

발간등록번호

11-1541000-001229-01

서방성 미량원소 제형과 토양미생물을 이용한
환경맞춤형 토양처리제 개발

Development of multi-functional fertilizer by using
sustained-releasing formulation and soil microorganism

효성오앤비(주)

농림수산식품자료실



0004581

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “서방성 제형과 토양미생물을 이용한 환경맞춤형 토양처리제 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011년 12월 19일

주관연구기관명 : 효성오앤비(주)

주관연구책임자 : 조 성 현

연 구 원 : 류 철 현

연 구 원 : 안 성 호

연 구 원 : 김 성 호

연 구 원 : 강 연 복

연 구 원 : 홍 성 길

협동연구기관명 : 한국원자력연구원

협동연구책임자 : 박 해 준

연 구 원 : 박 상 현

연 구 원 : 김 화 정

위탁연구기관명 : 충남대학교

위탁연구책임자 : 김 홍 기

연 구 원 : 장 찬 용

연 구 원 : 이 지 현

연 구 원 : 최 유 리

요 약 문

I. 제 목

서방성 제형과 토양미생물을 이용한 환경맞춤형 토양처리제 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

가. 연구개발의 목적

본 연구는 토양내 유기물을 분해하고 난용성인산을 식물체가 흡수할 수 있도록 가용화하는 미생물과 식물병원성 곰팡이에 길항력이 있는 기능성 유용미생물을 선발하고 이를 종래 유기질비료에 첨가하여 작물 생육을 촉진할 수 있는 기능성 토양처리제 개발하고자 한다. 개발된 토양처리제에 방사선조사기술과 방사성동위원소 이용기술을 이용하여 미량원소의 용출속도를 조절한 서방성제형을 제작하여 첨가함으로써 비료 오남용을 막을 수 있는 친환경적인 첨단 고품질 토양처리제를 개발하고자 한다.

또한, 방사선조사기술 및 전자선 이용기술을 이용하여 유효성분의 방출이 조절된 서방성 미량원소 제조 기술을 개발하고자 한다.

최종적으로 작물생육에 필요한 주요 영양분이 함유된 식물성 유박에 전자선이용기술에 의해 용출속도가 조절된 미량원소 서방성제형 및 기능성 유용미생물 배양체가 첨가된 첨단 고품질 유기질비료를 공급함으로써 작물의 생육을 촉진하고 미량원소의 과다공급을 막아 농가경영비 절감하고 토양생태계를 건전하게 유지할 수 있는 신개념의 환경맞춤형농자재 개발하고 보급하는 것을 목표로 한다.

나. 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

최근 고품질농산물과 환경에 대한 관심의 증가로 화학비료 대신 유기질비료 사용이 점차 증가되고 있다. 통상적으로 제조되고 있는 유기질비료의 대부분은 단순히 원료를 혼합하고 입상제형화하여 20kg으로 포장하여 판매하고 있는 실정이다. 그러나 농촌의 고령화가 가속됨에 따라 20kg 단위의 비료를 운반 및 시용하는데 어려움이 많기 때문에 포장단위 및 단위면적당 시비량을 감소할 필요가 있다. 이러한 농민의 어려움을 해결함과 동시에 미생물을 이용해서 난용성 인산염 및 유기질비료의 분해를 촉진시켜 작물에 영양분을 빠르게 공급함으로써 농업생산성을 높일 수 있는 기능성 유기질비료의 개발이 필요하게 되었다.

우리나라를 비롯한 OECD 국가들은 환경문제 대두와 안전농산물에 대한 소비자의 요구가 급증함에 따라 화학농약 및 화학비료의 사용량을 2013년까지 40%를 감축하여야 하나 새로운 기술적 돌파구가 마련되지 않아 사용량이 줄어들지 않고 있는 실정이다. 이러한 문제의 돌파구

를 마련하기 위하여 선진국의 국책연구소 및 다국적 기업을 중심으로 DDS(Drug Delivery System) 기술 및 나노기술 등을 포함하는 신기술을 융합하여 인지제어적인 PDS(Pesticide Delivery System)를 위한 제형 및 나노제제 개발 등 변이요소가 많은 외부 자연환경 조건에서 사용할 수 있는 첨단 제형개발에 힘을 기울이고 있다. 또한, 우리나라를 포함한 OECD국가들은 농업인구의 급감과 고령화로 인하여 작업의 편리성과 노동력 절감이 요구된다.

그러므로 향후 4,000억원에 달하는 국내 농업용 살균제 시장과 10조원 달하는 국제시장의 주도권의 향방을 결정하므로 농업용 살균제를 위한 나노전달체의 원천기술의 확보가 절실히 필요하다. 최근 첨단 나노기술의 발달로 의약분야에서는 나노제형기술을 이용하여 인체에 무해한 DDS 제제들이 많이 출시가 되고 있고 표적지향적인 성질을 이용하여 치료나 진단에 많이 응용하고 있다. 현재 여러 가지 농약 방출제어 기술들이 알려져 있고 일부는 판매되고 있으나 제조단가가 고가이며 제조과정이 복잡하여 비용이 많이 들어 농업현장에 적용하기 어렵고 화학수지계열들이 많아 포장조건에서 용도가 끝난 후에도 분해되지 않아 소기의 친환경적인 목적을 달성하기 어렵다.

이러한 문제를 개선하기 위하여 나노금속이온, 실리카, 바이오폴리머를 사용하여 방사선조사를 하면 조사방법에 따라 새로운 형태의 여러 가지 나노구조체가 만들어지며 경제적 생산이 가능하고 자연환경에서도 안정성이 뛰어난 신규한 나노제제의 제조가 가능하므로 농업용 제제에 적극적으로 개발 및 응용해야할 필요가 있다.

2. 경제·산업적 측면

최근 고품질농산물과 환경에 대한 관심의 증가로 친환경 농산물에 대한 수요가 확대됨에 따라 유기질비료 사용이 증가되고 있어 생산업체수가 1996년 500개소에서 2007년 1,567개소로 200% 이상 증가하였다(2008년, 농촌진흥청). 시장규모는 2008년 약 4,400억원으로 추정되며, 정부의 친환경육성 정책에 따라 매년 11% 정도씩 시장규모가 확대되어 가고 있는 실정이다. 시장규모가 확대됨에 따라 동종업체간 경쟁이 치열하여 기존 단순한 원료 혼합비료로서 한계가 있어 새로운 가능성을 갖춘 고품질 기능성 유기질비료를 개발하여 시장 확대에 따른 경쟁력을 확보할 필요가 있다.

유기질비료는 토양물리성 개선효과, 화학적 양분공급에 의한 비료적 효과, 생리적 효과(토양 중 분해시 유기물이나 미생물이 분비하는 유기물질), 미생물적 효과(유용미생물의 증가)에 의한 작물생육촉진 효과가 있다. 그러나 현재 유기질비료의 특성은 분해시 아미노산, 및 미생물비료의 유기산, 핵산 등의 생성에 의한 작물생육촉진을 기대할 수 있으나 N, P, K 위주의 무기영양분으로 구성되어 미량원소 부족을 초래한다. 이러한 미량원소 부족에 의한 피해를 막기 위하여 대부분 붕사(B), 석회(Ca), 규산(Si) 등의 특정성분이 함유된 제제를 일시적으로 기비로서 과다사용하고 있으며, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo 등의 미량원소는 식물생육 필수성분이나 과다사용시 장해 발생에 민감하게 되는 문제를 극복할 필요가 있다.

위와 같은 미량원소 비료를 포함한 화학비료 및 농작물의 병충해 방제에 사용되는 농약은

대부분 물과 혼합된 액상형태 또는 부형제와 혼합된 입상형태이다. 이와 같은 종래의 농약 제제를 사용하게 되면 살포된 지역의 외부로 유출되는 등 유효성분의 농도가 빠르게 감소하여 유효성분의 지속시간이 짧아지기 때문에 통상 사용법상의 양 또는 농도보다 과도한 양으로 여러 번 살포하게 된다. 이렇게 적정량 보다 과도한 양으로 농약을 여러 번 살포하게 되면 토양의 염류집적, 과영양화 등에 따른 환경오염을 유발할 수 있고, 농약 사용자의 건강에도 불리한 영향을 미칠 수 있다. 이러한 까닭으로 최근 고체상 또는 액체상의 각종 농약, 비료 등에 서방성을 부여하여 한 번에 적정한 농도의 농약 또는 비료를 살포하여 오랜 기간 동안 그 효과가 유지될 수 있도록 유효성분의 활성 발현 시기를 제어하기 위한 연구가 진행되어 왔다(Ohtsubo 2003; Park et al. 2007).

그리하여 농약과 비료를 효과적으로 이용하고 환경에 대한 영향을 감소시킨다는 관점에서, 필요한 때에, 필요한 장소에서, 필요한 양의 농약 유효성분을 송달할 수 있는 농약전달시스템(PDS, Pesticide Delivery System)이 실용화되고 있다(Tsuji 2003; Ohtsubo 2003). 농약송달시스템은 의약분야에 있어서의 약물송달시스템(DDS, Drug Delivery System)과 마찬가지로 유효성분의 방출을 제어하는 시스템이지만, 항상성이 유지되는 인체 내 환경과는 달리 개방된 환경에서 적용되기 때문에 자연환경 조건의 영향을 크게 받는다는 점에서 상이하다(Tsuji 2003; Park et al. 2007). 약물전달시스템에서는 혈액이나 체액 등에 의한 표적기관으로의 수송이 가능하지만, 농약전달시스템에서는 그러한 운반 매체가 없다. 또한 농약전달시스템에서는 약물전달시스템에 비하여 비용의 절감 역시 중요한 요소 중의 하나이다. 이를 적용하여 미량원소를 적체적소에 송달하게 하여 작물의 생장촉진 및 저항성증대를 유도할 필요성이 대두되고 있다.

최근 첨단 나노기술의 발달로 의약분야에서는 나노제형기술을 이용하여 인체에 무해한 DDS제제들이 많이 출시가 되고 있고 표적지향적인 성질을 이용하여 치료나 진단에 많이 응용하고 있다. 이러한 나노제형은 타겟으로 하는 생물부위에 정확하게 안착하여 탑재되어 있는 유효성분의 성능을 배가시키며 서방성, 선택성 여러 가지 기능들을 부가시킬 수 있다. 그러나 현존의 의료용 나노제제의 경우, 그 제조가격이 상당히 높고 비교적 공정이 복잡하고 수율이 낮아 농업환경과 같은 자연환경에서 적용하기에는 부적합한 실정이다.

따라서 본 연구에서 이를 개선하기 위하여, 방사선 기술을 이용하여 외부환경에서 효력을 발휘할 수 있으면서도 경제성이 높은 새로운 친환경적인 농업용 서방성 나노제형을 개발하게 되었다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구개발은 미량원소의 서방성 제형과 유기물분해, 작물생육촉진 등의 기능성 미생물과 작물생육필수 영양분을 공급할 수 있는 유기자원을 이용하여 작물의 생육촉진 및 수량증대는 물론 품질향상과 토양생태계를 건전하게 유지할 수 있는 원예기비용 친환경 토양처리제 개발을 목적으로 하며 구체적인 연구개발 내용 및 범위는 다음과 같다.

구분	연구개발의 목표		연구개발의 내용
1차년도	(세부) 효성오앤비(주)	○유용미생물 및 원재료선발	○토양으로부터 유용미생물분리 ○분리미생물자원의 선발 및 동정 ○1차 시제품 원재료의 특성조사 및 선발 ○1차 시제품의 제형방법확립
	(협동) 한국원자력연구원	○서방성제형 후보군 선발	○미량원소 서방성 제형개발 및 제조기술확립 ○방사선 조사기술을 이용하여 서방성 제형개발 및 제조기술 확립 ○친환경 농업에 부합하는 생분해성 제형개발 ○서방성제형 제조에 있어 경제적 방사선 선량 측정 ○최종 제형 후보군 선발용미생물 및 원재료 선발
	(위탁) 충남대학교	○유용미생물 검정	○선발자원의 생리적 특성 ○선발자원의 기능성검정
2차년도	(세부) 효성오앤비(주)	○1차 시제품생산 및 평가	○1차 시제품생산 ○1차 시제품의 물리화학적 특성 ○2차 시제품 방법확립 및 제품생산 ○2차 시제품의 물리화학적 특성
	(협동) 한국원자력연구원	○방사성동위원소 이용 검정	○미량원소 서방성제형 방사성 동위원소를 이용한 검정평가 ○방사성 동위원소를 제형에 탑재시켜 서방성 제형의 방출패턴검정 ○토양내의 이동경로 양상 및 식물의 흡수경로를 파악 ○검정내용 제형 재설계 ○제형 재설계의 의한 1차 제품의 보완
	(위탁) 충남대학교	○1차 시제품의 현장 평가	○1차시제품의 안정성 및 적응성평가(또장시험에 의한 작물생육 및 수량조사)
3차년도	(세부) 효성오앤비(주)	○최종제형조건 확립 및 제품화	○최종 서방성제제 시제품 완성 ○최종 제품화 및 사업화
	(협동) 한국원자력연구원	○2차 시제품의 문제점 보완	○제품개선 및 최종 제형 선발 및 성능 검정 ○최종 주관기관의 개발제품과의 부합성 검토
	(위탁) 충남대학교	○2차 시제품의 현장 평가	○2차 시제품의 실내외 검정 ○2차 시제품의 처리량, 처리방법

IV. 연구개발결과

- 국내 토양으로부터 작물 생육을 촉진할 수 있는 기능성 미생물을 분리 및 선발하고, 이들의 기능성 및 생리적 특성을 실험하였다.
- 난용성 인산가용화균, 유기물분해균, 길항균 및 질소무기화능이 우수한 미생물을 선발 및 동정하고 이들의 대량배양 조건을 확립하였다.
- 원료의 단순 혼합에 의해 생산되는 기존 유기질비료에 기능성 미생물 배양체를 첨가시켜 작물의 생육을 촉진할 수 있는 유기질비료의 제형조건을 확립하였다.
- 본 사업화기술에서 미량원소 비료 유효성분과 친환경 작물보호제 성분을 편리하게 살포할 수 있으며 효율적으로 방출할 수 있고, 방출을 용이하게 제어할 수 있는 새로운 서방성 제제를 개발하였다.
- 본 연구개발결과 미량원소 비료 유효성분과 친환경 작물보호제 성분을 편리하게 살포할 수 있으며 효율적으로 방출할 수 있고, 방출을 용이하게 제어할 수 있는 새로운 서방성 제제를 개발하였다.
- 사용 용도에 따라 나노사이즈 (80nm 급)의 서방성 미량원소 제제와 친환경 농약성분을 편리하게 사용하고 적은 양으로도 지속적인 약효를 발휘할 수 있는 마이크로급 (1~3 μ m) 서방성 마이크로 수화제를 개발하였다.
- 서방성 미량원소 나노 제제는 유무기 복합소재로 실리카 성분과 올리고머화된 1,3- β -글루칸의 유무기 복합체 조성으로 만들어졌으며 100nm급 이하의 콜로이드 입자상의 방출제어 입자이다.
- 나노 서방성 제제의 기본적인제조방법은 소듐 실리케이트가 용해되어 있는 염기성 수용액에 생분해성 고분자중 선발된 커드란(1,3- β 글루칸) 폴리머를 용해시키고 이 용액에 특정선량(30 KGy)방사선을 조사하여 커드란을 올리고머화를 함과 동시에 이 폴리머를 실리카 생성구조의 게스터로 들어가게 한 새로운 겔 상태의 매트릭스를 개발하였고 여기에 유효성분을 투입하고 pH를 조절함에 따라 나노사이즈의 서방성 제형을 신규로 개발하였다.
- 서방성 제제의 사용으로 미량원소 유효성분의 방출을 효과적으로 제어할 수 있다. 본 연구과제에서 개발된 서방성 제제는 다공성 담체와 생분해성 고분자의 복합구조로 이루어지기 때문에 내구성이 매우 우수하여 외환경적 요소에 특히 강한 특성을 나타낸다.
- 한편 서방성 아인산 마이크로 수화제는 -Si-O- 부위 및 생분해성 고분자 올리고머를 포함하는 다공성 담체 및 다공성 담체에 의하여 담지된 유효성분을 포함하는 서방성 제제로 구성되어 있으며 공중살포를 통해 친환경 작물보호제인 아인산 유효성분이 효과적으로 도달하여 역병방제를 손쉽게 할 수 있는 시스템이다.
- 이 제제의 제조방법은 다음과 같다. -Si-O- 부위를 형성할 수 있는 전구체가 용해되어 있는 염기성 수용액에 생분해성 고분자중 선발된 커드란(1,3- β 글루칸) 폴리머를 용해시켜 생분해성 고분자가 용해된 용액에 이소프로필 알콜을 첨가하고 방사선을 조사하는 단계; 방사선이 조사된 용액에 아인산을 첨가하여 일정시간 정치하면 1~3 μ m 사이즈의 제제

가 완성된다.

- 이와 같이 제조된 나노미량원소 제제와 서방성 마이크로 마이크로 수화제는 보존성이 뛰어나고 지금까지 개발된 입제보다 사용편리성이 뛰어나며 약효도 배가 되었다.
- 서방성 제제들은 복합구조로 이루어지기 때문에 내구성이 매우 우수하여 외환경적 요소에 특히 강한 특성을 나타낸다. 개발된 서방성 제제의 제조는 제조과정이 상온에서 간단하게 이루어지고, 생분해성 고분자 등 친환경적인 원료를 이용할 뿐만 아니라, 다른 서방성 제형의 제조와 비교하여 제조비용을 상당히 절감할 수 있다.
- 본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제와 기능성 미생물 배양체가 함유된 유기질 비료를 작물에 시용하게 되면 생육촉진효과가 있어 생산량이 증진되고 농민 소득 증대에 기여할 수 있다.
- 본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제와 기능성 미생물 배양체가 함유된 유기질 비료를 작물 재배에 시용한 결과, 최대 상추는 110%, 배추 142%, 고추 110% 및 벼(쌀수량) 149%의 생육촉진 및 생산량 증진효과가 나타났다.
- 또한, 본 연구과제에 의해 개발된 유기질비료는 기비로 단 한번 시용으로 추가적인 비료 투입없이도 최종 농작물 생산이 가능하여 인건비를 줄여주는 효과가 있다.
- 본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제가 함유된 유기질비료는 재배 작물별로 요구되는 미량원소를 다양하게 서방성 제제로 제조 및 공급할 수 있는 환경맞춤형으로써 무분별한 비료 오남용을 막아 친환경적인 농자재로 사용될 수 있다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 연구결과를 바탕으로 고품질 유기질비료로의 등록을 통해 친환경농업에 대한 지속적인 연구를 수행할 것이며, 본 연구를 통해 주관기관인 효성오앤비(주)는 특허 1건(“토양내 난용성 인산염을 가용화하는 토양미생물 및 이를 포함하는 처리제 조성물” 출원번호 10-2009-0043016)을 출원하였으며 협동기관인 한국원자력연구원은 특허 2건(“서방성 제제 및 이의 제조방법” 출원번호 10-2009-0085429와 “서방성 제제 및 이의 제조방법” 출원번호 10-2010-0088449)을 출원하였으며, 논문은 국내 1건, SCI 논문 1건 게재 및 1건 투고중이다.

주관기관인 효성오앤비(주)는 본 연구에 의해 개발된 기능성 미생물을 첨가한 혼합유기질 비료 “™뉴파머(15kg)”를 2011년 1월 11일 비료로 등록 및 생산하였으며, 7월 16일 친환경자재 로서 등록되었다. 2011년 10월부터 한국원자력연구원에서부터 기술이전에 관련된 협상을 진행하고 있으며, 기술이전이 완료된 후 서방성 미량원소 제제를 첨가된 제품을 출시할 예정이다. 또한, 전국 농협 및 각 지역 대리점을 통한 적극적 홍보를 통해 농민들에게 보급할 수 있도록 하여 농민소득 증대에 기여할 것이다.

포장지

뉴파머 는 N-P-K합이 7%이상이며 농업살청 규격으로 제조 검증된 농업용질규격제품입니다.

■ **특징 및 효과**

1. 작형 유익과 고급 영양성 유기질을 과학적으로 우리나라의 토양에 최적화도록 혼합 제조한 최고급 혼합유기질 비료입니다.
2. 고품질 유기질비료로서 비료성분의 알칼리 작용과 토양중 분해에 따라 작용의 양분 흡수 이용효율 극대화하여 작물생육과 수량증대는 물론 토양을 건강하게 유지시켜줍니다.
3. 효성오앤비의 유기질비료에 대한 노하우와 생물학적 최첨단 기술을 접목하여 직접 시비효율을 극대화한 시간 신제품으로 작물양을 시비하여도 효과가 우수합니다.
4. 신소재를 이용한 펠릿(Pellet)으로 되어 있어 토양중 수분과 미생물에 의한 분해를 신속하게 하여 양분을 공급하며 사용편리상의 중대외 물고루 살포 할 수 있는 장제적인 비료입니다.
5. 저질 고유의 특색인 맛, 향, 색깔, 당도, 끈기, 저장성 등 농산물의 품질을 향상시켜 주며 친환경농업에 적합한 혼합유기질 비료입니다.

■ **사용량**

구분	10a 기준	성적 1주당	유익 1주당
과수용	사과, 배, 감귤 등 (300~375kg)	1포 (15kg)	1/2포 (7.5kg)
	복숭아, 모도, 단감 등 (180~345kg)	1포 (15kg)	1/3포 (5kg)
원예용	12~20포 (180~300kg)	+작물별 토양 조건에 따라 조절하십시오.	
특용(인삼)	20~30포 (300~450kg)		

■ **사용방법**

1. 과수용: 전종시비 후 로타리를 하거나 심경시비하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
2. 원예용(노지): 전종시비 후 토양과 잘 혼합되도록 경운하고 15일 이상 토양내 발효기간 경과 후 정식 바랍니다.
3. 시설하우스: 전면 살포 후 로타리 또는 경운하고 충분한 수분 보충 후에 2회 이상 로타리하여 반드시 토양내에서 발효 시간 후 정식하여야 가스 피해를 예방할 수 있습니다.
4. 인삼용으로 사용시 충분한 수분이 있는 상태에서 전면 살포 후 3~4회 로타리 후 경운하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
5. 기타사용방법은 구입업체이나 당사(042-624-7613)로 문의 바랍니다.

■ **주의사항**

1. 발효되지 않은 비료이므로 요포상, 상토에는 사용을 금합니다.
2. 토양내 수분 부족시 발효되지 않으므로 충분한 수분을 보충시켜 주십시오.
3. 인방이 붙어 토양내에서 건조된 토양에 양분의 흡수를 돕는 경우가 있으므로 토양 살청 및 석회시용으로 예방하는 것이 좋습니다.
4. 본 제품은 비료이므로 동물 먹이상의 사용으로 사용을 금합니다.

● **비료생산자보증표**

1. 명 특 번 호: 경북 의성08-가-10915
2. 비료명류 및 명칭: 혼합유기질비료
3. 실 중 량: 15kg
4. 분 포 상 분 량(%) : 황소전량 3.9, 인산전량 2.1, 거리전량 1.0
5. 원료명 및 배합비율: 아주카리유박 25%, 대두박 42%, 미량유박 10%, 재량유박 15%, 골분 8%
6. 생산년월일: 별도표시
7. 대 표 관: 과: 박, 색: 연
8. 제조장소재지: 경북 의성군 의성읍 용안리 805

MS 호성오앤비
Organic & Bio
http://www.hsobd.com
대표전화: 054-638-7613

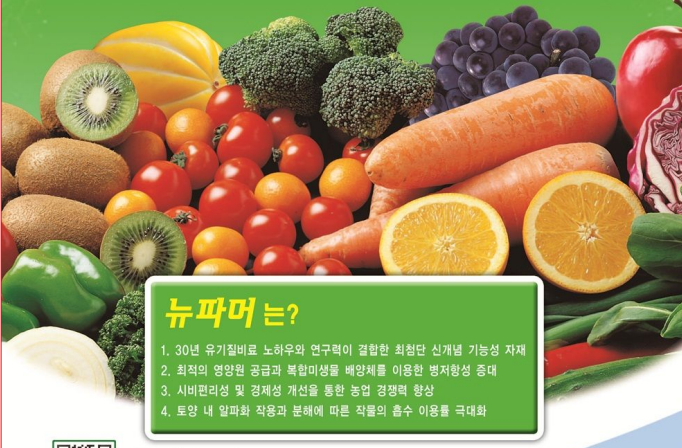
고품질성 신개념 유기비료 뉴파머

뉴파머는 품질은 **올리고** 가격은 **내린** 신개념의 고효능 유기질비료입니다



뉴파머

효진 유박



뉴파머는?

1. 30년 유기질비료 노하우와 연구력이 결합한 최첨단 신개념 기능성 자재
2. 최적의 영양원 공급과 복합미생물 배양제를 이용한 병저항성 증대
3. 시비관리성 및 경제성 개선을 통한 농업 경쟁력 향상
4. 토양 내 알파와 작용과 분해에 따른 작물의 흡수 이용률 극대화



QR코드를 검색해 보세요



◆ 뉴파머는 호성친환경농업연구소의 연구 노이우가 집적된 최첨단 기능성 자재입니다.



홍보 전단지

"최첨단 기능성 혼합유기질"

뉴파머

(NEW FARMER)



● 앞서가는 농업인의 새로운 선택

호성오앤비의 30년 노하우와 미생물학적인 최첨단 기술을 접목하여 작물의 시비효율을 극대화시킨 신개념, 신제품입니다.

● 뉴파머(NEW FARMER)의 우수성

1. 토양무기화율을 고려한 대두박, 골분 등 최고급 유기질 원료 사용
2. 미생물학적 처리공정 적용에 의한 토양 미생물 생태계의 안정화를 통한 병저항성 증대
3. 사용의 편리성 및 경제성 개선에 의한 농업경쟁력 향상

● 특징 및 효과

1. 각종 식물성 유박과 고급 동물성 유기물을 과학적으로 토양에 적합하도록 혼합 제조한 최고급 유기질비료입니다.
2. 비료성분의 알파화 작용과 토양 중 분해에 따라 작물의 양분흡수 이용률을 극대화하여 수량증대 및 작물생육을 향상시킵니다.
3. 펠렛(Pellet)으로 되어 있어 토양 중 수분과 미생물에 의한 분해가 신속하게 진행되어 빠르게 양분을 공급해 주는 경제적인 비료입니다.
4. 호성오앤비의 유기질비료에 대한 노하우와 미생물학적 최첨단 기술을 접목하여 작물의 시비효율을 극대화 시킨 신제품으로 적은 양을 시비하여도 효과가 매우 우수합니다.
5. 작물고유 특색한 맛, 향, 색깔, 당도, 굵기, 저장성 등 농산물의 품질을 월등히 높여주며 친환경인증농업에 적합한 혼합 유기질비료입니다.

● 사용량 (15kg/포)

	적용작물	10a기준	비고
원예용	고추, 오이, 딸기, 토마토, 수박, 참외 등	12~20포	작물별, 토양조건에 따라 조절하십시오.
	감자, 마늘, 배추, 양파, 양근, 상치 등	12~20포	
과수용	감자, 약초 등	15~30포	
	사과, 배, 감귤	10~12포	
특용	유목	20~25포	
	포도, 복숭아, 유자	12~15포	
	인삼	20~30포	

● 사용방법

1. 시실하우스에서 사용 시 전면 살포 한 후 로타리 또는 경운하고 충분한 수분 보충 후에 2회 이상 로타리하여 반드시 토양 내 재빨로 시킨 후 정식하여야 가스 피해를 예방 할 수 있습니다.
2. 원예용(노지)으로 사용 시 전층 시비 후 토양과 잘 혼합 되도록 경운하고 15일 이상 토양 내 발효 기간 경과 후 정식하십시오.
3. 과수용으로 사용 시 전층 시비 후 로타리를 하거나 심경시비하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
4. 인삼용으로 사용 시 충분한 수분이 있는 상태에서 전면 살포 후 3~4회 로타리 후 경운하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.

주의사항

1. 발효되지 않은 비료이므로 묘포상 상태에는 사용을 금합니다.
2. 토양 내 수분 부족 시 발효되지 않으므로 필요 충분한 수분을 보충시켜 주십시오.
3. 단위 면적당 사용 권장량을 연용 시비할 때는 화학 비료를 대폭 감량 시하십시오.
4. 본 제품은 비료이므로 동물먹이 등의 사료용으로 사용을 금합니다.

친 환경 농업을 선도하는



■ 구입처 : 전국 각 지역 농협

대전광역시 유성구 전민동 461-68 (우305-811)
TEL. (042)624-7613 FAX (042)624-4068
WWW.hsonb.com

SUMMARY

I . Title of the Project

Development of multi-functional fertilizer by using sustained-releasing formulation and soil microorganism

II . Objectives of the Research and Development

This research intended to develop the functional fertilizer for soil treatment that can promote the growth of crops by decomposition the organic matters in the soil and selecting the useful microorganisms have function solubilize organic matters for the plant to absorb non-degradable phosphoric acid and have antifungal activity against plant pathogenic fungi. Also, it aims to develop the environment-friendly high quality fertilizer that can prevent the abuse of fertilizer by adding sustained releasing formulation that has regulated the releasing speed by using the electromagnetic radiation technology and the radiation isotope using technology.

Also, the research intended to develop the manufacturing technology for sustained releasing of trace elements that the release of valid components are regulated by using the radiation technology and the electronic beam using technology.

Finally, by supplying the high quality organic fertilizer that the sustained releasing of trace element which the releasing speed was regulated by using the electronic beam to the plant oil cake that contains the various nutritions that are necessary for the growth of plants and mixed the valid effective microorganisms, it aims to promote the growth of crops, to decrease agricultural management fee by preventing the excessive supply of trace elements, and develop, distribute the environment-fitting material of new concept that can maintain the healthy soil ecosystem.

III . Objectives of the Research and Development

- (1) We have isolated and selected the effective microorganisms that have excellent antifungal activity and phosphate solubilization function from the soil.
- (2) The microorganisms that are excellent in the phosphate-solubilization, organic matter dissolution, antifungal activity and nitrogen inorganize function were selected.
- (3) We have established the mass cultivation condition for the selected microorganism.
- (4) It was established the formulation condition for the organic fertilizer contains the

functional microorganism solid culture.

- (5) We have developed the sustained releasing formulation method of trace element using the radiation and isotope utilizing technology.
- (6) The microwettable powder that is easy for the regulation of release by using the radiation and isotope utilizing technology was developed.
- (7) It was examined the release pattern of trace elements in the field.
- (8) We have examined the growth promoting effect of crops by the organic fertilizer developed.
- (9) Formula technique of the environment-fitting agricultural agent was established by adding the sustained releasing trace element to the selected biological control agents and the organic resources.
- (10) We developed the high technology of environment-friendly agricultural agents that has high marketability and that suits the characteristic of the market for the products.

CONTENTS

Chapter 1. Summary of Research and Development	16
Section 1. Necessities of the research development	16
Section 2. Objectives and scope of the research and development	19
Section 3. Periods of the research and development	20
Chapter 2. Research Background and Current Technique Status	21
Section 1. Status and problem of domestic technology	21
Section 2. Status and problem of foreign technology	23
Chapter 3. Contents and Results of Research and Development	26
Section 1. Contents and methods	26
Section 2. Experimental plan	27
Section 3. Materials and methods	28
1. Isolation of effective microorganisms and selection of raw material	28
a. Isolation of the microorganisms from the soil	28
b. Selection and identification of isolated microorganisms	28
c. Mass culture	31
2. Sustained-release formulation of trace elements	34
a. Basic design concept for the development of formulation of sustained releasing of trace elements and selection of biodegradation material	34
b. Development of sustained-release formula and establishment of its manufacturing technology using the electromagnetic radiation technology ...	35
c. Selection of economic radiation dosage	36
d. Durability	36
e. Analysis of the radiation isotope for the assessment of sustained-release formulation	36
f. Persistence of product	37
3. Formulation	38
a. Raw material selection	38
b. Establishment of formulation method	38
c. Establishment of formulation process	38
d. Production and characteristic assay of trial goods	38
4. Bioassay	39

a. Original products	39
b. Improved products	43
c. Final product (™뉴 파머)	45
Section 4 Results and Discussion	47
1. Isolation of effective microorganism and the selection of raw material	47
a. Isolation of effective microorganisms from the soil	47
b. Selection and identification of isolated microorganisms	48
c. Mass culture	66
2. Sustained release formulation of trace elements	73
a. Basic design concept for the development of formulation of sustained releasing of trace elements and selection of biodegradation material	73
b. Development of sustained-release formula and establishment of its manufacturing technology using the electromagnetic radiation technology ...	75
c. Selection of economic radiation dosage	82
d. Durability	84
e. Analysis of the radiation isotope for the assessment of sustained-release formulation	85
f. Persistence of product	87
3. Formulation	90
a. Original products	90
b. Improved products	93
4. Bioassay	102
a. Original products	102
b. Improved products	113
c. Final product (™뉴 파머)	122
 Chapter 4. Achievement on Objective and Contribution to the Related Field	129
 Chapter 5. Application plan of Results of Research and Development	131
 Chapter 6. Foreign Information on Science and Technology about this project ·	133
 Chapter 7. References	134

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	16
제 1 절	연구개발의 필요성	16
1.	기술적 측면	16
2.	경제·산업적 측면	16
제 2 절	연구개발의 목표 및 범위	19
제 3 절	연구기간	20
제 2 장	국내외 기술개발 현황	21
제 1 절	국내 기술개발 현황	21
제 2 절	국외 기술개발 현황	23
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	26
제 1 절	연차별 연구개발 및 내용	26
제 2 절	연구개발 추진체계	27
제 3 절	연구 내용	28
1.	유용미생물 분리 및 원재료 선발	28
가.	토양으로부터 유용미생물 분리	28
나.	분리미생물의 선발 및 동정	28
다.	대량배양	31
2.	서방성 미량원소 제형	34
가.	서방성 제형개발을 위한 기본설계 개념 및 생분해성 소재 선발	34
나.	방사선 조사기술을 이용한 서방성 제형개발 및 제조기술 확립	35
다.	경제적 방사선 선량	36
라.	내구성	36
마.	서방성 제형 평가를 위한 방사선동위원소 분석	36
바.	제제 보존성	37
3.	제형화	38
가.	원재료 선발	38
나.	제형방법확립	38
다.	제형공정확립	38
라.	시제품생산 및 특성	38
4.	생물 검정	39
가.	1차 시제품	39
나.	2차 시제품	43

다. 최종 제품(™뉴파머)	45
제 4 절 연구 결과	47
1. 유용미생물 분리 및 원재료 선발	47
가. 토양으로부터 유용미생물 분리	47
나. 분리미생물의 선발 및 동정	48
다. 대량배양	66
2. 서방성 미량원소 제형	73
가. 서방성 제형개발을 위한 기본설계 개념 및 생분해성 소재 선발	73
나. 방사선 조사기술을 이용한 서방성 제형개발 및 제조기술 확립	75
다. 경제적 방사선 선량	82
라. 내구성	84
마. 서방성 제형 평가를 위한 방사선동위원소 분석	85
바. 제제 보존성	87
3. 제형화	90
가. 1차 시제품	90
나. 2차 시제품	93
4. 생물 검정	102
가. 1차 시제품	102
나. 2차 시제품	113
다. 최종 제품(™뉴파머)	122
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여	129
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	131
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	133
제 7 장 참고문헌	134

부 록

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

유기질비료의 대부분은 단순히 원료를 혼합하고 입상제형화하여 20kg으로 포장하여 판매하고 있는 것이 일반적이다. 그러나 농촌의 고령화의 가속화에 따라 20kg 단위의 비료를 사용하는데 어려움이 있다. 이와 같은 까닭으로 시비량을 감축하고도 동일하거나 더 높은 시비효과를 얻을 수 있는 고품질 기능성 토양처리제 개발이 필요한 실정이다. 또한, 기존 화학비료의 오남용으로 인한 염의 집적을 해결할 수 있는 기술이 필요하게 되었다. 이에 미생물의 다양한 기능에 주목하여 유기물을 작물이 흡수할 수 있도록 분해시킬 수 있는 미생물을 이용하여 적은 양의 시비로도 동일한 효능을 갖도록 하였다.

환경문제 대두와 안전농산물에 대한 소비자의 요구가 급증함에 따라 우리나라를 비롯한 OECD 국가들은 화학농약 및 화학비료의 사용량을 2013년까지 40%를 감축하여야 하나 새로운 기술적 돌파구가 마련되지 않아 사용량이 줄어들지 않고 있는 실정이다. 이러한 문제의 돌파구를 마련하기 위하여 선진국의 국책연구소 및 다국적 기업을 중심으로 DDS(Drug Delivery System) 기술 및 나노기술 등을 포함하는 신기술을 융합하여 인지제어적인 PDS(Pesticide Delivery System)을 위한 제형 및 나노제제 개발 등 변이요소가 많은 외부 자연환경하에서 사용할 수 있는 첨단 제형개발에 힘을 기울이고 있다. 또한, 우리나라를 포함한 OECD국가들은 농업인구의 급감과 고령화로 인하여 작업의 편리성과 노동력 절감이 요구된다.

그러므로 향후 4,000억원에 달하는 국내 농업용 살균제 시장과 10조원 달하는 국제시장의 주도권의 향방을 결정하므로 농업용살균제를 위한 나노진달체의 원천기술의 확보가 절실히 필요하다. 최근 첨단 나노기술의 발달로 의약분야에서는 나노제형기술을 이용하여 인체에 무해한 DDS 제제들이 많이 출시가 되고 있고 표적지향적인 성질을 이용하여 치료나 진단에 많이 응용하고 있다. 현재 여러 가지 농약 방출제어 기술들이 알려져 있고 일부는 판매되고 있으나 제조단가가 고가이며 제조과정이 복잡하여 비용이 많이 들어 농업현장에 적용하기 어렵고 화학수지계열들이 많아 포장조건에서 용도가 끝난 후에도 분해되지 않아 소기의 친환경적인 목적을 달성하기 어렵다. 이러한 문제를 개선하기 위하여 나노금속이온, 실리카, 바이오폴리머를 사용하여 방사선조사를 하면 조사방법에 따라 새로운 형태의 여러가지 나노구조체가 만들어지며 경제적 생산이 가능하고 자연환경에서도 안정성이 뛰어난 신규한 나노제제의 제조가 가능하므로 농업용 제제에 적극적으로 개발 및 응용하여야 할 필요가 있다.

2. 경제·산업적 측면

농업은 토양 양분의 지속적인 수탈과 공급이 이루어지는 시스템으로 유기적인 양분과 인위적으로 합성된 무기양분을 결합하여 지속적인 양분관리가 매우 중요하다. 특히 화학합성 양분은 대부분 수용성으로 물에 쉽게 녹아 일시적 용출에 의한 염류집적, 토양산성화 등에 의해 작

물생육저해 및 토양생태계를 악화시킨다.

이러한 화학비료의 오남용으로 인한 토양생태계 악화를 막기위하여 최근에는 화학농약 사용량이 점차 줄어들고 있다. 그러나 고품질, 다수확을 목표로 하는 농업생산현장에서 이들 화학비료를 대체하는 수단이 필요로 하게 되었으며 이는 2010년 환경통계연감(환경부)에 의하면 질소, 인산, 가리비료의 소비량이 2001년 716천톤에서 2009년 499천톤으로 30% 이상 지속적으로 감소하였으나 농지면적은 차이가 거의 없어 이들 화학비료의 많은 양이 유기질비료로 대체되고 있는 것으로 추정된다(그림 1, 2).

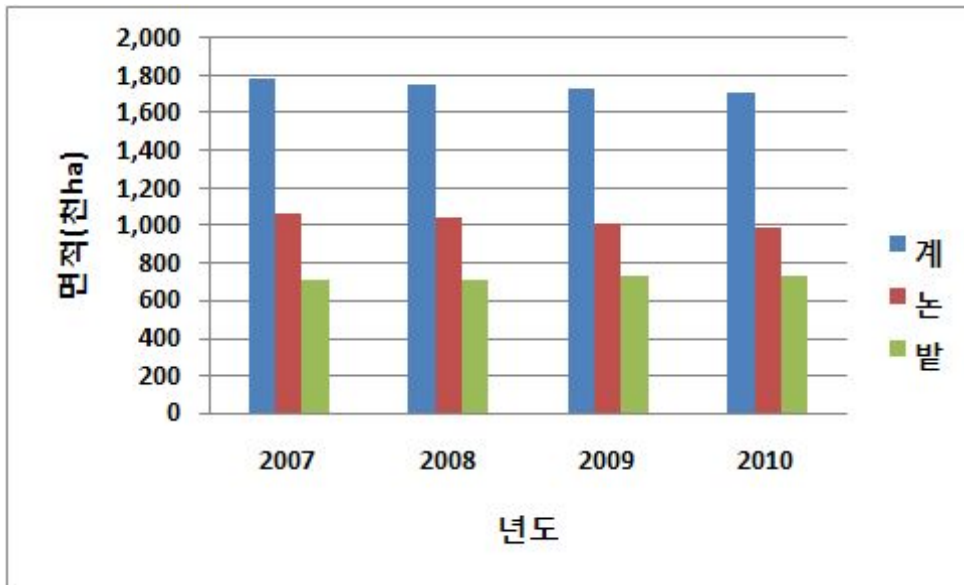


그림 1. 연도별 농지면적 변화

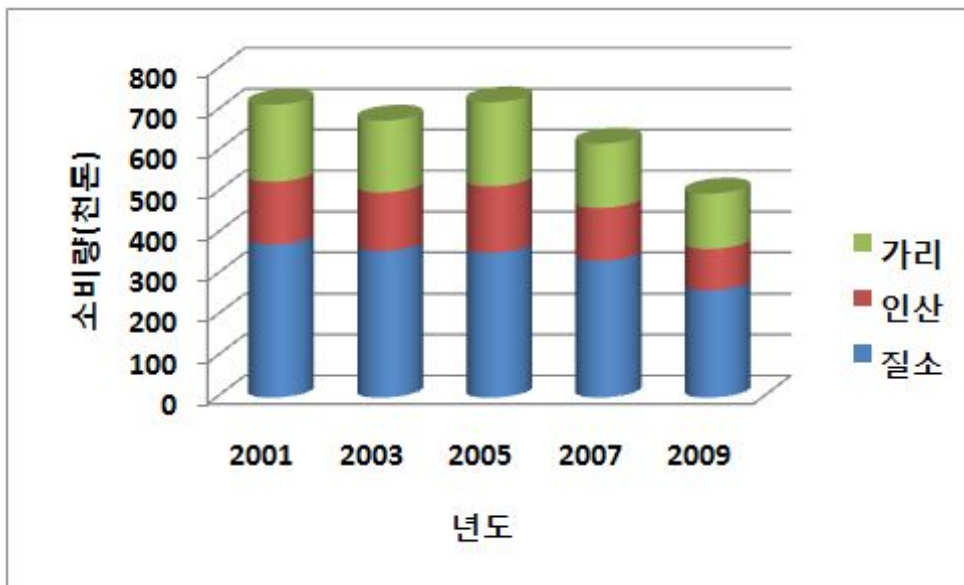


그림 2. 연도별 화학농약 소비량(2010년 환경통계연감)

최근 고품질농산물과 환경에 대한 관심의 증가로 친환경 농산물에 대한 수요가 확대됨에 따라 유기질비료 사용이 증가되고 있어 생산업체수도 1996년 500개소에서 2007년 1,567개소로 200% 이상 증가하였다(2008년, 농촌진흥청). 시장규모는 2008년 약 4,400억원으로 추정되며, 정부의 친환경육성 정책에 따라 매년 11% 정도씩 시장규모가 확대되어 가고 있는 실정이다(표 1). 시장규모가 확대됨에 따라 동종업체간 경쟁이 치열하여 기존 단순한 원료 혼합비료로서 한계가 있어 새로운 기능성을 갖춘 고품질 기능성 유기질비료를 개발하여 시장 확대에 따른 경쟁력을 확보할 필요가 있다.

표 1. 유기질비료 및 부산물비료의 판매현황 (단위: 톤)

구 분		2004	2005	2006	2007
유기질비료	혼합유박	99,561	123,847	116,487	149,952
	혼합유기질	86,086	164,903	194,212	226,068
	기타	50,339	51,896	53,039	85,122
	계	235,986	340,646	363,738	461,142
부산물비료	퇴비	2,136,569	2,031,732	2,315,795	2,313,788
	미생물제제	4,436	5,073	13,198	47,796
	기타	198,842	263,203	401,094	245,593
	계	2,339,847	2,300,008	2,730,087	2,607,177
총 계		2,575,833	2,640,654	3,093,825	3,068,319

유기질비료는 토양물리성 개선효과, 화학적 양분공급에 의한 비료적 효과, 생리적 효과(토양 중 분해시 유기물이나 미생물이 분비하는 유기물질), 미생물적 효과(유용미생물의 증가)에 의한 작물생육촉진 효과가 있다. 그러나 현재 유기질비료의 특성은 분해시 아미노산, 및 미생물비료의 유기산, 핵산 등의 생성에 의한 작물생육촉진을 기대할 수 있으나 N, P, K 위주의 무기영양분으로 구성되어 미량원소 부족을 초래한다. 그러나 현재 미량원소비료는 대부분 붕사(B), 석회(Ca), 규산(Si) 등의 특정성분을 일시적으로 기비로서 과다사용하고 있으며, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo 등의 미량원소는 식물생육 필수성분이나 과다사용시 장해 발생에 민감하게 되는 문제를 극복할 필요가 있다.

위와 같은 미량원소 비료를 포함한 화학비료 및 농작물의 병충해 방제에 사용되는 농약은 대부분 물과 혼합된 액상형태 또는 부형제와 혼합된 입상형태이다. 이와 같은 종래의 농약 제제를 사용하게 되면 살포된 지역의 외부로 유출되는 등 유효성분의 농도가 빠르게 감소하여 유효성분의 지속시간이 짧아지기 때문에 통상 사용법상의 양 또는 농도보다 과도한 양으로 여러 번 살포하게 된다. 이렇게 적정량 보다 과도한 양으로 농약을 여러 번 살포하게 되면 토양의 염류집적, 과영양화 등에 따른 환경오염을 유발할 수 있고, 농약 사용자의 건강에도 불리한

영향을 미칠 수 있다. 이러한 까닭으로 최근 고체상 또는 액체상의 각종 농약, 비료 등에 서방성을 부여하여 한 번에 적절한 농도의 농약 또는 비료를 살포하여 오랜 기간 동안 그 효과가 유지될 수 있도록 유효성분의 활성 발현 시기를 제어하기 위해 농약 유효성분을 송달할 수 있는 농약전달시스템(PDS, Pesticide Delivery System)이 실용화되고 있다. 이를 적용하여 미량 원소를 적제적소에 송달하게 하여 작물의 성장촉진 및 저항성증대를 유도할 필요성이 대두되고 있다.

최근 첨단 나노기술의 발달로 의약분야에서는 나노제형기술을 이용하여 인체에 무해한 DDS제제들이 많이 출시가 되고 있고 표적지향적인 성질을 이용하여 치료나 진단에 많이 응용하고 있다. 이러한 나노제형은 타겟으로 하는 생물부위에 정확하게 안착하여 탑재되어 있는 유효성분의 성능을 배가시키며 서방성, 선택성 여러 가지 기능들을 부가시킬 수 있다. 그러나 현존의 의료용 나노제제의 경우, 그 제조가격이 상당히 높고 비교적 공정이 복잡하고 수율이 낮아 농업환경과 같은 자연환경에서 적용하기에는 부적합한 실정이다. 본 연구에서 이를 개선하기 위하여, 방사선 기술을 이용하여 외부환경에서 효력을 발휘할 수 있으면서도 경제성이 높은 새로운 친환경적인 농업용 서방성 나노제형을 개발하게 되었다.

이와 같이 종래 유기질비료에 서방성 미량원소 제제와 기능성 미생물배양체를 첨가하여 기비로 단 한번 처리에 의해 수확기까지 지속적인 미량원소 및 영양분 공급함으로써 재배 농민들의 인건비를 줄여주어 결과적으로 소득증대에 기여하고, 동시에 과도한 비료사용을 막아 토양생태계를 건강하게 보전할 수 있는 신개념의 환경맞춤형농자재의 개발 및 보급이 절실한 실정이다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 범위

본 연구는 토양으로부터 난용성 인산염을 가용화하고 유기물을 분해하고 유기질비료의 질소성분을 작물이 흡수할 수 있도록 무기화할 수 있는 기능성 미생물을 분리 및 동정하고 이들의 특성을 구명하고 대량배양 조건을 확립하고자 한다.

또한, 방사선조사기술과 방사성동위원소 이용기술을 이용하여 미량원소의 용출속도를 조절된 서방성 제형을 제작하여 첨가한 첨단 고품질 토양처리제를 개발하고자 한다.

최종적으로 작물생육에 필요한 주요 영양분이 함유된 식물성 유박에 전자선이용기술에 의해 용출속도가 조절된 미량원소 서방성제형 및 기능성 유용미생물을 첨가하여 작물의 생육을 촉진하고 미량원소의 과다시비를 막을 수 있는 첨단 고품질 유기질비료를 제조, 공급하고자 한다. 이들 첨단 고품질 유기질비료를 기비로 시용하게 되면 수확기까지 추가적인 비료 투입없이 고품질 농산품을 다수확할 수 있게 하여 농민 소득증대에 기여하게 될 것이다.

제 3 절 연구기간

구분	연구개발의 내용
1차년도 (2008. 12. 20 ~ 2009. 12. 19)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 토양으로부터 유용미생물분리 ○ 분리미생물자원의 선발 및 동정 ○ 1차 시제품 원재료의 특성조사 및 선발 ○ 1차 시제품의 제형방법확립
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미량원소 서방성 제형개발 및 제조기술확립 ○ 방사선 조사기술을 이용하여 서방성 제형개발 및 제조기술 확립 ○ 친환경 농업에 부합하는 생분해성 제형개발 ○ 서방성제형 제조에 있어 경제적 전자선 선량 측정 ○ 최종 제형 후보군 선발용미생물 및 원재료선발
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 선발자원의 생리적 특성 ○ 선발자원의 기능성검정
2차년도 (2009. 12. 20 ~ 2010. 12. 19)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1차 시제품생산 ○ 1차 시제품의 물리화학적 특성 ○ 2차 시제품 방법확립 및 제품생산 ○ 2차 시제품의 물리화학적 특성
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미량원소 서방성제형 방사성 동위원소를 이용한 검정평가 ○ 방사성 동위원소를 제형에 탑재시켜 서방성 제형의 방출패턴검정 ○ 토양내의 이동경로 양상 및 식물의 흡수경로를 파악 ○ 검정내용 제형 재설계 ○ 제형 재설계의 의한 1차 제품의 보완
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1차시제품의 포장시험에 의한 작물생육 및 수량조사
3차년도 (2010. 12. 20 ~ 2011. 12. 19)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종 서방성제제 시제품 완성 ○ 최종 제품화 및 사업화
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품개선 및 최종 제형 선발 및 성능 검정 ○ 최종 주관기관의 개발제품과의 부합성 검토
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 2차 시제품의 실내외 검정 ○ 2차 시제품의 처리량, 처리방법

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 기술개발 현황

국내 비료시장은 질소, 인산, 칼리 등의 대량원소를 주성분으로 한 화학비료 및 유기질비료와 미량원소비료가 유통되고 있으며 이에 따라 사용자인 농민은 각각의 비료를 사용하고 있는 실정이며, 특정작물의 연속재배에 의한 대량원소비료의 반복적 시용으로 양분의 과다로 인한 염류집적이 증가하며, 미량원소의 경우 작물의 흡수, 용탈에 의한 부족으로 생육저해를 초래하고 있다(Lee 등 2001, Lee 등 2004).

국내 친환경농업의 육성정책에 따라 유기질비료의 생산량이 2005년도에 크게 증가하고 있으며 화학비료의 사용량을 현재 사용량의 40%수준내외로 줄이고, 화학비료를 대체하면서 작물 생산성을 올릴 수 있는 유기질 자재의 농업적 활용과 개발에 대한 연구가 진행되고 있으며, 이와 관련하여 연구자들은 화학비료를 대체하여 사용할 수 있는 자재로 퇴비, 유기발효 액비, 깻묵을 원료로 한 유기질비료 등을 대상으로 연구개발이 진행되어 오고 있다(Joo 등 2001, Rao 등 2007, Lee 등 2010).

완효성비료의 개발은 1980년대 중반부터 이루어져, LCU, CDU, IBDU, 천연수지 등의 합성 및 피복물질을 사용하여 생분해 또는 생분괴적 방법으로 복합비료 등을 제조하고 있으며, 다양한 용출조절 시스템 기술을 이용하여 용출물질의 농도를 적절히 유지시켜, 과다 용출을 막고, 적용 횟수도 줄이는 연구를 진행하고 있으나, 해당 유효성분이 대량원소 화학 비료분야에 치중되어 있는 상황이다(Park 등 2002, 농림부. 2000).

미량원소의 경우 화학비료를 입상으로 합성하거나 액상으로 녹여 제조하는 형태가 일반적이며, 최근 친환경자재의 경우 동식물 및 광물질의 미네랄을 혼합하여 입상, 분말, 액상 형태로 사용하는 형태의 연구가 진행되고 있다. 미량원소는 작물 영양요구도가 크지 않지만, 꾸준히 요구됨으로 미량원소를 효과적으로 서방성으로 방출을 할 수 있는 나노제형 기술을 이용한 기능성 토양처리제에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

표 2. 국내 서방성 제제 및 미량원소 관련 주요 특허출원 현황

특허출원번호	특허출원명	출원인
10-2010-0028737	미네랄을 이용한 미량원소비료의 제조방법	남정우
10-2010-0005700	생분괴성 완효성 피복비료	(주)동부하이텍
10-2010-7029740	서방성 제제 조성물의 제조 방법	닛뽕소다 가부시 키가이샤
10-2009-0033595	천연식물 추출물 함유 서방성 과립체 및 그 제조방법	아쿠아골드 (주)
10-2008-0049040	키토산 및 피틴산을 포함하는 서방성 키토산 캡슐	연세대산학협력단

특허출원번호	특허출원명	출원인
10-2007-0086335	유기미네랄이 함유된 미량요소복합비료	효성오앤비(주)
10-2006-0044700	미량원소 함유복합비료 및 그 제조방법	(주) 포스텍
10-2006-0083471	서방성 캡슐화 미생물 비료, 및 그의 제조방법 및 장치	황경숙, 윤민호
10-2004-0037435	고 활성칼슘 및 필수미량원소를 이용한 액상 복합비료 조성물	에코바이오텍 (주)
10-2003-0053128	필수다량 및 미량원소를 함유하는 액체복합비료의 제조방법	(주) 카스트
10-2003-0101527	완효성 입상비료와 완효성 입상비료 피복용 역 코아-셀폴리머 에멀전	남해화학(주)
10-2003-0004457	생물학적 활성물질의 서방성 제제 및 그의 제조방법	(주)바이오드림스
10-2000-0023644	미량원소가 다량 함유된 광물질과 미생물제제가 함유된 바이오캡슐 제조방법	김원현

국내에서는 농업방제기술로써 나노기술의 응용은 나노은을 중심으로 친환경작물보호제로서 연구가 활발히 진행되고 있으나 나노물질의 나노물리학적 성질에 의하여 안정성과 보존성에 취약하여 실용화에 한계를 나타내고 있다. 그러나 최근에 방사선조사기술을 이용하여 나노은을 실리카와 폴리머를 이용한 particle in particle 구조를 개발하여 위와 같은 문제의 상당부분을 개선하였다. 그러나 대부분 단순 나노물질이나 나노구조체의 개발은 완료하였으나 선택성과 표적지향적인 기능을 가지고 있지 않고 보존성과 안정성이 취약하여 상용화에 한계를 가지고 있다.

서방성 나노파티클에 관한 기술로 국내에서는 바이오드림스사에서 방사선조사기술을 이용한 나노복합체 합성기술을 보유하고 있으며 파티클 구조와 망목나노격자기술을 통한 농약전달체 제조기술을 보유하고 있다. 이는 실리카분자와 폴리머가 중합된 나노입자 안에 나노은 입자가 들어가 있는 제제로서 농업용수와 수돗물에 대해 상당기간 안정성을 나타내며 3년 이상 나노물성이 변하지 않는 특성을 가지고 있다. 또한, 천연물을 이용한 망목나노격자 서방성제형은 커들란 매트릭스를 망목구조로 제작된 제형으로서 건조상태에서는 채널의 격자가 1 nm 이하로 닫혀 있다가 관수 등 의해 포화수분량이 되면 20 nm 이상 열려 물질방출 되고 다시 건조하면 원상태로 돌아가는 수분 인지형 제형이며, 목적으로 하는 역할이 끝난 다음 토양 속에서 생분해가 일어나며 생분해 기간을 조절할 수 있는 친환경 제형이다(그림 3).

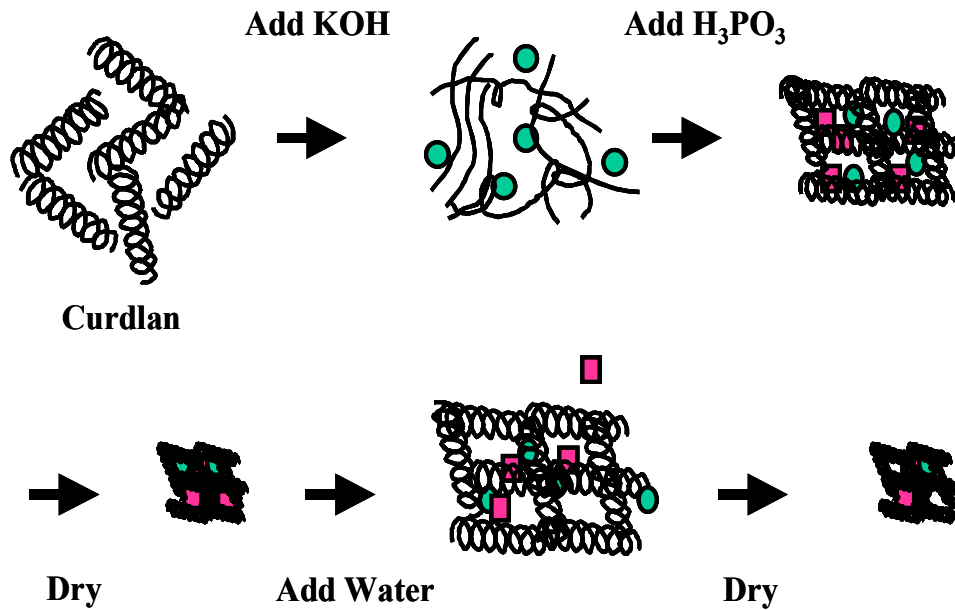


그림 3. 커들란 매트릭스의 수분에 의한 방출제어 모식도

나노제형에 관하여 국내에서는 (주)태평양, (주)LG화학 및 학계에서 몇몇 연구진들이 연구를 수행하는 것으로 알려져 있다. 태평양기술연구소가 열방성 액정에 바이오나노 캡슐은 크기가 약 1~15 μ m이고[Colloid Polym. Sci, 280, 879~885 (2002)], 최근 아이오페 제품에 적용한 Phyto Nano Sphere는 크기가 100~150nm라고 보고하였으며, 이외에도 표 3에 나타난 바와 같이 나노은 제제에 관련된 기술이 개발된 것으로 알려져 있다.

표 3. 국내 기술현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
포항공대	나노은 살균제	-
동방아그로	실리카부착 나노은제제	시장 검토중
성균관대	나노은 살균제	아직 활용되지 않음

제 2 절 국외 기술개발 현황

○ OECD회원국의 환경오염 방지 및 지속적이며 효율적인 농업이 중요시 되면서 1990년대부터 2004년 사이 회원국의 농경지 면적당 질소수지(kg/ha)와 인산수지가 각각 15%, 30% 감소하였고, 세계적으로 비료 생산량은 2005년 기준으로 볼 때, 163,457톤, 소비량은 152,788천톤 규모의 시장을 형성하고 있으나 선진국에서는 비료 소비량이 점차적으로 감소하고 있다.

- 미국의 경우 토양의 비옥도를 유지, 개량하고 또한 수질오염을 경감하기 위해 화학비료의 사용량을 적극 감소시키고 있으며, 정확한 토양진단에 의해 최적 질소시비량을 산출하는 연구, 시비 질소의 용탈, 탈질, 암모니아 휘산 등에 의한 손실과 환경부하 경감을 위한 토양 중 시비 질소의 동태 및 예측기술에 대한 연구, 시비방법, 제형개발, 탈질 억제제 등의 개발이 이루어지고 있다.
- 유럽에서는 환경오염을 방지하기 위해 법적으로 질소시비량 상한선을 규제하고 있으며 프랑스에서는 화학비료 시용의 줄임과 유기질 비료에 대한 식물 양분 공급 체계화 연구가 진행 중이며, 스위스는 친환경농업을 장려하기 위해 직접 직불제를 실시하고 있다.
- 완효성비료는 1954년 미국에서 최초로 개발된 이래, 미국 및 유럽지역에서는 완효성 합성비료가 일본에서는 완효성 피복비료가 주로 보급되고 있다. 대표적인 유기합성 완효성 비료는 UF(Ureaformaldehyde), IBDU(Isobutylidenediurea), CDU(Cyclo-di-urea) 등이 있는데 물에 대한 용해도가 낮아 늦게 용출되는 특징이 있다. 반면 피복 완효성비료는 비료 입자를 특정한 물질로 피복하여 용출속도를 낮춘 것으로 황피복비료(sulfur-coated urea, SCU)와 수지피복비료(resin-coated urea)로 구분되어 생산되고 있다.
- 미량원소에 대한 연구의 경우 미국과 유럽에서는 미량원소복합체를 이용해 상토의 물리, 화학성 개선 및 식물생육을 증가시키기 위한 연구를 수행중이며, 점토입자(clay particle)의 양이온치환용량 및 킬레이트 화합물을 이용한 미량원소복합체를 이용하여 혼합상토의 조제방법 및 이용에 관한 연구들이 진행되고 있다. 또한, 미주지역에서 6종의 미량원소(Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B)를 하나의 제제 속에 모두 포함시켜 시판하고 있다(Bunt 등 1988).
- 화학농약의 사용량 저감화와 미량원소 비료의 효율성 증대를 위해 국제적으로 활발하게 연구가 진행되고 있으며 선진각국에서는 다국적기업과 국책연구소를 중심으로 화학비료 및 농약의 사용량 감축에 따른 노력의 일환으로 적은 투입량으로도 효과를 발휘할 수 있는 선택적이고 인지제어적인 나노 PDS제형 및 생물농약 제형개발에 박차를 가하고 있다.
- 나노 서방성 제형을 제조하게 되면, 비료나 농약 유효성분의 지속 시간이 짧아 필요한 양 또는 농도보다 과도한 양으로 여러 번 살포하여야 하는 단점을 극복할 수 있게 될 뿐만 아니라 농업생산비용과 노동력을 크게 감소시킬 수 있다. 이러한 서방성 농약 제제의 제조방법으로는, 농약 활성물질을 마이크로 캡슐화시키는 방법, 사이클로덱스트린에 포접시키는 방법, 수지로 코팅하는 방법 등이 알려져 있다(Ohtsubo 2003). 그러나, 이러한 방법들은 제조과정이 복잡하거나 적용이 제한적이고, 제조단가가 높아 농약용으로 사용되기 어려우며, 제조과정에서 사용되는 용제 등에 의해 유해한 제조환경이 조성될 수 있고, 생분해가 급속하게 이루어져 서방성 제형으로서의 효과가 충분히 발휘될 수 없다는 문제점이 있었다. 따라서, 경제적이면서도 미량원소 유효성분의 방출제어를 조절할 수 있는 친환경적 서방성 제형의 개발이 시급하다.
- 상업적 바이오 나노분야의 캡슐화 및 입자소형화에 관한 연구는 프랑스의 L'Oreal사, 미

국 Chesebrough-Pond's사, Collaborative Laboratories사, Unilever사 등이 활발하게 진행하고 있다.

- 프랑스의 L'Oreal사는 분자량 400이 넘는 바이오나노입자의 평균크기 150nm 이하로 제작하였으며 다른 연구에서는 평균크기가 20~75nm로 분포된 결과를 획득하였다고 보고 하였다.
- 다국적 기업과 나노제제의 선두분야에 있는 일본을 중심으로 한 국가 연구기관과의 치열한 기술산업 주도권 경쟁이 발생할 것이다. 시장 특성상 얼마만큼 낮은 단가와 정확한 선택성과 표적지향을 가질 것인가가 시장주도권을 확보할 수 있는 관건이다.

표 4. 국외 기술현황

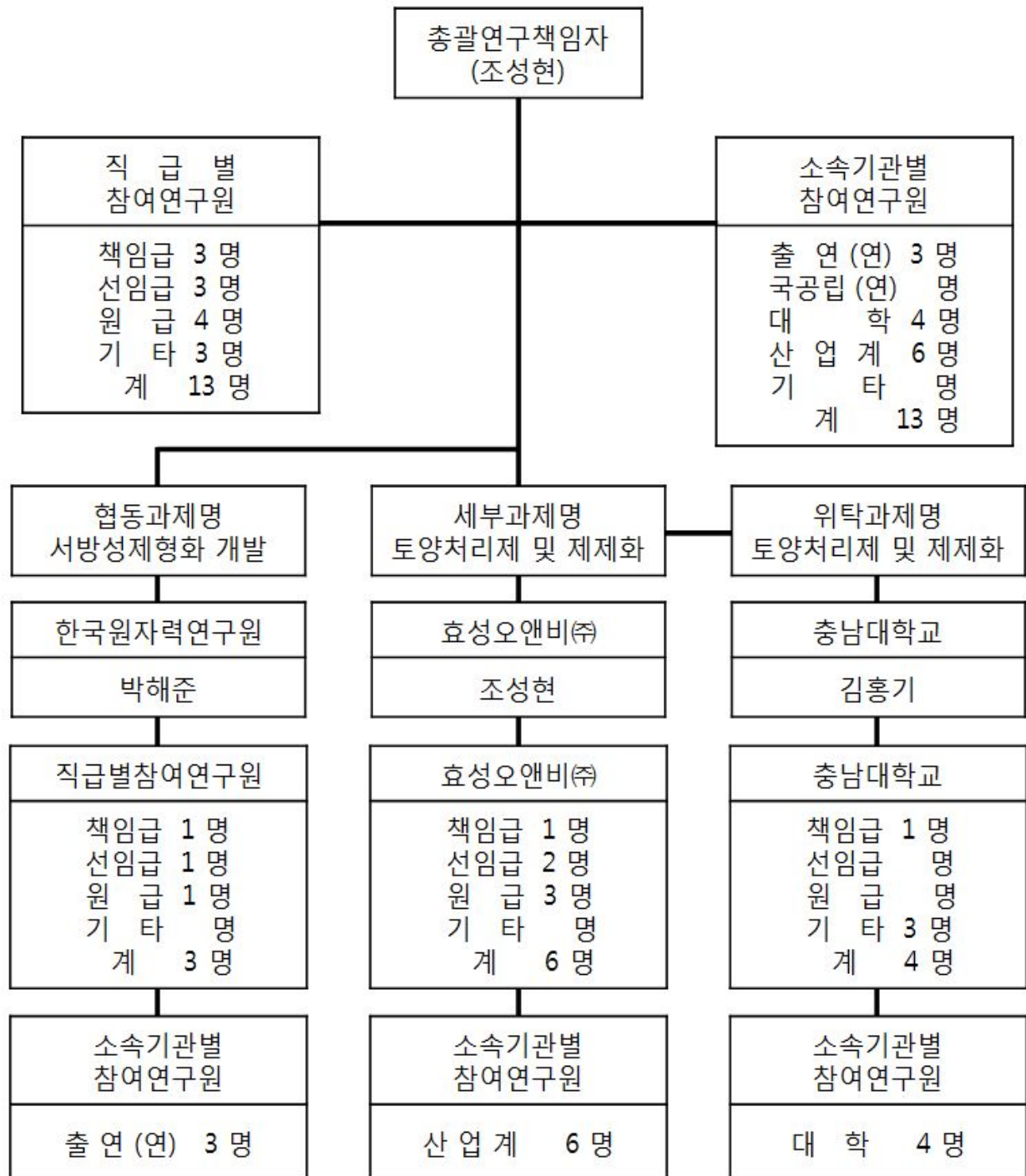
연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
다우	나노 텐드리머 제형	아직 활용되지 않음
스미토모화학	방출제어형 농약제제	시장 진입
일본 제제기연	표적지향성 농약제형, 온도제어형 농약제형	아직 활용되지 않음
일본기후대	담체흡착 나노은 제제	활용되지 않음

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연차별 연구개발 및 내용

구분	연구개발의 목표		연구개발의 내용
1차년도 (2008)	제1세부	○유용미생물 및 원재료선발	○토양으로부터 유용미생물분리 ○분리미생물자원의 선발 및 동정 ○1차 시제품 원재료의 특성조사 및 선발 ○1차 시제품의 제형방법확립
	제1협동	○서방성제형 후보군 선발	○미량원소 서방성 제형개발 및 제조기술확립 ○방사선 조사기술을 이용하여 서방성 제형개발 및 제조기술 확립 ○친환경 농업에 부합하는 생분해성 제형개발 ○서방성제형 제조에 있어 경제적 전자선 선량 측정 ○최종 제형 후보군 선발용미생물 및 원재료선발
	위탁	○유용미생물 검정	○선발자원의 생리적 특성 ○선발자원의 기능성검정
2차년도 (2009)	제1세부	○1차 시제품생산 및 평가	○1차 시제품생산 ○1차 시제품의 물리화학적 특성 ○2차 시제품 방법확립 및 제품생산 ○2차 시제품의 물리화학적 특성
	제1협동	○방사성동위원소 이용 검정	○미량원소 서방성제형 방사성 동위원소를 이용한 검정평가 ○방사성 동위원소를 제형에 탑재시켜 서방성 제형의 방출패턴검정 ○토양내의 이동경로 양상 및 식물의 흡수경로를 파악 ○검정내용 제형 재설계 ○제형 재설계의 의한 1차 제품의 보완
	위탁	○1차 시제품의 현장 평가	○1차시제품의 안정성 및 적응성평가 (또장시험에 의한 작물생육 및 수량조사)
3차년도 (2010)	제1세부	○최종제형조건 확립 및 제품화	○최종 서방성제제 시제품 완성 ○최종 제품화 및 사업화
	제1협동	○2차 시제품의 문제점 보완	○제품개선 및 최종 제형 선발 및 성능 검정 ○최종 주관기관의 개발제품과의 부합성 검토
	위탁	○2차 시제품의 현장 평가	○2차 시제품의 실내외 검정 ○2차 시제품의 처리량, 처리방법

제 2 절 연구개발 추진체계



제 3 절 연구 내용

1. 유용미생물 분리 및 원재료 선발

가. 토양으로부터 유용미생물 분리

난용성 인산가용화균, 유기물분해균과 항진균활성을 가지는 균을 분리하기 위한 분리원은 경북의 상주·성주·의성·청도, 경남의 합천, 충북의 옥천·영동·음성·오창·청주, 충남의 목천·병천·연산·논산·조치원 및 전북의 정읍·무주 등 총 17지역을 대상으로 채집하였다 (그림 4).

분리원은 고속도로 및 국도 주변의 비경작 산림과 논밭을 포함한 재배지 토양을 그 대상으로 하였다. 또한, 작물의 재배과정 중에 투여되는 미생물을 배제하기 위하여 그림 4의 비경작 산림 토양을 채집하였다.

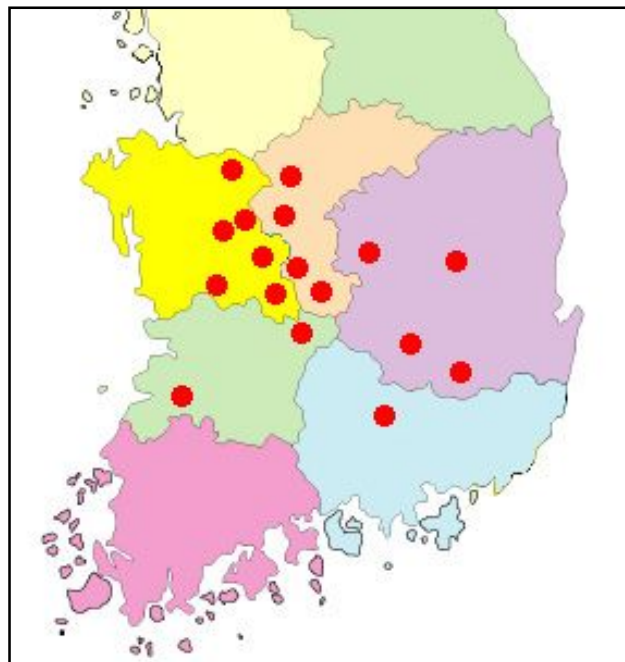


그림 4. 미생물을 분리하기 위한 분리원 채집 장소

미생물 분리는 채집한 시료를 60℃에서 2시간 건조 후 멸균수로 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 으로 희석한 후 200 μ l를 취하여 방선균 분리용 배지(Difco™ Actinomycete Isolation Agar), 세균 분리용 배지 (Nutrient agar)에 도말하여 28℃의 배양기에 배양하면서 균을 분리하여 4℃의 냉장고에 보관하며 사용하였다.

나. 분리미생물의 선발 및 동정

(1) 난용성 인산가용화균 선발

(가) 1차 검정

분리된 미생물을 대상으로 한 난용성 인산 가용화 검정은 각 분리용 배지에서 방선균 5일,

곰팡이 7일 및 세균 1일간 전배양한 후 YMA(Yeast-malt extract agar)-calcium phosphate 평판배지(제조방법 : YMA 21g/1L를 121℃에서 15분간 멸균하여 55~60℃까지 식힌 후 CaCl₂와 K₂HPO₄를 각각 멸균하여 최종농도가 0.5%되도록 첨가)에 중앙 획선 접종하여 28℃에서 7일간 배양 후 균총 주변의 투명대 형성 유무로 1차 선별하였다.

(나) 2차 검정

1차 검정결과 분해능이 우수한 HSB901, 902, 903균주를 선별하여 난용성 인산가용화능을 측정하기 위해 YMB(yeast malt broth; yeast extract 3.0g, malt extract 3.0g, peptone 5.0g, dextrose 10.0g, 증류수 1리터)배지 50ml에 인광석(중국, 총인산 : 30.9%) 0.25g을 첨가하여 30℃에서 진탕배양기(190~200rpm)로 배양하면서 24시간 간격으로 배양상등액을 취하여 유리인산의 농도를 바나도몰리브덴산법으로 비색정량하였다.

한편 대조구는 효성오앤비(주)가 보유하고 있는 SM-104, YT-209균주를 이용하여 동일한 방법으로 유리인산농도를 측정하였다.

(2) 유기물 분해 미생물

(가) 1차 검정

유기물 분해능이 우수한 미생물을 선별하기 위하여 방선균 분리용 배지(Difco™ Actinomycete Isolation Agar), 세균 분리용 배지(Nutrient agar)에 전분, 단백질(skim-milk), 지질(tributyrin) 성분을 첨가하여 제조된 평판배지에 토양 시료를 희석평판하여 28℃에서 3일 배양한 후 투명대 형성 유무로 1차 선별하였다.

(나) 2차 검정

1차 선별된 유기물 분해 미생물을 전분, 단백질, 지질 성분을 첨가한 방선균 배지(Bennett's agar) 및 세균 배지(Nutrient agar)에 획선으로 접종하고 25℃에서 배양하여 균체로부터 형성된 투명대의 넓이를 분해정도(Index of degradation, +: 2mm 미만; ++: 2~3mm 미만; +++: 3~4mm 미만; ++++: 4mm 이상)로 표시하였다.

(3) 길항 미생물

(가) 1차 검정

시들음병균(*Fusarium oxysporum*) 포자가 형성된 평판배지에 멸균수 20ml를 첨가한 후 유리봉으로 도말하고 멸균된 거름망(pore size 70µm)을 이용하여 균사를 제거한 포자현탁액을 얻는다. 포자현탁액은 포자 농도가 1×10⁴ spores/ml 되도록 멸균수로 희석한 후 0.001% 농도가 되도록 계면활성제 Tween 80을 첨가하여 포자액을 준비한다.

토양 시료를 희석평판하여 28℃의 배양기에 4일 배양된 방선균 분리용 배지(Difco™ Actinomycete Isolation Agar) 및 세균 분리용 배지 (Nutrient agar)에 준비된 시들음병균의 포

자액을 스프레이로 고르게 분사하여 25℃에서 3일 배양한 후 투명대 형성 유무로 1차 선별하였다.

(나) 2차 검정

PDA 이용하여 1차 선별된 미생물 균주들은 대표적인 식물병원성 곰팡이인 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 역병균(*Phytophthora capsici*), 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*), 균핵병균(*Rhizoctonia solani*), 시들음병균(*Fusarium oxysporum*) 및 근부병균(*Cylindrocarpon destructans*)을 대상으로 2차 항균활성을 실험하였다.

항균활성의 표기는 접종원(paper disc)과 식물병원성 곰팡이 생장 저해부위 균사와의 거리를 저해정도(Index of inhibition, +: 5mm 미만; ++: 5~10mm 미만; +++: 10~15mm 미만; ++++: 16mm 이상)로 표시하였다.

(4) 질소무기화

1차 선별된 HSB803, 901, 902, 903, 904균주의 유박이 함유하고 있는 질소무기화율에 미치는 영향을 조사하기 위해 다음 표 5와 같이 처리구를 설정하여 무기태질소의 생성량을 측정하였다. 실험은 유박원료중 질소함유량이 높고 제품화의 접근성이 우수한 피마자박 분말 1g을 멸균된 시험관(Φ1.8cm×15cm)에 넣고 미생물 배양액을 각각 0.7ml씩 접종한 후 30℃에서 정지 배양하였다. 대조구는 미생물 배양액 대신 멸균수를 접종하였다. 질소무기화능 측정은 접종 후 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17일차에 시료를 취하여 시간별 시료 전량을 2M KCl로 추출하여 Kjeldahl distillation법으로 무기태질소의 총량을 측정하였다.

또한, 토양내 고체배양체를 첨가한 피마자박의 질소무기화를 측정하기 위해 다음 표 5와 같이 50ml 멸균튜브를 이용하여 측정하였으며, 시료는 접종 후, 3, 5, 7, 9, 13, 15일차에 채취하여 무기태질소 총량을 측정하였다.

표 5. 피마자박의 토양중 질소무기화능 검정을 위한 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용
대조구1	토양 10g + 유박 1g + 증류수 2ml
대조구2	토양 10g + 배양체 1g + 증류수 2ml
HSB803	토양 10g + 유박 1g + 배양체 1g(803균주) + 증류수 2ml
HSB901	토양 10g + 유박 1g + 배양체 1g(901균주) + 증류수 2ml
HSB902	토양 10g + 유박 1g + 배양체 1g(902균주) + 증류수 2ml
HSB903	토양 10g + 유박 1g + 배양체 1g(903균주) + 증류수 2ml
HSB904	토양 10g + 유박 1g + 배양체 1g(904균주) + 증류수 2ml

(5) 동정

(가) API kit를 이용한 동정

총 49가지의 탄수화물의 발효여부를 이용한 검정 kit로서, Bacillus속을 종(species) 수준으로 동정할 수 있는 Biomerieux사의 API-50CHB를 사용하였으며, 사용방법은 다음과 같다. 무균상에서 Suspension medium에 균총을 접종하여 2 McFarland Standard 용액의 탁도와 일치되도록 조정하여 API 50CHB kit의 스트립의 튜브에 분주하고 배양기에서 12~24hr. 배양 후 색의 변화로 양성 및 음성을 판독하였다.

(나) 16S ribosomal DNA 염기서열 분석

분리된 미생물의 최종 동정은 16S rDNA의 염기서열 분석을 통하여 수행하였으며, 그 방법은 다음과 같다.

본 실험 균주의 chromosomal DNA를 분리한 다음 16S rRNA sequencing에 사용하는 일반적인 primer인 27F (5'-AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG-3')와 1492R(5'-ACC TTG TTA CGA CTT-3') primer를 사용하여 95℃에서 15min. pre-denaturation, 95℃에서 20sec. denaturation, 50℃에서 40sec. annealing, 72℃에서 60sec. extension, 72℃에서 5min. final extension을 30cycle polymerization하여 PCR을 수행하였다. 증폭된 PCR 결과물을 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인한 후, 약 1,200bp의 16S ribosomal DNA를 분리 정제하여 ABI PRISM 9700 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 이때 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK와 RDP (RNA database project)의 ribosomal RNA sequencing과 비교하여 동정하였다.

다. 대량배양

(1) 배양조건

(가) 최적 온도

선발 균주의 생육 온도범위를 조사하기 위하여 250ml 삼각플라스크에 Bacillus속 고농도 배양에 적합하다고 알려진 TSB(tryptic soybean broth)배지 100ml씩 멸균하여 제조하고, 여기에 동일한 균밀도가 되도록 미생물배양액을 접종한 후 25, 30, 33, 35, 37, 39, 40, 41, 45, 50℃에서 배양하였다. 배양개시 6, 24hr에 배양액을 취하여 600nm에서 흡광도를 측정하였다.

(나) 최적 pH

선발 균주의 생육 온도범위를 조사하기 위하여 250ml 삼각플라스크에 Bacillus속 고농도 배양에 적합하다고 알려진 TSB(tryptic soybean broth)배지 100ml씩 제조하고, pH를 5.5, 6.0, 6.5, 6.6, 6.8, 7.0, 7.2, 7.4, 7.5로 조정한 후 멸균한 후, 여기에 동일한 균밀도가 되도록 미생물 배양액을 접종하여 39℃에서 배양하였다. 배양개시 6, 24hr에 배양액을 취하여 600nm에서 흡광도를 측정하였다.

(다) 영양원

① 탄소원

기본배지(yeast extract 0.5%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.15%, $(NH_4)_2SO_4$ 0.25%, KH_2PO_4 0.3%)에 탄소원으로 glucose, molasses, corn starch, potato starch를 0.5~3%씩 각각 첨가하고 pH 7.2로 맞춘 후 39°C, 180 rpm으로 24hr 진탕배양한 후 희석평판법으로 생균수를 조사하였다.

② 질소원

탄소원으로 선발된 corn starch 2%가 첨가된 기본배지($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.15%, $(NH_4)_2SO_4$ 0.25%, KH_2PO_4 0.3%)에 유기질소원으로 CSL(corn steep liquor), peptone, soybean meal, yeast extract를 0~1.25%씩 각각 첨가하고 pH 7.2로 맞춘 후 39°C, 180 rpm으로 24hr 진탕배양한 후 희석평판법으로 생균수를 조사하였다.

(라) 액상 대량배양

1차 시제품은 작물검정 및 특성분석을 위해 충남대학교에서 설정한 배양조건에 따라 5L Jar-fermenter를 이용하여 HSB901 균주를 소량 배양하였으며, 이를 그림 5의 200L 액상발효기에서 표 6에 나타낸 산업배지를 기본으로 하여 대량배양 조건을 설정하였다.



그림 5. 대량배양을 위한 200리터 미생물액상발효기

표 6. *Bacillus* sp. 균주의 대량생산을 위한 산업배지 조성

배지성분	함량(%)	배지성분	함량(%)
Molasses	0~4	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
Soy flour	2~6	CaCl ₂	0.005
KH ₂ PO ₄	0.5	Na(NH ₄) ₂ PO ₄ ·4H ₂ O	0.15
K ₂ HPO ₄	0.5	SMH*	1.8
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.005	CaCO ₃	소량
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.003	Antifoam	소량

* Soybean meal hydrolysate.

(마) 고체 배양

① 고체배지조성

고체배양은 탈지강, 미강, 제오라이트, 벤토나이트 등의 주원료에 영양원을 보충하는 어분, 포도당 등의 보조제를 비율을 달리하여 배지를 제조하고 선발균주를 고체배양하여 균밀도를 조사하였다.

처리구는 각각의 조성비율에 의해 배지조성별 원재료를 혼합하여 1kg씩 비닐에 담고 수분 함량이 45%가 되도록 조정하고 121℃에서 50분간 멸균한 후 미생물 배양액 100ml을 접종하고 통기가 가능하도록 실리콘 마개를 이용하여 입구를 막고 30℃에서 5일간 배양한 후 균밀도를 조사하였다.

② 간헐멸균

탈지강은 미강에서 현미유를 핵산추출한 부산물로 생산된 후 외부로부터 각종 미생물이 유입되어 증식된다. 생산 초기의 탈지강은 질소(약 3%), 인(약 5.5%), 가리(약 2.5%)가 포함되어 있으며 각종 유기물이 약 75%를 함유하고 있어 미생물 증식에 매우 적당한 조건이나 수분이 약 10~15% 미만으로 다소 낮아 미생물 증식이 억제되어 있으나 높은 습도에 노출된 경우 빠르게 증식되어 각종 곰팡이 및 세균에 의해 오염된다. 이렇게 오염된 탈지강은 각종 영양성분이 이미 분해되어 미생물배양체로서 부적당하다. 때문에 탈지강은 수분이 적고 미생물에 의해 부패되지 않은 원료를 구입하여 사용하여야 한다.

이에 탈지강내에 오염되어 있는 미생물을 멸균하고 본 연구에서 선발된 미생물을 고농도로 순수배양하기 위하여 간헐멸균 조건을 실험하였다. 수분 30, 40, 50%, 멸균온도 60, 70, 80℃ 및 멸균시간 1, 2hr을 실시하고 24hr 후 재실시한 후 Nutrient agar plate 배지에 희석평판배양한 후 멸균도를 측정하였다.

2. 서방성 미량원소 제형

가. 서방성 제형개발을 위한 기본설계 개념 및 생분해성 소재 선발

본 연구의 협동기관인 한국원자력연구원의 선행연구에 따라 서방성 미량원소 제제에 사용되는 소재를 선발하였으며, 좀 더 자세하게는 유무기 복합소재로 실리카 성분과 올리고머화된 1,3-베타글루칸 복합체로서 방사선에 의해 겔 상태의 매트릭스를 형성한다.

기본적인 서방성 제제의 제조방법은 소듐 실리케이트가 용해되어 있는 염기성 수용액에 생분해성 고분자중 선발된 커드란(1,3-베타 글루칸) 폴리머를 용해시키고 이 용액에 특정선량(30 KGy)의 방사선을 조사하여 커드란을 올리고머화를 함과 동시에 이 폴리머를 실리카 생성구조의 게스트로 들어가게 한 새로운 겔 상태의 매트릭스를 제조하였다. 또한, 여기에 유효성분을 투입하고 pH를 조절함에 따라 나노사이즈의 서방성 제형을 신규로 개발하였다.

본 연구의 서방성 제제의 제조는 제조과정이 상온에서 간단하게 이루어지고 청정생산이 간으며, 생분해성 고분자 등 친환경적인 원료를 이용할 뿐만 아니라, 다른 서방성 제형의 제조와 비교하여 제조비용을 상당히 절감할 수 있었다.

일반적으로 소듐실리케이트와 일정크기의 고분자가 녹은 수용액에 알콜류를 첨가하고 방사선을 조사하면 아래 그림 6과 같이 생분해성 고분자(110)가 실리카의 일부 영역에 공유결합할 수 있다. 그러나 생분해성 고분자의 길이가 너무 길게 되면 이와 같은 유무기복합 매트릭스는 형성되기 어렵다.

생분해성 고분자는 빛 또는 미생물에 의해 분해되는 고분자로서, 서방성 제제의 골격을 구성하는 다공성 담체에 게스트(guest)로 도입되어 서방성 제제의 방출을 제어하는 역할을 한다. 생분해성 고분자로는 커드란(curdlan), 셀룰로오스(cellulose), 풀루란(pullulan), 젤란(gellan), 주글란(zoglan), 레반(levan), 잔탄검(xantan gum), 전분(starch) 및 키토산(chitosan) 등을 사용할 수 있다.

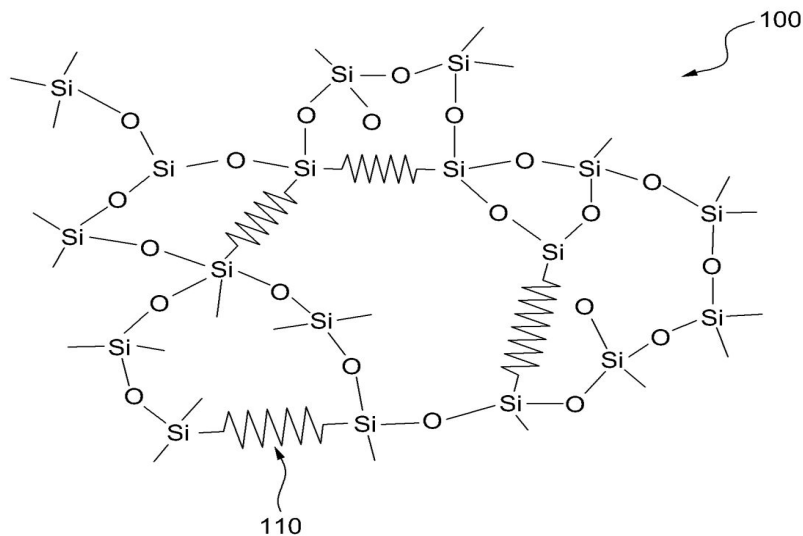


그림 6. 유무기 복합 소재 구조 개념도

본 연구에서는 생분해성 고분자 중 가장 효율적인 케스트를 찾는 과정에서 그림 7에서 보는 바와 같이 (1,3)-베타-글루칸 구조를 갖는 커드란으로 결정하게 되었다.

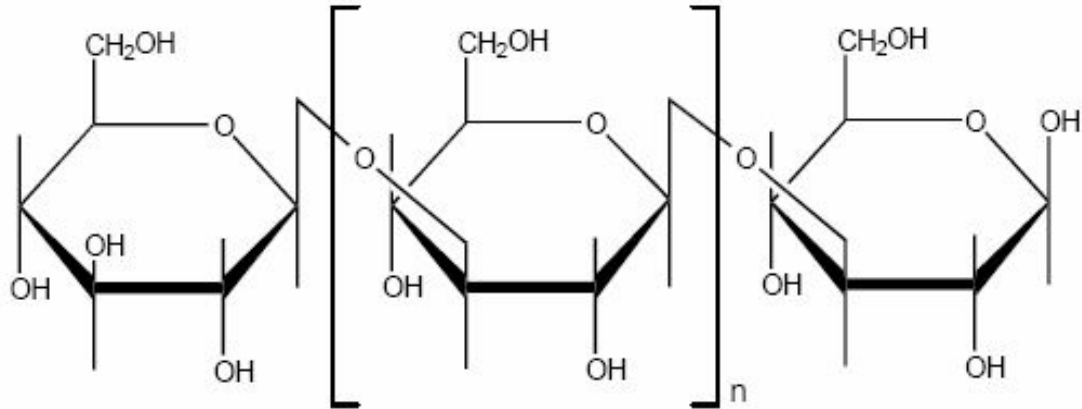


그림 7. 고분자 커드란의 화학식

그림 7에 나타난 바와 같이 커드란은 *Alcaligenes faecalis*, *Agrobacterium* sp.에서 생산된 다당류로, 글루코오스환의 제1, 제3 탄소원자가 베타 결합으로 연결된 글루코오스 반복단위를 갖는다. 또한, 커드란의 일차적인 구조는 긴 사슬이지만, 분자내 및 분자간 수소결합으로 인해 복잡한 삼차원 구조를 형성하고, 자연적인 상태에서는 거의 결정화되지 않고 분말 상태로 존재한다.

커드란 분말은 일반적으로 약 40°C이하의 물에 용해되지 않지만, 알칼리 용액에서는 수소결합이 이온화되어 쉽게 용해된다. 또한, 커드란은 54°C 이상의 온도로 가열하면 겔화되는데, 가열온도, 가열시간, 농도가 증가함에 따라 단단한 겔이 형성된다. 겔은 커드란 분자들로 만들어진 마이크로피브릴(microfibril)의 상호작용으로 형성된다. 소듐 실리케이트 수용액은 강알칼리성이므로 커드란을 서서히 투여하면서 교반하면 커드란이 완전히 용해되어 약간의 점도가 있는 용액이 생성된다.

위와 같은 커드란의 특성으로 인하여 친환경 서방성 제제의 소재로서 널리 사용되고 있으나 폴리머의 분자 사이즈가 커서 나노제제등과 같은 미세제제를 개발시에 어려운 점이 많았다.

본 연구에서는 친환경 소재인 실리케이트와 감마선 조사기술에 의해 올리고머화된 커드란을 서방성 제형골격의 재료로 최종 선발 하였다.

나. 방사선 조사기술을 이용한 서방성 제형개발 및 제조기술 확립

(1) 미량원소 서방성 나노제형

선행연구에 의해 선발된 제형 소재를 이용하여 서방성 제형 조건 및 제조기술을 확립하기 위하여 원재료 함량 및 방사선 조사선량 등을 실험하였고 이에 따른 서방성 나노 입자의 크기를 TEM(Transmission Electron Microscope) 및 ELS(Electrophoretic Light Scattering) 분석

을 이용하여 서방성 제제와 이에 함유된 미량원소 나노입자의 분포를 확인하였다.

또한, 서방성 제제에 함유된 미량원소의 방출패턴을 IC(Ion Chromatograph)를 이용하여 분석하였으며, 미량원소의 식물체내의 이동양상을 알아보기 위해 방사성동위원소를 이용한 분석을 실시하였다.

증류수 180~200ml에 소듐실리케이트 1~3g을 녹인 후, 용액을 교반하면서 커드란 1~3g을 서서히 투여하여 녹였다. 커드란이 완전히 용해하고 어느 정도 점도가 있는 용액(제1 용액)으로 되었다. 제1 용액에 이소프로판올 5~15ml를 가하고, 30 KGy로 감마선을 조사하였다. 유효성분으로 황산마그네슘 3~5g을 투여하여 제2 용액을 생성한 후, 제2 용액을 건조하여 황산마그네슘 서방성 나노제제를 수득하였다.

(2) 마이크로 수화제 제형

본 연구에 의해 개발된 마이크로 수화제 제형의 입체적인 외부형태와 내부에 포함되어 있는 각각의 성분 함량 분석은 SEM (Scanning Electron Microscope) 및 EDX (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy)를 이용하여 각각 분석하였다.

증류수 190 ml에 소듐실리케이트 2g을 녹인 후, 용액을 교반하면서 커드란 1g을 서서히 투여하여 녹였다. 커드란이 완전히 용해하고 어느 정도 점도가 있는 용액으로 되었다. 이 용액에 이소프로판올 10ml를 가하고, 30 KGy로 감마선을 조사하였다. 유효성분으로 아인산(H_3PO_3) 2g을 투여하여 1~3 μ m사이즈 서방성 아인산염 마이크로 수화제 제제를 수득하였다.

다. 경제적 방사선 선량

본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제형을 제조함에 있어 방사선 조사에 소요되는 경비를 추산하기 위하여 서방성 제형을 제조할 수 있는 최소 및 최적 방사선량을 실험하였다. 제1용액에 방사선 조사량을 달리하여 제조된 각각의 제제의 형성 여부를 SEM을 이용하여 분석하였다.

라. 내구성

본 연구의 협동기관(한국원자력연구원)에서 생산된 서방성 미량원소 제제는 최종적인 제품을 생산하기 위하여 주관기관에서 개발한 토양개량제 및 미생물제제와 혼합하여 압출성형할 것을 대비하여 건조방법 및 고온에 따른 제형 내구성을 검토하였다.

마. 서방성 제형 평가를 위한 방사성동위원소 분석

최근 들어 핵의학과 방사선 장비의 발달로 방사성동위원소를 이용한 평가가 크게 대두되고 있다. 이에 본 연구에서는 농업분야에 적용하여 미량원소 비료나 유효성분의 토양 혹은 작물체내에서의 이동양상을 측정하는 방법을 설계하였다.

그리하여 본 과제에서도 서방성 제제 처리에 의한 유효성분의 이동양상을 보다 정확하게

파악하여 제제개발과 제형설계에 이용하고자 하였다. 예비실험으로서 미량원소중 하나인 몰리브덴에서 제조된 방사성동위원소 테크니슘 (Tc-99m)을 이용하여 SPECT를 이용한 식물의 이동양상을 보았다. 방사성 동위원소 테크니슘-99m(Tc-99m)은 반감기가 비교적 짧고, 감마 영상을 얻기에 적절한 감마선 에너지(140 keV)만을 방출하기 때문에 인체에 대한 독성이 적으면서도 투과력이 커서 인체에 투여하여 영상을 얻는데 매우 적당하다

방사성 동위원소의 분포 등의 기능 영상을 얻을 수 있는 SPECT 시스템의 실험조건을 구하기 위한 모델시스템으로 Tc-99m을 처리한 식물(고추)에서 Tc-99m의 이동 양상을 관측하였다. 공시식물로 유리온실에서 8주간 생육한 고추(품종: 녹광)를 사용하였으며 모델 방사성 동위원소로서는 Tc-99m를 사용하였다. 식물의 미량요소 비료인 MoO_4 와 비교하기 위해 MoO_4 에서 방사화된 Tc-99m는 TcO_4 태로 처리되었다. 공시식물은 줄기에 Tc-99m을 0.5~1 mCi를 주사하거나 토양에 관주하여 이동양상을 관측하였다.



그림 8. 유효성분 이동양상 영상획득을 위한 SPECT/CT

마. 제제 보존성

농약 및 비료는 제제 후 일시에 소비되는 것이 아니고 상당기간 보관되는 것이 일반적이므로 저장기간 동안에 주성분의 분해가 일어나거나 약제의 물리성이 악화되어 품질의 변화가 쉽게 일어나면 약효저하 또는 약해 발생의 원인이 될 수 있다. 따라서 약제의 보증기간 이내에는 주성분 함량의 변화 등 물리화학적 변화가 없어야 한다(정 등, 2000).

대부분의 농약은 유기 및 무기 성분으로 구성된 화학물질로서 시간이 경과함에 따라 물리화학적 변화가 일어나는데 변화정도는 화합물의 이화학적 성, 온도, 습도 및 보관 조건 등의 요인에 따라서 다양하게 나타난다. 실온에서의 농약 제품의 주성분 안정성 시험은 오랜 시간이 소요되기 때문에 현실적으로 어렵고 경제적이지 못하다. 실온에서 제제의 안정성실험은 오랜 시

간 소요되기 때문에 실온보다 높은 온도의 가혹화 조건에서 안정성을 평가하여 짧은 시간 내의 제품의 유효성분분보증기간을 설정하는 것이 일반적이다. 여러 가지 실험방법을 설정하고 있으나 해당제품들의 약효 또는 보증기간을 설정하는 평가 기준은 아직 없다. 일반적으로 65℃에서 1주, 2주, 3 주 동안의 제형 및 유효성분의 분해율 등을 계산하여 1, 2, 3년 등으로 설정한다. (이 등, 2004)

따라서 실온보다 가혹한 조건에서 농약의 주성분 안정성을 평가하여 짧은 기간 내에 제품의 약효보증기간을 설정하는 것이 일반적이다. 본 연구에서는 앞서 개발된 서방성 나노 제제의 가속실험을 통하여 제제의 안정성을 확인하였다.

3. 제형화

가. 원재료 선발

본 과제에서 최종적으로 개발하고자 하는 제품의 특성상 작물에 양분을 공급이 가능한 유기자원을 선발하여야 하므로 영양적 성분함량을 분석하여 선발한 후 제형화에 있어 공자에서의 대량생산 가능과 생산효율을 증대할 수 있는 자원을 최종 선발하였다. 특히 유용미생물과 서방성 미량원소 제형의 혼합제형에 의한 제형조건을 충족할 수 있어야 하며 토양의 물리화학적 성을 개선할 수 있는 자원을 선발하였다.

나. 제형방법확립

선발된 미생물자원과 서방성 미량원소 제형, 유기자원, 담체의 배합비율을 설정하여 현재 순간압착법에 의한 성형실험을 실시하여 1차 시제품을 제작하여 제품의 물리화학적 특성 및 작물재배시험을 통해 평가보완하였다.

다. 제형공정확립

1차년도 확립한 대량생산 공정을 위한 혼합비율에 따라 서방성미량원소 제형과 미생물배양체를 제외하고 기타 원료를 혼합하여 생산성을 검토하였다. 원료혼합은 탈지강 1000kg, 미강 600kg, 제오라이트200kg, 미생물배양체 원료 100kg, 서방성미량원소 혼합물 원료 100kg을 각각 계량하여 제품성형공정에 의해 생산하였으며 최종 입상 제형을 위해 입상제형기의 회전속도는 관행생산과 동일하게 175~185rpm조건을 주었다.

라. 시제품생산 및 특성

(1) 원재료배합비율

1차 제형공정에 따라 생산시 입상형태 및 생산량이 기존 제품과 비교하여 큰 차이 없이 제형됨에 따라 주원료인 탈지강과 미강의 혼합비율 및 1차년도에 원료로 선발한 유박원료에서 수량 및 최종제품의 비료공정규격을 충족시키기 위해 피마자박을 첨가하여 2차 시제품을 생산하였다.

(2) 생산량 및 특성

생산된 제품의 특성은 질소(황산법), 인산(비색법, 바나드몰리브덴산암모늄법), 칼리(염광광도법), 수분(가열감량법) 및 유기물함량(회화법)은 비료분석법(농촌진흥청고시 제 2010-9호)에 의해 분석하였으며, 수분흡수 및 경도를 비교하기 위해 입상제품 일정량을 취하여 물에 잠기게 한 후 경시적인 변화를 조사하였고 생산량은 단위시간당 생산되는 중량을 측정하였다

(3) 유효미생물 밀도

최종 생산된 제품내 함유된 유효미생물 HSB 901 균주의 밀도를 측정하기 위하여, 최종 제품 ™뉴파머를 곱게 분쇄하여 멸균된 생리식염수 50ml에 5g을 첨가하고 85℃에서 10분간 열처리를 실시한 후, nutrient agar plate 배지에 희석평판 하였다.

4. 생물 검정

가. 1차 시제품

(1) 종자 발아

1차 제형이 완료된 서방성 마그네슘의 작물생육촉진효과를 조사하고자 상추종자를 대상으로 발아시험을 실시하였다. 1차 제형이 완료된 서방성 수용성 마그네슘의 농도는 4,000ppm으로 적정농도를 규명하고자 1차조건(0, 1, 10, 50, 100, 300, 500, 1000, 2000, 3000, 4000ppm)의 결과를 토대로 2차조건(0, 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50ppm)을 설정하였다.

1, 2차 조건별 서방성 마그네슘 용액을 처리농도별 용액을 Whatman No. 2를 깔은 직경 9cm의 petri dish에 5ml를 넣고 고추, 상추 배추종자를 각각 10개씩 파종하였다. 파종 후 5일 뒤에 발아 상태와 뿌리길이를 측정하였다. 실험은 3반복으로 실시하였으며, germination index(G.I.)는 0ppm처리구를 대조구로 하여 다음과 같은 방법으로 구하였다.

$$G.I = Rt Lt / Rc Lc * 100$$

Rc : 대조구 발아 종자 수 , Rt : 처리구 발아 종자 수, Lc : 대조구 발아 종자의 평균 뿌리 길이, Lt : 처리구 발아 종자의 평균 뿌리 길이.

(2) 배추 포트재배실험

(가) 처리구

서방성 마그네슘의 시용효과를 알아보기 위해 실내포트 시험을 통한 작물재배 검정을 다음과 같이 실시하였다. 처리구는 수용성 마그네슘 농도별로 1, 50, 100, 500, 2000, 4000ppm, 대조구 등 총 7처리구로 나누었고, 각 처리구별 5개의 pot로 반복 실험을 하였다.

(나) 처리 방법

처리구당 상토 60g을 넣고, 수분을 30%로 맞춘 후, 미리 키운 일정한 크기의 배추를 심은

후 3일에 1번씩 3회에 걸쳐 처리구별 관주 및 엽면살포의 두가지 방법으로 시비하였으며, 실험에 사용된 상토의 특성은 아래 표 7과 같다.

표 7. 상토의 화학적 특성

원재료	T-N	T-P ₂ O ₅	T-K ₂ O	수분	유기물
상토	0.26	0.26	1.17	52.6	19.2

(다) 생육조사

처리구별로 매회 서방성 마그네슘용액 살포진 생육조사를 실시하였고, 매회 생육조사는 엽장과 엽폭 측정, 최종 생육조사시 총중량도 측정하였다.

(3) 고추 역병 방제시험

본 연구과제 의해 개발된 아인산 마이크로수화제 및 HSB901(고체배양체)의 고추 역병 (*Phytophthora capsici*) 방제 효과를 상토 및 육묘 트레이를 이용하여 온실내에서 시험하였다.

(가) 처리구 및 처리내용

4×4cm 육묘 트레이에 파종 후 3주 생육한 고추 육묘(왕대박)를 처리구 당 5주씩 3반복으로 제제를 처리하고 1주일 후 고추역병균을 접종하여 병방제 효과를 검정하였으며 실험은 충남대학교 농과대학 소재 유리온실에서 실시하였다. 처리구 및 처리내용은 표 8과 같다.

표 8. 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용	희석배수	처리방법
1	아인산 마이크로수화제(1,000ppm)	100배	50ml/주 지체부 관주
2	아인산 마이크로수화제(500ppm)	200배	
3	아인산 수용액(1,000ppm)		
4	HSB901 고체배양체	200배	
5	HSB901 고체배양체	500배	
6	HSB901 고체배양체	1,000배	
7	무처리	-	멸균수 처리

(나) 병원균 접종

고추역병균(*Phytophthora capsici*)를 10% V8 agar media plate, 25℃에서 5일간 배양하고 실온에서 균체에 NUV(근자외선)를 24시간 조사하여 포자를 유도하였다(그림 9).

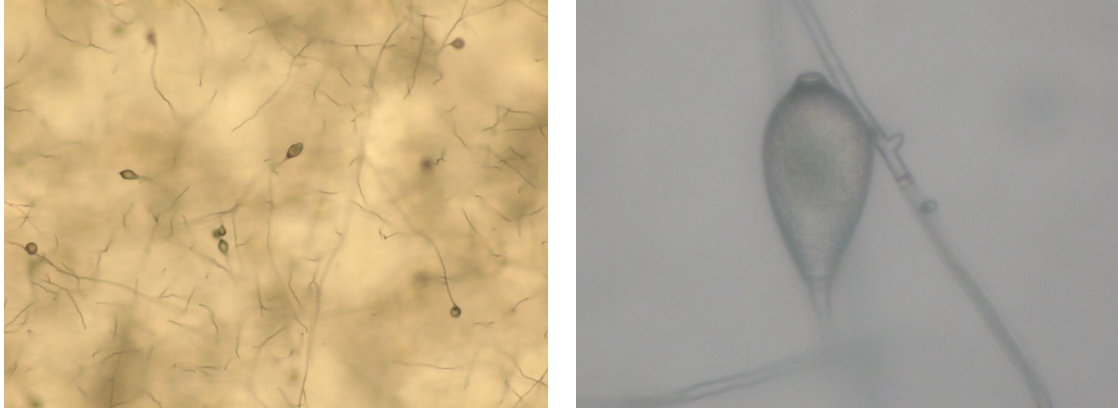


그림 9. 고추역병균(*Phytophthora capsici*) 유주자낭

고추역병균의 유주자낭이 생성된 배지위에 멸균수 10ml를 분주하여 도말봉으로 배지 표면을 문질러 유주자낭을 균사로부터 탈락시킨 후 멸균된 거즈로 균사를 제거하였다. 수확한 유주자낭 현탁액을 10℃에서 10분간 chilling 처리하여 유주자 나출을 유도한 후 유주자 농도가 최종 104zoospores/ml이 되도록 멸균수에 희석하여 고추유묘의 지제부에 25ml씩 관주하여 접종하였다.

(4) 벼 포장재배시험

(가) 생육조사

본 연구과제에 의해 개발된 1차 서방성미량원소 제제와 HSB901(미생물고체배양체)의 효능 및 효과를 검증하기 위하여 충청남도 계룡시 엄사면 청동리에 소재한 보통답에서 약효 시험을 실시하였다(그림 10).

처리구는 단구제 3반복으로 배치하였으며 처리구당 시비량은 토양진단에 의해 표준시비량 ((N-P₂O₅-K₂O) : 9-4.5-5.7kg/10a)을 기준으로 처리하였으며 대조구로서 유박비료(™효진유박, 효성오앤비(주)) 및 유기복합비료(™러브미, 효성오앤비(주))를 처리하였다. 처리구별 처리 내용은 표 9와 같다.



그림 10. 1차 시제품 벼 생육촉진 효과 시험포

표 9. 벼 생육실험 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용
①	유박
②	유박 + HSB901
③	유박 + Mg-서방성제제
④	유박 + 규산질(6%)
⑤	유박 + HSB901 + Mg-서방성제제 + 규산질(6%)
⑥	유기복합
⑦	유기복합 + HSB901
⑧	유기복합 + Mg-서방성제제
⑨	유기복합 + HSB901 + Mg-서방성제제
⑩	유기복합 + HSB901 + Mg-서방성제제 + 규산질(6%)

본 연구에 의한 혼합유박은 이앙 10~15일전에 고르게 살포 처리하였으며 이앙은 2010년 5월 25일자로 재식거리 30×14cm으로 기계이앙을 실시하였다. 중묘의 이앙은 처리별 주당 6본으로 보정하였으며, 이앙 후 45일째 최고분얼기와 56일째에 유수형성기 생육조사를 실시하였으며, 각 처리구마다 3반복을 두어 자료를 평균하여 계산하였다.

나. 2차 시제품

(1) 난용성 인산가용화능

2차 시제품의 난용성 인산가용화능을 측정하기 위해 멸균수 100ml에 인광석(중국, 총인산 : 30.9%) 1g과 2차 시제품 1g을 첨가하여 30℃에서 진탕배양기(190~200rpm)로 배양하면서 24시간 간격으로 0, 1, 3, 5, 7, 11, 13, 17일차에 배양상등액을 취하여 유리인산의 농도를 바나도몰리브덴산법으로 비색정량하였다.

한편 대조구는 멸균수 100ml에 인광석(중국, 총인산: 30.9%) 1g과 주관기관인 효성오앤비(주)의 기존 유박제품 1g을 첨가하여 2차 시제품 처리와 동일하게 배양을 실시하여 유리인산 농도를 측정하였다.

(2) 질소무기화능

2차 시제품의 질소무기화율에 미치는 영향을 조사하기 위해 다음과 같이 무기태질소의 생성량을 측정하였다. 실험은 2차 시제품 분말 20g을 멸균된 50ml 튜브에 넣은 후 수분을 20%로 보정후 밀봉하여 30℃에서 정지 배양하였다. 대조구는 유박 분말 20g을 사용하였으며 처리 방법은 동일하게 실험하였다. 시료는 배양 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15일차에 샘플을 취하고 시간 별 시료 전량을 2M KCl로 추출하여 Kjeldahl distillation법으로 무기태질소의 총량을 측정하였다.

(3) 상추, 배추 및 고추 포장 재배시험

본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소가 첨가된 유박비료의 상추와 배추 재배실험은 충남대학교 농업생명과학대학 부설농장의 비닐하우스에서 실시하였으며, 고추 재배실험은 부설농장의 노지에서 실시하였으며, 토성은 사양토였으며 상추, 배추, 고추 재배실험을 수행하기에 적합한 토양이었다.

(가) 처리구 및 시비 방법

처리구는 유박비료를 처리하지 않은 무처리구, 유박비료를 처리한 적량 처리구, 적량의 배수를 처리한 배량 처리구 각각 3반복을 하였다.

2011년 8월 22일 상추묘와 배추묘를 정식하였으며, 고추묘의 경우 2011년 8월 3일에 정식하였고 각 처리구는 농촌진흥청 표준 경종법에 의해 실시하였다.

유박비료는 묘를 정식하기 1주일 전에 전량 기비로 시비하였고, 처리량은 표 10과 같다.

표 10. 처리구 및 시비량

처리구	시비량(kg/3.3m ²)		
	상 추	배 추	고 추
무처리구	-	-	-
적량 처리구	1	1	1
배량 처리구	2	2	2

(나) 생육조사

유박비료 처리에 따른 상추 생육조사는 정식 후 2개월 후인 2011년 10월 21일에 엽장, 엽폭, 엽수, 엽록소 함량 및 생체중량을 조사하여 각 처리구의 평균값을 계산하였다.

배추 생육조사 또한 상추의 생육조사와 마찬가지로 정식 후 2개월 후인 2011년 10월 21일에 엽장, 엽폭, 엽록소 함량 및 생체중량을 각 처리구 당 조사하여 평균값을 계산하였다.

고추의 생육조사는 정식 후 3개월 후인 2011년 11월 2일에 주당 높이, 지체부의 폭, 엽록소 함량, 열매개수 및 생체 중량을 조사하여 각 처리구 당 평균값을 계산하였다.

(다) 토양이화학성 분석

pH와 EC는 1:5법, 유기물(O.M.)은 Tyurin법, 총질소 Kjeldahl법, 유효인산은 Bray No.1 법, 치환성 양이온(K, Na, Ca, Mg)은 1N NH₄OAc로 1시간 진탕 후 ICP(PerkinElmer Optima 7300DV)로 측정하였다.

(4) 벼 재배시험

(가) 생육조사

본 연구과제에 의해 개발된 2차 서방성 미량원소 제제가 함유된 유기질 비료의 적정 사용량과 생육촉진 효과를 검증하기 위하여 충청남도 논산시 연산면 청동리에 위치한 유기인증을 받은 농가의 수도재배지에서 포장 재배시험을 실시하였다. 벼의 품종은 호품벼, 토양은 미사질 양토, 처리구는 단구제 3반복으로 배치하였으며 처리구당 시비량은 토양진단에 의해 표준시비량((N-P₂O₅-K₂O): 9-4.5-5kg/10a)을 기준으로 처리하였으며 대조구로서 유박비료(™러브미, 질소기준 7kg/10a)효성오앤비(주))를 처리하였다. 처리구별 처리 내용은 표 11과 같다.

표 11. 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용	처리량(g/39.3m ²)
1	무비구	-
2	대조구	5,132
3	적량구	5,132
4	배량구	10,264

(나) 토양이화학성

본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제가 함유된 유기질 비료의 사용에 따른 토양이 화학성 변화를 측정하였다. pH와 EC는 1:5법, 유기물(O.M.)은 Tyurin법, 총질소 Kjeldahl법, 유효인산은 Bray No.1 법, 치환성 양이온(K, Na, Ca, Mg)은 1N NH₄OAc로 1시간 진탕 후 ICP(PerkinElmer Optima 7300DV)로 측정하였다.

다. 최종 제품(™뉴파머)

(1) 상추 재배시험

(가) 생육조사

본 연구개발에 의해 3차년도에 최종적으로 확립된 균주배양 조건 및 제형조건에 의해 생산된 최종 제품 “™뉴파머”의 성능 및 비효 시험을 위해 2011년 6월 2일부터 2011년 8월 5일까지 상추를 이용하여 재배시험을 실시하였다. 대조구로는 본 연구과제의 주관기관인 효성오앤비(주)에서 생산된 ™유박골드를 사용하였으며 처리구 및 처리내용은 표 12와 같다.

표 12. 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용	처리량 kg/3.3m ²
1	무비구	N-P-K: 20-5.9-13 kg/10a
2	화학구	2 kg/3.3m ²
3	대조구	2 kg/3.3m ²
4	™뉴파머	1.5 kg/3.3m ²

대전 연구소 하우스에서 상추(품종: 적치마)를 대상으로 pot(15×20cm)에 공시토양을 충전하고 임의배치법으로 5반복 수행하였다. Growth chamber에서 5엽까지 자란 상추를 인공토양이 첨가된 포트에 옮겨 심은 후 생육실험을 진행하였으며, 시비방법은 상추 정식 7일전 화학비료,

유박골드 및 ¹⁵N뉴파머를 기비로 시용하였다. 또한, 생육 및 수량조사는 정식 후 20일째, 30일째, 40일째 걸쳐 3회 엽장, 엽폭, 엽수, chlorophyll 함량, 생체량, 건물중을 조사하여 평균값으로 계산하였다.

(나) 토양 이화학성

토양과 식물체시료의 분석은 농업과학기술원의 토양 및 식물체 분석법 (NIAST, 2000)에 준하여 분석하였으며, 토양은 채취 후 풍건하여 2mm 체를 통과시켜 분석하였다. pH 및 EC는 5배량의 물로 추출하여 초자전극법, T-N은 Kjeldahl 증류법, OM은 Tyurin법, 유효태인산은 Lancaster법, 치환성 양이온(K, Ca, Mg)은 1N NH₄OAc로 1시간 진탕 후 원자흡수분광기 (AA-6800, Shimadzu)로 분석하였고, 양이온치환용량 (CEC)은 1N-NH₄OAc (pH 7.0)로 포화시키고 ethanol로 과잉의 NH₄를 제거한 후 HCl로 산성화한 1N-CaCl₂로 NH₄를 용출시켜 Kjeldahl 증류법으로 분석하였다.

(다) 식물체 분석 및 균수 측정

최종생육조사 후 상추내 양분 특성 조사를 위해 식물체의 N, P, K 분석을 실시하였으며, 토양의 변화 양상을 조사하기 위하여 처리구별 토양 pH, EC 및 균밀도를 측정하였다.

식물체는 H₂SO₄-HClO₄로 습식 산분해하여 질소는 Kjeldahl법, 인산 Vanadate법, K는 염광광도법(flame photometer)으로 분석하였고, pH 및 EC는 5배량의 물로 추출하여 초자전극법으로 측정하였다.

총균수는 토양 희석평판법으로 개체수를 측정하였으며, Bacillus속 균수 측정은 85°C에서 10분간 열처리 후 희석평판법으로 분석하였다.

제 4 절 연구 결과

1. 유용미생물 분리 및 원재료 선발

가. 토양으로부터 유용미생물 분리

인산가용화균, 유기물분해균과 항진균활성을 가지는 균을 분리하기 위한 분리원은 경북, 경남, 충북, 충남 및 전북의 고속도로 및 국도 주변의 비경작 산림과 논밭을 포함한 재배지 토양을 그 대상으로 하였다. 또한, 작물의 재배과정 중에 투여되는 미생물을 배제하기 위하여 비경작 산림 토양으로부터 총 528개의 시료를 채집하였으며 시료로부터 총 466균주를 분리 및 확보하였다(표 13).

표 13. 미생물 분리를 위한 채집 시료 및 지역별 균주 분리 현황

지 역		채집시료수(점)	분리 미생물
경북	상주	57	61
	성주	26	23
	의성	9	6
	청도	10	8
경남	합천	43	55
전북	무주	26	16
	정읍	40	35
충북	영동	25	16
	오창	6	2
	옥천	14	12
	음성	23	18
	청주	25	26
충남	논산	56	41
	목천	24	18
	병천	25	26
	연산	29	31
	조치원	38	25
기타		52	47
계		528	466

나. 분리미생물의 선발 및 동정

(1) 난용성 인산가용화균 선발

(가) 1차 검정

분리된 미생물을 난용성 인산 가용화 검정용 배지 YMA (Yeast-malt extract agar)와 calcium phosphate를 함유한 평판배지의 중앙에 획선 접종하여 28℃에서 7일간 배양 후 균총 주변의 투명대 형성 유무로 1차 선발하였다. 그림 11과 같이 분리 균주 466 균주 중 HSB901, HSB902 및 HSB903 균주를 포함하여 분리균주의 15%인 총 71균주가 균총 주변에 투명대를 형성하여 인산 가용화 활성이 있는 것으로 나타났다.



그림 11. HSB901, HSB902 및 HSB903 균주의 난용성 인산 가용화 검정

(나) 2차 검정

1차 검정결과와 항균활성 검정 결과를 근거로 1차 선발 HSB901, HSB902 및 HSB903 균주의 난용성 인산의 유리화능을 조사한 결과, 유리인산의 농도가 3일차에 139, 178, 169ppm으로 측정되었다. 본 연구에서 선발된 균주와 효성오앤비(주)가 기존에 보유하고 있는 SM-104, YT-209균주를 대조균주로 하여 8일차까지 가용성 인산함량을 측정한 결과, 비교균주들이 3일차까지 난용성 인산가용화 속도가 빠르게 상승한 반면 본 연구에서 선발된 HSB901, HSB902 및 HSB903 균주는 초기에는 난용성 인산가용화능이 다소 떨어지는 경향이 보였으나 7일 이후 비슷한 수준을 보이고 있었다(그림 12).

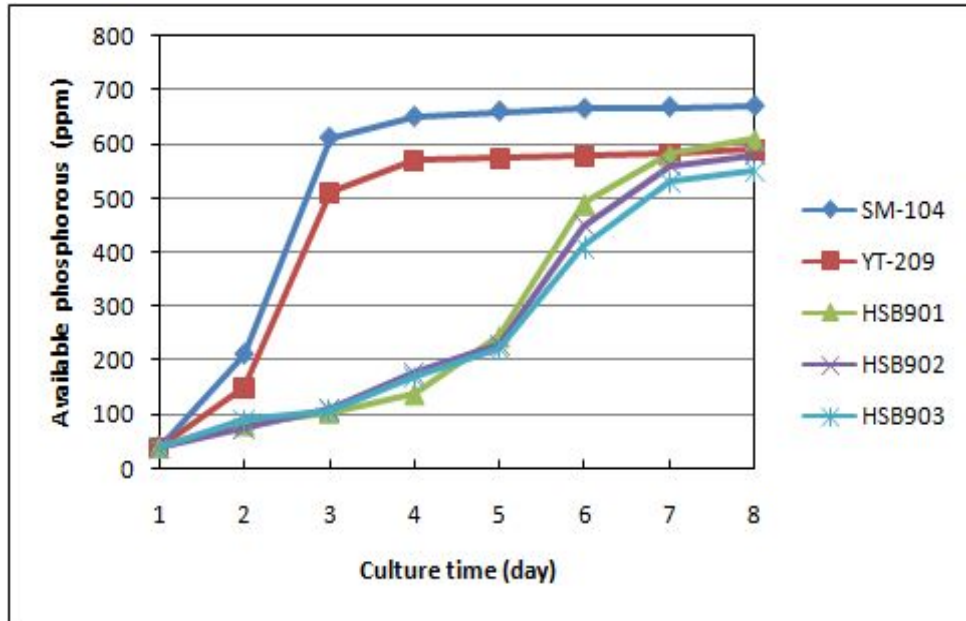


그림 12. 선발균주와 타제품 인산가용화능균주의 경시적 가용성 인산함량

그러나 비교균주의 경우 방선균과 효모로 제품의 제형화에 있어 다소 어려운 점이 있었으나 선발균주의 경우 바실러스속으로 아포형성 및 내열성이 우수하여 향후 제형화에 유리할 것으로 판단하였다.

기 보고된 *Pseudomonas* sp. 균주를 이용한 인광석의 인산가용화량을 측정된 결과와 비교해 보면 다음과 같다. 인광석을 4g/L 첨가하여 배양하면서 경시적으로 생성되는 유리인산농도가 최대 518ppm 수준이었으며 이후 큰 변화가 없었다. 이는 미생물의 인산가용화에 어느 정도 한계가 있음을 보여주는 것이며 *Pseudomonas* sp. 균주의 경우 48시간 경과시 최대 유리인산함량을 보이고 있다. 따라서 방선균이나 효모의 경우와 마찬가지로 초기 인산염의 가용화 속도가 높은 것을 알 수 있다.

특히 가용성 인산의 함량에 있어 *Penicillium* sp., *Pseudomonas* sp. 균주의 인광석 분해량은 각각 80~585ppm, 518ppm 수준에 비해 HSB901균주가 최대 610ppm으로 인산분해능이 매우 높은 것을 알 수 있다.

최종 제형화 과정에 있어 사용의 편리성을 도모하고자 입상형태로 제품을 완성하고자 함에 있어 HSB901, HSB902 및 HSB903균주는 모두 바실러스속으로 이들 균주의 제형화 방법을 확립할 계획에 있다. 한편 HSB901의 경우 유기물분해력도 우수하여 최종적으로 2차 시제품제작을 위한 균주로 선발하여 작물재배실험을 통한 검정을 수행하였으며 균주 또한 기탁하여 보관하였다.

(2) 유기물 분해 미생물

(가) 1차 검정

전분, 단백질(skim-milk), 지질(tributyryn) 성분을 각각 첨가하여 제조된 방선균 분리용 배

지(Difco™ Actinomycete Isolation Agar), 세균 분리용 배지(Nutrient agar)에서 투명대가 형성된 균총을 선발하였으며 총 466 균주 중에서 약 35%인 162 균주가 유기물 분해능이 있는 것으로 나타났다.

(나) 2차 검정

1차 선발된 유기물 분해 미생물을 전분, 단백질, 지질 성분을 각각 첨가한 Bennett's agar 및 Nutrient agar 배지에 획선으로 접종하고 25℃에서 배양하여 1~7일 후, 선발 미생물의 균총(colony)으로부터 형성된 투명대의 직경을 분해정도로 표기하여 아래 표 14와 그림 13에 나타내었다.

표 14. 주요 유기물 분해 미생물의 유기물 분해정도

균 주	유기물 분해능*			균 주	유기물 분해능		
	전분	단백질	지질		전분	단백질	지질
Gyh-1	++++	+++	-	HC-13	++	+++	-
Gyh-2	++++	+++	-	HC-14	++	+++	-
Gyh-4	++++	+++	+	HC-15	++++	++	-
Gyh-6	+++	+	-	HC-16	+++	+++	-
Gyh-7	+++	+	-	HC-17	++	+	+
Gyh-8	+	+	+++	HC-19	++	+	+
Gyh-9	-	+++	++	HC-20	++	+	++
Gyh-10	++	+	++	HC-21	++	+	++
Gyh-11	+	+	+	HC-23	++		
Gyh-12	+++	+	-	HC-24	++	-	+
Gyh-13		+	++	HC-25	++	+++	-
Gyh-14	+++	+	-	HC-28	+++	+	-
Gyh-16	+	+	++	HC-29	+++	+++	-
Gyh-17	+	-	-	HC-30	+++	++	-
Gyh-18	-	-	++	HC-31	+	++	+
Gyh-19	+	++	++	HC-32	++++	+	-
Gyh-20	++	++	+	HC-33	+++	+	-
Gyh-21	++	-	-	HC-34	++	+++	-
Gyh-24	+	+++	++	HC-35	++	+++	-
HC-3	-	++	+	HC-38	++	+	-
HC-4	+++	++++	-	HC-39	-	++	+
HC-7	+++	+++	-	HC-42	+++	++	-
HC-8	+++	++	-	HC-43	+	+	++
HC-9	+++	+++	-	HC-44	-	++	-
HC-11	+++	+++	-	HC-45	++	++	-

* +: 2mm 미만; ++: 2~3mm 미만; +++: 3~4mm 미만; ++++: 4mm 이상

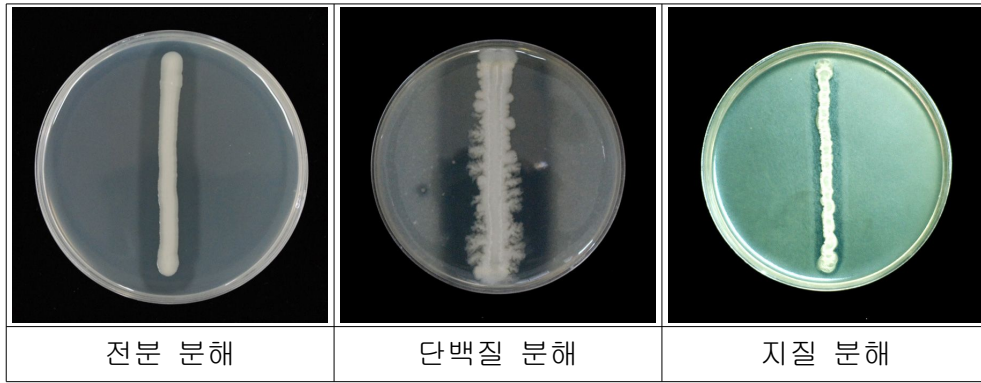


그림 13. 선발된 유기물 분해 미생물의 분해능

(3) 길항 미생물

(가) 1차 검정

시들음병균(*Fusarium oxysporum*)은 토양중에 높은 밀도로 널리 분포하고, 채소류, 화훼류, 다년생 관상식물 등 여러 작물에 발병하여 유관속 시들음병(vascular wilts)을 일으키는 대표적인 토양전염성 곰팡이로 알려져있다. 또한, 시들음병균은 후막포자를 형성하여 월동 및 장기간 토양속에서 기주식물 없이도 생존이 가능하여 농약에 의한 방제가 어렵다. 따라서 화학적 방제법을 대체할 수 있는 생물학적 방제 연구가 필요하다.

이와 같은 까닭으로 본 연구에서는 시들음병균을 대상으로 1차 항진균성 미생물 선발을 실시하였다. 그 결과 전체 466 균주 중 183 균주가 그림 14와 같이 투명대를 형성하여 항진균성을 나타냈으며, 2균주는 항세균성을 갖는 것으로 확인되었다.



그림 14. 투명대를 형성하는 항진균성 미생물 균주

(나) 2차 검정

① 균사생장 저해

PDA 이용하여 1차 선발된 미생물 균주들은 대표적인 식물병원성 곰팡이인 잿빛곰팡이병

균(*Botrytis cinerea*), 역병균(*Phytophthora capsici*), 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*), 균핵병균(*Rhizoctonia solani*), 시들음병균(*Fusarium oxysporum*) 및 근부병균(*Cylindrocarpon destructans*)을 대상으로 2차 항균활성을 실험하였다.

그림 15와 같이 균사의 끝부분이 날카로운 칼로 자른 듯 생장이 멈춘 것과 병원균의 균사 생장이 대조구에 비하여 현저히 느린 처리구를 항균활성 균주로 선발하였으며 그 활성은 접종 원(paper disc)과 식물병원성 곰팡이 생장 저해부위 균사와의 거리를 저해정도(Index of inhibition, +: 5mm 미만; ++: 5~10mm 미만; +++: 10~15mm 미만; ++++: 16mm 이상)로 표시하였으며 아래 표 15에 나타내었다.

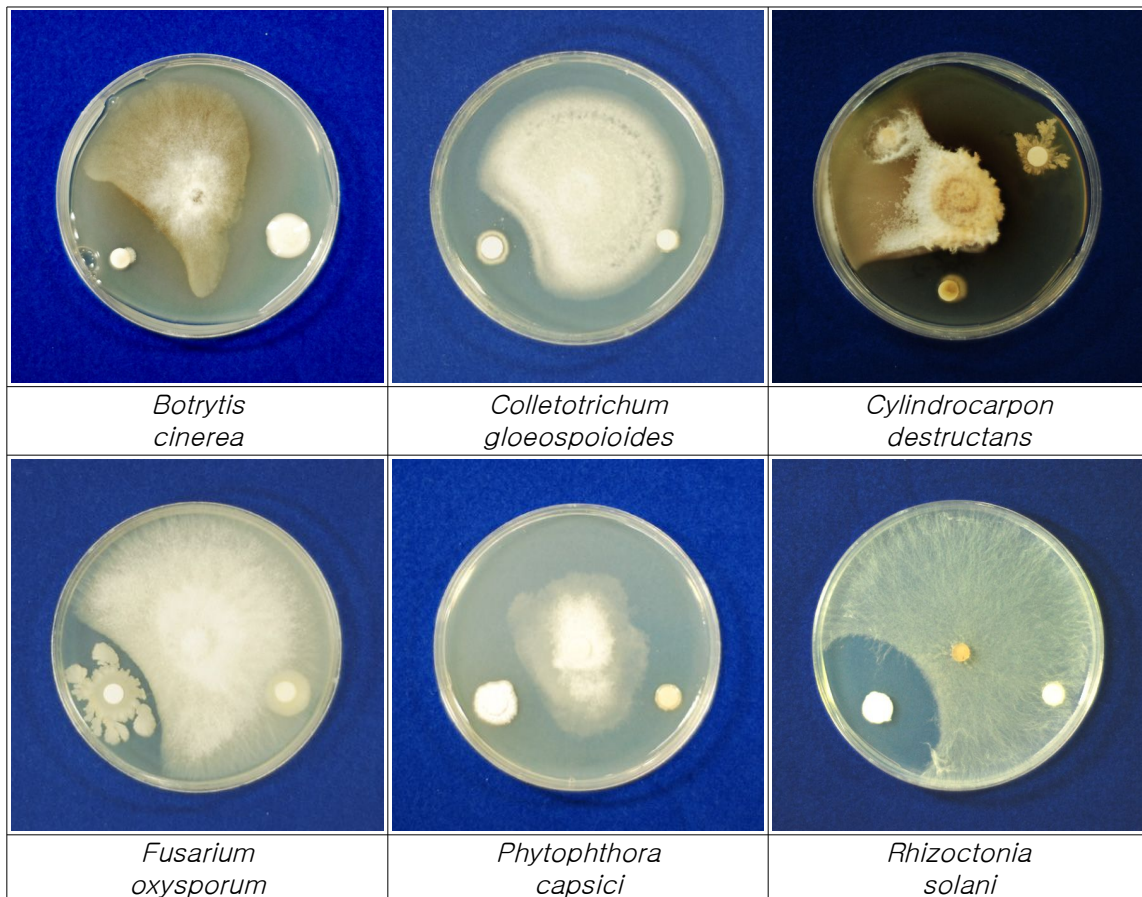


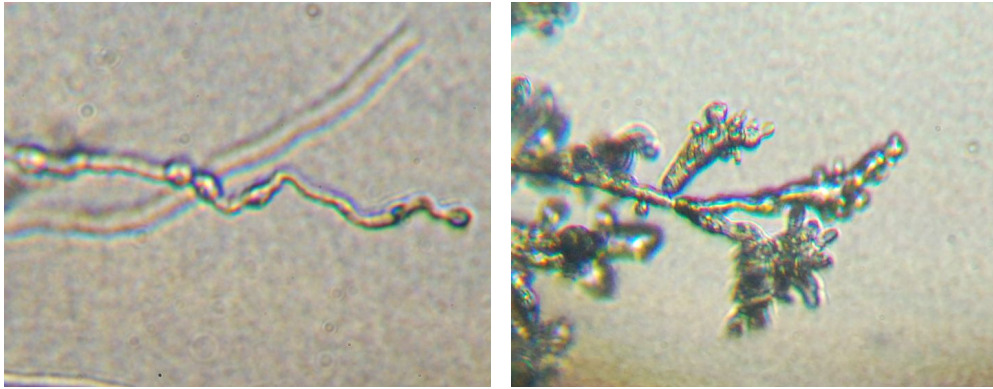
그림 15. 항균 활성이 우수한 균주와 식물병원성 곰팡이 대치배양

대치 배양에 의한 2차 검정 후 분리균과 가까운 쪽의 시들음병균 균사를 현미경으로 관찰 결과, 균사의 팽윤현상이 관찰 되었다(그림 16). 이러한 균사 팽윤 현상은 항균활성이 관찰된 균주의 대부분에서 나타났다. 또한, 분리균과 가까운 쪽의 역병균 균사는 분지가 많아지고 분지 간격도 좁아지면서 균사 첨단부분의 팽윤 현상이 매우 뚜렷하게 관찰되었다.

표 15. 주요 미생물의 주요 식물병원균에 대한 항균활성

Isolate	Inhibition index*					
	<i>Botry.</i>	<i>Collet.</i>	<i>Cylind.</i>	<i>Fusari.</i>	<i>Phyto.</i>	<i>Rhizoc.</i>
KN-3	+++	++	+	-	++	++
JM-4	+++	+	-		++	-
13574	++++	++	+	+	+++	-
13575	+++	+	-	+	+++	-
13576	+++	++	+	+	+	-
SAaf-5	+	+	+	+	+++	+
SAaf-9	++++	++	++	+	++++	+++
SAaf-10	+++	+	+	+	+	+
SAaf-11	++	+	-	-	+	+
SAaf-16	++++	+	-	+	++	-
SAaf-17	+++	++	++	+	+	-
SAaf-18	+++	+	++	++	+	-
OCaf-2	++++	+++	++	++	+++	++
SAph-2	+++	+	-	-	++	-
SAph-3	+++	-	-	-	-	-
SAph-8	++++	+	-	-	+++	++
SAph-10	+++	+	++	+	+	+
SAph-14	++++	+	+	-	+++	+
SAph-15	+++	+	-	-	+++	+
SAph-21	++++	+	++	-	++	+
SAph-22	++	-	-	-	+	-
SAph-23	++++	+	-	+	+++	++
SJph-4	+++	++	++	++	++	-
SJph-5	++++	+++	+	-	+++	-
SJph-6	++++	+	+	-	++	-
CJph-2	++++	+	+	-	++++	+
CJph-3	+++	-	+	-	+	-
CJph-4	++	-	+	-	+	-
HCph-7	+++	+	-	-	-	-
HCph-9	+++	+	-	-	+	-
HCph-10	+++	+	-	-	+	-

*+: 5mm 미만; ++: 5mm 이상~10mm 미만;
 +++: 10mm 이상~15mm 미만; ++++: 16mm 이상



시들음병균

역병균

그림 16. 대치배양에 따른 시들음병균 및 역병균의 균사팽윤 현상

② 타사 미생물균주와 길항력 비교

2차 길항력 검정을 통해 선발된 CJph-12(HSB901) 균주와 타사제품에 함유되어 있는 길항 미생물과의 대치배양을 통해 본 연구에 의해 선발된 균주와 길항능을 비교한 결과 다음 그림 17과 18에 나타난 바와 같이 여러 종의 다양한 식물병원성 곰팡이에 우수한 길항력을 나타내는 것을 알 수 있었다.





Fungus	HSB901 Vs BA-1	HSB901 Vs BI-1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		
<i>Cylindrocarpon destructans</i>		

그림 17. *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cylindrocarpon destructans*에 대한 길항력 검정
(좌하단 : 선발균주, 중앙 : 병원성곰팡이, 우하단 : 대조균주)








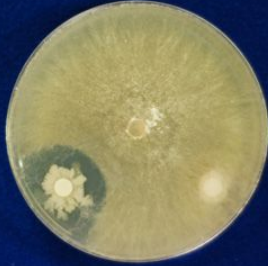


Fungus	HSB901 Vs BA-1	HSB901 Vs BI-1
<i>Fusarium oxysporum</i>		
<i>Phytophthora capsici</i>		
<i>Pythium ultimum</i>		
<i>Rhizoctonia solani</i>		
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		

그림 18. *Fusarium oxysporum* 외 4종의 병원균에 대한 길항력 검정
(좌하단 : 선발균주, 중앙 : 병원성곰팡이, 우하단 : 대조균주)

본 연구에 의해 선발된 균주와 타사제품에서 유래된 균주들의 식물병원성 곰팡이에 대한 길항력을 균사생장 저해률을 측정한 결과 다음 표 16과 같다.

표 16. 주요 식물병원성 곰팡이에 대한 균사생장 저해률

Fungus	Inhibition rate of mycelial growth (%)		
	HSB901	BA-1	BI-1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	45.29	47.92	0
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	82.98	84.04	31.58
<i>Fusarium oxysporum</i>	41.82	43.64	0
<i>Phytophthora capsici</i>	52.73	36.36	0
<i>Pythium ultimum</i>	66.25	63.75	0
<i>Rhizoctonia solani</i>	72.00	69.00	0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	77.14	76.20	0

타사 미생물제제 유래 미생물과 과제 선발균주 CJph-12(HSB901)의 길항력을 비교한 결과, A사의 미생물제품에서 유래한 BI-1 미생물은 길항력이 없는 것으로 판명되었다. 또한 대치배양 사진에서 BI-1의 *Cylindrocarpon destructans*에 대한 균사생장 저해율 31.58%는 길항효과 보다는 접종미생물(BI-1)의 선점에 의한 영양분 고갈효과에 의한 것으로 판단된다.

한편 B사의 미생물제품에서 유래한 BA-1 미생물은 본 과제에서 선발된 HSB-901균주와 길항력이 유사하였으나, 유의차 있는 수준에서의 차이는 보이지 않았다.

(4) 질소무기화

피마자박의 원료혼합에 따른 구성성분에 대한 고찰결과 30쪽에 언급한 바와 같이 2차 시제품에 사용가능하며 1차 선발된 HSB803, 901, 902, 903, 904 균주의 혼합에 따른 제품개선에 대한 효과를 검증하고자 다음과 같이 피마자박에 선발균주의 액상배양액과 탈지강과 제오라이트를 이용해 배양한 고체배양체 혼합하여 질소의 무기화를 조사하였다.

질소무기화에 대해 문헌고찰 결과는 다음과 같으며 유박의 경우 토양에서 무기화과정을 통해 작물에 영양원을 공급하게 되므로 선발된 피마자박내 질소의 무기화 측정을 통해 선발균주를 평가할 수 있다.

질소를 비료로서 토양에 첨가하면, 그 중 20~35%는 토양중에서 유기성질소로 변환되며 토양미생물의 분해작용에 의해 암모니아태 또는 질산태 질소의 무기형태로 전환되어 식물이 이용할 수 있게 되며 이러한 과정이 질소의 무기화작용으로 무기화 속도는 수분, 온도, pH, 유기물의 종류, 유기물의 탄질율과 토양특성 등에 영향을 받게 된다. 일반적으로 호기조건에서

유기태 질소는 미생물에 의해 쉽게 무기화 되어 유기태 질소가 $\text{NH}_4\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3\text{-N}$ 으로 형태적 변화가 이뤄진다. 중간생성물인 $\text{NO}_2\text{-N}$ 은 토양내에서 화학적으로 매우 불안정하여 질산태 질소로 빠르게 변화된다. 이러한 질소의 무기화 과정중 NH_3 와 N_2O 의 형태로 방출되어 질소의 손실이 이루어지게 된다.

따라서 선발된 균주의 피마자박내 질소의 무기태질소의 생성량에 미치는 영향을 조사하게 되었다.

(가) 미생물 배양액처리

선발균주의 액상배양액을 피마자박에 첨가하여 1일에서 17일까지 무기태질소의 함량을 분석한 결과(그림 19) HSB904균주의 활성이 최소이며 HSB803, 902, 903이 비슷한 수준을 보이고 있다. 균주 배양액의 첨가에 의한 무기태질소 함량의 최대를 나타낸 HSB901균주의 경우 11일차 이후 급속히 증가하는 특성을 보이고 있다. 대조구를 제외한 모든 배양액 처리구에서 7일까지 서서히 무기태질소의 함량이 증가하며 HSB904를 제외한 균주처리구는 7~9일후 크게 증가하고 있는 것을 알 수 있다.

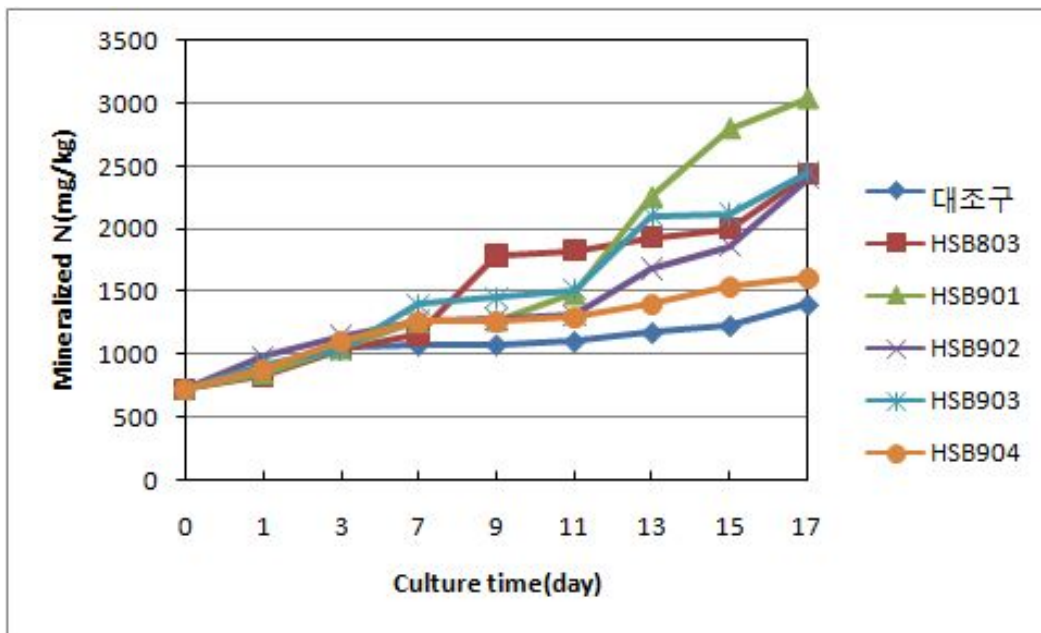


그림 19. 선발균주 배양액 처리에 의한 피마자박의 무기태질소 함량

(나) 미생물 고체배양체 처리

탈지강과 제오라이트베지에 선발균주를 고체배양한 후 피마자박에 혼합하여 토양에 처리하여 무기태질소의 함량변화를 조사결과는 그림 20과 같이 HSB901, 902, 903이 최종적으로 최대 수준을 보이고 있다.

HSB904의 경우 액상배양액 첨가와 마찬가지로 선발균주내 최소함량을 보이고 있으며 HSB803균주도 높은 무기태질소 함량을 보이고 있다. 피마자박에 직접 처리한 경우에 비해 함

량이 낮은 이유는 토양이 보유했던 무기태질소의 함량이 20mg/kg 수준으로 매우 낮았기 때문으로 판단되며 질소원인 피마자박의 함량이 액상배양시보다 10배로 감소하였기 때문이다.

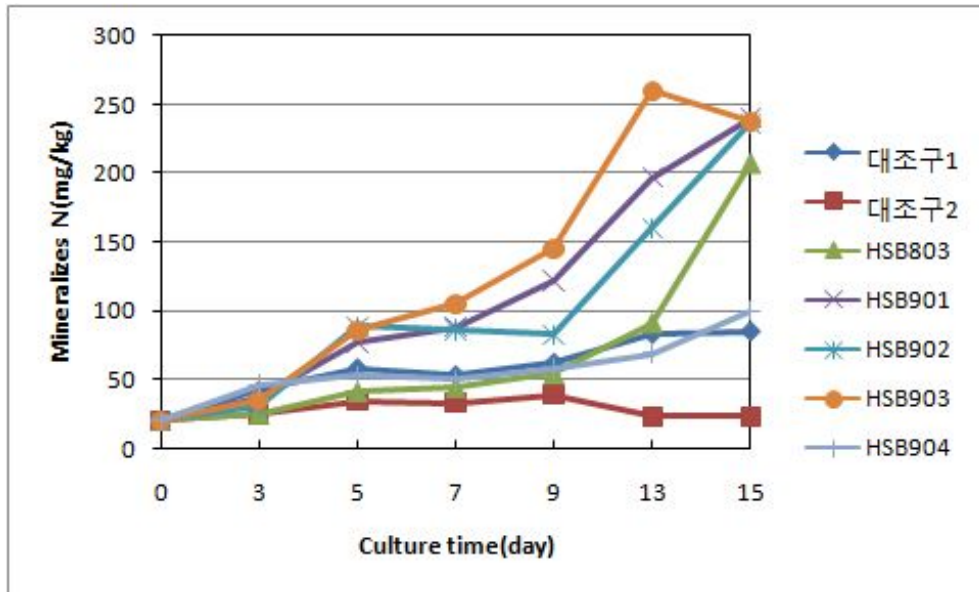


그림 20. 선발균주의 고체배양체 처리에 의한 토양중 피마자박의 무기태질소 함량

(5) 동정

(가) API kit를 이용한 동정

① 난용성 인산가용화균

생화학적 특성 분석에 의한 동정은 Biomerieux사의 API kit를 이용하여 실시하였으며, 그 결과 HSB901 균주는 *Bacillus pumilus*와 99.9%의 상동성을 보였으며, HSB902, 903 균주는 *Bacillus megaterium*과 98.9%와 99.8%의 상동성을 나타내었다(그림 21 및 표 17, 18, 19).

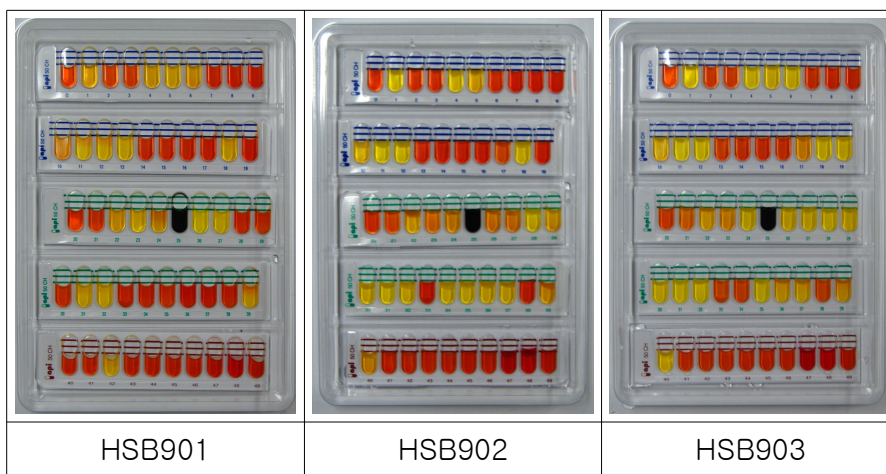


그림 21. HSB901, 902 및 903 균주의 API kit 결과

표 17. HSB901 균주의 API kit 기질 이용성 판독결과

기 질	이용성	기 질	이용성	기 질	이용성
Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	-
Ethritol	-	Sorbitol	-	Raffinose	-
D-arabinose	-	α -Methyl-D-Mannoside	-	Starch	-
L-arabinose	+	α -Methyl-D-Glucoside	-	Glycogen	-
Ribose	+	N-Acetyl-Glucosamine	+	Xylitol	-
D-xylose	+	Amygdalin	+	Gentiobiose	+
L-xylose	-	Arbutin	+	D-Turanose	-
Adonitol	-	Esculin	+	D-Lyxose	-
b-Methyl-D-xyloside	-	Salicin	+	D-Tagatose	+
Galactose	+	Cellobiose	+	D-Fucose	-
Glucose	+	Maltose	-	L-Fucose	-
Fructose	+	Lactose	-	D-Arabitol	-
Mannose	+	Melibiose	-	L-Arabitol	-
Sorbose	-	Sucrose	+	Gluconate	-
Rhamnose	-	Trehalose	+	2-Keto-Gluconate	-
Dulcitol	-	Inulin	-	5-Keto-Gluconate	-
Inositol	-				

표 18. HSB902 균주의 API kit 기질 이용성 판독결과

기 질	이용성	기 질	이용성	기 질	이용성
Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	+
Ethritol	-	Sorbitol	-	Raffinose	+
D-arabinose	-	α -Methyl-D-Mannoside	-	Starch	+
L-arabinose	+	α -Methyl-D-Glucoside	-	Glycogen	+
Ribose	+	N-Acetyl-Glucosamine	+	Xylitol	-
D-xylose	-	Amygdalin	+	Gentiobiose	+
L-xylose	-	Arbutin	+	D-Turanose	+
Adonitol	-	Esculin	+	D-Lyxose	-
b-Methyl-D-xyloside	-	Salicin	+	D-Tagatose	-
Galactose	+	Cellobiose	+	D-Fucose	-
Glucose	+	Maltose	+	L-Fucose	-
Fructose	+	Lactose	+	D-Arabitol	-
Mannose	-	Melibiose	+	L-Arabitol	-
Sorbose	-	Sucrose	+	Gluconate	-
Rhamnose	-	Trehalose	+	2-Keto-Gluconate	-
Dulcitol	-	Inulin	-	5-Keto-Gluconate	-
Inositol	-				

표 19. HSB903 균주의 API kit 기질 이용성 판독결과

기 질	이용성	기 질	이용성	기 질	이용성
Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	-
Ethritol	-	Sorbitol	+	Raffinose	+
D-arabinose	-	α -Methyl-D-Mannoside	-	Starch	+
L-arabinose	+	α -Methyl-D-Glucoside	-	Glycogen	+
Ribose	+	N-Acetyl-Glucosamine	+	Xylitol	-
D-xylose	+	Amygdalin	+	Gentiobiose	+
L-xylose	-	Arbutin	+	D-Turanose	+
Adonitol	-	Esculin	+	D-Lyxose	-
b-Methyl-D-xyloside	-	Salicin	+	D-Tagatose	-
Galactose	+	Cellobiose	+	D-Fucose	-
Glucose	+	Maltose	+	L-Fucose	-
Fructose	+	Lactose	+	D-Arabitol	-
Mannose	-	Melibiose	+	L-Arabitol	-
Sorbose	-	Sucrose	+	Gluconate	-
Rhamnose	-	Trehalose	+	2-Keto-Gluconate	-
Dulcitol	-	Inulin	-	5-Keto-Gluconate	-
Inositol	+				

② 유기물 분해균

생화학적 특성 분석에 의한 동정은 Biomerieux사의 API kit를 이용하여 실시하였으며, 그 결과 HSB803 균주는 *Bacillus subtilis*와 96.6%의 상동성을 보였다(표 20).

표 20. HSB803 균주의 API kit 기질 이용성 판독결과

기 질	이용성	기 질	이용성	기 질	이용성
Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	-
Ethritol	-	Sorbitol	+	Raffinose	-
D-arabinose	-	α -Methyl-D-Mannoside	-	Starch	-
L-arabinose	+	α -Methyl-D-Glucoside	-	Glycogen	-
Ribose	+	N-Acetyl-Glucosamine	-	Xylitol	-
D-xylose	-	Amygdalin	+	Gentiobiose	+
L-xylose	-	Arbutin	+	D-Turanose	-
Adonitol	-	Esculin	+	D-Lyxose	-
b-Methyl-D-xyloside	-	Salicin	+	D-Tagatose	-
Galactose	-	Cellobiose	+	D-Fucose	-
Glucose	+	Maltose	+	L-Fucose	-
Fructose	+	Lactose	-	D-Arabitol	-
Mannose	+	Melibiose	-	L-Arabitol	-
Sorbose	-	Sucrose	+	Gluconate	-
Rhamnose	-	Trehalose	+	2-Keto-Gluconate	-
Dulcitol	-	Inulin	+	5-Keto-Gluconate	-
Inositol	+				

③ 길항균

생화학적 특성 분석에 의한 동정은 Biomerieux사의 API kit를 이용하여 실시하였으며, 그 결과 OCaf-2 균주는 *Bacillus subtilis*와 96.6%의 상동성을 보였다(그림 22 및 표 21).

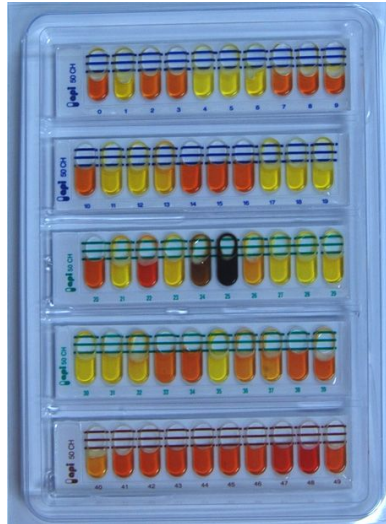


그림 22. OCaf-2 균주의 API kit 결과

표 21. OCaf-2 균주의 API kit 기질 이용성 판독결과

기 질	이용성	기 질	이용성	기 질	이용성
Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	-
Ethritol	-	Sorbitol	+	Raffinose	+
D-arabinose	-	α-Methyl-D-Mannoside	-	Starch	+
L-arabinose	+	α-Methyl-D-Glucoside	+	Glycogen	+
Ribose	+	N-Acetyl-Glucosamine	-	Xylitol	-
D-xylose	+	Amygdalin	+	Gentiobiose	-
L-xylose	-	Arbutin	+	D-Turanose	-
Adonitol	-	Esculin	+	D-Lyxose	-
β-Methyl-D-xyloside	-	Salicin	+	D-Tagatose	-
Galactose	-	Cellobiose	+	D-Fucose	-
Glucose	+	Maltose	+	L-Fucose	-
Fructose	+	Lactose	+	D-Arabitol	-
Mannose	+	Melibiose	+	L-Arabitol	-
Sorbose	-	Sucrose	+	Gluconate	-
Rhamnose	-	Trehalose	+	2-Keto-Gluconate	-
Dulcitol	-	Inulin	-	5-Keto-Gluconate	-
Inositol	+				

(나) 16S ribosomal DNA 염기서열 분석

① 난용성 인산가용화균

균주의 최종 동정은 16S rDNA의 염기서열 분석을 통하여 수행하였으며, BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK와 RDP(RNA database project)의 ribosomal RNA sequencing과 비교한 결과, HSB901 균주는 *Bacillus pumilus*와 99%의 상동성을 보였으며, HSB902, 903 균주는 *Bacillus megaterium*과 99%의 상동성을 갖고 있는 것으로 나타났다(그림 23, 24, 25). 이에 따라 선발 미생물인 HSB901은 *Bacillus pumilus* HSB901로 명명하였으며 한국생명공학연구원의 생물자원센터에 균주를 기탁하여 기탁번호 KCTC 13576을 부여받았다.

길항력이 우수했던 OCaf-2 균주 또한 동일한 방법으로 동정한 결과 *Bacillus subtilis*와 99%의 상동성을 보였으며 *Bacillus subtilis* HSB904로 명명하였고 한국생명공학연구원의 생물자원센터에 균주를 기탁하여 기탁번호 KCTC 13706을 부여받았다. 또한, 다수의 병원성 곰팡이에 길항력을 갖는 SAaf-5 균주는 *Burkholderia cepacia* 로 동정되었다.

1	NNNNNGGCGGCGNGCTATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAAGGGAGCTTGCTCCCGGAT	60
61	GTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCC	120
121	GGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAGTTCCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACG	180
181	GTTTCGGCTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGC	240
241	TCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA	300
301	CACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCT	360
361	GACGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGG	420
421	AAGAACAAGTGCAAGAGTAAGTCTTGACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGC	480
481	TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGG	540
541	GCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGG	600
601	GAGGGTCATTGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCACGTGTA	660
661	GCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGT	720
721	AACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCA	780
781	CGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTCCGCCTCTTAGTGCTGCAGCTAAC	840
841	GCATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACG	900
901	GGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTTGNTTAATTCCAAGCAN	960

그림 23. HSB901 균주의 16S rDNA 염기서열

1	NNNACTGGCGGCGTGCTATACATGCAAGTCGAGCGAACTGATTAGAAGCTTGCTTCTATG	60
61	ACGTTAGCGGGACCGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACT	120
121	TCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTTCTCCTTCATGGGAGATGATTGAAAGA	180
181	TGGTTTCGGCTATCACTTACAGATGGGCCC CGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG	240
241	GCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGA	300
301	GACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGT	360
361	CTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTAG	420
421	GGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACG	480
481	GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATT	540
541	GGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCG	600
601	TGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATCCACGTG	660
661	TAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTGGTCT	720
721	GTAACGTGACGTGAGGCGGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC	780
781	CACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGGTTTCCGCTCTTTAGTGCTGCAGCTA	840
841	ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGAC	900
901	GGGGGCCCGCACAAAGCGGNGGAGCATGNTTAAATTCGAAGCACGCGA	960

그림 24. HSB902 균주의 16S rDNA 염기서열

1	GGNNNGANGNGGGGNANNTANNGANGNGGNNTATCATGCAGTCGAGCGAACTGATTAG	60
61	AAGCTTGCTTCTATGACGTTAGCGGGACCGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCTGT	120
121	AAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTTCTCCTTCATGG	180
181	GAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAGATGGGCCC CGGTGCATTAGCTA	240
241	GTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGG	300
301	CCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC	360
361	GCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTA	420
421	AAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAACTGCTTGTACCTTGACGGTACCT	480
481	AACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCG	540
541	TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAG	600
601	CCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAAACCTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGAAA	660
661	GCGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAG	720
721	GCGGCTTTTTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA	780
781	GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGGTTTCCGCCCT	840
841	TTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAAC	900
901	TCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAAC	960
961	GCGAAGACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACTCTAGAGATAAAAGCGTCCCTT	1020
1021	CGGGNAGAGTNACAGGTGGGTGCATGGTGGTTCGTCANCTCGTGTGCGNNGAAAANGTGGTT	1080
1081	AAGTCCGNACGAGCGCACCCCTTGATCTACTGGCAGCATTANTTGGCACTCTAAGTGNCN	1140
1141	GCCGNGANACCGGAANNAGGTGGGGGATNNNNNNNNNN	1200

그림 25. HSB903 균주의 16S rDNA 염기서열

이외에도 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 다수의 인산가용화 미생물의 동정을 실시하였으며 그 결과는 표 22에 나타낸 바와 같다.

표 22. 기타 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 동정된 인산가용화 미생물

균주명	분리지역	동정결과
CJph-3	성주 초전면	<i>Streptomyces</i> sp.
CJph-10	성주 초전면	<i>Pseudonocardia</i> sp.
CJph-12	성주 초전면	<i>Bacillus pumilus</i>
HCph-4	합천	<i>Bacillus megaterium</i>
HCph-7	합천	<i>Acinetobacter baylyi</i>
HCph-8	합천	<i>Nocardia farcinica</i>
SJph-3	상주	<i>Streptomyces rochei</i>
SJph-7	상주	<i>Bacillus megaterium</i>
YSph-4	연산	<i>Bacillus megaterium</i>
SAph-1	상주	<i>Burkholderia cepacia</i>
SAph-5	상주	<i>Burkholderia cepacia</i>
SAph-7	상주	<i>Burkholderia</i> sp.
SAph-13	상주	<i>Burkholderia</i> sp.
SAph-16	상주	<i>Burkholderia cepacia</i>
PhB-1	논산	<i>Burkholderia</i> sp.
PhB-2	논산	<i>Burkholderia</i> sp.
PhB-3	논산	<i>Burkholderia</i> sp.
PhB-10	논산	<i>Burkholderia</i> sp.
PhB-11	논산	<i>Burkholderia</i> sp.

② 유기물 분해균

균주의 최종 동정은 16S rDNA의 염기서열 분석을 통하여 수행하였으며, BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK와 RDP(RNA database project)의 ribosomal RNA sequencing과 비교한 결과, HSB901 균주는 *Bacillus pumilus*와 99%의 상동성을 보였으며(그림 23), HSB902, 903 균주는 *Bacillus megaterium*과 99%의 상동성을 갖고 있는 것으로 나타났다(그림 24, 25). 이에 따라 선발 미생물인 HSB901은 *Bacillus pumilus* HSB901로 명명하였으며 한국생명공학연구원의 생물자원센터에 균주를 기탁하여 기탁번호 KCTC 13576을 부여받았다.

이외에도 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 다수의 유기물분해 미생물의 동정을 실시하였으며 그 결과는 아래 표 23과 같다.

표 23. 기타 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 동정된 유기물분해 미생물

균주명	분리지역	동정결과
SK-3	대전	<i>Bacillus</i> sp.
SK-5	대전	<i>Bacillus</i> sp.
SK-8	대전	<i>Bacillus</i> sp.
DP-1	조치원	<i>Bacillus</i> sp.
DP-2	조치원	<i>Bacillus</i> sp.
DP-3	조치원	<i>Bacillus</i> sp.
Gra-9	옥천	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
HSD-1	병천	<i>Candida zemplinina</i>
HSD-2	병천	<i>Acetobacter</i> sp.
YBF-1	의성	<i>Penicillium chrysogenum</i>
PMH-1	의성	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>

③ 길항균

균주의 최종 동정은 16S rDNA의 염기서열 분석을 통하여 수행하였으며, BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK와 RDP(RNA database project)의 ribosomal RNA sequencing과 비교한 결과, OCaf-2 균주는 *Bacillus subtilis*와 99%의 상동성을 보였다(그림 26). 이에 따라 선발 미생물인 OCaf-2 균주는 *Bacillus subtilis* HSB904로 명명하였으며 한국생명공학연구원의 생물자원센터에 균주를 기탁하여 기탁번호 KCTC 13706을 부여받았다. 또한, 다수의 병원성 곰팡이에 길항력을 갖는 SAaf-5 균주는 *Burkholderia cepacia*로 동정되었다.

이외에도 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 다수의 길항미생물의 동정을 실시하였으며 그 결과는 아래 표 24와 같다.

표 24. 기타 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 동정된 길항 미생물

균주명	분리지역	동정결과
KN-3	조치원	<i>Streptomyces morookaensis</i>
CJph-3	성주 초전면	<i>Streptomyces</i> sp.
CJph-12	성주 초전면	<i>Bacillus pumilus</i>
HCph-4	합천	<i>Bacillus megaterium</i>
HCph-7	합천	<i>Acinetobacter baylyi</i>
SJph-3	상주	<i>Streptomyces rochei</i>

1	NNNNNNNNGCNAGCTATACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTT	60
61	AGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGG	120
121	AAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCT	180
181	TCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCA	240
241	CCAAGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACAC	300
301	GGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGAC	360
361	GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAG	420
421	AACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTA	480
481	ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGC	540
541	GTAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGA	600
601	GGGTCATTGGAACTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGC	660
661	GGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAA	720
721	CTGACCGTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACG	780
781	CCGTAACAGATGAGTGCTAAGTGT TAGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGC	840
841	ATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTCGAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG	900
901	GCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAACGGAAGAACCTTACCAGG	960
961	TCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGG	1020
1021	TGGNGCATGGTNGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCCCAACGAGCG	1080
1081	CAACCCNNGATCTTANNNNNGCATCANNGGNNCCCTTAAGGTGACTNNGNGACAANNAG	1140
1141	NNNNNGGGNTGACGTCAATCATCATGCCCTTATGACTGNNNANNNNNNNNACANGGNGA	1200
1201	ANNAAGNNNCNAACNNNCGANGGTTAANNNNN	1260

그림 26. OCaf-2 균주의 16S rDNA 염기서열

다. 대량배양

본 연구에서는 1차 시제품 생산을 위해 난용성 인산가용화능과 유기물분해능 및 길항능이 우수한 HSB901, HSB904를 최종 선발하였으며, 최종적으로는 식물병원성 곰팡이에 대한 길항능 및 유기물분해능이 우수한 HSB904 균주보다는 난용성 인산가용화능 및 유기물분해능이 우수한 HSB901 균주를 선발하였다.

(1) 배양조건

(가) 최적 온도

HSB901 균주의 대량배양을 위한 배양 적온을 조사하기 위하여 TSB에 접종한 후 25℃에서 50℃까지 배양시키면서 6시간, 24시간 후 증식 밀도를 조사한 결과는 그림 27과 같았다. 25℃에서 39℃까지 배양온도가 올라갈수록 생육이 왕성해져 HSB901 균주의 밀도가 증가하였고, 40℃ 이상의 온도에서는 밀도가 점점 감소하는 경향을 보였다. 따라서 HSB901 균주의 대량배양을 위한 배양 적온으로 39℃를 선발하였다.

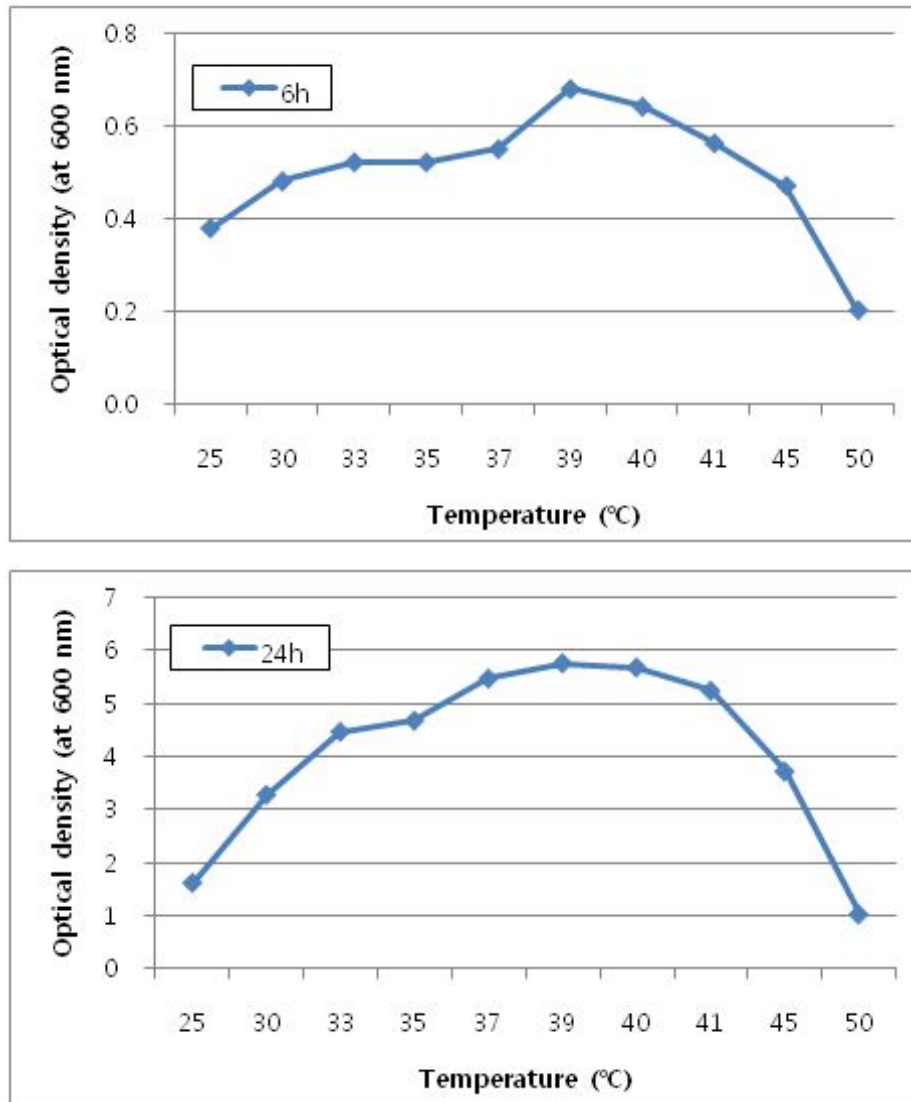


그림 27. 다양한 배양 온도에서 HSB901 균주 배양액의 흡광도

(나) 최적 pH

본 연구에 의해 선발된 HSB901 균주의 대량배양을 위한 최적 pH를 조사하기 위하여 여러 가지 pH로 보정된 TSB배지에서 6, 24hr 배양 후 HSB901균주의 증식 밀도를 조사한 결과는 그림 28과 같았다. pH 5.5에서 pH 7.2까지 배양 pH가 올라갈수록 생육이 왕성해져 HSB901 균주의 밀도가 증가하였고, 그 이상의 pH에서는 밀도가 점점 감소하는 경향을 보였다. 이에 따라 최종적으로 HSB901 균주의 대량배양을 위한 배양 산도로 pH 7.2를 선발하였다.

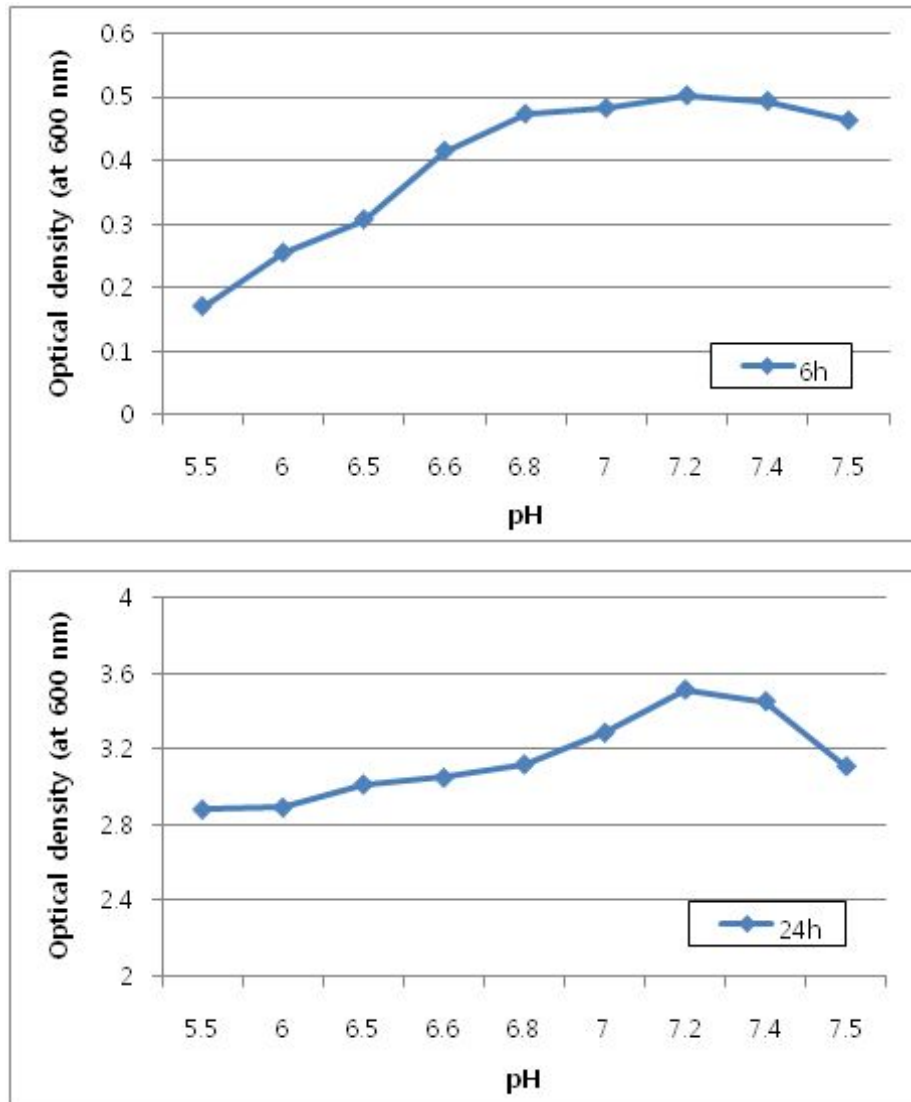


그림 28. 다양한 pH에 따른 HSB901균주배양액의 흡광도

(다) 영양원

① 탄소원

본 연구에 의해 선발된 HSB901 균주의 대량배양을 위한 최적 탄소원을 선발하기 위하여 4가지 탄소원을 0.5~3%씩 첨가한 배지에서 배양한 후 균밀도를 조사한 결과 corn starch 2%를 첨가한 배지에서 배양한 균주의 생균수가 4.4×10^8 cfu/ml로 가장 높았으며, 그 다음으로 corn starch 2.5%, molasses 1% 첨가 배지에서 배양한 균주의 생균수가 각각 4×10^8 cfu/ml, 2.8×10^8 cfu/ml로 높았다(그림 29). 따라서 HSB901 균주의 대량배양을 위한 최적 탄소원 및 농도로 corn starch 2%를 선발하였다.

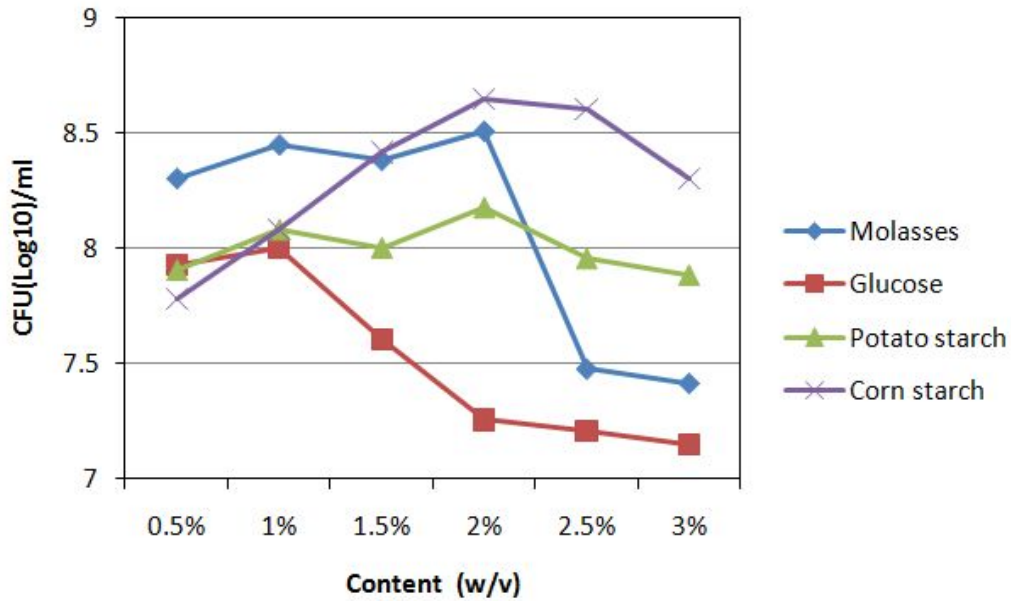


그림 29. 다양한 탄소원 함량에 따른 HSB901 균주의 성장

② 질소원

본 연구에 의해 선발된 HSB901 균주의 대량배양을 위한 최적 질소원을 선발하기 위하여 4가지 질소원을 0~1.25%씩 첨가한 배지에서 배양한 후 균밀도를 조사한 결과 soybean meal 1%를 첨가한 배지에서 배양한 균주의 생균수가 8.2×10^8 cfu/ml로 가장 높았으며, 그 다음으로 soybean meal 0.75%, 1.25% 첨가 배지에서 배양한 균주의 생균수가 각각 7.5×10^8 cfu/ml, 5×10^8 cfu/ml으로 높았다(그림 30). 따라서 HSB901 균주의 대량배양을 위한 최적 질소원으로 soybean meal 1%를 선발하였다.

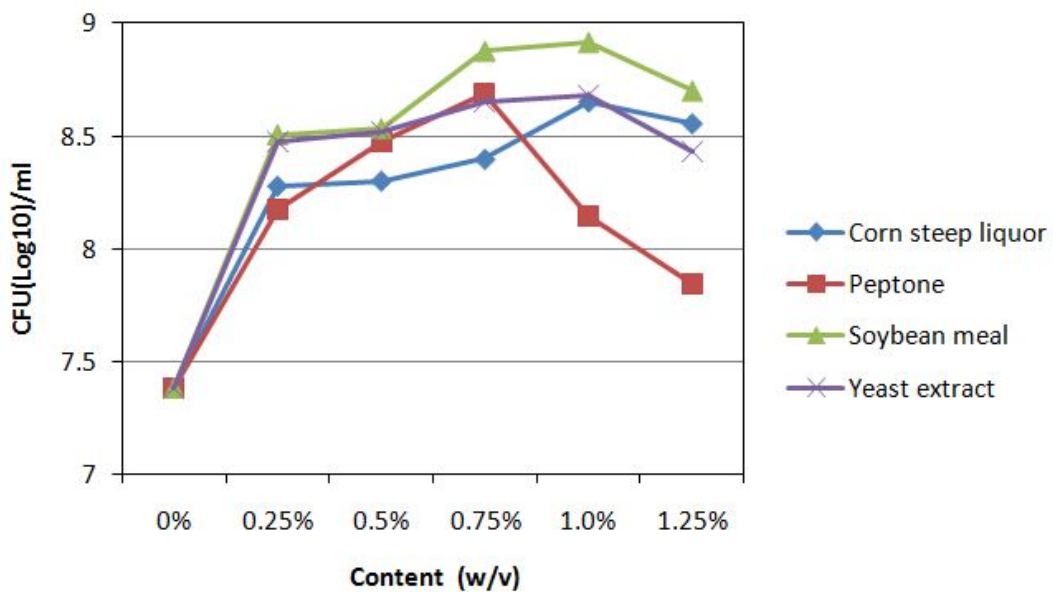


그림 30. 다양한 질소원 함량에 따른 HSB901 균주의 성장

(라) 액상 대량배양

표 6(33쪽)의 기본 산업배지를 최적 탄소원 및 질소원의 균밀도 측정 결과를 토대로 선발 균주의 최적배양을 위한 배지 조성을 표 25와 같이 변형하여 최종적으로 확정하였다.

표 25. 최종 확정된 액상 대량배양 조건(100L)

배지성분	함 량 (g)	배지성분	함 량 (ml)
Soybean meal	1200	CSL*	150
Glucose	300	Antifoam	20
Yeast extract	100		
KH ₂ PO ₄	300		
(NH ₄) ₂ SO ₄	300		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5		
CaCl ₂	5		

* Corn steep liquor

배양온도는 39℃, 산도는 pH 7.2, 임펠러 회전속도는 200rpm하여 배양하였으며, 산소분압을 높이기 위하여 내부압력은 0.5 기압으로 조정하였다. 액상 대량배양 결과 균밀도는 평균 $10^8 \sim 10^9$ cfu/ml 수준으로 측정됐다.

(마) 고체 배양

① 고체배지조성

각각의 고체배지를 아래 표 26과 같이 조성하여 수분함량이 45%가 되도록 물을 첨가하여 30℃에서 5일간 배양한 결과 탈지강 90%에 제오라이트 10% 첨가한 조성에서 가장 균밀도가 높게 나타났다.

제오라이트 및 벤토나이트에 수분함량이 45%가 되도록 물을 첨가한 고체배지는 균밀도가 높았으나 고체배지 자체가 하나의 덩어리로 뭉치는 경향이 있어 차후 고체배양시 배양기에 과부하가 걸릴 가능성이 매우 높다. 또한, 미강 함량이 높은 처리구에서는 교반이 미흡할 시에 내부에서 부패가 이루어져서 가스가 발생하였다. 이러한 까닭으로 본 연구에서는 균밀도가 8.3×10^9 cfu/g 수준으로 가장 높았던 탈지강을 기본으로 제오라이트 및 벤토나이트가 보조제로 첨가된 배지6을 최종적으로 선택하였다.

표 26. 고체배양을 위한 배지 조성

배지	조성비율 (%)					균밀도(log ₁₀ cfu/g)	
1	제오라이트	88.5	+	탈지강	10	어분 0.5%, 포도당 1% 첨가	9.4
2	제오라이트	88.5	+	미강	10		9.2
3	벤토나이트	88.5	+	탈지강	10		9.6
4	벤토나이트	88.5	+	미강	10		9.2
5	탈지강	88.5	+	제오라이트	10		9.9
6	탈지강	88.5	+	벤토나이트	10		9.7
7	미강	88.5	+	제오라이트	10		7.1
8	미강	88.5	+	벤토나이트	10		7.2

(2) 간헐멸균

본 연구에서 선발된 HSB901 균주를 고농도 순수배양하기 위하여 heat-jacket을 이용하여 간접적으로 배양체의 온도를 95℃까지 가열할 수 있는 아래 그림 31의 고체배양기를 사용하였다.



그림 31. 탈지강과 제오라이트를 이용한 HSB901균주 발효기

본 실험에 앞서 우선적으로 배양기의 가열속도를 테스트하기 위하여 탈지강 450kg(수분 약 13%로 계산) 에 제오라이트 50kg을 교반하고 이에 수분이 45%가 되도록 물을 첨가하여 배지를 준비하였다. 실내온도 16℃에서 고체발효기의 가열온도를 90℃로 세팅한 후 가열속도를 측

정하였다. 그 결과 60℃는 55분, 70℃는 72분, 80℃까지는 85분이 소요되었다. 이에 따라 멸균 시간에 가열소요 시간을 더하여 각기 다르게 설정하여 간헐멸균 조건을 실험하였으며 그 결과는 다음 표 27에 나타난 바와 같다.

표 27. 고체배지 간헐멸균 처리구에 따른 균밀도

처리구		처리온도별 균밀도		
수분함량	가열시간	60℃	70℃	80℃
30%	1hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상
	2hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상
40%	1hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상
	2hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ⁴ 이상
50%	1hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ⁴ 이상
	2hr	10 ⁵ 이상	10 ⁵ 이상	10 ² 이하

표 27에 나타난 결과에 따라 본 연구에서는 80℃에서 2hr 이상에서 간헐멸균을 실시하였을 때 기타 오염균의 균밀도가 10² cfu/g 이하로 나타나 본 연구에서의 고체배양을 위한 간헐멸균 조건으로 최종 결정하였다. 최종 결정된 간헐멸균 조건으로 배지를 멸균하고 HSB901 배양액을 접종하여 4일간 배양한 결과 5.3×10¹⁰ cfu/g의 높은 농도로 배양되었다.

2. 서방성 미량원소 제형

가. 서방성 제형개발을 위한 기본설계 개념 및 생분해성 소재 선발

(1) 미량원소 서방성 나노제형

아래 그림 32에서 보는 것과 같이 감마선 30 KGy 조사한 커드란-실리케이트 처리구에서는 새로운 형태의 커드란-실리콘 매트릭스가 생긴 반면, 감마선을 조사하지 않은 구에서는 커드란 매트릭스 속에 실리케이트 결정들이 혼재되어 있는 것을 알 수 있다. 또한, 감마선을 조사하지 않은 구에서는 점도가 높은 겔 상태를 유지한 반면 감마선을 조사한 구에서는 점도가 거의 없었다.

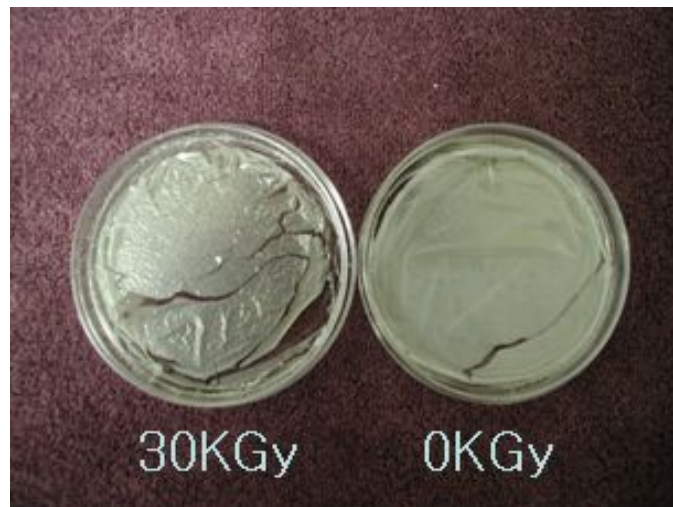


그림 32. 커드란-실리케이트 소재 복합체

이와 같은 까닭으로 최종적으로 감마선을 조사한 커드란-실리콘 복합체 겔을 서방성 제형의 재료로 선발하였다.

증류수 180~200ml에 소듐실리케이트 1~3g을 녹인 후, 용액을 교반하면서 커드란 1~3g을 서서히 투여하여 녹였다. 커드란이 완전히 용해하고 어느 정도 점도가 있는 용액(제1 용액)으로 되었다. 제1 용액에 이소프로판올 5~15ml를 가하고, 30 KGy로 감마선을 조사하였다. 유효 성분으로 황산마그네슘 3~5g을 투여하여 제2 용액을 생성한 후, 제2 용액을 건조하여 황산마그네슘 서방성 제제를 수득하였다.

● **Curdlan-Silicate 서방성 제제 제조 과정**

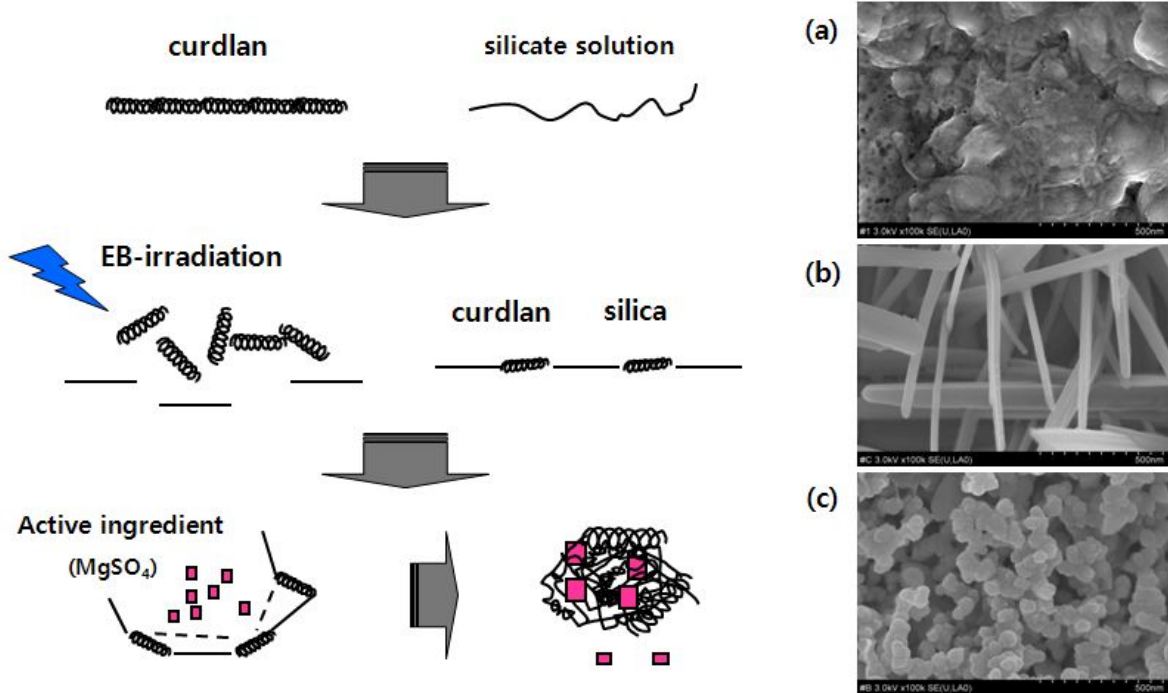


그림 33. 커드란-실리케이트 서방성 제제 제조 과정

전자현미경 사진에서 알 수 있듯이, 제1 용액에 감마선을 조사하고 난 후에 커드란의 판상의 결정 구조는 아직 유지되고 있음을 확인할 수 있다(그림 33-(b)). 방사선 조사 후, 황산마그네슘을 가하자 판상의 커드란 결정이 구형의 나노입자로 형성되었고(그림 33-(c)), 황산마그네슘의 결정이 보이지 않는 것으로 보아 나노입자 매트릭스 속으로 함유되었음을 알 수 있다.

실증 테스트를 거쳐 최종 미량원소 서방성 미량원소 제형으로 최종 선발하였다.

(2) 마이크로 수화제 제형

증류수 190 ml에 소듐실리케이트 2g을 녹인 후, 용액을 교반하면서 커드란 1g을 서서히 투입하여 녹였다. 커드란이 완전히 용해하고 어느 정도 점도가 있는 용액으로 되었다. 이 용액에 이소프로판올 10ml를 가하고, 30 KGy로 감마선을 조사하였다. 유효성분으로 아인산(H_3PO_3) 2g을 투입하여 1~3 μ m 사이즈의 서방성 아인산염 마이크로 수화제 제제를 수득하였다.

수득한 아인산 마이크로 수화제를 전자현미경과 EDX 장비로 분석하여 형태와 성분을 확인하였다. 실증 테스트를 거쳐 최종 마이크로 수화제 제형으로 최종 선발하였다(그림 34).



그림 34. 최종 선발 제제

제형의 적용확대를 위해 아인산을 사용한 이유는 미생물의 방출을 위한 서방성 그 특성상 불가하므로 미생물의 생육을 위한 순차적인 성분공급이 필요할 경우 유용하게 사용될 수 있기 때문이다. 특히 미생물 종류에 아인산에 대해 선택성을 갖게 되므로, 향후 미생물농약이나 비료에 있어 선택적 장기보존에 필요할 경우 중요 요소기술로서 포석적 의미를 가지게 된다.

나. 방사선 조사기술을 이용한 서방성 제형개발 및 제조기술 확립

(1) 미량원소 서방성 나노제형

증류수 180~200ml에 소듐실리케이트 1~3g을 녹인 후, 이 용액을 교반하면서 커드란 1~3g을 서서히 투여하여 녹여 준비된 제1 용액에 방사선을 조사한다. 방사선은 감마선을 포함한다. 방사선 조사는 27~100 KGy 범위로 조사하나, 30KGy 이상의 선량이 되어야 충분한 반응이 일어나며, 특히 30~50 KGy가 바람직하다. 방사선 조사로 인해 생분해성 고분자의 고분자 결합이 깨어져 저분자화 되면서 다공성 담체의 골격에 게스트로 들어가게 된다.

제1 용액에 방사선을 조사하면 점도가 없어지고 생분해성 고분자로 커드란을 사용한 경우, 방사선을 조사한 후에 커드란은 아직 판상의 구조를 유지하고 있음을 전자현미경을 통해 확인할 수 있다.

이상의 제1용액에 유효성분을 첨가하여 제1 용액보다 산도가 낮은 제2 용액을 제조하며 유효성분을 첨가함으로써 용액의 산도가 떨어지게 되면 나노입자 구조가 형성되는데, 전자현미경으로 관찰하였을 때 유효성분의 결정이 관찰되지 않는 것으로 보아 유효성분이 나노입자 매트릭스 속으로 포함되는 것으로 생각된다.

한편 반응용액에 방사선 조사를 하지 않고 황산마그네슘을 가한 경우에는 구형의 나노입자가 제대로 형성되지 않았으며, 방사선 조사를 하였으나 황산마그네슘을 가하지 않은 경우 역시 죽상 형태로 형성되어 나노입자가 제대로 형성되지 않았음을 확인할 수 있다(그림 32). 이로부터

터, 방출제어 입자들이 콜로이드 상으로 균일하게 분포되기 위해서는 방사선 조사와 제2 용액의 산도가 제1 용액 보다 낮아지는 것이 중요함을 알 수 있다. 최종적으로 제2 용액을 동결건조하여 서방성 제제를 수득하였다.

그림 35는 황산마그네슘 서방성 제제의 TEM(Transmission Electron Microscopy) 사진으로 G-contrast mode에 의한 TEM 분석을 통하여 밝은 색으로 표시되는 무거운 입자들이 나노입자의 내부에 포함되어 있음을 확인할 수 있다. TEM 사진을 통하여 20~80nm의 나노 입자가 형성되었음을 확인할 수 있고(그림 35-(a)), 콘트라스트를 높인 TEM 사진을 통하여 밝은색으로 표시되는 무거운 입자들이 나노 입자의 내부에 포함되어 있음을 확인할 수 있다(그림 35-(b)).

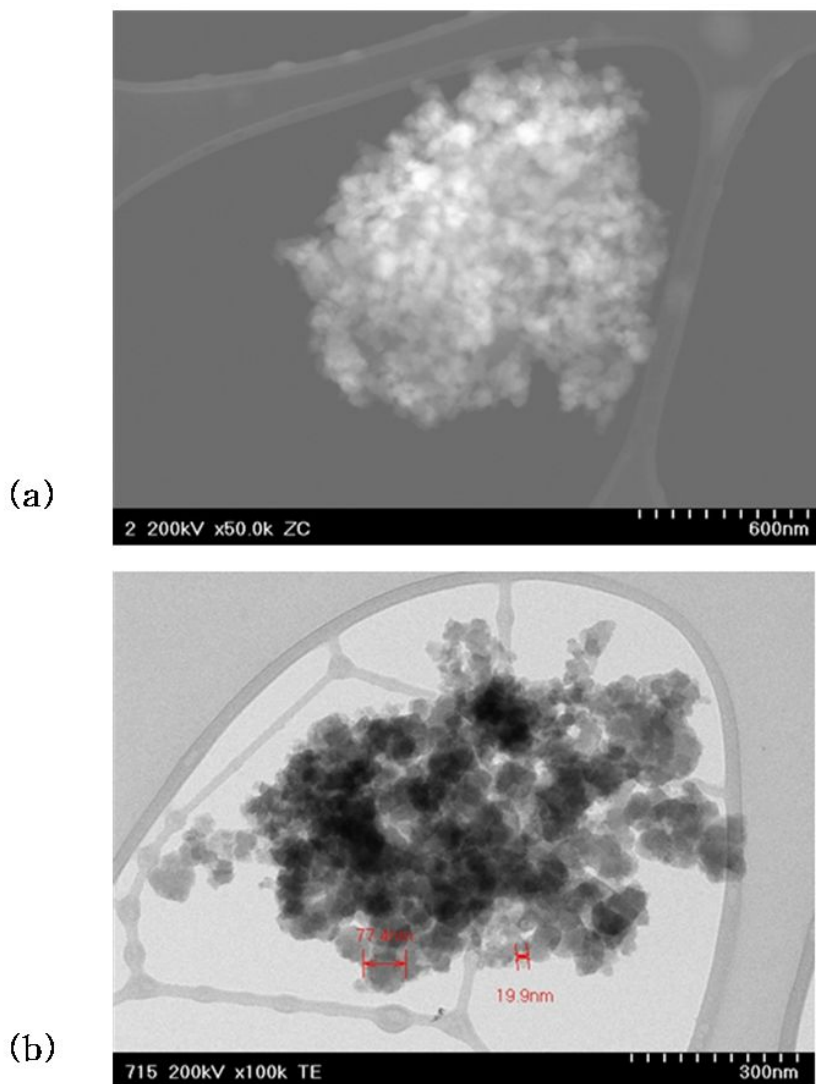


그림 35. 황산마그네슘 미량원소 서방성 제제의 TEM 분석

그림 36은 황산마그네슘 서방성 제제의 TEM사진 및 서방성 제제에 대한 스펙트럼으로 TEM 사진으로 확인할 수 있는 나노 입자에 대한 스펙트럼을 확인해 본 결과, 황산마그네슘

서방성 제제의 탄소 원자, 산소 원자, 마그네슘 원자, 규소 원자, 황 원자 모두를 확인할 수 있었다.

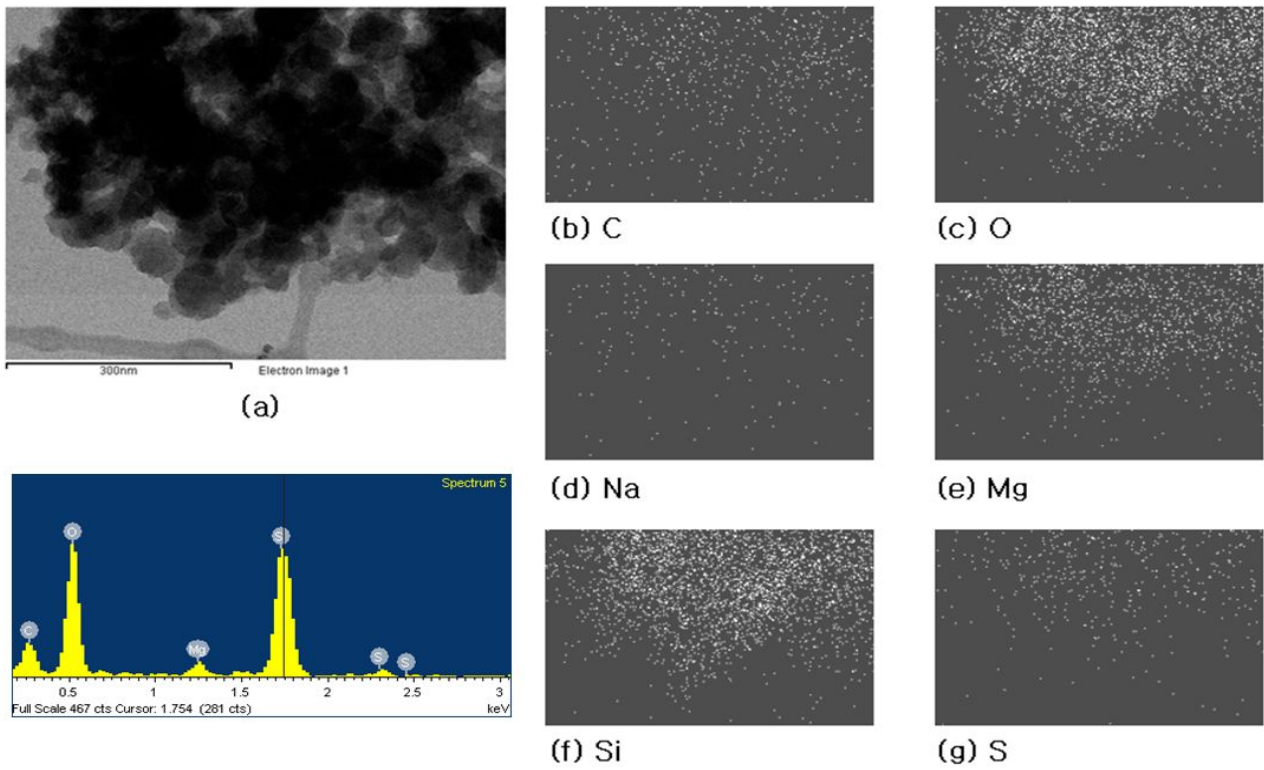


그림 36. 황산마그네슘 미량원소 서방성 제제의 원소 성분분석

그림 36의 (a)~(g)는 황산마그네슘 서방성 제제의 TEM 사진 및 ELS (Electrophoretic Light Scattering) 분석 사진이다. 그림을 참조하면, TEM 사진으로 확인할 수 있는 황산마그네슘 서방성 나노입자(그림 36-(a))를 ELS분석한 결과, 탄소 원자(그림 36-(b)), 산소 원자(그림 36-(c)), 나트륨 원자(그림 36-(d)), 마그네슘 원자(그림 36-(e)), 규소 원자(그림 36-(f)), 황 원자(그림 36-(g))가 황산마그네슘 서방성 나노입자의 내부에 균일하게 분포되어 있음을 확인할 수 있다.

최종적으로 신규제제의 서방성을 확인하기 위하여 서방성 제제 30 μ g을 증류수 1ml에 녹여 투석막 안에 넣고 투석막을 증류수 499ml에 침지하여 시간에 따라 샘플을 0.5ml씩 회수하여 이온 크로마토그래피로 SO₄²⁻ 이온을 분석하였다.

그림 37은 서방성 테스트에 있어서 시간의 경과에 따른 SO₄²⁻ 이온의 방출량을 나타낸 그래프로 처음 1시간 동안은 전체의 27~28%가량이 방출되었고, 서서히 방출이 이루어져 11시간 경과 후에는 총 50% 이상 방출되었다.

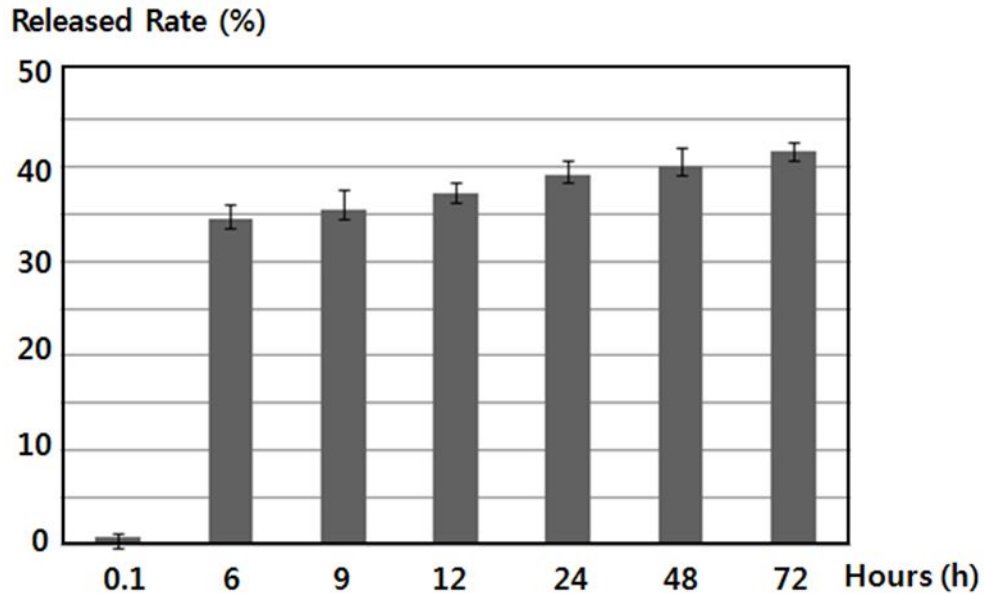


그림 37. 황산마그네슘 미량원소 서방성 제제의 서방성 방출 분석

황산마그네슘 나노제제의 서방성 기능의 유무를 확인하기 위하여 투석막을 이용하여 동일한 방법으로 서방성 방출 양상을 분석하였다.

시간의 경과에 따른 SO_4^{2-} 이온의 방출양상을 살펴보면, 처음 6시간 동안은 전체의 27~28%가량이 방출되었고, 서서히 방출이 이루어져 12시간 경과 후에는 총 35% 이상 방출되었다. 그 후 하루에 2~3%씩 매일 지속적으로 방출되는 양상을 확인할 수 있었다(그림 37). 이와 같은 방출 양상은 미량원소 비료나 지효성이 필요한 살균제 및 제초제의 서방성 제제에 적합할 것으로 판단된다. 또한 나노제제화에 의해 침투이행성을 높이게 되어 서방성 효과를 더욱더 향상시킬 것으로 예상된다.

이러한 서방성 방출 결과로 제제골격에 포함되어 있는 망목화된 커드란이 존재함을 알 수 있다. 커드란은 1,3- β -glucan 구조의 긴 사슬로 구성되어 있으나(Marchessault, R. H. et al. 1977) 수용액 상에서 용액 산도가 떨어지면 분자내 및 분자간 수소결합으로 인해 복잡한 망목 구조를 형성하게 되며 이 망목구조에 의해 서방성 기능을 가진다(Saito, H. et al. 1977; Saito, H. et al. 1978 ;Fulton, W. S. and Atkins E.D.T. 1980; Stone B.A and Clark, A. E. 1992). 그동안 커드란은 친환경 서방성 제제의 소재로서 널리 사용되고 있으나(Stone B.A and Clark, A. E. 1992, Park et al. 2007) 폴리머의 분자 사이즈가 크기와 고유의 특성에 의하여 나노제제 등과 같은 미세제제를 개발 시에 어려운 점이 많았다. 그러나 이러한 결과로서 방사선조사 기술을 이용하여 분자 사이즈를 조절하고 나노기술과 융합하면 여러 새로운 소재를 개발할 수 있을 것으로 판단된다.

향후 커드란 이외에 다른 고분자폴리머를 이용하여 비료나 농약의 서방성 방출조절이 가능할 것으로 생각되며 새로운 용도 확대로 의료, 신소재 산업분야 등에 대한 적용이 기대된다.

(2) 마이크로 수화제 제형

반응용액에 아인산을 첨가하여 그림 38과 같이 1~3 μm 크기의 입자가 형성되었으며 EDX 분석 결과, 제제 안에 아인산염이 포함되어 있음을 확인할 수 있다.

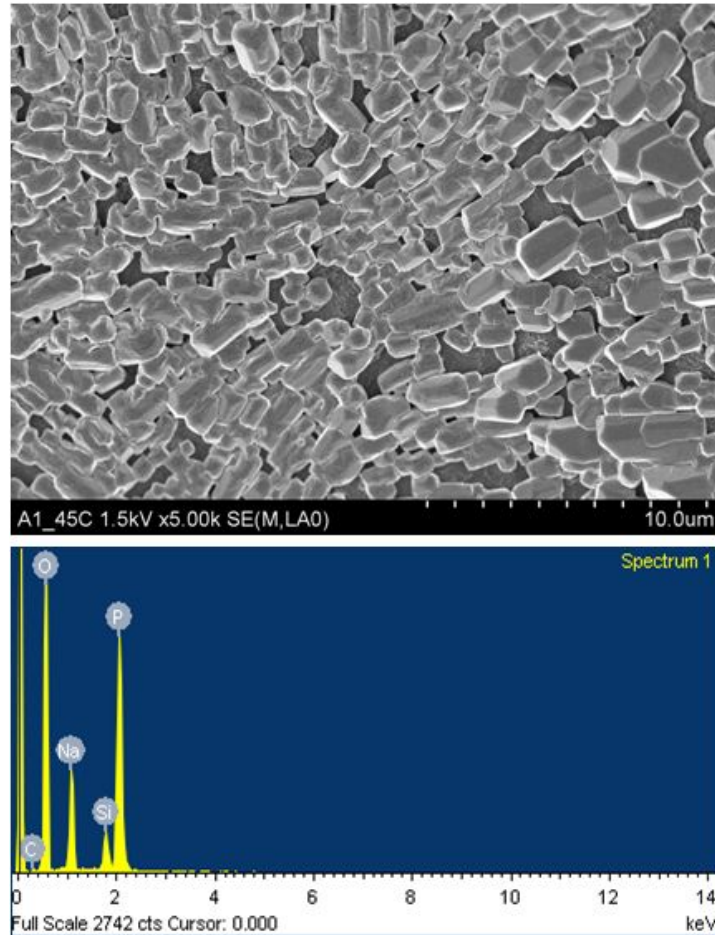


그림 38. 아인산 마이크로 수화제의 SEM/EDX 분석

그림 39는 아인산 마크로 수화제에 전자선 100 KV 전자선을 10분 이상 조사하여 아인산을 기화시키면 아인산염이 존재하였던 자리에 기공이 생기는 것을 보여주고 있다. SEM 이미지 분석결과를 종합하면 아인산이 제제 속에 골고루 분포되어 있음을 나타내어주고 있다.

그림 40 A-(a)는 아인산 2g, 40 A-(b)은 아인산 4g, 40 A-(c)는 아인산 8g을 각각 투여하여 제조한 마이크로 수화제 제제의 SEM 사진으로 분석결과 아인산 투여량이 4g/200ml 이상인 경우에는 제제가 잘 형성되지 않음을 알 수 있었다.

그림 40의 B는 서방성 아인산염 마이크로 수화제 제제의 SEM 사진 및 EDX 분석 결과를 나타낸 스펙트럼으로 제제 안에 아인산염이 포함되어 있음을 확인할 수 있다.

그림 40의 C는 아인산 투여량이 4g/200ml 이상이 되어 제제화가 되지 않았을 경우 SEM 사진과 EDX 분석 결과를 나타낸 스펙트럼으로 육각형 결정부위는 아인산결정인 것을 나타내주고 있으며 죽상으로 나타난 부위에는 아인산이 존재하지 않음을 나타내고 있다.

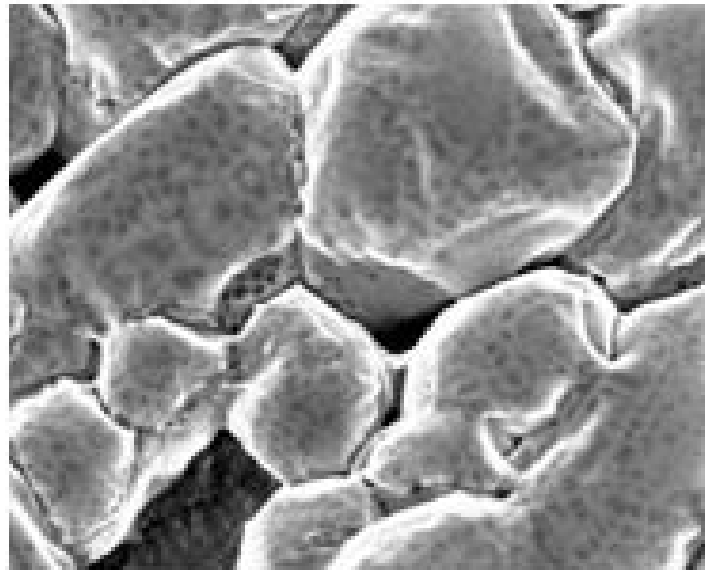


그림 39. 아인산 마이크로수화제 전자선 처리

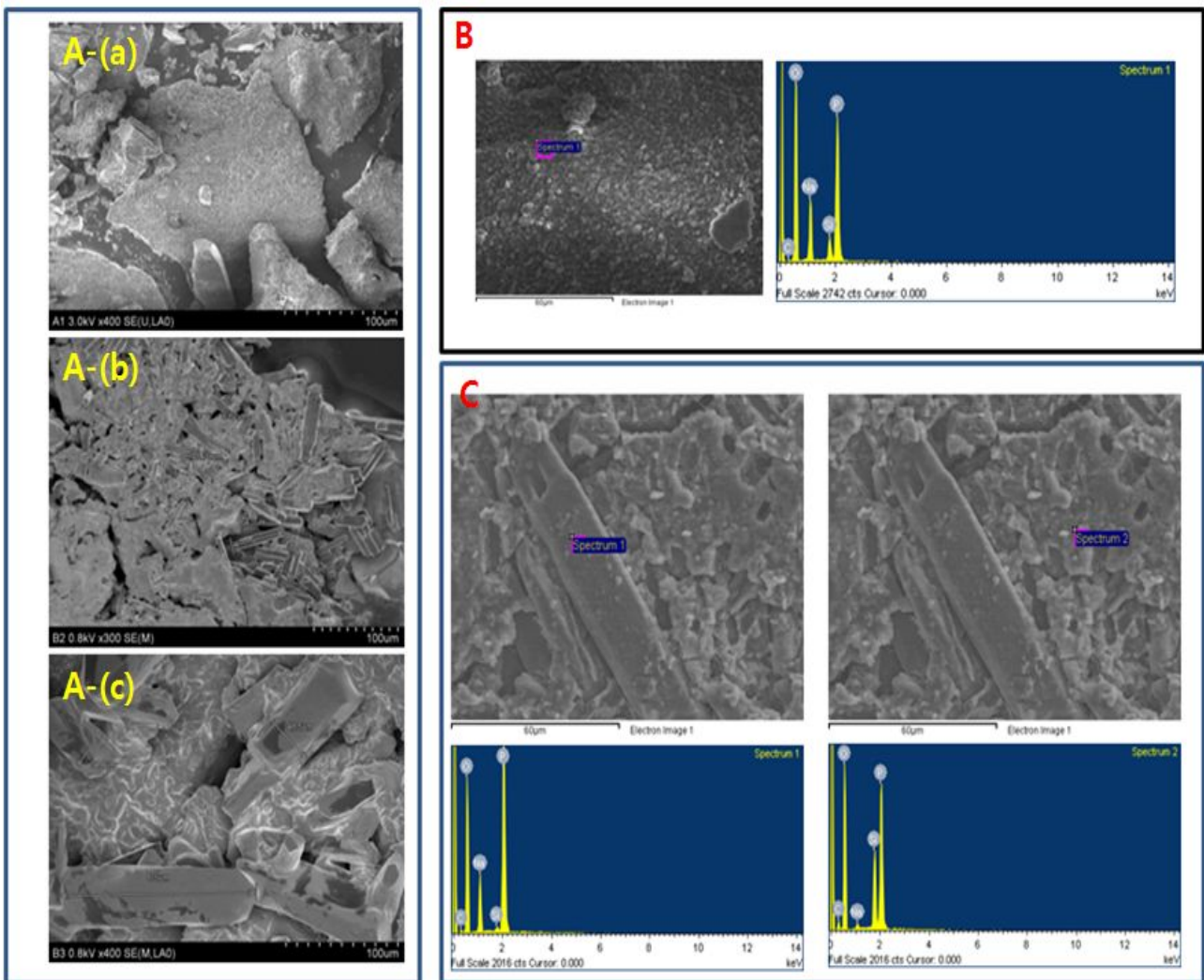


그림 40. 아인산농도에 따른 제제화 확립

그림 41은 서방성 아인산 마이크로 수화제 제제의 TEM 사진으로 서방성 제제에 아인산염이 포함되어 있음을 확인할 수 있다.

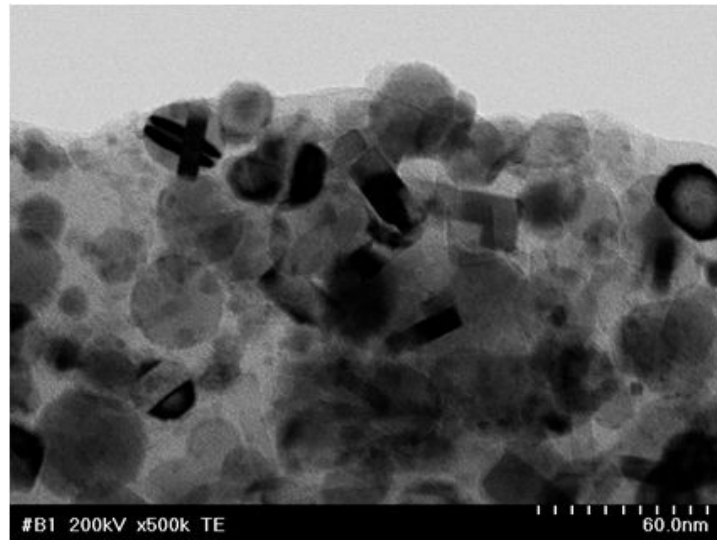


그림 41. 마이크로 수화제 제제의 TEM분석

황산마그네슘 나노제제의 서방성 기능의 유무 확인 방법과 동일하게 아인산 마이크로 수화제 제제 30 μg 을 증류수 1 ml에 녹여 투석막 안에 넣어 증류수 499 ml에 침지하여 경시적으로 샘플을 0.5 ml씩 회수하여 이온 크로마토그래피로 방출 패턴을 분석하였다.

분석결과 그림 42와 같이 처음 1시간 동안은 전체의 5%가량이 방출되었고, 서서히 방출이 이루어져 9시간 경과 후에는 총 20% 이상이 방출되었다.

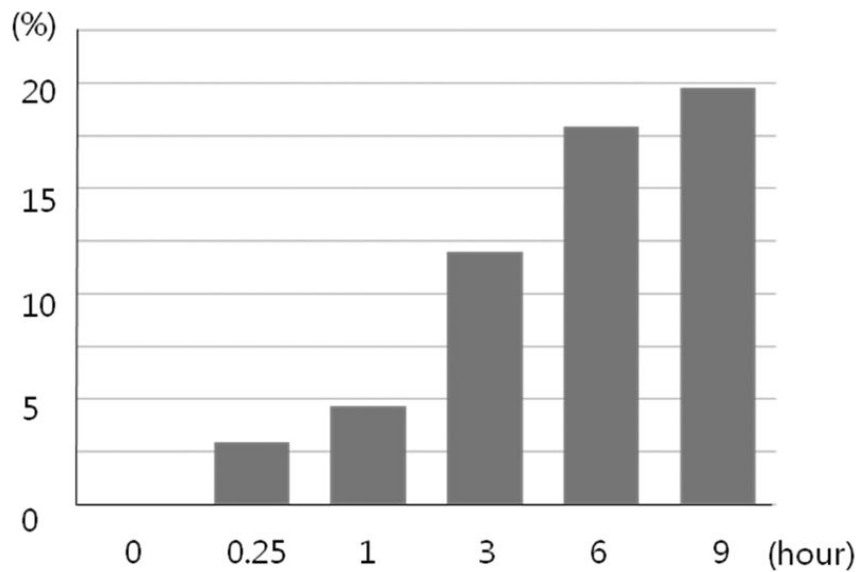


그림 42. 아인산 마이크로 수화제의 서방성 방출 분석

최종 제조된 아인산 마이크로 수화제의 약해를 테스트하기 위하여 고추유묘(품종: 녹광)를 3주 동안 온실에서 육성하고 제제를 각각 유효성분 아인산농도를 500ppm(b), 1,000ppm(c), 10,000ppm(d)으로 각각 용해하여 15ml씩 주당 처리하고 3일 후에 약해여부를 판단하였다.

무처리(a)와 500ppm(b), 1,000ppm(c) 처리구에서는 생육이나 약해가 전혀 없었으나 10,000ppm(d) 처리구에서는 심한 약해가 발생하였다. 향후 4주 후까지 계속 관찰하였으나 무처리(a)와 500ppm(b), 1000ppm(c) 처리구에서는 생육이나 약해가 전혀 없었고 10,000ppm(d) 처리구에서는 약해로 인해 생육이 더디고 50%정도 고사하였다(그림 43).

따라서 10,000ppm(d)구에서는 초기 몇 일 사이에 2,000~3,000ppm 정도가 방출되었을 것으로 추정되어 충분히 약해가 일어날 농도가 되었을 것으로 판단된다.

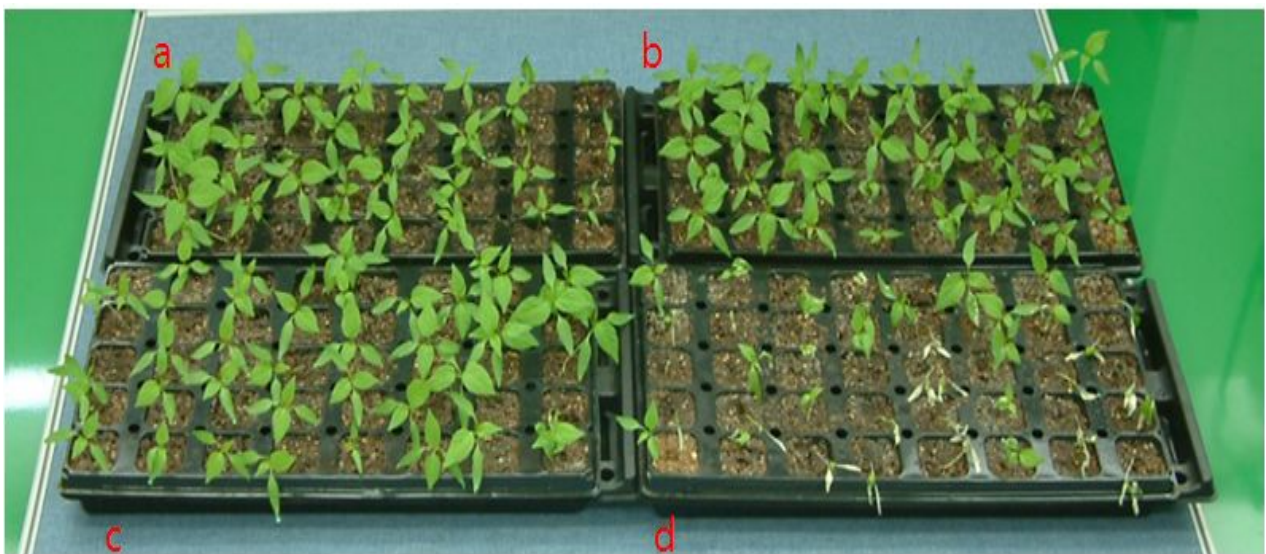


그림 43. 아인산 마이크로 수화제의 약해실험

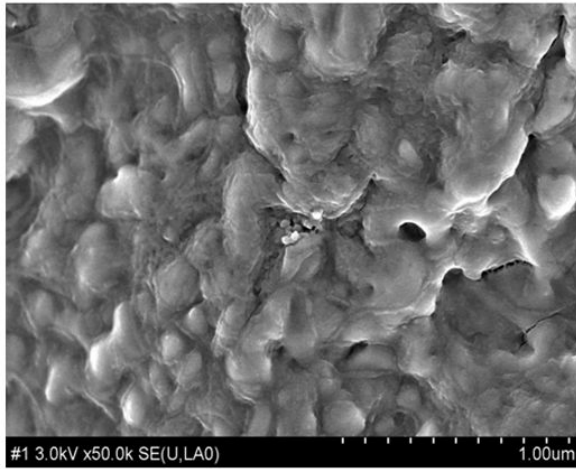
다. 경제적 방사선 선량

서방성 나노제형 제조에 있어 방사선 조사량을 달리한 경우의 최종적으로 제형의 형성 여부를 확인하기 위하여 제조과정에서 방사선 조사선량만 달리한 시료를 제작하여 전방계 주사현미경(FE-SEM)을 이용하여 분석하였다.

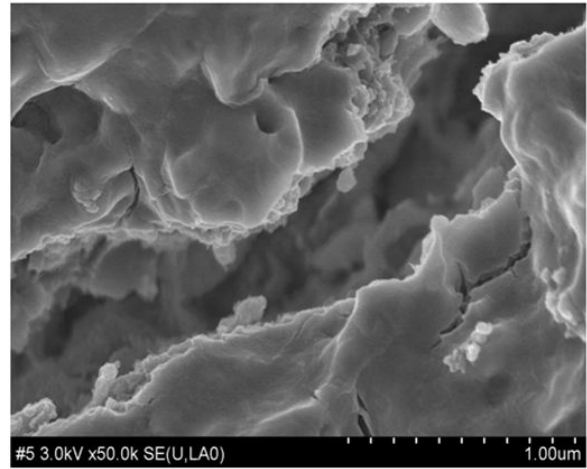
감마선 조사선량을 5, 10 및 20 KGy로 조사한 다음 황산마그네슘을 투여한 구에서는 나노입자가 충분히 형성되지 않았으며, 30 KGy로 조사한 다음 황산마그네슘을 투여한 경우 나노입자가 완벽하게 형성됨을 확인할 수 있었다(그림 44.).

이상의 결과로 30 KGy 이상으로 조사하였을 때 감마선 조사로 인해 커드란 고분자의 폴리머 결합이 깨어져 알맞은 저분자화 되면서 제형의 골격에 함유되어 들어가게 됨을 알 수 있었다. 따라서 제1 용액에서 충분한 방사선조사가 이루어지지 않으면 커드란의 고분자가 울리고 머화가 되지 않아 유효성분이 든 제2 용액을 투여하여 산도를 떨어뜨릴 경우에도 제형이 만들

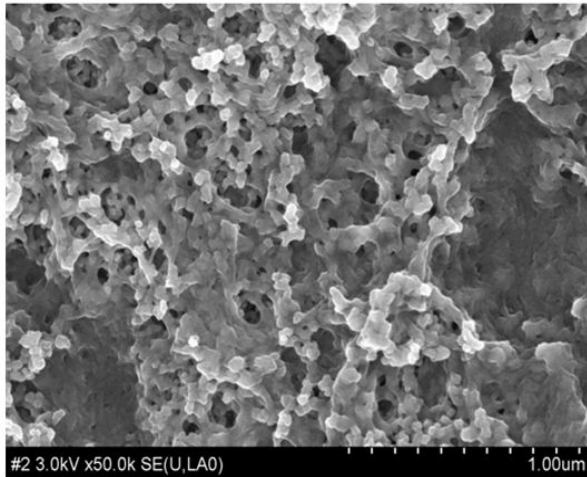
어지지 않음을 확인하였다.



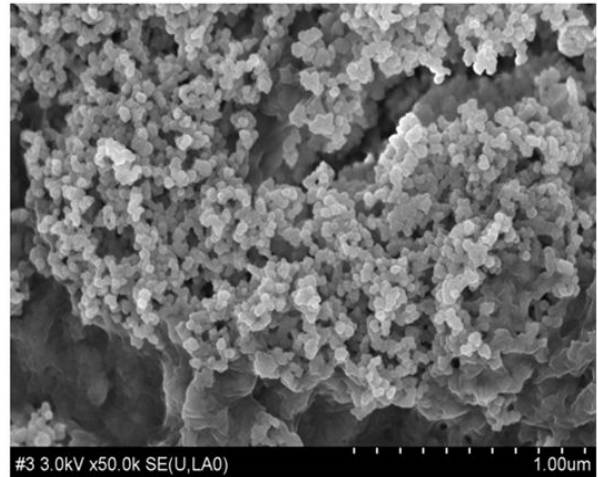
0 Kgy MgSO₄



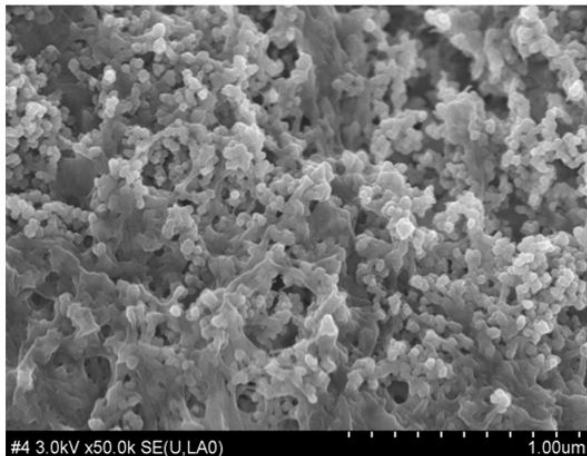
Curdlan MgSO₄



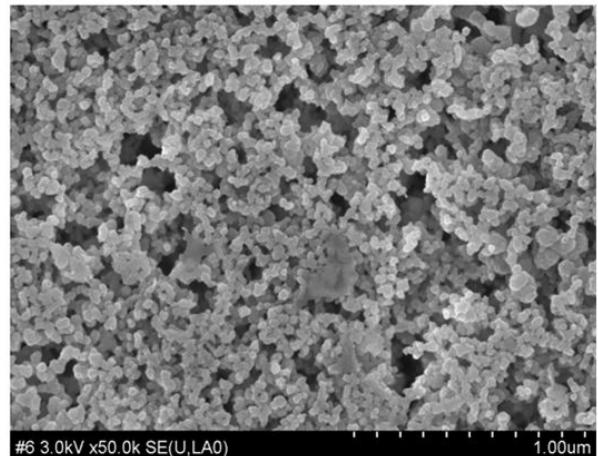
5 Kgy MgSO₄



10 Kgy MgSO₄



20 Kgy MgSO₄

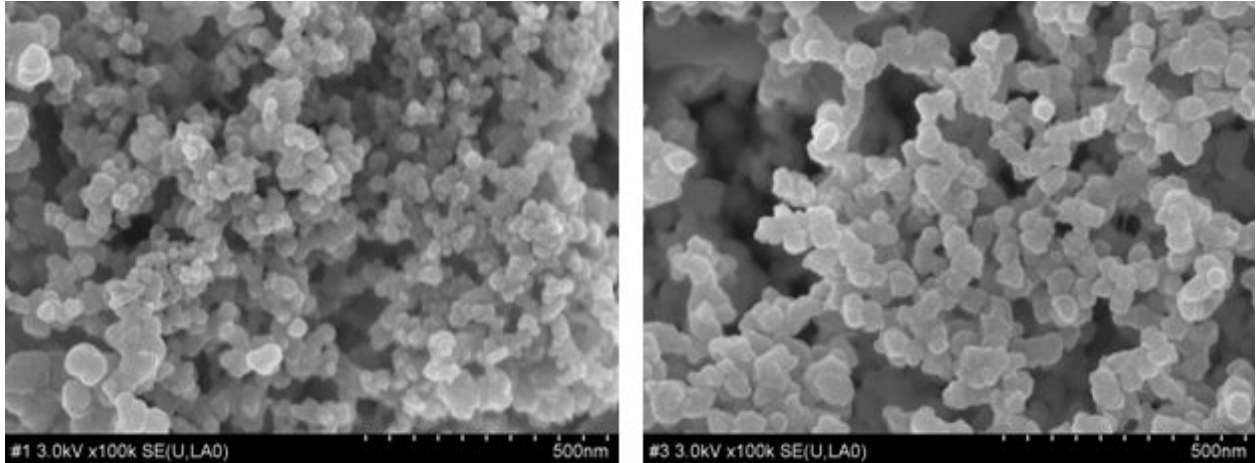


30 Kgy MgSO₄

그림 44. 미량원소 서방성 제제의 경제적 방사선 선량 측정

라. 내구성

최종적으로 주관기관에서 개발한 토양개량제 및 미생물제제와 혼합 투입할 것에 대비하여 건조방법에 따른 제형형성을 검토한 결과, 50℃에서 풍건하여 건조한 경우와 동결건조한 경우를 비교한 결과 제제의 사이즈의 차이를 보였다. 제제 건조시 건조방법에 따른 서방성 방출패턴에 대해 차이를 보이지 않았다(그림 45).



고온 풍건건조

동결건조

그림 45. 건조방법에 따른 미량원소 서방성 제제

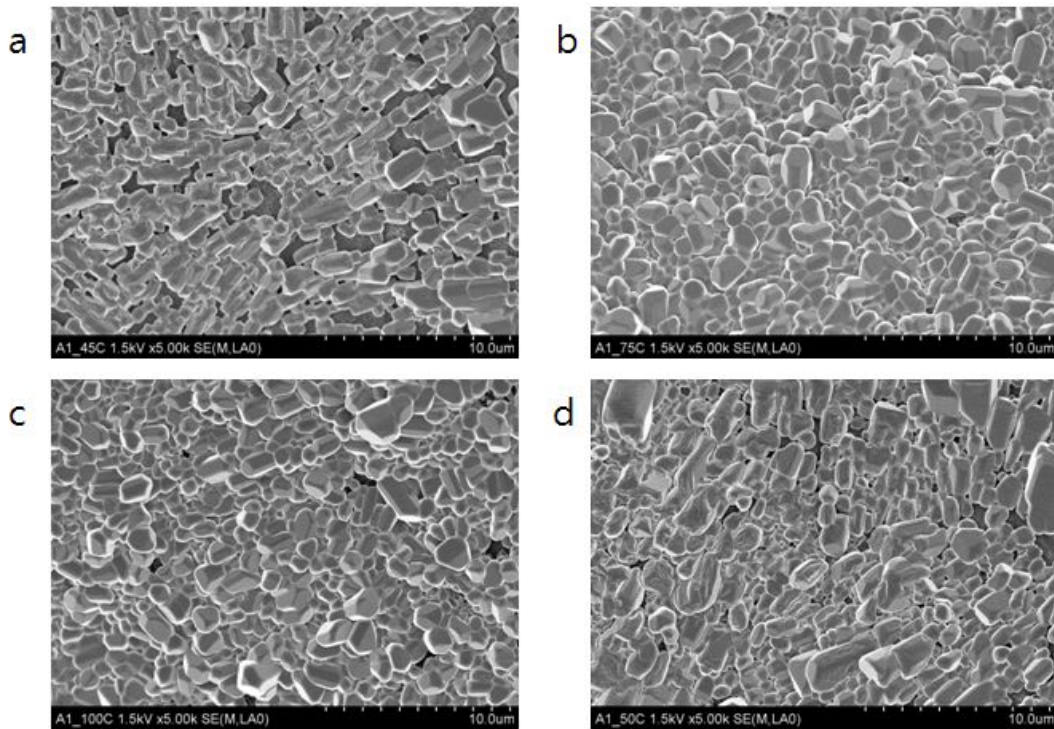


그림 46. 온도에 따른 아인산 마이크로 수화제의 변성테스트

향후 보존성 실험을 실시하기 위해 45°C(a), 75°C(b), 100°C(c), 50°C(d)의 온도에 제제를 3시간씩 방치한 후 변형여부를 SEM으로 확인한 결과, 그림 46과 같이 100°C, 3시간 이상 처리한 구에서도 형태가 변형되지 않고 유지되었다. 그 이상의 온도에서는 고분자의 변성이 예상되므로 진행하지 않았다.

결과적으로 위의 그림 46에서와 같이 제제 변성이 일어나지 않으므로 공정상 편리하게 다른 제품과의 여러 형태의 혼합제품을 개발할 수 있다. 추후 주관기관과 상의하여 다양한 혼합 친환경농자재의 개발여부를 시도할 예정이다.

마. 서방성 제형 평가를 위한 방사선동위원소 분석

본 연구에서는 서방성 제제 처리에 의한 유효성분의 이동양상을 보다 정확하게 파악하여 제제개발과 제형설계에 이용하고자 예비실험으로서 미량원소 중 하나인 폴리브덴에서 제조된 방사선동위원소 테크니슘(Tc-99m)을 접종하여 SPECT를 이용한 식물의 이동양상을 분석하였다(그림 47).

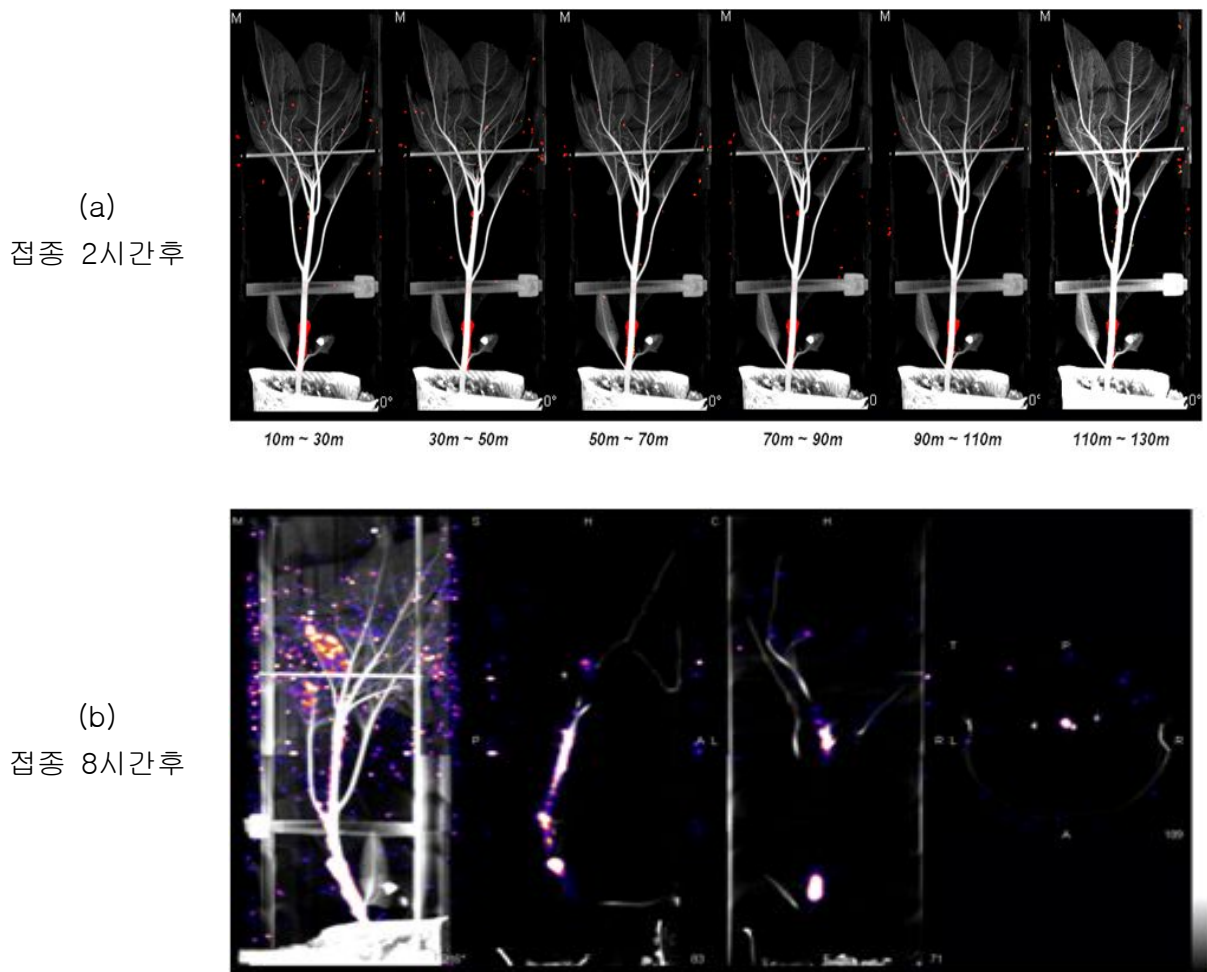


그림 47. Tc-99m의 식물체 이동양상

그림 47과 같이 Tc-99m 0.5mcuri 10 μ l를 지제부로부터 3cm 떨어진 줄기에 마이크로실린지로 주사한 후 이동양상을 관찰한 결과, 접종 후 2시간까지는 접종부위에 머물렀으나 8시간 후에는 전신으로 이동한 것을 알 수 있었다.

위와 같은 실험을 통하여 식물에서 방사성동위원소를 이용한 영상화조건을 구할 수 있었다. 향후 이 조건을 이용하여 유효성분의 제제처리로부터 식물의 이동양상 및 체내 대사까지 손쉽게 관찰할 수 있을 것으로 기대한다.

방사성 동위원소의 분포 등의 기능 영상을 얻을 수 있는 PET 시스템(Buhler J; 2011)과 결합할 해부학적 영상을 얻을 수 있는 CT 시스템을 설계조건을 구하기 위한 모델시스템으로 Tc-99m을 처리한 식물(고추)에서 Tc-99m의 이동 양상을 분석하였다(Scopinaro, 1994).

공시식물로 유리온실에서 8주간 생육한 고추(품종: 녹광)를 사용하였으며 모델 방사성 동위원소로서는 Tc-99m를 사용하였다. 식물의 미량요소 비료인 MoO₄와 비교하기 위해 Tc-99m는 TcO₄태로 처리하였다.

공시식물은 열매와 꽃이 있으므로 잎과 열매에 각각 Tc-99m을 1 mCi 주사하여 이동양상을 살펴본 결과 Tc-99m을 처리하여 1시간 경과 후 잎에서는 확산되었으나 열매에서는 Tc-99m 이동을 관측할 수 없었다.

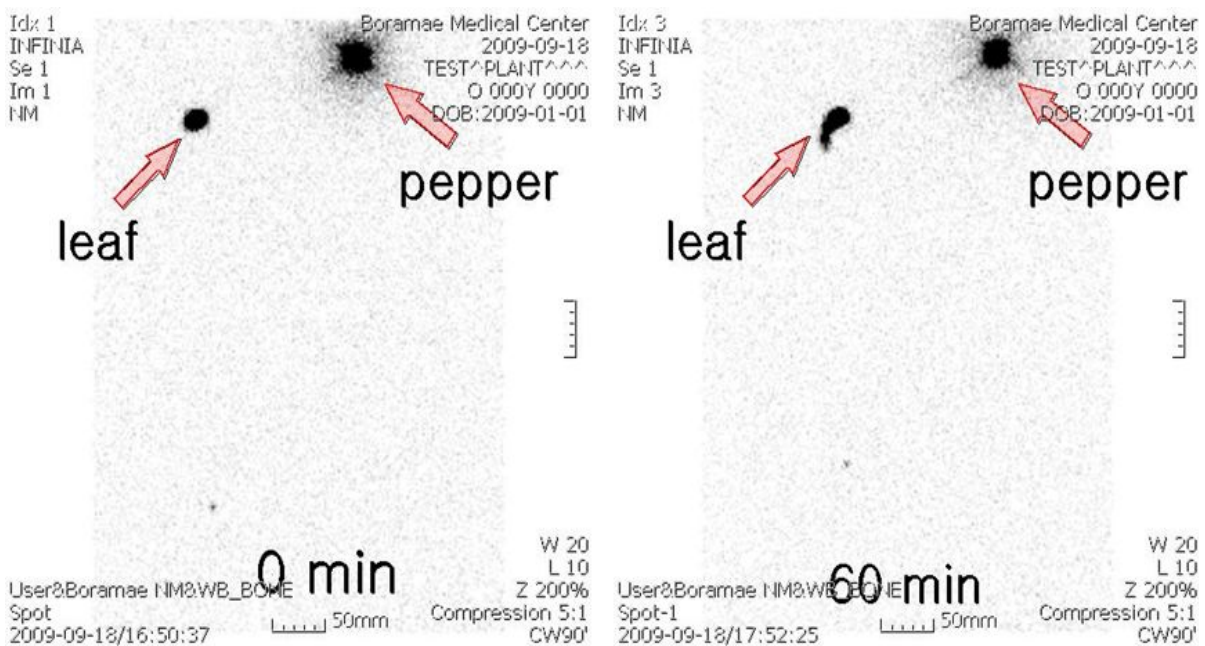


그림 48. Tc-99m을 처리한 고추의 잎과 열매에서의 이동양상을 측정된 SPECT 영상

한편 같은 식물에 Tc-99m을 관주처리 하여 뿌리에서 지상부로의 이동을 보였으나 처리 후 3시간 경과까지 Tc-99m의 이동양상을 관측할 수 없었다. MoO₄의 경우 수용액으로 뿌리

에 흡수되어 식물전신으로 이동이 가능하나 관주처리 된 Tc-99m 포트에서 아직 머물고 있는 상태로 유지된다.

제제에서 방출된 유효성분의 미량이동을 관측하기 위하여 180분후 지하부를 납벽돌로 차단하고 지상부를 관측하였으나 시그널을 검출할 수 없었다.

결과를 종합하면 두 가지 경우를 예상할 수 있으며 첫 번째는 뿌리에서 Tc-99m을 흡수할 수 없거나 흡수가 되더라도 지상부로 이동이 상당히 늦은 것으로 이는 폴리브덴에서 방사성 동위원소가 된 테크니튬은 폴리브덴과 달리 식물체가 흡수를 하지 못하는 것이므로 향후 식물 생리학적인 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

두 번째는 식물체 건물에 대한 Mo의 함유량이 1ppm 이하이므로 아주 극미량이 이동함에 따른 검출 불가이다. 따라서 식물체에서 극미량으로 이동하는 중요한 물질의 대사를 규명하기 위해 기계적인 해상력 향상에 대해 연구가 집중되어야 할 것으로 판단한다.

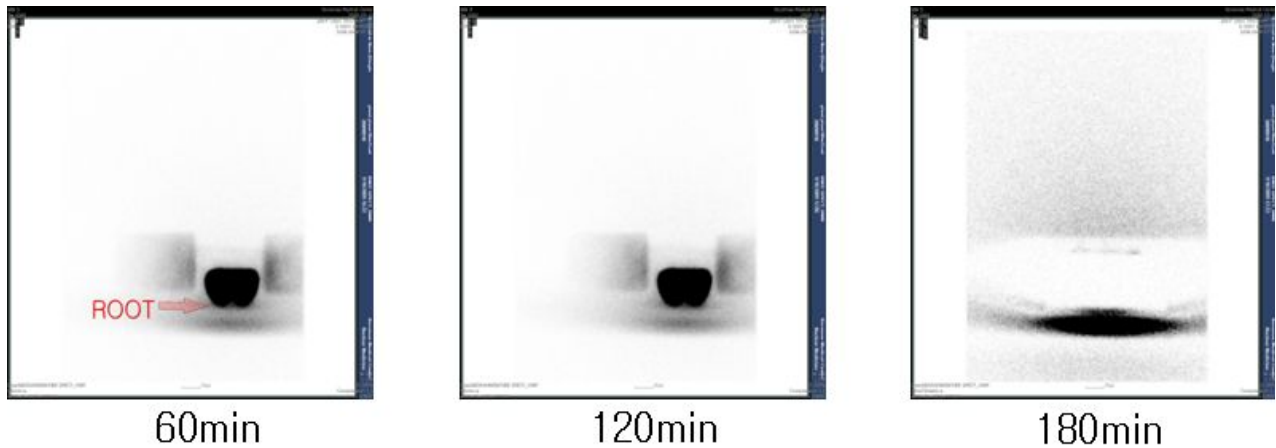


그림 49. Tc-99m 를 관주처리한 고추의 지하부에서 지상부의 이동양상을 측정 한 SPECT 영상

마. 제제 보존성

시료를 가혹조건인 65℃ 항온기에 넣고 보관하면서 1주 간격으로 매회 0.1g씩 3개의 시료를 채취하여 3반복으로 서방성 방출패턴을 분석하였다(그림 50).

황산마그네슘 제제 0.1g을 증류수 3ml에 현탁하여 투석막(Spectra/por, Spectrum Laboratories Inc, USA)안에 넣었다. 즉시 부유액이 담긴 투석막을 증류수 497ml에 넣고 시간에 따라 0.5ml씩 회수하여 이온크로마토그래피로 제제로부터 방출되어 나온 SO_4^{2-} 이온을 분석하였다.



그림 50. 가속화 검점 (65°C)

가혹조건인 65°C 항온기에서 1,2,3 주간 저장된 나노제제의 서방성 기능의 유무를 확인하기 위해 재료 및 방법에서 기술한 내용대로 실행한 후 이온크로마토그래피를 통하여 서방성 방출 양상을 분석하였다(그림 51).

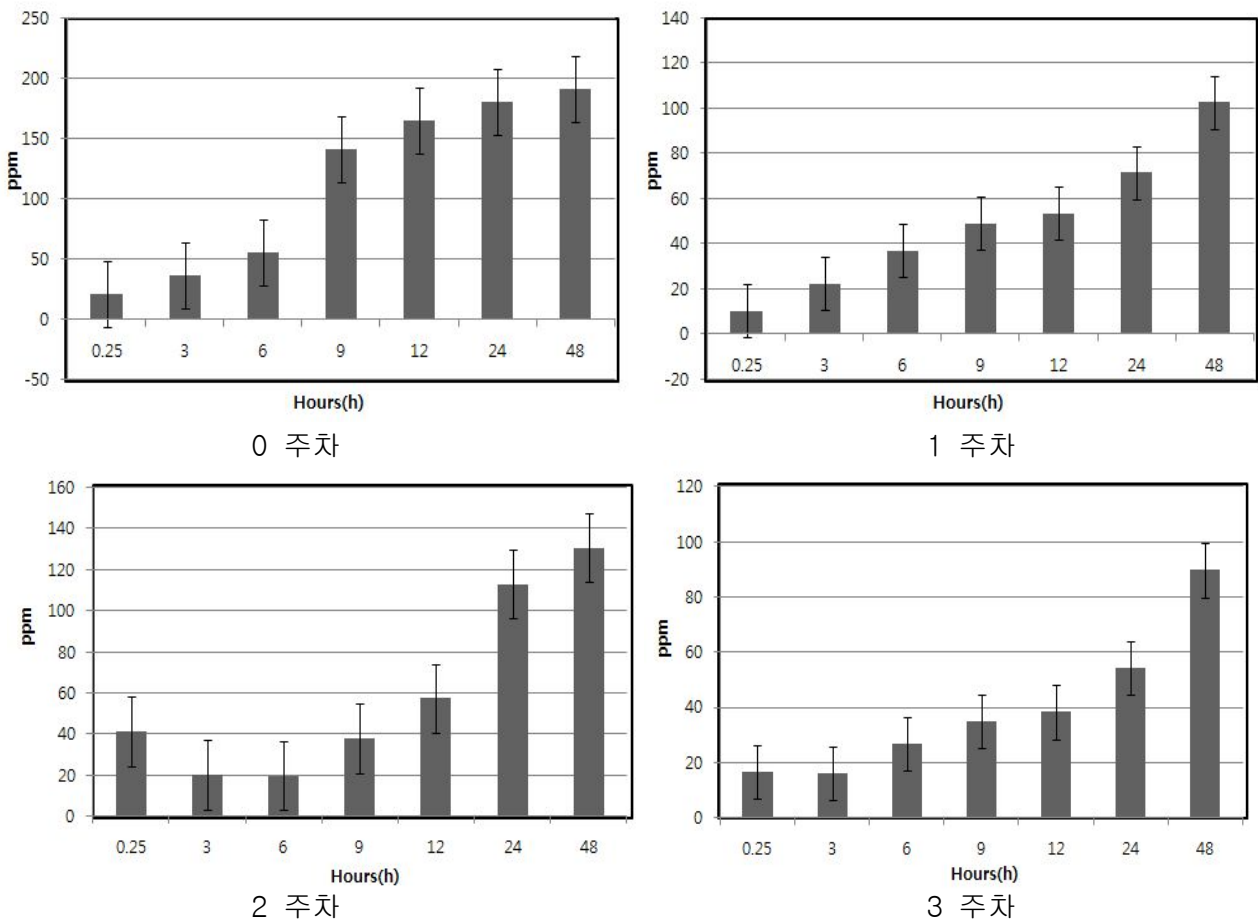


그림 51. 가속화 테스트에 따른 제제 서방성 검정

그림 51과 같이 가혹화 하지 않은 제제와 비교하여 방출되는 이온 양의 차이는 있으나 시간이 지남에 따라 서서히 방출되는 서방성의 패턴은 유사하였다. 1, 2, 3주차 샘플 모두 가혹화 되지 않은 샘플과 마찬가지로 서방성 기능이 유지되는 것으로 확인되었다. 이에 따라 본 서방성 제제는 3년 정도의 보존성을 추정된다.

그림 52와 같이 가혹조건 하에 보관되어진 제제와 처리하지 않은 제제를 주사전자현미경 상에서 형태를 확인하였다. 현미경 상에서 가혹 조건에서 보관된 제제를 확인한 결과, 가혹화 하지 않은 제제와 차이가 없었으며, 제형이 녹아내리거나 변형이 일어난 부분을 확인할 수 없었다.

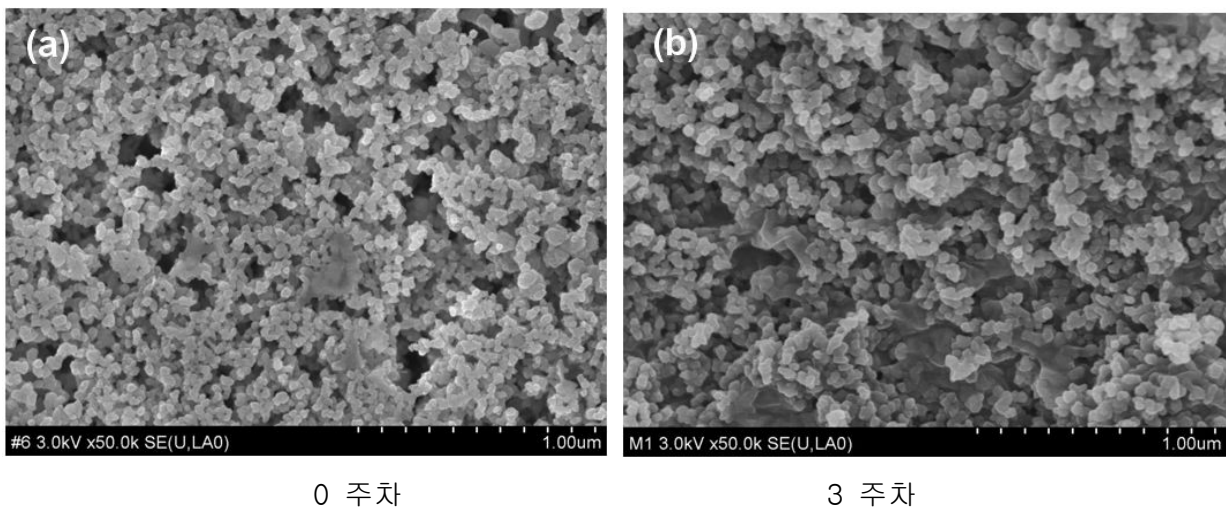


그림 52. 가혹화 테스트후 SEM 분석

3. 제형화

가. 1차 시제품

(1) 원재료 선발

비료학적 가치가 있는 유기자원은 아래 표 28에 제시한 수종의 유박을 대상으로 화학적 특성을 조사하였다. 식물의 종실에 포함된 유지를 착유 또는 착출하여 식용, 약용, 공업용 등으로 사용하고 남은 찌꺼기를 총칭하여 식물유박이라고 분류한다. 이러한 유박들은 대부분 유기질비료나 사료원료로 사용되고 있으며 식물의 씨앗에서 얻어진 깻묵류가 가장 많이 사용되고 있다. 실험에 사용된 유박은 여러 식물 유박 중 유기질 비료원으로 사용되고 있는 피마자박(C), 님박(N), 대두박(S), 탈지강(R)으로 대두박과 탈지강은 국내에서 생산된 것이며 피마자박과 팜박은 인도네시아에서 생산된 것이다.

표 28. 실험에 사용된 유박의 화학적 특성

유박	pH (1:5)	TN (g/kg)	OM (%)	TP (%)	Ava. P (mg/kg)	Ex. cation(cmol ⁺ /kg)			
						Na	K	Ca	Mg
C*	6.5	5.0	69.3	2.07	1657.1	1.9	19.3	3.5	6.9
N	5.2	3.1	82.2	1.19	2208.6	0.4	21.6	2.7	16.8
S	6.6	6.9	77.7	1.65	1646.4	0.7	56.4	2.5	16.9
R	6.4	2.5	87.4	3.57	1714.2	1.4	34.9	0.4	24.3

* C : 피마자박, N : 님박, S : 대두박, R : 탈지강

한편 담체로 천연광물질로 펄라이트, 제오라이트, 질석, 벤토나이트, 디아토마이트, 탈크, 카오린 등을 선정하여 선발미생물의 담체로 하여 유박과 담체의 배합조건을 달리하여 고체배양을 실시한 결과, 1차 시제품생산을 위한 소재로 펄라이트, 제오라이트, 질석을 선발하였다.

(2) 제형방법확립

(가) 제형조건

1차 제형화를 위해 선발된 유박은 미강과 탈지강이며 선발된 담체는 펄라이트(비중0.07g/cm³, 분말), 제오라이트(비중 2.1g/cm³, 분말), 질석(비중 0.18g/cm³, 분말)으로 이들 담체의 혼합비율을 달리하여 입상성형기를 이용한 제형화를 실시하였다. 담체의 혼합비율 5, 10%로 펄라이트와 질석은 부피비율로 제오라이트는 중량비율로 첨가하여 담체별(3종), 함량별(2수준(5, 10%))로 6개의 제품군을 두어 제형화를 실시하였으며 원료 혼합비율은 표 29와 같다.

표 29. 1차 제형조건에 따른 원료 및 혼합량

구 분		원 료 혼 합 량(kg)	기 타
제 형 화	1	미강 25, 탈지강 75	제오라이트 5kg
	2	미강 50, 탈지강 50	펄라이트 5L
	3	미강 75, 탈지강 25	질석 5L
	4	미강 25, 탈지강 75	제오라이트 10kg
	5	미강 50, 탈지강 50	펄라이트 10L
	6	미강 75, 탈지강 25	질석 10L

(나) 미생물배양체

본 연구의 미생물 고체배양의 결과에 제시한 바와 같이 탈지강 450kg에 제오라이트 50kg을 혼합하고 수분이 45%가 되도록 물을 첨가하고 여기에 HSB901 균주의 액상배양액 10리터를 접종하고 33℃, 교반은 1시간당 20분씩 실시하여 4일간 배양하여 아래 투입비율에 따라 시제품에 혼합하는 미생물배양체를 준비하였다.

1차 제형조건결과를 토대로 1차 시제품의 물리적 성상이 우수한 제형조건을 설정하여 다음과 같이 제형조건을 설정 및 시제품을 생산할 계획이다. 따라서 1차년도 시제품 생산을 위해 산업적으로 대량생산을 위한 유박과 증량제의 최종선발은 탈지강, 미강, 제오라이트 등의 원료와 본 연구과제에서 선발된 유용미생물의 고체배양체와 서방성 미량원소를 표 30과 같이 원료의 혼합조건을 설정하였다.

표 30. 대량생산을 위한 원료의 투입비율

원 료 명	투 입 량(kg)	비 율(%)
탈지강	500	45~50
미강	300	25~30
제오라이트	100	5~10
미생물배양체	50	3~5
서방성미량원소혼합물	50	3~5

최종적으로 1차년도에 제시한 배합비율에 따라 탈지강, 미강, 제오라이트, 서방성마그네슘 제제 혼합물 1,900kg에 미생물고체배양체 100kg을 혼합하여 제조하였다.

(다) 제형공정

본 연구에 의해 개발된 서방성미량원소가 함유된 유기질비료는 고른 비료효과를 위해서는 분말제형이 성능을 높일 수 있겠으나, 분말제형의 바람에 의한 비산과 같은 사용상의 편리를 위하여 입상제형으로 결정하였다. 1차년도 확립한 대량생산 공정을 위한 혼합비율에 따라 서방성미량원소 제형과 미생물배양체를 제외하고 기타 원료를 혼합하여 생산성을 검토하였다. 원료혼합은 탈지강 1,000kg, 미강 600kg, 제오라이트 200kg, 미생물배양체 100kg, 서방성미량원소 제제 100kg을 각각 계량하여 제품성형공정에 의해 생산하였으며 최종 입상제형을 위해 입상제형기의 회전속도는 관행생산과 동일하게 175~185rpm조건을 주었다.

혼합기에 탈지강 1,000kg, 미강 600kg, 제오라이트 200kg, 미생물배양체 100kg, 서방성마그네슘 제제 100kg을 넣어 1분간 혼합하여 300마력, 180rpm조건인 펠렛제조기를 이용하여 지름 3.5와 5mm, 길이 1cm 크기의 입상제품을 생산하였다. 입상제형기의 특성상 길이는 조절이 가능하나 현재 보유하고 있는 제형기의 경우 지름이 3.5mm 및 5mm로 제한되어 그림 53과 같이 입상형태의 시제품을 생산할 수 있었다.

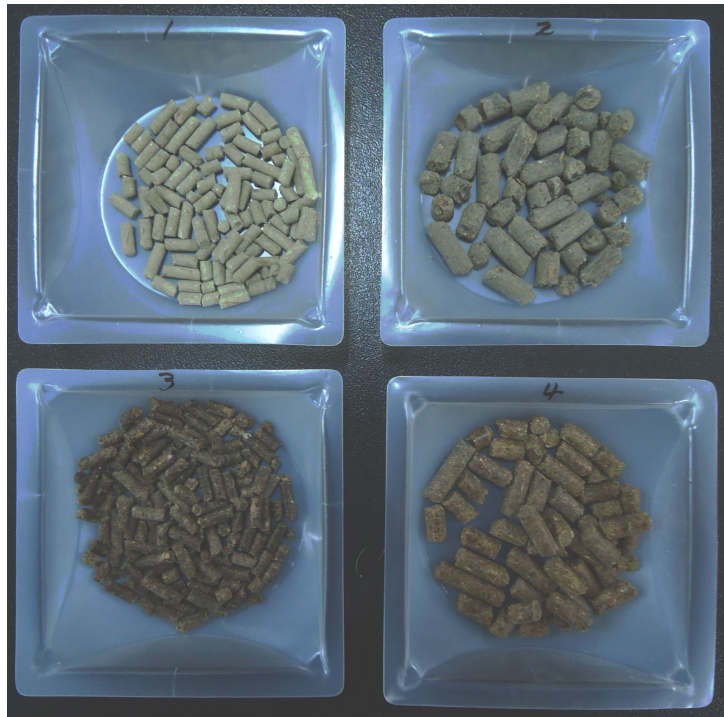


그림 53. 시제품(1~3.5mm, 2~5mm) 및 기존제품(3~3.5mm, 4~5mm)의 형태

기존제품의 경우 색깔이 짙은 이유는 1차 시제품의 주원료인 탈지강을 사용하지 않고 기타 식물성 유박을 사용하였기 때문이다.

또한, 기존제품과의 생산량을 비교하기 위해 5mm의 지름으로 생산할 경우 단위시간의 생산량을 측정하여 효율성을 검정한 결과 2,000kg의 혼합물이 입상화하는데 8분 30초가 소요되었으며 동일한 방법으로 기존제품의 경우 8분 35초가 소요되었다. 또한 지름 3.5mm의 경우 개발

제품이 12분 5초, 기존제품이 12분15초가 소요되었으며 이를 근거로 지름이 다른 크기의 단위 시간당 생산량을 산출한 결과는 표 31과 같다.

표 31. 크기별 입상제품의 생산량

제품크기(mm)	생산량(kg/hr)	
	기존제품	1차시제품
5×10	13,980	14,118
3.5×10	9,795	9,932

표 31에서 보는 바와 같이 1차 시제품의 생산량이 지름 5mm, 3.5mm의 크기로 생산할 때 각각 138kg, 137kg이 증가되었으나 기존제품의 경우 탈지강과 미강을 적게 사용하고 질소원이 높은 피마자박 등의 유박을 사용하기 때문인 것으로 판단된다.

한편 최종제형의 비료공정규격 조건에 부합되는지의 여부를 판단하기 위해 성분 분석을 실시한 결과 기존 유박비료에 비해 인산함량이 다소 높았다(표 32).

표 32. 탈지강, 미강 및 1차 시제품의 성분함량

품 명	성분함량(%)					
	수분	유기물	질소	인산	칼륨	마그네슘
탈지강	10.4	77.7	2.79	5.64	2.97	0.96
미 강	15.6	76.3	2.03	3.30	1.51	0.60
1차시제품	12.1	69.0	2.02	4.01	1.98	1.13

원료에 있어 탈지강의 경우 1차년도 원료에 비해 인산함량이 2%정도가 높았으며 이에 따라 1차 시제품의 인산함량이 높게 나타나고 있음을 알 수 있으며 비료 공정규격상 질소, 인산, 칼리의 합이 7%이상이므로 본 시제품은 그 조건을 충족시키고 있다.

따라서 1차 시제품으로 수도재배 실험을 수행하여 평가 및 보완하고자 하며 생육관찰에 의해 질소가 다소 부족한 것으로 판단되어 2차 시제품의 원료 선발과정에 이를 보완할 수 있는 유박으로 피마자박을 선발하였다.

나. 2차 시제품

(1) 원재료선발

1차 시제품의 작물재배 실험을 통해 제품의 질소함량을 높일 필요성을 고려하여 원료선발 및 배합비율을 보완하기 위해 질소의 보정과 생산성을 고려하여 피마자박의 혼합비율을 2차 초기 제작한 시제품의 피마자박함량을 40~50%에서 50~65%높이고 탈지강과 미강의 사용량을 조절하였다.

미강의 경우 입상제형을 위한 필수원재료로 기존 제품의 생산에 착안하여 15%로 낮추고 탈지강은 10% 수준으로 배합하였다(표 33).

표 33. 2차 시제품의 대량생산을 위한 원료의 투입비율

원료명	투입비율(%)	원료명	투입비율(%)
피마자박	50~65	제오라이트	5~10
탈지강	10~20	미생물배양체	3~5
미강	10~20	서방성미량원소	3~5

원재료의 배합비율조정과 질소원으로 피마자박을 선발함에 있어 이들의 구성성분을 분석한 결과는 표 34와 같다.

표 34. 피마자박 및 2차 시제품의 구성성분 함량

품명	성분함량(%)				
	수분	유기물	질소	인산	칼륨
피마자박	10.7	81.2	4.85	2.11	1.21
2차시제품	11.8~12.0	70.2~71.2	3.89~4.41	1.89~2.25	1.19~1.41

표 34와 같이 피마자박을 함유한 2차 시제품의 질소 함량이 4% 수준으로 높아졌으며 인산과 칼리의 함량이 낮아지게 되었으며 비료공정규격 조건을 충족함은 물론 표 29에 제시한 바와 같이 원재료의 혼합으로 구성성분이 안정적인 제품을 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

(2) 제형방법확립

(가) 원재료배합비율 및 특성

1차 시제품의 경우 탈지강과 미강의 원료가격상승에 따른 제조비용 부담증가 및 질소함량이 낮아 2차 시제품의 원재료 선발과 최적생산을 위한 배합비율의 조정이 필요하게 되었다. 앞서 제시한 표 33과 같이 주원료인 피마자박(50~65%), 탈지강(10~20%), 미강(10~20%)의 함량을 달리하여 배양체 및 서방성미량원소를 혼합하여 성분분석을 실시하였다.

한편 입상제형을 위해 미강원료는 필수원료이며 기존제품의 생산성을 고려해 전체 원료의 20%를 사용한 2차 초기배합비율에서 미강을 15%로사용해도 입상제형이 가능하여 2차 시제품 생산에 미강배합율을 15%로 고정하였다.

표 35. 2차 시제품 생산을 위한 원재료의 혼합비율

원료명	혼합비율(%) 및 제품명		
	2-1	2-2	2-3
피마자박	50	60	65
미강	15	15	15
탈지강	15	10	5
제오라이트	10	5	5
미생물배양체	5	5	5
서방성미량원소	5	5	5

표 36. 2차 시제품 생산을 위한 원재료 및 혼합비율에 따른 성분함량

품명	성분함량(%)					
	수분	유기물	질소	인산	칼륨	마그네슘
피마자박	10.6	80.7	5.12	2.15	1.31	0.41
미강	14.7	75.8	2.45	3.56	1.47	0.60
탈지강	11.1	76.8	2.52	4.92	2.67	0.96
2-1	11.2	70.8	3.43	2.59	1.41	0.48
2-2	11.7	74.9	3.82	2.56	1.41	0.47
2-3	12.0	75.6	3.95	2.42	1.34	0.45

2차 초기 피마자박에 비해 성분함량이 높은 피마자박을 최종 선별하여 표 35와 같이 2차 시제품의 혼합비율로 제작한 시제품과 원료의 성분함량은 표 36과 같았다.

2차 초기 시제품의 질소함량이 2.9~3.4%수준에 비해 피마자박의 함량의 증가로 3.4~4.0% 수준의 질소함량을 보정할 수 있었으며 마그네슘의 함량은 배합조건의 차이에 따라 크게 변하지 않고 0.45~0.48% 수준으로 2차 초기시제품의 절반 수준이었다.

2차 시제품의 물리적 특성에서 입상크기 및 1차 시제품과의 수분흡수에 의한 제형유지 여부를 조사하기 위해 1차 및 2차 시제품 10g을 페트리디시에 취해 증류수 7ml을 가하여 4시간 후 형상을 조사하였다(그림 54).



그림 54. 입상제형의 수분침가에 의한 형태변화

2차 시제품의 지름 5mm크기의 경우 2-3제품이 형태유지가 잘 되었으며 1, 2차 지름 3.5mm 경우 형태유지가 양호하였다. 2차 시제품의 배합비율에 따라 피마자박의 함량이 최대인 2-3의 형태유지 및 제품 경도가 우수하였으며 질소성분함량도 적정하여 2차 시제품 배합비율로 설정하였다.

(나) 제형조건

1차년도 시제품 생산과 마찬가지로 300마력의 입상제형기를 사용하며 175~185rpm 조건으로 생산한 결과 기존제품과 동일한 수준의 생산량을 얻을 수 있었다. 따라서 2차 시제품은 1차 년도와 동일하게 설정하였으며 추후 10톤 규모의 생산을 통해 제형조건을 검정할 계획이다.

최종 시제품은 표 37과 같은 제조공정절차로 실시하였으며, 사용된 주요 기기는 그림 55에서 보는 바와 같다.

표 37. 최종 시제품 제조공정

순 번	공정명	설명
1	원료투입	저장탱크(Bin tank)에 원료를 저장
2	계량, 혼합	원료를 함량에 따라 자동계량 후 배합기(Mixer)에 투입하여 혼합
3	입상제형	혼합 원료를 입상제형기(Pellet mill)에 투입하여 입상으로 제조
4	냉각	냉각기(Cooler)로 이송하여 냉각
5	포장	자동포장기(Sewing machine)를 이용하여 완제품 포장



자동계량기



배합기



입상제형기



자동포장기

그림 55. 제조공정별 주요 기기 현황

그림 55의 기기에 의해 원재료를 각각의 저장탱크에 투입 후 자동계량 및 배합기 (2ton/Batch)에서 2~3분간 혼합하여 이를 300마력, 180rpm, 15ton/hr 사양을 가진 입상제형기에서 성형하였으며, 이 과정에서 다이(die)의 가는 구멍을 통한 강한 압축에 의해 빠져나오는 펠렛은 다이위에 부착된 칼날에 의해 적당한 크기로 절단하여 직경 3.5mm와 5mm, 길이 1cm 크기를 유지시켰다. 이후 20ton/hr 용량의 냉각기에서 급속냉각하여 포장작업으로 이루어진 일련의 과정을 거쳐서 그림 56과 같은 시제품을 생산하였다.



그림 56. 최종 제형조건에 의해 생산된 시제품

최종적으로 생산된 시제품의 이화학적 특성을 조사하고자 시료를 일정량 채취하여 성분함량을 분석하였다. 각 시제품의 성분함량분포는 유기물 71~76%, 질소 3.4~4.0%, 인산 2.4~2.6%, 칼륨 1.3~1.4, 마그네슘 0.45~0.48% 수준으로 유기질비료로 사용하기에 충분한 조건을 유지하고 있다. 따라서 2차 최종 시제품은 비료공정규격에서 기준인 질소, 인산, 칼륨의 합이 7%이상인 조건에 부합하였다.

표 38. 2차 최종 시제품 성분함량

직경 (mm)	유기물 (%)	질소 (%)	인산 (%)	칼륨 (%)	마그네슘 (%)
5	75.6	3.95	2.38	1.32	0.44
3	75.4	3.96	2.38	1.33	0.45

표 39와 같이 직경 5mm 와 3.5mm 형태로 생산된 시제품의 비중을 측정하여 제품포장시 적합여부를 검정한 결과 기존제품과 비슷한 0.6~0.7g/cm³ 범위를 형성하였으며, 상대적으로 3.5mm 크기로 생산된 시제품의 비중이 약간 높은 경향을 보였다.

표 39. 최종 시제품의 비중 측정

직경 (mm)	비중 (g/cm ³)	지수 (%)
5	0.62	100
3.5	0.64	103

시제품 크기에 따른 경도측정 결과는 표 40과 같으며, 직경 5mm 시제품은 6.5 kg/cm이며, 직경 3.5mm 시제품에서 5.0 kg/cm 수준으로 23%의 차이가 조사되었으며, 경도의 차이가 포장시 제품 형태에 미치는 영향을 검정하기 위해 자동포장기에서 포장된 제품의 보존상태를 검사한 결과 직경 5mm 시제품에서는 입상형태가 부서져 분말형태로 흐트러진 양이 직경 3.5mm 형태 입상제품보다 상대적으로 적었다.

이는 차후 제품 사용시 영향을 줄 것으로 보여지며, 제품 적재 및 이송시 보존상태 정도와 토양에 시비할 때에 분진 발생 등 사용자의 시비편리성을 고려할 때에 직경 5mm 형태가 더 우수하다고 판단된다.

표 40. 최종 시제품의 경도 측정

직경 (mm)	경도 (kg/cm)	지수 (%)
5	6.5	100
3.5	5.0	77

(다) 생산량검정

단위시간당 생산량을 측정하기 위해 1차시제품과 동일하게 2,000kg을 혼합하여 전량 입상화 되는 시간을 산출하여 계산하였다.

표 41. 2차 시제품의 단위 시간당 생산량

제품크기(mm)	생산량(kg/hr)		
	기존제품	1차시제품	2차시제품
5×10	13,980	14,118	14,068
3.5×10	9,795	9,932	-

2차 시제품 원료를 표 36의 2-3배합비율에 따라 피마자박 1,000kg, 미강 400kg, 탈지강 200kg, 제오라이트 200kg, 미생물배양체 100kg, 서방성미량원소제제 100kg을 혼합한 후 입상제형기에 투입하여 지름 5mm, 길이 10mm의 크기로 생산하는데 소요되는 시간을 측정하였다.

소요시간 측정결과 8분 32초였으며 이를 근거로 산출한 단위시간당 생산량은 14,068kg으로 기존제품의 13,980kg 보다 88kg이 많았으나 1차 시제품의 14,118kg보다 50kg이 적었다. 이는 미강 함량이 10% 줄고 탈지강에 비해 단단한 원료인 피마자박의 함량이 50%로 증가하였기 때문이며 기존제품에 비해 생산량 측정결과 2-3배합비율은 대량생산에 적합한 것으로 판단된다.

최종적으로 2차 시제품 생산으로부터 얻어진 결과를 바탕으로 최종 시제품 생산은 원료혼합량을 12ton 정도 수준으로 설정하였으며, 두 가지 직경(3.5mm, 5mm)의 형태를 가진 입상제품에 대하여 각각 0, 10, 20, 30분당 생산량(kg/min.)을 조사하여 이를 근거로 단위시간당 생산량(kg/hr)을 산출하여 계산하였다.

표 42에서 최종 시제품의 생산량은 직경 3.5mm 시제품의 경우 평균 1,654kg/10min., 직경 5mm 시제품은 평균 2,345kg/10min. 정도 생산량을 보였다.

표 42. 최종 시제품의 시간에 따른 생산량

분(min.)	생산량(kg)	
	Φ3.5×10mm	Φ5×10mm
10	1,651	2,342
20	1,653	2,346
30	1,658	2,348
평균	1,654	2,345

단위시간당 생산량으로 계산한 결과는 표 43과 같으며, 직경 3.5mm 시제품은 9,924kg/hr, 직경 5mm 시제품은 14,070kg/hr으로 생산량의 차이가 나타났으며, 직경 3.5mm 형태의 제품 생산시

29% 정도 단위시간당 생산량이 감소됨을 알 수 있었다.

표 43. 최종 제품의 시간당 생산량 비교

제품크기(mm)	시간당 생산량	지수(%)
Φ5×10mm	14,070	100
Φ3.5×10mm	9,924	71

생산량 차이의 원인으로 입상제품의 크기는 성형시에 입상제조기내 다이(die)의 압축력에 영향을 주어 다이 구멍의 직경이 가늘고 길수록 생산성은 떨어지게 되는 것으로 보여지며, 따라서 Φ5×10mm 형태의 제품은 생산적인 측면에서 볼 때에 상대적으로 효과적인 제품 크기로 판단된다.

최종 시제품의 선발을 위해 두 가지 형태(직경 3.5mm, 5mm)로 시제품을 생산하여 성분함량, 비중, 경도, 제품포장 보존상태 등을 조사하여 제품시비편리성에 대한 감정 및 단위생산량에 따른 생산효율성 감정을 실시한 결과 상대적으로 우수한 직경 5mm 형태를 최종 시제품으로 선발하였다.

(3) 유효미생물 밀도

본 연구에 의해 개발된 ™뉴파머를 분쇄한 후 멸균수에 희석하여 nutrient agar plate 배지에 도말배양하였다. 또한, 85℃에서 10분간 열처리를 실시하여 아포를 형성하지 못하는 기타 미생물을 사멸시킨 후 희석평판을 실시하였다. 그 결과 ™뉴파머에 함유된 미생물 총 균수는 1×10^6 CFU/g으로 나타났으며, 이 중에서 아포를 형성하는 Bacillus속 미생물의 밀도는 6×10^5 CFU/g으로 나타났다. 이에 의해 고체배양된 유효미생물이 입상제형기에 의해 성형되는 과정에서 고압 및 고온에 의해 아포를 형성하지 못한 많은 수의 유효미생물이 사멸된 것을 알 수 있었다.

4. 생물 검정

가. 1차 시제품

(1) 종자 발아-상추

서방성 마그네슘의 2,000, 3,000, 4,000ppm농도에서 발아 흔적이 없었고, 1,000ppm에서 1~2개 발아했으나 뿌리가 고사하여 더 이상 성장하지 못했다. 500ppm은 4개, 300ppm은 6개가 발아하였으나, 뿌리끝부분부터 고사하여 더 이상 성장하지 못하였다. 100ppm은 발아는 70%정도 됐으나, 뿌리길이가 대조구에 비해 현저히 낮고, G.I율이 25.5 밖에 안되어 정상적으로 종자가 발아했다고 보기 어려웠다. 50ppm은 발아율은 90%에 이르는데 반해 뿌리길이가 대조구의 70% 성장밖에 보이지 않아 약간의 해가 있지 않나 판단되었고, 10ppm은 대조구와 비슷한 발아율과 뿌리길이를 보였으며, 1ppm은 대조구보다 뿌리의 성장이 우수하였다(표 44).

표 44. Mg 농도에 따른 상추의 종자발아시험

Mg ppm	발아율(%)	뿌리길이(cm)	G.I.*
4,000	0	0	0
3,000	0	0	0
2,000	0	0	0
1,000	0	0	0
500	40	0	0
300	60	0	0
100	70	2.0	25.5
50	90	4.0	65.5
10	100	5.3	96.4
1	100	6.0	109
0	100	5.5	

* 작물의 발아비율에 기초한 발아지수(G.I.)방법을 수용성상태에서 염류, 휘발성지방산, 중금속, 암모니아등에 적용한 결과, 각 농도의 발아지수 80에 해당되는 농도는 다음과 같았다. Mg, Na, K, Ca 각각 27, 435, 659, 2,360ppm이었으며, propionate, butyrate, Acetate는 각각 173, 220, 390 ppm이었고, 중금속인 Cu는 2ppm(G.I. 50), NH₄-N는 65ppm이었다. (참고: G.I의 영향 인자에 대한 고찰: 염과 유기산의 개별농도 중심으로)

(2) 배추 포트재배실험

(가) 생육조사

① 엽장

엽장의 관주시비 생육조사 결과 초기 시비후부터 2,000, 4,000ppm을 다른 처리구와 생육의 차이를 보였으며, 4,000ppm의 경우는 1차 생육조사 전에 Mg 농도에 의한 약해로 고사하였으며, 2,000ppm은 2차 생육조사 전에 고사하였다. 50~100ppm이 최종 생육조사에서 대조구인 0ppm보다 12~14% 정도의 생육이 우수하게 나타났다(그림 57). Mg 용액을 엽면시비하였을 때 관주시비보다 생육이 약간 낮게 나타났으며 전체적인 약해 발생 양상은 유사하였다(그림 58).

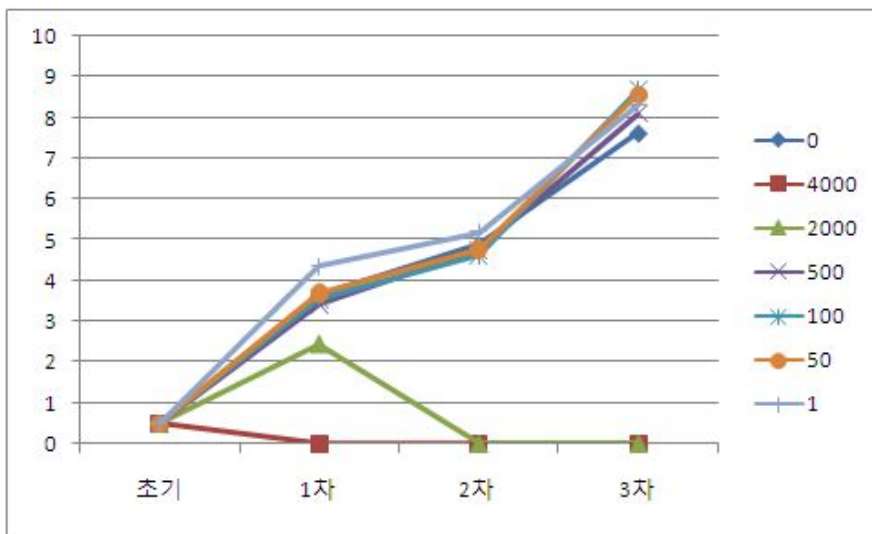


그림 57. 포트재배에 따른 배추의 엽장(관주시비)

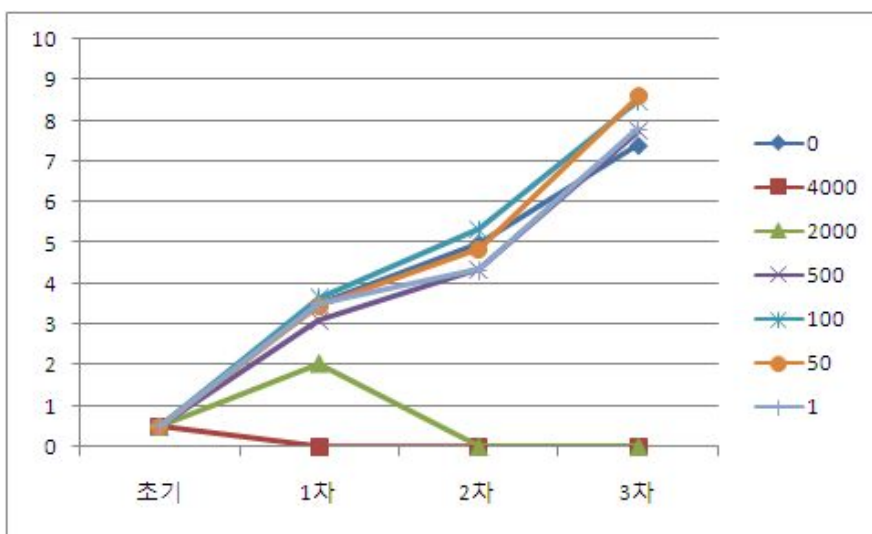


그림 58. 포트재배에 따른 배추의 엽장(엽면시비)

② 엽폭

엽폭의 관주 및 엽면시비 결과는 엽장의 생육조사와 마찬가지로 Mg 50~100ppm 용액에서 생육이 대조구에 비해 생육을 우수하였으며 2,000ppm 이상에서는 약해가 발생했다(그림 59, 60).

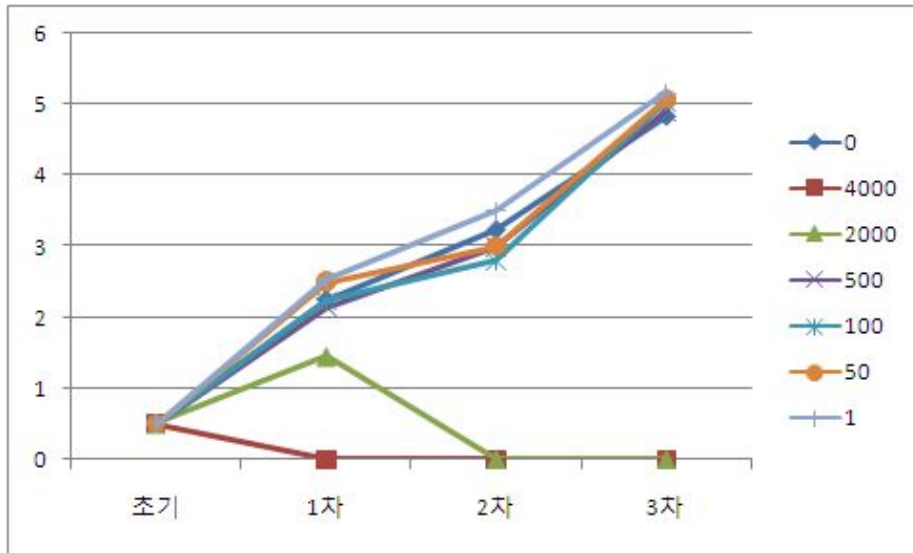


그림 59. 포트재배에 따른 배추의 엽폭(관주시비)

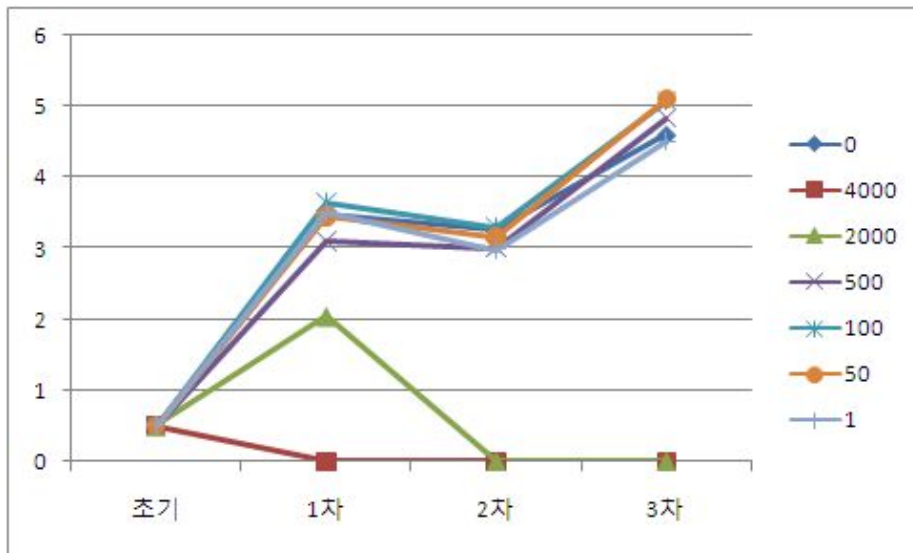


그림 60. 포트재배에 따른 배추의 엽폭(엽면시비)

③ 총중량

4,000, 2,000ppm의 경우 G.I 값에서 식물 독성이 나타났는데, 배추 생육 조사에서도 약해를 나타내어 초기 고사로 인하여 최종 조사에서 중량을 측정할 수 없었다. 50~500ppm에서 대조구인 0ppm보다 10~17% 정도의 생육이 우수하게 나타났다. 1ppm의 경우는 대조구보다

오히려 저조한 생육을 나타내었다(그림 61).

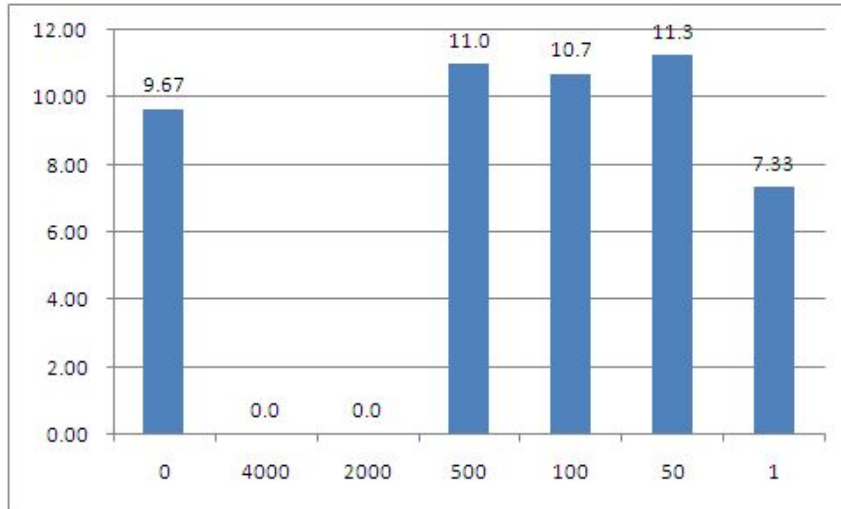


그림 61. 포트재배에 따른 배추의 총중량(관주시비)

엽면시비의 경우도 관주시비와 유사한 결과를 보였으며, 50~500ppm에서 대조구인 0ppm보다 15~18% 정도의 생육이 우수하였으며 총중량을 관주시비와 엽면시비를 비교하였을 경우에는 관주시비가 엽면시비보다 1ppm을 제외한 모든 처리구가 우수하게 나타났다(그림 62).

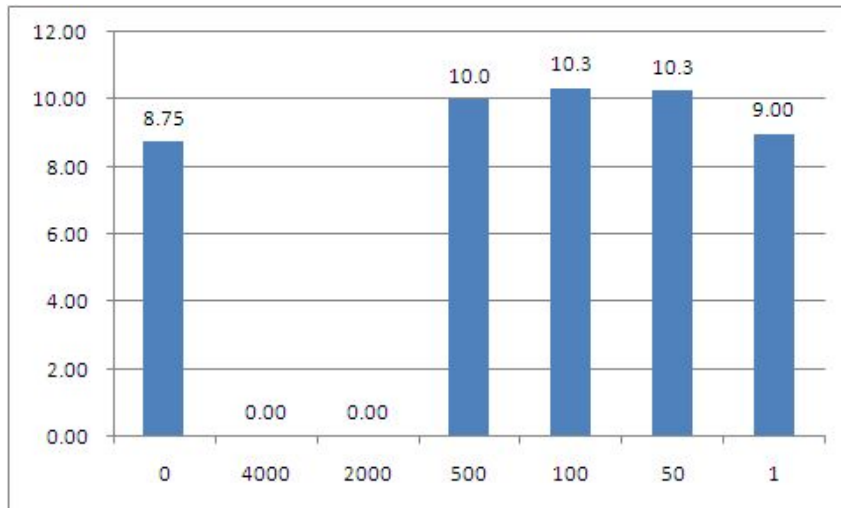


그림 62. 포트재배에 따른 배추의 총중량(엽면시비)

생육조사 결과 엽장과 엽폭 모두 50~100ppm에서 생육이 우수하였으며, 초기 생육의 경우 엽면시비보다는 관주시비가 우수한 생육을 보였다. 총중량의 경우도 엽장과 엽폭에서와 마찬가지로 비슷한 성향을 보였으며, 전체적인 경향을 보았을 경우, 엽면시비 보다는 관주시비에서 생육이 우수한 것으로 판단된다.

(3) 고추 역병 방제시험

아인산 마이크로수화제 및 HSB901 고체배양체의 병방제 실험을 위해 병원균 접종일로부터 5일째 처리구의 모든 sample에 대한 전수조사를 실시하여 이병주를 선별하였다. 전수조사는 지체부에 형성되는 병반의 진전정도와 상관없이 이병유무로 나누어 조사하였다. 역병이 진전되어 쓰러진 식물체들을 대략적으로 선별하고, 상토에서 나머지 샘플을 캐내어 멸균수로 상토를 씻어낸 후 정밀하게 관찰하여 발병여부를 판단하였다. 그 결과 아래 표 45에 나타낸 바와 같이 아인산 마이크로수화제 및 아인산 수용액 처리구에서는 발병률이 0%로 나타났으며 HSB901 고체배양체 처리구는 희석농도가 높아질수록 발병률이 높게 나타났다(표 45 및 그림 63, 64).

표 45. 처리구에 따른 발병률

처리구	처리내용	발병주 수 / 전체	발병률(%)
1	아인산 마이크로수화제(1,000ppm)	0/15	0%
2	아인산 마이크로수화제(500ppm)	0/15	0%
3	아인산 수용액(1,000ppm)	0/15	0%
4	HSB901 고체배양체 200배	6/15	40.0%
5	HSB901 고체배양체 500배	7/15	46.7%
6	HSB901 고체배양체 1000배	9/15	60.0%
7	무처리	13/15	86.7%

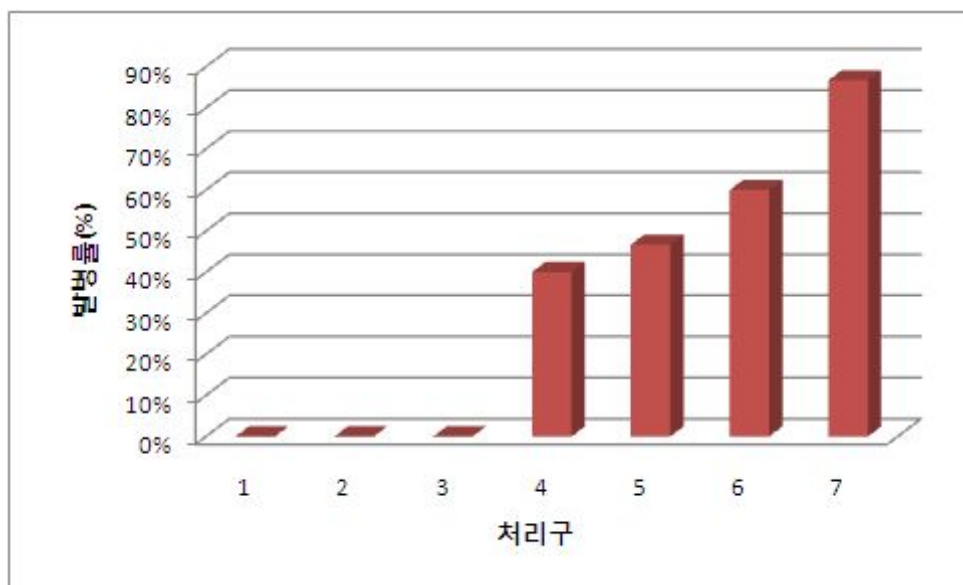


그림 63. 처리구에 따른 고추역병 발병률



아인산 마이크로수화제 (1,000ppm)



아인산 마이크로수화제 (500ppm)



아인산 수용액(1,000ppm)



HSB901 고체배양체 200배



HSB901 고체배양체 500배



HSB901 고체배양체 1000배



7



발병

7

무처리

그림 64. 처리구별 고추역병균 최종 발병률 조사

본 연구과제에 의해 개발된 아인산 마이크로수화제와 아인산 수용액은 고추역병 방제에 뛰어난 효과가 있는 것으로 나타났다. 본 실험에서는 제제 처리 후 1주일 후에 병을 접종하였으나 물에 의해 쉽게 용탈되는 아인산 수용액 처리구에서도 발병률이 0%로 나타나 아인산 수용액이 고추내로 흡수이행되어 병방제 효과를 나타냈음을 알려준다. 또한, 고추 파종 및 육묘시기가 적절하지 못하여 일광조건 및 기온이 낮아 미생물 생육에 적절치 못했음에도 불구하고 HSB901 고체배양제 처리구에서도 50% 정도의 병방제효과가 나타났다. 이러한 미생물제제의 단점을 보완하기 위하여 본 연구과제에 의해 개발된 아인산 마이크로수화제 제형을 첨가하여 유기질비료를 제조 및 공급하고, 이를 고추 역병 이병포장에 기비로 사용하게 하면 식물영양성분 공급 및 고추역병방제효과로 인하여 최종적으로 농민 소득 증대에 기여할 수 있을 것이다.

(4) 벼 포장재배시험

(가) 생육조사

본 연구에 의해 개발된 1차 시제품의 벼 생육촉진효과를 검정하였으며 처리구 및 처리내용은 표 46과 같다.

표 46. 벼 생육실험 처리구 및 처리내용

처리구	처리내용
①	유박
②	유박 + HSB901
③	유박 + Mg-서방성제제
④	유박 + 규산질(6%)
⑤	유박 + HSB901 + Mg-서방성제제 + 규산질(6%)
⑥	유기복합
⑦	유기복합 + HSB901
⑧	유기복합 + Mg-서방성제제
⑨	유기복합 + HSB901 + Mg-서방성제제
⑩	유기복합 + HSB901 + Mg-서방성제제 + 규산질(6%)

① 최고분얼기(7월 13일)

처리구별 초장은 관행구인 ①처리구 및 ⑥처리구를 기준으로 HSB901, Mg-서방성제제, 규산질을 첨가한 처리구가 97~103%의 성장률을 보였다(그림 65).

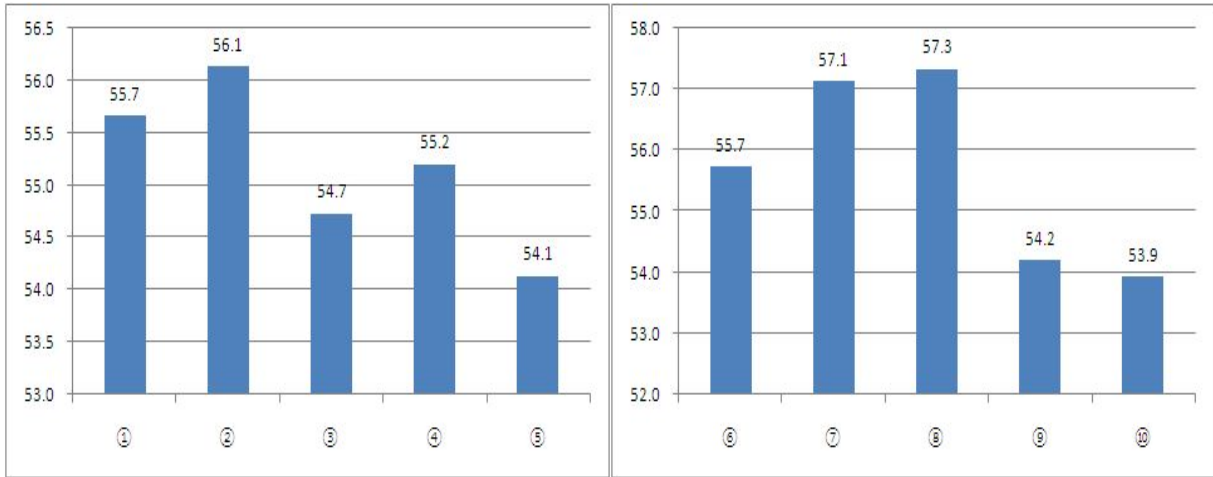


그림 65. 최고분얼기 처리구별 초장(cm)의 변화

처리구별 경수는 초장과 마찬가지로 관행구인 ①, ⑥처리구에 비해 HSB901, Mg-서방성제제, 규산질을 첨가로 103~112%의 증가를 보였다(그림 66).

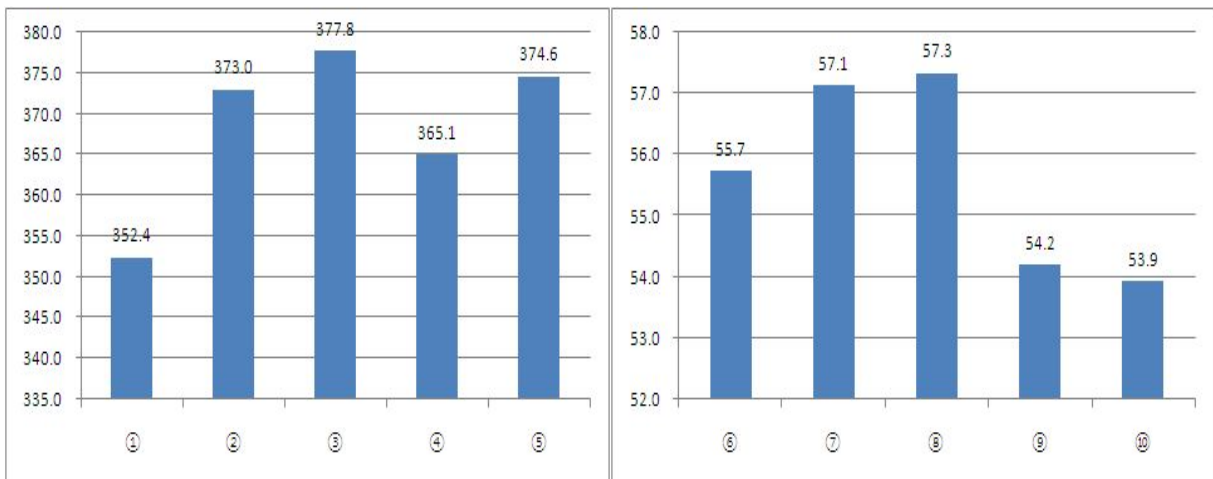


그림 66. 최고분얼기 처리구별 경수(개/m²)의 변화

② 유수형성기(7월 22일)

처리구별 초장은 관행구인 ①처리구 및 ⑥처리구를 기준으로 HSB901, Mg-서방성제제, 규산질을 첨가한 처리구의 경우, 101~107%의 성장률을 보였다, 유박 + 규산질(6%)의 처리구에서 초장의 길이가 가장 높았으나 현격한 차이는 보이지 않았다(그림 67).

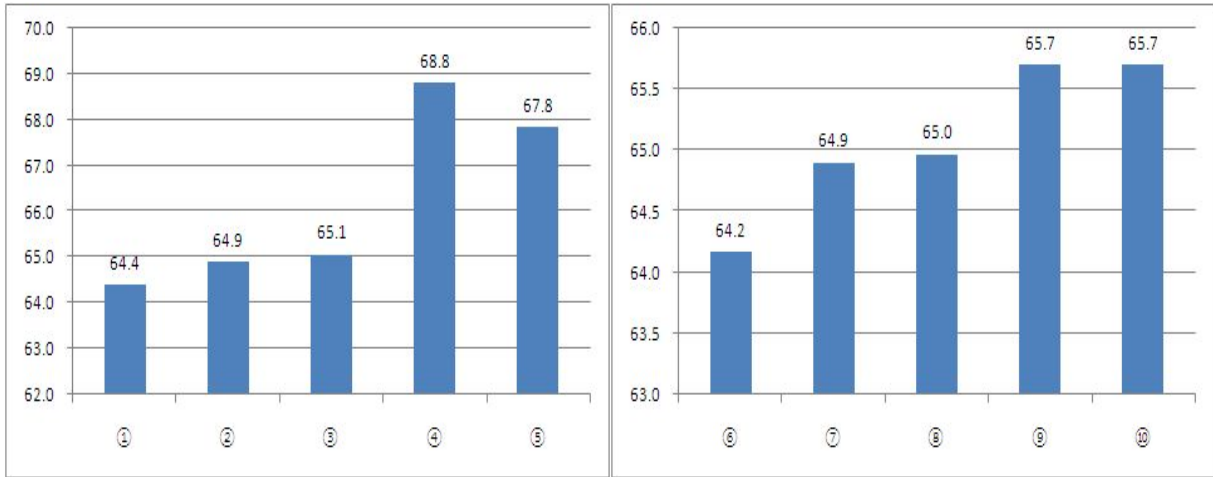


그림 67. 유수형성기 처리구별 초장(cm)의 변화

처리구별 경수는 최고분얼기와 같이 HSB901, Mg-서방성제제, 규산질을 첨가함에 따라 102~118%의 증가를 보였다(그림 68).

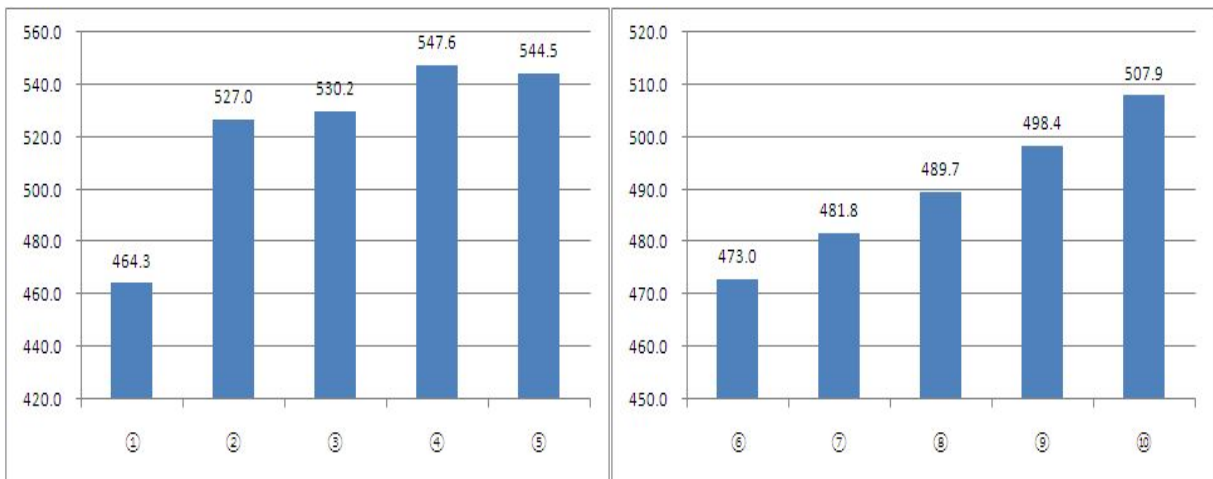


그림 68. 유수형성기 처리구별 경수(kg/m²)의 변화

③ 출수기(8월 19일)

처리구별 초장은 관행구인 ①, ⑥처리구에 비해 HSB901 등의 첨가로 100~104%의 성장률을 보였으며 유박 + 규산질(6%)의 처리구에서 초장의 길이가 가장 높았으나 관행구와 처리구 간의 차이는 보이지 않았다(그림 69).

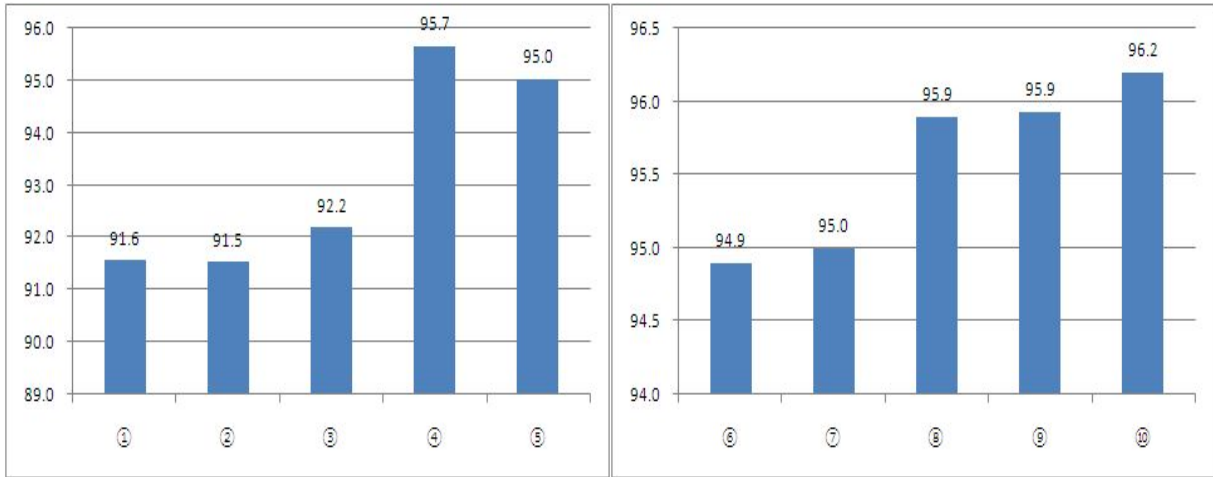


그림 69. 출수기 처리구별 초장(cm)의 변화

처리구별 경수는 관행구인 ①, ⑥처리구에 비해 HSB901등의 첨가로 101~131%의 증가를 보였으며(그림 70) 특히 미생물이나 규산질 처리구에서 증가가 현저하였다.

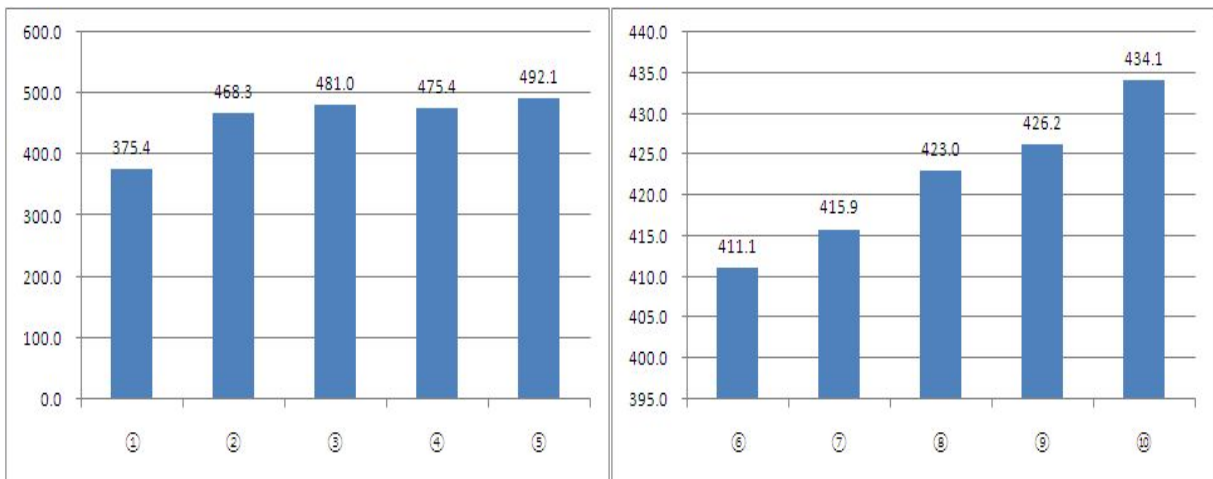


그림 70. 출수기 처리구별 경수(kg/m²)의 변화

④ 수확기(10월 2일)

최종 수확기의 간장, 수장, 수수 및 현미천립중률 측정한 결과 관행구인 ①처리구 및 ⑥처리구를 기준으로 보았을 경우, HSB901, Mg-서방성제제, 규산질을 첨가한 처리구에서 100~104%의 성장률을 보였다. 유박 + 규산질(6%)의 처리구에서 초장의 길이가 가장 높았으나 관행구와 처리구 간의 차이는 보이지 않았다(그림 71, 72, 73).

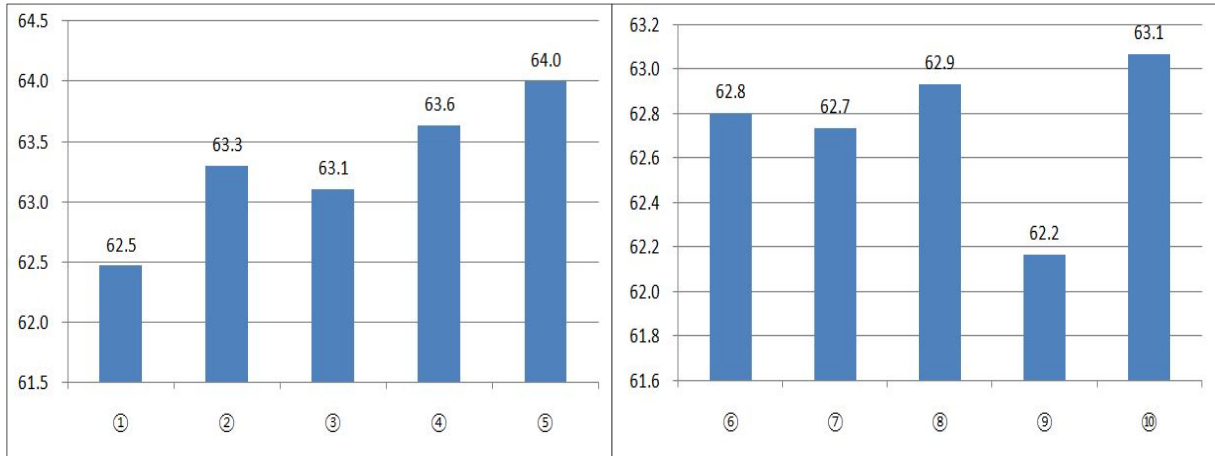


그림 71. 수확기 처리구별 간장(cm)

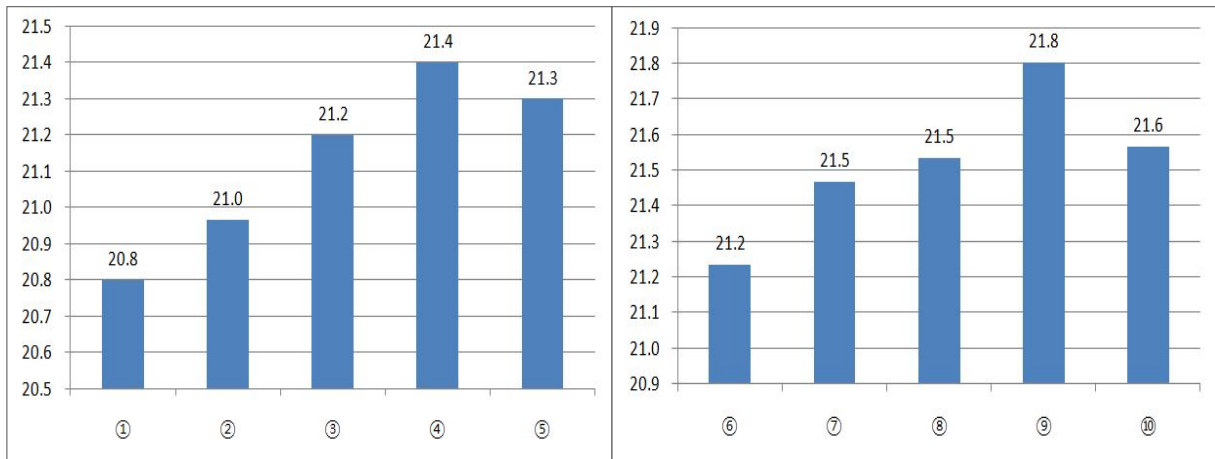


그림 72. 수확기 처리구별 수장(cm)

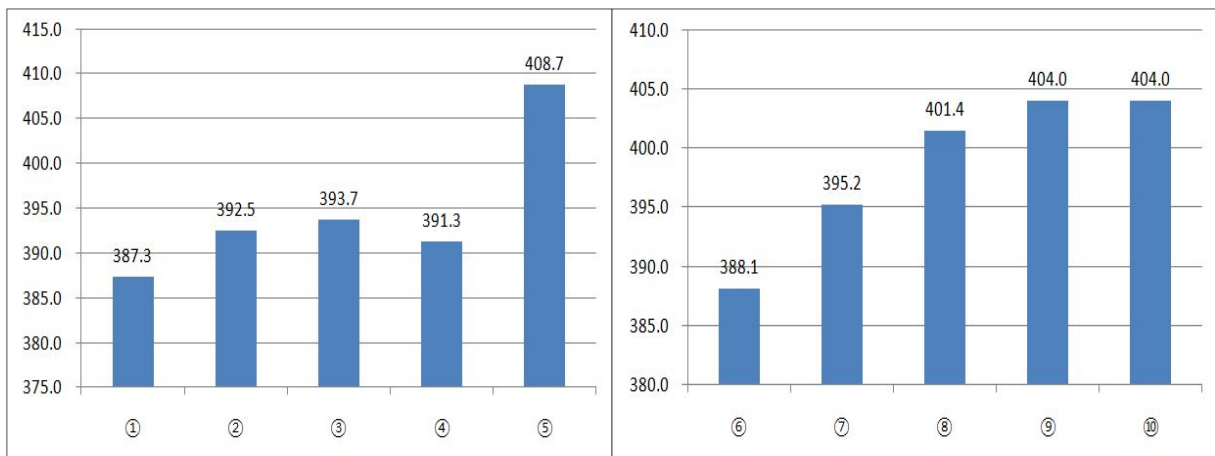


그림 73. 수확기 처리구별 수수(m²)

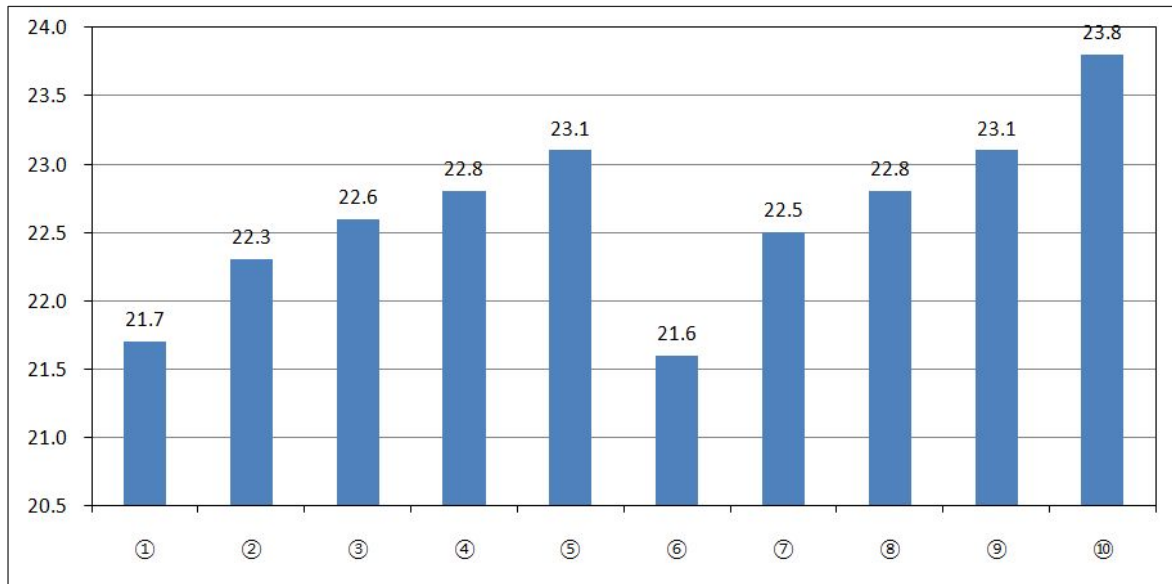


그림 74. 수확기 현미천립중(g)

최종적으로 수확량을 대표하는 현미천립중을 조사한 결과 그림 74에 나타난 바와 같이 본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제가 함유된 유기질 비료를 처리한 처리구 ⑩에서 관행구인 ①처리구 및 ⑥처리구 에 비해 약 110%의 생육촉진효과가 나타났다.

나. 2차 시제품

(1) 난용성 인산가용화

그림 75와 같이 2차 시제품을 인광석에 처리하여 액상배양하면서 가용성 인산함량을 분석한 결과 인산가용화능이 5일차부터 증가하기 시작해서 15일차에 약 320ppm에 이르러, 본 연구에 의해 선발된 HSB901, 902, 903 균주들을 배지에 직접 처리한 결과(8일차에 약 600ppm)보다는 다소 떨어지게 나타났다. 그러나 2차 시제품 내에 난용성 인산을 가용화하는 미생물이 생존하고 있으며 인산가용화능하는 특성이 변형되지 않았음을 알 수 있었다.

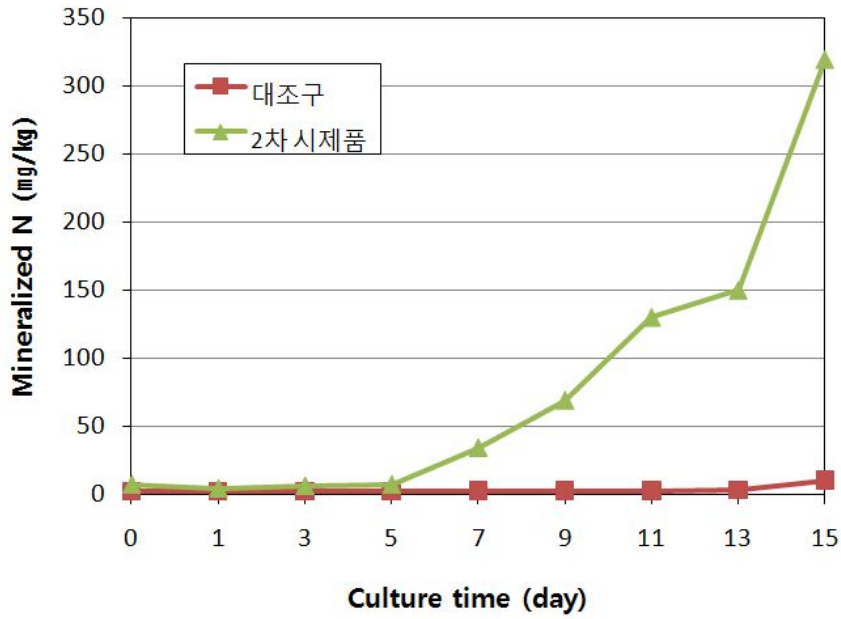


그림 75. 2차 시제품의 난용성 인산가용화능

(2) 질소무기화

최종 개발된 2차 시제품의 질소무기화능을 측정된 결과 아래 그림 76에 나타난 바와 같이 9일까지는 무기태질소의 양이 적었으나 11일차부터 급격하게 늘어 본 연구에 의해 선발된 HSB901 균주 배양액을 처리구의 수치 2,800ppm에는 미치지 못했으나 대조구에 비해 높은 수치를 나타냈다.

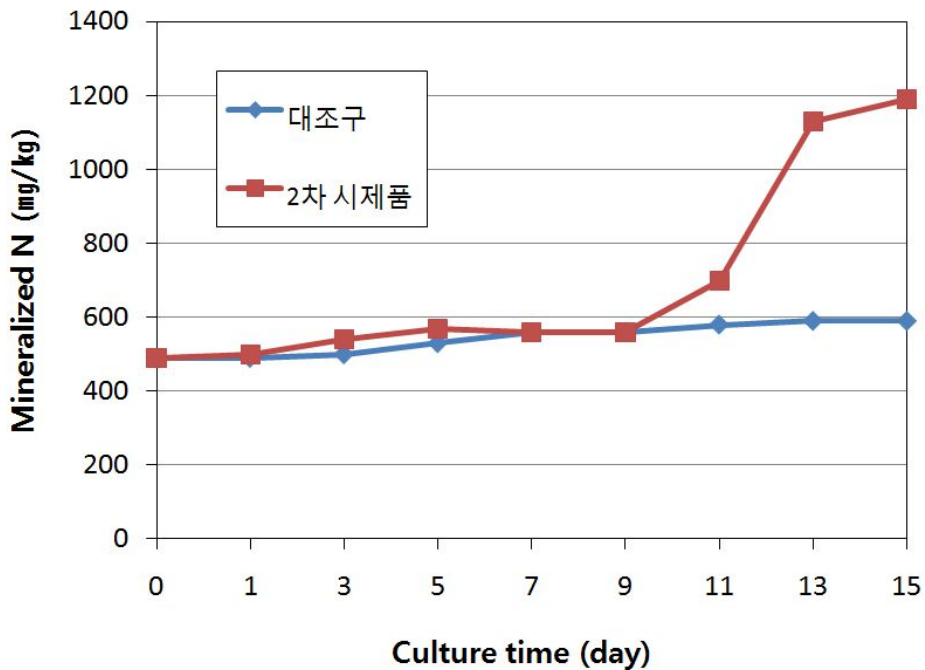


그림 76. 2차 시제품의 질소무기화능

(3) 상추, 배추 및 고추 포장 재배시험

(가) 토양이화학성

① 재배시험전

2차 시제품의 작물생육촉진효과를 검정한 충남대학교 부설농장 하우스의 실험 전 토양의 이화학적 특성을 조사한 결과 토성은 사질식양토였으며, pH 6.82, 총질소 0.18%, 유기물함량이 1.69%로 상추, 배추 및 고추 재배에 적합한 수준이었다(표 47).

표 47. 재배실험 전 토양의 화학적 특성

pH (1:5)	EC dS/m	T-N %	O.M %	Ava.-P ₂ O ₅ mg/kg	Ex.-cations (cmol _c /kg)				CEC cmol _c /kg	Soil texture
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺		
6.82	1.42	0.18	1.69	640	6.27	1.06	0.19	0.27	8.04	사질 식양토

② 재배시험후

미생물배양체, 서방성미량원소가 첨가된 최종 2차 시제품의 시용에 따른 상추 재배 실험 후 토양의 화학성은 표 48과 같다.

표 48. 상추 재배실험 후 토양의 화학적 특성

처리구*	pH 1:5	EC dS/m	T-N %	O.M %	Ava.-P ₂ O ₅ mg/kg	Ex.-cations (cmol _c /kg)				CEC cmol _c /kg
						Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	
무처리구	7.15	1.42	0.10	1.54	549	6.17	1.10	0.13	0.21	8.62
2차 시제품 적량구	7.01	1.52	0.12	1.62	568	6.25	1.07	0.15	0.23	8.73
2차 시제품 배량구	7.00	1.58	0.13	1.64	573	6.29	1.05	0.18	0.25	8.84

상추 재배 후 토양은 초기 토양보다 모든 처리구에 pH가 증가하는 경향을 보였으며, 질소, 유기물함량 및 치환성양이온 등은 감소하였다. 기타 화학적 특성을 고려할 때 2차 시제품의 시용에 의한 토양양분과다 등의 해가 없는 것으로 판단된다.

(나) 생육조사

① 상추

2차 시제품의 검정을 위해 상추를 포장에서 채배하여 상추의 엽장, 엽폭, 엽수 및 엽록소 함량을 측정한 결과는 표 49와 같다.

표 49. 처리구별 최종 수확 후 상추의 엽장, 엽폭, 엽수 및 엽록소 함량

처리구	엽장		엽폭		엽수		엽록소	
	cm	지수	cm	지수	ea	지수	mg/100cm ²	지수
무처리구	17.4	100	12.7	100	8.5	100	24.7	100
적량처리구	19.2	110	13.2	104	9.7	114	25.3	102
배량처리구	17.9	103	12.9	102	9.0	106	25.7	104

표 49와 같이 상추의 엽장 및 엽폭은 무처리구보다 2차 시제품의 적량처리와 배량처리가 각각 3~10%, 2~5% 정도 증가되는 결과를 나타냈으며, 엽수와 엽록소 함량 역시 2차 시제품의 적량처리구와 배량처리구는 무처리구보다 각각 6~14%, 2~4% 정도 증가되는 결과를 보였다.

이러한 상추의 생육현황은 그림 77에서 볼 수 있으며 상추채배 후 최종 수확하여 수량을 조사한 결과는 표 50과 같다.



그림 77. 2차 시제품의 시용에 따른 상추 생육사진.

표 50. 처리구별 최종 수확 후 상추의 생체중량

처리구	생체중량	
	g/주	지수
무처리구	103.5	100
적량처리구	114.3	110
배량처리구	114.5	111

상추의 생체중량은 무처리구가 주당 103.5g이었으며, 2차 시제품의 적량처리구는 114.3g, 배량을 처리한 처리구는 평균 114.5g을 나타냈다.

즉, 무처리구보다 2차 시제품의 적량, 배량 처리구의 생체중량은 10~11% 정도 증가되었으며, 배량처리구는 적량처리구에 비해 1% 높은 결과를 보였다.

② 배추

배추 정식 후 2개월째의 생육조사 결과는 그림 78, 표 51과 같이 적량, 배량 처리구에 대한 배추의 엽장, 엽폭, 엽록소 함량은 무처리구에 비해 엽장은 9~13%, 엽폭은 8~19%, 엽록소 함량은 10~13%를 보였다. 또한 2차 시제품의 적량 및 배량 처리에 의해 비효는 발생하지 않았으며 상추에 대한 생육촉진효과와 마찬가지로 배추에 대해 생육촉진효과를 기대 할 수 있는 것으로 판단된다.



그림 78. 생물학적 처리제용 유박비료 처리로 인한 배추 생육사진.

표 51. 처리구별 최종 수확 후 배추의 엽장, 엽폭, 엽록소 함량

처리구	엽장		엽폭		엽록소	
	cm	지수	cm	지수	mg/100cm ²	지수
무처리구	34.2	100	23.8	100	34.9	100
적량처리구	38.5	113	28.3	119	38.2	110
배량처리구	37.3	109	25.8	108	39.3	113

또한, 배추 최종 수확 후 생육조사 결과는 생체중량은 표 52와 같이 무처리구에 비해 29~42% 정도 증가되는 결과를 보였으며 적량처리구에서 주당 2285.3g으로 최대 생중량을 보였다.

표 52. 처리구별 최종 수확 후 배추의 개체중량

처리구	개체중량	
	g/주	지수
무처리구	1614.7	100
적량처리구	2285.3	142
배량처리구	2078.7	129

③ 고추

정식 이후 3개월이 지난 시점에서의 고추의 생육결과는 주당 높이, 지제부 폭 엽록소 함량을 측정하였고, 열매의 개수 및 생체중량을 표 53, 54와 그림 79에 나타냈다.

처리구별 최종 수확 후 고추의 주당 높이 지제부 폭, 엽록소 함량은 무처리구에 비해 적량처리구와 배량처리구에서 각각 1~2%, 0~8%, 9~11%로 높게 나타났으며, 이 중에서 적량처리구에서 가장 높은 생육결과를 나타냈다.

또한, 고추의 주당 열매에 대한 생체중량과 수량을 확인한 결과, 각 4~9%, 3~12%로 나타났고, 높이, 지제부의 폭, 엽록소 함량과 같이 무처리구에 비해 높은 결과를 확인할 수 있었다.

표 53. 처리구별 최종 수확 후 고추의 높이, 지체부 폭, 열매개수, 엽록소 함량

처리구	높이		지체부 폭		엽록소량	
	cm/주	지수	cm/주	지수	mg/100cm ²	지수
무처리구	41.4	100	1.3	100	48.0	100
적량처리구	42.1	102	1.4	108	53.2	111
배량처리구	41.7	101	1.3	100	52.3	109

표 54. 처리구별 최종 수확 후 고추의 생체중량 및 수량

처리구	생체중량		수량	
	g/주	지수	개/주	지수
무처리구	255.1	100	11.9	100
적량처리구	278.5	109	13.2	111
배량처리구	265.7	104	13.3	112

고추 생육실험 결과 배량처리구에서 고추의 생체중량 및 수량이 적량처리구에 비해 현저하게 높지 않아 농업생산성을 고려하여 최종적으로 적량처리하는 것을 선택하게 되었다.



그림 79. 생물학적 처리제용 유박비료 처리로 인한 고추 생육사진.

(4) 벼 포장 재배시험

(가) 생육조사

본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소 제제가 함유된 유기질비료 2차 시제품을 수도 재배에 사용한 결과 무비구 대비 초장(그림 80)의 차이는 작았으나 경수(그림 81)는 적량구 및 배량구에서 높게 나타났다.

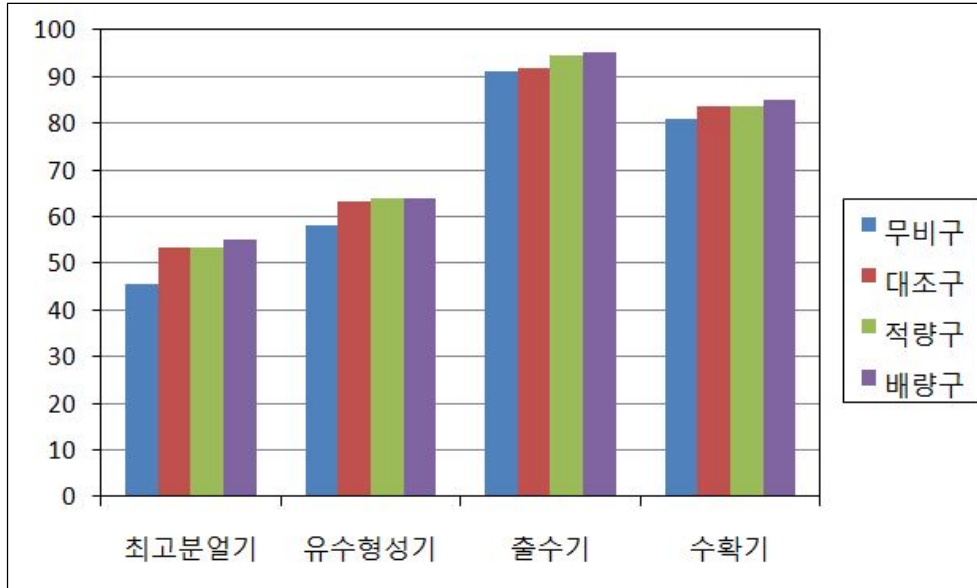


그림 80. 생육시기별 초장 변화

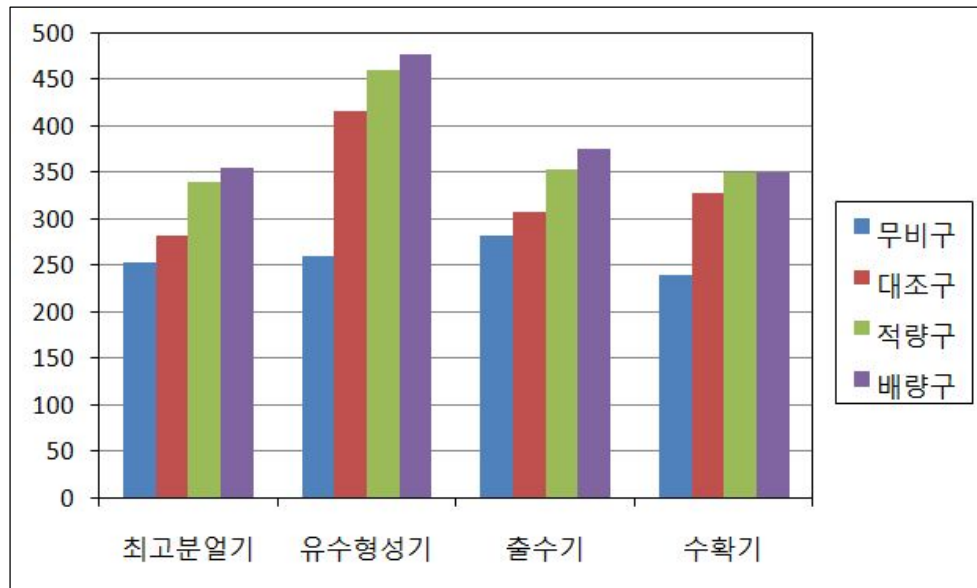


그림 81. 생육시기별 경수 변화

위의 그림 80, 81에 나타난 바와 같이 무비구를 제외한 처리구별 초장 및 경수의 차이가 거의 없었으나, 쌀수량이 관행구대비 2차 시제품 처리구가 118%가 높게 나타났다(표 55).

표 55. 2차 시제품 시용에 따른 처리구별 현미수량 및 수량 구성요소

처리구	m ² 당립수 (천개)	현미천립중 (g)	등숙비율 (%)	쌀수량 (kg/10a)	수량 지수
무비구	23.4	20.0	80.2	383	95.5
대조구	36.0	19.3	66.3	401	100
관행구	39.5	19.8	69.8	506	126
2차시제품	40.4	20.2	69.8	597	149

또한, 백미의 품위는 처리구별 큰 차이가 없었으나 본 연구에 의한 2차 시제품 처리구에서 분상질립이 크게 줄어드는 효과가 있었다(표 56).

표 56. 2차 시제품 시용에 따른 백미의 품위 단위 (%)

처리구	완전립	싸라기	분상질립	피해립	열손립	기타
무비구	77.6	8.0	13.8	0.4	0.2	8.8
대조구	73.5	6.0	18.8	1.5	0.2	6.6
관행구	74.7	6.2	18.1	0.6	0.4	8.8
2차시제품	78.1	5.0	15.7	1.0	0.2	8.3

(나) 토양이화학성

우리나라 논 토양(평탄지 기준)의 평균적인 화학성분은 pH 5.9, 유기물 20mg/kg, 유효인산 80mg/kg, 유효규산 140mg/kg, 치환성 칼륨, 칼슘 및 마그네슘은 각각 0.38, 5.0, 1.9cmol⁺/kg이다. 본 연구에 의한 2차 시제품의 재배시험지의 시험전 토양 화학성을 분석한 결과 유기물 함량이 경우는 높았으나, 전반적인 다른 성분은 일반적인 우리나라 논 토양의 평균치보다 낮게 나타났다(표 57).

표 57. 시험 전·후 토양 화학성의 변화

처리구		pH	EC	OM	T-N	Av.		Ex.cation(cmol _c kg ⁻¹)			CEC
						P ₂ O ₅	SiO ₂	K	Ca	Mg	
		(1:5)	(dS/m)	(g/kg)	(mg/kg)	(cmol _c /kg)					
시험전		6.3	0.37	43.7	2.00	48	50.9	0.36	4.4	1.3	10.8
시험 후	무비구	6.2	0.29	41.0	2.10	38	51	0.30	4.4	1.3	9.0
	대조구*	6.0	0.50	44.5	2.70	68	54	0.38	4.5	1.6	9.2
	적량구	6.0	0.50	44.5	2.70	68	54	0.38	4.5	1.6	9.7
	배량구	6.0	0.45	45.5	3.00	70	56	0.37	4.6	1.8	10.5

* 대조구 : 주관기관인 효성오앤비(주)에서 생산된 기존 유기질비료 적량 사용.

재배시험 후 기존 유기질비료 및 본 연구에 의해 개발된 서방성 미량원소제제가 함유된 2차 시제품의 적량구 및 배량구를 시용한 포장은 무비구에 비해 유기질함량, 질소함량, 인산함량 및 양이온치환능이 크게 증가하였으며, 이 중에서도 배량구에서 양이온치환능이 10.5cmol/kg로 높게 나타나 토양 개량효과가 우수한 것으로 나타났다.

다. 최종 제품(™뉴파머)

(1) 상추 재배시험

(가) 생육조사

상추의 생육과 수량 조사는 정식 후 40일간 시기별(정식 후 20, 30, 40일)로 3회 실시하여 처리구별 평균값으로 계산하였으며, 처리구별 상추의 생육현황 및 수량조사 결과는 표 58 및 그림 82와 같다.

표 58. 상추의 처리구별 생육조사

처리구	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수 (개)	엽록소 (mg/100cm ²)	생체중 (g)	건물중 (g)
무처리	5.2a *	2.7b	7.6a	1.1b	14.0d	0.6d
화학구	10.9a	6.2ab	9.3a	1.6a	27.9c	1.5c
™유박골드	14.9a	8.0ab	11.7a	1.6a	38.0b	2.0b
™뉴파머	17.5a	8.8a	11.1a	1.6a	51.0a	2.7a

* 던컨 신다중 검정 5% 수준

무비구



화학구



대조구



™뉴파머



그림 82. 처리구별 상추 생육현황

유기질비료는 유박 및 광물질을 혼합하여 사용한 자재로써 식물체에 필요한 다량원소가 적절히 조화되어 있어 토양에서 발효한 후 작물의 생육에 지속적인 영양을 공급함으로써 생육증가 효과가 있으며, 이에 미생물에 의해 저분자 당, 아미노산의 분해와 항생물질생성, 유기물 분해, 양분흡수촉진 및 토양개량 등의 효과에 의해 유기질비료의 시용효과를 증대시킬 수 있었다. 특히 그림 83 및 84에 나타난 바와 같이 ™뉴파머 처리구는 기존의 유기질비료인 ™유박골드 시비량의 75% 수준의 시비하였음에도 불구하고 엽장 및 생체중이 ™유박골드 처리구에 비해 각각 117% 및 134% 증가하였다.

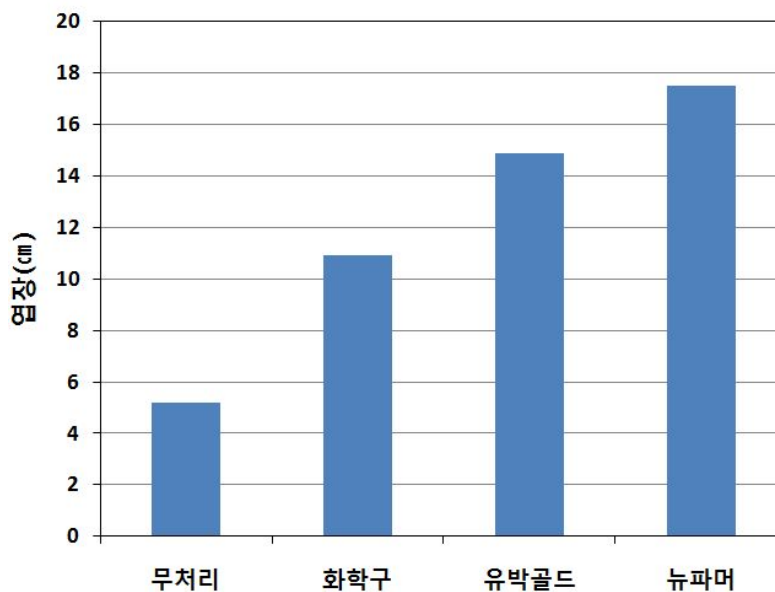


그림 83. 각 처리구별 상추 엽장(cm)

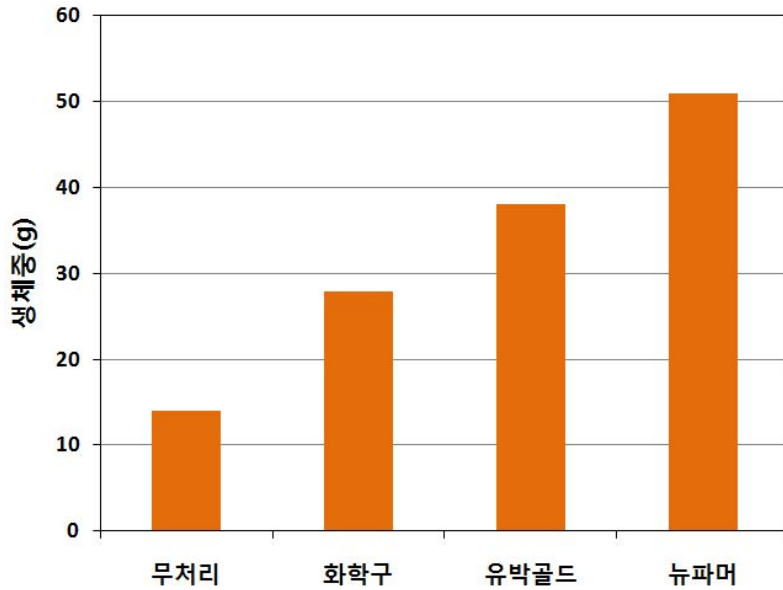


그림 84. 각 처리구별 상추 생체중(g)

엽장과 생체중의 결과를 통해 화학비료에 비해 유기질비료의 처리시 생육이 증가하는 효과가 조사되었고, 또한, 유기질비료에 비해 미생물이 첨가된 ™뉴파머 처리구에서 최대 생육촉진 효과가 나타났다. 이에 근거하여 ™뉴파머에 첨가된 미생물 바실러스가 유박의 분해를 촉진하여 상추의 생육에 필요한 양분분해 및 흡수의 촉진시키는 등 직접적인 효과를 주어 작물 생육이 증가한 것으로 판단된다.

(나) 토양 이화학성

비료 처리구별 상추 생육 실험에 사용된 토양의 이화학적 특성은 아래 표 59와 같이 질소와 유기물, 유효인산함량 및 CEC 등이 일반경작지 토양에 비해 낮은 수준이며, 치환성칼슘의 함량이 다소 높은 비경작지 산림토양으로써 상추의 생육에 적합한 토양조건인 pH(6.5~7.5), 유기물(2~3%) 및 유효인산(250~400mg/kg)함량에 비해 다소 척박하였다. 이러한 까닭에 본 실험에서 기비로 투입된 양분에 대한 반응이 확연하게 드러났던 것으로 사료된다.

표 59. 재배실험 전 토양의 화학적 특성

pH (1:5)	T-N %	O.M %	Ava.-P ₂ O ₅ mg/kg	Ex.-cations (cmol _c /kg)			CEC cmol _c /kg	EC dS/m
				Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺		
7.3	0.028	0.51	8	6.08	0.43	0.19	8.04	0.4

pH와 EC는 식물의 생육과 미생물의 활성화에 영향을 주는 중요한 환경요인 인자이다. 이에 화학비료와 유기질비료의 시용에 따른 토양의 pH와 EC의 변화를 조사하였으며, 아래 표 60에 나타낸 바와 같다.

표 60. 처리구별 pH, EC 변화 특성

처리구	pH	EC
무처리	7.3a*	0.4b
화학구	6.8c	1.0a
™유박골드	7.0bc	0.9a
™뉴파머	7.1ab	0.5b

* 던컨 신다중 검정 5% 수준

pH의 경우, 무처리에서 pH는 7.3 수준이었으며, 처리구별로 pH는 6.8~7.2까지 조금씩 떨어지는 양상을 보였으나, 화학비료 처리구와 유기질비료 처리구간의 차이는 보이지 않았다.

전기전도도(EC)는 일반적으로 평균 1.0dS/m의 값을 가지며, 수치가 더 높은 4.0dS/m 경우에는 염류집적과 고사 등 피해를 유발시키며 상추의 경우 2.0 dS/m 에서부터 생육장해가 발생되어지는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서는 0.4~1.0dS/m 수준으로 상추의 생육에 적절한 것으로 보인다. 또한, 비료와 유기물의 토양 투입에 따라 EC도 증가하는 경향이 나타나는데, 무처리구에 비해 화학비료처리구와 유기질비료처리구에서 상대적으로 증가하는 값을 가졌다.

반면에 ™뉴파머를 시용한 처리구의 경우 0.1~0.3dS/m 정도 EC가 감소하였는데 그 중 유기질비료처리구에서 더 감소하는 것으로 보아 미생물에 의해 유기물의 분해를 촉진 및 가용화 시켜서 전체적인 토양염류농도를 낮추는 효과가 있는 것으로 판단된다.

(다) 식물체 분석 및 균수 측정

① 상추 양분 특성 분석

양분함량 중 질소는 식물체의 핵산, 아미노산, 단백질 및 엽록소 등 유기화합물의 주요한 구성요소로 그 공급에 따라서 생육에 차이가 발생하게 된다. 처리구별로 상추에 흡수된 양분 함량을 분석한 결과는 표 61과 같았으며, 화학구는 N 3.40~3.47%, P 0.48~0.56%, K 6.32~6.36% 함량이고, 유기질비료 처리구에서 N 3.76~3.99%, P 0.71~0.96%, K 4.94~5.60수준의 함량을 보여 조사결과 유기질비료 처리구가 화학비료처리구에 비해 N, P의 양분 함량이 더 높았으며, 반면 가리는 화학처리구에서 가장 많은 흡수양상을 보였다.

이 결과로 볼 때 상추의 생육 및 수량조사(표 58)의 결과와 비슷한 양상을 가졌으며, 이는

화학비료보다 유기질비료에서 지속적으로 질소 및 영양성분을 공급함으로 인해 작물생육에 원활한 흡수를 도와 생체내 성분함량도 상대적으로 높게 나타난 것으로 평가된다.

표 61. 처리구별 상추의 양분 함량(%)

처리구	N	P	K
무처리	1.53c*	0.53b	4.18d
화학구	3.40b	0.56b	6.36a
™유박골드	3.92a	0.86a	5.59b
™뉴파머	3.97a	0.96a	4.94c

* 던컨 신다중 검정 5% 수준

② 토양내 균밀도 측정

토양내에는 다양한 미생물이 생태계를 구성하며 그 중 유용미생물은 작물의 생육에 영향을 미치고 있다. 이에 각 처리구별 총균수와 Bacillus속 균수를 측정하여 락토스타 시용에 따른 토양내 밀도와 작물생육과의 연관성을 조사하였다.

처리구별 총균수와 Bacillus속 균수 분포 양상결과는 표 62와 같으며, 총균수는 토양 희석 평판법으로 개체수를 측정하였으며, Bacillus속 균수 측정은 85℃에서 10분간 열처리 후 실시하였다.

총균수는 유기질비료처리구가 화학비료처리구보다 100배 정도 증가된 개체수의 차이를 보였으며, ™뉴파머를 사용한 처리구에서 균수가 가장 높았다. 또한, Bacillus속 균수를 측정한 결과, 무처리와 화학비료구에서 $5 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^4$ CFU/g의 범위였으며, 유기질비료처리구는 $1.6 \sim 6.3 \times 10^5$ CFU/g로 밀도가 높았으며, 유박처리구에 비해 미생물이 함유된 ™뉴파머 처리구에서 상대적으로 균수가 높은 경향을 보였다(표 62 및 그림 85).

본 실험의 균수 측정만으로는 토양에 존재하는 Bacillus속 균수와 투입한 Bacillus속 HSB901 균주에 대한 구별을 확실히 밝힐 수는 없었으나, ™뉴파머 처리구에서 작물생육이 더 증가된 것으로 보아 작물생육촉진 및 유기물분해 등에 대한 효과를 주는 것이라 판단되며, 토양 내에서 적절한 공생을 통해 개체수의 조절이 이루어졌을 것이라 생각된다.

표 62. 처리구별 총균수와 Bacillus속 균수 분포 양상

처리구	총균수 ($\times 10^5$ CFU/g)	<i>Bacillus</i> sp. ($\times 10^3$ CFU/g)
무처리	4	8
화학구	3	5
TM 유박골드	230	160
TM 뉴파머	200	320

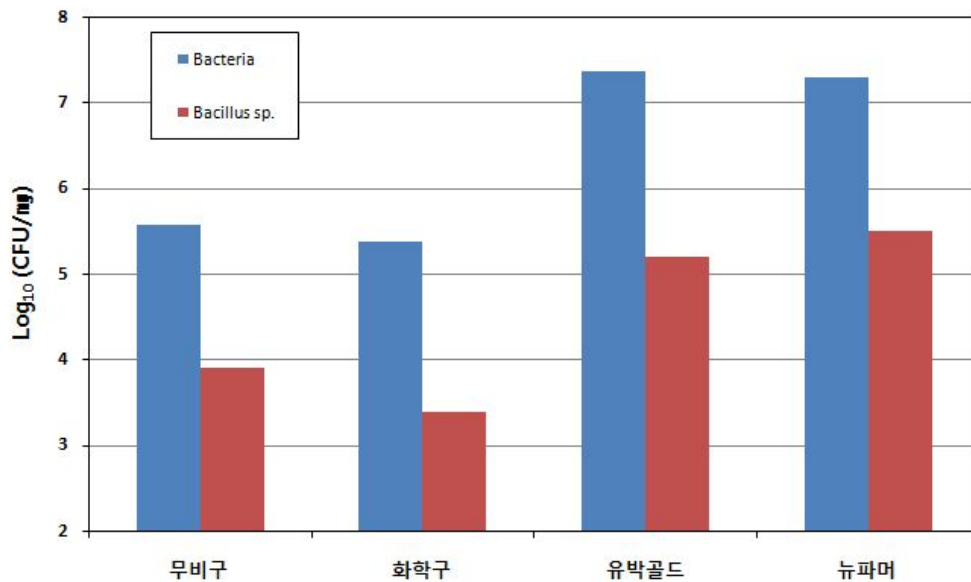


그림 85. 처리구별 총균수와 Bacillus 균수 분포 양상

위와 같이 본 연구과제에 의해 개발된 최종 제품 “TM뉴파머”는 수도 및 상추, 배추 및 고추 등의 채소작물의 생육을 촉진하는 효과가 있다. 또한, 기존 유기질비료의 권장시비량이 2kg/3.3 m²임에 반해 본 연구과제에 의해 개발된 TM뉴파머는 권장시비량이 1.5kg/3.3m²으로 기존 유기질 비료 시비량의 75%만 사용함에도 불구하고 월등한 생육촉진효과를 나타내어 향후 농민의 인력소모를 덜어주고 농자재 비용을 줄여줌과 동시에 고품질 다수확을 가능하게 하여 최종적으로 농가소득을 높이는데 크게 기여할 수 있을 것이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여

1. 연차별 목표달성도

구분	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차년도	○토양내 유용미생물의 선발 및 동정	30 %	- 미생물 다량 확보
	○방사선 조사기술을 이용하여 서방성 제형 개발 및 제조기술 확립	30 %	- 서방성 제형 조건 확립
	○친환경 농업에 부합하는 생분해성 제형개발	20 %	- 원재료 및 제형방법
	○선발자원의 생리적 특성 및 기능성 검정	20 %	- 역가 높은 균주 선발
	합 계	100 %	
2차년도	○1차 시제품생산 및 제형공정확립	30 %	- 단위시간당 생산량
	○미량원소 서방성제형 방사성 동위원소를 이용한 검정평가	20 %	- 투입 미량원소 확정
	○방사성 동위원소를 제형에 탑재시켜 서방성 제형의 방출패턴검정	20 %	- 조사량에 따른 방출패턴 - 원재료 혼합비에 따른 방출패턴
	○1차 시제품의 작물생육 및 수량조사	30 %	- 생육촉진 효과
	합 계	100 %	
3차년도	○최종 서방성제제 시제품 완성	30 %	- 미량원소 방출패턴
	○최종 제품화 및 사업화	30 %	- 제형공정확립
	○제품개선 및 최종 제형 선발 및 성능 검정	20 %	- 인산가용화 및 질소무기화
	○2차 시제품 작물생육 및 수량조사	20 %	- 생육촉진 효과
	합 계	100 %	
최종 평가	○최종 제품의 작물생육 및 수량조사	20 %	- 생육 및 생산량 증진효과
	○방사선 조사기술을 이용하여 서방성 제형 개발 및 제조기술 확립	30 %	- 원료혼합비 및 제형조건 - 미량원소의 서방성 방출
	○최종 제품화 및 사업화	50 %	- 전단지 제작 및 제품홍보
	합 계	100 %	

2. 관련분야의 기여도

- 난용성 인산가용화 미생물 및 길항미생물 분리
- 분리균의 기능성 검정
- 기존 미생물제품과의 효능 비교
- 방사선 조사기술을 이용한 최첨단 인지제어형 서방성 제형 개발
- 유효성분 방출제어에 용이한 아인산 마이크로수화제 개발
- 서방성 미량원소 제형의 방출패턴 분석
- 토양내의 이동경로 양상 및 식물의 흡수경로를 파악
- 다기능 환경맞춤형 비료 개발
- 기존 동일균의 유기질 비료와의 효능 비교 실험
- 1차, 2차 시제품 처리에 따른 벼 재배시험 및 효과검정
- 1차, 2차 시제품 처리에 따른 고추 포장 재배시험 및 효과검정
- 제제 처리에 따른 상추 실내, 포장 재배시험 및 효과검정
- 제제 처리에 따른 배추 포장 재배시험 및 효과검정
- 제제 처리에 따른 토양이화학적 변화 검증
- 미생물에 분해가 촉진되는 기능성 유기질비료 “TM뉴파머” 개발 및 시판

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 학술지 게재 논문 실적

연번	논문제목	게재학술지명	년도	권:쪽수	제1저자	공동저자
1	Antimicrobial action effect and stability of Nanosized silica hybrid Ag complex	Journal of Nanoscience and Nano-technology	2011	11:5781-5787	H. J. Kim	H. J. Park, S. H. Choi
2	Preparation of Nanosized Micro Element Fertilizer Formulation by using Gamma-irradiation Technique	Journal of Radiation Industry	2010	4(4):347-352	H. J. Park	H. J. Kim

나. 특허 출원, 등록 실적

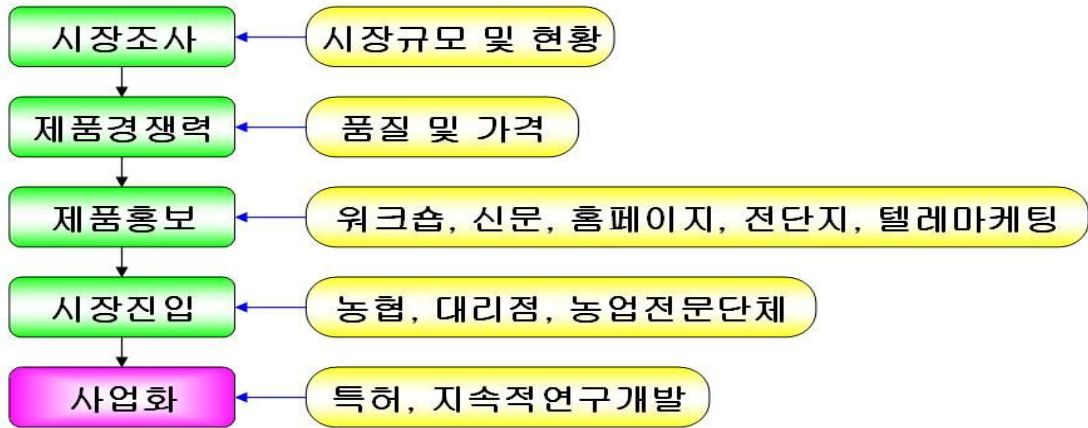
연번	특허제목	국가 및 출원/등록 구분	출원/등록번호 (출원/등록날짜)	발명자
1	토양내 난용성 인산염을 가용화하는 토양 미생물 및 이를 포함하는 토양처리제 조성물	대한민국/출원	10-2009-0043016	조성현, 강연복, 홍성길, 김성호, 박문현
2	서방성 제제 및 이의 제조방법	대한민국/출원	10-2009-0085429	박해준, 김화정
3	서방성 제제 및 이의 제조방법	대한민국/출원	10-2010-0088449	박해준, 김화정

2. 성과활용계획

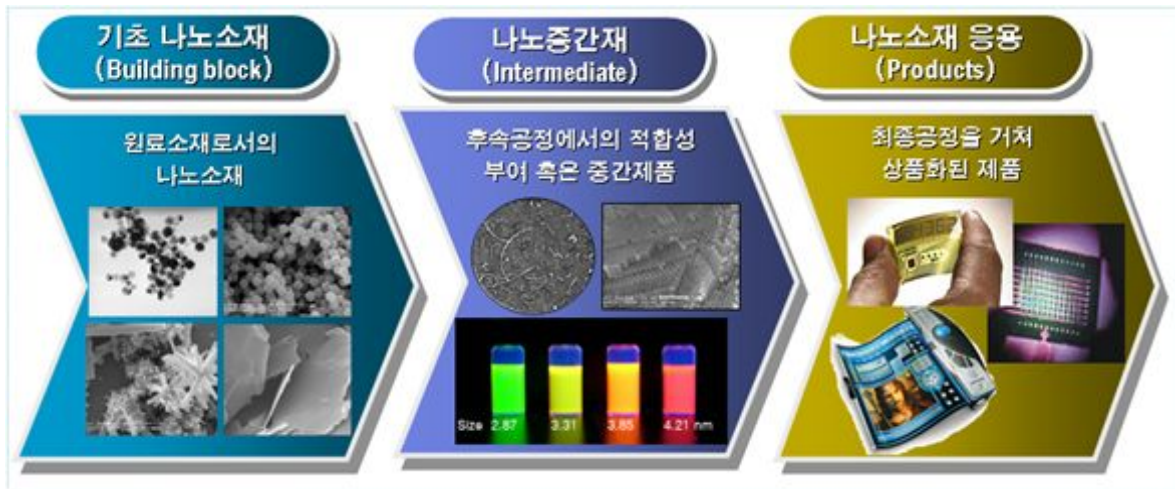
정부의 친환경농업 육성 등에 관한 농정변화에 따라 화학비료 저감과 농약사용기피로 친환경비료의 사용이 급증할 것이며 이에 기능성 유용미생물을 부산물비료와 유기질비료에 적용한 기능성 제품 개발이 예상된다. 이에 따라 본 연구과제에 의해 개발된 저투입 고품질 기능성 유기질비료인 “TM뉴파머”의 효능을 농업인들에 대한 교육 및 신문, 당사 홈페이지, 전단지 등을 활용하여 적극적으로 홍보하고, 신제품 출시에 대한 워크숍 개최 및 지역대리점 활성화, 농업전문단체 등을 활용한 판매계획을 수립할 것이다.

또한, 본 연구과제의 결과를 활용하여 지속적으로 매출을 신장할 수 있는 기반의 구축으로

시장 선점을 위한 맞춤화 및 차별화 신제품의 개발을 지속적으로 수행하고, 시장선점을 위한 자료조사 및 마케팅전략을 수립하여 적극적인 홍보와 제품의 기술적 수명주기를 파악하여 지속적인 신제품개발의 병행으로 상업화를 추진할 계획이다.

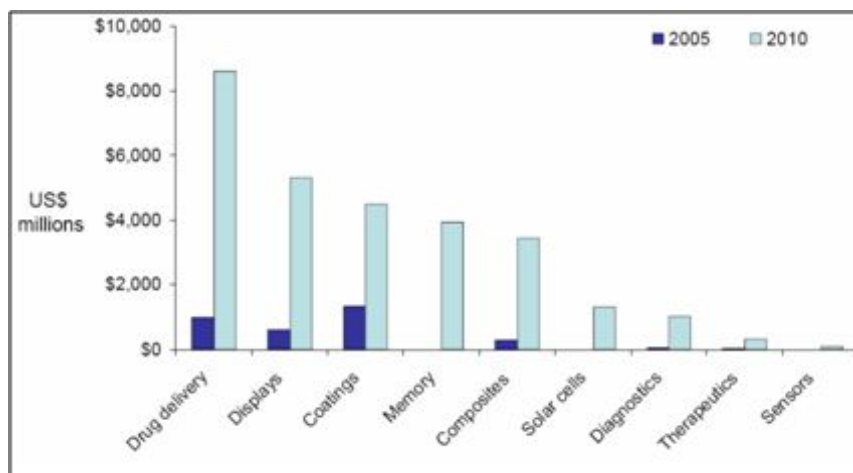


제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보



본 나노제제 제조 기술을 나노소재는 원재료로서의 나노소재에서 후속적인 공정에서 적합성이 부여된 나노중간재로서 NT, BT제품에 적용이 매우 유리하다. 나노중간재 시장은 Lux Research 보고서에 따르면 2014년에 2조 9천억 달러에 달할 것으로 추정하고 있다. 이중에서 본 제제 기술응용과 직접 관련이 있는 시장은 약 5,000억 달러에 육박할 것으로 추정된다.

또한, 기술개선단계의 나노소재를 채택하였을 경우 약 15%의 부가가치가 증가하는 것으로 보고 있다



RNCOS사에 따르면 나노복합체 시장은 2010년까지 연평균 76%의 성장세를 보이고 있으며 Nano-Dominated의 경우는 새로운 기능을 이용한 신산업의 창출을 의미하며 확산 될 것으로 전망함 후속 적합성이 부여된 나노중간재이다.

제 7 장 참고문헌

- 권영립 외 3인, 2010, 벼 생육, 수량과 품질에 대한 돈분 액비와 화학비료 시용 효과.
- 김유학, 김명숙, 곽한강. 2005. 비료와 퇴비구를 처리한 토양과 시설재배지 토양에서 토양의 EC에 따른 pH변화. 한토비지. 38(5) : 247-252.
- 농림부. 2000. 완효성비료 개발에 관한 연구.
- 박양호 외 5명. 2004. 벼 재배를 위한 양분의 종합관리.
- 배영수. 2001 유무기 하이브리드 코팅제. 고분자과학과 기술지. 12(5):716-723.
- 정광화 외 4인, 1997, 계분의 호기성 퇴비화 과정 중 성분변화.
- 조성현, 박태현, 장기운. 2001. 유기질비료와 토양미생물제제의 시용이 배추와 상추의 수량에 미치는 영향. 한국유기성폐자원학회지. 9(3) : 88~92.
- 조성현, 박태현. 2002. 유기질비료와 토양미생물제제 및 해초추출물 시용이 배추 수량에 미치는 영향. 한국유기성폐자원학회지. 10(4) : 81~85.
- 조성현, 박태현, 장기운. 2005. 유박시용에 따른 토양미생물, 탈수소효소 및 화학성변화. 한국토양비료학회 2005 국제심포지엄 초록집. 122~123.
- 조성현, 박태현, 장기운. 2005. 유박이 시용된 토양의 실내배양 및 포장배양에 따른 질소의 무기화. 한국토양비료학회 2005 국제심포지엄 초록집. 124.
- 조성현, 장기운. 2007. 유박의 온도, 수분, 토심 및 토성에 따른 질소의 무기화. 유기성자원학회지. 15(1) 149~158.
- Bunt, A. C. 1988. Media and mixes for container grown plants. Unwin Hyman, London.
- Byun, E.-H., Kim, J.-H., Sung, N.-Y., Choi, J., Lim, S.-T., Kim, K.-H., Yook, H.-S. Byun M.-W. and Lee, J.-W. (2008). Effect of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan. Radiat. Phys. Chem. 77: 781-786.
- Choi, H. Y., Effect of Soil Physico-Chemical Properties on Change of Available Micronutrients, Department of Natual Resource Graduate School, Daegu University.
- Choi, J. Y., Fate and Transfer of Trace Elements in Repellent Soil, Dept. of Biological and Technology the Graduate School Yonsei University.
- Chun, J. H., A study on the Trace-elements in Soil, Miryang National University.
- Chung, J. B., Relationships between Micronutrient contents in Soils and Crops of Plastic Film House, Division of Biological Resources, Yeungnam University.
- Fulton, W. S. and Atkins E. D. T. (1980). The Gelling mechanism and relationship to molecular structure of microbial polysaccharide curdlan. Fibre diffraction methods. Washington. D.C., American Chemical Society. 385-410.
- Hoshikawa K., 1989. The growing rice plant : An anatomical monograph.
- Han, S. G. and C. H. Cho, H. K. Jeon. 2011. Effect of the Hydrolysate of Pigs Hoof on

- Plant Growth and Properties. *J. Korea Soc. Soil Sci. Fert.* 44(2): 200–205.
- Hong, J. H., The Effect of the granular Silicate Fertilizer Application on Improving of Growth and Quality of Rice.
- Joo, S. J., S.M. Shon, and J. H. Kim. 2001. Development of organic liquid fertilizer for leaf vegetable under greenhouse. *j. Kor. Org. Agric.* 9(2):83–99.
- Kang, C. S., A.S. Roh, S. K. Kim, and K.Y. Park. 2011. Effects of the Application of Livestock Manure Compost on Reducing the Chemical Fertilizer Use for the Lettuce Cultivation in Green House. *J. Korea Soc. Soil Sci. Fert.* 44(3): 457–464.
- Kim, B. S., Effect of Barley Straw Application on Soil Properties, Rice Yield and Plowable Stress with Plowing Methods and Irrigation Rates in Barley - Rice Double Cropping System, Honam Agriculture Research institute.
- Kim, J. D., Changes of Nutrient Accumulation Type and Chemical Property on Annual Dressing Paddy Soil in Fluvio-marine Deposit, Honam Agriculture Research institute.
- Marchessault, R. H., Deslandes, Y., Ogawa, K. and Sundararajan, P. R. (1977). X-Ray diffraction data for beta-1,3-D-glucan. *Can. J. Chem.* 55:300–303.
- Ohtsubo, T. (2003). Controlled Release in pesticide formulations. *J. Pestic. Sci* 28:376–378.
- Park, H.-J., Kim S. H. and Jee, H. J. (2007). Development of a new formulation system for sustainable slow releasing of phosphorous acid in soils to control phytophthora Diseases. *Plant Pathol. J.* 23(1): 26–30.
- Park, K. D., Kwen, H. Y., Park, C. Y. Jeon, W.T., Kim, C.S. 2002. Effect on Co - Situs Application of Coated Urea Complex Fertilizer in Dry Seeded Rice. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 35(2), 112–117.
- Park, M. S., Effect of Mixtures with Lignite and Acid Solution on the Growth of Rice Plant, Chinese Cabbage and Red pepper, and the Chemical properties of soil, Department of Agronomy Graduate School Wonkwong University.
- Park, W. K., Composting Impacts on Soil Properties and Productivity in a Fluvio-marine Deposit Paddy Field, Honam Agriculture Research institute.
- Rao, J. R., Millar, B.C., Moore, J. E., 2007. Pelleted organo-mineral fertilisers from composted pig slurry solids, animal wastes and spent mushroom compost for amenity grasslands. *Waste Management* 27, 1117 - 1128.
- Ryu, J. H., The Effect of Popped Rice Hulls Compost Application on Soil Chemical and Physical Propertiess in Fluvio-marine Plain Paddy Soil, Honam Agriculture Research institute.
- Lee, D. W., Nitrogen Transformation of Slow Release Fertilizer at the Different Rice Cultural Methods, Department of Agronomy Graduate School Yeungnam University.

- Lee, S. B., Lee, Rice Bran and Charcoal Meal Application on Rice Growth and Bacterial Population in Paddy Soil.
- Lee, S. J., Effect of Magnesium Hydroxide on the Growth and Yield of Chinese Cabbage and Soil Properties, Department of Agronomy Graduate School Yeungnam University.
- Lee, Y. J., Choi, D. H., Kim, S. H., Lee, S. M., Lee, Y. H., Lee, B. M. and Kim, T. W. 2004. Long-term changes in soil chemical properties in organic arable farm systems in Korea. Korean J. Soil Sci. Fert. 37, 228-234.
- Lee, J. T. 2010. Effect of application methods of organic fertilizer on growth, soil chemical properties and microbial densities in organic bulb onion production. scientia Horticulturae. 124: 299 - 305.
- Lee, G. J., Kang. B. K., Park S. K., Min. K. B. 2001. Effect of Nitrogen fertilizers on Soil pH, EC, NO₃-N and Lettuce(*Lactuca Sativa*. L.) Growth. Korean J. Soil Sci. Fert. 34(2), 122-128.
- Saito, H., Ohki, T. and Sasaki, T. (1977) A ¹³C nuclear magnetic resonance study of gel-forming (1,3)-beta-D-gulucans. Evidence of the presence of single-helical conformation in a resilient gel of a curdlane-type polysaccharide 13140 from *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* IFO13140. *Biochemistry* 16:908-914.
- Saito, H. Okumura, K. and Harada, T. (1978). Character of curdlan and its application for food. *New food Ind.* 20:49-57.
- Stone, B. A and Clark, A. E. (1992). *Chemistry and Biology of (1,3)-beta-glucan*. Victoria, Australia, La Trobe Univ. Press.
- Tsuji, K. (2003). Pesticide formulation-Its role and recent trend. *J. Pestic. Sci* 28:371-375.
- Yang, C. H., Effect of Application Time and Rate of Mixed Expeller Cake on Soil environment and Rice quality, Honam Agriculture Research institute.

부 록

1. 발표논문 증빙자료 (2 건)
2. 특허출원 증빙자료 (3 건)
3. 개발신제품 사진 (포장지 1 건, 홍보전단물 1 건)
4. 구입기자재 증빙자료(5 건)



Antimicrobial Action Effect and Stability of Nanosized Silica Hybrid Ag Complex

Hwa-Jung Kim¹, Hae-Jun Park², and Seong-Ho Choi^{1*}

¹Department of Chemistry, Hannam University, Daejeon 305-811, Republic of Korea

²Radiation Research Division for Biotechnology Advanced Radiation Technology Institute,
Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongup 580-815, Republic of Korea

Nanosized silica hybrid silver complex (NSS) showing strong antifungal activity, in which nanosilver (nano-Ag) was bound to silica (SiO₂) molecules, was synthesized via γ -irradiation at room temperature. NSS was characterized via field emission scanning electron microscopy (FESEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDXS), ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometer, and thermogravimetric analysis (TGA). The FESEM images and EDXS data showed that well-dispersed 3-to-10-nm Ag nanoparticles (core part) were loaded onto the outer parts of 5-to-20 nm SiO₂ nanoparticles. The antifungal efficiency of NSS was evaluated against *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, and *Colletotrichum gloeosporioides*. In the case of *Rhizoctonia solani*, the growth rate was decreased typically by more than 90% at a 6 μ g/ml concentration of NSS as a medium additive. The antifungal-action mechanism was investigated via transmission electron microscopy (TEM) analysis of the NSS treatment against *Botrytis cinerea*. The stability and antimicrobial activity of NSS were determined, using the plate culture method, from several water samples containing NSS after 7-day NSS treatment. Moreover, the NSS solution maintained stable antifungal activity for at least 24 mos. These results suggest that NSS, an environment-friendly nanomaterial, can be used as strongly effective growth inhibitor of various microorganisms, making it applicable to diverse antimicrobial-control systems.

Keywords: Nanosized Silica Hybrid Silver Complex (NSS), γ -Irradiation, Antifungal Activity.

1. INTRODUCTION

In the last two decades, nanostructured materials have been significantly developed due to their unique mechanical, chemical, and optical properties, which present great potential for application in various technical fields.¹⁻³ Composites of metal-based nanoparticles, such as silver (Ag), gold (Au), iron (Fe), cobalt (Co), titanium (Ti), and zinc (Zn), have attracted much attention due to their interesting catalytic, electrical, magnetic, and semiconducting properties associated with their nanoscale or quantum-scale dimensions.¹⁻⁴ Among the aforementioned metals, nanosized Ag has been used extensively not only as a catalyst, conductive ink component, adhesives for electronic components, sensor component, and organic biomolecule immobilizer⁵⁻⁹ but also as an antimicrobial, cleaning, remediating, water treatment, and deodorizing agent.¹⁰

Other heavy metals, such as copper (Cu), lead (Pb), mercury (Hg), and chromium (Cr), have the same functions

as Ag,¹¹ but unlike such other metals, Ag, a powerful bacteriocidal agent, destroys unicellular microorganisms through its antimicrobial activity, inactivating enzymes with metabolic functions in microorganisms. Ag in an ionic state exhibits high antimicrobial activity, but ionic Ag is unstable due to its high reactivity, and it is easily oxidized or reduced to a metal depending on the surrounding environment. These phenomena lead to the lower antimicrobial action of Ag.¹¹⁻¹² For antimicrobial action, generally prepared Ag nanoparticles are in reactive or nonreactive polymer networks, which are considered top research subjects for applications as biocidal producers, biomaterials, drug support, etc.¹³ In the reported relevant studies, Ag nanoparticles allowed the growth of the contact surface of Ag with microorganisms, and Ag ions were gradually released.¹³

In recent years, the resistance of pathogenic microorganisms to the commercially available antimicrobial agents has been increasing at an alarming rate and has become a serious problem. To address this problem, the antimicrobial effects of Ag nanoparticles have

*Author to whom correspondence should be addressed.

감마선 조사기술을 이용한 미량원소 비료 나노제제 제조

박 해 준* · 김 과 정

한국원자력연구원 정음방사선과학연구소

Preparation of a Nanosized Micro Element Fertilizer Formulation by using Gamma-irradiation Technique

Hae-Jun Park* and Hwa-Jung Kim

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongup 580-815, Korea

Abstract - In this study, we addressed a novel nanosized curdlan-silica complex, which is curdlan bound to silica, for the development of a sustain-releasing micro element fertilizer formulation. The complex was obtained as follow steps; First, Curdlan polymer, sodium silicate (Na₂SiO₃) and isopropyl alcohol were dissolved in DDW. Next the resultant solution was irradiated by ⁶⁰Co gamma-irradiator (150 TBq of capacity, ACEL, Canada). Then MgSO₄ was treated with the resultant solution. The obtained colloidal solution was dried by freeze dryer. Finally, we obtained a novel nanosized curdlan-silica formulation containing MgSO₄ from the colloidal solution. The morphology of the complex was characterized by using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The nanosized curdlan-silica complex has a particle size ranging from 20 to 80 nm and high stability. Our results suggested that the nano-complex can be applicable to use in various sustain-releasing formulation for pesticide delivery system (PDS).

Key words : Curdlan, Gamma irradiation, Nanosized complex, Micro element, Sustain-releasing formulation

서 론

일반적으로 농작물의 병충해 방제에 사용되는 농약과 농작물에 영양분을 공급하기 위해 사용되는 비료는 물과 혼합된 액상형태 또는 부형제와 혼합된 입상형태이다. 이와 같은 종류의 농약 제제를 사용하면 살포된 지역의 외부로 유출되는 농 유해성분의 농도가 비

교 감소하여 유해성분의 지속시간이 짧아지기 때문에 통상 사용법상의 양 또는 농도보다 과도한 양으로 여러 번 살포하게 된다. 필요량보다 과도한 양으로 농약을 여러 번 살포하게 되면 토양의 염류집적, 과잉양화 등에 따른 환경오염을 유발할 수 있고, 농약 사용자의 건강에도 불리한 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 고제상 또는 액제상의 각종 농약, 비료 등에 서방성을 부여하여 한 번에 적절한 농도의 농약 또는 비료를 살포하여 오랜 기간 동안 그 효과가 유지될 수 있도록 유해성분의 활성 말

*Corresponding author: Hae-Jun Park, Tel: +82-43-570-3372, Fax: +82-43-570-3371, E-mail: hjpark@kari.ac.kr

2. 특허출원 증빙자료

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2009.05.18
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2009-0043016 (접수번호 1-1-2009-0295207-08)
출원인명칭 효성오앤비 주식회사(1-1998-004666-7)
대리인성명 유병선(9-1999-000235-9)
발명자성명 조성현 강연복 홍성길 김성호 박문현
발명의명칭 토양내 난용성 인산염을 가용화하는 토양 미생물 및 이를 포함하는 토양처리제 조성물

특허청장

- 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호통지서는 출원절차가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
- 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 16개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr> 이하 "홈페이지"라 함)내 "특허로(온라인전자출원)" 사이트 "나의출원등록조회"에서 1차 심사처리 1개월 전에 1차 심사결과통지 예정시기를 확인할 수 있으며, 동 사이트 코너인 "통지서비스신청"에서 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.(단 홈페이지 회원에 한하여 통지서비스 신청 가능)
2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 유별 1차 심사결과통지 예정시기를 매월 게시하고 있으며, 특허정보검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원시 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.
※ 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 사정에 의해 다소 늦거나 빨라 질 수 있습니다.
2-라. 1차 심사결과통지시(심사관이 특허결정의 통보를 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 빠른 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
- 심사청구 특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
- 우선심사 특허출원 또는 디자인등록출원에 대해 초기에 심사받기를 원하시면 우선심사제도를 이용하실 수 있습니다.
- 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2서식에 의한 출원인 정보변경(경정) 신고서를 제출하여야 합니다.
- 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원상태임을 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
- 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
- 문의처 기타 문의사항이 있으시면 특허고객 콜센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
- 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 선사로 139 정부대전청사 4동
특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
FAX) 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

발급일자 : 2009.05.14

1/1

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2009.09.10
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2009-0085429 (점수번호 1-1-2009-0558001-46)
출원인명칭 한국원자력연구원(3-1998-007760-9)
대리인성명 특허법인우한(9-2007-100061-4)
발명자성명 박해준 김화정
발명의명칭 서방성 제제 및 이의 제조방법

특 허 청 장

1. **출원번호통지서** 송부 이후 실시신청 사항 변경 확인신청 때에는 출원번호가 필요하므로 출원번호 통지서는 출원번호가 정확함 여부를 꼭 점검하시기 바랍니다.
2.
 - 2-가. 특허 및 실용신안 출원으로 **심사청구 후 평균 16개월**에 1회 실시청리가 이루어지고, 상요 및 디자인으로 **출원 후 평균 10개월**에 1회 실시청리가 이루어집니다.
 - 2-나. 특허 및 실용신안으로 **특허청 홈페이지**(<http://www.kipo.go.kr>)의 "고객지원서비스-원격처리요청통지서비스" 코너에서 1회 실시요청통지 예고서비스를 신청하시면, 1회 실시청리 후 1개월 전에 해당 출원 번호 1회 실시요청통지 예정시기용 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.
 - 2-다. 상요 및 디자인으로 **특허청 홈페이지(공지사항)**에 **특별 13일** 실시요청통지 예정시기용 (예를 게시하고 있으며, **특허정보검색서비스 시스템**(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원번호에 대한 1회 실시요청통지 예정시기용 알려드립니다. 또한, 출원번호 1회 실시요청통지 예정시기 통지 서비스를 신청하시면, **SMS 또는 E-mail** 서비스로 제공해 드립니다.
 ※ 상요 1회 실시요청통지 예정시기는 신청에 의해 다소 늦거나 빨라질 수 있습니다.
 - 2-라. 1회 실시요청통지시(실시요청이 특허청정의 통보용 통지하기 전 또는 실시요청이 최초로 거절이유통지전 후 출원인이 그 거절이유통지하기 전 중 1회)까지 귀해번호는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항에 별첨하여 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
3. 심사청구 특허출원으로 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 실시청구통지받지 않으면 그 출원으로 출원번호의 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
4. 무실심사 특허(실용신안특허)출원 또는 디자인등록출원, 상요등록출원에 대해 정기회 실시요청통지시엔 "무실심사제도"를 이용할 수 있습니다.
5. 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등 변경신고가 없는 경우에는 특허법시행규칙 별지 제4호의 2 서식에 의한 출원의 정보변경(변경) 신고서를 제출하여야 합니다.
6. 산업재산권 표시, 광고요청 특허 등 산업재산권출원 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원 상대방을 의해 침해되어 표시되어 하거나, 이의 위반행위 등 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
 예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상요등록출원 40-2001-0000001
7. 이청년과 이청년자인 출원인이 20세에 도달하는 경우 출원인의 주요 통장대리인의 대리번호를 등록하여야 하며, 출원인의 직책 또는 대리인명 재료가 변경되어 특허청 통지 받을 수 있습니다.
8. 문의한 기타 문의사항이 있으시면 특허고객센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
9. 특허청 주소 302-701 (대전광역시 서구 칠성로 139 정부대전청사 4동)
특허청 서민사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
 FAX) (전: 042-472-7140, 전: 02-566-8454

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2010.09.09
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2010-0088449 (점수번호 1-1-2010-0587153-60)
출원인명칭 한국원자력연구원(3-1998-007760-9)
대리인성명 특허법인우한(9-2007-100061-4)
발명자성명 박해준 김화정
발명의명칭 서방성 제제 및 이의 제조방법

특 허 청 장

1. 출원 이후 지적 재산권을 확인해볼 때에는 출원번호가 동일하나, <출원번호통지서>는 출원번호가 잘못됨에 따라 교정해주시기 바랍니다.
2. 특히, 지적재산권 변경사항이 있을 경우 <출원번호조정요청서(원장), 변경신고서>를 반드시 제출하여야 소정 절차에 따라 처리될 수 있습니다.
3. 특허(실용신안등록)출원료 및 특허청 지정지(실용권이 인정된 특허기안용)를 지불 경우는 그 기간 내 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항에 범위 안에서 명세서 또는 도면을 교정할 수 있습니다.
4. 특허출원료 출원일로부터 5년(실용신안등록출원료 3년) 이내에 심사청구 하지 않으면 그 출원료 환급받을 것으로 간주합니다.
5. 특허(실용신안등록, 디자인등록, 상표등록)출원에 대해 초기에 심사받기용 출원시엔 "무선심사제도"를 이용할 수 있습니다.
특허(실용신안등록)출원에 대해 후기 심사받기용 출원시엔 "실용유예신청 제도"를 이용할 수 있습니다.
6. 해당 산업재산권이 출원상대인을 표시해볼 때에는 아래 예와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 출원번호에 따라 처벌받을 수 있습니다.
예) 특허출원 10-2010-0000001, 실용신안등록출원 20-2010-0000001, 디자인등록출원 30-2010-0000001, 상표등록출원 40-2010-0000001, 서비스표등록출원 제41-2010-0000001 등
기타 로열티사항이 있을시엔 특허고려상담센터(1544-8080)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(www.kipo.go.kr)를 참고하시기 바랍니다.
- 7.

3. 개발신제품 사진 (포장지 1 건), 홍보전단물 1 건)

포장지

뉴파머

고효율성 신개념 유기비료

뉴파머

뉴파머

는 N-P-K값이 7%이상이며 영양성분 규격으로 제조 검증된 영양제품입니다.

■ 특징 및 효과

1. 각종 유박과 고급 동물성 유기물을 과학적으로 우리나라의 토양에 최적화된 배합 제조한 최고급 혼합유기질 비료입니다.
2. 고농축 유기질비료로서 비료성분의 알파와 적응과 토양중 분해에 따라 작물의 양분흡수 이용률을 극대화하여 작물성숙과 수량증대는 물론 토양을 건강하게 유지시켜줍니다.
3. 환경오염비의 유기질비료에 대한 노이오와 생물학적 최첨단 기술을 접목하여 직물의 시비효율을 극대화 시킨 신제품으로 작물양을 시비하여도 효과가 우수합니다.
4. 산소제를 이용한 펠렛(PELLETT)으로 되어 있어 토양중 수분과 미생물에 의한 분해를 신속하게 하여, 양분을 공급하며 사용편리성의 용해와 골고루 살포 할 수 있는 경제적인 비료입니다.
5. 작물 고유의 특색인 맛, 향, 색깔, 당도, 굵기, 저장성 등 생산물의 품질을 율량이 높여주며 친환경농업에 적합한 혼합유기질 비료입니다.

■ 사용량

구분	10a 기준	성역 1주당	유역 1주당
과수용	사과, 배 평균량 (300~375 kg)	20~25 포 (15 kg)	1/2 포 (7.5 kg)
	복숭아, 모도, 단감 등 (180~245 kg)	12~23 포 (15 kg)	1/3 포 (5 kg)
원예용	12~20 포 (180~300 kg)	*작물별 토양 조건에 따라 조절하십시오.	
	특용(인삼) 20~30 포 (300~450 kg)		

■ 사용방법

1. 과수용 : 전량시비 후 로타리를 하거나 심경시비하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
2. 원예용(노지) : 전량시비 후 토양과 잘 혼합되도록 경운하고 15일 이상 토양내 발효기간 경과 후 정식 바랍니다.
3. 시설하우스 : 전에 살포 후 로타리 또는 경운하고 충분한 수분 보충 후에 2회 이상 로타리아이 반드시 토양내에서 발효시킨 후 정식하여야 가스 피해를 예방할 수 있습니다.
4. 인삼용으로 사용시 충분한 수분이 있는 상태에서 전면 살포 후 3~4회 로타리 후 경운하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
5. 기타사용방법은 구입농업이나 당사(042-624-7613)로 문의 바랍니다.

■ 주의사항

1. 발효되지 않은 비료이므로 묘포상, 상토에는 사용을 금합니다.
2. 토양내 수분 부족시 발효되지 않으므로 충분한 수분을 보충시켜 주십시오.
3. 양분이 높아 토양내 발효시 간혹 토양 염분의 발생을 염는 경우가 있으므로 토양 살중 및 석회사용으로 예방하는 것이 좋습니다.
4. 본 제품은 비료이므로 동물 먹이방의 사용용으로 사용을 금합니다.

● 비료생산일자보증표

1. 품 배 번 호 : 경복 의성08-가-10915
2. 비료명류 및 명칭 : 혼합유기질비료
3. 실량 : 15kg
4. 보 통 성 분 량(%) : 질소전량 3.9, 인산전량 2.1, 가리전량 1.0
5. 원료명 및 배합비율 : 아무까리유박 25%, 대두박 42%, 미강유박 10%, 제형유박 15%, 골분 8%
6. 생산년월일 : 별도표시
7. 대표자 : 박태연
8. 제조장소재지 : 경북 의성군 의성읍 용연리 805

호성오엔비
 Organic & Bio
 http://www.hsonb.com
 대표전화 : 054-833-7613

농촌진흥청 "친환경유기농자재" 목록공시

뉴파머는 품질은 **올리고** 가격은 **내린** 신개념의 고농축 유기질비료입니다



뉴파머



뉴파머는?

1. 30년 유기질비료 노하우와 연구력이 결합한 최첨단 신개념 기능성 자재
2. 최적의 영양원 공급과 복합미생물 배양체를 이용한 병저항성 증대
3. 시비편리성 및 경제성 개선을 통한 농업 경쟁력 향상
4. 토양 내 알파화 작용과 분해에 따른 작물의 흡수 이용률 극대화



"QR코드를 검색해 보세요"



◆ 뉴파머는 호성친환경농업연구소의 연구 노하우가 집적된 최첨단 기능성 자재입니다.



친환경농업을 선도하는
호성오앤비
Organic & Bio
www.hsonb.com

“최첨단 기능성 혼합유기질” 뉴파머 (NEW FARMER)



● 앞서가는 농업인의 새로운 선택

효성오앤비의 30년 노하우와 미생물학적인 최첨단 기술을 접목하여 작물의 시비효율을 극대화시킨 신개발, 신제품입니다.

● 뉴파머(NEW FARMER)의 우수성

1. 토양무기화율을 고려한 대두박, 골분 등 최고급 유기질 원료 사용
2. 미생물학적 처리공정 적용에 의한 토양 미생물 생태계의 안정화를 통한 병저항성 증대
3. 사용의 편리성 및 경제성 개선에 의한 농업경쟁력 향상

● 특징 및 효과

1. 각종 식물성 유박과 고급 동물성 유기물을 과학적으로 토양에 적합하도록 혼합 제조한 최고급 유기질비료입니다.
2. 비료성분의 알파화 작용과 토양 중 분해에 따라 작물의 양분흡수 이용률을 극대화하여 수량증대 및 작물생육을 향상시킵니다.
3. 펠렛(PELLETT)으로 되어 있어 토양 중 수분과 미생물에 의한 분해가 신속하게 진행되어 빠르게 양분을 공급해주는 경제적인 비료입니다.
4. 효성오앤비의 유기질비료에 대한 노하우와 미생물학적 최첨단 기술을 접목하여 작물의 시비효율을 극대화 시킨 신제품으로 적은 양을 시비하여도 효과가 매우 우수합니다.
5. 작물고유의 독특한 맛, 향, 색깔, 당도, 굵기, 저장성 등 농산물의 품질을 월등히 높여주며 친환경인증농업에 적합한 혼합 유기질비료입니다.

● 사용량 (15kg/포)

	적용작물	10a기준	비고	
원 예 용	고추,오이,딸기,토마토,수박,참외 등	12~20포	작물별, 토양조건 에 따라 조절하십 시오.	
	감자,마늘,배추,양파,당근,상치 등	12~20포		
	장미, 약초 등	15~30포		
과 수 용	사과, 배, 감귤	유목		10~12포
		성목		20~25포
	포도, 복숭아, 유자	12~15포		
특 용	인삼	20~30포		

● 사용방법

1. 시설하우스에서 사용 시 전면 살포 한 후 로타리 또는 경운하고 충분한 수분 보충 후에 2회 이상 로타리하여 반드시 토양 내 재발효 시킨 후 정식하여야 가스 피해를 예방 할 수 있습니다.
2. 원예용(노지)으로 사용 시 전층 시비 후 토양과 잘 혼합 되도록 경운하고 15일 이상 토양 내 발효 기간 경과 후 정식바랍니다.
3. 과수용으로 사용 시 전층 시비 후 로타리를 하거나 심경시비하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.
4. 인삼용으로 사용 시 충분한 수분이 있는 상태에서 전면 살포 후 3~4회 로타리 후 경운하면 좋은 효과를 얻을 수 있습니다.

주의사항

1. 발효되지 않은 비료이므로 묘포상 상태에는 사용을 금합니다.
2. 토양 내 수분 부족 시 발효되지 않으므로 필히 충분한 수분을 보충시켜 주십시오.
3. 단위 면적당 사용권장량을 연용 시비할 때는 화학 비료를 대폭 감량 시비하십시오.
4. 본 제품은 비료이므로 동물먹이 등의 사료용으로 사용을 금합니다.



친 환경 농업을 선도하는

■ 구입처 : 전국 각 지역 농협

대전광역시 유성구 전민동 461-68 (우305-811)
TEL (042)624-7613 FAX (042)624-4068
WWW.hsonb.com

4. 구입기자재 증빙자료

(1) Deep freezer



(2) BOD incubator



(3) Ultrasonic cleaner



(4) Shaking incubator



(5) Centrifuge

