줄기를 채취하여 총 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 함량의 변화를 물을 처리한 대조구와 비교하였음.
- 과실 중 무기양분 농도는 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 모든 처리구에서 차이 없었음.
- 과실 중 무기양분 흡수량은 대조구에서 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 각각 499 mg/plant, 137 mg/plant, 1335 mg/plant, 59.6 mg/plant으로 가장 많았으며, 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하였음.

표 1-8. 바이오황 관주처리에 의한 고추 과실의 무기양분 농도 및 흡수량.

처리	농도				흡수량			
	T-N	P	K	Ca	T-N	P	K	Ca
	(g kg ⁻¹)				(mg/plant)			
대조구	10.7 ^a	3.17 ^a	29.5 ^a	1.17 ^a	499 ^a	137 ^a	1335 ^a	59.6 ^a
바이오황 1,000배	10.1 ^a	3.42 ^a	30.4 ^a	1.21 ^a	395 ^a	130 ^a	1230 ^a	48.1 ^a
바이오황 500배	9.57 ^a	3.64 ^a	29.9 ^a	1.20 ^a	353 ^a	124 ^a	1118 ^a	46.3 ^a
바이오황 250배	10.1 ^a	3.41 ^a	29.8 ^a	1.19 ^a	344 ^a	113 ^a	1015 ^a	40.5 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

- 엽 중 질소 농도는 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하였으며, 인, 칼륨 및 칼슘 농도는 모든 처리구에서 차이 없었음.
- 엽 중 무기양분 흡수량은 대조구에서 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 각각 103 mg/plant, 25.3 mg/plant, 712 mg/plant, 231 mg/plant으로 가장 많았으며, 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하였음 (표 1-8).

표 1-9. 바이오황 관주처리에 의한 고추 잎의 무기양분 농도 및 흡수량.

처리	농도				흡수량			
	T-N	P	K	Ca	T-N	P	K	Ca
	(g kg ⁻¹)				(mg/plant)			
대조구	7.84 ^a	1.43 ^a	35.4 ^a	11.2 ^a	103 ^a	25.3 ^a	712 ^a	231 ^a
바이오황 1,000배	5.88 ^a	1.50 ^a	34.9 ^a	10.2 ^a	96.9 ^a	22.6 ^a	580 ^a	164 ^a
바이오황 500배	6.44 ^a	1.65 ^a	34.9 ^a	10.6 ^a	91.2 ^a	20.9 ^a	409 ^a	154 ^a
바이오황 250배	7.05 ^a	1.34 ^a	33.3 ^a	10.6 ^a	78.5 ^a	17.1 ^a	437 ^a	144 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

- 줄기 중 무기양분 농도는 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 각각 2.91 ~ 3.13 mg kg⁻¹, 0.67 ~ 0.91 mg kg⁻¹, 22.8 ~ 24.2 mg kg⁻¹, 3.58 ~ 3.75 mg kg⁻¹으로 모든 처리구에서 차이 없었음.
- 줄기 중 무기양분 흡수량은 대조구에서 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 각각 90.6 mg/plant, 24.7 mg/plant, 725 mg/plant, 114 mg/plant으로 가장 많았으며, 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하였음.

표 1-10. 바이오황 관주처리에 의한 고추 줄기의 무기양분 농도 및 흡수량.

처리	농도				흡수량			
	T-N	P	K	Ca	T-N	P	K	Ca
	(g kg ⁻¹)				(mg/plant)			
대조구	2.94 ^a	0.86 ^a	23.8 ^a	3.75 ^a	90.6 ^a	24.7 ^a	725 ^a	114 ^a
바이오황 1,000배	3.13 ^a	0.88 ^a	23.5 ^a	3.63 ^a	86.9 ^a	24.8 ^a	702 ^a	108 ^a
바이오황 500배	2.94 ^a	0.91 ^a	22.8 ^a	3.58 ^a	75.5 ^a	24.4 ^a	687 ^a	103 ^a
바이오황 250배	2.91 ^a	0.67 ^a	24.2 ^a	3.68 ^a	70.2 ^a	16.1 ^a	662 ^a	96.3 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

(다) 엽면시비 연구결과

① 고추 생육상황

- 식물체 높이는 처리 시작 30일 후 처리구 간 통계적 유의성이 없었음. 처리 시작 60일 후에는 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구에서 126 cm로 가장 높았음. 바이오황과 염화칼슘을 혼합한 처리구에서는 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하여, 염화칼슘-바이오황 500배 처리구에서 98.5 cm로 가장 낮았음.
- 과실 수 및 건물중은 바이오황 1,000배 처리구에서 각각 277 개, 43.3 g/plant로 생육이 가장 좋았음. 바이오황과 염화칼슘을 혼합한 처리구에서는 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하여, 염화칼슘-바이오황 500배 처리구에서 각각 84 , 15.0 g/plant로 가장 생육이 저조한 경향을 나타냈음.
- 과장 및 과경은 모든 처리구에서 각각 8.1~8.4 cm, 1.0~1.2 cm로 차이 없었음.
- 비상품율은 석회유황 1,000배, 황토유황 1,000배 처리구에서 각각 7.1%, 6.1%로, 대조구와 큰 차이 없었음. 바이오황 및 염화칼슘이 포함된 처리구에서는 1.1~4.1%로, 대조구보다 낮았음.

표 1-11. 엽면시비 60일 후 식물체 높이, 과실 수, 건물중, 과장, 과경 및 비상품율.

처리	Plant height	과실				
		개수	건물중 (g/plant)	과장 (cm)	과경 (cm)	비상품율 (%)
대조구	110 ^a	160 ^a	25.1 ^a	8.2 ^a	1.2 ^a	7.5 ^a
석회유황 1,000배	110 ^a	196 ^a	30.0 ^a	8.3 ^a	1.2 ^a	7.1 ^a
황토유황 1,000배	127 ^a	132 ^a	18.0 ^a	8.2 ^a	1.0 ^a	6.1 ^{ab}
바이오황 2,000배	106 ^a	188 ^a	28.9 ^a	8.3 ^a	1.1 ^a	1.1 ^c
바이오황 1,000배	122 ^a	277 ^a	43.3 ^a	8.4 ^a	1.2 ^a	1.8 ^c
바이오황 500배	111 ^a	260 ^a	35.3 ^a	8.1 ^a	1.1 ^a	3.1 ^c
염화칼슘 (0.2%)	117 ^a	198 ^a	31.9 ^a	8.2 ^a	1.1 ^a	1.5 ^c
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	114 ^a	146 ^a	24.3 ^a	8.1 ^a	1.1 ^a	4.1 ^{bc}
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	106 ^a	137 ^a	26.7 ^a	8.4 ^a	1.2 ^a	1.5 ^c
염화칼슘 + 바이오황 500배	98.5 ^a	84 ^a	15.0 ^a	8.2 ^a	1.2 ^a	3.6 ^{bc}

* Ducans multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

② 고추 과실의 무기양분

- 과실의 생체중 총 질소 함량은 석회유황 및 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구와 바이오황을 2,000배로 희석한 처리구에서 가장 높았으며, 염화칼슘과 바이오황 500배를 혼합한 처리구에서 가장 낮았음.
- 생체중 인 함량은 상단부, 중앙부 및 하단부에서 각각 34.2~51.5 mg/100g, 36.0~52.5 mg/100g, 30.6~45.5 mg/100g이었고, 모든 처리구간 차이 없었음.
- 생체중 칼륨 함량은 바이오황을 500배로 희석한 처리구에서 상단부, 중앙부 및 하단부 각각 308 mg/100g, 302 mg/100g, 304 mg/100g으로 가장 높았으나, 염화칼슘과 바이오황 500배를 혼합한 처리구에서는 144 mg/100g, 140 mg/100g, 172 mg/100g으로 가장 낮았음.
- 생체중 칼슘 함량은 상단부, 중앙부 및 하단부에서 각각 10.1~16.7 mg/100g, 5.00~8.33

mg/100g, 5.05~9.84 mg/100g이었고, 상단부가 중앙부 및 하단부보다 약 2배 높은 경향을 보였음.

- 염화칼슘이 포함되어 있는 처리구의 생체중 칼슘 함량은 상단부, 중앙부 및 하단부에서 각각 15.1~16.7 mg/100g, 7.00~8.33 mg/100g, 8.22~9.84 mg/100g으로, 다른 처리구에 비해 높은 경향을 보였음.
- 생체중 황 함량은 처리구간 뚜렷한 차이가 없었음.

표 1-12. 엽면시비 60일 후 고추 과실의 무기양분 농도.

처리	T-N (mg/100g, fw)			P (mg/100g, fw)		
	upper	middle	lower	upper	middle	lower
대조구	145 ^{abc}	153 ^{bc}	121 ^b	49.7 ^a	51.6 ^a	42.9 ^a
석회유황 1,000배	164 ^{ab}	151 ^{bc}	123 ^b	39.7 ^a	37.0 ^a	36.6 ^a
황토유황 1,000배	167 ^{ab}	193 ^a	162 ^a	37.0 ^a	42.9 ^a	37.3 ^a
바이오황 2,000배	176 ^a	178 ^{ab}	145 ^{ab}	49.6 ^a	48.7 ^a	43.5 ^a
바이오황 1,000배	130 ^{bc}	132 ^{cd}	115 ^b	34.2 ^a	36.0 ^a	30.6 ^a
바이오황 500배	138 ^{abc}	142 ^{cd}	116 ^b	49.2 ^a	52.5 ^a	44.7 ^a
염화칼슘 (0.2%)	116 ^{cd}	125 ^{cd}	106 ^b	38.4 ^a	39.8 ^a	35.0 ^a
염화칼슘+바이오황 2,000배	129 ^{bc}	133 ^{cd}	108 ^b	51.5 ^a	47.2 ^a	42.5 ^a
염화칼슘+바이오황 1,000배	117 ^{cd}	123 ^{cd}	95.0 ^{bc}	48.7 ^a	50.5 ^a	40.1 ^a
염화칼슘+바이오황 500배	82.0 ^d	118 ^d	92.0 ^{bc}	48.5 ^a	47.9 ^a	45.5 ^a

처리	K (mg/100g, fw)			Ca (mg/100g, fw)			S (mg/100g, fw)
	upper	middle	lower	upper	middle	lower	
대조구	292 ^{ab}	286 ^{ab}	273 ^{ab}	13.9 ^{abc}	7.17 ^a	8.21 ^{ab}	27.8 ^{bcd}
석회유황 1,000배	265 ^{abc}	252 ^{abc}	270 ^{ab}	14.6 ^{abc}	6.70 ^a	5.16 ^{bc}	29.1 ^{abcd}
황토유황 1,000배	248 ^{abc}	264 ^{ab}	298 ^{ab}	10.1 ^c	5.72 ^a	5.05 ^c	35.1 ^a
바이오황 2,000배	225 ^{bcd}	225 ^{bcd}	249 ^{abc}	11.6 ^{bc}	6.66 ^a	7.52 ^{abc}	30.8 ^{abcd}
바이오황 1,000배	206 ^{cde}	186 ^{cde}	211 ^{bc}	11.8 ^{bc}	5.00 ^a	5.38 ^{bc}	24.0 ^d
바이오황 500배	308 ^a	302 ^a	304 ^a	17.8 ^a	7.53 ^a	7.89 ^{abc}	33.6 ^{ab}
염화칼슘 (0.2%)	256 ^{abc}	246 ^{abc}	224 ^{abc}	15.1 ^{abc}	7.45 ^a	9.15 ^a	28.0 ^{abcd}
염화칼슘+바이오황 2,000배	179 ^{de}	175 ^{de}	211 ^{bc}	15.4 ^{ab}	7.86 ^a	8.96 ^a	31.7 ^{abc}
염화칼슘+바이오황 1,000배	197 ^{cde}	192 ^{cde}	208 ^{bc}	15.5 ^{ab}	8.33 ^a	9.84 ^a	34.7 ^{ab}
염화칼슘+바이오황 500배	144 ^e	140 ^e	172 ^c	16.7 ^{ab}	7.00 ^a	8.22 ^{ab}	30.7 ^{cd}

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

③ 고추 엽의 무기양분

- 엽 중 총 질소, 칼륨 농도는 구엽과 신엽 간에 차이 없었으나, 인 농도는 구엽보다 신엽에서 높았고, 칼슘 농도는 신엽보다 구엽에서 높았음.
- 총 질소 농도는 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하여 바이오황을 500배로 희석한 처리구에서 구엽과 신엽 각각 13.1 g kg⁻¹, 15.1 g kg⁻¹으로 가장 높았음.
- 인과 칼륨 함량은 모든 처리구 간 차이 없었음.
- 칼슘 농도는 염화칼슘이 포함되어 있는 처리구에서 구엽과 신엽이 각각 14.6~16.3 g kg⁻¹, 11.0~2.1 g kg⁻¹으로 다른 처리구에 비해 높은 경향을 보였음.

- 황 농도는 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하여 바이오황을 500배로 희석한 처리구에서 4.71 g kg⁻¹으로 가장 높았으며, 염화칼슘이 포함되어 있는 바이오황 처리구에서도 비슷한 경향이었음.

표 1-13. 엽면시비 60일 후 고추 잎의 무기양분 농도.

처리	T-N (g/kg)		P (g/kg)		K (g/kg)		Ca (g/kg)		S (g/kg)
	old	new	old	new	old	new	old	new	
대조구	10.3 ^a	10.3 ^a	1.12 ^a	1.52 ^a	35.8 ^a	35.3 ^a	5.75 ^e	5.19 ^a	1.85 ^e
석회유황 1,000배	10.3 ^a	11.7 ^a	1.48 ^a	1.87 ^a	40.9 ^a	36.6 ^a	9.50 ^{cde}	6.58 ^a	3.52 ^{bcd}
황토유황 1,000배	7.70 ^a	7.46 ^a	1.39 ^a	1.57 ^a	28.3 ^a	28.5 ^a	5.20 ^e	4.27 ^a	2.94 ^{cde}
바이오황 2,000배	9.38 ^a	10.2 ^a	1.44 ^a	1.63 ^a	34.1 ^a	30.2 ^a	6.70 ^{de}	5.00 ^a	2.31 ^{de}
바이오황 1,000배	12.2 ^a	12.2 ^a	1.25 ^a	1.42 ^a	40.4 ^a	37.4 ^a	10.4 ^{bcd}	8.90 ^a	3.45 ^{cd}
바이오황 500배	13.1 ^a	15.1 ^a	1.47 ^a	1.87 ^a	37.1 ^a	32.7 ^a	10.9 ^{bcd}	8.78 ^a	4.71 ^{ab}
염화칼슘 (0.2%)	10.2 ^a	10.1 ^a	1.34 ^a	1.67 ^a	35.2 ^a	36.5 ^a	14.8 ^{ab}	12.1 ^a	3.24 ^{cde}
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	9.94 ^a	9.38 ^a	1.61 ^a	2.03 ^a	33.3 ^a	29.2 ^a	14.6 ^{ab}	11.0 ^a	2.68 ^{cde}
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	8.79 ^a	8.54 ^a	1.43 ^a	1.79 ^a	35.1 ^a	36.8 ^a	16.3 ^a	11.8 ^a	3.87 ^{abc}
염화칼슘 + 바이오황 500배	8.37 ^a	8.96 ^a	1.62 ^a	2.33 ^a	37.2 ^a	35.3 ^a	16.6 ^{abc}	11.1 ^a	5.01 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

④ 고추 줄기의 무기양분

- 줄기 중 총 질소, 인, 칼륨 및 칼슘 농도는 모든 처리구에서 구줄기보다 신줄기가 높았음.
- 총 질소, 인 및 칼슘 농도는 모든 처리구의 구줄기와 신줄기에서 차이 없었음.
- 칼륨 농도는 신줄기에서 차이 없었으나, 구줄기에서는 염화칼슘이 포함된 처리구에서 20.5 ~ 24.2 g kg⁻¹으로 증가하는 경향을 보였음.

표 1-14. 엽면시비 60일 후 고추 줄기의 무기양분 농도.

처리	T-N (g/kg)		P (g/kg)		K (g/kg)		Ca (g/kg)	
	old	new	old	new	old	new	old	new
대조구	3.15 ^a	5.62 ^a	0.82 ^a	2.34 ^a	14.3 ^{cd}	34.5 ^a	2.79 ^a	3.82 ^a
석회유황 1,000배	3.29 ^a	5.57 ^a	0.83 ^a	2.31 ^a	18.3 ^{abc}	38.9 ^a	4.04 ^a	4.86 ^a
황토유황 1,000배	2.94 ^a	5.81 ^a	0.73 ^a	1.91 ^a	14.1 ^{cd}	35.0 ^a	3.33 ^a	4.25 ^a
바이오황 2,000배	3.89 ^a	6.99 ^a	0.81 ^a	2.44 ^a	11.5 ^d	26.6 ^a	3.08 ^a	4.01 ^a
바이오황 1,000배	3.78 ^a	6.20 ^a	0.66 ^a	1.32 ^a	15.0 ^{cd}	37.9 ^a	3.67 ^a	4.18 ^a
바이오황 500배	3.71 ^a	6.20 ^a	0.70 ^a	1.71 ^a	16.6 ^{bcd}	33.8 ^a	3.17 ^a	4.06 ^a
염화칼슘 (0.2%)	3.47 ^a	5.50 ^a	0.70 ^a	1.66 ^a	20.5 ^{abc}	35.0 ^a	3.35 ^a	4.43 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	4.10 ^a	5.39 ^a	0.85 ^a	2.39 ^a	22.4 ^{ab}	34.9 ^a	3.22 ^a	3.94 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	4.31 ^a	5.18 ^a	0.87 ^a	1.83 ^a	24.2 ^a	33.8 ^a	4.12 ^a	3.96 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	3.68 ^a	4.76 ^a	1.12 ^a	3.00 ^a	20.6 ^{abc}	36.3 ^a	2.84 ^a	3.60 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

⑤ 고추 뿌리의 무기양분

- 총 질소 농도는 석회유황 및 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구에서 10.9~11.1 g kg⁻¹으로 가장 낮았음.
- 인 농도는 대조구에서 1.17 g kg⁻¹으로 가장 낮았음.
- 칼륨 및 칼슘 농도 석회유황 및 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구에서 16.3~19.1 g kg⁻¹, 4.77~6.31 g kg⁻¹으로 가장 높았음.

표 1-15. 엽면시비 60일 후 고추 뿌리의 무기양분 농도.

처리	T-N	P	K	Ca
	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)
대조구	13.3 ^{ab}	1.17 ^a	8.52 ^{cd}	3.90 ^a
석회유황 1,000배	10.9 ^b	1.55 ^a	19.1 ^a	4.77 ^a
황토유황 1,000배	11.1 ^b	1.53 ^a	16.3 ^{ab}	6.31 ^a
바이오황 2,000배	13.0 ^{ab}	1.40 ^a	13.9 ^{bc}	3.45 ^a
바이오황 1,000배	12.0 ^{ab}	1.28 ^a	11.1 ^{bcd}	3.87 ^a
바이오황 500배	13.1 ^{ab}	1.23 ^a	7.41 ^d	3.84 ^a
염화칼슘 (0.2%)	15.5 ^a	1.29 ^a	7.75 ^d	3.97 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	13.8 ^{ab}	1.28 ^a	11.0 ^{bcd}	3.95 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	15.4 ^a	1.55 ^a	13.4 ^{bc}	4.16 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	13.2 ^{ab}	1.57 ^a	12.3 ^{bcd}	4.78 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

⑥ 식물체 무기양분 흡수량 변화

- 식물체 부위별 무기양분 흡수량은 각 부위별 건물중과 무기성분 농도를 곱하여 계산한 후 비교하였음.
- 질소와 칼슘 흡수량은 염화칼슘과 바이오황을 혼합한 처리에서 바이오황의 농도가 증가할수록 감소하여, 염화칼슘과 바이오황 500배를 혼합한 처리에서 가장 낮은 경향을 보였음.
- 과실 및 잎에서의 질소 흡수량은 염화칼슘과 혼합하지 않은 처리에서 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하였음.
- 인과 칼륨 흡수량은 모든 처리구에서 차이 없었음.
- 과실에서의 황 흡수량은 염화칼슘과 바이오황 500배를 혼합한 처리에서 가장 낮았음. 잎에서의 황 흡수량은 바이오황의 농도가 증가할수록 증가하였고, 염화칼슘이 포함되어 있는 처리구에서는 바이오황 농도에 의한 차이 없었음.
- 석회유황을 1,000배로 희석한 처리가 황토유황보다 식물체 모든 부위에서 무기양분 흡수량이 많았음.

표 1-16. 엽면시비 60일 후 식물체 부위별 질소 흡수량.

처리	T-N (mg/plant)			
	과실	잎	줄기	뿌리
대조구	173 ^a	98.3 ^a	67.8 ^a	46.4 ^a
석회유황 1,000배	195 ^a	174 ^a	135 ^a	51.1 ^a
황토유황 1,000배	146 ^a	83.7 ^a	82.4 ^a	49.4 ^a
바이오황 2,000배	200 ^a	116 ^a	63.9 ^a	56.5 ^a
바이오황 1,000배	267 ^a	204 ^a	120 ^a	68.9 ^a
바이오황 500배	276 ^a	204 ^a	83.8 ^a	69.2 ^a
염화칼슘 (0.2%)	209 ^a	101 ^a	86.3 ^a	81.2 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	205 ^a	108 ^a	97.1 ^a	77.1 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	172 ^a	92.6 ^a	72.2 ^a	79.0 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	107 ^a	49.4 ^a	34.3 ^a	43.6 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

표 1-17. 엽면시비 60일 후 식물체 부위별 인 흡수량.

처리	P (mg/plant)			
	과실	잎	줄기	뿌리
대조구	50.6 ^a	10.8 ^a	15.4 ^b	3.84 ^a
석회유황 1,000배	55.3 ^a	21.7 ^a	29.8 ^a	6.94 ^a
황토유황 1,000배	39.3 ^a	15.6 ^a	20.5 ^b	6.68 ^a
바이오황 2,000배	52.1 ^a	14.5 ^a	10.2 ^b	5.98 ^a
바이오황 1,000배	75.3 ^a	19.6 ^a	18.6 ^b	7.09 ^a
바이오황 500배	71.3 ^a	21.4 ^a	14.3 ^b	6.46 ^a
염화칼슘 (0.2%)	55.7 ^a	14.5 ^a	17.3 ^b	6.25 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	47.1 ^a	15.5 ^a	19.3 ^b	6.28 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	56.9 ^a	15.9 ^a	14.7 ^b	7.98 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	29.7 ^a	10.7 ^a	11.0 ^b	5.91 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

표 1-18. 엽면시비 60일 후 식물체 부위별 칼륨 흡수량.

처리	K (mg/plant)			
	과실	잎	줄기	뿌리
대조구	349 ^a	326 ^a	285 ^a	26.2 ^a
석회유황 1,000배	382 ^a	599 ^a	728 ^a	93.5 ^a
황토유황 1,000배	263 ^a	307 ^a	415 ^a	73.0 ^a
바이오황 2,000배	354 ^a	375 ^a	173 ^a	62.5 ^a
바이오황 1,000배	485 ^a	641 ^a	493 ^a	72.3 ^a
바이오황 500배	482 ^a	528 ^a	399 ^a	41.0 ^a
염화칼슘 (0.2%)	424 ^a	356 ^a	511 ^a	36.4 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	285 ^a	327 ^a	538 ^a	56.2 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	296 ^a	375 ^a	404 ^a	69.5 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	167 ^a	211 ^a	204 ^a	53.8 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

표 1-19. 엽면시비 60일 후 식물체 부위별 칼슘 흡수량.

처리	Ca (mg/plant)			
	과실	잎	줄기	뿌리
대조구	11.6 ^a	55.0 ^a	62.4 ^a	13.9 ^a
석회유황 1,000배	17.3 ^a	149 ^a	162 ^a	24.3 ^a
황토유황 1,000배	11.0 ^a	53.7 ^a	91.5 ^a	30.0 ^a
바이오황 2,000배	11.6 ^a	79.0 ^a	44.5 ^a	14.9 ^a
바이오황 1,000배	15.9 ^a	172 ^a	106 ^a	20.8 ^a
바이오황 500배	16.9 ^a	153 ^a	70.4 ^a	20.1 ^a
염화칼슘 (0.2%)	16.1 ^a	140 ^a	83.4 ^a	22.3 ^a
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	11.5 ^a	154 ^a	79.5 ^a	20.0 ^a
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	11.8 ^a	157 ^a	68.0 ^a	21.5 ^a
염화칼슘 + 바이오황 500배	5.20 ^a	76.3 ^a	26.6 ^a	16.7 ^a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

표 1-20. 엽면시비 60일 후 식물체 부위별 황 흡수량.

처리	S (mg/plant)	
	과실	잎
대조구	16.5 ^a	9.16 ^d
석회유황 1,000배	14.8 ^a	52.8 ^{ab}
황토유황 1,000배	12.7 ^a	22.6 ^{bcd}
바이오황 2,000배	15.8 ^a	18.8 ^{cd}
바이오황 1,000배	17.9 ^a	42.8 ^{abc}
바이오황 500배	17.6 ^a	57.1 ^a
염화칼슘 (0.2%)	16.6 ^a	17.5 ^{cd}
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	14.6 ^a	25.1 ^{bcd}
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	20.9 ^a	28.7 ^{abcd}
염화칼슘 + 바이오황 500배	5.27 ^b	19.2 ^{cd}

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

⑦ 토양의 화학성 변화

- 고추 수확 시기에 토양을 채취하여 토양의 pH, EC, 유기물, 질소, 유효인산, 교환성양이온 (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) 함량의 변화를 물을 처리한 대조구와 비교하였음.
- EC, 유기물, 유효인산, 교환성 마그네슘 및 나트륨은 모든 처리구에서 각각 0.16~0.21 dS m^{-1} , 6.2~7.1%, 58.7~74.3 mg kg^{-1} , 2.20~2.85 $cmol_c kg^{-1}$, 0.32~0.41 $cmol_c kg^{-1}$ 으로 차이 없었음.
- 토양의 pH와 교환성 칼륨 및 칼슘은 석회유황 및 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구에서 각각 6.8~7.0, 0.56~0.57 $cmol_c kg^{-1}$, 4.14~4.73 $cmol_c kg^{-1}$ 으로 가장 높았음.

○ 질소는 석회유황 및 황토유황을 1,000배로 희석한 처리구에서 각각 0.13%, 0.19%로 가장 낮았으며, 그 외 처리구에서는 0.24~0.27%로 차이 없었음.

표 1-21. 수확 시기에 토양 화학성 변화.

처리	pH	EC	유기물	질소	유효 인산	교환성	양이온(cmolc kg ⁻¹)			
	(1:5)	(dS m ⁻¹)	(%)	(%)	(mg kg ⁻¹)	K	Ca	Mg	Na	
대조구	6.3 ^b	0.19 ^a	7.0 ^a	0.24 ^c	74.1 ^a	0.47 ^{abc}	1.97 ^b	2.74 ^a	0.39 ^{ab}	
석회유황 1,000배	7.0 ^a	0.16 ^a	6.9 ^a	0.13 ^e	58.7 ^a	0.57 ^a	4.73 ^a	2.78 ^a	0.39 ^{ab}	
황토유황 1,000배	6.8 ^a	0.17 ^a	6.9 ^a	0.19 ^d	60.9 ^a	0.56 ^a	4.14 ^a	2.85 ^a	0.40 ^a	
바이오황 2,000배	6.2 ^{bc}	0.19 ^a	6.7 ^a	0.24 ^c	65.9 ^a	0.47 ^{abc}	2.02 ^b	2.46 ^a	0.40 ^a	
바이오황 1,000배	6.1 ^{bc}	0.18 ^a	6.5 ^a	0.24 ^c	61.3 ^a	0.53 ^{ab}	2.21 ^b	2.38 ^a	0.40 ^a	
바이오황 500배	6.1 ^{bc}	0.19 ^a	7.0 ^a	0.27 ^{ab}	71.5 ^a	0.46 ^{abc}	1.90 ^b	2.59 ^a	0.41 ^a	
염화칼슘 (0.2%)	6.0 ^c	0.18 ^a	6.0 ^a	0.24 ^{bc}	74.3 ^a	0.39 ^c	1.71 ^b	2.20 ^a	0.36 ^{ab}	
염화칼슘 + 바이오황 2,000배	6.1 ^{bc}	0.19 ^a	6.9 ^a	0.25 ^{abc}	74.0 ^a	0.43 ^{bc}	1.91 ^b	2.64 ^a	0.35 ^{ab}	
염화칼슘 + 바이오황 1,000배	6.0 ^c	0.21 ^a	7.1 ^a	0.27 ^a	67.0 ^a	0.37 ^c	2.14 ^b	2.58 ^a	0.33 ^{bc}	
염화칼슘 + 바이오황 500배	6.1 ^{bc}	0.19 ^a	6.2 ^a	0.25 ^{bc}	62.1 ^a	0.44 ^{abc}	2.16 ^b	2.51 ^a	0.32 ^c	

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

○ 바이오황을 관주처리와 염화칼슘과 혼합하여 엽면시비 결과를 종합해보면, 1, 2 차년도 바이오황의 관주시비는 시비량의 증가할수록 황이 가용화되어 유효황 함량이 증가하고 토양의 pH를 감소시키는 경향이었으나, 황의 용탈로 토양 pH는 다시 증가하여 토양산도에 큰 변화는 없었음. 바이오황과 염화칼슘 혼합액을 엽면시비 시, 바이오황 현탁액과 염화칼슘 혼합에 의해 비상품율이 감소하였음. 그러나 500배 이상의 바이오황과 혼합한 경우에 고추 생육과 무기성분 흡수가 저조하였음. 따라서 고추 생육과 품질을 고려할 때, 1000배~2000배의 바이오황과 0.2% 염화칼슘과 혼합하여 사용 가능할 것으로 판단됨.

라. 바이오황-살충제 혼합 최적 조건 탐색

(1) 바이오황-살충제 혼합 시 바이오황의 농약 분해 여부 조사

○ 바이오황-살충제 혼합 후 시간별 살충제 유효성분 변화를 조사하여 바이오황과 살충제 주요 성분 (Thiamethoxam, Imidacloprid, Acephate, Acetamiprid)의 혼합 가능성 조사

(가) 연구방법

- 바이오황 현탁액을 4,000배, 2,000배, 1,000배, 500배로 희석하고, 석회유황 및 황토유황은 1,000배로 희석
- 살충제는 유효성분이 다른 4 종류 (Thiamethoxam, Imidacloprid, Acephate/Imidacloprid, Acetamiprid)를 각각의 제품에 명시된 사용량으로 제조
- 제조된 살충제와 희석된 바이오황 현탁액을 각각 혼합하고, 1, 5, 10, 24시간 후 여과하여 제주특별자치도 농업기술원에서 LC-MS/MS로 분석함.

표 1-22. 살충제의 유효성분 및 실험에 사용한 적용량.

시료 구분	유효성분	함량(%)	사용량(g/20L)	적용량(g/L)
A	Thiamethoxam	10	10	0.5
B	Imidacloprid	10	10	0.5
C	Acephate / Imidacloprid	20 / 5	20	1
D	Acetamiprid	8	10	0.5

(나) 표준품 및 시약

- Thiamethoxam 등 4종의 농약 표준품은 AccuStandard(USA) 회사의 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 로 조제되어 시판되는 표준용액 및 Dr. Ehrenstorfer(GmbH) 회사의 neat type을 사용함. 분석 시약으로 Methanol과 water는 Burdick & Jackson(USA) 제품을, ammonium formate와 formic acid은 Sigma-aldrich(USA) 제품을 사용함.

(다) LC-MS/MS 분석조건

- Thiamethoxam 등 4종의 농약성분을 분석하기 위한 액체크로마토그래프-질량분석기(Ultra-Performance Liquid Chromatograph-Triple Quadrupole Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS)는 ABSCIEX Qtrap 6500와 Agilent 1290 Infinity를 사용하였다. 질량분석기(Mass Spectrometry, MS)의 이온화 방식은 ESI(Electro-spray Ionization)법의 positive-ion mode를 사용하였으며, 각각의 농약성분별 질량 스펙트럼(mass spectrum)을 해석하여 MRM(multiple reaction monitoring) mode의 모분자(precursor ion)와 딸분자(product ions) 이온을 설정하였음.
- 분리조건으로는 Acquity BEH C18(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm , Waters, USA) UPLC column을 사용하여 5mM ammonium formate와 0.1% formic acid을 함유하는 methanol과 water를 이동상으로 하는 Isocratic mode로 분석함. LC-MS/MS 분석조건은 표 1-22에 요약하여 제시하였다.
- 농약성분을 정량하기 위하여 5mM ammonium formate와 0.1% formic acid을 함유하는 80% 메탄올을 사용하여 각각의 농약성분별로 0.1~40.0 $\mu\text{g/l}$ 수준이 되도록 조제한 표준용액을 LC-MS/MS로 분석하여 얻어진 각각의 피크면적으로부터 표준 검량선을 작성함.



그림 1-13. Ultra-Performance Liquid Chromatograph-Triple Quadrupole Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS).

표 1-23. 농약성분의 UPLC-MS/MS 분석조건

Instrument	ABSCIEX Qtrap 6500 & Agilent 1290 Infinity (USA)					
Column	Acquity UPLC BEH C18(Waters, 2.1mm×100mm, 1.7μm, USA)					
Column temp.	30 °C					
Injection volume	5μl					
Flow rate	200μl/min					
Mobile Phase : A	Methanol with 5mM ammonium formate & 0.1% formic acid					
Mobile Phase : B	Water with 5mM ammonium formate & 0.1% formic acid					
Mobile Phase : Program	<ul style="list-style-type: none"> ○ Thiamethoxam, Acephate, Imidacloprid → A/B : 70/30. 0~5min, Isocratic program ○ Chlorpyrifos, Diflubenzuron, Acetamiprid → A/B : 85/15. 0~6min, Isocratic program 					
Ionization mode	Electrospray Ionization(ESI), positive					
Ion spray voltage	5500V					
Source/Gas parameter	<ul style="list-style-type: none"> ○ Thiamethoxam, Acephate, Imidacloprid → Curtain gas(CG) 20, Ion source gas 1(GS1) 70, Ion source gas 2(GS2) 70, Temperature 400°C ○ Chlorpyrifos, Diflubenzuron, Acetamiprid → Curtain gas(CG) 20, Ion source gas 1(GS1) 65, Ion source gas 2(GS2) 65, Temperature 550°C 					
Scan type	MRM(Multiple Reaction Monitoring) mode					
MRM condition (2 mass pairs)	Compound	Q1/Q3 (m/z)	DP (V)	EP (V)	CXP (V)	CE (eV)
	Thiamethoxam	P1: 291.9/211.0	35	8	12	15
		P2: 291.9/150.0	35	8	10	31
	Acephate	P1: 184.0/142.9	25	12	10	11
		P2: 184.0/94.9	25	10	6	31
	Imidacloprid	P1: 256.0/209.0	30	8	10	20
		P2: 256.0/175.0	30	8	12	25
	Acetamiprid	P1: 223.0/125.9	50	8	8	30
		P2: 223.0/90.0	50	8	8	45

* Q1/Q3: MRM transition, Precursor ion/Product ion(mz)

P1: Quantitation ion(target ion), P2: Qualitication ion(identification ion)

DP(Declustering potential, volts), EP(Entrance potential, volts),

CXP(Collision cell potential, volts), CE(Collision energy, electron volts)

(라) 연구 결과

- 살충제 A (유효성분: Thiomethoxam 10%)를 혼합 시 증류수와 혼합한 처리에서만 24시간 후 유효성분 함량이 6.44%로 감소하였고, 바이오황 및 기존 황제품과 혼합한 처리에서는 유효성분 함량이 9.32~11.8%로 유지되었음.

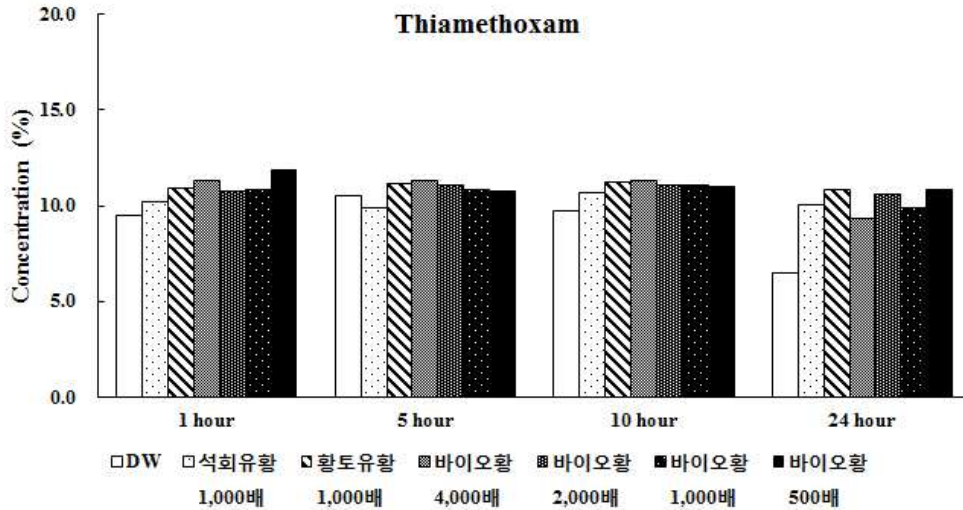


그림 1-14. 바이오황과 기존 황제품의 살충제 혼합에 의한 Thiamethoxam의 농도 변화.

- 살충제 B (유효성분: Imidacloprid 10%)를 혼합 시 증류수 및 바이오황 4,000배로 처리한 처리에서만 24시간 후 각각 6.68%, 8.40%로 감소하였고, 그 외 처리에서는 유효성분 함량이 유지되었음

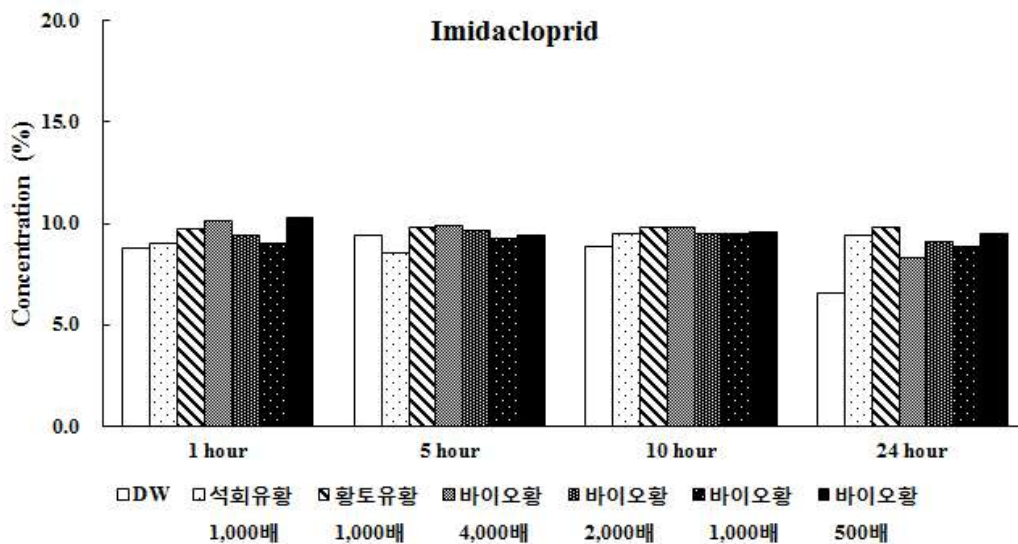


그림 1-15. 바이오황과 기존 황제품의 살충제 혼합에 의한 imidacloprid의 농도 변화.

- 살충제 C (유효성분: Acephate 20%)를 혼합 시 증류수와 혼합한 처리에서 유효성분 함량이 19.41~25.79 %로 시간별로 차이가 있었으나, 제품의 유효성분 함량 20% 이상을 유지하고 있었음. 바이오황 및 기존 황제품과 혼합한 처리에서는 시간에 따른 큰 차이 없이 유효성분 함량이 유지되었음.

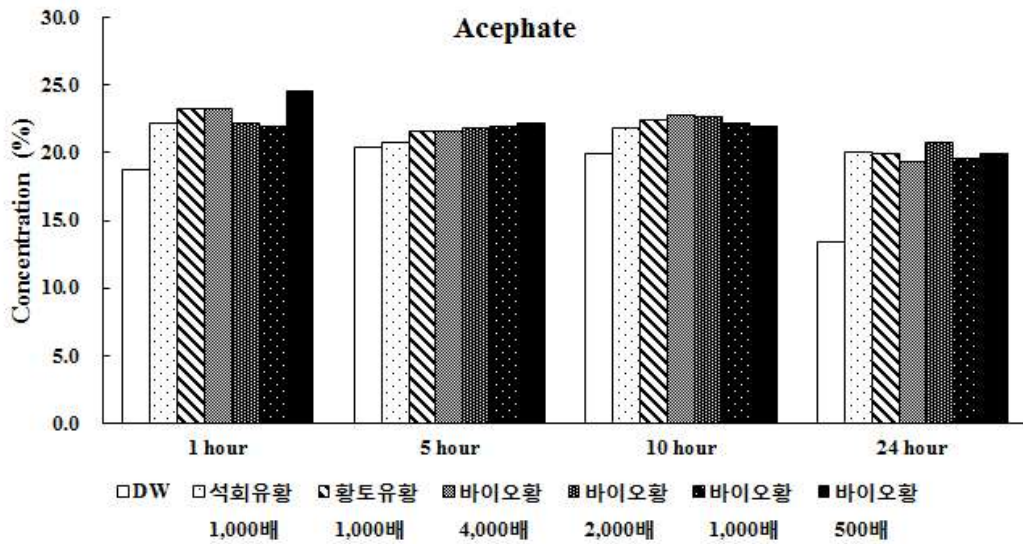


그림 1-16. 바이오황과 기존 황제품의 살충제 혼합에 의한 Acephate의 농도 변화.

- 살충제 D (유효성분: Acetamiprid 8%)를 혼합 시 증류수 및 바이오황 4,000배로 처리한 처리에서만 24시간 후 약 7%였으며, 그 외 처리에서는 유효성분 함량 8%이상을 유지하였음.

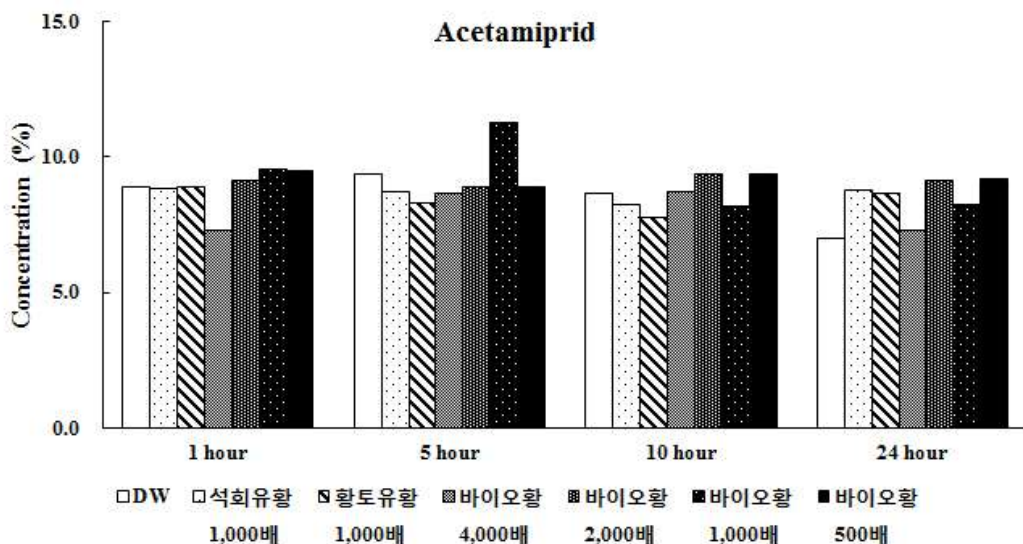
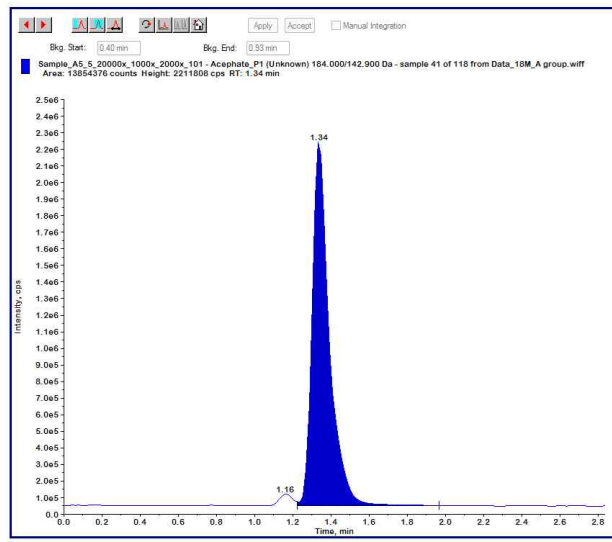
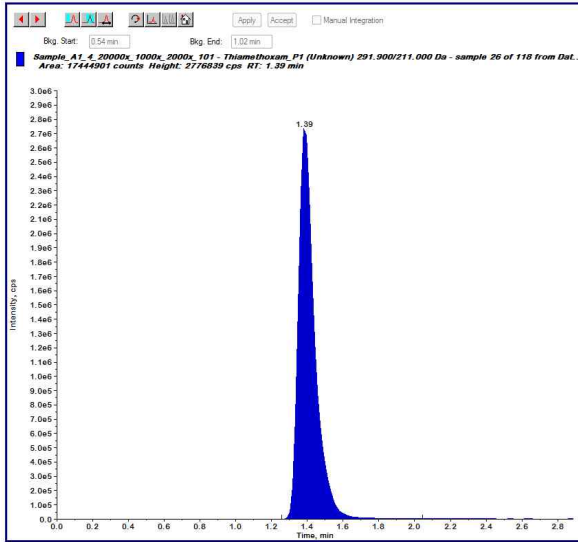
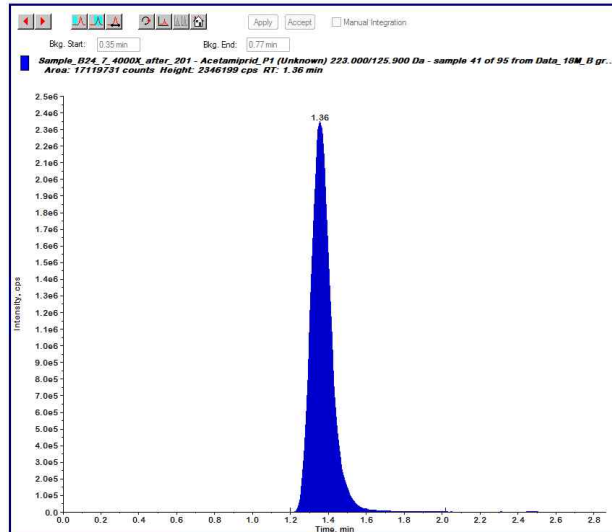
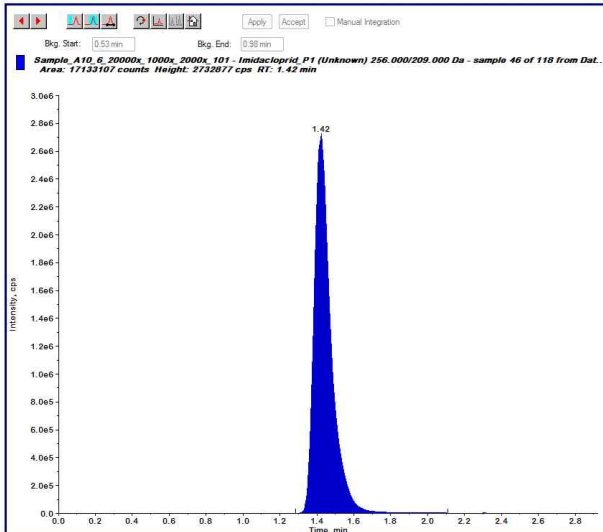


그림 1-17. 바이오황과 기존 황제품의 살충제 혼합에 의한 Aectamiprid의 농도 변화.



<Thiamethoxam, 바이오황 4000배, 1시간후>

<Acephate, 바이오황 2000배, 5시간후>



<Imidacloprid 바이오황 1000배, 10시간 후>

<Acetamiprid 바이오황 500배 24시간 후>

그림 1-18. 유효성분과 바이오황 희석농도에 따른 크로마토그램.

(2) 바이오황과 살충제 혼합 살포에 의한 고추의 약해 조사

(가) 연구 방법

- 제주대학교 생명자원과학대학 시설하우스에서 고추를 대상으로 2018년 8월 3일부터 8월 30일까지 수행하였음.
- 처리구는 농약만을 살포한 처리구, 바이오황 2,000배, 1,000배, 500배로 희석하고 농약과 혼합한 처리구를 두었음.
- 시험에 사용된 살충제는 고추 적용 약제로 유효성분은 Thiamethoxam, Acetamiprid, Imidacloprid 이었음.
- 약제처리는 분무기를 이용하여 1회 경엽살포하였고, 처리 3, 5, 7일 후 외관상 나타나는 약

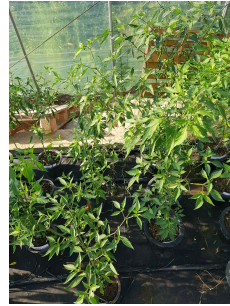
해유무를 농촌진흥청 고시, 농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법에 준하여 조사 하였음.



Only 농약



농약+바이오황 2,000배



농약+바이오황 1,000배



농약+바이오황 500배

그림 1-19. 약해시험 처리구별 사진.

(나) 연구 결과

○ 모든 처리구에서 고추의 잎과 과실에 외관상 나타난 약해증상은 없었음.



Only 농약



농약+바이오황 2,000배



농약+바이오황 1,000배



농약+바이오황 500배

그림 1-20. 처리 후 처리구별 사진

○ 바이오황 현탁액과 살충제 혼합 시험 결과를 종합해 보면, 물에서 보다 바이오황 및 황제품을 희석하여 혼합한 살충제에서 유효성분이 분해되지 않고 안정적으로 유지되고 있었으며, 고추 잎에서도 약해증상은 없어 바이오황 현탁액과 살충제를 혼합하여 사용가능할 것으로 판단됨. 따라서 바이오황의 살진균 효과와 농약의 살충효과를 동시에 기대 할 수 있어 농업 현장에서 농가의 일손을 줄이고 병해충 관리에 기여 할 수 있을 것임.

마. 바이오황을 이용한 감귤 적용 시험

(1) 바이오황 이용 감귤 더듬이병 발아관 억제 시험 (실내시험)

(가) 연구방법

① 감귤 더듬이병 포자 배양

○ 더듬이병 균총 3개를 각각 Petridish에 넣고 Fries medium 액체배지에 5ml 넣으면서 파쇄하고, Fries medium 배지를 5ml 넣고 27°C 배양기에서 48시간 1차 배양함.

○ 배양된 더듬이병 상등액을 버리고 멸균수로 5ml 넣고 3회 세척, 다시 멸균수 5ml을 넣고

27℃ 배양기에서 24시간 2차 배양함.

○ 2차 배양된 더벵이병균 포자를 Double thickness of cheese cloth 이용 Conical tube에 여과하여 더벵이병 원균으로 3℃에 냉장 보관함.

② 배지 만들기

○ 시험구 배치 : 무처리구, Bio-S 5,000배, Bio-S 10,000배, Bio-S 20,000배, Bio-S 40,000배 3 반복 처리함.

○ PDB 1.2g + Agar 1.5g을 증류수 98ml 넣고 고압멸균기에서 살균함.

표 1-24. 감귤 더벵이병 발아관 억제 시험 처리구.

Treatment	Bio-S (ml)	배지 (ml)	멸균수 (ml)
Bio-S 500배	2	98	-
Bio-S 1,000배	1	98	1
Bio-S 2,000배	0.5	98	1.5
Bio-S 4,000배	0.25	98	1.75
Bio-S 8,000배	0.13	98	1.87
Bio-S 16,000배	0.063	98	1.94
Bio-S 32,000배	0.032	98	1.97

③ 측정

○ 감귤 더벵이병 포자를 접종하여 40시간 과 88시간 후에 광학현미경(ZEISS)이용하여 포자 발아관 길이를 측정함.

(나) 연구결과

○ 바이오황을 이용하여 감귤 더벵이병균을 배지상에서 발아관 억제 시험 결과, 접종 40시간과 88시간 후 바이오황을 500배~1,000배로 희석한 처리구에서 발아관 억제 효과가 있었고, 희석배수 4,000배 이상에서는 억제 효과가 없었음.

표 1-25. 바이오황 농도별 더벵이병 발아관 억제 시험 결과.

처리구	40시간	88시간
Bio-S 500배	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 1,000배	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 2,000배	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 4,000배	47.9±2.28b	66.1±3.45b
Bio-S 8,000배	52.4±1.83bc	74.7±3.11bc
Bio-S 16,000배	57.2±2.21c	77.8±3.43c
Bio-S 32,000배	66.9±3.19d	97.5±5.29d
Non-treatment	88.1±3.53e	115.4±4.13e

* Ducans multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

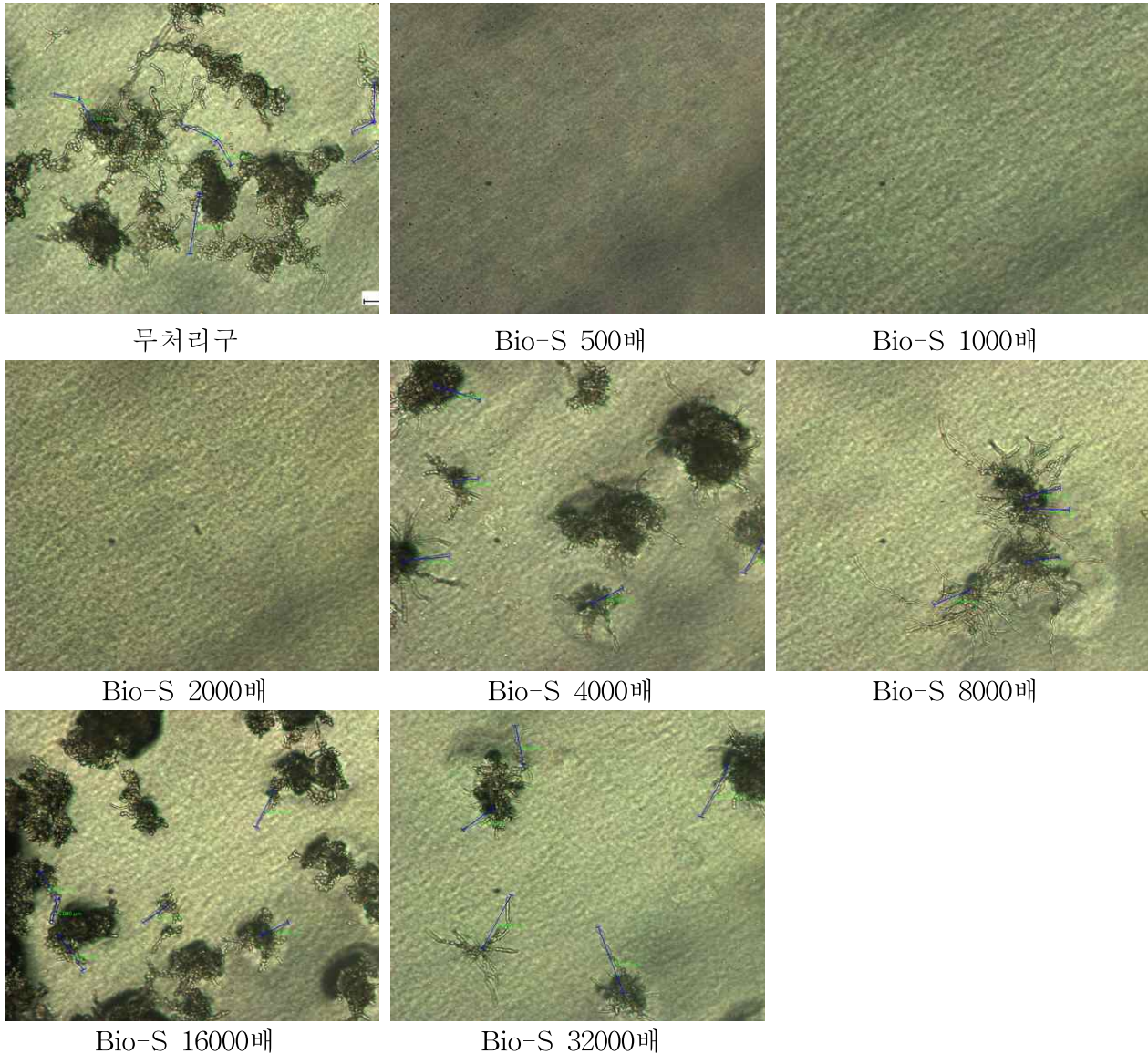


그림 1-21. 감귤 더댕이병 발아관 광학현미경 관찰 사진.

(2) 감귤 더댕이병 방제 바이오황 효과 포장 시험

(가) 연구 방법

- 공시약제: 대조구(이미벤타졸), 바이오황, 석회보르도액(2-4식), 석회유황합제, IC-66D, 무처리구
- 시험구 배치: 완전임의 배치법(약제별 3반복)
- 약제살포 기간: 4~6월, 6회 살포(15일 간격)
- 조사방법: 1주당 봄순 100가지 조사하여 잎 이병을 조사, 1주당 과실 100개 조사하여 과실 이병을 조사.

(나) 연구 결과

- 바이오황 이용하여 감귤 금년에 발생한 봄순에 더댕이병 방제를 위한 약제 살포한 결과, 바이오황 500배 살포구 방제가 69.5%로 친환경재배농가에서 주로 사용하는 석회보르도액(2-4식), IC66D, 석회유황합제 처리구와 유의성 있었음..

표 1-26. 바이오황 처리에 의한 감귤 잎의 이병율 및 방제가.

처리구	% of diseased leaf	Control value(%)
Bio-S 500배	12.3±4.8ab	69.5
Bio-S 1000배	24.0±2.5b	40.4
Borxdeaux mixture(2-4)	10.3±3.0ab	74.4
Bordeaux IC66D	10.3±4.7ab	74.4
sulfur lime	15.3±5.3ab	62
Imibenconazole(대조구)	5.3±0.5a	86.8
Non-treatment	40.3±7.0c	-

* 방제가=(무처리구 이병율-처리구별 이병율/무처리구 이병율)×100.

** Ducan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

○ 바이오황을 감귤 과실에 더맹이병 방제 효과 시험한 결과, 바이오황 500배 처리구 45.8%, 석회보르도액(2-4식) 57.3%, IC66D 47.0%, 석회유황합제 43.5%로 유의성 있었음.

표 1-27. 바이오황 처리에 의한 감귤 과실의 이병율 및 방제가.

처리구	% of diseased fruit	Control value(%)
Bio-S 500배	43.3±9.6 a	45.8
Bio-S 1000배	78.0±2.5 b	1.6
Borxdeaux mixture(2-4)	33.8±8.3 a	57.3
Bordeaux IC66D	42.0±6.5 a	47.0
sulfur lime	44.8±12.4 a	43.5
Imibenconazole(대조구)	4.0±1.7 c	95.0
Non-treatment	79.3±9.8 b	-

* 방제가=(무처리구 이병율-처리구별 이병율/무처리구 이병율)×100.

** Ducan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.



Bio-sulfur 약제 살포



감귤 더맹이병 이병율 조사



감귤 더맹이병 증상(잎)

그림 1-22. 바이오황을 이용한 감귤 더맹이병 실험사진.

(3) 바이오황 이용 감귤 검은점무늬병 발아관 억제 시험 (실내시험)

(가) 연구 방법

- PDA 3.9g을 삼각flask에 넣고 바이오황 희석배수에 맞게 증류수를 넣고 고압멸균기에서 121℃에서 20분간 멸균함.
- 멸균된 PDA에 바이오황을 무처리, 1,000배, 2,000배, 5,000배, 10,000배, 20,000배, 40,000배로 각각 바이오황을 PDA을 넣고 식힘.
- 희석된 바이오황에 배양된 검은점무늬병 포자를 100 μ l을 PDA에 3반복으로 접종, 검은점무늬병 포자 10배 희석하여 도말함.
- 검은점무늬병 접종 24시간, 30시간 후 광학현미경(ZEISS)으로 조사함.

(나) 연구 결과

- 바이오황을 이용하여 감귤 검은점무늬병균 배지상에서 발아관 억제 시험 결과, 접종 24시간 및 30시간 후 모든 처리구에서 발아관 억제 효과가 있었음.

표 1-28. 바이오황 희석배수에 따른 검은점무늬병 발아관 길이 조사 결과.

처리구	24시간	30시간
Bio-S 100배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 200배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 500배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 1,000배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 5,000배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 10,000배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 20,000배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Bio-S 40,000배	0.0±0.0a	0.0±0.0a
Non-treatment	197.9±9.3b	472.9±26.1b

* 검은점무늬병 처리구별 20개 발아관 조사

** Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

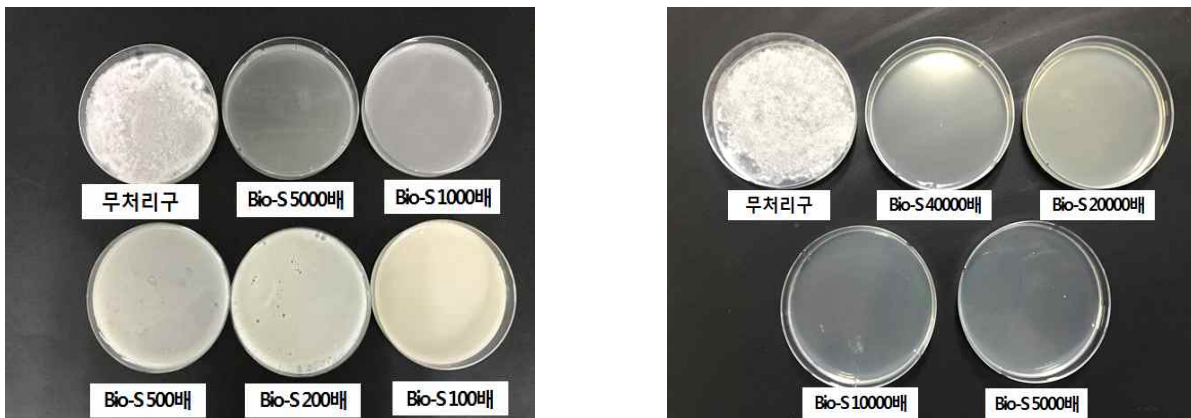


그림1-23. 감귤 검은점무늬병 발아관 억제 시험 사진(왼쪽 24시간, 오른쪽 30시간).

(4) 감귤 검은점무늬병 방제 바이오황 효과 포장 시험

(가) 연구 방법

- 약제살포 기간: 6~9월, 8회 살포(15일 간격)
- 공시약제: 대조구(만코지), 석회유황합제, 석회유황합제+기계유유제, Bio-S 500배, Bio-S 1,000배, 티모렉스, 무처리구
- 시험구 배치: 완전임의 배치법(약제별 3반복)
- 조사방법: 과실 발병도는 $(((1 \times A) + (3 \times B) + (5 \times C) + (7 \times D) + (9 \times E)) \div (\text{조사과실수} \times 9)) \times 100$ 으로 환산(발병면적 기준 A: 발병면적 1% 미만, B: 1~5% 이하, C: 6~25%이하, D: 26~50%이하, E: 51% 이상). 병든과율은 발병과수/조사과수×100으로 계산함.

(나) 연구 결과

- 바이오황을 이용하여 감귤 검은점무늬병균 약제 살포한 결과, 잎의 발병도는 바이오황 500배, 바이오황 1,000배 살포구에서 58.8 내외로 석회유황합제 처리구와 효과가 비슷하였고, 과실의 병든 과율은 78~80%로 석회유황합제와 비슷하였음.

표 1-29. 바이오황 처리에 의한 과실 발병도 및 병든과율.

처리구	Degree of disease severity	% of fruits infected
Bio-S 500배	58.8±5.0	78.2±9.1
Bio-S 1000배	58.1±6.8	80.7±8.0
sulfur lime 100배+ machine oil 150배	32.2±6.4	33.0±8.2
sulfur lime 100배	53.9±3.7	72.5±10.7
Mnacozeb(대조구)	10.3±0.3	0.6±0.4
Non-treatment	70.6±6.8	89.9±3.9



Bio-sulfur 처리구



과실 검은점무늬병반



잎 검은점무늬병반

그림 1-24. 바이오황을 이용한 감귤 검은점무늬병 실험 사진.

(5) 바이오황 이용 감귤 궂음애 살비 효과 시험

(가) 연구 방법

- 약제살포 : 2017. 10. 15일
- 공시약제 : Bio-S 500배, Bio-S 1000배, machine oil 100배, Non treatment
- 공시재료 : 하례조생(5년생, 수관용적 2.5m³) - 무가온재배
- 충전식분무기(대성, 20L)이용 나무당 약제를 5L 정도 잎 전체에 골고루 살포함.
- 약제 살포 후 3일, 7일, 14일, 21일 간격으로 궂음애 밀도를 조사함.

(나) 연구 결과

- 감귤 궂음애에 대한 바이오황의 살비 효과를 시험한 결과, 바이오황 500배 처리 3일 후 방제가 94.6%로 기계유유제 100배 처리구 96.4%와 비슷하였고, 약제 살포 후 7일 후부터 전 처리구에서 생충율이 증가하였음.

표 1-30. 바이오황 처리에 의한 감귤 궂음애 생충율 및 방제가.

처 리	처리전 밀도 (마리/20잎)	생충율(%)				방제가(%)			
		3dpi	7dpi	14dpi	21dpi	3dpi	7dpi	14dpi	21dpi
Bio-S 500배	36	5.8±2.4a	16.4±4.3a	23.2±4.6a	0.6±0.1a	94.6	89.9	92.9	91.9
Bio-S 1,000배	52	9.0±3.0a	17.0±4.0a	117.1±2b	5.5±0.5b	73.2	65.8	59.5	18.2
machine oil 100배	46	2.9±1.3a	12.2±2.6a	12.5±3.8a	0.6±0.1a	96.4	93.7	94.4	92.7
Non treatment	56	197.6±3b	166.4±2b	289.3±4c	6.3±0.7b	-	-	-	-

* 1주당 동,서,남,북 각 25엽 총 100엽 조사하여 20잎 환산함.

** 생충율=(처리후 응애밀도/처리전 응애밀도)×100

*** 방제가=(무처리구 20잎 마리수-처리구별 20잎 마리수/무처리구 20잎 마리수)*100

****Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.



bio-sulfur 처리구



궂음애 피해 잎



궂음애 성충

그림 1-25. 바이오황을 이용한 감귤 궂음애 살비 효과 시험 사진.

(6) 바이오황 이용 두줄민달팽이 접촉독에 의한 살와 효과 시험

(가) 연구 방법

- 시험구 : 무처리구, 대조구(팽이콜), Bis-S 300배, Bis-S 500배, Bis-S 1,000배
- Insect Breeding Dish(SPL, 100×40mm)을 에탄올 70%로 깨끗이 닦아줌
- Filter Paper 2장 깔고 처리구별 흐르는 물로 깨끗이 씻고 5마리를 넣고 3반복 처리함.
- 처리구별로 약제를 1ml 달팽이에 골고루 약제 살포함.
- 습도유지를 위하여 Kimtech에 물을 처리구별로 5ml 뿌려줌.
- 약제 처리후 3일, 5일 간격으로 살와 효과 조사함.

(나) 연구 결과

- 바이오황을 두줄민달팽이에 접촉한 시험에서 전 처리구에서 살와 효과가 없었음.

표 1-31. 바이오황 처리에 의한 두줄민달팽이 사망률.

처리구	Mortality at days treatment(%)		
	1dpi	3dpi	5dpi
Non-treatment	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Control(팽이콜)	0.0±0.00a	33.3±24.0a	100±0.00b
Bio-S 100배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	6.67±6.67a
Bio-S 300배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 500배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 1000배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a

* Ducan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

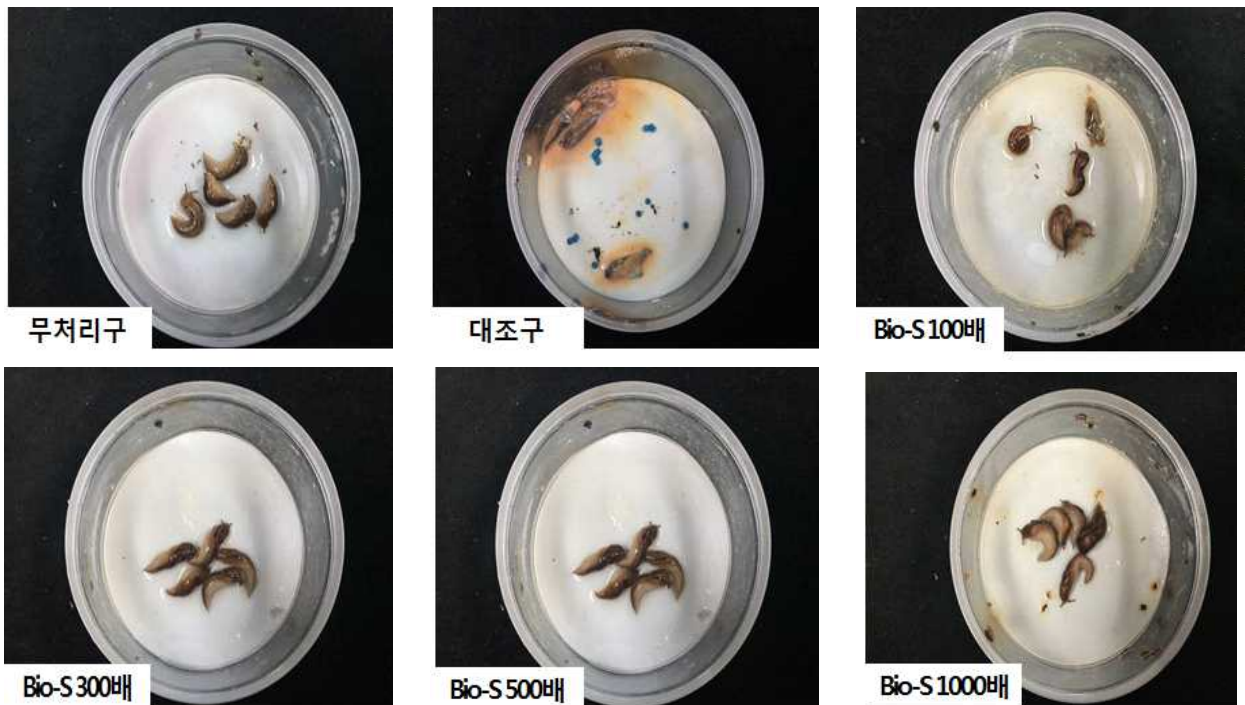


그림1-26. 바이오황을 이용한 접촉독에 의한 살와 효과 시험 사진.

(7) 바이오황 이용 두줄민달팽이 식독에 의한 살와 효과 시험

(가) 연구 방법

- 시험구: 무처리구, 대조구(팽이콜), Bio-S 100배, Bio-S 300배, Bio-S 500배, Bio-S 1,000배
- Insect Breeding Dish(SPL, 100×40mm)을 에탄올 70%로 깨끗이 닦아줌.
- Insect Breeding Filter Paper (직경 9cm, NO1) 깔고 처리구별 약제에 상추 (본엽4~5매) 약제에 침지하고 그늘에서 30분간 건조 후 Insect Breeding에 넣고 처리구별 두줄 민달팽이 (길이 3~5cm) 5마리를 3반복으로 넣었음.
- 습도유지를 위하여 Kimtech에 물을 처리구별로 5ml 매일 뿌려주고, 약제 처리된 달팽이는 26℃ 어두운 곳에서 보관함.
- 약제 처리후 1일, 3일, 5일 간격으로 살와 효과 조사함.

(나) 연구 결과

- 바이오황을 희석배수에 따라 상추에 살포하여 두줄민달팽이 식독에 의한 살와 효과를 시험한 결과, 처리 5일 후 6마리가 살와 되었으나 유의성은 없었음.

표 1-32. 바이오황 처리에 의한 두줄민달팽이 사망률.

처리구	Mortality at days treatment(%)		
	1dpi	3dpi	5dpi
Non-treatment	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Control(팽이콜)	0.0±0.00a	46.7±24.03b	100±0.00b
Bio-S 100배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 300배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	0.0±0.00a
Bio-S 500배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	6.7±6.67a
Bio-S 1000배	0.0±0.00a	0.0±0.00a	6.7±6.67a

* Duncan's multiple range test (P<0.05). Means with the same letter are not significantly different.

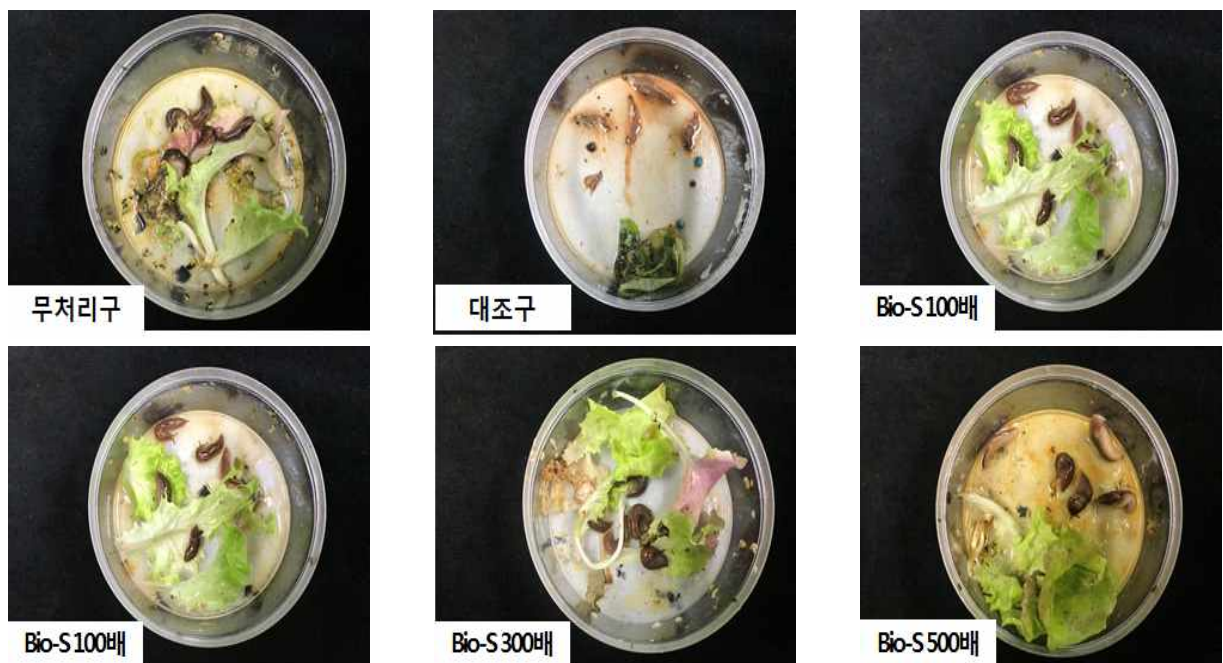


그림 1-27. 바이오황을 이용한 두줄민달팽이 식독에 의한 살와 효과 시험 사진.

바. 바이오황 제품과 기존 황제품의 비닐, 농자재 부식여부 조사

- 기존 황제품 (석회유황, 황토유황)과 비교하여 바이오황이 비닐 및 철제 파이프의 부식에 미치는 영향 조사

(1) 연구 방법

- 비닐 및 철제 파이프에 바이오황, 석회유황, 황토유황을 각각 500배, 2,000배로 희석하여 2주 간격으로 2017년 10월 20일부터 2018년 8월 24일까지 살포였음.
- 비닐 및 철제 파이프 시료는 국제공인시험기관 한국고분자시험연구소(주)에 의뢰하여, 비닐의 인장강도와 철제 파이프의 염수분무 시험함.

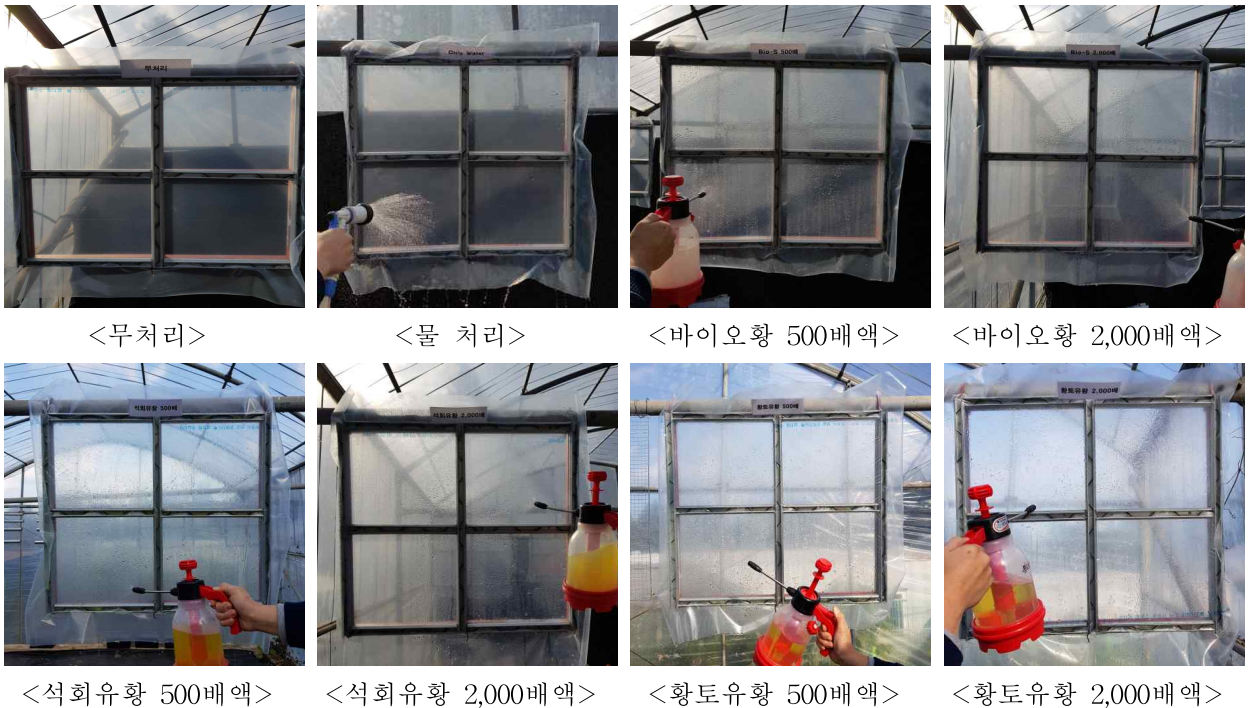


그림 1-28. 바이오황 및 기존 황제품의 비닐의 부식실험 처리 사진.



<물처리>



<바이오황 500배액>



<바이오황 2,000배액>



<석회유황 500배액>



<황토유황 500배액>

그림 1-29. 바이오황 및 기존 황제품의 철제 파이프의 부식실험 처리 사진.

(2) 연구 결과

- 비닐 및 철제 파이프의 부식여부는 육안으로 관찰하지 못하였음
- 비닐의 인장강도는 물을 살포한 비닐이 22 N/mm² 으로 가장 좋았고, 석회유황 2,000배 및 황토유황 500배, 2,000배를 살포한 비닐은 20~22 N/mm² 으로 비닐의 인장강도에는 영향을 미치지 않았음.
- 석회유황 500배 및 바이오황 500배, 2,000배를 살포한 비닐의 인장강도는 16~17 N/mm² 으로, 물을 처리한 비닐보다 낮았음.
- 철제 파이프의 염수분무 시험 결과는 육안관정에서 모든 처리구에서 변화가 관찰됨.

표 1-33. 기존 황제품과 바이오황 처리에 의한 비닐의 인장강도.

시험항목	물	바이오황 500배	바이오황 2,000배	석회유황 500배	석회유황 2,000배	황토유황 500배	황토유황 2,000배
인장강도 (N/mm ²)	22	17	16	16	22	20	21

표 1. 시료명 및 시료사진

No	시료에 기재된 시료명	시험에 사용된 시료명	시료사진
1	Water	Koptri-18-06-11422-1	
2	바이오롬 500 배	Koptri-18-06-11422-2	
3	바이오롬 2 000 배	Koptri-18-06-11422-3	
4	석회유층 500 배	Koptri-18-06-11422-4	
5	석회유층 2 000 배	Koptri-18-06-11422-5	
6	황도유층 500 배	Koptri-18-06-11422-6	
7	황도유층 2 000 배	Koptri-18-06-11422-7	

비첨) 신청서에 기재된 시료명 : 해당사항 없음

그림 1-30. 하우스 비닐의 인장강도 실험 사진.

2. 시험 결과

표 3. 염수분무 시험 결과

시료명	염수분무 전	염수분무 후	시험결과
Koptri-18-06-11422-8			육안 판정결과 변화있음
Koptri-18-06-11422-9			육안 판정결과 변화있음
Koptri-18-06-11422-10			육안 판정결과 변화있음
Koptri-18-06-11422-11			육안 판정결과 변화있음

Note) 시험방법 : 5 % NaCl, 35 °C, 24 hr 전 후 육안 판정

그림1-31. 하우스 파이프의 염수분무 실험사진.

2. 2세부과제: 주요 식물 병원균에 대한 바이오황의 항미생물 활성, Bio-test를 통한 방제수준 측정

가. 바이오황의 주요 식물 병원균에 대한 항미생물 활성 검증

(1) 인공배지를 이용한 바이오황의 감귤궤양병균에 대한 항미생물 활성 조사

- 바이오황을 감귤궤양병 방제에 이용할 수 있는지 알아보기 위해 감귤궤양병균에 대한 바이오황의 직접적인 항균활성 효과를 알아보하고자 함.

(가) 실험방법

- 세균인 감귤궤양병균은 tryptic soy agar 배지에 1.0×10^7 cfu/ml 농도로 도말한 후 바이오황 500x, 1000x, 2000x를 포함한 종이 디스크를 배지 중앙에 배치한 후 25°C에서 3일간 배양하였음.
- 바이오황 500 x 함유한 tryptic soy broth에 감귤궤양병균을 접종한 후 3 일 동안 25°C에서 진탕 배양한 후 배양액을 spectrophotometer로 600nm에서 흡광도를 조사함.
- 또한 배양액의 100 μ l를 감귤궤양병균의 선택배지인 semi selection agar 배지에 도말하여 25°C에서 3일간 배양하였음.
- 바이오황의 감귤궤양병균에 대한 항미생물 활성은 시판농약인 Streptomycin®을 관행 농도로 처리함.

(나) 실험결과

① 감귤궤양병균 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

- 바이오황의 항균 활성은 세균류에 속하는 감자 궤양병균 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*에서도 나타났음 (그림 2-1).

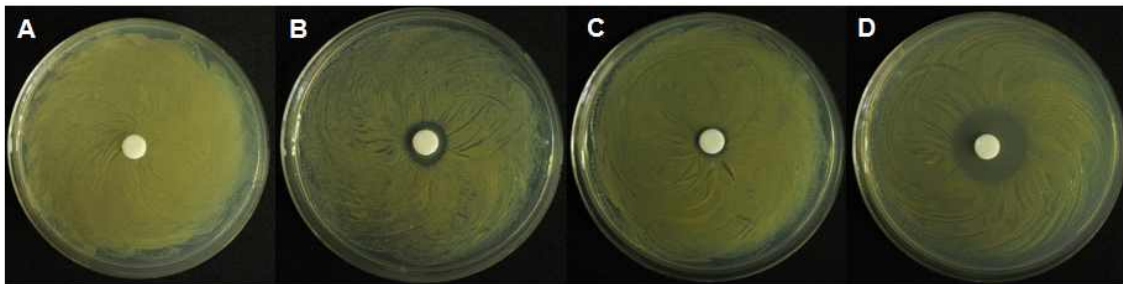


그림 2-1. TSA 배지에 바이오황에 의한 감귤궤양병균 성장 억제. 무처리 (A), 바이오황 500배 (B), 바이오황 2000배 (C), 항생제 스트렙토마이신 (D). 처리한 감귤 궤양병균과 스트렙토마이신 농도는 각각 1.0×10^7 cfu/ml와 10g/L임.

- 바이오황 500x에서 감귤궤양병균의 성장을 뚜렷하게 억제하였으나 2,000x에서는 억제 효과가 매우 미약하게 나타났음 (그림 2-1).
- 시판 농약인 Streptomycin을 처리한 종이디스크에서 감귤궤양병균의 성장을 가장 강력하게 억제하였음.
- 바이오황 500 x 함유한 tryptic soy broth에서 감귤궤양병균의 흡광도가 무처리한 배지에 비해 떨어졌으며 이는 바이오황에 의해 감귤궤양병균의 세포 분열이 억제된다는 것을 의미함 (그림 2-2).

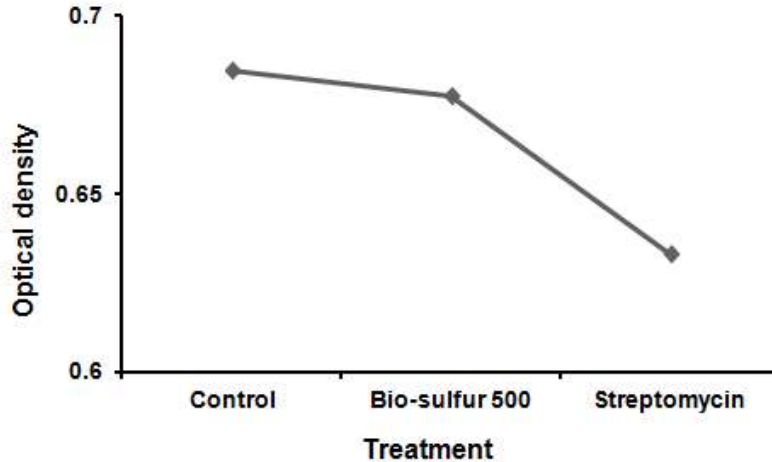


그림 2-2. TSB 배지에 무처리, 바이오황 500배, 항생제 스트렙토마이신을 처리한 후 3일 동안 배양한 감귤궤양병균 현탁액 농도. 감귤궤양병균과 스트렙토마이신 농도는 각각 1.0×10^7 cfu/ml와 10g/L임.

- 또한 바이오황을 포함한 배양액을 감귤궤양병균의 선택배지인 semi selection agar 배지에 도달한 결과 감귤궤양병균의 균총이 무처리에 비해 뚜렷하게 감소되었음 (그림 2-3)
- 시판 농약인 Streptomycin®을 함유한 배지에서는 감귤궤양병균이 거의 성장하지 않았음

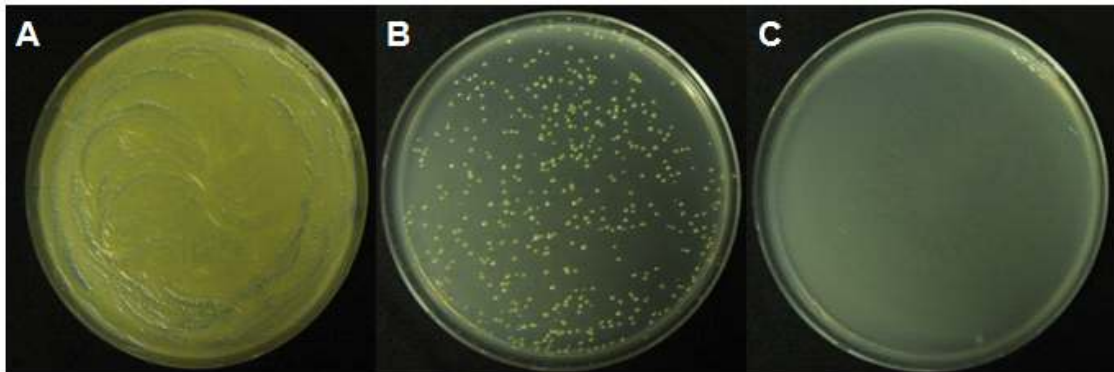


그림 2-3. 선택적 TSB 배지에 무처리 (A), 바이오황 500배(B), 항생제 스트렙토마이신(C) 처리 후 감귤궤양병균 현탁액을 도달한 후 3일 동안 배양한 모습.

(2) 인공고체배지를 이용한 바이오황의 식물병원진균에 대한 항미생물 활성 조사

- 바이오황을 식물진균병 방제에 이용할 수 있는지 알아보기 위해 여러 가지 식물 병원진균에 대한 바이오황의 직접적인 항균활성 효과를 알아보려고 함.
- 바이오황 생성 공정 결과로 바이오황에 부착되어 있는 미생물이 식물병원진균에 대한 항미생물 활성에 영향을 미치는지 여부를 알아보려고 함.

(가) 실험방법

- 바이오황 (500×)을 함유한 Potato dextrose agar (PDA) 고체배지를 고압 살균 후 감귤검은 점무늬병균(*Diaporthe citri*), 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*), 고추역병균

(*Phytophthora capsici*), 감자역병균 (*Phytophthora infestans*)을 각각 접종함.

- 바이오황에 부착된 미생물이 항미생물 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 PDA 배지를 고압살균을 한 후에 바이오황을 첨가하여 식물병원균을 각각 접종함.
- 바이오황의 항미생물적 효과 수준을 측정하기 위해 각각의 식물병을 방제하기 위한 시판농약 Dithanon®, Benomy1®, Metalaxyl® 을 관행 농도로 처리함.
- 접종된 배지는 25°C 배양기로 옮겨져 가장 생장이 빠른 비교군이 배지전체 넓이의 4분의 3 이상 자랄 때까지 배양 후 (약 7일 소요) 성장된 균사의 길이를 각각 cm단위로 측정하여 비교함.

(나) 실험결과

① 감귤검은점무늬병균 *Diaporthe citri*

- 바이오황이 함유된 PDA 고체배지에서 감귤검은점무늬병균 *Diaporthe citri* 이 무처리한 배지에 비해 생장이 억제되었음 (그림 2-4).

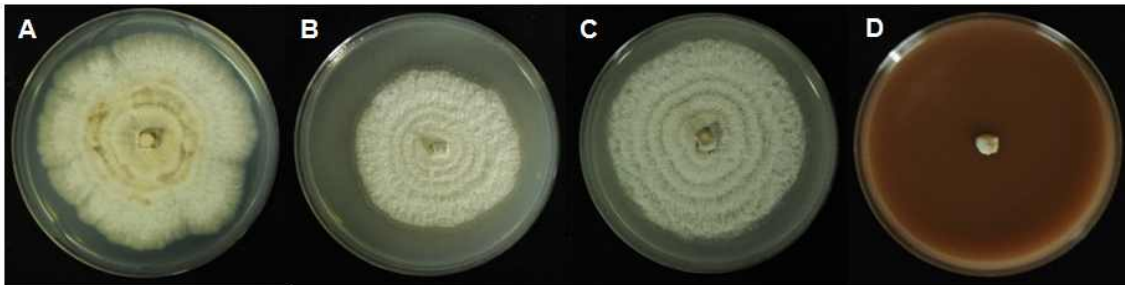


그림 2-4. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C), 살균제 디치아논 (D)을 처리한 PDA 배지에서 7일 동안 배양한 감귤검은점무늬병균 균사 성장 모습. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 감귤검은점무늬병균 *Diaporthe citri* 균사 성장 억제정도는 고압 살균한 바이오황에서 통계적으로 유의성 있게 나타났음 (그림 2-5)
- 바이오황에 부착된 미생물을 살균하지 않고 처리하면 감귤검은점무늬병균의 균사 성장 억제 효과가 나타나지 않았음 (그림. 2-4, 5).
- 시판농약인 Dithianon®을 처리한 배지에서는 균사 생장이 가장 뚜렷하게 나타났으며 균사가 거의 성장하지 않았음.

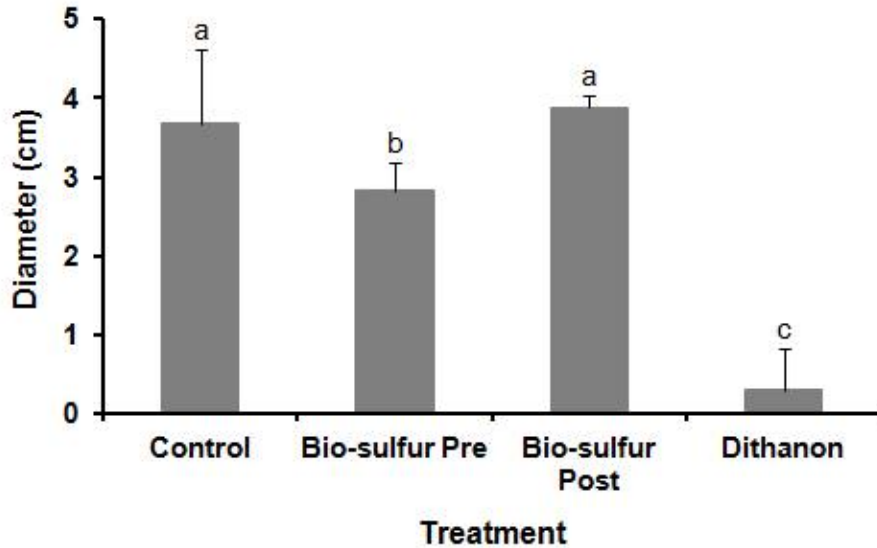


그림 2-5. PDA배지에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가, 살균제 디치아논을 처리한 후 1주일 배양한 배지 상에서 감귤검은점무늬병균의 균사 직경. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 각 실험구 마다 3반복 진행하였음.

② 오이탄저병균 *Colletotrichum orbiculare*

- 오이탄저병균 *Colletotrichum orbiculare* 도 바이오황이 함유된 PDA 고체배지에서 무처리한 배지에 비해 생장이 억제되었음 (그림 2-6).

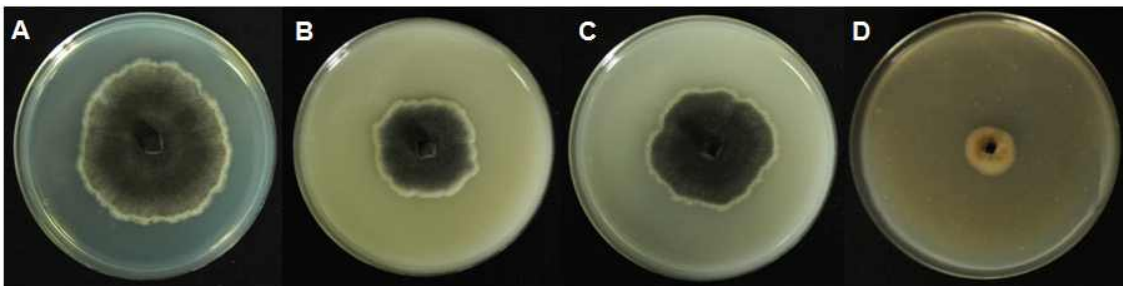


그림 2-6. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C), 살균제 베노밀 (D)을 처리한 PDA 배지에 7일 동안 배양한 오이탄저병균 성장 모습. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 감귤검은점무늬병균과 다르게 바이오황에 의한 오이탄저병균 *Colletotrichum orbiculare* 의 균사생장 억제 정도는 바이오황을 고압살균에 영향을 받지 않았음 (그림 2-7).
- 시판농약인 Benomyl을 처리한 배지에서는 균사 생장이 가장 뚜렷하게 억제되었음.

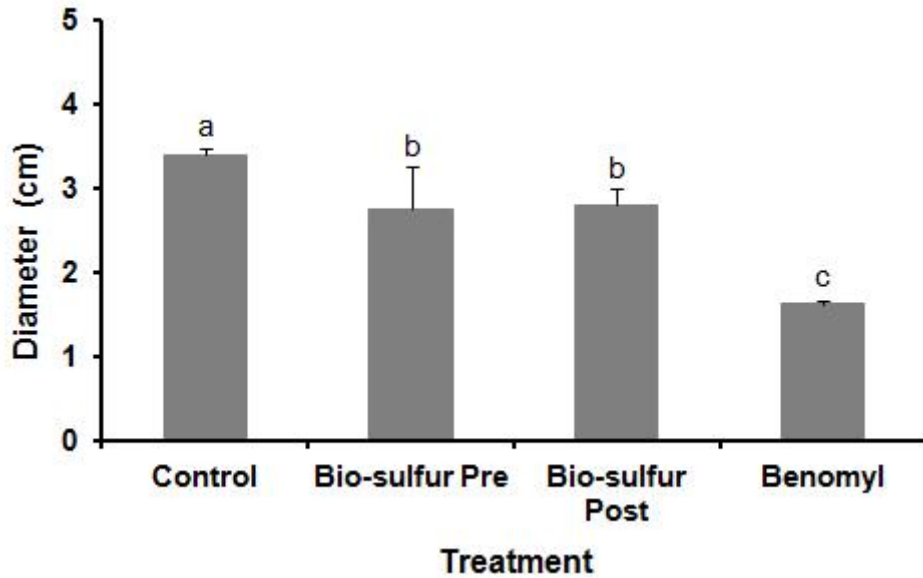


그림 2-7. PDA배지에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가, 살균제 베노밀을 처리한 후 1주일 배양한 배지 상에서 오이탄저병균의 균사 직경. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 각 실험구 마다 3반복 진행하였음.

③ 감자 역병균 *Phytophthora infestans*

- 유사군류에 속하는 감자 역병균 *Phytophthora infestans* 에서도 바이오황의 항균 활성이 PDA 고체배지에서 관찰되었음 (그림 2-8).

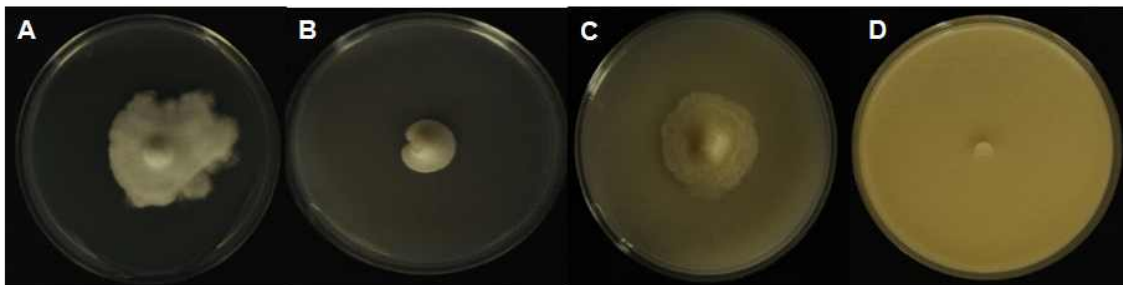


그림 2-8. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C), 살균제 메타락실 (D)을 처리한 PDA 배지에서 7일 동안 배양한 감자역병균 성장 모습. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 감자역병균 균사 성장도 고압 살균한 바이오황에서 억제 효과가 더욱 뚜렷하게 나타났으나 바이오황을 살균하지 않은 배지에서는 억제 효과가 나타나지 않았음 (그림 2-9).
- 따라서 바이오황에 부착된 미생물은 대상 식물병원균의 종류에 따라 다르게 반응하는 것으로 판단됨.
- 시판 농약인 Metalaxyl®을 처리한 배지에서는 감자역병균의 균사가 거의 자라지 않았음.

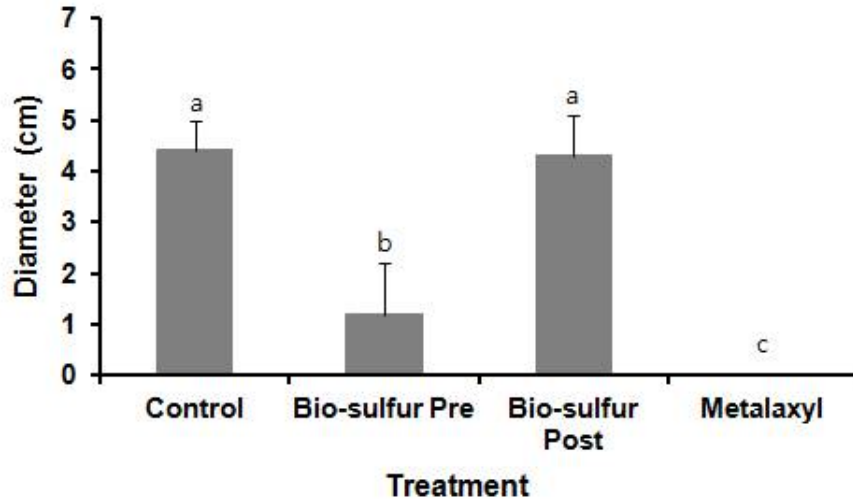


그림 2-9. PDA배지에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가, 살균제 메타락실을 처리한 후 1주일 배양한 배지 상에서 감자역병균의 균사 직경. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 각 실험구 마다 3반복 진행하였음.

④ 고추 역병균 *Phytophthora capsici*

- 유사균류에 속하는 고추 역병균 *Phytophthora capsici* 에서도 바이오황의 항균 활성이 PDA 고체배지에서 관찰되었음 (그림 2-10)

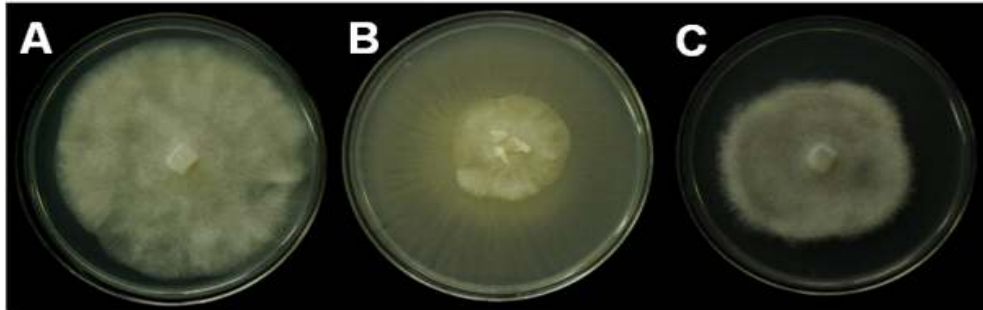


그림. 2-10. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C)한 PDA 배지에서 7일 동안 배양한 고추역병균 성장 모습. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 고추역병균 균사 성장도 고압 살균한 바이오황에서 억제 효과가 더욱 뚜렷하게 나타났으나 바이오황을 살균하지 않은 배지에서는 억제 효과가 나타나지 않았음 (그림 2-11)

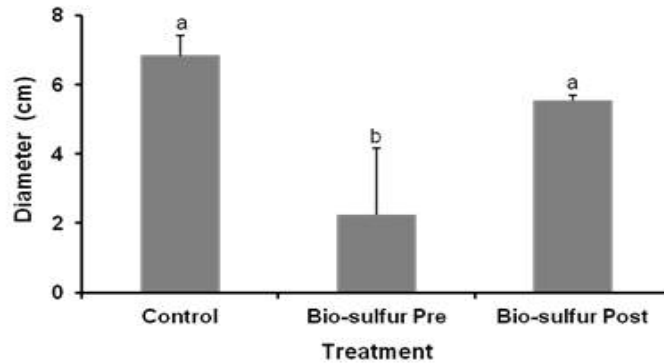


그림 2-11. PDA배지에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황을 첨가한 후 1주일 배양한 배지 상에서 고추역병균의 균사 직경. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 각 실험구 마다 3반복 진행하였음.

(3) 인공액체배지를 이용한 바이오황의 식물병원진균에 대한 항미생물 활성 조사

- 인공고체배지에서 바이오황에 부착된 미생물을 살균처리하면 대부분의 식물병원균의 균사 성장 억제효과가 증가되므로 액체배지를 이용하여 바이오황과 식물병원균의 접촉면을 증가시켜 성장 억제효과를 조사하고자 함.

(가) 실험방법

- 바이오황 (500×)을 함유한 Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 고압 살균 후 감귤검은점무늬병균(*Diaporthe citri*), 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*), 고추역병균 (*Phytophthora capsici*), 감자역병균 (*Phytophthora infestans*)을 Cork borer (ø 6mm) 를 이용, 각 배지당 3개의 병원균을 각각 접종함.
- 실험1과 마찬가지로 바이오황에 부착된 미생물이 항미생물 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 PDB 배지를 고압살균을 한 후에 바이오황을 첨가하여 식물병원균을 각각 접종함
- 바이오황의 항미생물적 효과 수준을 측정하기 위해 각각의 식물병을 방제하기 위한 시판농약 Dithanon®, Benomyl®, Metalaxyl® 을 관행 농도로 처리함.
- 접종된 배지는 Shaking incubator (28℃, 80rpm) 에서 7일간 배양.
- 생체중을 측정한 후 건조기 (65℃) 에서 24h 건조 후 건조량 측정.

(나) 실험결과

① 감귤검은점무늬병균 *Diaporthe citri*

- 감귤검은점무늬병균 *Diaporthe citri* 과 접촉면이 증가한 바이오황이 함유된 PDB 액체배지에서 무처리한 배지에 비해 생장이 월등하게 억제되었음 (그림 2-12).

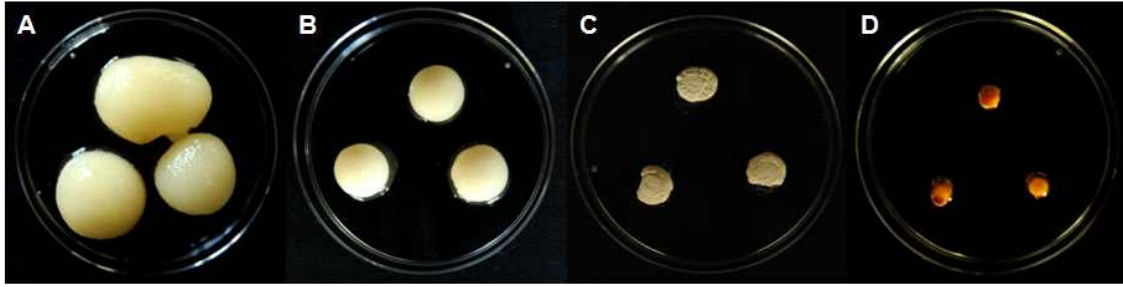


그림 2-12. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C), 살균제 디치아논 (D)을 처리한 PDB배지에서 7일 동안 배양한 감귤검은점무늬병균 균사. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 고체 배지와는 다르게 바이오황에 부착된 미생물을 살균하지 않았더니 감귤검은점무늬병균의 생장이 살균한 배지에 비해 약간 더 억제되었음 (그림 2-13).
- 아마도 바이오황에 부착된 미생물에 의해 성장억제가 증진되었을 것으로 판단됨.
- 시판 농약인 Dithianon®을 처리한 배지에서는 감귤검은점무늬병균이 거의 자라지 못했음

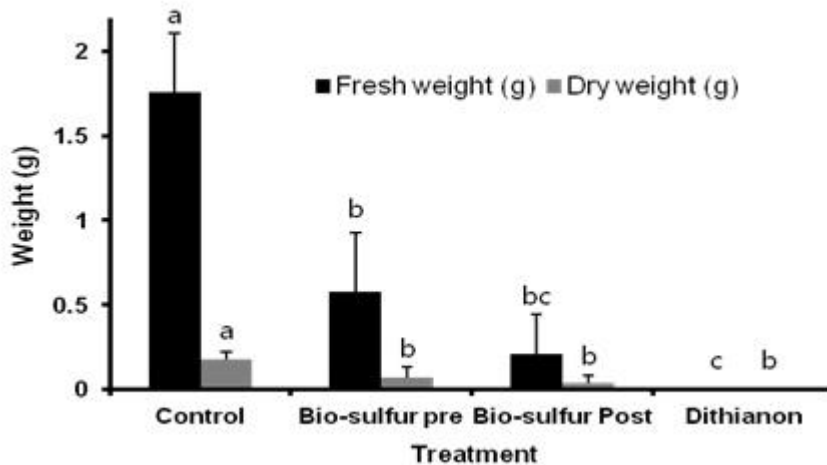


그림 2-13. PDB에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가, 살균제 디치아논을 처리 한 후 배양한 감귤검은점무늬병균의 생체중과 건물중. 바이오황의 현탁액 농도는 500배이며, 각 실험구마다 3반복 진행하였음.

② 오이탄저병균 *Colletotrichum orbiculare*

- 마찬가지로 바이오황이 함유된 PDB 액체배지에서 오이탄저병균 *Colletotrichum orbiculare*도 무처리한 배지에 비해 생장이 뚜렷하게 억제되었음 (그림 2-14).
- 오이탄저병균의 경우에도 바이오황에 부착된 미생물을 살균하지 않았더니 오이탄저병균의 생장이 살균한 배지에 비해 육안으로는 더욱 억제되었으나 유의성은 없었음 (그림 2-15).
- 시판농약인 Benomyl을 처리한 배지에서는 균사 생장이 가장 억제되었음.

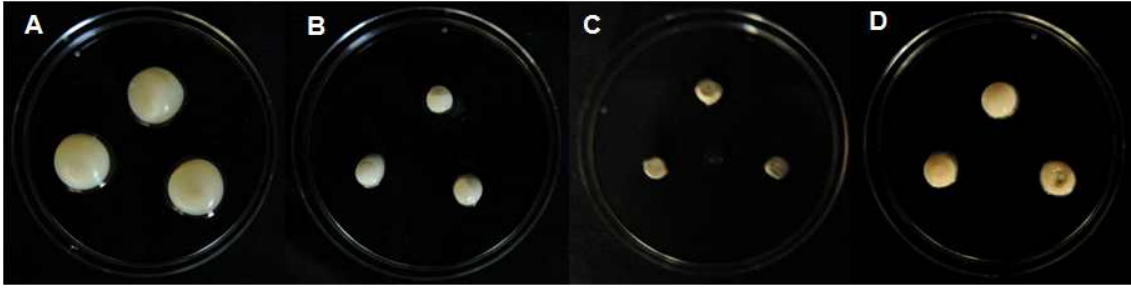


그림 2-14. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C), 살균제 베노밀 (D)을 첨가한 PDB배지에서 7일 동안 배양한 오이탄저병균 균사. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

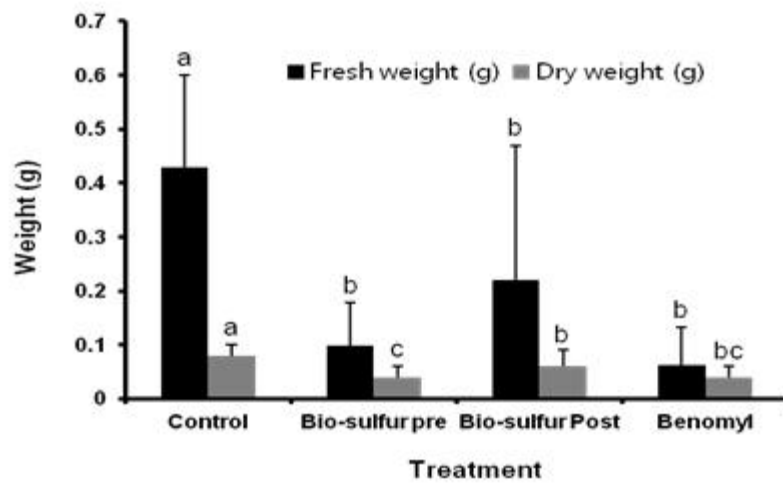


그림 2-15. DB에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가, 살균제 베노밀을 처리 한 후 배양한 감귤검은점무늬병균의 생체중과 건물중. 바이오황의 현탁액 농도는 500 배이며, 각 실험구마다 3반복 진행하였음.

③ 고추 역병균 *Phytophthora capsici*

- 유사균류에 속하는 고추역병균 *Phytophthora capsici* 도 바이오황이 함유된 PDB 액체배지에서 무처리한 배지에 비해 생장이 뚜렷하게 억제되었음 (그림 2-16).

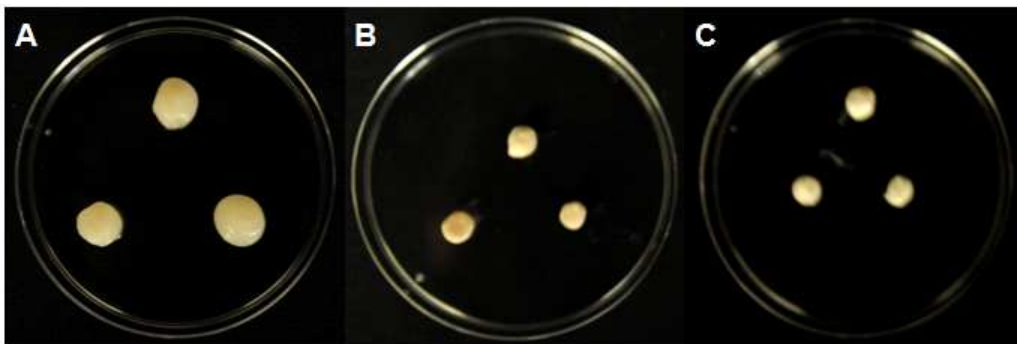


그림 2-16. 무처리 (A), 바이오황 첨가 후 멸균 (B), 멸균 후 바이오황 첨가 (C)한 PDB배지에서 7일 동안 배양한 고추역병균 균사 모습. 바이오황 현탁액의 농도는 500배임.

- 고추역병균인 경우에는 바이오황에 부착된 미생물을 살균한 배지와 살균하지 않은 배지에서 균사 성장 억제 효과에 차이가 없었음 (그림 2-17).

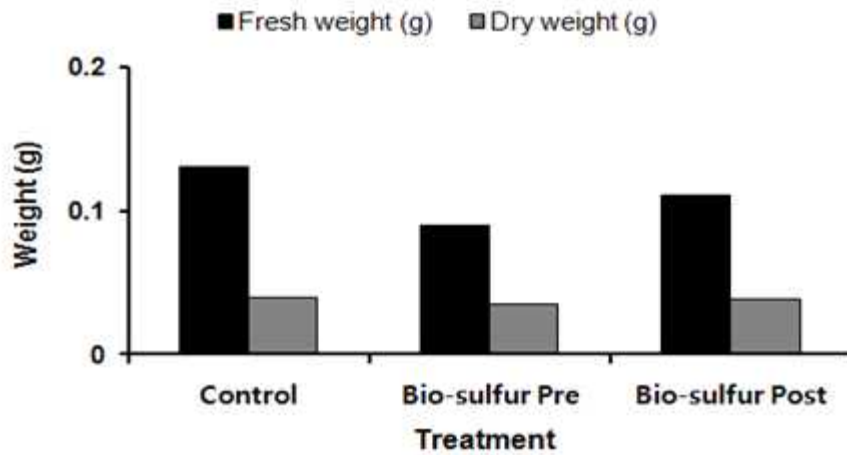


그림 2-17. PDB에 무처리, 바이오황 첨가 후 멸균, 멸균 후 바이오황 첨가한 후 배양한 감귤검은점무늬병균의 생체중과 건물중. 바이오황의 현탁액 농도는 500배임.

(4) 확산에 의한 바이오황의 식물병원진균에 대한 항미생물적 활성 여부 조사

- 인공한천배지에서 주요 식물병원균과 대치배양을 함으로써 바이오황의 항미생물적 효과가 확산에 의해서 나타나는지 알아보기 위함

(가) 실험방법

- 병원균이 성장할 수 있는 Potato dextrose agar (PDA) 배지 좌측에 바이오황 70 ul를 각각 함유한 종이 디스크를 배치함.
- 배지 우측에 주요 감귤검은점무늬병균(*Diaporthe citri*), 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*), 고추역병균 (*Phytophthora capsici*), 감자역병균 (*Phytophthora infestans*)를 접종함.
- 대치배양이 완료된 배지는 25 °C가 유지되는 배양기에서 균사가 바이오황에 접촉할 때까지 배양 후 바이오황의 항균활성 여부를 조사함.

(나) 실험결과

- 바이오황과 대치 배양한 식물병원균 모두 균사 생장이 억제되지 않았음 (그림 2-18).
- 따라서 바이오황은 확산에 의한 항미생물적 효과는 없는 것으로 나타났는데 이는 바이오황의 입자가 크기 때문인 것으로 판단됨.

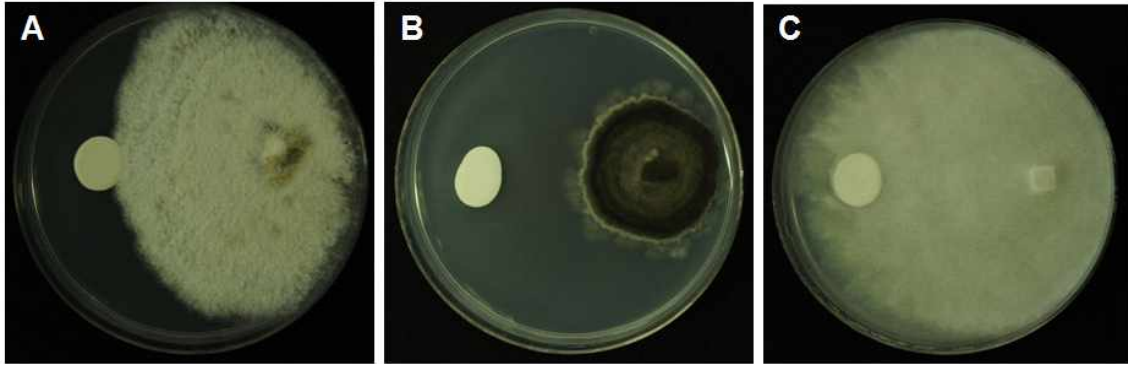


그림 2-18. PDA배지에서 바이오황과 감귤검은점무늬병균 (A), 오이탄저병균 (B), 고추역병균 (C)을 대치 배양한 모습. PDA배지에서 왼쪽은 바이오황 원액을 함유한 종이 디스크이고 오른쪽은 병원균임.

나. Bio-test를 통한 선발된 작물병에 대한 바이오황의 방제 수준 측정

(1) 오이탄저병에 대한 바이오황의 방제 효과 조사

- 바이오황에 의한 오이탄저병 (*Colletotrichum orbiculare*) 방제 여부를 오이 식물체 잎을 통하여 알아보고자 함.

(가) 실험방법

- 오이종자(정선삼척)를 25℃ 암배양 조건으로 최아.
- 최아 된 오이종자를 포트(Ø 10cm)에다가 파종 후 6000lux의 25℃ 광조건으로 낮 14시간 밤 10시간 조건 하에 배양.
- 2엽이 다 자란 상태의 오이식물 전체에다가 바이오황(500×)에 Tween 20 첨가, 스프레이로 전처리 후 잎 표면에 물기가 남지 않도록 건조.
- 바이오황이 건조된 오이식물의 전체에 0.01% Tween 20가 첨가된 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*) 현탁액을 1×10^5 conidia/ml 의 농도로 접종.
- 접종된 식물은 100% 습도를 유지하기 위하여 Dew chamber 에서 25℃ 암배양 조건으로 24h 배양 후 배양실에 옮겨져 병반 진진도 관찰.

(나) 실험결과

- 오이탄저병도 바이오황에 의해 오이 잎에서 무처리구에 비해 병 발생이 뚜렷하게 억제되어 약 95% 이상의 방제가를 나타냈음 (그림 2-19).
- 바이오황에 의한 오이탄저병의 억제는 시판 농약인 Benomyl®을 처리한 잎과 유사하게 나타났으며 바이오황을 이용한 오이탄저병 방제가 가능할 것으로 판단됨.

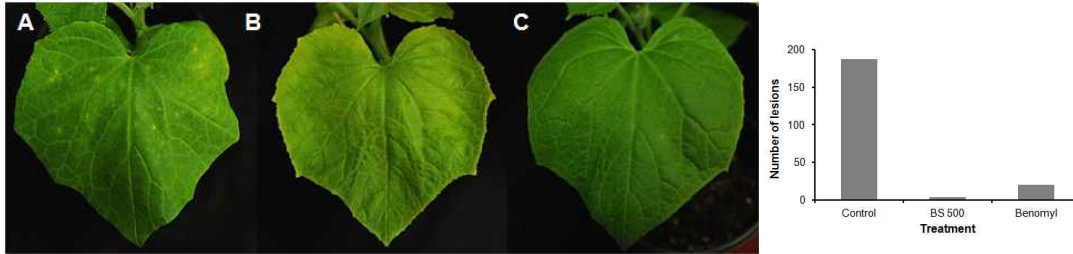


그림 2-19. 무처리 (A), 바이오황 처리 (B), 살균제 베노밀(C)을 처리한 오이 잎에서 오이탄저병 발병 정도. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임. 병원균 접종 10일 후 사진 촬영하였음.

(2) 감귤검은점무늬병에 대한 바이오황의 방제 효과 조사

- 바이오황에 의한 감귤검은점무늬병 (*Diaporthe citri*) 방제 여부를 감귤 식물체 잎을 통하여 알아보고자 함.

(가) 실험방법

- 삼각 플라스크에 증류수를 100 ml 채우고, 입구를 호일로 감싼 후 고압멸균기를 이용하여 멸균 후 준비.
- 온실에서 자란 감귤 묘목에서 병원성에 감염되기 쉬운 5엽에서 7엽사이의 새순 가지 절취
- 잘라낸 즉시, 클린벤치 안에서 이쑤시개를 이용하여 삼각플라스크 호일의 구멍을 뚫은 후 감귤 새순을 플라스크에 꽂음.
- 감귤 새순의 잎에 바이오황(500×)현탁액을 스프레이로 전처리하고, 물기가 남지 않도록 건조시킨 후 *Diaporthe citri* 현탁액을 Hemocytometer을 이용하여 1×10^5 conidia/ml 로 조정, 0.01% Tween 20을 첨가하여 스프레이로 접종.
- 접종된 식물은 100% 습도유지를 위해 Dew chamber에서 24h 배양 후 배양실에 옮겨 병반진전도 측정.

(나) 실험결과

- 바이오황을 감귤 잎에 처리하고 감귤검은점무늬병균을 접종하였더니 병원균만 접종한 무처리구에 비해 병반 수가 월등히 감소되어 약 90% 방제 효과가 있었음 (그림 2-20).
- 시판 농약인 Dithianon[®]을 처리한 감귤 잎에서는 병이 거의 발생하지 않았음.
- 따라서 바이오황을 이용한 감귤검은점무늬병의 방제가 가능할 것으로 보임.

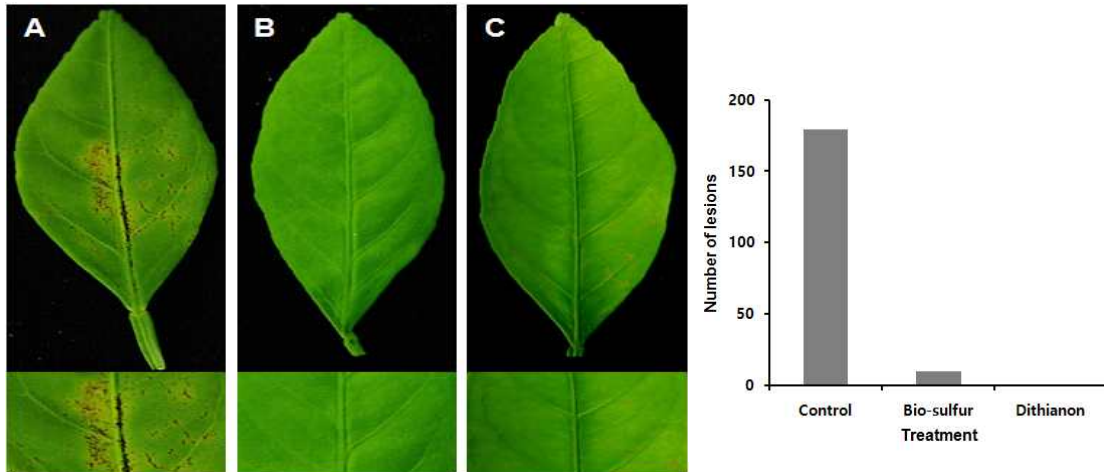


그림 2-20. 무처리 (A), 바이오황 처리 (B), 살균제 디치아논(C)을 처리한 감귤 잎에서 감귤 검은점무늬병 발병 정도. 바이오황 현탁액의 농도는 500배이며, 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임. 병원균 접종 10일 후 사진 촬영하였음.

다. 광학현미경을 이용한 바이오황에 의한 작물병 억제기작 규명

- 바이오황을 처리한 양파 껍질에서 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*)의 성장 억제 여부를 광학현미경 관찰을 통하여 알아보고자 함.

(1) 실험방법

- 시중에서 판매하는 양파를 구입하여 안쪽 껍질을 벗겨냄.
- PDA 배지에 양파 껍질을 넓게 펼쳐 핀으로 고정함.
- 바이오황(500×)에 Tween 20 첨가한 후 스프레이로 양파 껍질에 처리함.
- 바이오황의 효과를 측정하기 위해 시중에 판매하는 Benomyl[®]을 관행 농도로 처리함.
- 양파에 처리한 바이오황이 건조된 후 0.01% Tween 20가 첨가된 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*) 현탁액을 1×10^5 conidia/ml 의 농도로 접종함.
- 접종된 양파를 습실 처리를 한 후 25°C 조건에서 배양 한 후 광학 현미경으로 관찰함.

(나) 실험결과

- 바이오황을 처리한 양파 껍질에서 오이탄저병균이 무처리구에 비해 뚜렷하게 억제되었음 (그림 2-21, 22).
- 오이탄저병균의 균사 성장도 바이오황을 처리한 양파 껍질에서 현저하게 감소하였으며 (그림 2-21, 22) 이를 통해 바이오황에 의해 오이탄저병균의 생장이 억제되었다고 판단됨.
- 바이오황과 유사하게 시판 중인 Benomyl[®]을 처리한 양파 껍질에서 오이탄저병균의 발아율이 감소되었으며 균사 생장은 바이오황 처리 시 보다 더욱 억제되었음 (그림 2-21, 22).

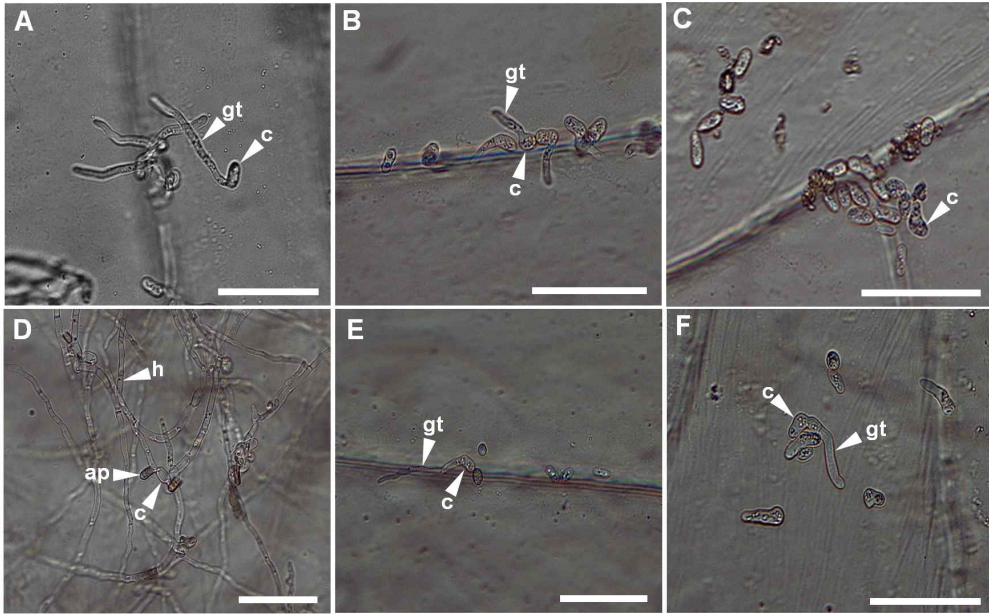


그림 2-21. 무처리구 (12h A, 24h D), 바이오황 500배 (12h B, 24h E), 살균제 베노밀(12h C, 24h F)을 처리한 양과깍질 표면에서의 오이탄저병균 접종 12h와 24h 후의 광학현미경 사진. 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임. 막대 크기 = $100 \mu\text{m}$. 약자: ap, 부착기; c, 포자; gt, 발아관; h, 균사.

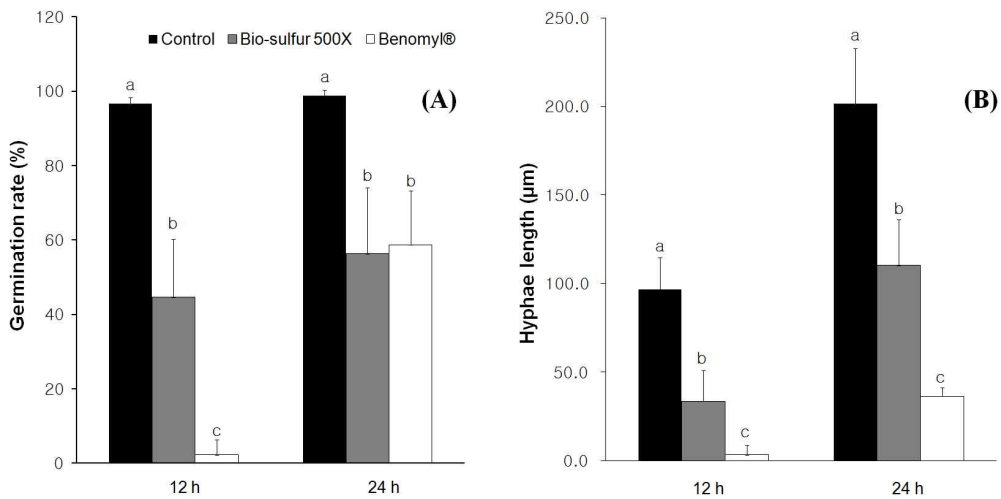


그림 2-22. 무처리, 바이오황 500배, 살균제 베노밀 처리한 양과깍질 표면에 오이탄저병균 접종 12시간과 24시간 후 오이탄저병균의 발아율과 균사길이. 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임.

라. 형광현미경을 이용한 바이오황에 의한 작물병 억제기작 규명

(1) 오이 식물에서 바이오황에 의한 오이 탄저병균 침입 기작

- 바이오황을 처리한 오이 잎 표면에서 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*)의 침입 기작을 형광현미경을 통해 알아보하고자 함.

(가) 실험방법

- 오이잎에 바이오황 500배 희석액을 분무 처리함.
- 비교구로 바이오황을 처리하는 대신 H₂O(무처리)를 처리하든가 시판 농약인 Benomyl[®]를 처리함.
- 오이 잎에 오이탄저병균 (1.0 x 10⁵ 포자/ml)을 분무 접종함.
- 접종 후 1, 3, 5일 후 감염부위를 1 x 3 mm²로 절단하여 2% glutaraldehyde 용액에 2 h 고정시키고 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.2)로 3회 씻어냄.
- 샘플을 0.005 % aniline blue로 10 min 동안 염색한 후 동일한 완충용액으로 씻어냄
- 오이탄저병균 관찰을 위해 0.2 % diethanol로 20 min 동안 염색하고 씻어냄.
- 염색된 식물 조직을 slide glass에 옮긴 후 80 % glycerol을 첨가하여 cover glass로 덮음
- 형광현미경 filter set (exciter filter, BP 400-440; interference beam splitter, FT 460; barrier filter, LP 470)을 이용하여 관찰함.

(나) 실험결과

- 바이오황을 처리한 오이잎에서는 오이탄저병균의 발아율이 무처리한 오이잎과 비교하였을 때 큰 차이를 나타내지 않았음 (그림 2-23, 24).
- 그러나 식물 조직에 침입하기 위해 형성하는 균의 부착기는 바이오황을 처리한 잎에서 현저하게 감소되었음.
- 이를 통해 바이오황에 의해 오이탄저병이 감소되는 원인은 바이오황에 의한 오이탄저병균의 부착기 형성 억제가 매우 중요한 역할을 한다고 판단됨.
- 식물의 저항성 반응의 일환으로 감염 부위에 callose형성을 들 수 있는데 본 실험에서 바이오황을 처리한 오이식물에서는 callose 형성이 증가되지 않았음.
- 바이오황에 의한 오이탄저병 방제 효과를 측정하기 위하여 Benomyl을 처리한 잎에서도 바이오황을 처리한 잎에서와 유사하게 오이탄저병균의 부착기가 거의 형성되지 않았음.

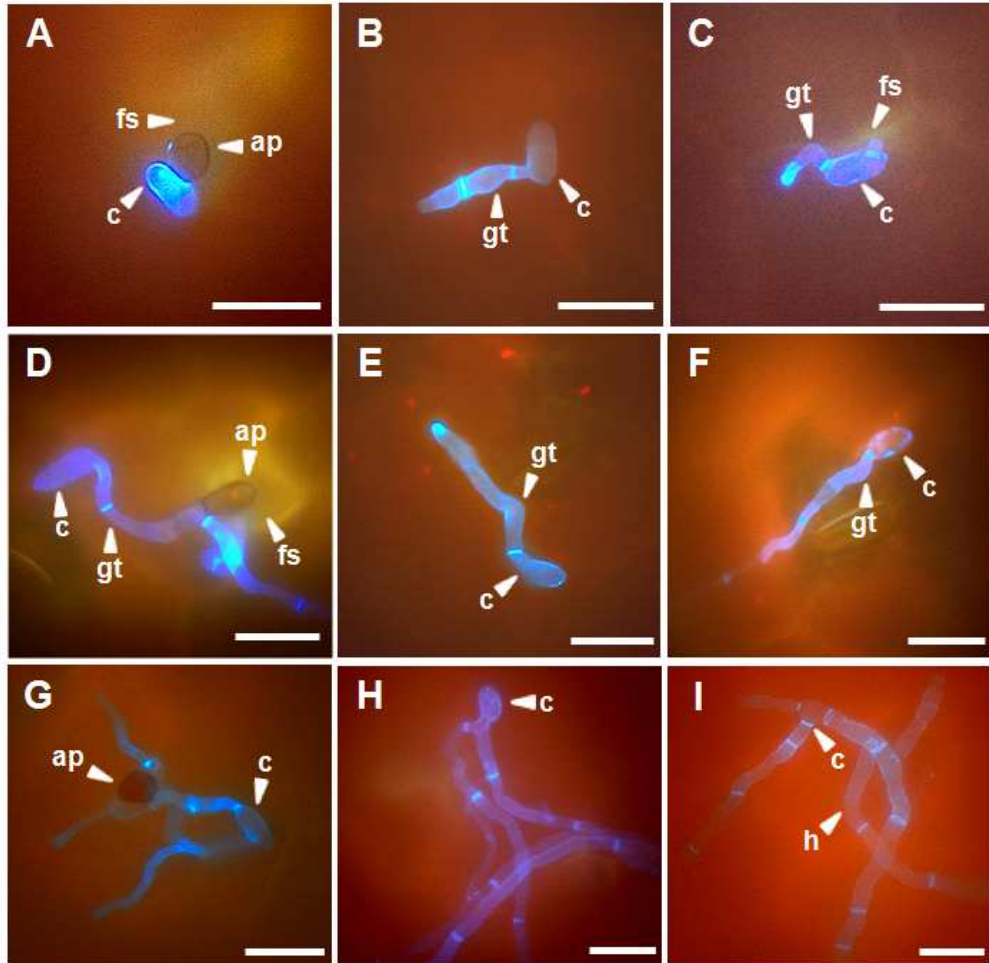


그림 2-23. 무처리구 (1d A, 3d D, 5d G), 바이오황 500배 (1d B, 3d E, 5d H), 살균제 베노밀(1d C, 3d F, 5d I)을 처리한 오이 잎에서의 접종 1일, 3일 그리고 5일 후 오이탄저병균의 감염구조 사진. 병원균 농도는 1×10^5 conidia/ml이며, 살균제 베노밀의 농도는 0.7 g/L임. 막대 크기 = 20 μ m. 약어: ap, 부착기; c, 포자; gt, 발아관; fs, 발광 부위; h, 균사.

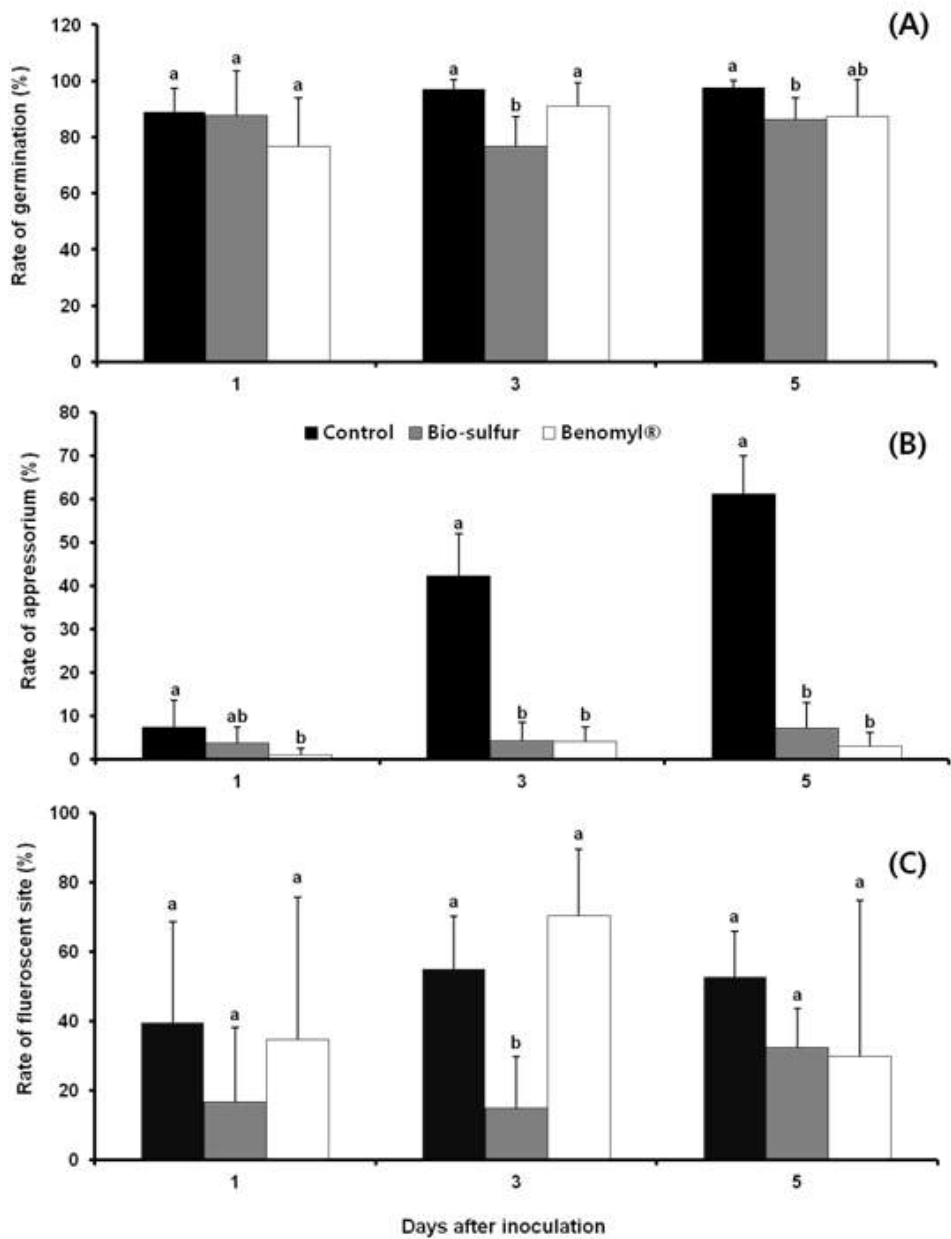


그림 2-24. 무처리구, 바이오황 500배, 살균제 베노밀을 처리한 오이 잎에서의 접종 1일, 3일 그리고 5일 후 오이탄저병균의 발아율 (A), 부착기형성을 (B), 그리고 발광부위 빈도(C). 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml이며, 살균제 베노밀의 농도는 0.7 g/L임.

Different letters on the columns indicate significant differences ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple test.

(2) 감귤 잎에서 바이오황에 의한 감귤 검은점무늬병균 침입 기작

- 바이오황을 처리한 오이 잎 표면에서 감귤 검은점무늬병균 (*Diaporthe citri*)의 침입 기작을 형광현미경을 통해 알아보려고 함.

(가) 실험방법

- 실험 1과 동일한 방법으로 수행하였으며 다만 오이 잎 대신 감귤의 신초에 바이오황을 처리하고 감귤 검은점무늬병균 (1.0×10^5 포자/ml)을 dropping 접종하였음.
- 바이오황의 병 억제 효과를 비교하기 위해 시판 농약인 Dithianon[®]을 바이오황 대신 처리하였고 무처리구에서는 H₂O를 살포하였음.

(나) 실험결과

- 오이 잎에서와 유사하게 바이오황을 처리한 감귤 잎에서는 감귤 검은점무늬병균의 발아율이 무처리한 오이잎과 비교하였을 때 큰 차이를 나타내지 않았음 (Fig. 2-25, 26).

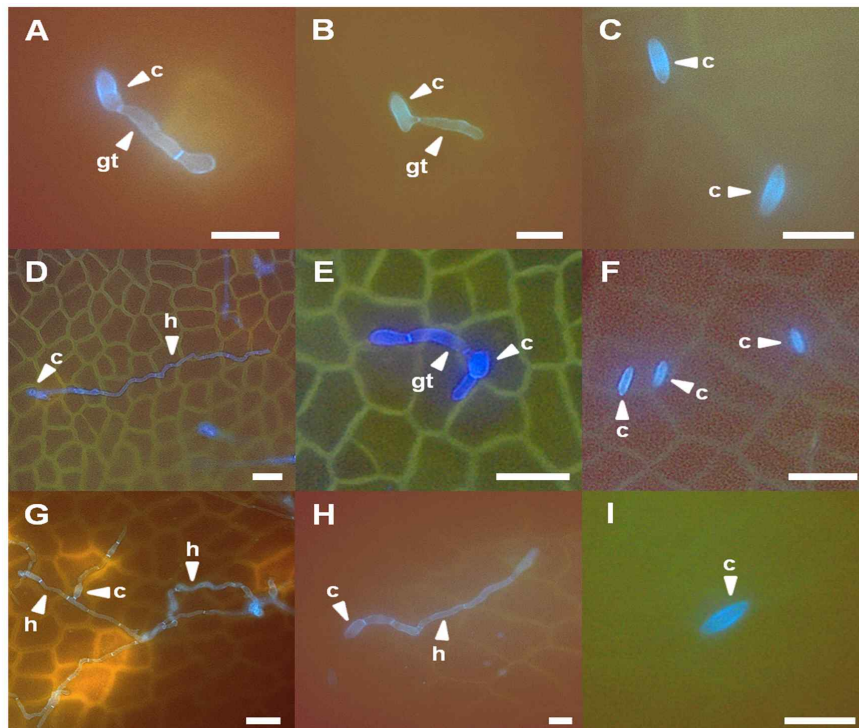


그림 2-25. 무처리구 (1d A, 3d D, 5d G), 바이오황 500배 (1d B, 3d E, 5d H), 살균제 베노밀(1d C, 3d F, 5d I)을 처리한 감귤 잎에서의 감귤검은점무늬병균의 감염구조 사진. 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml이며, 살균제 디치아논의 농도는 0.75 g/L임. 막대크기 = 20 μ m. 약어: c, 포자; h, 균사, gt, 발아관.

- 바이오황을 처리한 감귤 잎 표면에서 감귤 검은점무늬병균의 생장이 무처리한 잎에 비해 뚜렷하게 감소되었음 (그림 2-25, 26).
- Dithianon[®]을 처리한 잎에서는 감귤 검은점무늬병균의 발아율이 현저하게 감소하였으며 균사 생장은 거의 일어나지 않았음 (그림 2-25, 26).

- 따라서 부착기를 형성하지 않는 감귤검은점무늬병균은 바이오황을 처리한 감귤 잎에서 균사 생장이 억제되어 병 발생이 감소되는 것으로 판단됨.
- 시판중인 농약 Dithianon®은 감귤검은점무늬병균의 발아를 억제할 뿐 아니라 균사 성장도 억제함으로써 병 억제 효과가 높은 것으로 판단됨.

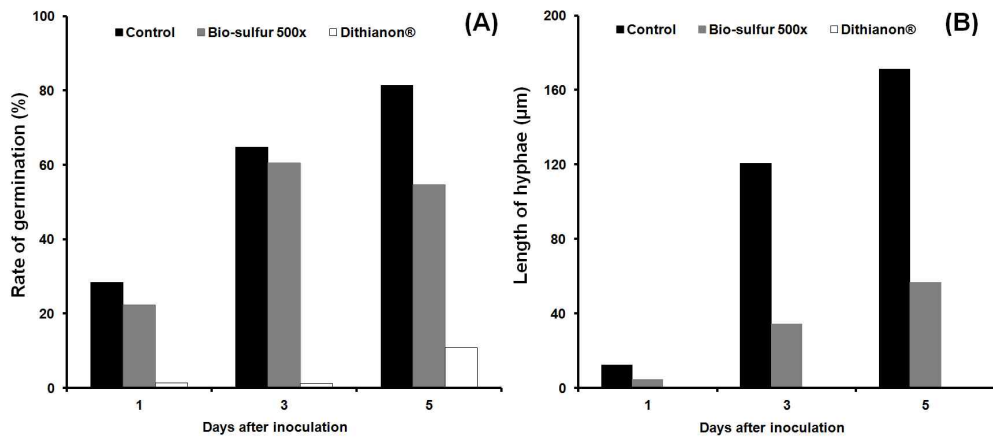


그림 2-26. 무처리, 바이오황 500배, 살균제 디치아논을 처리한 감귤 잎에서 감귤검은점무늬병균 접종 1일, 3일 그리고 5일 후 감귤검은점무늬병균의 발아율 (A)과 균사길이 (B). 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml이며, 살균제 디치아논의 농도는 0.75 g/L임.

마. 주사전자현미경을 이용한 바이오황에 의한 작물병 억제기작 규명

(1) 바이오황을 처리한 오이 잎에서 오이 탄저병균의 감염 구조

- 주사전자현미경을 통하여 바이오황을 처리한 오이 잎 표면에서 오이탄저병균 (*Colletotrichum orbiculare*)의 침입 기작을 관찰함으로써 바이오황에 의한 오이탄저병균의 형태적 변화를 알아보하고자 함.

(가) 실험방법

- 오이 잎에 바이오황 500배 희석액을 분무 처리함.
- 비교구로 바이오황을 처리하는 대신 H_2O (무처리)를 처리하거나 시판 농약인 Benomyl®를 처리함.
- 오이 잎에 오이탄저병균 (1.0×10^5 포자/ml)을 분무 접종함.
- 접종 후 12, 24 h 후 감염부위를 $0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ 로 절단하여 2% glutaraldehyde 용액에 2 h 고정시키고 0.1 M sodium cacodylic acid buffer (pH 7.2)로 3회 씻어냄.
- 샘플을 1 % osmium tetroxide로 2 h 동안 재고정한 후 동일한 완충용액으로 씻어냄.
- Alcohol series를 통하여 식물 조직을 탈수시킨 후 ethanol로 치환시킴.
- 식물 조직을 critical point dryer를 건조시킴.
- 건조된 식물 조직을 platinum coater를 이용하여 표면처리함.
- 주사전자현미경을 이용하여 식물조직의 오이탄저병균을 관찰함.

(나) 실험결과

- 무처리한 오이 잎에서 오이탄저병균의 균사는 대부분 발아하였고 부착기가 관찰되었으며 24h 후에는 균사 생장이 왕성하게 일어나 부분을 자주 관찰되었음 (Fig. 2-27A, D).

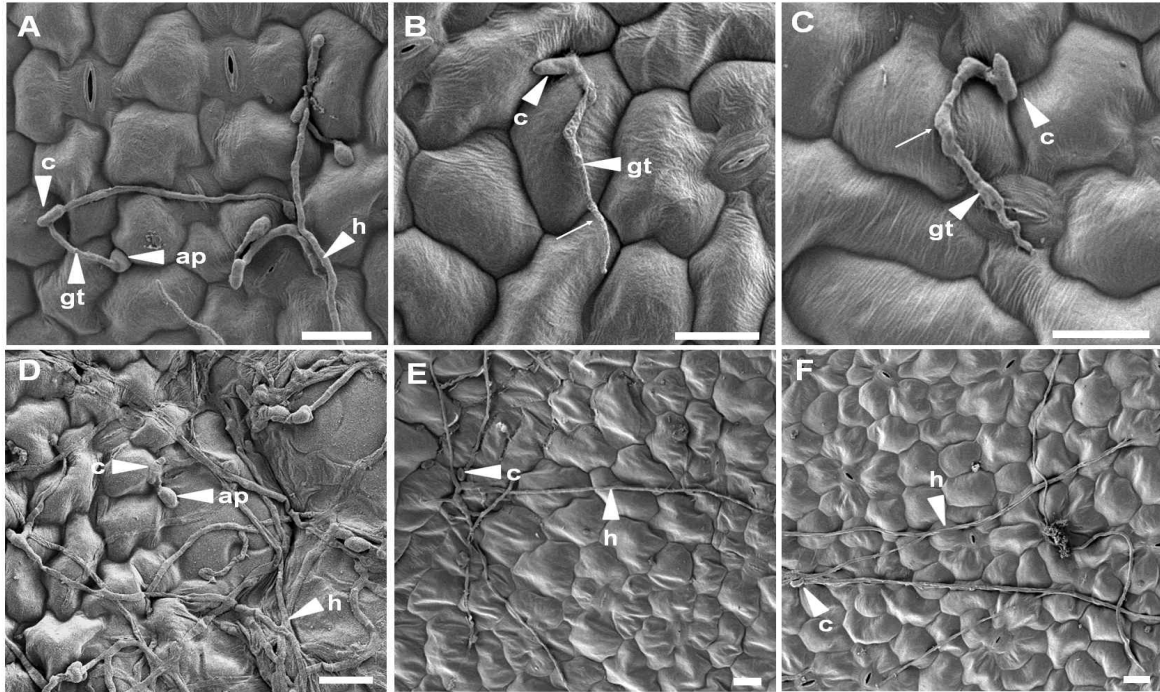


그림 2-27. 무처리구 (12h A, 24h D), 바이오황 500배 (12h B, 24h E), 살균제 베노밀(12h C, 24h F)을 처리한 오이 잎에서 오이탄저병균 접종 12시간과 24시간 후 전자현미경 사진. 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임. 막대크기 = 20 μ m. 약어: ap, 부착기; c, 포자; gt, 발아관; h, 균사.

- 바이오황을 처리한 오이 잎에서 오이탄저병균의 균사는 형태적 변형이 관찰되었고 종종 균사가 식물 표면과 격리되는 현상이 관찰되며 부착기는 거의 별견되지 않았음(그림 2-27B). 또한 접종 24h 후에 균사 생장이 무처리구에 비해 현저하게 감소되었음 (그림 2-27E).
- 따라서 식물체 표면에서 오이탄저병균이 바이오황에 의해 직접적으로 균사 생장에 영향을 미치는 것으로 보이며 식물과의 상호 관계도 이루어지지 않는 것으로 보임.
- 오이탄저병균의 형태적 변화는 시판되는 Benomyl[®]을 처리한 잎에서 보다 현저하게 나타났으며 부착기도 관찰되지 않았음 (그림 2-27C). 이를 통해 바이오황은 농약과 유사한 작용에 의해 오이탄저병을 억제하는 것으로 판단됨.

(2) 바이오황을 처리한 감귤 잎에서 감귤 검은점무늬병균의 감염 구조

- 주사전자현미경을 통하여 바이오황을 처리한 감귤잎 표면에서 감귤 검은점무늬병균 (*Diaporthe citri*)의 침입 기작을 관찰함으로써 바이오황에 의한 감귤검은점무늬병균의 형태적 변화를 알아보려고 함.

(가) 실험방법

- 실험 1과 동일한 방법으로 수행하였으며 다만 오이 잎 대신 감귤의 신초에 바이오황을 처리하고 감귤 검은점무늬병균 (1.0×10^5 포자/ml)을 dropping 접종하였음.
- 바이오황의 병 억제 효과를 비교하기 위해 시판 농약인 Dithianon[®]을 바이오황 대신 처리하였고 무처리구에서는 H₂O를 살포하였음.

(나) 실험결과

- 무처리한 감귤잎에서 많은 감귤검은점무늬병균이 발아하였고 대부분 균사의 형태적 변화가 일어나지 않았음 (그림 2-28A).

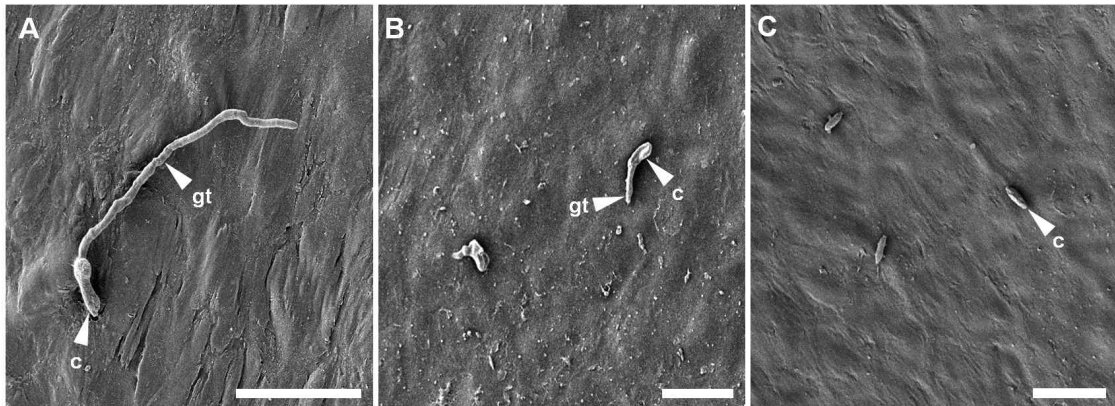


그림 2-28. 무처리구 (A), 바이오황 500배 (B) 살균제 디치아논(C)을 처리한 감귤 잎에서 감귤검은점무늬병균 접종 3일 후 전자현미경 사진. 병원균의 농도는 1×10^5 conidia/ml임. 막대크기 = $20 \mu\text{m}$. 약어: c, 포자; gt, 발아관.

- 바이오황을 처리한 감귤 잎에서 감귤검은점무늬병균은 발아율이 현저하게 감소하였고 포자의 형태적 변화가 관찰되었음 (그림 2-28B).
- 농약을 처리한 감귤 잎에서는 감귤검은점무늬병균 포자가 매우 드물게 발견되었고 발아된 포자는 찾아보기 어려웠음 (그림 2-28C).
- 따라서 바이오황에 의한 감귤검은점무늬병 억제 원인은 바이오황의 직접적 항균활성에 의한 발아율 감소와 균사 성장 억제인 것으로 판단됨.



3. 협동과제: 바이오황을 이용한 비료 혼합제품 공정 개발

가. 바이오황을 이용한 비료 혼합제품 공정 개발 (바이오황-비료 혼합 생산 시설 요인 조사)



(1) 현탁액 상태의 분말화 테스트

(가) 바이오황 분말화를 위한 건조기 검토

① U社 건조기의 사용처 및 특징

U社 건조기 (A)		U社 건조기 (B)
주요 사용처	<ul style="list-style-type: none"> - 식품: 분말조미식품류 - 바이오제품: 한반제품, 효소 - 의약품: 타정용제품 - 화학제품: 2차전지 전구체 	<ul style="list-style-type: none"> - 농, 수, 축산물 건조 - 가공식품 건조 - 바이오 및 건강기능성 식품건조 - 화학제품 및 기타제품 건조
특징	<ul style="list-style-type: none"> - 액상(슬러리)제품의 건조 및 분말화 ONE-STOP 공정 - 열손상 최소화로 고품질화 가능 - 처리시간 단축 및 에너지 효율 극대화 - 전 공정 자동화 	<ul style="list-style-type: none"> - 저온건조 - 천연색상 보존 - 영양소 보존 - 천연향기, 활성성분 보존 - 미생물살균효과
		

② D社 건조기의 사용처 및 특징

D社 건조기 (A)		D社 건조기 (B)
주요 사용처	<ul style="list-style-type: none"> - 세라믹 - 식품 - 화학제품 	<ul style="list-style-type: none"> - 슬러리 및 탈수케이크 등의 부착성이 강한 원료
특징	<ul style="list-style-type: none"> - 고온에서 건조시켜 구형 분말을 얻을 수 있음 - 실험용 및 생산용에 적합한 제품 	<ul style="list-style-type: none"> - 고온·순간 건조 과정을 통해 고품질의 미세 분말을 얻을 수 있는 건조장치 - 연구·개발 및 대량생산에 적합한 제품
		

(나) 바이오황 건조 테스트

① 바이오황의 분말화를 위한 마이크로웨이브 및 열풍건조 테스트

- 바이오황 100 mL를 용기에 넣고 건조 진행, 가장자리는 과다 건조로 검게 되나, 중앙부위는 적절하게 건조 됨 (온도 150도 10분 건조).
- 바이오황 200ml를 렌지용 용기에 넣고 온도 150도 이상, 28분 건조 시 우측 사진과 같이 과다 건조로 검게 타면서 일부는 용해 됨 (온도 150도 이상, 28분 건조).



마이크로웨이브



열풍건조기



바이오황 분말화

그림 3-1. 바이오황을 분말화를 위한 마이크로웨이브 및 열풍건조 건조 테스트 사진.

② 분무 건조 테스트

- 분무 건조 실험장치를 이용하여 바이오황 분무건조를 진행함.
- 분말화된 바이오황을 얻을 수 있음.



그림 3-2. 바이오황 분무 건조 테스트 사진.

③ 기류 건조 테스트

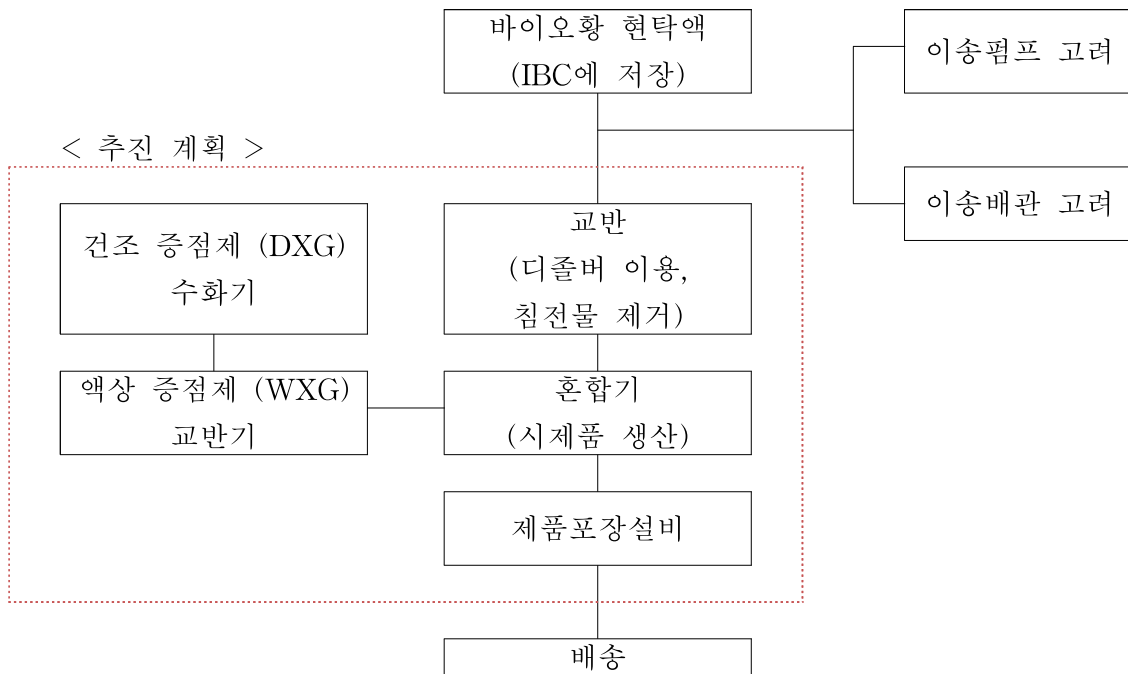
- 기류 실험 장치로 바이오황 분말화를 시도하였으나 원활하지 않음.
- 실험 조건의 개선 필요.



그림 3-3. 기류 건조 테스트 사진.

(2) 바이오황-비료 혼합 제품의 5~10톤/일 생산 요인 조사

(가) 바이오황 시제품 생산 시스템 Flow Diagram



(나) 바이오황 현탁액(원료물질)의 층 분리 현상

- IBC tank에 장기간 저장 시, 층 분리가 일어나 이송에 매우 불편함.
- 층 분리가 일어난 바이오황은 교반을 통해 쉽게 분산시킬 수 있음.
- 분산성이 유지되는 저장 기간을 고려할 필요가 있음.

(다) 이송펌프 배관 고려

- 바이오황의 함수율은 보통 40~50%, 점도는 약 18cps임.
- 일반적인 펌프는 이송 시 어려움이 있어, 이송 test를 통해 선정하였으며, G사 진공펌프로 선정.
- 바이오황은 폴리설파이드(Polysulfide) 함량이 일부 포함되어 배관 부식에 영향을 줌.
- 기존 황 생산설비와 동일한 Sulfanert 재질로 코팅된 배관을 적용할 계획임.

나. 현탁액 또는 분말 상태의 바이오황을 비료와 혼합했을 때의 분산효과를 높이는 기술 개발 (바이오황의 제품화 요인 조사)

(1) 밴드 회원에게 시제품 제공 및 사용 사례 수집

(가) 바이오황의 농가 배송 현황

- 2015년도 4월부터 농가를 대상으로 보급을 시작하여 현재까지 계속 무상 공급으로 사용 사례를 수집 함.
- 2016년 월평균 약 1,700건, 2017년도는 방제 시기를 중점으로 비슷한 수준으로 보급됨.
- 2017년도 바이오황 신청 농가수는 총 4672곳, 월평균 420여 곳이었음.

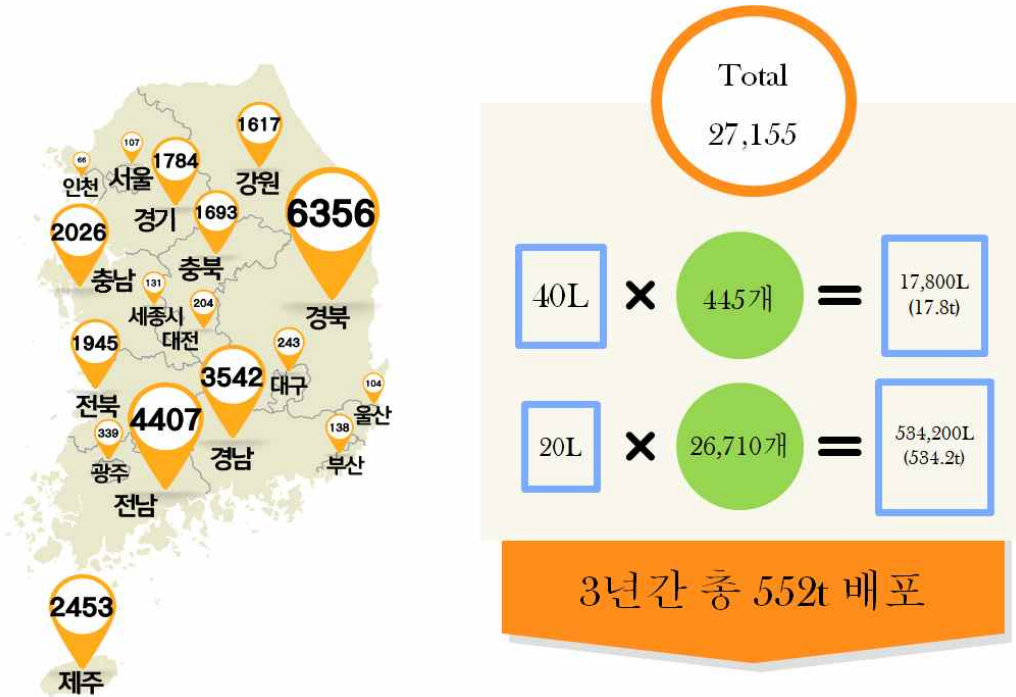
표 3-1. 연/월별 바이오황 농가 배송량 (단위: 10L/통).

월 년	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	합 계
2015	-	-	-	370	536	422	878	842	814	750	868	1,680	7,160
2016	962	1,252	2,802	2,114	1,694	1,576	1,878	1,792	1,340	1,440	1,436	1,712	19,998
2017	1,558	2,014	4,951	1,943	1,684	1,404	1,076	1,058	312	220	236	-	16,444
합 계	2,520	3,266	7,753	4,427	3,914	3,402	3,832	3,692	2,454	2,410	2,540	3,392	43,602

표 3-2. 2017년도 바이오황 신청 농가수

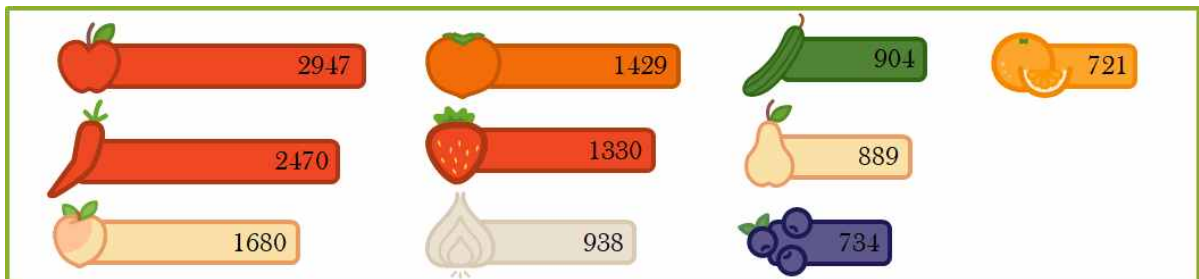
1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월	합 계
332	342	986	565	501	480	334	371	310	218	233	-	4,672

- 2015년부터 2018년까지 전국의 바이오황 신청농가에 바이오황 445개 (40 L), 26,710개 (20 L)를 배포하였으며 총552t에 해당하는 양임.



○ 바이오황 적용 작물 현황

- 실증 사례 수집을 위해 2015년부터 2018년까지 농가에 무상 배포한 바이오황은 다양한 종류의 작물에 적용되었으며 주로 사과, 고추, 복숭아, 감 등에 많이 적용되었음.



11	토마토	696	31	대파	209	51	천혜할	65	71	블랙커런트	27
12	오미자	676	32	상추	190	52	채소	63	72	미나리	26
13	포도	599	33	한라봉	173	53	생강	61	73	비트	26
14	마늘	579	34	들깨	168	54	체리	57	74	교육용	25
15	애호박	543	35	고사리	165	55	수도작	53	75	버섯	25
16	미상	513	36	꽃	164	56	나무	48	76	갓	24
17	수박	450	37	무	159	57	밤	43	77	파세리	24
18	벼	430	38	갯잎	145	58	시금치	36	78	석류	23
19	과수	395	39	콩	137	59	피망	36	79	구피봉	20
20	감자	367	40	파프리카	134	60	산양삼	34	80	백합과	19
21	인삼	358	41	더덕	132	61	메밀	33	81	곰취	18
22	아로니아	353	42	유자	130	62	백하수오	32	82	다육	18
23	키위	328	43	호두	119	63	엽채류	32	83	녹차	16
24	매실	290	44	실뿔	116	64	구피봉	31	84	아스파라거스	15
25	참외	281	45	당근	95	65	나물	31	85	황금향	15
26	배추	255	46	부추	94	66	하우스	31	86	모듬	14
27	대추	253	47	도라지	83	67	당귀	28	87	밭	14
28	자두	251	48	오디	80	68	옥수수	28	88	천궁	14
29	가지	237	49	무화과	68	69	레드향	27	89	구기자	13
30	멜론	218	50	브로콜리	68	70	복분자	27	90	잔디	13

(나) 바이오황의 사용 후기 사례 ('흙과 비료와 벌레 이야기' 밴드의 후기 사례)

○ 밴드 정리자료: 2015~2018년 (사용 후기 장점, 단점 및 희석비율 등 총 1062건)




흙과 비료와 벌레이야기 Band 화면

바이오황 사례 수집 및 정리


○ 흰가루병 방제 효과

Band 흙과 비료와 벌레이야기 게시물	내용
	<p>○ 송원휘/양구/메론,수박,단호박/하우스</p> <p>○ 바이오황 사용후기</p> <p>메론, 수박, 단호박을 재배하면서 흰가루병으로 매년 엄청난 약제비용과 시간이 소요됩니다. 매년 모든 종류의 흰가루 방제 약제를 교차 살포해도 마땅한 치료효과를 보지 못해 고민하다 올해 처음으로 황토유황(농도25%)1000배 희석액을 흰가루병이 발생한 어린 메론에 엽면살포하였다가 심각한 약해 만 입고 치료 효과를 보지 못해 사용중지하고 바이오황을 1500배 희석비율로 시작하여 1000배 까지 농도를 높여 사용해 본 결과 치료효과는 아주 뛰어났습니다. 물론 약해는 입지 않았으나 이는 방제시점이 착과 이후라 어린 시기에 살포시 어떤 결과가 나타날지 알수는 없습니다.</p> <p>내년에 시기별 농도별 약해 테스트 진행예정임. 여하튼 착과 이후에 메론 흰가루 치료에 바이오황이 뛰어난 효과가 있음을 확인하였고 다만 예방효과(약효지속 효과)가 5일정도? 이후 다시 재발함. 시판되는 흰가루 전문약제와 바이오황을 교차 사용하여 치료와 예방효과를 보았습니다.</p>

○ 탄저병(고추) 방제 효과

Band 효과 비료와 별레이야기 게시글	내 용
<p>김동일/영암/수 도작 2015년 8월 18일 오전 12:49 - 476 읽음</p> <p>바이오 황 후기입니다. 세균성 점무늬병, 잎에 탄저가 온 노지 고추 500평에 탄저, 살충, 바이오 황 1,500배 희석하여 일주일 간격으로 2회 살포하였습니다. 거짓말 처럼 병이 확산되지 않고, 잎에서 병은 맞았습니다. 어머니께선 바이오 황 때문에 흰 얼룩이 생겨 고추를 세척해야 한다고 하지만 병해가 확산되지 않고 멈추는 귀한 경험을 했습니다.</p>  <p>14 4</p>	<p>○ 김동일/영암/수 도작 ○ 바이오황 사용후기 바이오 황 후기입니다. 세균성 점무늬병, 잎에 탄저가 온 노지 고추 500평에 탄저, 살충, 바이오 황 1,500배 희석하여 일주일 간격으로 2회 살포하였습니다. 거짓말처럼 병이 확산되지 않고, 잎에서 병은 맞았습니다. 어머니께선 바이오 황 때문에 흰 얼룩이 생겨 고추를 세척해야 한다고 하지만 병해가 확산되지 않고 멈추는 귀한 경험을 했습니다.</p>

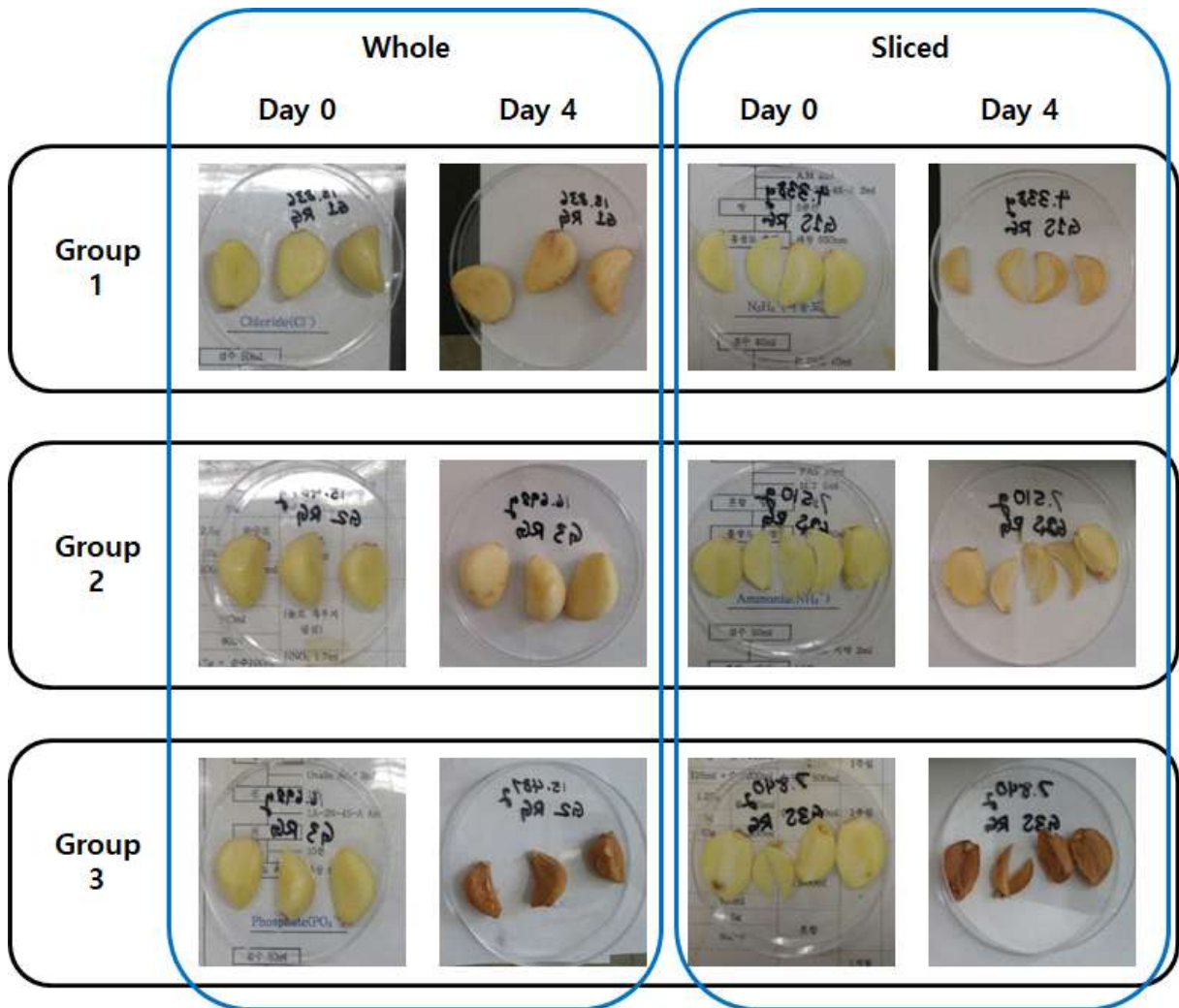
○ 토양 살균 효과

Band 효과 비료와 별레이야기 게시글	내 용
<p>이정일 /광양옥룡면/생강.매실 2017년 8월 22일 오전 11:34 - 836 읽음</p> <p>생강밭에 바이오황 사용후기 항상 생강뿌리병과 진딧물 이름모를 해충들로 인하여 작물보호제로 예방을 해 왔는데 우연히 지인에게서 바이오황을 써 보라는 권유에 믿고 써본 결과입니다</p>  <p>1 10</p>	<p>○ 이정일/광양옥룡면/생강.매실 ○ 바이오황 사용후기 생강밭에 바이오황 사용후기 항상 생강뿌리병과 진딧물 이름모를 해충들로 인하여 작물보호제로 예방을 해 왔는데 우연히 지인에게서 바이오황을 써 보라는 권유에 믿고 써본 결과입니다. 뿌리썩음병 예방과 함께 2000배를 희석하여 살포 하였습니다. 이사진은 7월2일 생강모습입니다. 8월20일 현재 잘 자라고 있습니다. 광양쪽에는 지금은 비가오지만 7월에는 비가 오지 않아 생강이 잎이 타는 현상까지 왔는데 잘 견디고 뿌리썩음병도 오지 않고 이 비가 안오면 한번 더 바이오황을 살포하여 뿌리썩음병과 나방 예방으로 살포합니다.</p>

(2) 작물에 대한 바이오황의 효과 TEST

(가) 바이오황이 마늘 생육에 미치는 효과분석

- 농가로부터 바이오황을 사용하여 재배된 마늘 샘플을 수집하여 항산화능 관찰 실험을 실시
- 시험구로 Group1(바이오황 처리 마늘), 대조구로 Group2(바이오황 미처리 마늘), Group3(일반 마늘).
- 시험구와 대조구 마늘을 전체 및 절편하여 각각 3쪽, 1쪽(슬라이스)으로 치상하고 4일 동안 관찰.
- 육안 관찰 결과 바이오황을 처리한 Group1의 색의 변화가 가장 적었으며, Group3에서 가장 많이 변색된 것으로 관찰됨. 따라서 바이오황을 처리한 마늘이 상대적으로 항산화능이 높은 것으로 판단되나 정밀 실험분석을 통한 수치화가 필요함.



(나) 바이오황이 콩나물 생육에 미치는 영향 분석

- 바이오황을 사용하여 작물을 키우면 맛과 색깔 등의 품질이 좋다는 농민들의 사용 후기를 통해, 질소를 고정하는 콩과식물을 이용하여 바이오황이 주는 영향을 분석함.
- 육안 분석 결과 바이오황으로 키운 콩나물이 일반 콩나물보다 길이와 굵기에서 품질이 더 좋은 것으로 나타남.



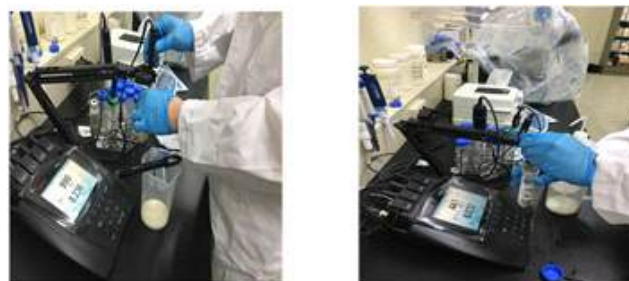
(3) 안정성 제고를 위해 물리적 분산 및 화학적 분산이 미치는 요인 조사

(가) 바이오황(원료물질) 품질관리

- 황 함량 분석



- Na 이온 /pH측정



○ 바이오황 입자-입자 분배율 분석



(나) 침전 방지 증점제 첨가 테스트

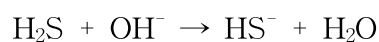
- 바이오황 현탁액에 증점제를 비율별로 첨가하여 약 5분간 고르게 혼합후, 100mL 실린더에 정치하여 일자별로 침전상태를 관찰.
- 바이오황의 침전 방지를 위해서는 소량의 증점제가 필요함을 확인.

처리	투입율(%)			결과
	바이오황	증점제	계면활성제	
1	100.00	0	0	충분리
2	99.90	0.10	0	미세한 충분리 관찰
3	99.85	0.15	0	미세한 충분리 관찰
4	99.80	0.20	0	충분리 없음
5	99.75	0.25	0	충분리 없음
6	99.50	0.2	0.3	충분리 없음
제조 직후			2일 경과	
				

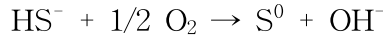
다. 5~10톤/일 생산용량 시설 구축

(1) 생산 시스템

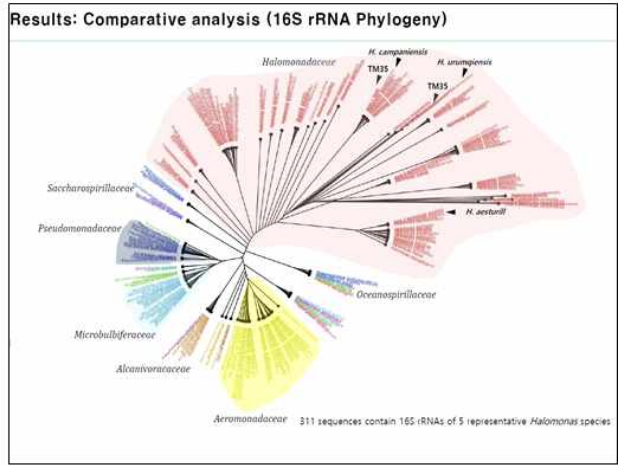
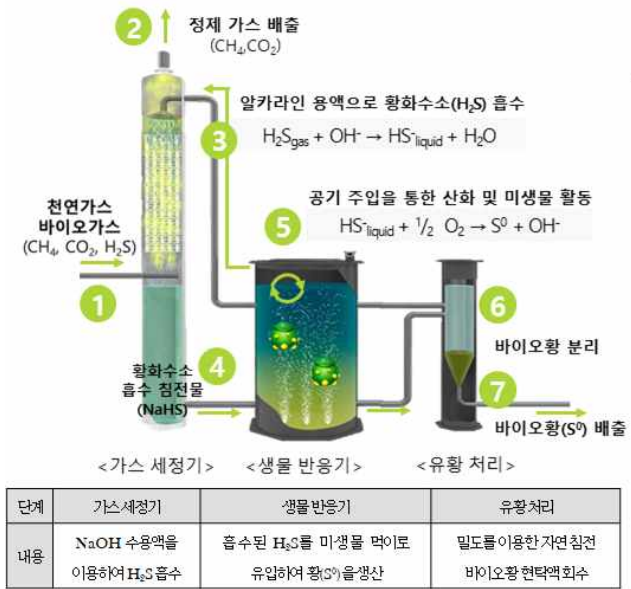
- 가스 세정기(습식세정설비): 황화수소를 가성소다에 흡수시킨 후 황화합물로 전환시킴



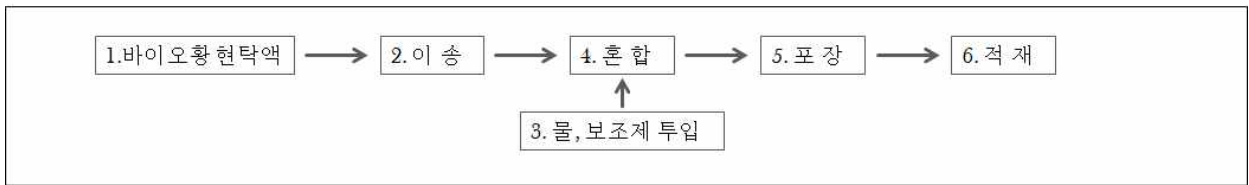
- 생물반응기: 황화합물은 약 호기성 황산화 미생물에 의해 황으로 산화되면서 수산화기를 생성하고 스크러버로 주입되면서 황화수소와 반응.



- 황분리: 고체황은 물리적 침전방에 의해 고농도로 농축됨. 고농도 농축된 황용액을 원심탈수기를 이용하여 황케익과 공정수로 분리시킴.
- 최종 발생하는 바이오황 현탁액에 물과 보조제를 첨가하여 안정화시킴.

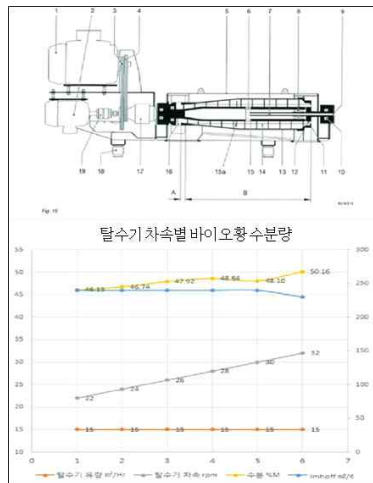


<생물반응기미생물 군집분석>



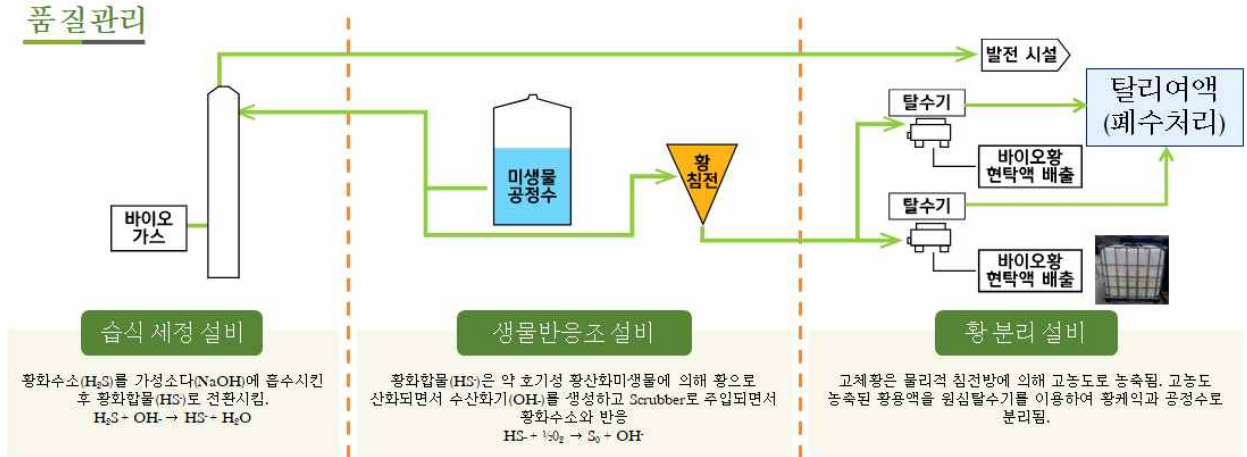
- 탈수 공정에 유입되는 바이오황 함유액의 Imhoff 값 및 탈수기의 차속값을 조절하여 바이오황 함유율을 평균적으로 45~55% 범위로 조절함으로써, 전체 공정의 운전비 절감 및 탈황설비의 안정적인 운영이 가능하도록 하는 기술 확보.

[확보기술: 바이오황현탁액 함유율 조절을 위한 탈수 공정 (2017년 12월 등록)]



(2) QC시스템-바이오황 생산품질 관리


- 농업기술실용화재단에서 연간 2회 바이오황의 함량분석.
- 에코바이오 QC팀 및 연구소에서는 상시 바이오황 함량을 분석하여 품질관리를 실시.



(3) 바이오황 제품 품질 인증

- 바이오황 50% 유기농업자재 인증서: 단일 품목 (인증번호: 1-6-002) 및 보조제 포함 품 (인증번호: 1-6-014) 2건

국가로부터 효과에 대한 품질인증 확인!



공시번호 1-6-014
인증번호 1-6-002

Environment-Friendly Agricultural & Organic Inputs Product	National Notice
<p>Notice Number: National 18-24</p> <p>Company Name: EcoBio 14</p> <p>Company Address: 3-5</p> <p>Factory Location: An</p> <p>Organic Input Type: An</p> <p>Brand name:</p> <p>Applied Crop: No</p> <p>Applied Pst: Ch</p> <p>Expiration Date:</p> <p>In accordance with Article PROMOTION ACT, I hereby Notice List of Environment-Friendly</p> <p>Date:</p> <p>Foundation of Agr</p>	<p>공시번호 : 제 공시-1-6-014호</p> <p style="text-align: center;">유기농업자재 공시서</p> <p>1. 업체명 : 에코바이오홀딩스(주) 2. 대표자 성명 : 송효순</p> <p>3. 주소(사업장) : 서울특별시 서초구 서운로 26길 5</p> <p>4. 자재의 명칭 : 황</p> <p>5. 자재의 구분 : 병해충관리용</p> <p>6. 상표명 : 에코바이오황</p> <p>7. 주성분(원료)의 종류 및 함량(%) - 주성분 : 황 - 원료의 종류 및 함량 : 황 50, 보조제 50</p> <p>8. 유효기간 : 2018.10.10.~2021.10.09.</p> <p>9. 제조장 주소 : 인천광역시 서구 백석동 58(수도권 매립지내)</p> <p>10. 최초 공고일 : 2015.10.10.</p> <p>11. 최초 공시기관 : 농업기술실용화재단</p> <p>「친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제38조 제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제49조제2항에 따라 위와 같이 유기농업자재 공시임을 증명합니다.</p> <p style="text-align: right;">2018년 08월 23일</p> <p style="text-align: center;">농업기술실용화재단 이사장</p>

Environment-Friendly Agricultural & Organic Inputs Product	Quality Certification
<p>Notice Number: Quality 18-24</p> <p>Company Name: EcoBio 14</p> <p>Company Address: 3-5</p> <p>Factory Location: An</p> <p>Organic Input Type: An</p> <p>Brand name:</p> <p>Applied Crop: No</p> <p>Applied Pst: Ch</p> <p>Expiration Date:</p> <p>In accordance with Article PROMOTION ACT, I hereby Notice List of Environment-Friendly</p> <p>Date:</p> <p>Foundation of Agr</p>	<p>품질인증번호 : 제 품질인증-1-6-002호</p> <p style="text-align: center;">유기농업자재 품질인증서</p> <p>1. 업체명 : 에코바이오홀딩스(주) 2. 대표자 성명 : 송효순</p> <p>3. 주소(사업장) : 서울특별시 서초구 서초동 1302-7 토말에코빌딩</p> <p>4. 자재의 명칭 : 황</p> <p>5. 자재의 구분 : 병해충관리용</p> <p>6. 상표명 : 에코바이오황</p> <p>7. 주성분(원료)의 종류 및 함량(%) - 주성분 : 황 50 - 원료의 종류 및 함량 : 황 50, 보조제 50</p> <p>8. 유효기간 : 2016.06.30.~2019.06.29.</p> <p>9. 제조장 주소 : 인천광역시 서구 백석동 58(수도권 매립지 내)</p> <p>10. 최초 공고일 : 2016.06.30.</p> <p>11. 최초 공시기관 : 농업기술실용화재단</p> <p>「친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제38조 제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제49조제2항에 따라 위와 같이 유기농업자재 품질인증을 증명합니다.</p> <p style="text-align: right;">2016년 06월 30일 제발급 : 2018.08.21.</p> <p style="text-align: center;">농업기술실용화재단 이사장</p>

○ 바이오황 25% 유기농업자재 인증서 (공시번호: 1-6-030)

국가로부터 효과에 대한 품질인증 확인!



에코바이오황 공시번호 1-6-030

공시번호 : 제 공시-1-6-030호

유기농업자재 공시서

1. 업체명 : 에코바이오홀딩스(주) 2. 대표자 성명 : 송효순
3. 주소(사업장) : 서울특별시 서초구 서문로 26길 5
4. 자재의 명칭 : 황
5. 자재의 구분 : 병해충관리용
6. 상표명 : 바이오황25
7. 주성분(원료)의 종류 및 함량(%)
 - 주성분 : 황
 - 원료의 종류 및 함량 : 황 25, 보조제 75
8. 유효기간 : 2018.08.23.~2021.08.22.
9. 제조장주소 : 인천광역시 서구 백석동 58(수도권 매립지내)
10. 최초 공고일 : 2018.08.23.
11. 최초 공시기간 : 농업기술실용화재단

「친환경농업 육성 및 유기산물 등의 관리·지침에 관한 법률」 제38조 제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농업 육성 및 유기산물 등의 관리·지침에 관한 법률 시행규칙」 제49조의2제2항에 따라 위와 같이 유기농업자재 공시일을 증명합니다.

2018년 8월 23일

농업기술실용화재단 이사장



유기농업자재 공시현황 (총 3건 더보기)

공시번호	상표명 (자재명)	자재종류	공시기간	공시사업자	공시유효기간
공시-1-6-014	에코바이오황 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2021.10.09.
공시-1-6-030	바이오황25 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2021.08.22.
품질인증-1-6-002	에코바이오황 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2019.06.29.

○ 바이오황 유해성 중금속 검사

TEST REPORT

우 22829 인천광역시 서구 가재동로 69 (가재동) TEL. 02(25)789-700 FAX. 02(25)75-5613

생체시번호 : TAS-030402 함 수 : 일 자 : 2016년 10월 25일
 당 표 자 : 송효순 시찰완료일자 : 2016년 10월 25일
 업 체 명 : 에코바이오홀딩스(주)
 주 소 : 서울특별시 서초구 서문로26길 5(서초동, 동명역3거리내)

시 료 명 : 에코바이오 황

시험결과

시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
Na	mg/kg	-	22500	EPA 3050B, 6010D
Pb	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cu	mg/L	-	0.014	폐기물공정시험기준 : 2015
As	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Hg	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cd	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cr(VI)	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cd	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015

* 용 도 : 품질관리용

비고 : 1. 이 성적서는 위탁자가 제시한 시료 및 사용량으로 시험한 결과이며, 판매 제품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.
 2. 이 성적서는 한국농업시험연구원(KTR or KRI) 또는 GRI 공인 결과입니다.
 3. 이 성적서는 원본용인 포인팅을 필요하며, 사본 및 전자/무선/복합된 등본은 효력이 없습니다.

COPY 복사본

Hwang Jinyoung 장영자 : 품질경영
 김은희 : 품질경영
 김은희 : 품질경영
 김은희 : 품질경영

2016년 10월 25일

KTR 한국화학융합시험연구원

Page 1 of 1

중금속 불검출

시 료 명 : 에코바이오 황

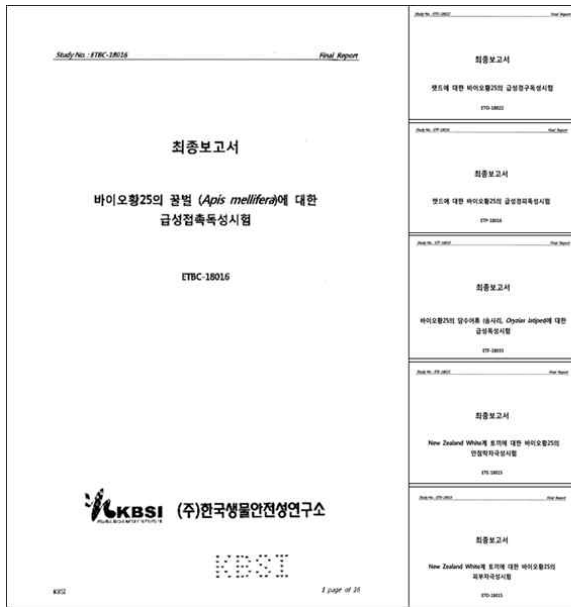
시험결과

시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
Na	mg/kg	-	22 500	EPA 3050B, 6010D
Pb	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cu	mg/L	-	0.014	폐기물공정시험기준 : 2015
As	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Hg	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cd	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015
Cd	mg/L	-	불검출	폐기물공정시험기준 : 2015

* 용 도 : 품질관리용

[2016.10.10] * 분석 : KTR (한국화학융합시험연구원)

○ 바이오황의 급성 독성 및 자극성 시험



- ▶ 꿀벌에 대한 급성접촉독성시험: 접촉독성 없음
- ▶ 랫드에 대한 급성경구독성시험: 경구독성 없음
- ▶ 랫드에 대한 급성경피독성시험: 피부독성 없음
- ▶ 담수어류에 대한 급성독성시험: 급성독성 없음
- ▶ 토끼에 대한 안점막자극성시험: 안점막자극 없음
- ▶ 토끼에 대한 피부자극성시험: 피부자극 없음

라. 시제품 생산

(1) 시제품

- 병해충관리 및 토양 병해를 예방/관리할 수 있는 친수성 황을 포함하는 25%, 40%, 50% 바이오황을 다양한 용량으로 시제품 제작.
- 각 농가의 상황 및 용도에 맞게 비료 및 살충제 등과 혼합하여 살포하여도 바이오황의 효능 및 성능은 유지됨을 확인함.
- 바이오황 25%(원료함량:w/v%)를 기준으로 1~4 μ m의 입자크기, 8.5pH(약알칼리성)의 성질을 가진 유기농산물생산을 위한 유기농업자재로 등록.



제품 특징

원료함량 (w/v%)	바이오황 25%, 40%, 50%
입자크기 (μ m)	1~4
pH 농도	8.5 (약 알칼리성)
밀도 (g/cm ³)	1.35
자재 구분	병해충관리용 (유기농업자재)

(2) 사용 매뉴얼 및 인증 효과

(가) 적용 작물

- 과수류: 사과, 복숭아, 자두, 감귤, 배, 포도, 블랙베리, 체리 등의 과수
- 과채류: 토마토, 오이, 딸기, 멜론, 가지, 콩, 멜론, 당근 등의 과채류
- 화훼류: 장미, 국화 등의 화훼

(나) 적용 범위




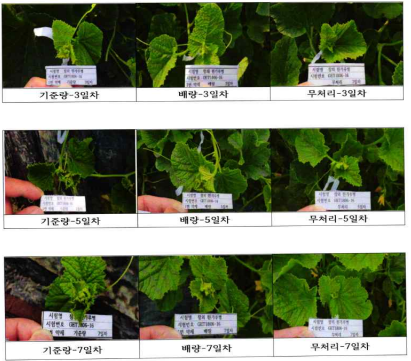
- 적용 해충: 응애류(mud mite, blister mite, flat mite, silver mite, six spotted mite, 점박이 응애, 토마토녹응애, 간자와응애, 갈색곡물응애, 차먼지응애, 굴녹응애 등)에 적용 가능.
- 적용 균류: 주로 작물에 더덩이를 일으키는 곰팡이류에 효과가 높음. 사과, 복숭아 딸기, 장미 등에서 발생하는 흰가루병, 노균병을 일으키는 흰곰팡이, 복숭아나무 잭빛곰팡이, 검은 반점균, 녹병균, 갈색썩음병 같은 병을 유발하는 곰팡이, 사과의 붉은곰팡이병, 땅콩반점병 등에 적용 가능.

(다) 용도/용량별 표준 사용 방법



목적	희석 배율	포장량	희석 물량 (L)		사용 시기	살포 방법	
			리터(L)	말(20L)			
병해충 관리용	1,000배	250mL	250	66	생육기	엽면살포, 10일 간격	
		500mL	500	132			
		1,000mL	1,000	264			
		10L	10,000	2,640			
토양 소독용	250배	250mL	63	17	정식 전	토양시비 (1평:3.3 m ²)	20~30
		500mL	126	33			40~60
		1,000mL	252	66			90~110
		10L	2,520	666			900~1,100
동계 방제	150~250배	250mL	37.5~63	10~17	새순이 나기 전	과수 살포	
		500mL	75~125	20~33			
		1,000mL	150~250	40~66			
		10L	500~2,500	132~660			
<ul style="list-style-type: none"> ○ 사용전 충분히 흔들어 재배중인 식물체들이 흠뻑 젖을 정도로 살포 ○ 토양 상태, 작물 상태, 환경 조성 등에 따라 살포 간격 및 처리 농도 조정이 필요 ○ 다른 석유화합물은 사용금지 ○ 희석비율을 철저히 준수해야 함 							

(라) 바이오황을 이용한 약제 방제 효과 인증





○ 참외 흰가루병 약제 방제 효과 인증 - 한국생물안정성연구소(주)

장소	충북 음성군 생극 (비닐하우스)	경북 안동시 남선 (비닐하우스)
약효 시험	1,000배, 500배 희석 적용 발생 후 10일마다 총 3회 엽면살포	
방제 효과	 <p>방제가: 82.7%</p>	 <p>방제가: 78.4%</p>
약해 시험 결과	<p>참외 약해시험(약제처리 후 3, 5, 7일차)</p> 	<p>참외 약해시험(약제처리 후 3, 5, 7일차)</p> 
	약해 없음	





○ 딸기 점박이 응애 약제방제 효과인증-한국생물안정성연구소(주)

장소	충북 음성군 감곡	
약효 시험	1,000배, 500배 희석 적용 발생 후 1회 엽면살포	
결과	방제 효과	약해시험결과
	 <p>65.9%</p>	 <p>약해 없음</p>

○ 사과 사과응애 억제방제 효과인증-한국생물안정성연구소(주)

장소	충북 음성군 감곡면	경북 예천군 예천읍
약효 시험	1,000배, 500배 희석 적용 발생 후 1회 옆면살포	
방제 효과	 <p>방제가: 62.1%</p>	 <p>방제가 57.8%</p>
약해 시험 결과		
	약해 없음	

○ 오이 흰가루병 억제방제 효과인증-한국생물안정성연구소(주)

장소	경북 안동시 남선 (비닐하우스)	입장 (비닐하우스)
약효 시험	1,000배, 500배 희석 적용 발생 후 10일마다 총 3회 옆면살포	
방제 효과	 <p>방제가: 83.6%</p>	 <p>방제가: 85.0%</p>
약해 시험 결과		
	약해 없음	

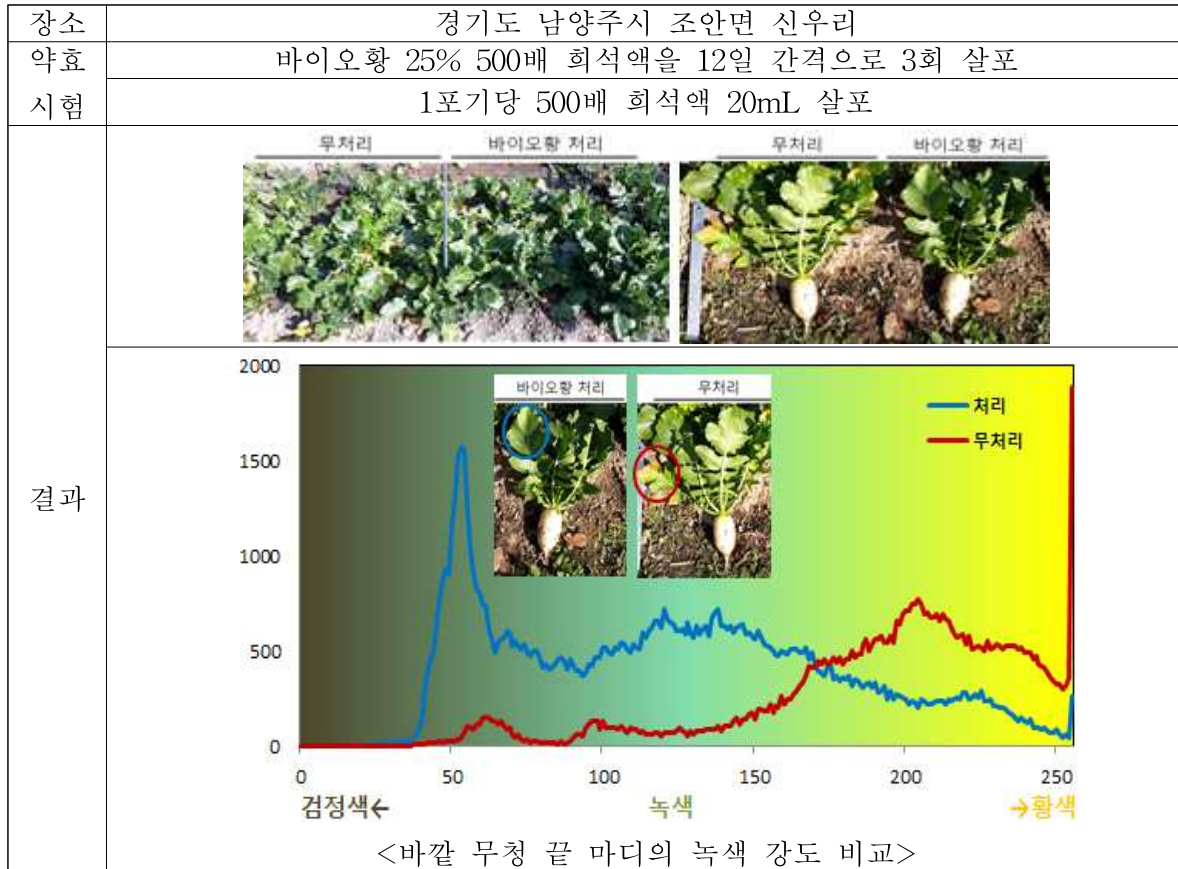
○ 배추의 녹색 유지 효과

- 바이오황을 처리한 배춧과 무처리한 배추의 외엽부터 각각 6장을 떼어내어 이미지 프로세싱 프로그램인 Image J를 이용하여 단위 넓이당 녹색량을 계산함. 육안으로 가장 녹색을 띠는 바이오황을 처리한 잎(바이오황 처리 6)을 기준으로 상대적인 녹색을 비교함. 전반적으로 외엽으로 갈수록 엽색의 녹색지수가 떨어지는 경향을 나타냈으며, 바이오황을 무처리한 경우 처리한 경우에 비해 상대적으로 외엽으로 갈수록 녹색이 급격히 떨어지는 것을 확인할 수 있음.

장소	경기도 남양주시 조안면 신우리
약효 시험	바이오황 25% 500배 희석액을 12일 간격으로 3회 살포 1포기당 500배 희석액 20mL 살포
결과	
	<p><바깥 잎부터 1번, 안쪽으로 6번까지 순차 적으로 부여></p>

○ 무청의 녹색 유지효과

- 바이오황을 처리한 무와 무처리한 무의 엽색을 이미지 프로세싱프로그램인 Image J를 이용하여 수치화 함. 육안으로 볼 때 가장 녹색 강도가 떨어지는 최외각 무청의 마디가 끝나는 최첨단 부분을 각각 선택하여 녹색과 황색의 비율을 비교함. 바이오황을 처리한 무청의 경우 짙은 녹색의 비율이 높은 반면, 바이오황을 무처리한 무청의 경우 상대적으로 황색의 비율이 높게 나타남.



(3) 응용사례

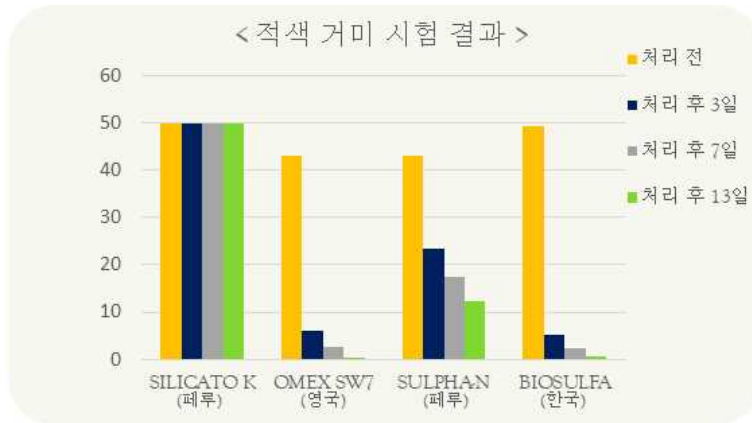
- 친수성 및 pH 8.5의 약염기성을 띠는 바이오황은 단일 사용뿐만 아니라 다양한 유기농업자재들과 혼합사용이 가능하기 때문에 응용이 가능함.
- 특히 산성인 농업자재와 혼용하여 사용할 경우, 바이오황의 약염기 성질이 중화 역할을 하기 때문에 독성은 적으며 약효를 높이는 시너지 효과를 낼 수가 있음.



<영양물질의 흡수를 높여주는 물질(ACID pH5[®])과 바이오황을 혼합 살포하여 경작하는 모습>

(4) 바이오황 수출 매뉴얼

○ 페루에서 시행한 아보카도의 적색 거미에 대한 BioSulfa의 효능 시험 결과 페루에서 판매되는 3종의 비료와 비교하였을 때 가장 우수한 적색거미 제어 효과를 보임.



구분	SILICATO K	OMEX SW7	SULPHAN	바이오황
처리 전	50.00	43.13	43.13	49.38
처리 후 3일	50.00	6.00	23.38	5.13
처리 후 7일	50.00	2.50	17.50	2.25
처리 후 13일	50.00	0.25	12.25	0.65
병해				

○ 페루에서 시행한 귤 응애에 대한 Biosulfa의 효능 시험 결과 페루의 비료 2종과 영국 비료 1종과 비교하였을 때 가장 우수한 귤 응애 제어 효과를 보임.





<바이오황 수출을 위해 페루에서 시험한 자료>

○ 박람회 참석: 2018 중국국제농화학 및 작물보호박람회 (CAC) 및 2018 케이팜 귀농귀촌 박람회에 참석하여 바이오황 제품을 전시 및 홍보함. 중국, 남미, 인도, 유럽 등의 다국적 거래선을 구축하고 있음. 페루의 시범 사례처럼 비료, 농약, 식물 추출 혼합제 등에 적용성이 확인됨. 화학황과의 차별성에 중점을 두고 시장 진입을 시도하고 있음.



<2018 중국국제농화학 및 작물보호박람회 (CAC), 개최일: 2018.03.07.~2018.03.09>



<2018 케이팜 귀농귀촌 박람회, 개최일: 2018.07.18.~2018.07.20>

제 2절 연구 개발 성과 및 결과

1. 연구개발 성과

성과목표	사업화 지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술 실시 (이전)		사업화			기술 인 증	학술성과			교육지 도 (건, 밴드 등 SNS 이용)	인 력 양 성	정책 활 용· 홍 보		기 타 (타 연구 활 용 등)	
	특 허 출 원	특 허 등 록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액		고 용 창 출	논 문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
										SC I	비 SC I						
단 위	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	건	건	건	명	건	건			
가 중 치	20	10	10					10				10	20	10	10		
최 종 목 표	2	2	1		2			7				1	5,000 이상	3	1		
1차년도	1							0				2	500				
2차년도	1		1					1	1	2			1,000	1	1		
소 목 표	2		1					1	1	2		2	1,500	1	1		
계 실 적					2			0	1	0	0		9	1,062	4	0	2
종료 1차년도					1	1,000		2				1	1,000 건 이상	1			
종료 2차년도		1			1	2,000		1				1	//	1			
종료 3차년도		1				5,000	1,000	1					//				
종료 4차년도						10,000	2,000	1					//				
종료 5차년도						20,000	2,000	1					//				
소 계	0	2	0		2	38,000	5,000	6	0	0	0	2	5,000 이상	2	0	0	
합 계	2	2	1		2	38,000	5,000	7	1	1	2	9	5,000 이상	4	1	2	

가. 논문게재 성과

번호	논문명	학술지명	주저자명	게재일
1	Suppressed anthracnose on cucumber leaves inoculated with <i>Colletotrichum orbiculare</i> by bio-sulfur pre-treatment	Mycobiology	Eun Ju Ko, Yong Chull Jeun	2019.01.10. (게재수락)

나. 학술발표 성과

(1) 국제학술대회

번호	논문명	학회명	주저자명	발표일
1	Suppression of melanoses disease by bio-sulfur on the citri leaves after inoculation with <i>Diaporthe citri</i>	2018 International Joint Conference on Plant Protection	Eun Ju Ko, Yong Chull Jeun	2018.10.
2	Microscopical observations on infection structures of <i>Colletotrichum orbiculare</i> on onion peels or cucumber leaves treated with bio-sulfur	2018 International Joint Conference on Plant Protection	Yong Ho Shin, Yong Chull Jeun	2018.10.
3	Suppression of disease severity by treatment with Bio-sulfur on citrus melanose caused by <i>Diaporthe citri</i>	61th German Plant Protection Symposium	Eun Ju Ko, Yong Chull Jeun	2018.09.

(2) 국내학술대회

비고	논문명	학회명	주저자명	발표일
1	바이오황의 전착제 처리에 의한 분산 효과 및 비료 혼합액의 양분변화	한국토양비료학회	이강해, 현해남	2017.10.
2	바이오황 처리에 의한 토양 화학성 변화	한국토양비료학회	이강해, 현해남	2018.05.
3	바이오황 엽면시비가 고추의 생육 및 품질에 미치는 영향	한국토양비료학회	이강해, 현해남	2018.10.
4	감귤검은점무늬병균에 대한 바이오황의 항살균효과	한국감귤아열대과수학회 학술대회	고은주, 전용철	2017.11.
5	바이오황에 의한 오이잎에서 오이탄저병 억제	2018 춘계한국식물병리학회	고은주, 전용철	2018.04.
6	주사전자현미경을 이용한 바이오황을 전처리한 감귤 잎에서의 감귤검은점무늬병균 관찰	한국감귤아열대과수학회 학술대회	신용호, 전용철	2018.11.

다. 인력양성: 석사 3명

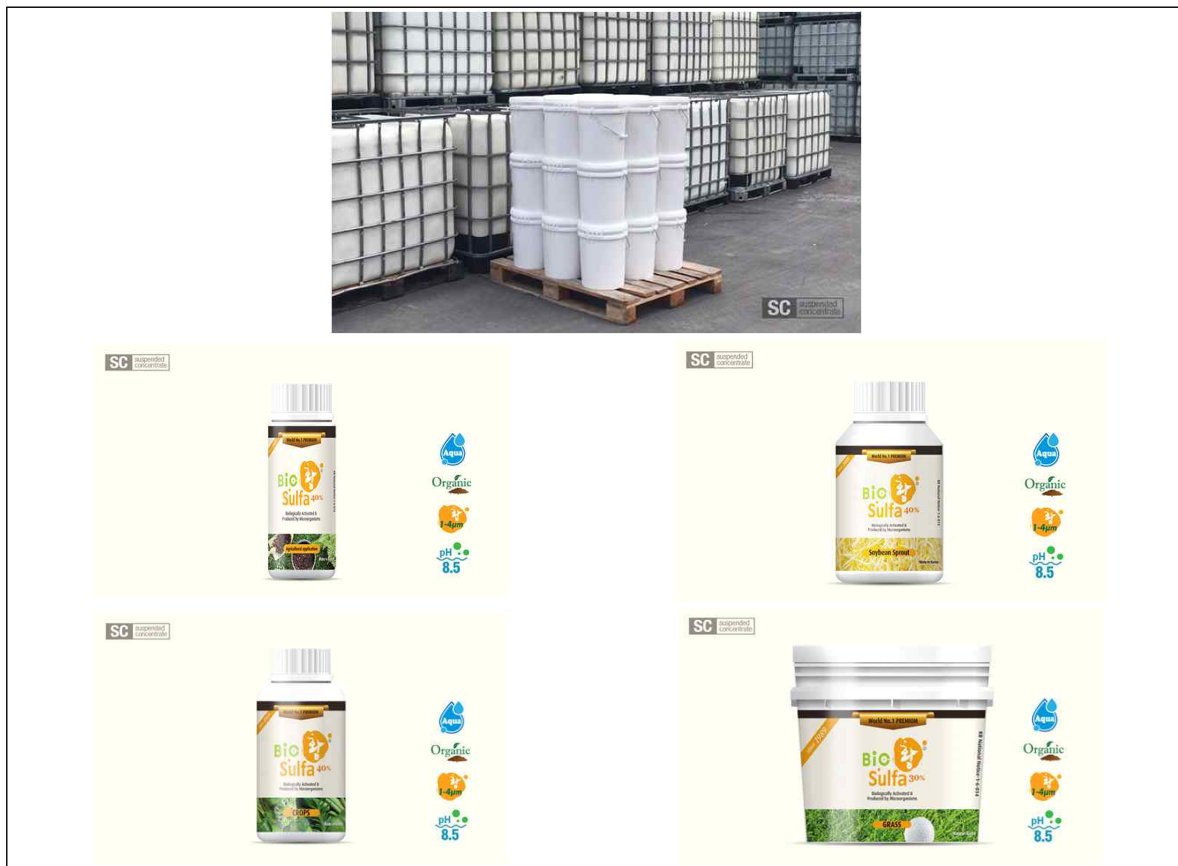
번호	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	인력양성	2017-2018		4			1	1						4

라. 시제품

(1) 내수용 시제품: : 25% 바이오황 4종



(2) 수출용 시제품: 30%, 40% 및 50% 바이오황



○ 바이오황 25% 유기농업자재 인증서 (공시번호: 1-6-030)

국가로부터 효과에 대한 품질인증 확인!



공시번호 1-6-030

공시번호 : 제 공시-1-6-030호

유기농업자재 공시서

1. 업체명 : 에코바이오홀딩스(주) 2. 대표자 성명 : 송효순
3. 주소(사업장) : 서울특별시 서초구 서문로 26길 5
4. 자재의 명칭 : 황
5. 자재의 구분 : 병해충관리용
6. 상표명 : 바이오황25
7. 주성분(원료)의 종류 및 함량(%)
 - 주성분 : 황
 - 원료의 종류 및 함량 : 황 25, 보조제 75
8. 유효기간 : 2018.08.23.~2021.08.22.
9. 제조장주소 : 인천광역시 서구 백석동 58(수도권 매립지내)
10. 최초 공고일 : 2018.08.23.
11. 최초 공시기관 : 농업기술실용화재단

「친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률」 제38조 제2항 및 「농림축산식품부 소관 친환경농업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙」 제49조제2항에 따라 위와 같이 유기농업자재 공시일을 증명합니다.

2018년 8월 23일

농업기술실용화재단 이사장



유기농업자재 공시현황 (총 3건 더보기)

공시번호	상표명 (자재명)	자재종류	공시기관	공시사업자	공시유효기간
공시-1-6-014	에코바이오황 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2021.10.09.
공시-1-6-030	바이오황25 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2021.08.22.
품질인증-1-6-002	에코바이오황 (황)	병해충관리용	농업기술실용화재단	에코바이오홀딩스(주)	2019.06.29.

○ 박람회 참석 (2건)

<2018 중국국제농화학 및 작물보호박람회 (CAC), 개최일: 2018.03.07.~2018.03.09>

<2018 케이팜 귀농귀촌 박람회, 개최일: 2018.07.18.~2018.07.20>

바. 사업화성과 및 매출실적

○ 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0 억원	
			향후 3년간 매출	10 억원	
		관련제품	개발후 현재까지	0 억원	
			향후 3년간 매출	10 억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 80 % 국외 : 20 %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 80 % 국외 : 20 %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			미정
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			2 위

○ 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		3년		
	소요예산(백만원)		100		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0	10	30
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	80	80
		국외	0	20	20
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	0	10	30	
	수 출	0	10	30	

2. 연구 결과

가. 기술적 성과

(1) 바이오황 농도를 균질화하기 위한 탈수 공정 기술의 최적화

- 기존 농업 자재 시장에서 비료 성분 및 병해충 방제로 사용되는 석유화학 황은 생석회나 가성소다와 반응시켜 친수성으로 만든 후 사용해야하는 불편함 뿐 아니라 낮은 황 농도 및 높은 pH로 다양한 문제를 야기 시킨다. 그러나 미세먼지 발생원인 중 하나인 황산화물(SOx)제거 과정에서 미생물 공정을 통해 생산되는 바이오황은 입자가 작으며 액상으로 생

산이 가능하기 때문에 기존 화학 비료를 대체할 수 있을 뿐만 아니라 농약 원료로도 사용 가능하다. 바이오황을 상업적 용도로 활용하기 위해서는 최종 정제 단계에서 황의 수분 함량을 조절하는 탈수 건조 공정의 최적화가 매우 중요하다. 탈수 공정에 유입되는 바이오황 함유액의 Imhoff값 및 탈수기의 차속값을 조절함으로써 바이오황의 함수율을 평균적으로 45~55% 범위로 조절하는 기술을 개발 및 최적화하여 전체 바이오황 생산 공정의 안정적인 운영이 가능하게 되었음.

(2) 안정적인 바이오황 공급을 위한 하루 10톤 이상 생산용량 시설 완비

- 일반적으로 유통되는 유기농업자재는 친환경적 측면에서는 장점을 갖춘 반면 생산량 증대의 측면에서는 화학 비료나 농약에 비해 열세를 보인다. 그러나 에코바이오는 높은 황부하량(S-load)를 처리하여 바이오황을 생산할 수 있는 할 수 있는 대규모 설비 및 기술을 갖추었다. 따라서 연간 6000톤(하루 10톤 이상)의 바이오황을 꾸준히 생산함으로써 제품의 안정적인 시장공급이 가능함.

(3) 비료 및 농약 혼합 제품을 위한 바이오황 제품의 최적화

- 미생물 공정으로 생산된 바이오황은 생산 초반에는 50%의 고농도의 황을 함유하고 있다. 바이오황은 고농도에서 저농도까지 쉽게 농도를 조절할 수 있는 장점이 있다. 7,000여 농가의 사용 후기 및 자체 개발 과정을 통해서 바이오황을 단일로 사용했을 때뿐만 아니라 다른 비료나 농약과 함께 사용했을 때에도 높은 약효를 유지하면서 사용에 편리한 최적화된 농도를 찾을 수 있었다. 따라서 고농도의 바이오황은 수출용으로 제품화 하는 것과는 별도로, 국내 농업시장에는 작물 및 환경에 맞춰 다양한 비료 및 농약과 혼합할 수 있는 25% 바이오황 제품을 생산 및 판매할 예정이며, 기존 농자재에 혼용하여 사용하는 보조제로서의 가치가 매우 클 것으로 기대됨.

(4) 7,000여 농가의 사용 후기 및 제품의 효과 및 활용

- 7,000여 농가에 무료 배포되어 수집한 정보 및 자체 실험에 의하면, 친수성 및 중성에 가까운 pH를 가진 바이오황은 기존 황제 사용 시 겪던 제조의 문제를 해소하였으며, 비닐 및 철제 파이프의 부식 실험에도 수돗물과 차이가 없었음.
- 다양한 작물에의 방제 및 살균 효과는 기존 황을 사용했을 때와 같거나 더 좋은 효과를 나타내는 것으로 나타났으며, 식물병 방제를 위한 농약을 대체 할 수 있는 친환경 자재의 작용 기작을 밝힘으로써 자재 개발의 학문적 근거를 마련함.
- 해외의 몇몇 시제품 사용 사례를 통해서도 그 효과가 검증되었으며 이는 유기농업자재로서의 바이오황의 적용 범위 및 효과가 무궁무진하다는 것을 의미함.
- “흙과 비료와 벌레이야기” 밴드 회원에게 바이오황 시제품 552톤을 무상 공급하여 회원들이 직접 작성한 바이오황 작물별 사용 후기 1062건의 자료와 본 연구의 실험 결과를 이용하여 농업현장에서 활용할 수 있는 바이오 황 사용자 매뉴얼을 제작할 예정임.

<연구과제 수행기간동안 바이오황 사용량에 따른 작물별 병 방제 및 생육 효과>

공시 작물	적용대상	사용량	시험 효과 및 처리	실험장소 및 조건
감귤	더탱이병	500배	발아관 억제	실내 (배지상태)
감귤	더탱이병	500배	4~6월 사이에 6회 살포, 봄순 방제가 70%, 과실 방제가 45%	포장시험
감귤	검은점무늬병	100~1000배	발아관 억제	실내 (PDA 배지)
감귤	검은점무늬병	500, 1000배	6~9월 사이에 8회 살포, 잎과 과실의 병발생 60%,	포장시험
감귤	꿀응애	500배	10월 1회살포, 방제가 95%	포장시험
감귤	퀘양병	500배	퀘양병균 생장억제	실내(TSA배지)
감귤	검은점무늬병	500배	검은점무늬병균 생장억제	실내(PDA/PDB배지) 및 감귤 엽
오이	탄저병균	500배	탄저병균 군사생장 억제	실내(PDA/PDB배지) 및 오이 엽
오이	흰가루병	1,000배	병 발생후 10일 간격 3회 경엽살포, 방제가 85%	포장시험
감자	역병균	500배	역병균 군사생장 억제	실내(PDA/PDB배지)
고추	역병균	500배	역병균 군사생장 억제	실내(PDA/PDB배지)
참외	흰가루병	1,000배	병 발생후 10일 간격 3회 경엽살포, 방제가 80%	포장시험
딸기	점박이 응애	1,000배	병 발생후 1회 경엽살포, 방제가 66%	포장시험
사과	사과응애	1,000배	병 발생초기 1회 경엽살포, 방제가 58%	포장시험
고추	0.2% 염화칼슘 혼합	1,000배	생육기간 동안 7일 간격 9회 경엽살포, 비상품율 감소 및 생육양호	포장시험

(5) 다양한 홍보를 통한 국내 및 국제 시장 진입

- 친환경적인 유기농업자재로써의 바이오황의 제품화 및 상업화를 위해 국내뿐 아니라 세계 시장에 바이오황을 소개하고 있다. 국내의 바이오황 시제품을 사용하여 효과를 본 농가들을 시작으로 온라인 판매망을 구축하고 있으며 제8회 2018 도쿄 농업 박람회 (AGRIWORLD 2018), 2018 중국국제농화학 및 작물보호박람회(CAC) 및 2018 케이팜 귀농귀촌 박람회 등과 같은 국제 박람회에 참석하여 바이오황 제품을 전시 및 홍보함으로써 다국적 거래선을 구축에도 힘을 쏟고 있다.
- 현재 바이오황 생산 확대를 위한 해외 기업과의 제휴 및 설비투자를 계속 하고 있음.

나. 경제적 성과

(1) 바이오황의 생산성 및 매출 효과

- 폐기물 처리과정에서 발생하는 바이오황을 폐기물로 처리할 경우, 약 15만원/톤의 처리 비용이 발생하나 에코바이오의 정제 공정 및 탈수 과정을 통해 일정 범위의 함수율을 갖는 바이오황을 제품으로 생산하는 경우 친환경 유기농업자재로서 고부가가치 산업으로 추가 수익 실현이 가능함.
- 농업자재로 사용되는 화학반응을 통해 생산된 황의 가격은 1kg당 1만원 수준이므로, 연간 6,000톤의 바이오황을 생산할 수 있는 에코바이오는 운영비 등을 제외하더라도 추가로 높은 수익을 기대할 수 있음.
- 바이오황 25 (1 L) 생산 원가계산서

항목		금액 (원)	비고	
순원가	재료비	직접재료비1	30,000	바이오황
		직접재료비2	160	보조제(증점제, 물)
		직접재료비3	200	스티커
		간접재료비	700	포장용기
		기타재료비	200	포장 box
		소계	31,260	
	노무비	직접노무비	700	
		간접노무비	50	
		소계	750	
	경비	전력비	19	
		운반비	300	
		기계경비	50	
		시험검사비	0.5	
		고용보험료	0.5	
		안전관리비	0.5	
		지급입차료	0.5	
		보관비	0.5	
		외부가공비	0.5	
		현장관리비	2	
		기타경비	46	
	소계	420		
	일반관리비		3,470	
	이윤 10%		464	
	총원가(공급가액 합계)		36,3634	
	부가가치세 10%		3,636	
	합계금액		40,000	

1. 직접재료비: 기본적 구성형태를 이루는 물품의 가치 (주요재료비).
2. 간접재료비: 제조에 보조적으로 소비되는 물품의 가치 (소모재료비: 기계오일, 장갑등, 소모공구, 기구, 포장재료비).
3. 직접노무비: 직접 작업에 종사하는 인력에게 제공되는 노동력의 대가.
4. 간접노무비: 직접 작업에 종사하지는 않으나 보조작업에 종사하는 인력에게 제공되는 노동력의 대가.
5. 일반관리비: 현업부문의 비용이 아닌 총무부, 경리부 등 일반관리 부분의 비용(지대, 집세, 수선비, 사무용소모품비, 통신교통비 등).

(2) 친환경 유기농업 자재로서의 바이오황의 시장 점유율 효과 및 지속가능성

- 전세계적으로 불고 있는 친환경 제도 및 방침 아래, 재생 자원이며 유기농업자재인 바이오황은 국내 농업시장 뿐 아니라 세계시장 진입이 유리함.
- 바이오황이 가진 자체 살균 및 살충력은 농약 대체제로 활용가치가 높으며, 기존 석유화학에서 추출된 황과는 다른 물리화학적 특성과 농약의 약제저항성도 유발하지 않아 환경적 친화성이 매우 높기 때문에 바이오황의 제품화 사업은 친환경 농약비료 시장에서 성공가능성이 매우 높음. 또한 기존 황은 법제화를 통해 독성을 제거 후 사용해야 하나, 바이오황은 미생물 대사과정의 산물이므로 독성 없는 안전한 병해충관리용 유기농업자재임.
- 매립지에서의 바이오황 생산 기술로 국내·외 분뇨 및 오·폐수처리장 등 산업 및 생활 환경내에서 지속 가능함.
- 기존 제품과의 차별성(필요성)

	암황	바이오황
가공난이도	높음	낮음(저비용)
중금속 함량	높음	낮음
입자 크기	큼(400~600 μ m)	작음(1~10 μ m)
수용성	불용성	친수성
계면활성제	필요	불필요

○ 예상 시장규모

구 분	2018년	2019년	2020년
국내(억원)	1,164	1,200 (병해충관리용)	1,236
해외(백만\$)	172,881 /61,500	178,228(비료) /64,500(농약)	183,575 /67,725

* 소재, 부품 등 파악이 곤란한 경우에는 적용제품과 용도가 같은 품목의 시장규모를 감안하여 산출.

- 국내 1,200억 병해충관리용 유기농업자재 시장이 형성중임.
- 국내 시장 진출 시 30% 점유시 400억원 이상의 매출 달성 기대중임
- 미생물 공법으로 생성되는 바이오황은 천연 보조 재료 등과 혼합 가능하여, 유기농업자재 생산 관련 기업과의 협업을 통해 관련 산업이 성장할 수 있음.

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제1절 목표 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행 내용
1차년도 (2017)	바이오 황-비료, 농약 제품개발	바이오 황 현탁액의 분산효과를 높일 수 있는 약제 선발	100	- 전착제와 물에 희석된 바이오 황 현탁액을 혼합 후 바이오 황의 침강깊이 측정 및 잎에서의 확산성 관찰
		바이오 황과 비료 혼합가능성 조사	100	- 바이오 황-비료 혼합액의 수용성 양분 변화조사
		바이오 황-비료 혼용 살포 후 생육변화 및 토양 성질 변화 조사	100	- 바이오 황을 관주 및 엽면시비 후 토양 pH 및 유효황 등 분석
		바이오 황과 기존 황제품의 비닐, 철근 등의 부식여부 조사	100	- 비닐과 철제파이프에 바이오 황, 석회유황 및 황토유황 희석액 2주 간격 살포 (2차년도 계속)
	주요 식물 병원균에 대한 바이오 황의 항미생물 활성, Bio-test를 통한 방제수준 측정	주요 식물 병원균에 대한 바이오 황의 항미생물 활성,	100	- 바이오 황의 주요 식물 병원균에 대한 항미생물 활성 검증
		Bio-test를 통한 방제수준 측정	100	- Bio-test를 통한 선발된 작물병에 대한 바이오 황의 방제 수준 측정
	바이오 황을 이용한 비료 혼합제품 공정 개발	바이오 황을 이용한 비료 혼합제품 제조공정 개발	100	- 현탁액 상태의 분말화 Test
			100	- 바이오 황-비료 혼합 제품의 5~10톤/일 생산 요인 조사
		바이오 황 제품화 요인 조사	100	- 밴드 회원에게 시제품 제공 및 사용 사례 수집
			100	- 분산/현탁 안정성 제고를 위해 물리적 분산 및 화학적 분산에 미치는 요인조사

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행 내용
2차년도 (2018)	바이오황-비료, 농약 제품개발	바이오황-살충제 혼합 최적 조건 탐색	100	- 바이오황-살충제 혼합 시 농약의 유효성분 농도 변화 조사 및 약해시험
		바이오황을 이용한 감귤 적용 시험	100	- 바이오황의 감귤 더듬이병, 검은점무늬병 방제 실내 및 포장 시험 - 바이오황의 감귤 굴응애, 두줄민달팽이 살비 및 살와 효과 시험
		바이오황-비료 혼합 가능성 조사	100	- 바이오황 관주처리 및 엽면시비에 의한 고추 생육 및 토양 성질의 변화 조사
		바이오황과 기존 황제품의 비닐, 농자재 부식여부 조사	100	- 바이오황, 석회유황 및 황도유황 희석액 살포 후 비닐의 인장강도 및 염분분부 시험
	주요 식물 병원균에 대한 바이오황의 항미생물 활성, Bio-test를 통한 방제수준 측정	형광현미경을 이용한 바이오황에 의한 작물병 억제 기작 규명	100	- 바이오황에 의한 병원균 포자수 감소 여부, 병원균 포자의 발아 억제 여부, 병원균 부착기 형성 억제 여부 관찰
		주사전자현미경을 이용한 바이오황에 의한 작물병 억제 기작 규명	100	- 바이오황에 의한 병원균 포자수 감소, 병원균의 형태적 변화 관찰 (포자, 발아관, 부착기 등)
	바이오황을 이용한 비료 혼합제품 공정 개발	5~10톤/일 생산 시설 구축	100	- 생산 시스템 구축 - QC시스템-바이오황 생산품질 관리 - 25% 바이오황 제품 유기농업자재 인증 - 사용 매뉴얼 작성
		시제품 생산	100	- 시제품 제작 - 바이오황 수출을 위한 페루에서 방제 효과 시험 - 국제박람회 참석 및 바이오황 홍보

제2절 관련 분야 기여도

- 세계적으로 불고 있는 친환경 제도 및 방침 아래, 유기 및 친환경 농업에 대한 관심이 고조되고 있음. 바이오황은 수도권 매립지에서 발생하는 매립가스 중 황화수소를 미생물학적으로 전환하여 생산됨.
- 폐기물의 감소라는 점뿐만 아니라 농업시장에서 농약 및 화학비료의 사용을 저감시킬 수 있는 유기농업자재라는 점에서 바이오황 제품은 환경 친화적이면서 친환경적으로 농업을 가능하게 함.
- 황을 필수 원소로 이용하는 많은 농작물의 향과 맛을 향상시킬 뿐만 아니라 생물 세포내 항산화, 인체 유용 물질 생성 등 다양한 역할과 기능을 하고 있어 앞으로 다양한 바이오 사업 분야로 진출이 가능함.
- 생체 안전성 및 효과가 입증된 작은 크기의 황성분인 바이오황은 농업분야뿐만 아니라 수산, 축산시장까지 친환경적 비료 대체재로 확대 적용할 수 있는 가능성이 높음.

제 4 장 연구결과의 활용 계획 등

1. 연구결과의 활용분야 및 활용방안

- 농업인들이 가장 요구하는 농자재가 농약-비료가 혼합된 제품이지만 농약-비료를 혼합했을 때 약해 발생과 농약과 비료의 효과가 낮아지는 문제점으로 상용화되지 못하고 있음. 본 연구에서 바이오 황은 비료 및 농약과 혼합하여도 비료의 양분과 농약의 유효성분에 변화가 없고, 약해 피해도 발생하지 않아 농업현장에서 바이오황의 살진균 효과와 비료의 양분 및 살충 효과를 동시에 볼 수 있을 것으로 기대되며 비료/농약과 혼합할 수 있는 보조제로서의 제품 가치가 매우 높을 것으로 예상됨.
- 바이오황에 대한 살진균 효과가 높은 원인에 대한 억제 기작을 밝힘으로써 유기농업자재개발의 학문적 근거를 마련하였고, 이와 같은 자료는 국내 및 세계 유기농업자재 시장에서 바이오황의 홍보효과와 시장 진입을 위한 발판을 마련할 수 있는 기반을 확보함.
- 현재 국내법으로는 비료, 농약 등의 농자재에 유기농업자재를 혼합할 수 없는 상황임. 따라서 사용자 편의에 의해 무농약, GAP, 유기농 농가를 우선으로 효과를 상승시킬 수 있는 보조제 개념으로 제품을 시장에 진입시키고 점차 일반농가에 확산시킬 예정임.

2. 추가 연구의 필요성

- 바이오 황과 살충제 혼합 실험에서 유효성분의 농도는 물에서 보다 안정적으로 유지되었고 고추에서 약해 피해도 없었으나, 바이오황과 살충제를 혼합 살포에 의한 병해충의 방제 효과를 검증할 필요가 있음. 농약의 유효성분은 다양한 특성을 나타내므로 바이오황과 혼합할 경우 약효 및 약해 시험은 선행되어야 함.

3. 타 연구에의 응용

- 유기농업자재로서의 효과가 입증된 바이오황의 기능에 대한 추가적이며 지속적인 시험을 통해 농업뿐만 아니라 축산 (닭 진드기) 및 사료, 화장품, 의료 분야의 원료시장에 도입 가능성을 모색하여 다양한 원료로서의 소재 개발.

붙임. 참고문헌

- Benschop, A., Jassen, A., Hoksberg, A., Seriwala, M., Abry, R., and Ngai, C. The Shell-Paques/THIOPAQ Gas Desulphurisation Process: Successful Start Up First Commercial Unit.
- Jam, B. J., Shekari, F. and Zangani, E. 2013. Application of bio-sulfur Fertilizer and Seed Pretreatment with Salicylic Acid Improved Photosynthetic Parameters of Safflower. Intl. J. Agron. . Prod. 4:3068-3075.
- Janssen, A.J.H., UOP, B.A., Plaines, D. and Kijlstra, S., 2000, October. New developments of the THIOPAQ process for the removal of H₂S from gaseous streams. In Preprints of Sulphur 2000 Conference (Vol. 29, pp. 179-187).
- Kleinjan, W., 2005. Biologically produced sulfur particles and polysulfide ions: effects on a biotechnological process for the removal of hydrogen sulfide from gas streams. Wageningen Universiteit.
- NIAST. 2000. Methods of soil and plant analysis. National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea.
- Olle, M. and Bender, I., 2009. Causes and control of calcium deficiency disorders in vegetables: a review. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 84(6), pp.577-584.
- Pearson R. G.. 1995. The HSAB Principle-more quantitative aspects. Inorganica Chimica Acta. 204:93-98.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 첨단생산기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.