

최 종
연구보고서

환경 오염성 식품가공 부산물인 사과박과 간장박을 이용한
미생물 제재의 대량 생산 및 활용방안

Development of mass production process for microbial product with by-products
from food processing, apple and soybean pomaces caused environmental
contamination and their applications

연구기관

동 아 대 학 교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “환경 오염성 식품가공 부산물인 사과박과 간장박을 이용한 미생물 제재의 대량 생산 및 활용방안에 관한 연구” 과제 (세부과제 I. “생산기술 개발 및 대량생산에 관한 연구”와 세부과제 II. “미생물 제재의 효과검정에 관한 연구”)의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 8월 20일

주관연구기관명: 동아대학교

총괄연구책임자: 이진우

세부연구책임자: 문병주

연구원: 채영주

연구원: 이동수

연구원: 송주희

연구원: 양재균

연구원: 김순희

연구원: 이광렬

연구원: 이유희

연구원: 신규식

연구원: 안길진

요 약 문

I. 제 목

환경 오염성 식품가공 부산물인 사과박과 간장박을 이용한 미생물 제재의 대량 생산 및 활용방안

II. 연구개발의 목적 및 필요성

사과박의 성분은 탄수화물, 조단백, 조지방 및 섬유소이며 주성분인 탄수화물은 미생물을 배양하기 위한 배지의 탄소원으로 사용할 수 있으며 간장박의 성분은 조단백, 조지방 및 조회분으로 주성분인 조단백은 미생물을 배양하기 위한 배지의 질소원으로 사용할 수 있다. 본 연구의 목적은 사과박과 간장박을 각각 미생물 배양을 위한 배지의 탄소원과 질소원을 개발하여 유용한 미생물을 배양하고 이 미생물을 사용하여 기능성 비료 및 유기질 사료로 사용될 미생물 제재를 개발하는 것이다. 환경오염성 부산물을 이용하여 필요한 유기질 비료 및 기능성 사료를 생산한다는 것은 사료의 수입 의존도를 감소시킬 수 있다는 것이며, 사료용 곡물을 수입하는데 필요한 외화를 절감시킬 수 있을 것이며 특정한 국가에 대한 곡물 의존도를 낮추는데 도움이 될 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 사과박과 간장박의 성분 분석

- 가. 사과 주스의 생산 공정의 부산물인 사과박의 물리·화학적 성질 분석
- 나. 간장의 생산공정의 부산물인 간장박의 물리·화학적 성질 분석

2. 미생물 제재의 생산기술 개발

- 가. 유용 미생물들의 사과박 및 간장박의 이용도 측정
- 나. 사과박을 탄소원으로 이용하는 유용 미생물들의 최적 배지조성 확립

- 다. 간장박을 질소원으로 이용하는 유용 미생물들의 최적 배지조성 확립
- 라. 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 하는 최적 배양조건 확립
- 마. 유용 미생물 배양액의 유기물 및 효소의 분석
- 바. 사과박과 간장박을 이용한 유효 미생물들의 대량 생산 기술 개발

3. 미생물 제재의 효과 검정

가. 기능성 비료로서의 미생물 제재의 효과 검정

- 1) 상추의 생육에 미치는 영향
- 2) 토마토의 생육에 미치는 영향
- 3) 배추의 생육에 미치는 영향

나. 유기질 사료로서의 미생물 제재의 효과 검정

- 1) 닭의 생육에 미치는 영향
- 2) 돼지의 생육에 미치는 영향

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 사과박과 간장박의 성분 분석

사과박의 구성성분은 탄수화물과 조섬유가 주성분이며 각각의 함량은 66.5% 및 4.7%이었다. 간장박은 탄수화물과 조단백 및 무기염류가 주성분이며 조지방과 칼슘 및 인이 포함되어 있으며 수분 함량은 11.0%이었다.

나. 미생물 제재의 생산기술 개발

- 1) 유용 미생물들의 사과박 및 간장박의 이용도 측정

본 연구에 사용한 대부분의 균주가 사과박과 간장박을 이용할 수 있음을 확인하였다. 폴루란 생산배지의 구성성분에서 탄소원인 포도당이 차지하는 상대적인 가격은 약 50%이며 효모추출액이 차지하는 상대적인 가격은 전체 약 40%이므로 사과박과 간장박을 이용할 수 있으므로 직접 생산비의 많은 부분을 절약할 수 있다.

2) 사과박의 최적 수분농도 확립

사과박을 유일한 기질로 사용하여 균주들을 배양하였을 경우에 사과박의 수분함량은 약 60% 이상이 되어야 균주들이 이용함을 알 수 있었다. 특히, DL-4, DL-5 및 *L. acidophilus* KCCM 32820 균주는 수분 함량이 80% 이상 되는 사과박만을 이용하였다.

3) 간장박의 최적 수분농도 확립

간장박을 유일한 기질로 사용하여 균주들을 배양하였을 경우에 간장박의 수분함량이 40% 이상이 되어야 균주들이 이용함을 알 수 있었다. 또한 같은 수분 함량의 간장박인 경우에는 산가수분해 간장박 보다 양조간장박의 이용도가 높음을 알 수 있었다. 특히, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주 등은 수분 함량이 80% 이상 되는 간장박만을 이용하였다.

4) 미생물 제제의 배양 조건 최적화

B. brevis DL-2, DL-3 및 DL-4 균주는 30°C가 최적 생육온도 이었으며 *B. coagulans* DL-1, *B. stearothermophilus* DL-3, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 *L. acidophilus* KCCM 40265균주는 35°C에서 가장 높은 생균수를 나타냈다. DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 균주의 최적 생육 pH는 6.0으로 약 산성에서 높은 생존율을 나타냈다.

5) 미생물 제제의 생산배지 조성 최적화

B. coagulan DL-1, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주들은 사과박과 간장박의 비율이 4 : 6인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈으나 나머지 균주들은 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈다.

6) 유용 미생물 배양액의 유기물 및 효소의 분석

B. stearothermophilus DL-3 균주는 포도당, 전분, 섬유소 및 키틴을 탄소원으로 사용한 배지에서 48시간 배양하였을 때에 가장 높은 생균수를 나타냈으나 C.M.C., 키토산 및 탈지분유를 탄소원으로 사용한 배지에서는 배양 후, 72시간까지 생균수의 증가를 보였다. 탄소원의 이용도 및 SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 상등액을 전기영동한 결과, *B. stearothermophilus* DL-3균주를 사용하여 amylase, cellulase, protease, chitinase 및 chitosanase를 생산할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

다. 미생물 제재의 효과 검정

1) 기능성 비료로서의 미생물 제재의 효과 검정

가) 미생물 제재가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 4.4배 증가하였다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 10.6배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 2.4배 증가한 것이다.

나) 미생물 제재가 토마토 재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

미생물 제재를 기준량 처리한 토마토 재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 6.9배 증가하였다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 10.2배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 1.5배 증가한 것이다.

다) 미생물 제재가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

미강을 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 3.4배 증가하였다. 미강을 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 미강을 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 13.1배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 3.8배 증가한 것이다.

라) 미생물 제재의 처리가 상추의 생장에 미치는 영향

미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추에 비하여 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량이 각각 10.7%, 8.5% 및 27.5% 증가하였으며 미생물 제재를 배양 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추에 비하여 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량이 각각 14.0%, 12.6% 및 32.0% 증가하였다.

마) 미생물 제재의 처리가 토마토의 생장에 미치는 영향

미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 토마토는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 토마토에 비하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량이 각각 10.6%, 10.0% 및 27.5% 증가하였으며 미생물 제재를 배량 처리한 토양에서 재배한 토마토는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 토마토에 비하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량이 각각 14.0%, 13.5% 및 32.6% 증가하였다.

바) 미생물 제재의 처리가 배추의 생장에 미치는 영향

미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 배추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 배추에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 137%, 163%, 67%, 900% 및 1,650% 증가하였으며 미생물 제재를 배량 처리한 토양에서 재배한 배추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 배추에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 145%, 180%, 93%, 950% 및 1,825% 증가하였다.

2) 유기질 사료로서의 미생물 제재의 효과 검증

가) 미생물 제재의 처리가 닭의 생육에 미치는 영향

일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 수행하였으며 각구의 평균 병아리 무게는 각각 $41.10 \pm 2.50\text{g}$, $41.60 \pm 3.20\text{g}$ 및 $42.30 \pm 2.90\text{g}$ 이었다. 각 구에 속한 병아리들의 평균 무게는 28일 후에 각각 $547.65 \pm 91.7\text{g}$, $560.13 \pm 17.19\text{g}$ 및 $562.24 \pm 32.49\text{g}$ 이었으며 각 구에 속한 병아리들의 평균 무게 증가는 각각 506.55g, 518.53g 및 519.94g이었다.

나) 미생물 제재의 처리가 돼지의 생육에 미치는 영향

일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 수행하였으며 각 구의 평균 돼지 무게는 각각 $9.28 \pm 0.99\text{kg}$, $9.38 \pm 1.14\text{kg}$ 및 $9.55 \pm 1.01\text{kg}$ 이었다. 각 구에 속한 돼지들의 평균 무게는 37일 후에 각각 $19.25 \pm 4.08\text{kg}$, $20.20 \pm 3.93\text{kg}$ 및 $20.75 \pm 4.18\text{kg}$ 이었으며 각 구에 속한 돼지들의 평균 무게 증가는 각각 10.65kg, 10.82kg 및 11.20kg이었다.

2. 활용에 대한 건의

가. 생물농약의 개발

본 연구의 결과로 토양에서 분리되어 동정한 *B. stearothermophilus* DL-3 균주는 작물의 병원성 곰팡이에 대한 길항작용이 있다고 밝혀졌으며 이를 이용한 생물 농약의 개발이 가능하다고 판단된다.

나. 특허출원 및 재산권 확보

본 연구의 결과를 정리하여 국내특허(출원번호 10-2003-0004615)를 출원하였으며 이를 지적 재산권화 할 수 있다.

다. 기술 이전

본 연구사업의 참여기업인 (주)케이비피와 기술이전 및 실용화를 위하여 계속적인 연구와 토의를 통하여 결과를 공유하고 있다.

라. 미생물 제재의 대량생산

미생물 제재를 생산하는 (주)풍년농산 (경주 소재)과 미생물 제재의 효과 검정 및 대량 생산을 위한 연구 자문을 받고 있으며 대량생산에 대한 일정을 계획 중이다.

마. 연구과제의 개발

본 연구에서 미생물 제재를 제조하기 위하여 사용한 9종류의 미생물 중의 하나인 *B. stearothermophilus* DL-3이 생산하는 섬유소 분해효소 (cellulase)를 이용하여 농업부산물의 재활용에 대한 연구를 계획을 수립하는 중이다.

SUMMARY

I. Title

Development of mass production process for microbial product with by-products from food processing, apple and soybean pomaces caused environmental contamination and their applications

II. Purpose and importance of research and development

Apple pomace consists of carbohydrates, crude proteins, crude lipids and cellulose and its main ingredient, carbohydrate, can be used as a carbon source for microbial cultures. Soybean pomace consists of crude proteins, crude lipids and crude ash and its main ingredient, crude protein, can be used as a nitrogen source for microbial cultures. The purpose of this research is to develop apple and soybean pomace as carbon and nitrogen sources for culturing useful microorganisms, and to develop functional fertilizer and organic animal feed from these microorganisms. To produce functional fertilizer and organic animal feed from potential environment polluters will help lower animal feed dependency on other countries, reduce foreign currency needed to import grains for animal feed, and decrease grain dependency on foreign countries.

III. Contents and extents of research and development

1. Analysis of apple and soybean pomace

- 가. Physio-chemical analysis of apple pomace from the industry for apple juice production
- 나. Physio-chemical analysis of soybean pomace from the industry for soy sauce production

2. Development of technology for production of microbial products

- 가. Measurement of utilization rates of apple and soybean pomaces
- 나. Establishment of culture medium using apple pomace as a carbon source and soybean pomace as a nitrogen source
- 다. Optimization of production conditions for microbial products
- 라. Development of technology for production of microbial products
- 마. Characteristics of microorganisms in microbial products
- 바. Optimization of storage method of microbial products

3. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer

- 가. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer
 - 1) Effect of microbial products on growth of lettuces
 - 2) Effect of microbial products on growth of tomatoes
 - 3) Effect of microbial products on growth of Chinese cabbages

- 나. Evaluation of microbial products as an organic feed
 - 1) Effect of microbial products on growth of chickens
 - 2) Effect of microbial products on growth of pigs

IV. Results and proposal for practical use of this research

1. Results

- 가. Analysis of apple and soybean pomace

Apple pomace consisted mainly of carbohydrates(66.5%) and crude fibers(4.7%). Soybean pomace consisted mainly of carbohydrates, crude proteins and inorganic salts. Crude lipids, calcium and phosphorus were also found, and 11.0% was moisture.

4. Development of microbial product

1) Measurement of apple and soybean utilization levels in useful microorganisms

Most of the microorganisms used in this research were able to utilize apple and soybean pomace. In medium for production of pullulan, glucose, the carbon source, takes up about 50% in relative costs, and yeast extract takes up about 40% of the total in relative costs. Therefore, using apple and soybean pomace is a direct way of cutting down on production costs.

2) Establishment of optimal moisture level for apple pomace

When using apple pomace as the only substrate in cultivating microorganisms, the moisture level in the apple pomace had to be approximately 60% or above for the microorganisms to utilize it. In particular, moisture levels had to be above 80% for DL-4, DL-5 and *L. acidophilus* KCCM 32820 to utilize the apple pomace.

3) Establishment of optimal moisture level for soybean pomace

When using soybean pomace as the only substrate in cultivating microorganisms, the moisture level in the soybean pomace had to be approximately 40% or above for the microorganisms to utilize it. In pomace of equal moisture levels, the utilization levels were higher for soybean pomace from fermentational process than soybean pomace from chemical process for production of soy sauce. In particular, moisture levels had to be above 80% for *L. acidophilus* KCCM 32820 and 40265 to utilize the soybean pomace.

4) Establishment of optimal conditions for production of microbial product

Temperature of 30°C was the optimal temperature for *B. brevis* DL-2, DL-3 and DL-4; and 35°C was the optimal temperature for *B. coagulans* DL-1, *B. stearothermophilus* DL-3, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *L. acidophilus* KCCM 32820 and *L. acidophilus* KCCM 40265. A pH of 6.0 was the optimal condition for DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304 and *L. acidophilus* KCCM 40265.

5) Establishment of optimal conditions for preparation of medium

B. coagulans DL-1, *L. acidophilus* KCCM 32820 and 40265 showed the highest viable cell number when the ratio between apple and soybean pomace was 4 : 6. The other microorganisms showed the highest viable cell number when the ratio between apple and soybean pomace was 2 : 8.

6) Analysis of organic matter and enzymes in microbial medium

B. stearrowthermophilus DL-3 showed the highest viable cell number when cultivated for 48 hr in a medium, which carbon source was glucose, starch, cellulose and chitin, whereas in a medium with C.M.C., chitosan and skim milk as a carbon source the viable cell number increased for up to 72 hr of cultivation. The utilization level of carbon sources, along with electrophoresis of supernatant using SDS-polyacrylamide gel showed that amylase, cellulase, protease, chitinase and chitosanase can be produced by using *B. stearrowthermophilus* DL-3.

다. Evaluation of microbial products

1) Evaluation of microbial product as a functional fertilizer

가) Effects of microbial product on microorganisms in lettuce growing soil

The total viable cell number in lettuce growing soil treated with standard amounts of microbial product was 4.4 times higher after 6 weeks than that of untreated soil. The total viable cell number in lettuce growing soil treated with double amounts of microbial product was 10.6 times higher than that of non-treated soil, and 2.4 times higher than that of standard treated soil.

나) Effects of microbial product on microorganisms in tomato growing soil

The total viable cell number in tomato growing soil treated with standard amounts of microbial product was 6.9 times higher after 6 weeks than that of untreated soil. The total viable cell number in tomato growing soil treated with double amounts of microbial product was 10.2 times higher than that of untreated soil, and 1.5 times higher than that of standard treated soil.

다) Effects of microbial product on microorganisms in Chinese cabbage growing soil

The total viable cell number in Chinese growing soil treated with standard amounts of rice bran was 3.4 times higher after 6 weeks than that of untreated soil. The total viable cell number in Chinese cabbage growing soil treated with double amounts of rice bran was 13.1 times higher than that of untreated soil, and 3.8 times higher than that of standard treated soil.

라) Effects of microbial product treatment on lettuce growth

Leaf width, leaf count and wet weight for the part above earth in lettuce grown in soil treated with standard amounts of microbial product increased 10.7%, 8.5% and 27.5% respectfully compared to those of lettuce grown in untreated soil. Leaf width, leaf count and wet weight for the part above earth in lettuce grown in soil treated with double amounts of microbial product increased 14.0%, 12.6% and 32.0% respectfully compared to those of lettuce grown in untreated soil.

마) Effects of microbial product treatment on tomato growth

Greatest length, diameter of tomatoes and wet weight in tomatoes grown in soil treated with standard amounts of microbial product increased 10.6%, 10.0% and 27.5% respectfully compared to those of tomatoes grown in untreated soil. Greatest length, diameter of tomatoes and wet weight in tomatoes grown in soil treated with double amounts of microbial product increased 14.0%, 13.5% and 32.6% respectfully compared to those of tomatoes grown in untreated soil.

바) Effects of microbial product treatment on chinese cabbage growth

Leaf length, leaf width, leaf count, wet weight and dry weight in chinese cabbage grown in soil treated with standard amounts microbial product increased 137%, 163%, 67%, 900% and 1.650% respectfully compared to those of chinese cabbage grown in untreated soil. Leaf length, leaf width, leaf count, wet weight and dry weight in chinese cabbage grown in soil treated with double amounts of microbial product increased 145%, 180%, 93%, 950% and 1,825% respectfully compared to those of chinese cabbage grown in untreated soil.

2) Examination of microbial product efficiency as an organic animal feed

가) Effects of microbial product treatment on chickens

Chickens were divided into groups and each group was given untreated feed, feed with 10% microbial product added using rice bran and feed with 10% microbial product added using apple and soybean pomace and rice bran. The average chick weight of each group was $41.10 \pm 2.50\text{g}$, $41.60 \pm 3.20\text{g}$ and $42.30 \pm 2.90\text{g}$ respectively. The average chick weight of each group after 28 days was $547.65 \pm 91.7\text{g}$, $560.13 \pm 17.19\text{g}$ and $562.24 \pm 32.49\text{g}$ respectively, and the average weight gain for chicks in each group was 506.55g , 518.53g and 519.94g respectively.

나) Effects of microbial product treatment on pigs

Pigs were divided into groups and each group was given untreated feed, feed with 10% microbial product added using rice bran and feed with 10% microbial product added using apple and soybean pomace and rice bran. The average weight of each group was $9.28 \pm 0.99\text{kg}$, $9.38 \pm 1.14\text{kg}$ and $9.55 \pm 1.01\text{kg}$ respectively. The average weight of each group after 37 days was $19.25 \pm 4.08\text{kg}$, $20.20 \pm 3.93\text{kg}$ and $20.75 \pm 4.18\text{kg}$ respectively, and the average weight gain for each group was 10.65kg , 10.82kg and 11.20kg , respectively.

2. Suggestions for practical use

가. Development of agricultural chemicals

Through this research, it has been made apparent that the *B. stearothermophilus* DL-3, isolated from soil, has an antagonism towards pathogenic fungi, and development agricultural chemicals using this is thought to be possible.

나. Application for a patent and security of assets

The organized results of this research have been applied for a patent (application number for Koren patent 10-2003-0004615).

다. Transference of technology

The results of this research are being shared through continuous research

and discussion with KBP Co, a participant of this project, to further transfer and utilize technologies.

라. Mass production of microbial product

Plans for mass production are underway with PN Rice Co. which is a rice processing company.

마. Development of research thesis

Plans are underway for a research on the recycling of agricultural wastes using cellulase, produced by *B. stearothermophilus* DL-3, one of 9 microorganisms used to make microbial product in this project.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	25
Section 1. Purpose and significance of the research	25
1. Purpose of the research	25
2. Requisite of the research	25
Section 2. Contents and scope of the research	30
1. Final goal of the research	30
2. Annual contents and scope of the research	31
Chapter 2. Current situation in development of domestic and foreign technology	34
Section 1. Current situation and problems in development of technology	34
Section 2. Future prospect	34
Section 3. Validity of technology transfer	35
Chapter 3. Research contents and results	37
Section 1. Isolation and identification of useful microorganisms	37
1. Materials and methods	37
가. Identification of microorganisms	37
나. Antagonism of microorganisms	37
2. Results	37
가. Identification of microorganisms	37
나. Antagonism of <i>B. stearothermophilus</i> DL-3	39
Section 2. Components and utilization of apple and soybean pomaces	41
1. Materials and methods	41
가. Analysis of apple and soybean pomaces	41
나. Measurement of viable cell number	41

다.	Utilization of apple and soybean pomace	41
2.	Results	42
가.	Analysis of apple and soybean pomaces	42
나.	Measurement of viable cell number	42
다.	Utilization of apple and soybean pomaces	43
Section 3. Optimization of production conditions for microbial products		45
1.	Materials and methods	45
2.	Results	46
가.	Optimal temperature	46
나.	Optimal pH	46
다.	Optimal content of water in apple pomace	46
라.	Optimal content of water in soybean pomace	50
마.	Optimal mixing rate of apple pomace to soybean pomace	53
Section 4. Characteristics of microorganisms in microbial products		59
1.	Materials and methods	59
가.	Growth curve	59
나.	Characteristics of <i>B. stearothermophilus</i> DL-3	59
2.	Results	59
가.	Growth curve	59
나.	Characteristics of <i>B. stearothermophilus</i> DL-3	65
Section 5. Optimization of storage method of microbial products		67
1.	Materials and methods	67
가.	Evaluation of absorbants	67
나.	Optimization of method for lyophilization	67
다.	Optimal temperature for storage of microbial products	67
2.	Results	68
가.	Evaluation of absorbants	68
나.	Optimization of method for lyophilization	69

다. Optimal temperature for storage of microbial products	69
Section 6. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer-I:	
lettuces and tomatoes	72
1. Materials and methods	72
가. Microbial culture	72
나. Production of microbial products	73
다. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	73
라. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	73
2. Results	74
가. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	74
나. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	78
Section 7. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer-II:	
lettuces and Chinese cabbages	80
1. Materials and methods	80
가. Microbial culture	80
나. Production of microbial products	80
다. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	81
라. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	81
2. Results	82
가. Production of microbial products	82
나. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	82
다. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	123
Section 8. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer-III:	
lettuces and Chinese cabbages	132
1. Materials and methods	132
가. Microbial culture	132
나. Production of microbial products	132
다. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	132

라. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	133
2. Results	133
가. Analysis of microbial population in the soil for plant cultivation	133
나. Evaluation of microbial products as a functional fertilizer	139
 Section 9. Evaluation of microbial products as an organic feed-I: chickens	144
1. Materials and methods	144
가. Production of microbial products	144
다. Evaluation of microbial products as an organic feed	144
2. Results	144
 Section 10. Evaluation of microbial products as an organic feed-II: pigs	148
1. Materials and methods	148
가. Production of microbial products	148
다. Evaluation of microbial products as an organic feed	148
2. Results	148
 Chapter 4. Accomplishment and contribution	153
Section 1. Attainment of goal of this research	153
Section 2. Contribution to related fields and expected impacts	154
1. View point of technology	154
2. view point of economics and industry	154
 Section 5. Application scheme of the research	157
 Chapter 6. Information of foreign technology obtained from this research	157
 Chapter 7. References	158

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	25
제 1 절 연구개발의 목적과 필요성	25
1. 연구개발의 목적	25
2. 연구개발의 필요성	25
제 2 절 연구개발 내용 및 범위	30
1. 최종연구목표	30
2. 연차별연구개발의 내용 및 범위	31
제 2 장 국내외 기술개발 현황	34
제 1 절 국내외 관련기술의 현황과 문제점	34
제 2 절 앞으로의 전망	34
제 3 절 기술도입의 타당성	35
제 3 장 연구개발수행내용 및 결과	37
제 1 절 유용 미생물의 분리 및 동정	37
1. 연구수행 방법	37
가. 균주 동정	37
나. 균주의 길항작용 확인	37
2. 연구 결과	37
가. 균주 동정	37
나. <i>B. stearothermophilus</i> DL-3의 길항작용	39
제 2 절 사과박과 간장박의 구성성분 및 이용도	41
1. 연구수행 방법	41
가. 구성성분 분석	41
나. 생균수 측정	41
다. 사과박과 간장박의 이용도	41

2. 연구 결과	42
가. 구성성분 분석	42
나. 생균수 측정	42
다. 사과박과 간장박의 이용도	43
제 3 절 미생물 제재의 생산조건 최적화	45
1. 연구수행 방법	45
가. 최적 배양 온도	45
나. 최적 배양 pH	45
다. 사과박의 수분농도 최적화	45
라. 간장박의 수분농도 최적화	45
마. 사과박과 간장박의 혼합비율 최적화	45
2. 연구 결과	46
가. 최적 배양 온도	46
나. 최적 배양 pH	46
다. 사과박의 수분농도 최적화	46
라. 간장박의 수분농도 최적화	50
마. 사과박과 간장박의 혼합비율 최적화	53
제 4 절 미생물 제재에 사용한 미생물들의 특성	59
1. 연구수행 방법	59
가. 생장곡선	59
나. <i>B. stearothermophilus</i> DL-3의 특성 연구	59
2. 연구 결과	59
가. 생장곡선	59
나. <i>B. stearothermophilus</i> DL-3의 특성연구	65
제 5 절 미생물 제재의 보관 방법 최적화	67
1. 연구수행 방법	67
가. 최적 흡착제 선별	67
나. 최적 진공냉동 건조 방법 확립	67

다. 최적 보관 온도	67
2. 연구 결과	68
가. 최적 흡착제 선별	68
나. 최적 진공냉동 건조 방법 확립	69
다. 최적 보관 온도	69
제 6 절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검정-I: 상추와 토마토	72
1. 연구수행 방법	72
가. 미생물의 배양	72
나. 미생물 제재의 제조	73
다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사	73
라. 미생물 제재의 기능성 비료 효과 검정	73
2. 연구 결과	74
가. 토양 미생물 상의 변화	74
나. 효과 검정	78
제 7 절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검정-II: 상추와 배추	80
1. 연구수행 방법	80
가. 미생물의 배양	80
나. 미생물 제재의 제조	80
다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사	81
라. 미생물 제재의 기능성 비료 효과 검정	81
2. 연구 결과	82
가. 미생물 제재의 제조	82
나. 토양 미생물 상의 변화	82
다. 미생물 제재의 기능성 비료 효과 검정	123
제 8 절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검정-III: 상추와 배추	132
1. 연구수행 방법	132
가. 미생물의 배양	132
나. 미생물 제재의 제조	132

다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사	132
라. 미생물 제제의 기능성 비료 효과 검정	133
2. 연구 결과	133
가. 토양 미생물의 종류별 생균수 측정	133
나. 효과 검정	139
제 9 절 미생물 제제의 유기질 사료효과 검정-I: 닭	144
1. 연구수행방법	144
가. 미생물 제제의 제조	144
나. 사료효과 검정	144
2. 연구 결과	144
제 10 절 미생물 제제의 유기질 사료효과 검정-II: 돼지	148
1. 연구수행방법	148
가. 미생물 제제의 제조	148
나. 사료효과 검정	148
2. 연구 결과	148
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	153
제 1 절 연구개발목표의 달성도	153
제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도 및 기대효과	154
1. 기술적 측면	154
2. 경제·산업적 측면	154
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	157
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	157
제 7 장 참고문헌	158

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적과 필요성

1. 연구개발의 목적

국민의 식생활 수준이 향상됨에 따라 농산물 및 과일의 섭취 형태가 변화되어 많은 가공식품을 섭취하고 있다. 과일의 경우, 압착하여 주스의 형태로 많은 양을 섭취하고 있는데 과일 주스를 만드는 공정에서 상당히 많은 양의 부산물이 생산된다. 간장의 대량 생산공정에서 부산물로 생산되는 간장박은 질소원과 탄소원이 풍부한 유기물로 구성되어 있으나 염분 함량이 높기 때문에 간장박의 재활용에 제한이 되고 있다. 이와 같이 간장의 제조 공정에서 발생하는 간장박은 특별한 수요가 없고 방치 시에 환경오염의 원인이 되므로 많은 비용을 부담하면서 특수처리업체를 통하여 처리하고 있는 실정이다. 사과박의 성분은 탄수화물, 조단백, 조지방 및 섬유소이며 주성분인 탄수화물은 미생물을 배양하기 위한 배지의 탄소원으로 사용될 수 있으며 간장박의 성분은 조단백, 조지방 및 조회분으로 주성분인 조단백은 미생물을 배양하기 위한 배지의 질소원으로 사용될 수 있다.

본 연구의 목적은 환경오염 부산물인 사과박과 간장박을 사용하여 유용한 미생물을 대량생산하고 이 미생물 배양액을 사용하여 미생물 제재를 생산하기 위한 대량생산 기술을 개발하는 것이다. 본 연구의 내용은 사과박과 간장박의 분석, 사과박과 간장박을 이용한 배지 개발, 미생물의 배양 조건의 최적화 및 생산한 미생물 제재의 효과검정까지를 포함한다. 효과검정은 기능성 비료 및 유기질 사료로서의 효과를 검정할 것이며 대상 작물은 상추, 배추 및 토마토 등이며 유기질 비료로서의 효과검정은 닭과 돼지를 사용하여 수행할 것이다. 이와 같은 본 연구의 목적이 이루어진다면 기능성 비료 및 유기질 사료를 생산하는 기술의 개발이외에도 환경 오염원의 원천적 제거 및 재활용이란 측면에서 의미가 있는 것이다.

2. 연구개발의 필요성

1) 기술적 측면

가) 환경 오염성 가공 과일 부산물의 대량 생산

국민의 식생활 수준이 향상됨에 따라 농산물 및 과일의 섭취 형태가 변화되어

많은 가공식품을 섭취하고 있다. 과일의 경우, 압착하여 주스의 형태로 많은 양을 섭취하고 있는데 과일 주스를 만드는 공정에서 상당히 많은 양의 부산물이 생산된다. 사과, 배, 감귤 및 포도의 경우, 압착하여 주스를 만든 후 찌꺼기 형태로 생성되는 과일박의 양은 사용된 과일의 약 20% 정도이다. 사과박의 경우, 현재 경북능금조합에서 일년에 가공하는 사과의 양은 약 30,000톤이며, 약 6,000톤의 사과박이 부산물의 형태로 생산되나 재활용 기술이 개발되지 않아 대부분 폐기하거나 일부는 건조하여 가축사료에 첨가하여 소비하고 있는 실정이다.

나) 환경 오염성 간장박의 대량 생산

발효간장 및 산가수분해 간장을 제조하는 공정에서 부산물로 생산되는 간장박은 연간 20,000톤 정도이며 현재 전국 시장의 20%를 점유하는 (주) 오복간장의 경우 연간 약 4,000톤의 간장박이 부산물로 생산되고 있다. 부산물로 생산되는 간장박은 질소원과 탄소원이 풍부한 유기물로 구성되어 있으나 염분 함량이 높기 때문에 간장박의 재활용에 제한이 되고 있다. 발효간장의 제조 공정에서 부산물로 생산되는 간장박은 전체 간장박의 약 20% 정도이며 가축 사료에 일부 첨가되어 소모되고 있으나 산가수분해 간장의 제조 공정에서 발생하는 간장박은 특별한 수요가 없고 방치 시에 환경 오염의 원인이 되므로 많은 비용을 부담하면서 특수처리업체를 통하여 처리하고 있는 실정이다. 특수환경업체의 일반적인 처리방법은 일정한 장소에 매입하거나 정해진 공해상의 특정한 곳에 버리는 것으로 환경 오염의 주요 원인이 되고 있다.

다) 현재의 유기질 비료 및 사료 제조의 문제점

현재 개발된 유기질 비료 및 사료의 생산 방법은 주로 농축산 부산물에 톱밥을 일정량 섞어 수분 함량을 조절한 후, 자연 발효를 유도하거나 미생물 제제를 일정량 첨가하여 만드는 방법이다. 수분 함량을 조절하기 위하여 톱밥 또는 미강 등을 사용하고 있으나 제한된 생산량의 톱밥을 쓰기 때문에 이미 톱밥의 수요가 생산량을 초과하고 있으며 가격도 약 150원/kg으로 유기질 비료 및 사료의 생산단가를 증가시키는 주요한 원인이 되고 있다. 계속되는 톱밥의 수요가 증가하고 있기 때문에 중국 등지에서 수입하고 있는 실정이다.

라) 사과박과 간장박의 환경 친화적 이용 기술의 개발

본 연구 과제에 주관기관인 동아대학교의 생물화학공학 실험실에서는 이미 사과

박과 간장박이 여러 종류의 미생물을 배양하기 위한 배지의 탄소원과 질소원으로 이용될 수 있다는 사실을 확인하였다. 생물 고분자 중합체를 생산하는 미생물들과 현재 미생물 제제로 사용될 균주들도 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 이용한다는 연구 결과를 이미 관련된 학회에서 발표하였다. 또한 미생물 제제의 생산에 사용될 기능성 미생물도 다수 확보한 상태이다. 확보된 균주는 효모 3종, 젖산균 2종, 곰팡이 2종, 세균 1종이며 각 균주들은 아미노산 생산, 젖산 생산, 섬유소 분해효소 생산, 단백질 분해효소 생산 등의 기능을 가지고 있다.

마) 미생물 제제에 사용될 유용 미생물의 확보

효모의 일종인 *Saccharomyces*속의 미생물들은 쌀겨, 밀기울 등 농산 부산물의 발효시 발효의 주요 미생물로서 유기물의 분해 능력이 뛰어나며 어떠한 악조건에서도 발효력 및 생존력이 우수하며, 새로운 단백질 공급원인 단세포 단백질의 생산원으로 각광받고 있는 미생물이다. 사과박과 간장박을 사용하여 유용한 토양 미생물인 *Saccharomyces*속, *Lactobacillus*속 및 *Aspergillus*속의 미생물을 대량 배양하여 기존에 사용되고 있는 가축 사료에 첨가한다면 탄수화물로 구성된 사료의 단백질의 함량이 상승되고 각종 영양소가 함유되어 기능성 사료로 될 것이며, 사료에 첨가된 유용 미생물 중에서 *Saccharomyces*속과 *Aspergillus*속의 미생물은 섬유소 및 단백질 분해 효소를 생산하여 가축의 소화 흡수율을 상승시킬 수 있을 것이다. 또한 기능성 사료에 첨가된 *Lactobacillus*속의 미생물은 젖산을 생산하므로 가축의 장을 청정하게 하여 질병 발생을 감소시킬 수 있을 것이다.

2) 경제·산업적 측면

가) 환경 오염성 식품 가공 부산물의 재활용

고농도의 유기물 및 무기물을 함유하는 부산물 또는 폐기물은 회석하여 방류하는 방법이 일반적이거나 처리 방법상 오염원의 원천적인 제거라고 할 수 없다. 회석된 유기물 및 무기물을 포함하는 폐액은 완전한 처리가 이루어지지 않은 채 하수로 흘러 들어가 하천을 오염시키므로 많은 하천수가 생활용수 및 식수의 공급원으로는 불가능할 정도로 하천을 오염시킬 것이다. 좀 더 상류 쪽의 하천수를 생활용수 및 식수의 공급원으로 사용해야 하므로 상수도의 공급원을 얻기 위한 시설비가 가중되고 있으며, 생활용수를 만들기 위한 비용 및 하수처리를 위한 비용이 기하급수적으로 늘어나고 있다. 따라서 고농도 당성분을 포함하는 과일가공 부산물인 과일박과 고농도의 질소원과 무기염류를 포함하는

간장박을 미생물을 배양하는 배지의 영양원으로 이용하여 유용한 토양 미생물을 대량 배양하고 이 미생물을 사용하여 기능성 유기질 비료 및 사료를 만드는 연구는 환경 오염원의 원천적 제거 및 재활용이란 측면에서 의미가 있는 것이다.

나) 유기질 비료 및 사료 생산 비용의 절감과 수입대체 효과

폐기성 부산물을 이용하여 필요한 유기질 비료를 만들고 수입에 의존하고 있는 가축 사료를 생산할 수 있다면 비료 및 사료를 생산 또는 수입하는 비용을 절감할 수 있을 것이며 축산업에서의 가격 경쟁력을 갖출 수 있는 여건을 마련하는 것이다. 산업용 포도당의 가격이 약 2,500원/kg인 것이 비하여 젖은 사과박은 10원/kg 이며 건조 사과박은 150원/kg 임을 고려할 때 기술적인 면과 아울러 경제성도 충분하다고 생각된다. 곡물 중심의 탄소화물이 주성분이 기존의 사료에 유용 미생물을 첨가한다면 단백질원이 보충되고 유용 미생물들의 기능적인 면이 첨가된 기능성 사료 역시 사료용 곡물의 수입을 감소시킬 수 있으므로 외화 절약 및 수입대체 효과를 말하는 것이다. 사료용 곡물을 대체할 수 있는 값싼 원료물질을 국내에서 발생하는 부산물을 이용하는 것이므로 국내 축산업의 대외 경쟁력을 높일 수 있을 것이며, 국내에서 생산된 가축을 수출할 수도 있을 것이다.

다) 가축의 생산성 증가 와 축산농가의 소득 증대

본 연구의 결과로 개발된 미생물 제재에 포함된 미생물들은 주어진 환경에서 여러 가지 효소 (섬유소 분해효소, 탄소화물 분해효소 및 단백질 분해효소)와 비타민, 아미노산 핵산 등을 생산한다. 미생물 제재에 존재하는 또 다른 미생물들은 가축의 장내에서 유용한 물질을 생산하며 유해 미생물의 작용을 억제하는 역할도 한다. 이와 같은 이유 때문에 유효 미생물이 첨가된 미생물 제재는 사료로 사용되었을 경우에 가축의 발병률을 감소시키고 번식력을 증가시켜 생산성을 증대시킬 수 있다. 본 연구에 의하여 사과박과 간장박을 이용한 미생물 제재의 대량 생산 기술이 개발된다면 사료의 국산화에 따른 사료 값이 내릴 수 있으므로 축산농가의 비용을 줄일 수 있기 때문에 소득을 증대할 수 있을 것이다.

3) 사회·문화적 측면

가) 유기질 비료 및 기능성 사료의 수요 증대

전국의 시설작물 재배면적은 1998년 현재 약 75,812ha이며 이 시설작물의 재배에 사용된 상토재의 양은 약 815,504톤으로 매출량을 기준으로 3,662억원 이다. 화학비료

의 남용에 의한 환경 오염의 방지책으로 유기질 비료를 선호하므로 유기질 비료의 수요는 계속 증가할 것이다. 현재 유기질 비료를 만든 일반적인 재료중의 하나가 톱밥이나, 수요의 증가와 제한된 생산 때문에 가격이 계속 상승되고 있다.

한육우, 젓소, 돼지 및 닭을 포함한 전국의 가축 사육수는 1998년 현재 약 9천 6백만 두이며 이들을 사육하기 위한 배합사료의 필요량은 연간 1,500만톤 정도이다. 농산 자원의 부족으로 대부분의 가축 사육용 사료를 수입에 의존하고 있는 실정이다. 사료비가 가축 생산비의 상당한 부분을 차지하므로 값이 싼 대체 사료를 개발하지 않는 한 가축의 사육에 의한 농가소득의 향상은 기대하기 힘들 것이다.

나) 환경 오염원의 제거에 의한 쾌적한 환경 조성

농촌 사회의 환경 오염원이 될 수 있는 사과박 및 간장박을 이용하여 농업 및 축산업에 필요한 유기질 비료 및 양질의 기능성 사료를 개발한다는 본 연구는 환경오염물의 제거, 환경오염의 정화비용 절감과 부산물의 재활용이라는 여러 가지의 예상 효과를 기대할 수 있다. 사회 문화적인 측면에서의 기대효과는 이론과 실체를 바탕으로 하는 학문적인 연구가 우리의 실생활에서 부딪치는 필수 불가결한 문제를 풀 수 있다는 좋은 예를 보여주는 것이라 하겠다. 농촌 사회에 소속된 사람들에게 과학이 우리 생활과 동떨어져 존재하는 것이 아니라는 인식을 심어주기에 충분한 과제라고 할 수 있겠다. 특히, 과학의 혜택에서 소외된 계급이라고 생각하였던 농업에 종사하는 사람들에게 돌아갈 수 있는 직접적인 혜택은 과학 및 연구의 개념에 대한 그들의 의식구조를 바꾸기에 충분할 것이다.

다) 사료 및 사료 곡물의 수입 의존도 감소

국내의 농업자원 부족으로 가축용 사료에 필요한 거의 모든 곡물은 수입에 의존하는 실정이다. 특히, 가축 사료용 곡물은 대부분 중국 및 미국에서 수입하고 있기 때문에 특정한 국가에 대한 곡물 의존도가 상당히 높은 편이다. 환경 오염성 부산물을 재활용하여 유기질 비료 및 기능성 가축 사료를 생산한다는 것은 사료의 수입 의존도를 감소시킬 수 있다는 것이며, 사료용 곡물을 수입하는데 필요한 외화를 절감시킬 수 있을 것이며 특정한 국가에 대한 곡물 의존도를 낮추는데 도움이 될 것이다.

제2절 연구개발 내용 및 범위

1. 최종연구목표

가. 사과박과 간장박의 성분 분석

- 1) 사과 주스의 생산 공정의 부산물인 사과박의 물리·화학적 성질을 분석한다.
- 2) 간장의 생산공정의 부산물인 간장박의 물리·화학적 성질을 분석한다.

나. 미생물 제제의 생산기술 개발

- 1) 보유하고 있는 유용 미생물들의 사과박 및 간장박의 이용도를 측정한다.
- 2) 사과박을 탄소원으로 이용하는 유용 미생물들의 최적 배지조성을 확립한다.
- 3) 간장박을 질소원으로 이용하는 유용 미생물들의 최적 배지조성을 확립한다.
- 4) 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 하는 최적 배양조건을 확립한다.
- 5) 사과박과 간장박을 배지로 이용하여 배양된 유용 미생물 배양액에 존재하는 유기물 및 효소 등을 분석한다.
- 6) 사과박과 간장박을 이용한 유효 미생물들의 대량 생산 기술을 개발한다.
- 7) 사과박과 간장박을 사용하여 대량 배양된 각 유용 미생물들의 최적 혼합비율을 확립하여 목적에 맞는 유기질 비료 및 사료를 생산한다.
- 8) 미생물 제제에 존재하는 생균수는 $1 \times 10^7/\text{g}$ 이상으로 하며 수분 함량 등은 기존 제품의 규격 또는 이상의 품질을 목표로 한다.

다. 미생물 제제의 효과 검정

- 1) 유기질 비료로서의 미생물 제제의 효과를 자체 실험 (동아대학교 온실 및 포장) 및 영남시험장 등과 같은 공인 기관에 의뢰하여 검정한다.
- 2) 기능성 사료로서의 미생물 제제의 효과를 자체 실험 (동아대학교 종합목장) 및 경험이 풍부한 영농가 및 축산기술연구원 등과 같은 공인 기관에 의뢰하여 검정한다.

2. 연차별연구개발의 내용 및 범위

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2001)	<ul style="list-style-type: none"> • 성분 분석 • 생산기술 개발 • 미생물 제제의 효과 검정 	<ul style="list-style-type: none"> • 사과박의 물리·화학적 성질 분석 • 간장박의 물리·화학적 성질 분석 • 보유 유용 미생물들의 사과박 이용도 측정 • 보유 유용 미생물들의 간장박 이용도 측정 • 사과박을 탄소원으로 이용하는 미생물의 최적 배지 조성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 사과박의 pH - 사과박의 수분함량 - 배양 온도 • 간장박을 질소원으로 이용하는 미생물의 최적 배지 조성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 사과박의 pH - 사과박의 수분함량 - 배양 온도 • 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하는 최적 배지조성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 배지의 pH - 사과박과 간장박의 최적 배합비율 • 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물의 최적 배양조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 온도 - 습도 - 배양시간 • 미생물 제제에 존재하는 미생물의 활성 유지를 위한 제제화 조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 최적 안정제 선택 - 최적 제제화 방법 선택 • 미생물 제제의 최적 제제화 확립 • 미생물 제제의 비료 효과검정 (온실이용 실험): 배추, 상추

<p>2차년도 (2002)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 성분분석 • 생산기술 개발 • 효과 검정 	<ul style="list-style-type: none"> • 사과박의 물리·화학적 성질 분석 • 간장박의 물리·화학적 성질 분석 • 대량 배양된 유효 미생물들의 배양액 분석 • 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하는 최적 배지조성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 배지의 pH - 사과박과 간장박의 최적 배합비율 • 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물의 최적 배양조건 확립 • 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물들의 대량 생산조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 탄소원 및 질소원의 함량 - 배양 온도 - 배양 시간 - 기타 조건 • 각 유용 미생물들의 최적 혼합비 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 9 균주를 이용한 미생물 제재 검정 - 각 미생물 제재의 혼합상승효과 검정 • 미생물 제재의 보관 방법 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 온도에 따른 영향 - 습도에 따른 영향 • 미생물 제재의 대량 생산 (pilot 규모) • 미생물 제재의 제재화 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 분산제의 종류 검토 - 분산제의 농도 검토 • 유기질 비료로서의 미생물 제재 효과검정 (포장실험): <ul style="list-style-type: none"> - 배추 - 상추 • 토양내의 미생물상 변화 및 유기물과 무기물 변화 측정 <ul style="list-style-type: none"> - 각 종류별 생균수 측정 - 유기물의 변화 측정 - 무기물의 변화 측정
------------------------	--	---

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내외 관련기술의 현황과 문제점

국내의 경우, 감귤을 중심으로 부산물의 이용에 대한 연구가 진행되고 있으나, 기타 과일들의 부산물 이용에 대한 연구는 활발하지 않은 실정이다. 이는 관련 연구소의 주된 연구가 과일의 생산성 향상 및 병충해 방제와 예방에 중점을 두기 때문이다. 또한 선진국의 경우, 환경오염에 대하여 매우 엄격한 규정을 제정하고 이를 준수하지 않을 경우 많은 제재를 가하고 있기 때문에 환경 오염물을 줄이거나 재활용을 하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 비하여 국내의 환경오염 규제 정도는 중금속 및 독성 물질의 농도와 같은 기본적인 단계이기 때문에 농업 부산물과 같은 환경 오염성 부산물에 대한 규제는 아직 마련되지 않은 실정이다. 따라서 농업자원, 특히 과일 가공 산업의 부산물에 대한 재활용 기술은 매우 낮은 단계라고 할 수 있다.

외국의 경우, 각 나라의 주요 과일의 가공 부산물에 대한 재활용 연구는 비교적 활발한 편이다. 예를 들어, 파이에플 주스 생산공정의 부산물을 이용하여 알코올을 생산하거나, 올리브 기름을 짠 찌꺼기를 미생물 배양의 배지로 사용하여 고부가가치의 고분자 중합체를 생산하는 연구 등 재활용 기술에 대하여 높은 관심을 보이고 있다. 이는 자원의 재활용이라는 측면과 환경 오염원을 근본적으로 예방해야 한다는 두 가지 측면에서 정부의 적극적인 지원이 있기 때문이다.

제2절 앞으로의 전망

1. 환경 오염성 부산물의 생산량 증가 및 청정기술 개발의 필요

국민 식생활의 변화와 운반 및 저장의 편리성 때문에 과일의 소비 형태는 가공 식품으로의 소비가 증가 할 것이다. 따라서 과일 가공 부산물의 발생량 역시 증가하게 될 것이다. 사과 주스 등으로 가공되는 사과 양의 약 20% 정도가 부산물, 과일박의 형태로 생산될 것을 감안 할 때 환경을 파괴하지 않고 정화 또는 처리할 수 있는 기술이 개발되어야 할 것이다. 또한 전통 조미료인 간장의 지속적인 소비와 생산에 의하여 필수 불가결하게 발생하는 간장박의 친환경적인 처리 방법인 청정기술이 개발되어야 할 것이다. 이는 자연 환경을 더 이상 오염시키지 않기 위한 새로운 기술이 필요하다는 것이다.

2. 유기질 비료와 기능성 사료의 수용량 증가

원예 및 과수작물에 필요한 비료 역시 유기질 비료를 선호하는 경향이므로 유기질 비료의 수요는 계속 증대할 것이다. 유기질 비료를 제조하는 경제성 있는 원료가 톱밥이나 이의 생산이 제한되어 있으므로 톱밥을 대체할 원료 물질의 개발이 필요할 것이다. 유효 토양 미생물들은 주어진 환경에서 여러 가지 효소 (섬유소 분해효소, 탄소화물 분해효소 및 단백질 분해효소)와 비타민, 아미노산 핵산 등을 생산한다. 또 다른 유효 토양 미생물은 가축의 장내에서 유용한 물질을 생산하며 유해 미생물의 작용을 억제하는 역할도 한다. 이와 같은 이유 때문에 유효 미생물을 함유하는 기능성 사료의 수요가 증대할 것이다.

3. 가축사료의 수요량 증가

국민 식생활의 발달로 동물성 단백질에 대한 수요는 증대 할 것이므로 소, 돼지, 닭과 같은 가축의 수요량이 증가할 것이다. 동물성 단백질을 생산하기 위한 원료 물질인 가축 사료의 공급량 한계 및 비용의 상승 때문에 값이 싸고 우수한 양질의 대체 사료를 개발해야 할 것이다.

제3절 기술도입의 타당성

1. 자체 기술 확보에 의한 기술 도입의 불필요

국내에서 생산되는 사과를 가공할 때 발생하는 사과박과 간장의 제조 공정에서 발생하는 간장박을 이용하여 유용 미생물을 대량 배양하여 미생물 제제를 만들고 이 미생물 제제를 유기질 비료 및 기능성 사료로 개발하는 것이 본 연구의 목표이다. 이 기술 개발의 타당성과 성공 여부는 이미 본 연구팀의 기초 실험에 의하여 밝혀진 상태이므로 외국에서의 기술 도입은 불필요한 것으로 판단된다.

2. 원료 확보에 의한 기술 도입의 불필요

미생물 제제의 대량 배양에 필요한 사과박과 간장박은 국내 산업의 특수한 성격에 의하여 생산되는 부산물이므로 외국에서 수입할 필요가 없으며, 국내에서 이와 같은 부산물을 대량으로 생산하는 기업들이 본 연구 사업의 참여 기업으로 참가하고 있기 때문에 미생물 제제를 만들기 위한 원료도 이미 확보된 상태이다. 또한 이 연구를 성공시키

기 위해서는 필요한 유효 토양 미생물들도 이미 확보된 상태이므로 자체 기술에 의한 개발에 큰 문제점은 없다고 생각한다.

3. 공인된 국내 전문기관에 의한 효과 검정

사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하여 대량 생산된 미생물 제제의 유기질 비료 및 기능성 사료에 대한 효과 검정은 동아대학교 부속농장 및 목장 등의 자체 시설과 본 연구에 참여하는 전문가들에 의하여 일차 검정을 수행한 후, 농업진흥청 및 식품개발연구원 등의 공인된 국내의 전문기관에 의뢰할 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 유용 미생물의 분리 및 동정

1. 연구수행 방법

가. 균주 동정

미생물 제재의 생산을 위하여 한국종균협회에서 분양받은 4 균주와 토양에서 분리한 5 균주 등 모두 9 균주를 사용하였으며 이중에서 토양에서 분리한 3 균주를 생화학적 방법으로 동정하였다. 분리한 균주는 API 50CH/B kit (BioMerieux, France)를 사용하여 일차 동정하였으며 생화학적 실험을 통하여 각 균주들의 특성을 관찰하였다. 또한 미생물 제재의 생산에 사용할 9 균주에 대한 섬유소, 전분, 단백질 및 지방 등 고분자 유기물의 분해능력을 확인하였다. 단백질의 분해능은 skim milk를 기질로 사용하였다.

나. 균주의 길항작용 확인

보유하고 있는 9종의 균주에 대하여 토양병을 유발시키는 곰팡이에 대한 길항작용을 확인하였다. 검은 무늬병의 원인 곰팡이인 *Alternaria alternata*, 균핵병의 원인균인 *Sclerotinia sclerotiorum*, 시들음병의 원인균인 *Fusarium oxysporum* 및 잿빛 곰팡이병의 원인균인 *Botrytis cinerea* 등을 배양한 후, 각각의 병원성 곰팡이 배양액을 균기 직전의 한천 배지에 접종하여 각 원인균이 포함된 고체 평판배지를 만들었다. 이 고체배지에 보유하고 있는 9종의 균을 한 백금니 접종한 후, 일정 온도에서 일정시간 배양한 후, 각 원인균의 생장이 저지되는 정도를 관찰하였다.

2. 연구 결과

가. 균주 동정

DL-1, DL-2 및 DL-3으로 명명된 보유 균주를 API 50CH/B kit (BioMerieux, France)를 사용하여 탄소원의 이용도를 조사한 결과는 표 1과 같으며, 이 결과를 바탕으로 균주를 동정하였다. DL-1으로 명명하였던 균주는 *Bacillus coagulans*의 확률이 99.9%이며 DL-2 균주는 *Brevibacillus brevis*의 확률이 95.0%이었으며 DL-3 균주는 99.9%의 확률로 *Bacillus stearothermophilus*로 동정되었다. 동정된 속과 종명을 기준으로 각각의 균주 명을 *B. coagulans* DL-1, *B. brevis* DL-2 및 *B. stearothermophilus* DL-3으로 명

Table 1. Utilization of carbon sources by microorganisms isolated from soil

No.	Carbon source	DL-1	DL-2	DL-3
1	Control	-	-	-
2	Glycerol	-	-	+
3	Erythiol	-	-	-
4	D-Arabinose	-	-	-
5	L-Arabinose	+	-	+
6	Ribose	+	-	+
7	D-Xylose	+	-	-
8	L-Xylose	-	-	-
9	Adonitol	-	-	-
10	β-Methyl-xyloside	-	-	-
11	Galactose	+	-	+
12	D-Glucose	+	+	+
13	D-Fructose	+	+	+
14	D-Mannose	+	+	-
15	L-Sorbose	-	-	-
16	Rhamnose	+	-	-
17	Dulcitol	-	-	-
18	Inositol	-	-	+
19	Mannitol	+	-	+
20	Sorbitol	+	-	+
21	α-Methyl-D-mannoside	-	-	-
22	α-Methyl-D-glucoside	-	-	+
23	N-Acetyl-glucoamine	+	-	-
24	Amygdaline	-	-	-
25	Arbutine	-	-	-
26	Esculine	-	+	-
27	Salicine	+	-	+
28	Cellobiose	+	-	-
29	Maltose	+	-	+
30	Lactose	-	-	-
31	Melibiose	+	-	-
32	Saccharose	+	-	+
33	Trehalose	+	-	+
34	Inuline	-	-	-
35	Melezitose	-	-	-
36	D-Raffinose	+	-	-
37	Amidon	-	-	-
38	Glycogen	-	-	-
39	Xylitol	-	-	-
40	β-Gentiobiose	+	-	-
41	D-Turnose	-	-	-
42	D-lyxose	-	-	-
43	D-Tagatose	-	-	-
44	D-Fucose	-	-	-
45	L-Fucose	-	-	-
46	D-Arabitol	-	-	-
47	L-Arabitol	-	-	-
48	Gluconate	+	-	-
49	2-Aceto-gluconate	-	-	-
50	5-Aceto-gluconate	-	-	-

명하였다. *Bacillus coagulans* DL-1 균주는 수용성 점액물질을 생산하는 균주로서 예비 실험을 거친 후, 미생물 제제의 제조에 사용하였다.

균주들의 섬유소, 전분, skim milk 및 지질의 분해 능력을 검토한 결과는 표 2와 같다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주는 섬유소, 전분 및 skim milk를 분해하는 능력을 나타냈으며 *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주는 섬유소와 skim milk를 분해하는 능력을 나타냈다.

Table 2. Hydrolysis of organic compounds by various microorganisms

Strain	Substrate			
	Cellulose	Starch	Skim milk	Lipid
<i>B. coagulans</i> DL-1	-	-	-	-
<i>B. brevis</i> DL-2	-	-	-	-
<i>B. stearothermophilus</i> DL-3	+++	+++	+++	-
unidentified DL-4	-	-	-	-
unidentified DL-5	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11304	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11351	+++	-	++	-
<i>L. acidophilus</i> KCCM 32820	-	-	+	-
<i>L. acidophilus</i> KCCM 40265	-	-	+	-

나. *B. stearothermophilus* DL-3의 길항작용

검은무늬병, 균핵병, 시들음병 및 잿빛 곰팡이병을 일으키는 작물의 병원성 곰팡이를 대상으로 본 연구에 사용된 9 균주들의 길항작용을 검사한 결과, *B. stearothermophilus* DL-3 균주가 각 병원균에 대한 길항작용이 있음을 확인하였다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주가 작물의 병을 일으키는 병원성 곰팡이에 대하여 길항작용의 상대적 활성은 표 3과 같으며 시들음병의 원인균에 대한 길항정도가 가장 높았다. 각 병원성 곰팡이들에 대한 길항현상은 그림 1에서 보는 바와 같았다. 여러 가지 작물 병의 원인균들에 대한 *B. stearothermophilus* DL-3의 길항능력은 섬유소, 전분 및 단백질을 분해하는 능력에 원인이 있는 것 같았다.

Table 3. Antagonistic effect of *B. stearothersophilus* DL-3 against various pathogenic fungi

Pathogen	Disease	Size of inhibition zone (cm)
<i>Alternaria alternata</i> SF21	Black rot	0.87 ± 0.06
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> SD7	Sclerotium disease	3.80 ± 0.17
<i>Fusarium oxysporum</i> SQ34	Fusarium wilt	4.67 ± 0.45
<i>Fusarium oxysporum</i> CK 44	Fusarium wilt	3.83 ± 0.51
<i>Botrytis cinerea</i> LVF12	Botrytis disease	2.43 ± 0.38

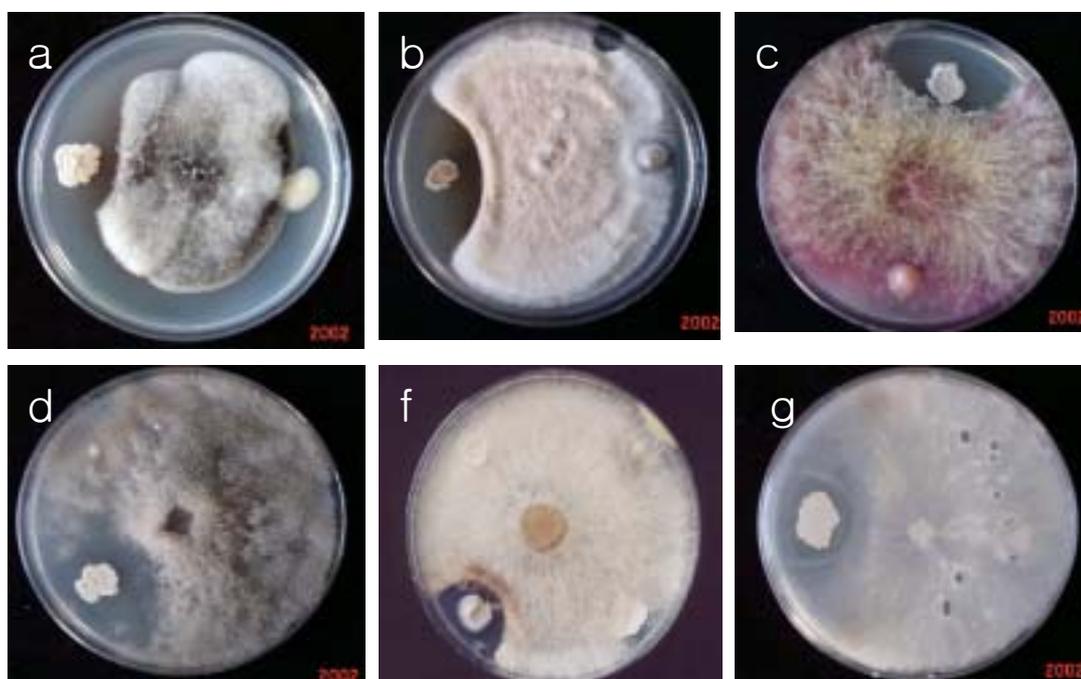


Fig. 1. Antagonistic effect of *B. stearothersophilus* DL-3 against various pathogenic fungi: a; *Alternaria alternata* SF21, b; *Fusarium oxysporum* SQ34, c; *Fusarium oxysporum* CK 44, d; *Botrytis cinerea* LVF12, e; *Rhizoctonia solani* and f; *Sclerotinia sclerotiorum* SD7

제2절 사과박과 간장박의 구성성분 및 이용도

1. 연구수행 방법

가. 구성성분 분석

사과즙의 대량생산 공정에서 발생하는 고농도 당성분을 포함하는 환경 오염성 부산물인 사과박은 경상북도 의성군에 위치하는 경북능금조합에서 주기적으로 공급받아 사용하였다. 사과박의 일반적인 구성성분은 검정된 식품분석법에 의하여 분석하였다(식품분석, 김경삼외, 효일문화사, 1999). 간장의 대량 생산 공정에서 발생하는 부산물인 간장박은 부산시 사하구에 위치하는 (주)오복식품에서 주기적으로 공급받아 사용하였다. 간장박은 간장의 제조공정에 따라 산가수분해 간장박과 양조간장박 등과 같이 2종류의 간장박을 사용하였으며 간장박의 구성성분은 사과박과 같이 검정된 식품분석법에 의하여 분석하였다.

나. 생균수 측정

사과박과 간장박에 존재하는 미생물의 생균수를 측정하기 위하여 일정한 무게의 시료를 멸균된 생리 식염수 (0.85%(w/v) NaCl)에 현탁시킨 후, 희석하여 Nutrient agar에 도말하였다. 희석한 미생물을 도말한 고체배지를 30℃에 48시간 배양하여 형성된 콜로니수를 계수하여 사과박과 간장박에 존재하는 일반 미생물의 생균수를 측정하였다.

다. 사과박과 간장박의 이용도

본 실험에 사용한 9종류의 균주들 중에서 *L. acidophilus* KCCM 32820과 40265 균주를 제외한 7종류의 균주들에 대한 사과박과 간장박의 이용도를 측정하기 위하여 각 균주들의 배양은 예비실험에서 확인된 폴루란 생산배지를 사용하였다. 폴루란 생산배지의 구성은 5.0 g/l의 K₂HPO₄, 1.0 g/l의 NaCl, 0.2 g/l의 MgSO₄·7H₂O, 0.6 g/l의 (NH₄)₂SO₄ 및 2.5 g/l의 효모추출물(yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였으며, 탄소원으로 포도당을 별도로 멸균한 후, 멸균된 배지에 무균적으로 2.0%(w/v)으로 혼합하여 사용하였다. 각 균주들의 배양은 고체 배지에서 일정시간 배양한 균주를 한 백금이 취하여 500 ml용량의 플라스크에 멸균하여 준비된 120 ml의 배지에 접종한 후, 37℃에서 200 rpm의 속도로 48시간 진탕 배양하였다. 사과박의 이용도 측정은 본 실험에 사용한 폴루란 배지의 탄소원인 포도당을 제외한 배지의 탄소원으로 사과박을 첨가하여 7종류 균주들의 생장을 확인하였으며 간장박의 이용도 측정은 폴루란

배지의 질소원인 효모추출물을 제외한 폴루란 배지의 질소원으로 간장박을 첨가하여 7종 류 균주들의 생장을 측정하였다.

2. 연구 결과

가. 구성성분 분석

사과를 착즙한 후에 생성되는 사과박을 건조하여 분석한 사과박의 구성성분은 표 1과 같다. 탄수화물과 조섬유가 주성분이므로 미생물의 배양을 위한 배지의 탄소원으로 이용이 가능할 것으로 판단되었다. 간장박은 탄수화물과 조단백 및 무기염류가 주성분이며 조지방과 칼슘 및 인이 포함되어 있으며 수분 함량은 11.0%이었다.

Table 1. Contents of apple pomace and soybean pomace

Component	Contents (%)	
	Apple pomace	Soybean pomace
Carbohydrate	66.5	17.2
Crude cellulose	17.3	-
Crude protein	4.7	33.4
Crude lipid	4.2	8.1
Salts	-	29.4
Ash	1.5	-
Calcium	-	0.4
Phosphate	-	0.5
Moisture	5.8	11.0

나. 생균수 측정

사과박과 산가수분해 간장박 및 양조간장박에 존재하는 일반 미생물의 생균수를 측정한 결과는 표 2와 같다. 멸균전의 사과박 1g에는 1.26×10^6 CFU의 일반 미생물이 존재하였고 산가수분해 간장박과 양조간장박 1g에는 각각 2.33×10^6 CFU 및 3.55×10^6 CFU의 일반 미생물이 존재하였으나 멸균과정을 거친 후에는 일반 미생물의 존재를 확인할 수 없었다. 착즙한 후에 건조하기 전의 사과박의 수분함량은 77.5%이었으며 멸균한 후에는 약간의 수분이 증발되어 수분함량은 73.7%이었다. 간장박은 산가수분해 간장박과 양조간장박에 따라 수분함량이 다소 차이가 났으나 멸균후의 평균 수분함량은 약 10%이었다.

Table 2. Numbers of microorganisms in apple pomace and soybean pomace

Substrate	Moisture (%)		Viable cell Number (1x10 ⁶ CFU/g)	
	Before sterilization	After sterilization	Before sterilization	After sterilization
Apple pomace	77.5	73.7	1.26	0.0
Soybean pomace-1 ¹⁾	15.8	12.0	3.55	0.0
Soybean pomace-2 ²⁾	10.5	8.9	2.45	0.0

1) soybean pomace from soy sauce production by chemical hydrolysis

2) soybean pomace from soy sauce production by fermentation

다. 사과박과 간장박의 이용도

미생물 제제를 생산하기 위하여 보유하고 있는 균주들의 사과박과 간장박의 이용도를 측정하기 위하여 예비실험에서 확인된 폴루란 생산배지를 사용하여 사과박과 간장박의 이용도를 측정하는 기본 배지로 사용하였다. 폴루란 생산배지의 탄소원과 질소원을 각각 사과박과 간장박으로 대체하여 배지를 만들고 이 배지를 사용하여 보유하고 있는 균주를 일정시간 배양한 후, 생균수를 측정하였다.

표 3에서와 같이 대부분의 보유 균주가 사과박을 탄소원으로 사용할 수 있음을 확인하였다. 이는 예비실험에서 확인된 폴루란 생산배지를 기본으로 하여 폴루란 생산배지의 탄소원인 포도당 대신 사과박을 첨가한 배지에서 모든 보유 균주가 생육할 수 있다는 것이다. 폴루란 생산배지의 구성성분에서 탄소원인 포도당이 차지하는 상대적인 가격은 약 50%이므로 사과박을 탄소원으로 사용할 수 있다면 직접 생산비의 약 50%를 절감하는 효과를 얻을 수 있다.

사과박의 결과와 유사하게 본 실험에 사용된 7종류의 균주는 산가수분해 간장박과 양조간장박 모두가 질소원으로 사용할 수 있음을 확인하였다. 표 3-1에서 보는 바와 같이 대부분의 보유 균주가 산가수분해 간장박과 양조간장박을 질소원으로 사용할 수 있음을 확인하였다. 이는 예비실험에서 확인된 폴루란 생산배지를 기본으로 하여 폴루란 생산배지의 질소원인 효모추출액 (yeast extract) 대신에 간장박을 첨가한 배지에서 본 실험에서 사용한 균주가 생육할 수 있다는 것이다. 폴루란 생산배지의 제조시 효모추출액이 차지하는 상대적인 가격은 전체 배지가격의 약 40%이므로 간장박을 질소원으로 사용한

다면 직접 생산비의 약 40%를 절감하는 효과를 얻을 수 있다.

Table 3. Utilization of apple pomace as a carbon source and soybean pomace as a nitrogen source by various microorganisms

Strain ¹⁾	Cell growth					
	Carbon source		Nitrogen source			Carbon & nitrogen sources
	Glucose	Apple pomace	Yeast extract	Soybean pomace-1	Soybean pomace-2	Apple pomace & soybean pomace
1	+++ ²⁾	+++	+++	+++	+ ³⁾	++
2	+++	+++	+++	+++	++	+++
3	+++	+++	+++	+++	++	++
4	++	+++	+++	+++	++	++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	++	++
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++

1) strain: 1; *B. coagulans* DL-1, 2; *B. brevis* DL-2, 3; *B. stearothersophilus* DL-3, 4; DL-4, 4; DL-5, 6; *S. cerevisiae* KCCM 11304 and 7; *S. cerevisiae* KCCM 11351

2) more than 1×10^7 /ml

3) less than 1×10^7 /ml

제3절 미생물 제재의 생산조건 최적화

1. 연구수행 방법

가. 최적 배양 온도

미생물 제재를 제조할 목적으로 보유하고 있는 9 종류 균주들에 대한 최적 생육 온도를 확인하기 위하여 고체배지에 일정량 접종한 후, 각기 다른 온도에서 배양하면서 시간에 따른 생균수를 측정하였다. 측정된 생균수를 기준으로 하여 각 균주들의 최적생육 온도를 구하였다.

나. 최적 배양 pH

미생물 제재를 제조할 목적으로 보유하고 있는 9 종류 균주들에 대한 최적 생육 pH를 확인하기 위하여 각기 다른 pH의 고체배지를 만들고 각 균주들을 일정량 접종하여 시간에 따른 생균수를 측정하였다. 측정된 생균수를 기준으로 하여 각 균주들의 최적생육 pH를 구하였다.

다. 사과박의 최적 수분함량 확립

미생물 제재를 생산하기 위한 배지의 탄소원으로 사용할 사과박의 최적 수분함량을 결정하기 위하여 사과박의 수분함량을 각각 0, 20, 40, 60 및 80%로 조절하여 사용하였다. 본 실험에서 사용한 9종류 균주를 각기 다른 수분함량의 사과박에 일정량 접종한 후, 30℃에서 배양하면서 24시간과 48시간에 사과박에 생존하는 미생물의 생균수를 측정하였다. 생균수 측정은 폴루란 생산배지에 한천을 첨가한 고체배지를 사용하였다.

라. 간장박의 최적 수분농도 확립

미생물 제재를 생산하기 위한 배지의 질소원으로 사용할 간장박의 최적 수분함량을 결정하기 위하여 간장박의 수분함량을 각각 0, 20, 40, 60 및 80%로 조절하여 사용하였다. 본 실험에서 사용한 9종류 균주를 각기 다른 수분함량의 간장박에 일정량 접종한 후, 30℃에서 배양하면서 24시간과 48시간에 간장박에 생존하는 미생물의 생균수를 측정하였다. 생균수 측정은 폴루란 생산배지에 한천을 첨가한 고체배지를 사용하였다.

마. 사과박과 간장박의 혼합비율 최적화

사과박과 간장박을 각각 탄소원과 질소원으로 이용하는 미생물 제재의 최적 배

지조성을 확립하기 위하여 탄소원과 질소원으로 사과박과 간장박을 사용하고 사과박과 간장박의 비율을 10: 0, 8: 2, 6: 4, 4: 6, 2: 8 및 0: 10으로 변화시켜 9종류의 균을 접종하고 일정 온도에 일정 시간 배양하면서 생균수를 측정하였다. 사과박과 간장박을 사용하여 제조한 배지의 수분함량은 80%로 조절하여 사용하였다. 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하여 제조할 미생물 배양 배지의 최적 혼합비율을 구하였다.

2. 연구 결과

가. 최적 배양 온도

미생물 제재를 제조하기 위한 각 균주들의 최적 배양 온도를 검토하기 위하여 각 균주들을 고체배지에 일정량 접종한 후, 각기 다른 온도에서 배양하면서 생균수를 측정하였다. 표 1에서 보는 바와 같이 균주에 따라 최적 생육온도가 다름을 알 수 있었다. *B. brevis* DL-2, DL-3 및 DL-4 균주는 30℃가 최적 생육온도 이었으며 *B. coagulans* DL-1, *B. stearothermophilus* DL-3, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 *L. acidophilus* KCCM 40265균주는 37℃에서 가장 높은 생균수를 나타냈다. *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주는 30℃와 37℃에서 동일한 생균수를 나타냈다. 따라서 본 실험에 사용한 균주를 이용하여 미생물 제재를 제조할 경우에 미생물의 배양 온도는 각 균주마다 최적인 온도에서 배양하여야 함을 알 수 있었다.

나. 최적 배양 pH

미생물 제재를 제조하기 위한 각 균주들의 최적 배양 pH검토하기 위하여 각기 다른 pH의 고체배지를 제조한 후, 각 균주들을 일정량 접종한 후, 시간에 따른 생균수를 측정하였다. 표 2에서 보는 바와 같이 균주에 따라 최적 생육 pH가 다르나 일반적으로 중성 pH인 7.0에서 높은 생존율을 나타냈다. DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 균주의 최적 생육 pH는 6.0으로 약 산성에서 높은 생존율을 나타냈다. 따라서 각 균주들을 배양하여 미생물 제재를 제조할 경우, 각 균주들의 최적 생육 pH를 고려하여 배양을 하여야 할 것이다.

다. 사과박의 수분농도 최적화

사과박과 간장박을 각각 탄소원과 질소원으로 사용하여 미생물을 배양하고 이를 미생물 제재로 사용할 목적으로 사과박과 간장박의 수분 함량에 따른 각 균주들의 이용도를 검토하였다. 이는 미생물 제재의 탄소원과 질소원으로 사용될 사과박과 간장박의 최

적 수분농도를 구하기 위한 실험이다. 각 균주들의 배양액을 각기 다른 수분함량의 사과박에 일정량 접종하여 배양하면서 생균수를 측정하여 사과박의 수분함량에 따른 이용도를 비교하였다. 표 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9에서 보는 바와 같이 사과박을 유일한 기질로 사용하여 균주들을 배양하였을 경우에 사과박의 수분함량은 약 60% 이상이 되어야 균주들이 이용함을 알 수 있었다. 특히, DL-4, DL-5 및 *L. acidophilus* KCCM 32820 균주는 수분 함량이 80% 이상 되는 사과박 만을 이용하였다. 따라서 사과박과 간장박을 사용하여 미생물을 배양하고 배양된 미생물을 미생물 제재로 제조하기 위하여 사용될 사과박의 수분함량이 매우 중요한 요소임을 확인하였다.

Table 1. Effect of temperature on cell growth of various microorganisms

Strain	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)				
	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C
<i>B. coagulans</i> DL-1	66.7	67.7	73.0	65.0	0.0
<i>B. brevis</i> DL-2	17.2	34.9	22.3	11.4	0.0
<i>B. stearothermophilus</i> DL-3	3.1	41.5	63.6	54.7	42.0
DL-4	1.2	5.6	3.4	0.0	0.0
DL-5	0.3	2.4	1.3	0.0	0.0
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11304	1.7	2.5	2.7	0.0	0.0
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11351	3.1	3.3	3.3	3.0	3.1
<i>L. acidophilus</i> KCCM 32820	0.0	3.4	4.7	2.2	0.2
<i>L. acidophilus</i> KCCM 40265	1.7	2.6	5.2	3.4	0.1

Table 2. Effect of pH on cell growth of various microorganisms

Strain	Viable cell number (x 10 ⁸)				
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
<i>B. coagulans</i> DL-1	20.7	49.0	72.3	74.3	72.0
<i>B. brevis</i> DL-2	1.8	12.7	42.5	53.4	31.8
<i>B. stearothermophilus</i> DL-3	0.0	1.4	22.3	47.6	36.2
DL-4	1.6	3.6	4.2	6.3	2.7
DL-5	0.0	3.1	3.6	0.4	0.4
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11304	0.4	1.3	3.0	2.2	0.0
<i>S. cerevisiae</i> KCCM 11351	0.0	9.8	12.2	17.5	18.4
<i>L. acidophilus</i> KCCM 32820	0.0	3.2	3.5	4.9	3.5
<i>L. acidophilus</i> KCCM 40265	0.0	2.4	5.1	4.4	3.4

Table 3. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by *B. coagulans* DL-1

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	1.2×10^7	0	0
20	1.2×10^7	0	0
40	1.1×10^7	0	0
60	1.5×10^7	4.3×10^6	5.3×10^2
80	6.9×10^6	11.7×10^6	8.6×10^6

Table 4. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by *B. brevis* DL-2

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	6.0×10^6	0	0
20	8.4×10^6	0	0
40	1.1×10^7	0	0
60	1.6×10^7	8.6×10^6	6.4×10^2
80	1.4×10^7	1.0×10^7	4.3×10^6

Table 5. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by DL-4

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	3.4×10^3	0	0
20	1.3×10^3	0	0
40	0.4×10^3	0	0
60	2.5×10^3	0	0
80	0.4×10^3	0.2×10^3	0.3×10^3

Table 6. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by DL-5

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	4.6×10^6	0	0
20	1.5×10^6	0	0
40	0.7×10^6	0	0
60	1.1×10^6	0	0
80	1.7×10^6	1.3×10^6	4.6×10^6

Table 7. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by *S. cerevisiae*
KCCM 11304

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	1.3×10^6	0	0
20	1.3×10^6	0	0
40	2.3×10^6	0	0
60	2.5×10^6	3.0×10^6	3.6×10^6
80	2.7×10^6	1.3×10^7	1.5×10^7

Table 8. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by *L. acidophilus*
KCCM 32820

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	2.4×10^5	0	0
20	2.5×10^5	0	0
40	3.0×10^5	0	0
60	4.4×10^5	0	0
80	2.2×10^6	1.3×10^2	0

Table 9. Effect of moisture content on utilization of apple pomace by *L. acidophilus*
KCCM 40265

Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
	0 hr	24 hr	48 hr
0	4.5×10^6	0	0
20	2.6×10^6	0	0
40	2.7×10^6	7.1×10^3	0
60	3.1×10^6	2.3×10^4	0
80	3.0×10^6	3.7×10^4	4.5×10^2

라. 간장박의 수분농도 최적화

미생물 제제를 제조하기 위한 미생물 배양배지의 질소원으로 사용할 간장박의 최적 조건을 구하기 위하여 각 균주들의 배양액을 각기 다른 수분함량의 산가수분해 간장박과 양조간장박에 각 균주들을 일정량 접종하고 배양하면서 생균수를 측정하여 간장박의 수분함량에 따른 이용도를 비교하였다. 각 균주들의 간장박 이용도는 간장박의 수분 함량에 따라 차이가 크게 나며 동일한 수분함량의 간장박 이용도 역시 간장박의 종류에 따라 차이가 나타남을 알 수 있었다. 표 10, 11, 12, 13, 14 및 15에서 보는 바와 같이 간장박을 유일한 기질로 사용하여 균주들을 배양하였을 경우에 간장박의 수분함량이 40% 이상이 되어야 균주들이 이용함을 알 수 있었다. 또한 같은 수분 함량의 간장박인 경우에는 산가수분해 간장박 보다 양조간장박의 이용도가 높음을 알 수 있었다. 특히, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주 등은 수분 함량이 80% 이상 되는 간장박만을 이용하였다. 따라서 사과박과 간장박을 사용하여 미생물을 배양하고 배양된 미생물을 미생물 제제로 제조하기 위하여 사용될 간장박의 종류 및 수분함량이 매우 중요한 요소임을 확인하였다.

Table 10. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by *B. coagulans* DL-1

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	5.5×10^6	0.6×10^6	0.2×10^4
	20	8.5×10^6	0.1×10^6	1.5×10^2
	40	1.4×10^7	8.4×10^3	0
	60	2.0×10^7	8.9×10^6	7.7×10^6
	80	7.9×10^6	3.2×10^7	2.3×10^7
Soybean pomace-2	0	1.3×10^7	1.6×10^6	7.3×10^2
	20	1.4×10^7	0.1×10^6	0
	40	1.6×10^7	1.2×10^7	1.2×10^7
	60	7.4×10^6	2.3×10^7	6.5×10^7
	80	1.1×10^7	4.7×10^7	3.9×10^8

Table 11. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by DL-4

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	0.2×10^3	0	0
	20	3.8×10^3	0	0
	40	3.3×10^3	0	0
	60	1.5×10^3	2.3×10^4	6.4×10^4
	80	1.8×10^3	2.4×10^5	1.1×10^6
Soybean pomace-2	0	2.0×10^3	0	0
	20	2.7×10^3	0.2×10^3	0
	40	3.7×10^3	0.3×10^3	3.6×10^3
	60	4.6×10^3	4.5×10^4	8.3×10^7
	80	2.9×10^3	3.9×10^4	2.1×10^7

Table 12. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by DL-5

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	1.4×10^6	0.2×10^2	0
	20	2.4×10^6	3.3×10^2	0
	40	2.5×10^6	5.0×10^7	1.0×10^3
	60	3.6×10^6	1.4×10^7	2.0×10^7
	80	4.1×10^6	2.2×10^7	3.4×10^7
Soybean pomace-2	0	2.4×10^6	0.5×10^6	8.6×10^3
	20	2.7×10^6	0.1×10^6	2.0×10^4
	40	3.9×10^6	1.2×10^6	1.1×10^7
	60	3.4×10^6	3.3×10^6	4.4×10^7
	80	4.3×10^6	3.3×10^7	9.0×10^7

Table 13. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by *S. cerevisiae* KCCM 11304

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	0	0	0
	20	3.9×10^3	0	0
	40	0.1×10^6	0	0
	60	0.8×10^6	4.0×10^2	0
	80	1.4×10^6	0.5×10^6	1.4×10^6
Soybean pomace-2	0	0.1×10^6	0	0
	20	0.7×10^6	4.6×10^3	0
	40	1.9×10^6	0.6×10^6	0.7×10^6
	60	1.6×10^6	2.6×10^7	5.9×10^7
	80	2.2×10^6	4.9×10^7	1.5×10^8

Table 14. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by *S. cerevisiae* KCCM 11351

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	8.6×10^5	0	0
	20	3.0×10^5	0	0
	40	3.2×10^5	0	0
	60	4.2×10^5	1.3×10^4	0
	80	9.3×10^5	2.1×10^4	1.4×10^3
Soybean pomace-2	0	3.5×10^5	0	0
	20	2.3×10^5	0	0
	40	2.5×10^5	0	0
	60	3.5×10^5	2.8×10^3	0
	80	8.9×10^5	8.0×10^5	0.8×10^5

Table 15. Effect of moisture content on utilization of soybean pomaces by *L. acidophilus* KCCM 40265

Substrate	Moisture content (%)	Viable cell number (/ml)		
		0 hr	24 hr	48 hr
Soybean pomace-1	0	5.5×10^6	0	0
	20	4.2×10^6	0	0
	40	4.4×10^6	0	0
	60	7.8×10^6	9.0×10^2	0
	80	3.1×10^6	3.3×10^5	2.6×10^4
Soybean pomace-2	0	7.2×10^6	0	0
	20	9.4×10^6	0	0
	40	6.8×10^6	0	0
	60	4.2×10^6	5.8×10^4	0
	80	3.9×10^6	9.8×10^5	2.0×10^4

마. 사과박과 간장박의 혼합비율 최적화

사과박과 간장박을 배지의 탄소원과 질소원으로 사용하여 미생물을 배양한 후, 배양한 미생물을 이용한 미생물 제제를 제조하기 위하여 탄소원과 질소원의 최적 배지조성을 검토하였다. 사과박과 간장박의 조성을 각기 다르게 하여 배지를 만들고 균주를 접종한 후, 각각을 일정시간 배양하고 생균수를 측정하였다. *B. coagulans* DL-1 균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 3-16과 같이 사과박과 간장박의 비율이 4 : 6인 배지에서 72시간 후에 최고의 생균수를 나타냈으며 산가수분해 간장박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였다.

B. brevis DL-2 균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 17과 같이 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 72시간 후에 최고의 생균수를 나타냈으며 배양 후, 48시간까지는 생균수가 급속히 증가하였으나 이후에는 생균수의 큰 변화가 없었다. *B. coagulans* DL-1 균주와 마찬가지로 산가수분해 양조박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 18과 같이 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 72시간 후에 최고의 생균수를 나타냈으며 배양 후, 48시간까지는 생균수가 증가하였으나 이후에는 생균수는 감

소하였다. *B. coagulans* DL-1 및 *B. brevis* DL-2 균주와 마찬가지로 산가수분해 양조박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였다.

Table 16. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *B. coagulans* DL-1

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	4.4	12.2	10.3	7.3
	8 : 2	3.7	21.6	40.4	28.7
	6 : 4	2.9	14.5	90.7	87.7
	4 : 6	3.4	69.7	140.0	110.0
	2 : 8	3.9	13.4	135.0	90.0
	0 : 10	3.8	17.3	11.7	4.1
Soybean pomace-2	10 : 0	4.4	12.2	10.3	7.3
	8 : 2	2.7	6.0	33.7	12.3
	6 : 4	5.9	15.2	35.0	40.0
	4 : 6	3.8	19.3	36.5	50.2
	2 : 8	5.2	46.3	52.7	63.0
	0 : 10	1.9	24.3	39.9	24.2

Table 17. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *B. brevis* DL-2

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	38.0	57.0	66.0	82.5
	8 : 2	26.4	161.0	268.8	227.0
	6 : 4	16.3	192.0	338.7	397.2
	4 : 6	10.3	250.7	412.0	423.0
	2 : 8	21.2	337.3	503.5	559.9
	0 : 10	24.0	61.7	45.3	43.2
Soybean pomace-2	10 : 0	38.0	57.0	66.0	82.5
	8 : 2	20.6	143.5	263.0	267.5
	6 : 4	21.4	201.4	272.6	307.7
	4 : 6	20.9	327.7	461.3	460.6
	2 : 8	24.9	370.3	481.0	542.0
	0 : 10	10.8	21.3	33.6	41.2

Table 18. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *B. stearothersophilus* DL-3

Apple pomace to soybean pomace		Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	6.5	43.3	58.6	66.6
	8 : 2	4.4	108.2	576.0	430.0
	6 : 4	5.4	373.6	810.0	540.0
	4 : 6	7.1	486.7	1,100.0	980.0
	2 : 8	6.8	700.0	1,300.0	1,460.0
	0 : 10	7.5	213.7	543.8	617.0
Soybean pomace-2	10 : 0	6.5	43.3	58.6	66.6
	8 : 2	7.0	143.3	473.0	156.0
	6 : 4	4.7	244.0	530.0	632.0
	4 : 6	8.3	340.6	833.0	916.0
	2 : 8	6.4	349.9	1,053.0	1,230.0
	0 : 10	5.7	10.4	15.7	34.0

Table 19. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of DL-4

Apple pomace to soybean pomace		Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	1.0	3.5	16.0	20.0
	8 : 2	1.0	40.5	80.0	123.4
	6 : 4	1.5	50.7	100.8	130.7
	4 : 6	0.6	70.4	156.8	180.7
	2 : 8	0.5	86.3	205.7	248.9
	0 : 10	0.5	15.0	45.0	50.0
Soybean pomace-2	10 : 0	1.0	3.5	16.0	20.0
	8 : 2	1.5	40.8	110.6	190.8
	6 : 4	1.0	69.0	333.3	433.5
	4 : 6	1.5	82.5	540.8	630.8
	2 : 8	2.0	101.5	678.2	783.2
	0 : 10	0.5	20.7	61.0	59.4

Table 20. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of DL-5

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (× 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	8.5	116.3	301.4	313.2
	8 : 2	8.7	125.6	310.6	388.3
	6 : 4	12.3	237.4	472.4	423.4
	4 : 6	11.1	460.8	639.2	443.2
	2 : 8	15.5	538.3	843.7	633.1
	0 : 10	12.4	88.0	51.3	42.7
Soybean pomace-2	10 : 0	8.5	116.3	301.4	313.2
	8 : 2	11.9	161.7	307.5	590.6
	6 : 4	13.6	217.6	360.3	160.3
	4 : 6	11.4	570.3	622.4	550.7
	2 : 8	18.2	630.4	1,290.2	1,040.0
	0 : 10	12.3	107.2	82.3	42.5

DL-4 및 DL-5 균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 19 및 20과 같이 사과박에 대한 간장박의 상대적 비율이 증가할수록 생균수가 증가하였으며 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈다. 시간이 경과할수록 생균수가 증가하여 48시간까지 급속한 생균수의 증가를 보였으나 이후에는 생균수의 큰 변화가 없었다. 산가수분해 간장박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였으며 양조간장박을 사용한 배지에서의 생균수 증가가 다소 높았다.

S. cerevisiae KCCM 11304균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 21과 같이 사과박에 대한 간장박의 상대적 비율이 증가할수록 생균수가 증가하였으며 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈다. 시간이 경과할수록 생균수가 증가하여 48시간까지 급속한 생균수의 증가를 보였으나 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 산가수분해 간장박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였으나 DL-4 및 DL-5 균주와는 다르게 산가수분해 간장박을 사용한 배지에서의 생균수 증가가 다소 높았다.

L. acidophilus KCCM 32820 및 40265 균주에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 표 22 및 23과 같다. *B. coagulans* DL-1, *B. brevis* DL-2, *B. stearothermophilus* DL-3, DL-3, DL-4 및 *S. cerevisiae* KCCM 11304균주와는 다르게

Table 21. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *S. cerevisiae* KCCM 11304

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	4.3	166.3	145.5	114.5
	8 : 2	5.2	196.5	323.4	211.3
	6 : 4	4.0	206.3	434.2	319.7
	4 : 6	5.5	265.0	486.6	360.7
	2 : 8	5.0	346.4	567.3	422.4
	0 : 10	5.2	42.5	52.7	48.3
Soybean pomace-2	10 : 0	4.3	166.3	145.5	114.5
	8 : 2	5.9	240.5	280.6	160.2
	6 : 4	6.2	313.3	386.3	340.2
	4 : 6	8.7	490.6	413.8	393.6
	2 : 8	4.3	343.7	442.4	403.3
	0 : 10	5.7	19.6	28.6	15.0

Table 22. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *L. acidophilus* KCCM 32820

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	3.6	3.2	2.5	0.7
	8 : 2	3.0	4.4	2.9	0.5
	6 : 4	3.7	4.8	3.2	1.6
	4 : 6	3.4	5.7	4.3	2.7
	2 : 8	3.6	3.2	1.6	0.3
	0 : 10	3.3	0.0	0.0	0.0
Soybean pomace-2	10 : 0	3.6	3.2	2.5	0.7
	8 : 2	4.0	4.6	2.4	0.0
	6 : 4	3.9	5.1	3.2	0.0
	4 : 6	3.1	6.6	3.2	0.2
	2 : 8	3.9	4.5	0.0	0.0
	0 : 10	3.7	0.0	0.0	0.0

Table 23. Effect of mixed ratio of apple pomace to soybean pomace on cell growth of *L. acidophilus* KCCM 40265

	Apple pomace to soybean pomace	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
		0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Soybean pomace-1	10 : 0	2.6	2.2	0.3	0.0
	8 : 2	1.3	42.3	7.3	0.0
	6 : 4	1.9	43.7	16.0	0.0
	4 : 6	1.7	41.0	12.2	0.2
	2 : 8	2.4	21.0	11.1	0.0
	0 : 10	1.1	0.0	0.0	0.0
Soybean pomace-2	10 : 0	2.6	2.2	0.3	0.0
	8 : 2	2.1	18.0	3.3	0.0
	6 : 4	1.7	22.0	12.4	0.0
	4 : 6	1.9	45.0	15.2	0.0
	2 : 8	2.4	53.0	22.3	0.0
	0 : 10	2.1	15.0	1.1	0.4

전체적인 균체의 증식이 높지 않았으며 사과박과 간장박의 4 : 6인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈다. 산가수분해 간장박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였으며 양조간장박을 사용한 배지에서 보다 높은 생균수를 나타냈다. *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주는 앞에서 검정한 일반적인 균주들과는 다른 탄소원을 사용하기 때문에 사과박 및 간장박의 이용도가 낮은 것으로 판단된다.

B. coagulans DL-1, *B. brevis* DL-2, *B. stearothersophilus* DL-3, DL-3, DL-4, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주들에 대한 사과박과 간장박의 최적 혼합비율을 구한 결과, *B. coagulans* DL-1, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265 균주들은 사과박과 간장박의 비율이 4 : 6인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈으나 나머지 균주들은 사과박과 간장박의 비율이 2 : 8인 배지에서 최고의 생균수를 나타냈다. 산가수분해 간장박과 양조간장박에 대한 결과는 유사하였으나 균주에 따라 선호하는 간장박의 종류가 다를 수 있었다. 따라서 각 균주마다 사과박과 간장박의 이용도가 다소 다르며 간장박의 종류에 따라 선호도가 다를 수 있었다. 미생물 제제를 제조하기 하여 미생물 배양용 배지를 제조할 때 사용할 사과박과 간장박의 최적 혼합비율은 각 균주마다 다소 차이가 있음을 알 수 있었다.

제4절 미생물 제재의 제조에 사용한 미생물들의 특성

1. 연구수행 방법

가. 성장곡선

미생물 제재를 제조하기 위하여 본 연구에서 사용한 9종류의 균주를 생물학적 특성을 연구하기 위하여 각 균주들의 성장곡선을 작성하였다. 각 균주들을 배양하면서 일정한 시간 간격으로 배양액을 취한 후에 적당히 희석하여 각 미생물들의 최적 고체배지에 도말하고 30℃ 또는 37℃에서 일정시간 배양하면서 생균수를 측정하였다. 9종류의 미생물 중에서 *B. coagulans* DL-1, *B. brevis* DL-2, *B. stearothermophilus* DL-3, DL-4, DL-5 및 *S. cerevisiae* KCCM 11351과 11304은 폴루란 생산배지를 사용하여 배양하였으며 *L. acidophilus* KCCM 32820 및 40265는 탈지분유를 탄소원으로 하는 젖산균 배양배지를 사용하여 배양하였다. 각 균주의 특성에 따라 30℃ 또는 37℃에서 72시간 배양하였다.

나. *B. stearothermophilus* DL-3의 특성 연구

본 실험에서 밝혀진 작물의 병원성 곰팡이들에 대한 길항작용을 나타내는 *B. stearothermophilus* DL-3의 생화학적 특성을 연구하였다. 단일 탄소원으로 전분, 섬유소, carboxymethyl cellulose (CMC), 키틴, 키토산, 탈지분유 및 tributyrin을 첨가한 폴루란 생산 배지를 제조하여 *B. stearothermophilus* DL-3 균주를 접종한 후, 37℃에서 배양하면서 일정한 시간간격으로 배양액을 취한 후, 생균수를 측정하였다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주의 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 상등액을 진공냉동 건조한 후, 완충용액 (0.025M Tris-HCl, pH 7.0)에 녹여 전기영동을 하였다. 전기영동은 SDS-polyacrylamide gel을 사용하였으며 배양액에 존재하는 단백질을 확인할 수 있었다.

2. 연구 결과

가. 성장곡선

B. coagulans DL-1 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 1과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 성장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 배양 시간의 경과에 따라 감소하여 12시간에 가장 낮은 pH를 나타내며 이 후에 pH가 점진적으로 상승한다. *B. brevis* DL-2 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 2와 같다. 배

양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 성장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 배양 시간의 경과에 따라 계속 감소하여 72시간에는 pH가 4.0이하가 된다.

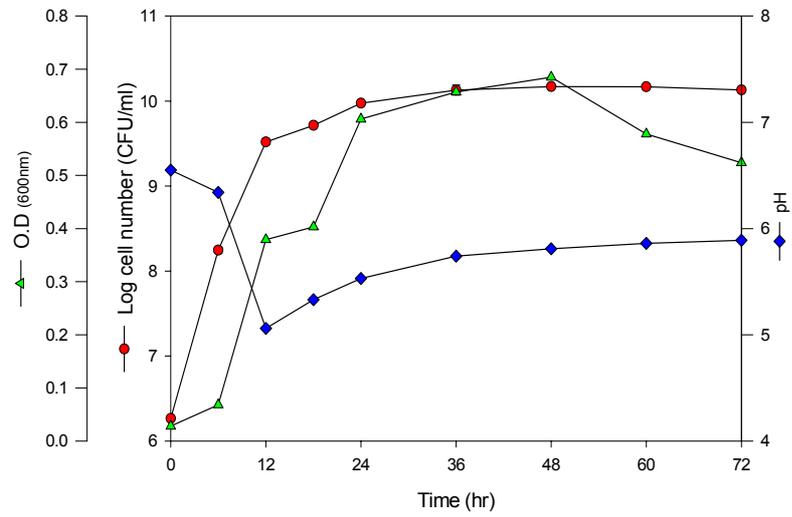


Fig. 1. Growth curve of *B. coagulans* DL-1

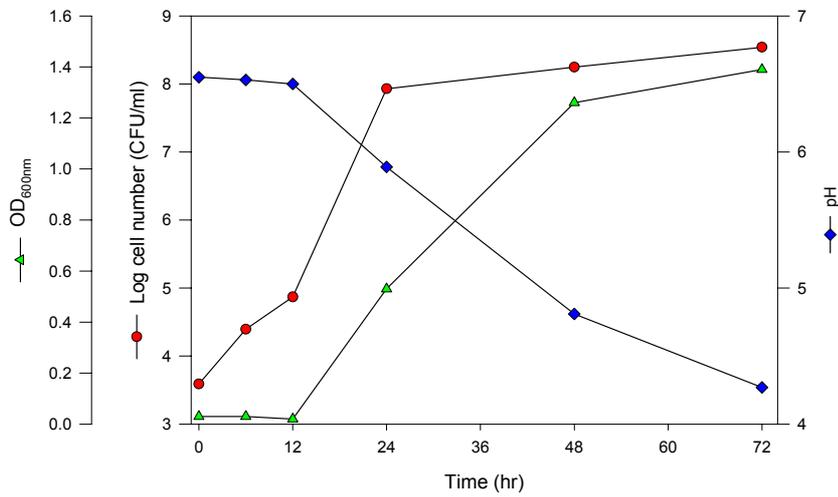


Fig. 2. Cell growth of *B. brevis* DL-2

B. stearothermophilus DL-3 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 3과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 성장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 배양 시간의 경과에 따라 서서히 감소하여 24시간에 가장 낮은 pH를 나타내며 이 후에 pH가 점진적으로 상승한다. DL-4 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 4와 같다. DL-4 균주는 실험에 사용한 다른 균주들에 비하여 지연기가 길었으며 배양을 시작한지 34시간 후에 생균수의 증가를 나타냈다. 이 후에 급속히 성장하여 72시간까지 생균수의 증가를 나타냈다. 배양액의 pH는 생균수의 증가를 나타낸 24시간부터 서서히 감소하였다. DL-5 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 5와 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 성장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 배양 시간의 경과에 따라 서서히 감소하여 72시간 후의 배양액의 pH는 약 5.0이었다.

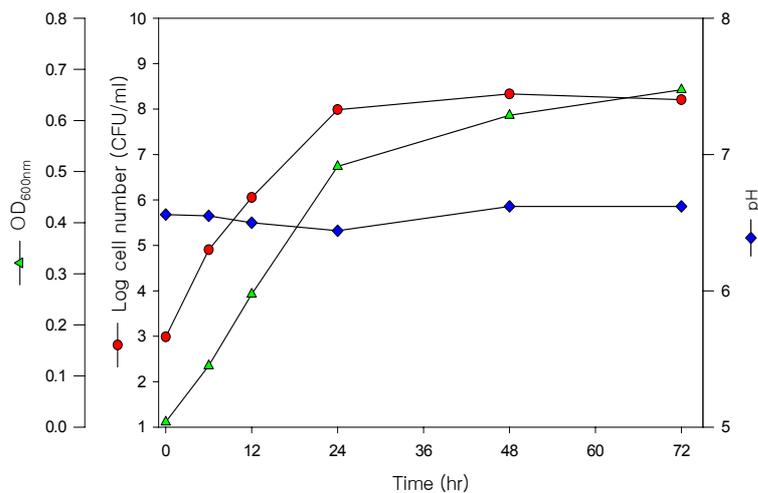


Fig. 3. Cell growth of *B. stearothermophilus* DL-3

S. cerevisiae KCCM 11304 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 결과는 표 6과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 성장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 배양 시간의 경과에 따라 감소하여 24시간에 가장 낮은 pH를 나타내며 이 후에 배양액의 pH는 크게 변화가 없었다. *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주를 포도당을 탄소원으로 사용하여 제조한 폴루란

생산배지에서 배양한 결과는 표 4-7과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 지수 생장기를 거쳐 24시간에 정지기에 이른다. *S. cerevisiae* KCCM 11304 균주의 생장과는 다르게 배양액의 pH는 72시간까지 일정하였다.

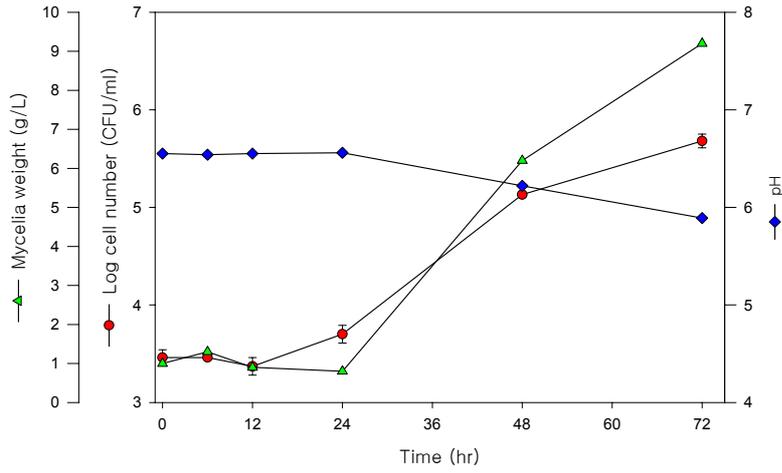


Fig. 4. Cell growth of unidentified strain DL-4

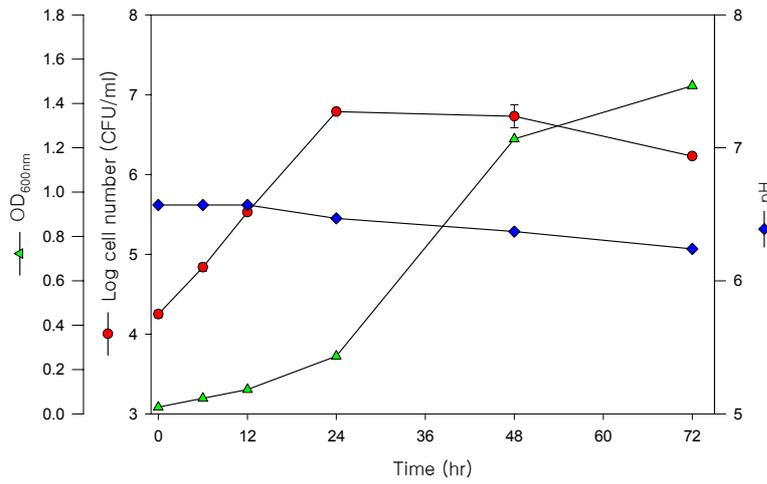


Fig. 5. Cell growth of unidentified strain DL-5

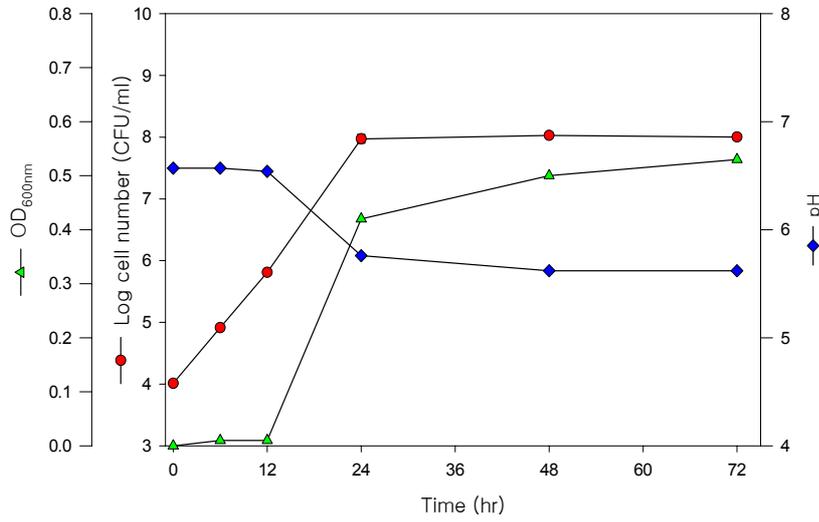


Fig. 6. Cell growth of *S. cerevisiae* KCCM 11304

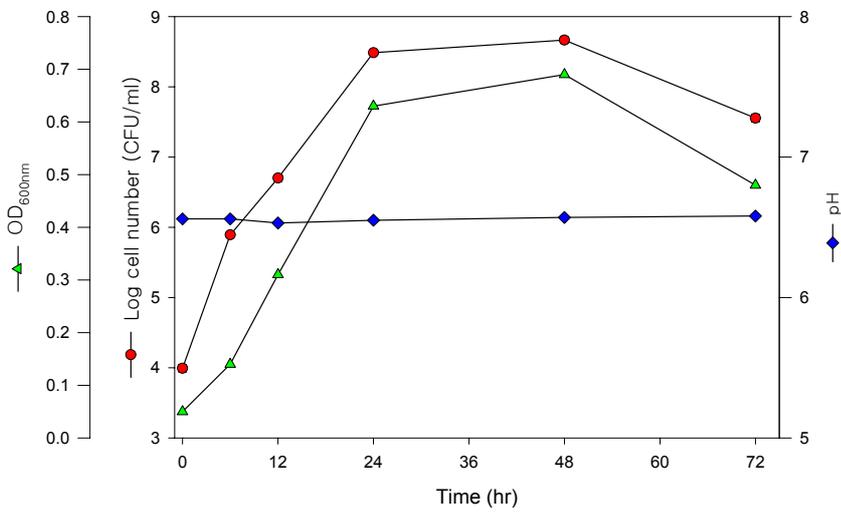


Fig. 7. Cell growth of *S. cerevisiae* KCCM 11351

L. acidophilus KCCM 32820 균주를 탈지분유와 효모추출물을 사용하여 제조한 배지에서 정치배양한 결과는 표 8과 같다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 서서히 증가하며 배양액의 pH는 균체의 증식에 따라 배양 말기까지 감소하여 72시간 배양 후의 배양액의 pH는 약 4.0이었다. *L. acidophilus* KCCM 40265 균주를 탈지분유와 효모추출물을 사용하여 제조한 배지에서 정치배양한 결과는 표 4-9와 같다. *L. acidophilus* KCCM 40265 균주는 DL-4 균주와 유사하게 긴 지연기를 나타내었다. 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여 24시간 이후에 지수 성장기지수가 시작되어 급격한 생균수의 증가를 나타내며 48시간에 정지기에 이른다. 배양액의 pH는 12시간 배양 후부터 급격히 감소하여 72시간 배양 후의 배양액 pH는 약 3.2이었다.

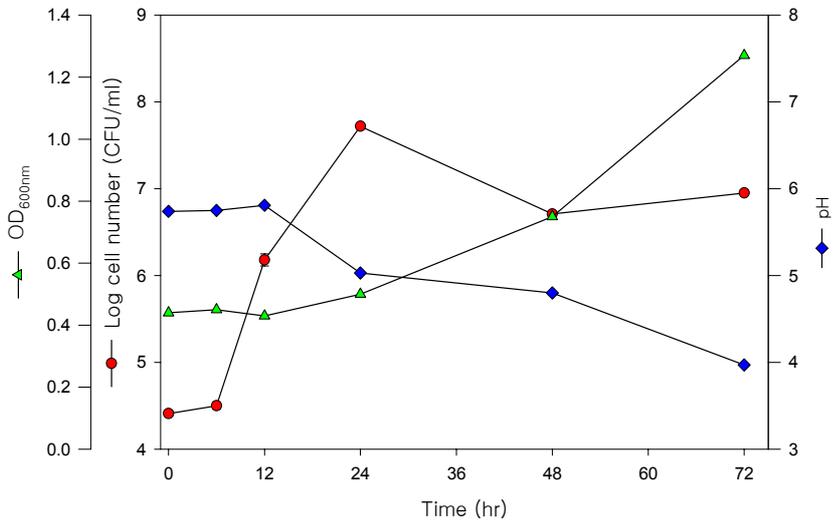


Fig. 8. Cell growth of *L. acidophilus* KCCM 32820

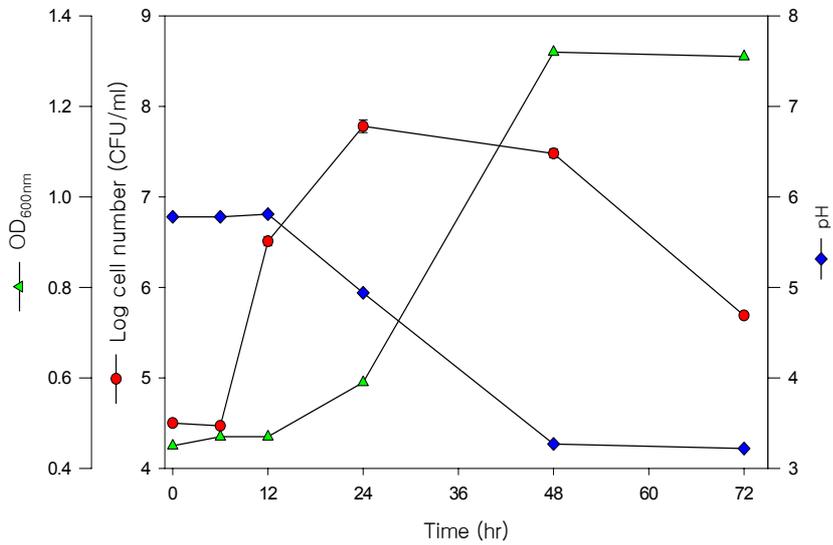


Fig. 9. Cell growth of *L. acidophilus* KCCM 40265

나. *B. stearothermophilus* DL-3의 특성연구

각기 다른 단일 탄소원을 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 *B. stearothermophilus* DL-3 균주는 표 1에서와 같이 배지에 사용한 탄소원에 따라 각기 다른 생균수의 증식을 나타냈다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주는 포도당, 전분, 섬유소 및 키틴을 탄소원으로 사용한 배지에서 48시간 배양하였을 때에 가장 높은 생균수를 나타냈으나 C.M.C, 키토산 및 탈지분유를 탄소원으로 사용한 배지에서는 배양 후, 72시간까지 생균수의 증가를 보였다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주의 생균수는 포도당, 전분, 키틴 및 키토산을 탄소원으로 사용한 배지에서 배양하였을 때 높았으며 탈지분유를 탄소원으로 사용한 배지에서 비교적 높은 생균수의 증식을 나타냈다. 섬유소를 탄소원으로 이용하여 증식은 하였으나 그 이용도는 다른 탄소원에 비하여 낮았으며 tributyrin을 사용하여 제조한 배지에서는 자라지 않았다.

B. stearothermophilus DL-3 균주를 각기 다른 단일 탄소원을 사용하여 제조한 폴루란 생산배지에서 배양한 후, 원심분리기를 사용하여 균체를 제거한 상등액을 전기영동한 결과는 그림 10과 같다. 그림에서 보듯이 배양액에 존재하는 단백질은 사용한 탄소

원의 종류에 따라 다름을 알 수 있었다. 탄소원의 이용도 및 SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 상등액을 전기영동한 결과, *B. stearrowthermophilus* DL-3균주를 사용하여 amylase, cellulase, protease, chitinase 및 chitosanase를 생산할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

Table 1. Effect of carbon source on cell growth of *B. stearrowthermophilus* DL-3

Carbon source	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)			
	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Glucose	13.7	22.0	543.3	32.2
Starch	8.3	627.0	943.0	467.0
Cellulose	18.7	21.3	38.0	24.3
C. M. C	9.2	273.0	310.0	400.0
Chitin	8.9	289.0	693.0	99.7
Chitosan	9.3	407.0	730.0	760.0
Skim milk	11.7	58.3	167.0	333.0
Tributyryn	7.7	1.1	1.4	0.1

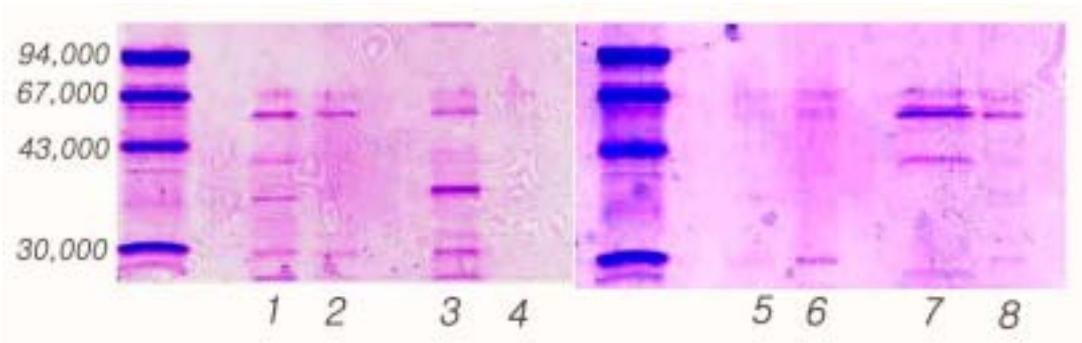


Fig. 10. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis pattern of *B. stearrowthermophilus* DL-3: 1; starch, 2; cellulose, 3; skim milk, 4; tributyrin, 5; chitin, 6; chitosan, 7; carboxymethyl cellulose and 8; glucose

제 5절 미생물 제재의 보관 방법 최적화

1. 연구수행 방법

가. 최적 흡착제 선별

본 연구에서 사용된 균주를 이용하여 미생물 제재를 제조할 때 사용할 최적의 흡착제를 선별할 목적으로 *B. coagulans* DL-1과 *B. brevis* DL-2 균주를 폴루란 생산배지를 사용하여 배양한 후, 각각의 배양액에 일정량의 미강, 사과박, 감귤박 및 간장박을 혼합한 후, 일정시간 보관하면서 생균수를 측정하였다. 측정된 생균수를 기준으로 하여 미생물 제재의 최적 흡착제를 구하였다.

나. 최적 진공냉동 건조 방법 확립

본 연구에서 사용된 균주의 활성을 장시간 유지하기 위하여 진공냉동 건조를 할 경우에 사용되는 최적의 현탁제를 구하기 위하여 다른 현탁제를 사용하여 일정한 양의 균주 배양액을 진공냉동 건조시킨 후, 일정 기간 동안 실온에 보관하였다. 예비실험에 사용된 현탁제로 포도당액, 생리식염수 및 각종 액체배지를 사용하였으나 생리식염수가 가장 좋은 결과를 나타냈다. 본 실험에서는 생리식염수(0.85% NaCl)와 일반적인 현탁제로 사용되는 탈지분유를 각기 다른 농도로 사용하였다. 진공냉동 건조된 균주의 vial을 일정 시간 보관한 후, vial을 깨어 고체 배지에 일정량 도말한 후, 시간에 따른 생균수를 측정하여 최적 현탁제를 구하였다.

다. 최적 보관 온도

미생물을 사용하여 제조한 미생물 제재의 최적 보관온도를 확립하기 위하여 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 미생물 제재를 제조하고 각기 다른 온도에 보관하면서 시간에 따른 생균수를 측정하였다. 사용한 미생물 제재는 미강만을 흡착제로 사용하여 제조한 미생물 제재와 사과박과 간장박 및 미강을 흡착제로 사용하여 제조한 2종류의 미생물 제재를 사용하였다. 미강만을 사용하여 제조한 미생물 제재는 미강과 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 12: 1의 비율로 혼합한 후, 전체 수분함량이 30%가 되도록 pH 7.0의 완충용액을 첨가하고 37℃에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제재를 제조하였다. 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재의 제조는 사과박과 간장박을 2: 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 첨가하고 pH

7.0의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제제를 제조하였다. 각기 제조한 미생물 제제를 4°C, 30°C, 37°C 및 실온에 보관하면서 5일 간격으로 60일간 시료를 채취하여 생균수를 측정하였다. 실온은 실험실 내의 온도를 의미하며 18~24°C의 온도를 유지하였다.

2. 연구 결과

가. 최적 흡착제 선별

B. coagulans DL-1 균주와 *B. brevis* DL-2 균주를 폴루란 생산배지에서 배양한 후에 그 배양액을 미강, 사과박, 감귤박 및 간장박에 적당한 양 혼합하여 수분함량이 20% 정도인 미생물 제제를 제조하였다. 각각의 균주를 배양하여 제조한 미생물 제제를 실온에 보관하면서 생균수를 측정한 결과는 표 1 및 2와 같다. 미강, 사과박, 감귤박 및 간장박과 혼합된 *B. coagulans* DL-1 균주의 배양액은 혼합한 후, 12시간까지는 생균수의 증가를 나타냈으나 이 후에 시간의 경과에 따라 생균수의 감소를 나타냈다. 이는 *B. coagulans* DL-1 균주를 사용하여 제조한 미생물 제제의 낮은 수분함량 때문인 것으로 사료된다. 사용한 흡착제 중에서 미강이 가장 우수한 결과를 나타냈다.

미강, 사과박, 감귤박 및 간장박과 혼합된 *B. brevis* DL-2 균주의 배양액은 혼합한 후, 12시간까지는 생균수의 증가를 나타냈으나 이 후에 시간의 경과에 따라 생균수의 감소를 나타냈다. 이는 *B. coagulans* DL-1 균주와 마찬가지로 *B. brevis* DL-2 균주를 사용하여 제조한 미생물 제제의 낮은 수분함량 때문인 것으로 사료된다. *B. coagulans* DL-1 균주와 마찬가지로 사용한 흡착제 중에서 미강이 가장 우수한 결과를 나타냈다.

Table 1. Effect of absorbant on viability of *B. coagulans* DL-1

Absorbant	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
Rice bran	2.1	6.1	2.8	2.3	1.2
Apple pomace	2.1	2.9	1.7	1.4	0.2
Orange pomace	2.1	3.0	1.1	0.8	0.5
Soybean pomace	2.1	2.1	2.4	1.9	0.8

Table 2. Effect of absorbant on viability of *B. brevis* DL-2

Absorbant	Viable cell number (x 10 ⁸ /ml)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
Rice bran	65.0	107.0	40.5	31.5	25.2
Apple pomace	65.0	0.5	0.0	0.0	0.0
Orange pomace	65.0	142.0	17.9	4.5	4.7
Soybean pomace	65.0	126.4	103.6	17.6	8.5

나. 최적 진공냉동 건조 방법 확립

미생물을 배양하여 제조한 미생물 제제의 활성을 잃지 않고 오래 보관할 목적으로 *B. stearothermophilus* DL-3 균주를 배양하고 배양액을 진공냉동 건조하면서 각기 다른 현탁제를 사용한 결과는 표 3과 같다. 생리식염수와 5% 탈지분유 및 10% 탈지분유를 사용한 결과, 생리식염수는 76.3%, 5% 탈지분유는 86.3% 그리고 10% 탈지분유를 사용한 경우에는 99.2%의 생존율을 나타냈다. 따라서 미생물 제제 또는 미생물 제제에 사용할 균주를 보관하기 위하여 진공냉동 건조를 할때는 10% 탈지분유를 현탁제로 사용할 경우에 거의 100%의 생존율을 얻을 수 있음을 확인하였다.

Table 3. Effect of surfactant on viability of *B. stearothermophilus* DL-3 after lyophilization

Viable cell No. before lyophilization	Viable cell No. after lyophilization		
	surfactant	Viable cell No.	Viability (%)
13.90 x 10 ⁸	Saline (0.85% NaCl)	10.60 x 10 ⁸	76.3
	Saline + 5% Skim milk	12.00 x 10 ⁸	86.3
	Saline + 10% Skim milk	13.80 x 10 ⁸	99.2

다. 최적 보관 온도

B. stearothermophilus DL-3 균주 배양액과 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 각기 다른 온도에 보관하면서 일정한 시간 간격으로 생균수를 측정 한 결과는 표 4

와 같다. 각기 다른 온도에서 보관된 미생물 제제는 시간이 경과함에 따라 생균수의 감소를 나타냈다. 생균수의 감소는 미생물 제제를 보관하는 온도에 따라 크게 차이가 났으며 4℃에서 보관하는 경우의 생존율이 가장 높았다. 미생물 제제를 60일간 보관한 후의 생균수 감소는 4℃에서 96.3%이었으나 실온, 30℃ 및 37℃에서는 99% 이상이었다. 이는 적당한 온도에서 미생물 제제를 보관하는 것이 매우 중요하다는 점을 시사하는 것이다. 미생물 제제를 30일간 보관한 후의 생균수 감소는 4℃에서 91.7%, 실온에서 91.7%, 30℃에서 98.6% 그리고 37℃에서는 99% 이상이었다.

Table 4. Effect of temperature on viability of *B. stearothersophilus* DL-3 in microbial product made with rice bran

Temp.	Viable cell number ($\times 10^6$ CFU/ml)												
	0 day	5 day	10 day	15 day	20 day	25 day	30 day	35 day	40 day	45 day	50 day	55 day	60 day
4℃		22.0	25.3	19.3	27.0	26.3	22.6	25.3	26.4	19.6	16.6	17.3	9.3
RT ¹⁾	253.3	24.6	28.0	22.3	20.6	21.3	21.0	29.0	5.1	6.3	7.1	2.2	1.0
30℃		19.8	70.3	7.3	5.8	4.4	3.3	1.9	0.4	0.3	0.1	0.0	0.0
37℃		31.0	29.0	0.8	1.3	0.7	0.5	0.4	0.3	0.0	0.1	0.1	0.0

1) room temperature

B. stearothersophilus DL-3 균주 배양액과 사과박, 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 각기 다른 온도에 보관하면서 일정한 시간 간격으로 생균수를 측정한 결과는 표 5-5와 같다. 각기 다른 온도에서 보관된 미생물 제제는 시간이 경과함에 따라 생균수의 감소를 나타냈다. 생균수의 감소는 미생물 제제를 보관하는 온도에 따라 크게 차이가 났으며 *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액과 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제와 마찬가지로 4℃에서 보관하는 경우의 생존율이 가장 높았다. 미생물 제제를 60일간 보관한 후의 생균수 감소는 4℃에서 95.6%이었으나 실온, 30℃ 및 37℃에서는 99% 이상이었다. 미생물 제제를 30일간 보관한 후의 생균수 감소는 4℃에서 90.2%, 실온에서 89.7%, 30℃에서 95.1% 그리고 37℃에서는 99% 이상이었다.

B. stearothersophilus DL-3 균주를 사용하여 제조한 미생물 제제의 보관온도에 따른 생균수의 감소는 그림 1과 2에서와 같이 보관하는 온도에 관계없이 5일 후의 생

균수가 초기에 비하여 약 10%로 감소함을 알 수 있었으며 이 후, 보관온도가 미생물 제제의 생존수의 유지에 미치는 영향이 크다는 사실을 알 수 있었다. 따라서 미생물 제제를 제조하는 것도 중요하지만 미생물 제제를 사용하기 위하여 보관하는 온도가 중요함을 알 수 있었다.

Table 5. Effect of temperature on viability of *B. stearothersophilus* DL-3 in microbial product made with apple pomace, soybean pomace and rice bran

Temp.	Viable cell number ($\times 10^6$ CFU/ml)												
	0 day	5 day	10 day	15 day	20 day	25 day	30 day	35 day	40 day	45 day	50 day	55 day	60 day
4°C		16.3	41.6	15.6	24.6	24.3	20.6	16.3	17.6	15.6	12.5	9.3	9.2
RT ¹⁾	210.0	28.0	22.0	18.0	17.6	19.0	21.6	28.0	15.0	13.6	9.0	8.3	2.6
30°C		31.0	23.6	12.3	12.9	12.0	10.3	8.5	1.3	0.8	0.2	0.0	0.0
37°C		6.0	23.3	6.1	3.9	0.9	0.6	0.5	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0

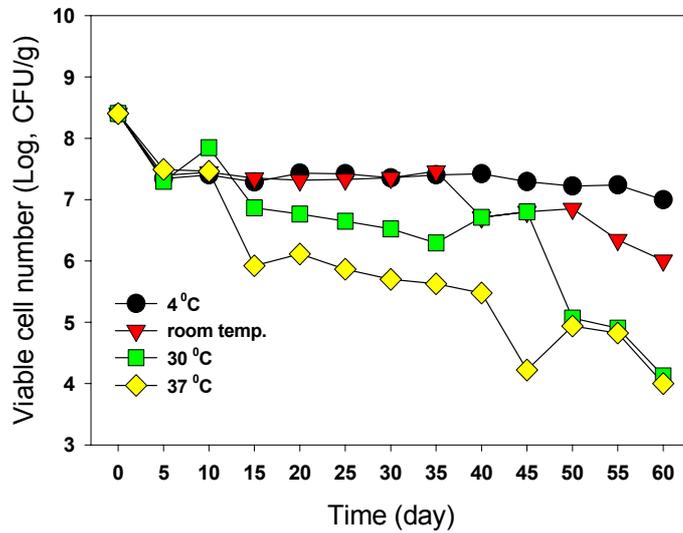


Fig. 1. Effect of temperature on viable cell number of *B. stearothersophilus* DL-3 in microbial product made with rice bran

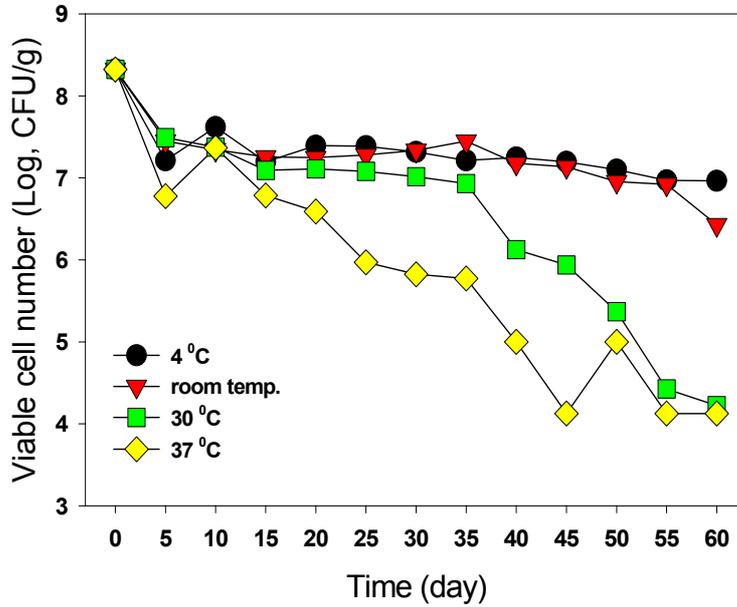


Fig. 2. Effect of temperature on viable cell number of *B. stearothermophilus* DL-3 in microbial product made with apple pomace, soybean pomace and rice bran

제6절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검정-I: 상추와 토마토

1. 연구수행 방법

가. 미생물의 배양

토양에서 분리하여 동정한 *Bacillus coagulans* DL-1을 5.0 g/l의 K_2HPO_4 , 1.0 g/l의 NaCl, 0.2 g/l의 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.6 g/l의 $(NH_4)_2SO_4$ (Sigma Co., U.S.A) 및 2.5 g/l의 효모 추출물(yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였으며, 탄소원으로 포도당을 별도로 멸균한 후, 멸균된 배지에 무균적으로 2.0%(w/v)으로 혼합하여 사용하였다. 전배양은 고체 배지에서 일정시간 배양한 균주를 한 백금이 취하여 500 ml용량의 플라스크에 멸균하여 준비된 120 ml의 배지에 접종한 후, 37°C에서 200 rpm의 진탕 속도로 48시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 전배양한 배양액을 7 l용량

의 생물 배양기(KoBioTech Co. Ltd., Korea)에 멸균되어 준비된 5ℓ의 동일 배지에 5% (v/v)를 접종하여 3일간 배양하였다. 미생물을 배양하기 위한 생물 배양기의 운전조건은 통기량이 1.0 vvm이었으며 교반속도는 500 rpm이었다.

나. 미생물 제제의 제조

기능성 비료효과의 검정을 위하여 사과박과 간장박을 주성분으로 제조한 미생물 제제를 사용하여 실험하였다. 사과박과 간장박을 주성분으로 사용한 미생물 제제의 제조는 사과박과 간장박을 2: 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. coagulans* DL-1의 배양액을 첨가하고 pH 7.0의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제제를 제조하였다.

다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사

미생물 제제를 처리하기 직전과 처리한 후 공시작물을 정식 한 후, 2주 단위로 하여 총 3회, 공시작물의 재배토양 표면으로부터 깊이 10 cm까지의 흙을 채취한 후, 가는 체로 거른 다음 0.85% NaCl 멸균수에 현탁시킨 다음 선택배지를 사용하여 미생물제제의 처리량, 채취 시기별 및 균 종류별로 희석법과 한천배지 평판 도말법으로 토양내의 미생물의 종류별 계수를 실시하였다. 실험에 사용한 선택배지의 종류로는 일반 세균을 선별하는 Tryptic Soy Agar (TSA), 방선균을 선별하는 Actinomycetes Isolation Agar (AIA), 곰팡이의 선별에 사용하는 Potato Dextrose Agar (PDA)에 항생제로 chloramphenicol와 함께 사용하였으며, 트리코데마를 선별하는 데는 Malt Extract Agar (MEA)에 항생제로 chlorotetracyclin을 50µg/ml의 농도로 첨가한 배지를 사용하였다. 선별 배지에 도말한 미생물은 30°C에 48시간 배양하여 형성된 콜로니수를 측정하였다. 토양 상의 총 균수는 이들 선택배지를 사용하여 계수된 개별 미생물들의 생균수의 총 합계로 계산하였다.

라. 미생물 제제의 기능성 비료 효과 검정

미생물 제제의 효과를 검정하기 위한 공시작물로는 상추와 토마토를 사용하였으며 효과검정은 경상남도 김해시의 동아대학교 생명자원과학부 실험 농장의 온실에서 포트를 사용하여 실시하였다.

포트시험에 사용한 토양은 가로 1m, 세로 1m 및 높이 10 cm의 사각 나무통에

넣고 일정량의 물에 녹인 미생물 제제와 혼합하여 각각 기준량 처리와 배양 처리 시험에 사용하였으며 무처리구는 동일한 양의 토양에 미생물 제제의 시험구에 사용한 양의 물만을 넣은 토양을 사용하였다. 포트 시험에서 미생물 제제의 기준량 처리는 400g의 미생물 제제를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미하며 배양 처리는 800g의 미생물 제제를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미한다.

공시작물에 대한 미생물 제제의 특성과 효과를 조사하기 위해서 상추는 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량을 측정하였으며 토마토는 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량을 측정하였다. 상추의 생체중량은 근중으로 밑 등으로부터 2cm 하단부의 토양을 수세시킨 후에 측정하였다. 토마토의 생체중량은 토마토 한 개의 무게를 의미하며 최장 길이는 근중으로 뿌리를 곧게 편 후에 측정하였다.

2. 연구 결과

가. 토양 미생물 상의 변화

1) 미생물 제제가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

간장박과 사과박 및 *B. coagulans* DL-1 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제제를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 그 결과는 표 1과 같다. 상추를 재배하기 위한 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $17,992 \times 10^4$ CFU/g, $15,560 \times 10^4$ CFU/g, $2,300 \times 10^4$ CFU/g, 25×10^4 CFU/g 및 17×10^4 CFU/g이었다. 시간의 경과에 따른 토양 미생물의 수는 토양에 처리한 미생물 제제의 양에 비례하여 증가함을 알 수 있었다.

미생물 제제를 처리하지 않은 상추 재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $8,405 \times 10^4$ CFU/g, $2,154 \times 10^4$ CFU/g 및 $5,127 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 시간에 따라 변화는 있었으나 6주 후까지 증가는 없었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $28,350 \times 10^4$ CFU/g, $15,202 \times 10^4$ CFU/g 및 $22,707 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 4.4배 증가하였다. 미생물 제제를 배양 처리한 상추재배 토양의

총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $48,460 \times 10^4$ CFU/g, $30,605 \times 10^4$ CFU/g 및 $55,285 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 10.6배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 2.4배 증가한 것이다.

미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.7배 및 11.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.7배 및 9.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 37.5배 및 50.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 11.7배 및 62.1배 증가하였다.

상추재배 토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 비율은 매우 낮았다. 이는 자연 환경에 존재하는 토양 미생물의 일반적인 구성과 미생물 개체수의 변화를 보여 주는 것이다. 미생물 제재를 처리한 상추재배 토양의 미생물 수는 처리하지 않은 토양에 비하여 세균뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코데마도 일정한 비율로 증가하였으며 곰팡이와 트리코데마의 증가 비율이 상대적으로 높았다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B. coagulans* DL-1이 상추재배 토양에 안정적으로 정착하여 생존하는 것으로 판단되며, 상추재배 토양에 존재하는 유익한 미생물의 증진을 촉진시키는 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

2) 미생물 제재가 토마토 재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

간장박과 사과박 및 *B. coagulans* DL-1 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 토마토 재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 그 결과는 표 2와 같다. 토마토를 재배하기 위한 토양에 존재하는 총 균, 박테리

아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 상추를 재배하기 위한 토양에 존재하는 수와 같이 각각 $17,992 \times 10^4$ CFU/g, $15,560 \times 10^4$ CFU/g, $2,300 \times 10^4$ CFU/g, 25×10^4 CFU/g 및 17×10^4 CFU/g이었다. 시간의 경과에 따른 토양 미생물의 수는 토마토 재배 토양에 처리한 미생물 제재의 양에 비례하여 증가함을 알 수 있었다.

미생물 제재를 처리하지 않은 토마토 재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $34,825 \times 10^4$ CFU/g, $6,199 \times 10^4$ CFU/g 및 $3,322 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 토마토 재배 토양의 총 균수는 시간에 따라 감소하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $27,965 \times 10^4$ CFU/g, $24,225 \times 10^4$ CFU/g 및 $22,835 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토마토 재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 6.9배 증가하였다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $30,335 \times 10^4$ CFU/g, $71,780 \times 10^4$ CFU/g 및 $33,891 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 10.2배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 1.5배 증가한 것이다.

미생물 제재를 기준량 처리한 토마토 재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.3배 및 9.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 토마토 재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 15.5배 및 21.0배가 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 토마토 재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 19.4배 및 101.7배가 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 토마토 재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 20.2배 및 119.0배 증가하였다.

토마토 재배 토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 배추재배 토양과 같이 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 상대적 비율은 매우 낮았다. 미생물 제재를 처리한 토마토 재배 토양의 미생물 수는 처리하지 않은 토양에 비하여 세균 뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코데마도 일정한 비율로 증가하였으며 곰팡이와 트리코데마의 증가 비율이 상대적으로 높았다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B.*

coagulans DL-1이 상추재배 토양에 안정적으로 정착하여 생존하는 것으로 판단되며, 토마토 재배 토양에 존재하는 유익한 미생물의 증진을 촉진시키는 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

Table 1. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *B. coagulans* DL-1

Distribution	Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	17,992 (100)	8,405 (47)	2,154 (12)	5,217 (29)
	Bacteria	15,650 (100)	4,700 (30)	1,500 (10)	3,650 (23)
	Actinomycetes	2,300 (100)	3,650 (159)	650 (28)	1,550 (67)
	Fungi	25 (100)	35 (140)	3 (12)	10 (41)
	Trichoderma	17 (100)	20 (118)	1 (6)	7 (42)
Standard treatment	Total cell number	17,992 (100)	28,350 (158)	15,202 (85)	22,707 (126)
	Bacteria	15,650 (100)	22,000 (173)	11,650 (74)	13,350 (85)
	Actinomycetes	2,300 (100)	6,050 (263)	3,400 (148)	8,900 (387)
	Fungi	25 (100)	166 (664)	107 (428)	375 (1,500)
	Trichoderma	17 (100)	134 (788)	45 (265)	82 (479)
Double times treatment	Total cell number	17,992 (100)	48,460 (269)	30,605 (170)	55,285 (307)
	Bacteria	15,650 (100)	28,500 (182)	22,000 (141)	40,000 (256)
	Actinomycetes	2,300 (100)	8,400 (800)	7,700 (335)	14,350 (624)
	Fungi	25 (100)	940 (3,760)	425 (1,700)	500 (2,000)
	Trichoderma	17 (100)	620 (3,647)	480 (2,824)	435 (2,559)

Table 2. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of tomatoes after treatment of microbial product made with *B. coagulans* DL-1

Distribution	Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	17,992 (100)	34,825 (194)	6,199 (34)	3,322 (18)
	Bacteria	15,650 (100)	33,167 (211)	4,250 (27)	3,000 (19)
	Actinomycetes	2,300 (100)	1600 (70)	1,900 (83)	300 (13)
	Fungi	25 (100)	29 (116)	29 (116)	12 (48)
	Trichoderma	17 (100)	29 (170)	20 (117)	10 (58)
Standard treatment	Total cell number	17,992 (100)	27,965 (155)	24,225 (135)	22,835 (127)
	Bacteria	15,650 (100)	15,750 (101)	10,500 (67)	16,000 (102)
	Actinomycetes	2,300 (100)	9,700 (422)	13,000 (565)	4,650 (202)
	Fungi	25 (100)	275 (1,100)	365 (1,460)	233 (932)
	Trichoderma	17 (100)	2,240 (13,176)	360 (2,118)	202 (1,188)
Double times treatment	Total cell number	17,992 (100)	30,335 (169)	71,780 (399)	33,891 (188)
	Bacteria	15,650 (100)	16,575 (106)	49,000 (313)	29,000 (185)
	Actinomycetes	2,300 (100)	11,100 (483)	19,700 (857)	6,400 (278)
	Fungi	25 (100)	1,250 (5,000)	1,530 (6,120)	1,220 (4,880)
	Trichoderma	17 (100)	1,410 (8,294)	1,550 (9,118)	1,190 (7,000)

나. 효과 검정

1) 미생물 제재의 처리가 상추의 생장에 미치는 영향

미생물 제재의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배량 처리한 토양에서 생육한 상추를 6주 후의 채취하여 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량을 측정하였으며 그 결과는 표 3과 같다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추에 비하여 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량이 각각 10.7%, 8.5% 및 27.5% 증가하였으며 미생물 제재를 배량 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하

지 않은 토양에서 재배한 상추에 비하여 엽폭, 잎수 및 지상부의 생체중량이 각각 14.0%, 12.6% 및 32.0% 증가하였다. 미생물 제제를 처리한 양에 비례하여 엽폭, 잎수 및 생체중량이 증가하였다.

2) 미생물 제제의 처리가 토마토의 생장에 미치는 영향

미생물 제제의 처리가 토마토의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제제를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배량 처리한 토양에서 생육한 토마토를 6주 후의 채취하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량을 측정하였으며 그 결과는 표 4와 같다. 미생물 제제를 기준량 처리한 토양에서 재배한 토마토는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 재배한 토마토에 비하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량이 각각 10.6%, 10.0% 및 27.5% 증가하였으며 미생물 제제를 배량 처리한 토양에서 재배한 토마토는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 재배한 토마토에 비하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량이 각각 14.0%, 13.5% 및 32.6% 증가하였다. 상추를 사용한 미생물 제제의 효과 검증에서의 결과와 마찬가지로 처리한 미생물 제제의 양에 비례하여 최장 길이, 토마토의 지름 및 생체중량이 증가하였다.

Table 3. Effect of microbial product made with *B. coagulans* DL-1 on growth of lettuces in a pot

Distribution	Leaf width (cm)	Leaf number	Wet weight (kg)
Non treatment	36.63±1.71	47.31±2.33	1.53±0.14
Standard treatment	40.50±0.66	51.33±0.21	1.95±0.28
Double times treatment	41.77±0.60	53.25±2.02	2.02±0.27

Table 4. Effect of microbial product made with *B. coagulans* DL-1 on growth of tomatoes in a pot

Distribution	Length (cm)	Diameter (cm)	Wet weight (g)
Non treatment	81.75±4.24	8.60±0.93	354.53±39.20
Standard treatment	90.40±3.00	9.46±0.96	462.13±30.39
Double times treatment	93.19±3.47	9.76±1.70	470.25±41.76

제7절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검증-II: 상추와 배추

1. 연구수행 방법

가. 미생물의 배양

상추와 토마토의 생육에 미치는 미생물 제재의 효과를 검증하기 위한 실험에서와 같은 방법으로 8종류의 미생물을 배양하여 각기 다른 미생물 배양액을 사용하여 미생물 제재를 제조하였다. 실험에 사용된 균주는 *B. brevis* DL-2, *B. stearothermophilus* DL-3, DL-4, DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *S. cerevisiae* KCCM 11351, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 등 모두 8종류 이었다. *B. brevis* DL-2, *B. stearothermophilus* DL-3, DL-4, DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304 및 *S. cerevisiae* KCCM 11351의 배양은 5.0 g/l의 K₂HPO₄, 1.0 g/l의 NaCl, 0.2 g/l의 MgSO₄·7H₂O, 0.6 g/l의 (NH₄)₂SO₄ (Sigma Co., U.S.A) 및 2.5 g/l의 효모 추출물 (yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였으며, 탄소원으로 포도당을 별도로 멸균한 후, 멸균된 배지에 무균적으로 2.0%(w/v)으로 혼합하여 사용하였다. *L. acidophilus* KCCM 32820와 *L. acidophilus* KCCM 40265의 배양은 20 g/l의 탈지 분유와 5.0 g/l의 효모 추출물 (yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였다. *L. acidophilus* KCCM 32820와 *L. acidophilus* KCCM 40265를 제외한 각 균주의 전배양은 고체 배지에서 일정시간 배양한 균주를 한 백금이 취하여 500 ml용량의 플라스크에 멸균하여 준비된 120 ml의 배지에 접종한 후, 37°C에서 200 rpm의 진탕 속도로 48시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 전배양한 배양액을 7 l 용량의 생물 배양기(KoBioTech Co. Ltd., Korea)에 멸균되어 준비된 5 l의 동일 배지에 5%(v/v)를 접종하여 3일간 배양하였다. 미생물을 배양하기 위한 생물 배양기의 운전조건은 통기량이 1.0 vvm이었으며 교반속도는 400 rpm이었다. *L. acidophilus* KCCM 32820와 *L. acidophilus* KCCM 40265는 동일한 생물 배양기를 사용하여 정치배양하였다.

나. 미생물 제재의 제조

기능성 비료효과의 검정을 위하여 사과박과 간장박을 주성분으로 제조한 미생물 제재를 사용하여 실험하였다. 사과박과 간장박을 주성분으로 사용한 미생물 제재의 제조는 사과박과 간장박을 2 : 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. coagulans* DL-1의 배양액을 첨가하고 pH 7.0의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간

배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제제를 제조하였다.

다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사

미생물 제제를 처리하기 직전과 처리한 후 공시작물을 정식 한 후, 2주 단위로 하여 총 3회, 공시작물의 재배토양 표면으로부터 깊이 10 cm까지의 흙을 채취한 후, 가는 체로 거른 다음 0.85% NaCl 멸균수에 현탁시킨 다음 선택배지를 사용하여 미생물 제제의 처리량, 채취 시기별 및 균 종류별로 희석법과 한천배지 평판 도말법으로 토양내의 미생물의 종류별 계수를 실시하였다. 실험에 사용한 선택배지의 종류로는 일반 세균을 선별하는 Tryptic Soy Agar (TSA), 방선균을 선별하는 Actinomycetes Isolation Agar (AIA), 곰팡이의 선별에 사용하는 Potato Dextrose Agar (PDA)에 항생제로 chloramphenicol와 함께 사용하였으며, 트리코데마를 선별하는데는 Malt Extract Agar (MEA)에 항생제로 chlorotetracyclin을 5 μ g/ml의 농도로 첨가한 배지를 사용하였다. 선별 배지에 도말한 미생물은 30°C에 48시간 배양하여 형성된 콜로니수를 측정하였다. 토양 상의 총 균수는 이들 선택배지를 사용하여 계수된 개별 미생물들의 생균수의 총 합계로 계산하였다.

라. 미생물 제제의 기능성 비료 효과 검증

미생물 제제의 효과를 검증하기 위한 공시작물로는 배추와 상추를 사용하였으며 효과검정은 김해시의 동아대학교 생명자원과학대학 실험 농장의 온실에서 포트시험을 수행하였으며 김해시에 소재하는 농장을 임대하여 포장실험을 수행하였다.

포트시험에 사용한 토양은 가로 1m, 세로 1m 및 높이 10 cm의 사각 나무통에 넣고 일정량의 물에 녹인 미생물 제제와 혼합하여 각각 기준량 처리와 배양 처리 시험에 사용하였으며 무처리구는 동일한 양의 토양에 미생물 제제의 시험구에 사용한 양의 물만을 넣은 토양을 사용하였다. 포트시험에서 미생물 제제의 기준량 처리는 400g의 미생물 제제를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미하며 배양 처리는 800g의 미생물 제제를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미한다.

공시작물의 포장시험에서 시험구의 배치는 완전임의배치법 (Completely randomized design)을 이용하여 3회 반복 처리로 하였으며 1m x 1m의 면적에 미생물 제제를 처리하지 않은 무 처리구와 일반적인 미생물 제제 제품에 명시된 표준량을 처리한 기준량 처리구로 나누어 효과검정을 실시하였다. 기준량 처리구는 400g의 미생물 제제를

10L의 물에 녹여 1m x 1m의 면적에 골고루 뿌린 후, 기계적으로 표층과 표층에서 20cm 깊이의 하층 토양을 고루 섞어 주었다. 공시작물에 대한 미생물제제의 특성과 효과를 조사하기 위해서 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중 및 건물중을 측정하였으며 배추 역시, 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중 및 건물중을 측정하였다.

2. 연구 결과

가. 미생물 제제의 제조

사과박과 간장박을 주성분으로 하여 *B. brevis* DL-2, *B. stearothermophilus* DL-3, DL-4, DL-5, *S. cerevisiae* KCCM 11304, *S. cerevisiae* KCCM 11351, *L. acidophilus* KCCM 32820 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 등과 같은 균주를 사용하여 제조한 미생물 제제의 특성은 표 1과 같다. 각 균주를 사용하여 제조한 미생물 제제의 생균수는 사용한 균주에 따라 차이가 있었으며 수분함량은 약 20%이었다. 제조한 미생물 제제의 생균수를 측정함으로써 일정한 양의 각 균주가 미생물 제제에 존재한다는 것을 확인하였다.

Table 1. Characteristics of microbial products made with various microorganisms

Strain	Viable cell number(CFU/g)	Moisture(%)
<i>Brevibacillus brevis</i> DL-2	$1.09 \pm 0.10 \times 10^9$	27
<i>Bacillus stearothermophilus</i> DL-3	$2.58 \pm 0.28 \times 10^8$	27
Unidentified DL-4	$1.06 \pm 0.04 \times 10^8$	22
Unidentified DL-5	$1.89 \pm 0.09 \times 10^8$	21
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCCM 11304	$7.97 \pm 0.76 \times 10^7$	26
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCCM 11351	$1.13 \pm 0.15 \times 10^7$	22
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCCM 32820	$1.58 \pm 0.08 \times 10^7$	16
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCCM 40265	$3.13 \pm 0.12 \times 10^7$	22

나. 토양 미생물 상의 변화

1) 상추재배 토양에 미치는 영향

a. *B. brevis* DL-2

간장박과 사과박 및 *B. brevis* DL-2 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제

재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 2 및 3과 같다.

Table 2. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *B. brevis* DL-2

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,114. (912)	4,511 (3,692)	2,154 (1,762)
	Bacteria	96 (100)	863 (899)	2,800 (2,917)	1,230 (1,281)
	Actinomycetes	25 (100)	235 (951)	1,680 (6,802)	877 (3,551)
	Fungi	1 (100)	7 (700)	13 (1,300)	16 (1,600)
	Trichoderma	1 (100)	9 (900)	19 (1,900)	30 (3,000)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	49,670 (40,643)	20,647 (16,895)	25,243 (20,655)
	Bacteria	96 (100)	23,700 (24,688)	12,200 (12,708)	13,000 (13,541)
	Actinomycetes	25 (100)	25,900 (104,858)	8,270 (33,481)	12,100 (48,988)
	Fungi	1 (100)	44 (4,400)	80 (8,000)	83 (8,300)
	Trichoderma	1 (100)	26 (2,600)	97 (9,700)	60 (6,000)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	32,380 (26,495)	43,656 (35,722)	97,610 (79,870)
	Bacteria	96 (100)	18,100 (18,854)	27,100 (28,229)	23,000 (23,958)
	Actinomycetes	25 (100)	14,000 (56,680)	16,100 (65,182)	74,000 (299,595)
	Fungi	1 (100)	157 (21,507)	233 (23,300)	253 (25,300)
	Trichoderma	1 (100)	123 (15,769)	223 (22,300)	357 (35,700)

Table 3. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *B. brevis* DL-2

Distribution		Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)			
		Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	75,796 (9,029)	44,386 (5,287)	34,930 (4,161)
	Bacteria	640 (100)	44,300 (6,922)	32,700 (5,109)	29,300 (4,578)
	Actinomycetes	191 (100)	31,300 (16,387)	11,500 (6,021)	5,500 (2,880)
	Fungi	4 (100)	113 (2,825)	93 (2,325)	70 (1,750)
	Trichoderma	5 (100)	83 (1,660)	93 (1,860)	60 (1,200)

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,144 \times 10^4$ CFU/g, $4,511 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,514 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $49,670 \times 10^4$ CFU/g, $20,642 \times 10^4$ CFU/g 및 $25,243 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $32,380 \times 10^4$ CFU/g, $43,656 \times 10^4$ CFU/g 및 $97,610 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 45.3배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 3.9배 증가한 것이다.

B. brevis DL-2 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 10.6배 및 18.7배 증가하였다. 미생물

제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.8배 및 84.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.2배 및 15.8배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.9배 및 11.9배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $75,796 \times 10^4$ CFU/g, $44,386 \times 10^4$ CFU/g 및 $34,930 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.9배, 1.2배, 4.1배 및 3.8배 증가하였다.

b. *B. stearothersophilus* DL-3

간장박과 사과박 및 *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 4 및 5와 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,789 \times 10^4$ CFU/g, $3,388 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,380 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $50,863 \times 10^4$ CFU/g, $28,750 \times$

10⁴ CFU/g 및 27,193 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제제를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 46,710 x 10⁴ CFU/g, 67,380 x 10⁴ CFU/g 및 36,238 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제제를 처리한 6주 후에 미생물 제제를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 15.2배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 1.3배 증가한 것이다.

Table 4. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *B. stearothersophilus* DL-3

Distribution	Cell number(×10 ⁴ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,789 (1,464)	3,388 (2,772)	2,380 (1,947)
	Bacteria	96 (100)	1,240 (1,292)	1,480 (1,542)	1,320 (1,376)
	Actinomycetes	25 (100)	543 (2,198)	1,890 (7,642)	1,020 (4,130)
	Fungi	1 (100)	2 (292)	10 (1,370)	30 (3,000)
	Trichoderma	1 (100)	4 (513)	8 (1,026)	10 (1,000)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	50,863 (41,619)	28,750 (23,566)	27,193 (22,251)
	Bacteria	96 (100)	27,400 (28,541)	13,300 (13,854)	14,700 (15,312)
	Actinomycetes	25 (100)	23,400 (94,737)	14,200 (57,490)	12,300 (49,798)
	Fungi	1 (100)	30 (3,000)	93 (12,740)	110 (11,000)
	Trichoderma	1 (100)	33 (3,300)	32 (4,103)	83 (8,300)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	46,710 (38,221)	67,380 (55,135)	36,283 (29,689)
	Bacteria	96 (100)	16,700 (17,396)	28,600 (29,792)	23,000 (23,985)
	Actinomycetes	25 (100)	29,700 (120,243)	38,300 (155,061)	12,700 (51,417)
	Fungi	1 (100)	177 (17,700)	210 (28,767)	263 (26,300)
	Trichoderma	1 (100)	133 (13,300)	270 (34,615)	320 (32,000)

Table 5. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *B. stearothersophilus* DL-3

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	73,790 (8,784)	32,660 (3,890)	54,940 (6,544)
	Bacteria	640 (100)	29,000 (4,531)	16,700 (2,609)	42,700 (6,672)
	Actinomycetes	191 (100)	44,000 (23,037)	15,200 (7,958)	12,000 (6,283)
	Fungi	4 (100)	397 (9,925)	187 (4,675)	93 (2,325)
	Trichoderma	5 (100)	393 (7,860)	573 (11,460)	147 (2,940)

B. stearothersophilus DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 11.1배 및 17.4배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 12.1배 및 12.5배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.7배 및 8.8배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 8.3배 및 32.0배 증가하였다.

미생물 제제를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제제를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times$

10^4 CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $73,790 \times 10^4$ CFU/g, $32,660 \times 10^4$ CFU/g 및 $54,940 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 2.7배, 2.5배, 5.5배 및 9.2배 증가하였다.

c. unidentified strain DL-4

간장박과 사과박 및 DL-4 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하

Table 6. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with DL-4

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,045 (855)	3,059 (2,503)	3,357 (2,747)
	Bacteria	96 (100)	503 (524)	1,100 (1,146)	2,530 (2,635)
	Actinomycetes	25 (100)	533 (2,158)	1,940 (7,854)	747 (3,024)
	Fungi	1 (100)	5 (500)	9 (900)	50 (5,000)
	Trichoderma	1 (100)	4 (400)	10 (1,000)	30 (3,000)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	41,788 (34,194)	20,947 (17,140)	15,470 (12,680)
	Bacteria	96 (100)	22,100 (23,021)	11,800 (12,292)	11,000 (11,458)
	Actinomycetes	25 (100)	19,300 (78,138)	8,700 (35,223)	4,170 (16,883)
	Fungi	1 (100)	246 (24,600)	250 (25,000)	230 (23,000)
	Trichoderma	1 (100)	142 (14,200)	197 (19,700)	70 (7,000)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	40,086 (32,800)	46,430 (37,992)	88,293 (72,247)
	Bacteria	96 (100)	5,030 (5,240)	26,700 (27,813)	28,300 (29,479)
	Actinomycetes	25 (100)	34,000 (137,652)	19,400 (78,543)	59,700 (241,700)
	Fungi	1 (100)	563 (56,300)	183 (18,300)	173 (17,300)
	Trichoderma	1 (100)	493 (49,300)	147 (14,700)	120 (12,000)

Table 7. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with DL-4

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	48,596 (5,789)	36,717 (4,374)	52,283 (6,228)
	Bacteria	640 (100)	23,000 (3,594)	20,700 (3,234)	38,700 (6,047)
	Actinomycetes	191 (100)	23,700 (12,408)	15,600 (8,168)	13,200 (6,911)
	Fungi	4 (100)	983 (24,575)	230 (5,750)	300 (7,500)
	Trichoderma	5 (100)	913 (18,260)	187 (3,740)	83 (1,660)

지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 6 및 7과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,045 \times 10^4$ CFU/g, $3,059 \times 10^4$ CFU/g 및 $3,357 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $41,788 \times 10^4$ CFU/g, $20,947 \times 10^4$ CFU/g 및 $15,470 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 40.086×10^4 CFU/g, $46,430 \times 10^4$ CFU/g 및 $88,293 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 26.3배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 5.7배 증가한 것이다.

DL-4 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 4.3배 및 11.2배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.0배 및 3.5배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 4.6배 및 3.5배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.3배 및 4.0배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $48,596 \times 10^4$ CFU/g, $36,717 \times 10^4$ CFU/g 및 $52,283 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.6배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 2.5배, 2.8배, 17.6배 및 5.2배 증가하였다.

d. unidentified strain DL-5

간장박과 사과박 및 DL-5 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 8 및 9와 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생

물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 690×10^4 CFU/g, $2,277 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,858 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $53,172 \times 10^4$ CFU/g, $22,884 \times 10^4$ CFU/g 및 $16,163 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $21,949 \times 10^4$ CFU/g, $26,380 \times 10^4$ CFU/g 및 $40,387 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 14.1배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 2.5배 증가한 것이다.

Table 8. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with DL-5

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	690 (565)	2,277 (1,863)	2,858 (2,338)
	Bacteria	96 (100)	490 (510)	1,120 (1,167)	1,670 (1,740)
	Actinomycetes	25 (100)	190 (769)	1,140 (4,615)	1,170 (4,737)
	Fungi	1 (100)	5 (500)	8 (800)	17 (1,700)
	Trichoderma	1 (100)	5 (500)	9 (900)	1 (100)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	53,172 (43,509)	22,884 (18,725)	16,163 (13,226)
	Bacteria	96 (100)	19,300 (20,104)	14,100 (14,689)	11,300 (11,771)
	Actinomycetes	25 (100)	33,700 (136,437)	8,500 (34,413)	4,570 (18,502)
	Fungi	1 (100)	99 (9,900)	107 (10,700)	193 (19,300)
	Trichoderma	1 (100)	74 (7,400)	177 (17,700)	100 (10,000)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	21,949 (17,960)	26,380 (21,586)	40,387 (33,047)
	Bacteria	96 (100)	4,970 (5,177)	14,700 (15,313)	26,700 (27,812)
	Actinomycetes	25 (100)	16,700 (67,611)	11,200 (45,344)	13,300 (53,846)
	Fungi	1 (100)	173 (17,300)	260 (26,000)	187 (18,700)
	Trichoderma	1 (100)	106 (10,600)	220 (22,000)	200 (20,000)

Table 9. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with DL-5

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	76,160 (9,072)	60,648 (7,220)	67,030 (7,985)
	Bacteria	640 (100)	52,000 (8,125)	2,530 (395)	54,000 (8,438)
	Actinomycetes	191 (100)	23,800 (12,461)	3,100 (1,623)	12,700 (6,649)
	Fungi	4 (100)	187 (4,675)	223 (5,575)	160 (3,200)
	Trichoderma	5 (100)	173 (3,460)	210 (4,200)	170 (3,400)

DL-5 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 6.8배 및 15.7배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.9배 및 11.4배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 11.4배 및 11.0배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 100.0배 및 200.0배 증가하였다.

미생물 제제를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제제를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 기준량 처

리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $76,160 \times 10^4$ CFU/g, $60,648 \times 10^4$ CFU/g 및 $67,030 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 3.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 3.4배, 2.7배, 9.4배 및 10.6배 증가하였다.

e. *S. cerevisiae* KCCM 11304

간장박과 사과박 및 *S. cerevisiae* KCCM 11304 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표10 및 11과 같다.

Table 10. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11304

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,772 (1,450)	7,122 (5,828)	3,287 (2,689)
	Bacteria	96 (100)	1,120 (1,167)	4,630 (4,823)	2,030 (2,115)
	Actinomycetes	25 (100)	620 (2,510)	2,470 (9,880)	1,210 (4,899)
	Fungi	1 (100)	23 (2,300)	12 (1,200)	27 (2,700)
	Trichoderma	1 (100)	9 (900)	10 (1,000)	20 (2,000)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	48,120 (39,375)	22,336 (18,277)	13,870 (11,349)
	Bacteria	96 (100)	23,000 (23,958)	11,700 (12,188)	10,300 (10,729)
	Actinomycetes	25 (100)	25,000 (101,215)	10,600 (42,915)	3,430 (13,887)
	Fungi	1 (100)	92 (9,200)	70 (7,000)	70 (7,000)
	Trichoderma	1 (100)	28 (2,800)	29 (2,900)	71 (7,100)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	35,890 (29,368)	26,717 (21,862)	34,023 (27,840)
	Bacteria	96 (100)	29,000 (30,208)	14,900 (15,521)	21,300 (22,188)
	Actinomycetes	25 (100)	6,500 (26,315)	11,500 (46,559)	12,300 (49,798)
	Fungi	1 (100)	180 (18,000)	140 (14,000)	180 (18,000)
	Trichoderma	1 (100)	210 (21,000)	177 (17,700)	243 (24,300)

Table 11. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11304

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	48,000 (5,718)	27,457 (3,271)	31,130 (3,708)
	Bacteria	640 (100)	21,300 (3,328)	23,700 (3,703)	21,700 (3,391)
	Actinomycetes	191 (100)	26,400 (13,822)	3,370 (1,764)	9,100 (4,764)
	Fungi	4 (100)	153 (3,825)	187 (4,675)	157 (3,925)
	Trichoderma	5 (100)	147 (2,940)	200 (4,000)	173 (3,460)

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,772 \times 10^4$ CFU/g, $7,122 \times 10^4$ CFU/g 및 $3,827 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $48,120 \times 10^4$ CFU/g, $22,336 \times 10^4$ CFU/g 및 $13,870 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $35,890 \times 10^4$ CFU/g, $26,717 \times 10^4$ CFU/g 및 $34,023 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 8.9배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 2.5배 증가한 것이다.

S. cerevisiae KCCM 11304 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.1배 및 10.5배 증가하였

다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.8배 및 10.2배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.6배 및 6.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.6배 및 12.2배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $48,000 \times 10^4$ CFU/g, $27,457 \times 10^4$ CFU/g 및 $31,130 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 3.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.4배, 1.9배, 9.2배 및 10.8배 증가하였다.

f. *S. cerevisiae* KCCM 11351

간장박과 사과박 및 *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 12 및 13과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,637 \times 10^4$ CFU/g, $3,913 \times 10^4$ CFU/g 및 $7,018 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $52,726 \times 10^4$ CFU/g, $24,955 \times$

10⁴ CFU/g 및 11,920 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 31,210 x 10⁴ CFU/g, 51,170 x 10⁴ CFU/g 및 109,473 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 15.6배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 9.2배 증가한 것이다.

S. cerevisiae KCCM 11351 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 1.6배 및 4.3배 증가하였

Table 12. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11351

Distribution	Cell number(×10 ⁴ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,637 (1,339)	3,913 (3,202)	7,018 (5,743)
	Bacteria	96 (100)	970 (1,010)	2,470 (2,572)	5,370 (5,594)
	Actinomycetes	25 (100)	653 (2,644)	1,420 (5,680)	1,630 (6,599)
	Fungi	1 (100)	5 (500)	8 (800)	17 (1,700)
	Trichoderma	1 (100)	9 (900)	15 (1,500)	1 (100)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	52,726 (43,144)	24,955 (20,420)	11,920 (9,753)
	Bacteria	96 (100)	22,700 (23,645)	11,900 (12,396)	8,370 (8,719)
	Actinomycetes	25 (100)	30,000 (120,000)	13,000 (52,000)	3,430 (13,720)
	Fungi	1 (100)	12 (1,200)	21 (2,100)	73 (7,300)
	Trichoderma	1 (100)	14 (1,400)	34 (3,400)	47 (4,700)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	31,210 (25,538)	51,170 (41,871)	109,473 (89,578)
	Bacteria	96 (100)	26,400 (27,500)	20,100 (20,938)	23,000 (23,958)
	Actinomycetes	25 (100)	3,380 (13,684)	30,700 (122,800)	86,000 (344,000)
	Fungi	1 (100)	620 (62,000)	170 (17,000)	213 (21,300)
	Trichoderma	1 (100)	810 (81,000)	200 (20,000)	260 (26,000)

Table 13. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11351

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	57,716 (6,875)	47,823 (5,693)	47,030 (5,602)
	Bacteria	640 (100)	35,000 (5,469)	35,930 (5,614)	33,300 (5,203)
	Actinomycetes	191 (100)	21,600 (11,309)	11,600 (6,073)	13,500 (7,068)
	Fungi	4 (100)	483 (12,075)	133 (3,325)	113 (2,825)
	Trichoderma	5 (100)	633 (12,660)	160 (3,200)	117 (2,340)

다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.1배 및 52.8배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 4.3배 및 12.5배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 47.0배 및 260.0배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $57,716 \times 10^4$ CFU/g, $47,823 \times 10^4$ CFU/g 및 $47,030 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제

재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 2.1배, 2.9배, 6.6배 및 7.3배 증가하였다.

g. *L. acidophilus* KCCM 32820

간장박과 사과박 및 *L. acidophilus* KCCM 32820 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 14 및 15와 같다.

Table 14. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 32820

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	1,477 (1,208)	5,823 (4,765)	1,686 (1,377)
	Bacteria	96 (100)	1,130 (1,177)	4,330 (4,510)	1,030 (1,073)
	Actinomycetes	25 (100)	339 (1,356)	1,470 (5,880)	623 (2,492)
	Fungi	1 (100)	4 (400)	10 (1,000)	17 (1,700)
	Trichoderma	1 (100)	3 (300)	13 (1,300)	13 (1,300)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	33,522 (27,430)	19,093 (15,650)	14,910 (12,221)
	Bacteria	96 (100)	13,300 (13,854)	11,100 (11,562)	8,900 (9,270)
	Actinomycetes	25 (100)	20,100 (80,400)	7,900 (31,600)	5,930 (23,720)
	Fungi	1 (100)	56 (5,600)	40 (4,000)	37 (3,700)
	Trichoderma	1 (100)	65 (6,500)	53 (5,300)	43 (4,300)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	35,680 (29,196)	36,990 (30,268)	52,776 (43,259)
	Bacteria	96 (100)	15,000 (15,625)	17,300 (18,021)	25,700 (26,771)
	Actinomycetes	25 (100)	20,200 (80,800)	19,200 (76,800)	26,700 (306,800)
	Fungi	1 (100)	270 (27,000)	213 (21,300)	203 (20,300)
	Trichoderma	1 (100)	310 (31,000)	277 (27,700)	173 (17,300)

Table 15. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 32820

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	163,800 (19,512)	164,513 (19,585)	226,946 (27,033)
	Bacteria	640 (100)	147,000 (22,969)	151,700 (23,703)	77,700 (12,141)
	Actinomycetes	191 (100)	11,900 (6,230)	12,600 (6,597)	14,900 (78,01)
	Fungi	4 (100)	1,700 (42,500)	90 (2,250)	143 (3,575)
	Trichoderma	5 (100)	3,200 (64,000)	123 (2,460)	103 (2,060)

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,477 \times 10^4$ CFU/g, $5,823 \times 10^4$ CFU/g 및 $1,686 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,522 \times 10^4$ CFU/g, $10,093 \times 10^4$ CFU/g 및 $14,190 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $35,680 \times 10^4$ CFU/g, $36,990 \times 10^4$ CFU/g 및 $52,776 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 31.3배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 3.7배 증가한 것이다.

L. acidophilus KCCM 32820 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 8.6배 및 25.0배 증가

하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 9.5배 및 42.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.2배 및 11.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.3배 및 13.3배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $163,800 \times 10^4$ CFU/g, $164,513 \times 10^4$ CFU/g 및 $226,946 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 11.1배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 4.9배, 3.2배, 8.4배 및 6.4배 증가하였다.

h. *L. acidophilus* KCCM 40265

간장박과 사과박 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 16 및 17과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 122×10^4 CFU/g, 96×10^4 CFU/g, 25×10^4 CFU/g, 1×10^4 CFU/g 및 1×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $3,450 \times 10^4$ CFU/g, $6,180 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,290 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $38,861 \times 10^4$ CFU/g, $13,417 \times$

10⁴ CFU/g 및 26,190 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 42,120 x 10⁴ CFU/g, 38,860 x 10⁴ CFU/g 및 53,640 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 23.4배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 2.0배 증가한 것이다.

L. acidophilus KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 7.7배 및 20.9배 증가

Table 16. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 40265

Distribution	Cell number(×10 ⁴ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	122 (100)	3,450 (2,823)	6,180 (5,573)	2,290 (1,874)
	Bacteria	96 (100)	1,060 (1,104)	5,000 (5,208)	1,500 (1,563)
	Actinomycetes	25 (100)	2,340 (9,360)	1,790 (7,160)	740 (2,960)
	Fungi	1 (100)	26 (2,600)	9 (900)	17 (1,700)
	Trichoderma	1 (100)	24 (2,400)	11 (1,100)	33 (3,300)
Standard treatment	Total cell number	122 (100)	38,861 (31,853)	13,417 (10,979)	26,190 (21,467)
	Bacteria	96 (100)	17,900 (18,646)	11,100 (11,563)	11,500 (11,979)
	Actinomycetes	25 (100)	20,200 (81,781)	21,000 (8,400)	14,470 (57,880)
	Fungi	1 (100)	438 (43,800)	127 (12,700)	103 (10,300)
	Trichoderma	1 (100)	323 (32,300)	90 (9,000)	117 (11,700)
Double times treatment	Total cell number	122 (100)	42,120 (34,465)	38,860 (31,798)	53,640 (43,967)
	Bacteria	96 (100)	22,700 (23,645)	26,300 (27,396)	31,300 (32,604)
	Actinomycetes	25 (100)	18,400 (73,600)	12,100 (48,400)	21,700 (286,800)
	Fungi	1 (100)	417 (41,700)	247 (24,700)	363 (36,300)
	Trichoderma	1 (100)	603 (60,300)	213 (21,300)	277 (27,700)

Table 17. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of lettuces after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 40265

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	840 (100)	4,075 (485)	7,777 (926)	20,463 (2,436)
	Bacteria	640 (100)	350 (55)	4,700 (734)	15,700 (2,453)
	Actinomycetes	191 (100)	3,670 (1,921)	3,030 (1,586)	4,730 (2,476)
	Fungi	4 (100)	31 (775)	23 (575)	17 (425)
	Trichoderma	5 (100)	24 (480)	23 (460)	16 (320)
Standard treatment	Total cell number	840 (100)	54,240 (6,461)	30,513 (3,635)	38,083 (4,536)
	Bacteria	640 (100)	24,200 (3,781)	24,300 (3,797)	27,700 (4,328)
	Actinomycetes	191 (100)	29,500 (15,445)	5,870 (3,073)	10,200 (5,340)
	Fungi	4 (100)	273 (6,825)	193 (4,825)	103 (2,575)
	Trichoderma	5 (100)	267 (5,340)	150 (3,000)	80 (1,600)

하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 19.6배 및 29.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 6.1배 및 21.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.5배 및 8.4배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 상추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 840×10^4 CFU/g, 640×10^4 CFU/g, 191×10^4 CFU/g, 4×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $4,075 \times 10^4$ CFU/g, $7,777 \times 10^4$ CFU/g 및 $20,463 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $54,240 \times 10^4$ CFU/g, $30,513 \times 10^4$ CFU/g 및 $38,038 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.9배 증가하였다.

미생물 제제를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.8배, 2.2배, 6.1배 및 5.0배 증가하였다.

2) 배추재배 토양에 미치는 영향

a. *B. brevis* DL-2

간장박과 사과박 및 *B. brevis* DL-2 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제제를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 18 및 19와 같다.

Table 18. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *B. brevis* DL-2

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	1,917 (170)	3,950 (350)	2,297 (204)
	Bacteria	793 (100)	1,253 (158)	2,470 (311)	1,700 (214)
	Actinomycetes	325 (100)	650 (200)	1,450 (446)	570 (175)
	Fungi	6 (100)	9 (150)	13 (217)	17 (283)
	Trichoderma	4 (100)	5 (125)	17 (425)	10 (250)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	18,247 (1,618)	36,400 (3,227)	30,964 (2,745)
	Bacteria	793 (100)	9,900 (1,248)	25,300 (3,190)	21,000 (2,648)
	Actinomycetes	325 (100)	8,300 (2,554)	10,900 (3,354)	9,800 (3,015)
	Fungi	6 (100)	21 (350)	87 (1,450)	87 (1,450)
	Trichoderma	4 (100)	26 (650)	113 (2,825)	77 (1,925)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	33,029 (2,928)	72,923 (6,465)	54,230 (4,808)
	Bacteria	793 (100)	12,900 (1,627)	36,700 (4,628)	27,700 (3,493)
	Actinomycetes	325 (100)	20,000 (6,154)	35,700 (10,985)	26,000 (8,000)
	Fungi	6 (100)	47 (783)	290 (4,833)	220 (3,667)
	Trichoderma	4 (100)	83 (2,075)	233 (5,825)	310 (7,750)

Table 19. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *B. brevis* DL-2

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	126,177 (1,600)	76,297 (968)	73,650 (934)
	Bacteria	5,530 (100)	72,000 (1,302)	48,300 (873)	43,000 (778)
	Actinomycetes	2,250 (100)	54,000 (2,400)	27,900 (1,240)	30,000 (1,333)
	Fungi	55 (100)	77 (140)	47 (85)	633 (1,151)
	Trichoderma	51 (100)	100 (196)	150 (294)	500 (980)

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,917 \times 10^4$ CFU/g, $3,950 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,297 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $18,247 \times 10^4$ CFU/g, $36,400 \times 10^4$ CFU/g 및 $30,964 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,029 \times 10^4$ CFU/g, $72,923 \times 10^4$ CFU/g 및 $54,230 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 23.6배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 1.8배 증가한 것이다.

B. brevis DL-2 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 12.4배 및 16.3배 증가하였다. 미생

물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 17.2배 및 45.6배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.1배 및 12.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 7.1배 및 31.0배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $136,177 \times 10^4$ CFU/g, $76,297 \times 10^4$ CFU/g 및 $73,650 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.3배, 7.6배, 37.2배 및 29.4배 증가하였다.

b. *B. stearothersophilus* DL-3

간장박과 사과박 및 *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 20 및 21과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 726×10^4 CFU/g, $1,377 \times 10^4$ CFU/g 및 $1,427 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $25,990 \times 10^4$ CFU/g, $31,313 \times$

10⁴ CFU/g 및 42,230 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 71,930 x 10⁴ CFU/g, 62,170 x 10⁴ CFU/g 및 64,200 x 10⁴ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 45.0배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 29.6배 증가한 것이다.

B. stearothermophilus DL-3균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 38.4배 및 55.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 18.4배 및

Table 20. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *B. stearothermophilus* DL-3

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	726 (64)	1,377 (122)	1,427 (127)
	Bacteria	793 (100)	400 (50)	507 (64)	800 (101)
	Actinomycetes	325 (100)	320 (98)	850 (262)	597 (184)
	Fungi	6 (100)	3 (50)	7 (117)	20 (333)
	Trichoderma	4 (100)	3 (75)	13 (325)	10 (250)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	25,990 (2,304)	31,313 (2,776)	42,230 (3,744)
	Bacteria	793 (100)	10,600 (1,337)	20,200 (2,547)	30,700 (3,871)
	Actinomycetes	325 (100)	12,800 (3,938)	10,900 (3,354)	11,000 (3,385)
	Fungi	6 (100)	1,350 (21,774)	103 (1,712)	263 (4,383)
	Trichoderma	4 (100)	1,240 (32,891)	110 (2,750)	267 (6,675)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	71,930 (6,376)	62,170 (5,512)	64,200 (5,691)
	Bacteria	793 (100)	38,000 (4,792)	43,700 (5,511)	44,700 (5,637)
	Actinomycetes	325 (100)	28,000 (8,615)	18,000 (5,538)	18,700 (5,754)
	Fungi	6 (100)	2,600 (43,333)	250 (4,167)	460 (7,667)
	Trichoderma	4 (100)	3,330 (83,250)	220 (5,500)	340 (8,500)

Table 21. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *B. stearothermophilus* DL-3

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	136,837 (1,735)	74,546 (945)	79,620 (1,010)
	Bacteria	5,530 (100)	76,000 (1,374)	38,000 (687)	57,700 (1,043)
	Actinomycetes	2,250 (100)	59,000 (2,622)	36,300 (1,613)	21,700 (964)
	Fungi	55 (100)	237 (431)	143 (260)	87 (158)
	Trichoderma	51 (100)	1,600 (3,137)	103 (202)	133 (261)

31.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.2배 및 23.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 26.7배 및 34.0배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $136,837 \times 10^4$ CFU/g, $74,546 \times 10^4$ CFU/g 및 $79,620 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주

후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.1배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코테마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추 재배 토양에 비하여 각각 1.7배, 5.5배, 1.1배 및 7.8배 증가하였다.

c. unidentified strain DL-4

간장박과 사과박 및 DL-4 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 22 및 23과 같다.

Table 22. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with DL-4

Distribution	Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%) ^{a)}				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	475 (42)	5,330 (473)	3,746 (332)
	Bacteria	793 (100)	343 (43)	4,000 (504)	2,930 (369)
	Actinomycetes	325 (100)	127 (39)	1,300 (400)	783 (241)
	Fungi	6 (100)	2 (33)	13 (217)	17 (283)
	Trichoderma	4 (100)	4 (100)	17 (425)	17 (425)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	36,770 (3,260)	21,186 (1,878)	27,520 (2,440)
	Bacteria	793 (100)	14,800 (1,866)	12,900 (1,627)	25,300 (3,190)
	Actinomycetes	325 (100)	19,500 (6,000)	8,000 (2,462)	1,860 (572)
	Fungi	6 (100)	1,370 (22,833)	93 (1,550)	153 (2,550)
	Trichoderma	4 (100)	1,100 (27,500)	193 (4,825)	207 (5,175)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	37,030 (3,282)	27,249 (2,416)	43,340 (3,842)
	Bacteria	793 (100)	17,400 (2,194)	32,500 (4,098)	24,000 (3,026)
	Actinomycetes	325 (100)	11,100 (3,415)	26,300 (8,092)	18,700 (5,754)
	Fungi	6 (100)	4,430 (73,833)	247 (4,117)	267 (4,450)
	Trichoderma	4 (100)	4,100 (102,500)	377 (9,425)	373 (9,325)

Table 23. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with DL-4

Distribution		Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%) ^{a)}			
		Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	65,978 (837)	40,383 (512)	81,640 (1,035)
	Bacteria	5,530 (100)	48,700 (881)	26,000 (470)	62,700 (1,134)
	Actinomycetes	2,250 (100)	8,678 (386)	14,000 (622)	18,500 (822)
	Fungi	55 (100)	4,500 (8,182)	183 (333)	260 (473)
	Trichoderma	51 (100)	4,100 (8,039)	200 (392)	180 (353)

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코테마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 475×10^4 CFU/g, $5,330 \times 10^4$ CFU/g 및 $3,746 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $36,770 \times 10^4$ CFU/g, $21,186 \times 10^4$ CFU/g 및 $27,520 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $37,030 \times 10^4$ CFU/g, $27,249 \times 10^4$ CFU/g 및 $43,340 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 11.6배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 1.6배 증가한 것이다.

DL-4 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 8.6배 및 8.2배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의

수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.4배 및 23.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 9.0배 및 15.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 12.2배 및 21.9배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $65,978 \times 10^4$ CFU/g, $40,383 \times 10^4$ CFU/g 및 $81,640 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.2배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.9배, 4.7배, 15.3배 및 10.6배 증가하였다.

d. unidentified strain DL-5

간장박과 사과박 및 DL-5 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 24 및 25와 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 916×10^4 CFU/g, $2,980 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,497 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $34,574 \times 10^4$ CFU/g, $22,623 \times 10^4$ CFU/g 및 $32,927 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의

총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $39,910 \times 10^4$ CFU/g, $86,370 \times 10^4$ CFU/g 및 $65,773 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 26.3배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 2.0배 증가한 것이다.

DL-5 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.2배 및 29.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.4 및 17.1배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 11.0배 및 49.0배 증

Table 24. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with DL-5

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	916 (81)	2,980 (264)	2,497 (221)
	Bacteria	793 (100)	473 (60)	2,200 (277)	1,770 (223)
	Actinomycetes	325 (100)	427 (131)	743 (229)	707 (218)
	Fungi	6 (100)	10 (167)	17 (283)	7 (117)
	Trichoderma	4 (100)	6 (150)	20 (500)	14 (350)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	34,574 (3,065)	22,623 (2,006)	32,927 (2,919)
	Bacteria	793 (100)	20,700 (2,610)	19,900 (2,509)	23,300 (2,938)
	Actinomycetes	325 (100)	13,500 (4,154)	2,510 (772)	9,470 (2,914)
	Fungi	6 (100)	167 (2,783)	103 (1,716)	77 (1,283)
	Trichoderma	4 (100)	207 (5,175)	110 (2,750)	80 (2,000)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	39,910 (3,538)	86,370 (7,657)	65,773 (5,831)
	Bacteria	793 (100)	26,800 (3,380)	57,700 (7,276)	53,000 (6,683)
	Actinomycetes	325 (100)	12,100 (3,723)	28,000 (8,615)	12,100 (3,723)
	Fungi	6 (100)	450 (7,500)	307 (5,117)	343 (5,717)
	Trichoderma	4 (100)	560 (14,00)	363 (9,075)	330 (8,250)

Table 25. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with DL-5

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	55,424 (783)	55,830 (708)	64,290 (815)
	Bacteria	5,530 (100)	33,300 (602)	30,700 (555)	52,300 (946)
	Actinomycetes	2,250 (100)	22,000 (978)	24,900 (1,107)	11,700 (520)
	Fungi	55 (100)	37 (67)	120 (218)	170 (309)
	Trichoderma	51 (100)	87 (171)	110 (216)	120 (235)

가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 5.7배 및 23.6배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $55,424 \times 10^4$ CFU/g, $55,830 \times 10^4$ CFU/g 및 $64,290 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.6배, 2.9배, 2.2배 및 7.1배 증가하였다.

e. *S. cerevisiae* KCCM 11304

간장박과 사과박 및 *S. cerevisiae* KCCM 11304 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 26 및 27과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코테마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생

Table 26. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11304

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	861 (76)	1,968 (174)	2,154 (191)
	Bacteria	793 (100)	700 (88)	1,570 (198)	1,900 (240)
	Actinomycetes	325 (100)	150 (46)	360 (111)	237 (73)
	Fungi	6 (100)	2 (33)	5 (83)	7 (117)
	Trichoderma	4 (100)	8 (200)	33 (825)	10 (250)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	51,500 (4,566)	75,537 (6,697)	35,234 (3,124)
	Bacteria	793 (100)	14,700 (1,854)	54,000 (6,810)	25,000 (3,153)
	Actinomycetes	325 (100)	30,000 (9,230)	20,700 (6,369)	10,100 (3,108)
	Fungi	6 (100)	3,170 (52,833)	320 (5,333)	67 (1,117)
	Trichoderma	4 (100)	3,630 (90,750)	517 (12,925)	67 (1,675)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	77,400 (6,862)	96,050 (8,515)	106,536 (9,445)
	Bacteria	793 (100)	11,000 (1,387)	61,700 (7,781)	71,700 (9,042)
	Actinomycetes	325 (100)	33,100 (10,184)	33,700 (10,369)	34,300 (10,554)
	Fungi	6 (100)	15,900 (265,000)	267 (4,450)	343 (5,717)
	Trichoderma	4 (100)	17,400 (461,538)	383 (9,575)	193 (4,825)

Table 27. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11304

Distribution		Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)			
		Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	79,230 (1,005)	75,494 (957)	71,517 (907)
	Bacteria	5,530 (100)	43,300 (783)	43,000 (778)	47,700 (863)
	Actinomycetes	2,250 (100)	34,700 (1,542)	32,300 (1,436)	23,300 (1,036)
	Fungi	55 (100)	430 (782)	77 (140)	257 (467)
	Trichoderma	51 (100)	800 (1,569)	117 (229)	260 (510)

물 제제를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 861×10^4 CFU/g, $1,968 \times 10^4$ CFU/g 및 $2,154 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $51,500 \times 10^4$ CFU/g, $75,537 \times 10^4$ CFU/g 및 $35,234 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $77,400 \times 10^4$ CFU/g, $96,050 \times 10^4$ CFU/g 및 $106,535 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 처리한 6주 후에 미생물 제제를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 49.5배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 2.0배 증가한 것이다.

S. cerevisiae KCCM 11304 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.2배 및 37.7배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 42.6배 및 144.7배 증가하였다. 미생물 제제를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에

채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 9.6배 및 49.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 6.7배 및 19.3배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $79,230 \times 10^4$ CFU/g, $75,494 \times 10^4$ CFU/g 및 $71,517 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.4배, 5.7배, 3.3배 및 15.3배 증가하였다.

f. *S. cerevisiae* KCCM 11351

간장박과 사과박 및 *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 28 및 29과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $2,000 \times 10^4$ CFU/g, $2,140 \times 10^4$ CFU/g 및 $1,467 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $32,940 \times 10^4$ CFU/g, $50,190 \times 10^4$ CFU/g 및 $36,840 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $48,530 \times 10^4$ CFU/g, $41,623 \times 10^4$ CFU/g 및 $73,924 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한

토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 50.4배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 2.0배 증가한 것이다.

S. cerevisiae KCCM 11351 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 12.9배 및 27.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 21.8배 및

Table 28. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11351

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	2,000 (177)	2,140 (190)	1,467 (130)
	Bacteria	793 (100)	1,483 (61)	1,867 (235)	1,890 (238)
	Actinomycetes	325 (100)	500 (154)	250 (77)	560 (172)
	Fungi	6 (100)	9 (150)	10 (167)	10 (167)
	Trichoderma	4 (100)	8 (200)	13 (325)	7 (175)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	32,940 (2,920)	50,190 (4,450)	36,840 (3,266)
	Bacteria	793 (100)	17,000 (2,144)	27,900 (3,518)	24,300 (3,064)
	Actinomycetes	325 (100)	13,000 (4,000)	22,000 (6,769)	12,200 (3,754)
	Fungi	6 (100)	1,390 (23,167)	137 (2,283)	173 (2,883)
	Trichoderma	4 (100)	1,550 (38,750)	153 (3,825)	167 (4,175)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	48,530 (4,302)	41,623 (3,690)	73,924 (6,554)
	Bacteria	793 (100)	25,100 (3,165)	22,300 (2,812)	51,700 (6,520)
	Actinomycetes	325 (100)	18,500 (5,692)	19,000 (5,846)	21,700 (6,677)
	Fungi	6 (100)	2,800 (46,667)	193 (3,217)	227 (3,783)
	Trichoderma	4 (100)	2,130 (53,250)	130 (3,250)	297 (7,425)

Table 29. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *S. cerevisiae* KCCM 11351

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	54,043 (1,319)	55,394 (702)	46,210 (586)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	36,700 (664)	30,700 (555)
	Actinomycetes	2,250 (100)	23,700 (1,053)	18,300 (813)	15,200 (676)
	Fungi	55 (100)	730 (1,327)	187 (340)	187 (340)
	Trichoderma	51 (100)	913 (1,790)	207 (406)	123 (241)

38.8배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 17.3배 및 22.7배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 23.9배 및 42.4배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,597 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $54,043 \times 10^4$ CFU/g, $55,394 \times 10^4$ CFU/g 및 $46,210 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.2배

증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코테마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추 재배 토양에 비하여 각각 0.9배, 3.8배, 2.4배 및 7.2배 증가하였다.

g. *L. acidophilus* KCCM 32820

간장박과 사과박 및 *L. acidophilus* KCCM 32820 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 30 및 31과 같다.

Table 30. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 32820

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	1,536 (136)	2,287 (203)	1,279 (113)
	Bacteria	793 (100)	1,250 (158)	1,630 (206)	960 (121)
	Actinomycetes	325 (100)	277 (85)	630 (194)	293 (90)
	Fungi	6 (100)	3 (50)	4 (67)	16 (267)
	Trichoderma	4 (100)	6 (150)	23 (575)	10 (250)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	86,070 (7,630)	95,170 (8,437)	102,026 (9,045)
	Bacteria	793 (100)	44,700 (5,637)	55,700 (7,023)	60,000 (7,566)
	Actinomycetes	325 (100)	39,000 (12,000)	39,230 (12,070)	41,700 (12,831)
	Fungi	6 (100)	1,350 (22,500)	90 (1,500)	123 (2,050)
	Trichoderma	4 (100)	1,020 (25,500)	150 (3,750)	203 (5,075)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	93,097 (8,253)	113,870 (10,006)	213,587 (18,936)
	Bacteria	793 (100)	53,900 (6,697)	66,300 (8,361)	153,000 (19,294)
	Actinomycetes	325 (100)	37,650 (11,587)	46,300 (14,246)	59,300 (18,246)
	Fungi	6 (100)	730 (12,167)	1,127 (18,783)	537 (8,950)
	Trichoderma	4 (100)	817 (20,425)	143 (3,575)	750 (18,750)

Table 31. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 32820

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	46,070 (584)	61,780 (783)	52,817 (670)
	Bacteria	5,530 (100)	31,300 (566)	35,200 (275)	35,700 (646)
	Actinomycetes	2,250 (100)	13,700 (609)	26,000 (2,044)	17,000 (756)
	Fungi	55 (100)	930 (1,691)	483 (878)	370 (673)
	Trichoderma	51 (100)	140 (275)	97 (190)	47 (92)

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,536 \times 10^4$ CFU/g, $2,287 \times 10^4$ CFU/g 및 $1,279 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $86,070 \times 10^4$ CFU/g, $95,170 \times 10^4$ CFU/g 및 $102,026 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $93,097 \times 10^4$ CFU/g, $113,870 \times 10^4$ CFU/g 및 $213,587 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 170.0배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 2.1배 증가한 것이다.

L. acidophilus KCCM 32820 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하

는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 62.5배 및 159.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 142.3배 및 202.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 7.7배 및 33.6배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 20.3배 및 75.0배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,579 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $46,070 \times 10^4$ CFU/g, $61,780 \times 10^4$ CFU/g 및 $52,817 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 1.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양에 비하여 각각 1.1배, 4.3배, 4.8배 및 2.8배 증가하였다.

h. *L. acidophilus* KCCM 40265

간장박과 사과박 및 *L. acidophilus* KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 포트에서의 결과 및 포장에서의 결과는 각각 표 32 및 33과 같다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포트의 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $1,128 \times 10^4$ CFU/g, 793×10^4 CFU/g, 325×10^4 CFU/g, 6×10^4 CFU/g 및 4×10^4 CFU/g이었다. 포트 실험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $2,515 \times 10^4$ CFU/g, $2,270 \times 10^4$ CFU/g 및 $3,364 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리

한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $63,057 \times 10^4$ CFU/g, $59,360 \times 10^4$ CFU/g 및 $51,766 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $77,083 \times 10^4$ CFU/g, $89,510 \times 10^4$ CFU/g 및 $87,500 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 처리한 6주 후에 미생물 제제를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 26.0배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 1.7배 증가한 것이다.

Table 32. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 40265

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	1,128 (100)	2,515 (225)	2,270 (201)	3,364 (298)
	Bacteria	793 (100)	1,337 (4167)	1,180 (149)	2,040 (257)
	Actinomycetes	325 (100)	1,160 (357)	1,060 (326)	1,300 (400)
	Fungi	6 (100)	10 (167)	23 (383)	7 (117)
	Trichoderma	4 (100)	8 (200)	7 (175)	17 (475)
Standard treatment	Total cell number	1,128 (100)	63,057 (5,590)	59,360 (5,263)	51,766 (4,589)
	Bacteria	793 (100)	36,700 (4,628)	39,000 (4,918)	30,300 (3,820)
	Actinomycetes	325 (100)	26,000 (8,000)	20,000 (6,154)	20,700 (6,369)
	Fungi	6 (100)	169 (2,817)	150 (2,500)	393 (6,550)
	Trichoderma	4 (100)	188 (4,700)	210 (5,250)	373 (9,325)
Double times treatment	Total cell number	1,128 (100)	77,083 (6,834)	89,510 (7,935)	87,500 (7,757)
	Bacteria	793 (100)	42,800 (5,397)	53,300 (6,721)	56,000 (7,062)
	Actinomycetes	325 (100)	33,000 (10,153)	33,700 (10,369)	28,700 (8,831)
	Fungi	6 (100)	603 (10,050)	1,257 (20,950)	1,130 (18,833)
	Trichoderma	4 (100)	680 (17,000)	1,253 (31,325)	1,670 (41,750)

Table 33. Change in numbers of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbages after treatment of microbial product made with *L. acidophilus* KCCM 40265

Distribution	Cell number($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)				
	Before treatment	1st measurement	2nd measurement	3th measurement	
Non treatment	Total cell number	7,886 (100)	33,597 (426)	14,977 (190)	37,054 (470)
	Bacteria	5,530 (100)	28,700 (519)	10,300 (186)	33,000 (597)
	Actinomycetes	2,250 (100)	4,830 (215)	4,400 (196)	3,970 (176)
	Fungi	55 (100)	33 (60)	127 (231)	77 (140)
	Trichoderma	51 (100)	33 (65)	50 (98)	17 (33)
Standard treatment	Total cell number	7,886 (100)	37,754 (479)	52,150 (661)	75,587 (959)
	Bacteria	5,530 (100)	31,000 (561)	32,000 (579)	64,700 (1,170)
	Actinomycetes	2,250 (100)	6,000 (267)	19,700 (876)	10,500 (467)
	Fungi	55 (100)	340 (618)	347 (630)	227 (413)
	Trichoderma	51 (100)	414 (812)	103 (202)	160 (314)

L. acidophilus KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 14.9배 및 27.5배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 15.9배 및 22.1배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 56.1배 및 161.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 21.9배 및 98.2배 증가하였다.

미생물 제재를 처리하기 전의 배추를 재배하기 위한 포장의 토양에 존재하는 총균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $7,886 \times 10^4$ CFU/g, $5,530 \times 10^4$ CFU/g, $2,250 \times 10^4$ CFU/g, 55×10^4 CFU/g 및 51×10^4 CFU/g이었다. 포장 실험에서

미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $33,579 \times 10^4$ CFU/g, $14,977 \times 10^4$ CFU/g 및 $37,054 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $37,754 \times 10^4$ CFU/g, $52,150 \times 10^4$ CFU/g 및 $75,587 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후에 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 2.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 상추 재배 토양에 비하여 각각 12.0배, 2.6배, 2.9배 및 9.4배 증가하였다.

다. 미생물 제재의 기능성 비료 효과 검증

1) 상추의 생육에 미치는 영향

미생물 제재의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양에서 생육한 상추를 6주 후의 채취하여 엽장, 엽폭, 엽수, 지상부의 생체중량 및 건조중량을 측정하였다.

포트를 사용하여 미생물 제재의 기능성 비료효과를 검증한 결과는 표 34와 같다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 13.74 ± 0.05 cm이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 각각 16.88 ± 0.16 cm 및 19.93 ± 0.24 cm로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽장은 무처리구에 비하여 각각 22.9% 및 45.1% 증가하였다. *B. stearothermophilus* DL-3과 *L. acidophilus* KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장 증가율이 가장 높았다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽폭 평균은 10.39 ± 0.08 cm이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽폭 평균은 각각 12.39 ± 0.10 cm 및 14.15 ± 0.12 cm로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽폭은 무처리구에 비하여 각각 19.2% 및 36.2% 증가하였다. *L. acidophilus* KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽폭 증가율이 가장 높았다.

미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 20.80 ± 0.29 g이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 각각 26.93 ± 0.13 g 및 32.22 ± 0.10 g으로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 무처리구에 비하여 각각 29.5% 및 54.4% 증가하였다. *S. cerevisiae* KCCM 11351 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 생체중량

증가율이 가장 높았다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 $3.30 \pm 0.05\text{g}$ 이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 각각 $4.14 \pm 0.32\text{g}$ 및 $4.78 \pm 0.07\text{g}$ 으로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 무처리구에 비하여 각각 25.5% 및 44.8% 증가하였다. *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제제를 처리한 토양에서 재배한 상추의 건조중량 증가율이 가장 높았다.

미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추에 비하여 미생물 제제를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았으며 기준량 처리구보다 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았다. 미생물 제제의 제조에 사용된 균주에 따라 다소 차이는 있으나 본 연구에서 사용한 모든 균주가 포트 실험에서의 상추 성장을 촉진하였다. 특히, *B. stearothermophilus* DL-3,

Table 34. Effect of microbial products on growth of lettuces in pots

Strain ¹⁾	Leaf length (cm)			Leaf width (cm)			Wet weight (g)			Dry weight (g)		
	Non ²⁾	Std ³⁾	Dou ⁴⁾	Non	Std	Dou	Non	Std	Dou	Non	Std	Dou
1	13.7	16.6	19.5	10.4	12.2	14.0	21.1	26.7	32.0	3.3	4.0	4.8
2	13.8	16.9	20.2	10.5	12.3	14.2	21.1	27.0	32.2	3.3	4.1	4.9
3	13.8	16.9	19.8	10.5	12.3	14.1	21.2	27.0	32.1	3.3	4.1	4.8
4	13.7	16.9	19.8	10.3	12.4	14.2	20.5	27.0	32.1	3.2	4.1	4.8
5	13.7	17.0	20.0	10.4	12.6	14.0	20.7	27.0	32.1	3.3	4.9	4.7
6	13.7	16.9	20.1	10.4	12.4	14.3	20.7	26.8	32.3	3.4	3.9	4.7
7	13.7	16.7	19.8	10.3	12.2	14.1	20.5	26.9	32.1	3.3	4.0	4.8
8	13.8	17.1	20.2	10.3	12.7	14.3	20.6	27.1	32.0	3.3	4.0	4.7

1) strain: 1; *B. brevis* DL-2, 2; *B. stearothermophilus* DL-3, 3; DL-4, 4; DL-5, 5; *S. cerevisiae* KCCM 11304, 6; *S. cerevisiae* KCCM 11351, 7; *L. acidophilus* KCCM 32820 and 8; *L. acidophilus* KCCM 40265

2) non treatment

3) standard treatment

4) double treatment

Table 35. Effect of microbial products on growth of lettuces in soil

Strain	Leaf length (cm)		Leat width (cm)		Leaf No.		Wet weight (g)		Dry weight (g)	
	Non	Std	Non	Std	Non	Std	Non	Std	Std	Non
1	24.4	30.9	14.9	17.4	18.3	23.3	141.0	190.7	14.5	17.8
2	-	31.4	-	17.8	-	23.3	-	191.7	-	17.9
3	-	31.5	-	18.0	-	23.3	-	196.3	-	18.0
4	-	31.5	-	17.9	-	23.0	-	196.0	-	17.8
5	-	31.0	-	17.6	-	23.3	-	192.3	-	18.0
6	-	31.4	-	17.7	-	23.0	-	191.3	-	17.9
7	-	35.6	-	17.9	-	23.3	-	193.7	-	18.1
8	-	31.6	-	18.1	-	23.7	-	197.7	-	18.1

S. cerevisiae KCCM 11351과 *L. acidophilus* KCCM 40265 등을 사용하여 제조한 미생물 제제의 효과가 다른 균주들에 비하여 다소 높은 결과를 나타냈다.

포장에서 상추를 재배하면서 미생물 제제의 기능성 비료효과를 검정한 결과는 표 35와 같다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 24.4cm이나 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 32.83 ± 1.55 cm로 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽장은 무처리구에 비하여 34.5% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽폭 평균은 14.9cm이나 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽폭 평균은 17.80 ± 0.23 cm로 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽폭은 무처리구에 비하여 19.5% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽수 평균은 18.3장이나 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽수 평균은 23.23 ± 0.22 장으로 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽수 평균은 무처리구에 비하여 26.9% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 141.0g이나 기준량 처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 193.71 ± 2.64 g으로 기준량 처리구에서 재배한 상추의 생체중량 평균은 무처리구에 비하여 37.4% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 14.5g이나 기준량 처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 17.95 ± 0.12 g으로 기준량 처리구에서

재배한 상추의 건조중량 평균은 무처리구에 비하여 23.8% 증가하였다.

미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추에 비하여 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았다. 미생물 제재의 제조에 사용된 균주에 따라 다소 차이는 있으나 본 연구에서 사용한 모든 균주가 포장 실험에서의 상추 성장을 촉진하였다. 특히, *B. L. acidophilus* KCCM 32820과 40265 등을 사용하여 제조한 미생물 제재의 효과가 다른 균주들에 비하여 다소 높은 결과를 나타냈다.

2) 배추의 생육에 미치는 영향

미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양 처리한 토양에서 생육한 배추를 6주 후의 채취하여 엽장, 엽폭, 엽수, 지상부의 생체중량 및 건조중량을 측정하였다.

포트를 사용하여 미생물 제재의 기능성 비료효과를 검정한 결과는 표 36와 같다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 $24.53 \pm 0.43\text{cm}$ 이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽장 평균은 각각 $28.15 \pm 0.81\text{cm}$ 및 $30.49 \pm 0.95\text{cm}$ 로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽장은 무처리구에 비하여 각각 14.8% 및 24.3% 증가하였다. *B. stearothermophilus* DL-3과 *L. acidophilus*

Table 36. Effect of microbial products on growth of Chinese cabbages in pots

Strain	Leat length (cm)			Leaf width (cm)			Wet weight (g)			Dry weight (g)		
	Non	Std	Dou	Non	Std	Dou	Non	Std	Dou	Non	Std	Dou
1	24.6	28.9	29.2	17.7	17.5	18.3	231.7	367.3	470.0	22.7	34.9	45.6
2	24.7	28.2	31.7	17.0	17.7	20.9	220.0	356.3	524.0	21.2	34.0	48.6
3	25.0	26.7	30.3	16.8	17.3	20.0	232.3	347.0	488.7	21.7	33.5	45.6
4	23.8	28.6	29.1	17.3	17.7	18.4	227.0	354.0	466.0	21.2	34.5	48.1
5	25.0	28.3	30.7	17.2	17.8	20.0	232.3	360.0	508.3	24.1	34.6	47.5
6	24.7	28.6	31.5	17.0	17.8	20.5	226.7	366.7	502.3	21.1	34.9	47.2
7	24.3	28.8	30.6	17.4	18.0	19.8	224.3	358.3	485.0	21.7	34.2	45.9
8	24.1	27.1	30.8	17.0	17.1	19.7	211.7	343.3	491.7	20.3	32.7	45.9

KCCM 40265 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 배추의 엽장 증가율이 가장 높았다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 엽폭 평균은 $17.18 \pm 0.29\text{cm}$ 이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽폭 평균은 각각 $17.61 \pm 0.29\text{cm}$ 및 $19.70 \pm 0.92\text{cm}$ 로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 엽폭은 무처리구에 비하여 각각 2.5% 및 14.7% 증가하였다. *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 배추의 엽폭 증가율이 가장 높았다.

미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 $225.75 \pm 7.15\text{g}$ 이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 각각 $356.61 \pm 8.51\text{g}$ 및 $492.0 \pm 19.33\text{g}$ 으로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 무처리구에 비하여 각각 58.0% 및 117.9% 증가하였다. *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 배추의 생체중량 증가율이 가장 높았다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 건조중량 평균은 $21.75 \pm 1.17\text{g}$ 이나 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 각각 $34.16 \pm 0.76\text{g}$ 및 $46.80 \pm 1.20\text{g}$ 으로 기준량 및 배양 처리구에서 재배한 배추의 건조중량 평균은 무처리구에 비하여 각각 57.1% 및 115.2% 증가하였다. *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 건조중량 증가율이 가장 높았다.

미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추에 비하여 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았으며 기준량 처리구보다 배양 처리구에서 재배한 배추의 엽장, 엽폭, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았다. 미생물 제재의 제조에 사용된 균주에 따라 다소 차이는 있으나 본 연구에서 사용한 모든 균주가 포트 실험에서의 배추 성장을 촉진하였다. 특히, *B. stearothersophilus* DL-3 과 *L. acidophilus* KCCM 40265 등을 사용하여 제조한 미생물 제재의 효과가 다른 균주들에 비하여 다소 높은 결과를 나타냈다.

포장에서 배추를 재배하면서 미생물 제재의 기능성 비료효과를 검정한 결과는 표 37과 같다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 엽장 평균은 43.3cm 이나 기준량 처리구에서 재배한 배추의 엽장 평균은 $46.21 \pm 0.35\text{cm}$ 로 기준량 처리구에서 재배한 배추의 엽장은 무처리구에 비하여 6.7% 증가하였다. 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 엽폭 평균은 25.2cm 이나 기준량 처리구에서 재배한 배추의 엽폭 평균은 $29.05 \pm 0.33\text{cm}$ 로 기준량 처리구에서 재배한 상추의 엽폭은 무

처리구에 비하여 15.3% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 엽수 평균은 31.7장이거나 기준량 처리구에서 재배한 배추의 엽수 평균은 36.68 ± 0.60 장으로 기준량 처리구에서 재배한 배추의 엽수 평균은 무처리구에 비하여 13.6% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 2.0kg이나 기준량 처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 2.78 ± 0.60 kg으로 기준량 처리구에서 재배한 배추의 생체중량 평균은 무처리구에 비하여 39.0% 증가하였다. 미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 상추의 건조중량 평균은 227.5g이나 기준량 처리구에서 재배한 배추의 건조중량 평균은 258.81 ± 5.45 g으로 기준량 처리구에서 재배한 배추의 건조중량 평균은 무처리구에 비하여 13.7% 증가하였다.

Table 37. Effect of microbial products on growth of Chinese cabbages in soil

Strain	Leaf length (cm)		Leaf width (cm)		Leaf No.		Wet weight (kg)		Dry weight (g)	
	Non	Std	Non	Std	Non	Std	Non	Std	Std	Non
1	43.3	46.0	25.2	28.6	31.7	37.3	2.0	2.6	227.5	251.1
2	-	46.8	-	29.5	-	37.7	-	2.9	-	262.5
3	-	45.8	-	28.6	-	36.0	-	2.7	-	257.0
4	-	46.1	-	29.3	-	36.3	-	2.8	-	262.0
5	-	46.6	-	28.9	-	36.7	-	2.9	-	262.1
6	-	46.0	-	29.3	-	36.7	-	2.9	-	250.6
7	-	46.0	-	29.0	-	36.0	-	2.8	-	259.9
8	-	46.4	-	29.2	-	36.7	-	2.6	-	265.3

미생물 제제를 처리하지 않은 무처리구에서 재배한 배추에 비하여 미생물 제제를 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량 및 건조중량 증가율이 높았다. 미생물 제제의 제조에 사용된 균주에 따라 다소 차이는 있으나 본 연구에서 사용한 모든 균주가 포장 실험에서의 상추 성장을 촉진하였다. 특히, *B. L. acidophilus* KCCM 32820과 40265 등을 사용하여 제조한 미생물 제제의 효과가 다른 균주들에 비하여 다소 높은 결과를 나타냈다.

효과검정의 결과와 같이 미생물 제재를 1배 또는 2배 처리한 토양에서는 처리하지 않은 토양에 비하여 전체적인 세균의 증가뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코테마도 일정한 비율로 증가하였다. 또한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추와 배추의 생육이 증가한 사실로 미루어 보아 미생물 제재를 처리한 토양은 처리하지 않은 토양에 비하여 전체적인 미생물의 증가와 작물의 생육에 도움을 주는 유용한 종류의 미생물이 상대적으로 높게 증가하기 때문에 상추와 배추의 생육이 증가한 것으로 생각된다. 즉, 유용한 미생물의 분해작용에 의하여 토양 유기물의 분해하여 작물이 이용하기 쉬운 상태로 변환시키며 유용 미생물의 대사산물 역시, 작물의 생육에 도움을 주는 것으로 생각된다.

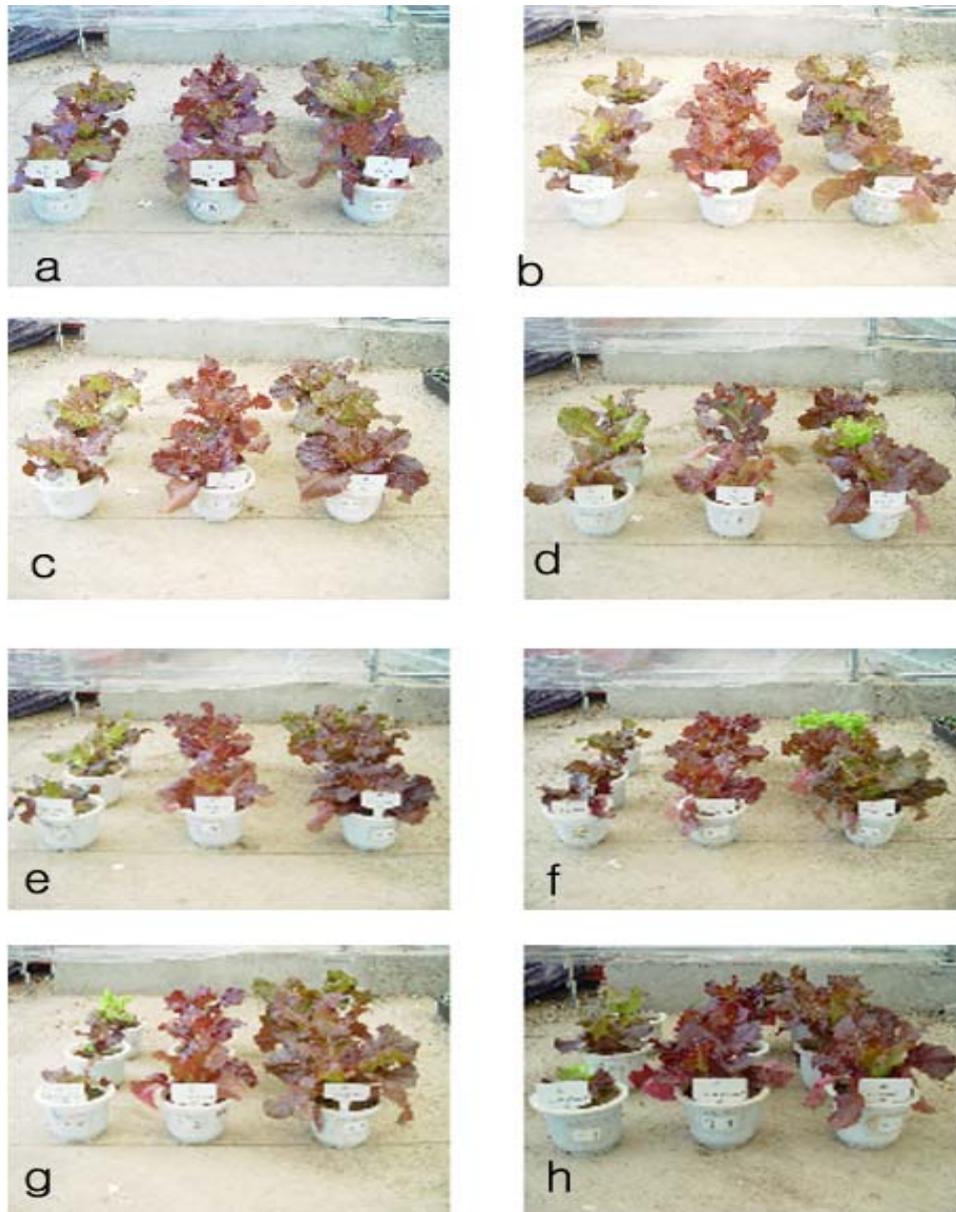


Fig. 1. Effect of microbial product on growth of lettuces in pots (a; *B. brevis* DL-2, b; *B. steurothermophilus* DL-3, c; DL-4, d; DL-5, e; *S. cerevisiae* KCCM 11304, f; *S. cerevisiae* KCCM 11351, g; *L. acidophilus* KCCM 32820 and h; *L. acidophilus* KCCM 40265, from to left to right, non treatment, standard treatment and double treatment)



Fig. 2. Effect of microbial product on growth of Chinese cabbages in pots (a; *B. brevis* DL-2, b; *B. stearothermophilus* DL-3, c; DL-4, d; DL-5, e; *S. cerevisiae* KCCM 11304, f; *S. cerevisiae* KCCM 11351, g; *L. acidophilus* KCCM 32820 and h; *L. acidophilus* KCCM 40265, from to left to right, non treatment, standard treatment and double treatment)

제8절 미생물 제재의 기능성 비료효과 검정-III: 상추와 배추

1. 연구수행 방법

가. 미생물의 배양

토양에서 분리하여 동정한 *Bacillus stearothermophilus* DL-3을 5.0 g/l의 K_2HPO_4 , 1.0 g/l의 NaCl, 0.2 g/l의 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.6 g/l의 $(NH_4)_2SO_4$ (Sigma Co., U.S.A) 및 2.5 g/l의 효모 추출물 (yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였으며, 탄소원으로 포도당을 별도로 멸균한 후, 멸균된 배지에 무균적으로 2.0%(w/v)으로 혼합하여 사용하였다. 전배양은 고체 배지에서 일정시간 배양한 균주를 한 백금이 취하여 500 ml용량의 플라스크에 멸균하여 준비된 120 ml의 배지에 접종한 후, 37°C에서 200 rpm의 속도로 48시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 전배양한 배양액을 7 l용량의 생물 배양기(KoBioTech Co. Ltd., Korea)에 멸균되어 준비된 5 l의 동일 배지에 5% (v/v)를 접종하여 3일간 배양하였다. 미생물을 배양하기 위한 생물 배양기의 운전 조건은 통기량이 1.0 vvm이었으며 교반속도는 500 rpm이었다.

나. 미생물 제재의 제조

기능성 비료효과의 검정을 위하여 사과박과 간장박을 주성분으로 제조한 미생물 제재를 사용하여 실험하였다. 사과박과 간장박을 주성분으로 사용한 미생물 제재의 제조는 사과박과 간장박을 2 : 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. stearothermophilus* DL-3의 배양액을 첨가하고 pH 6.8의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제재를 제조하였다. 또한, 미생물 제재의 제조에 사용한 미강의 역할을 확인하기 위하여 미강에 pH 6.8의 완충용액을 첨가하여 수분함량이 20%인 미강을 제조하였다.

다. 공시작물 재배토양의 미생물 조사

미생물 제재를 처리시기 직전과 처리한 후 공시작물을 정식 한 후, 2주 단위로 하여 총 3회, 공시작물의 재배토양 표면으로부터 깊이 10 cm까지의 흙을 채취한 후, 가는 체로 고른 다음 0.85% NaCl 멸균수에 현탁 시킨 다음 선택배지를 사용하여 미생물 제재의 처리량, 채취 시기별 및 균 종류별로 희석법과 한천배지 평판 도말법으로 토양내의 미

생물의 종류별 계수를 실시하였다. 실험에 사용한 선택배지의 종류로는 일반 세균을 선별하는 Tryptic Soy Agar (TSA), 방선균을 선별하는 Actinomycetes Isolation Agar (AIA), 곰팡이의 선별에 사용하는 Potato Dextrose Agar (PDA)에 항생제로 chloramphenicol과 함께 사용하였으며, 트리코데마를 선별하는데는 Malt Extract Agar (MEA)에 항생제로 chlorotetracyclin을 소량 첨가한 배지를 사용하였다. 선별 배지에 도말한 미생물은 30℃에 48시간 배양하여 형성된 콜로니수를 측정하였다. 토양 상의 총 균수는 이들 선택배지를 사용하여 계수된 개별 미생물들의 생균수의 총 합계로 계산하였다.

라. 미생물 제재의 기능성 비료 효과 검증

미생물 제재의 효과를 검증하기 위한 공시작물로는 상추와 배추를 사용하였으며 시험 장소는 경상남도 김해시의 동아대학교 생명자원과학부 실험 농장의 온실에서 포트틀을 사용하여 실시하였다.

포트시험에 사용한 토양은 가로 1m, 세로 1m 및 높이 10 cm의 사각 나무통에 넣고 일정량의 물에 녹인 미생물 제재와 혼합하여 각각 기준량 처리와 배양 처리 시험에 사용하였으며 무처리구는 동일한 양의 토양에 미생물 제재의 시험구에 사용한 양의 물만을 넣은 토양을 사용하였다. 포트 시험에서 미생물 제재의 기준량 처리는 400g의 미생물 제재를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미하며 배양 처리는 800g의 미생물 제재를 10L의 물에 녹여 0.1m³의 토양에 첨가하고 골고루 섞은 토양을 사용한 경우를 의미한다. 미강의 효과를 조사하기 위하여 토양에 처리한 미강은 미생물 제재의 기준량 및 배양 처리와 같은 무게와 같은 양을 미생물 제재를 토양에 처리한 동일한 방법으로 토양에 처리하였다.

공시작물에 대한 미생물제재의 특성과 효과를 조사하기 위해서 상추와 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 지상부의 생체중량 및 건물중을 측정하였다. 상추와 배추의 생체중량은 근중으로 밑 둥으로부터 2cm 하단부의 토양을 수세시킨 후에 측정하였으며 건물중은 상추와 배추를 일정한 온도에서 수분을 제거한 후, 건조 무게를 측정하였다.

2. 연구 결과

가. 토양 미생물의 종류별 생균수 측정

1) 미강 및 미생물 제재의 처리가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

간장박과 사과박 및 *B. stearothersophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재와 미생물 제재를 제조하기 위하여 사용한 미강의 투여가 상추재배 토양

의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양, 미생물 제재를 기준량 및 배량 처리한 토양과 미강을 기준량 및 배량 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였으며 그 결과는 표 1과 같다. 상추를 재배하기 위한 토양에 존재하는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $3,310 \times 10^4$ CFU/g, $2,033 \times 10^4$ CFU/g, $1,270 \times 10^4$ CFU/g, 2×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 시간의 경과에 따른 토양 미생물의 수는 토양에 처리한 미강 및 미생물 제재의 양에 비례하여 증가함을 알 수 있었다.

미생물 제재를 처리하지 않은 상추 재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $3,108 \times 10^4$ CFU/g, $4,061 \times 10^4$ CFU/g 및 $7,874 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 시간에 따라 변화는 있었으나 6주 후까지 큰 변화는 없었다. 미강을 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $109,055 \times 10^4$ CFU/g, $52,070 \times 10^4$ CFU/g 및 $73,248 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미강을 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 9.3배 증가하였다. 미강을 배량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $111,401 \times 10^4$ CFU/g, $195,805 \times 10^4$ CFU/g 및 $96,697 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미강을 배량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 12.3배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 1.3배 증가한 것이다.

미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $73,934 \times 10^4$ CFU/g, $45,363 \times 10^4$ CFU/g 및 $14,663 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 1.9배 증가하였다. 미생물 제재를 배량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $155,606 \times 10^4$ CFU/g, $97,339 \times 10^4$ CFU/g 및 $42,159 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제재를 배량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 5.4배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 2.9배 증가한 것이다.

미강을 기준량 처리한 상추재배 토양과 배량 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 33.9배 및 28.6배 증가하였다. 미강을 기준량과 배량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 1.6배 및 6.9배 증가하였다. 미강을 기준량과 배량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여

Table 1. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of lettuces after treatment of rice bran and microbial product made with *B. stearothersophilus* DL-3

Treatment	Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%) ^{a)}				
	Before treatment	First measurement	Second measurement	Third measurement	
Non treatment	Total	3,310 (100)	3,108 (94)	4,061 (123)	7,874 (238)
	Bacteria	2,033 (100)	1,566 (77)	2,100 (103)	1,866 (92)
	Actinomy	1,270 (100)	1,530 (120)	1,933 (152)	6,000 (472)
	Fungi	2 (100)	6 (300)	13 (650)	2 (100)
	Tricho	5 (100)	6.3 (125)	15 (300)	6 (60)
Rcie bran (standard)	Total	3,310 (100)	109,055 (3,295)	52,070 (757)	73,248 (2,213)
	Bacteria	2,033 (100)	77,000 (3,788)	29,000 (1,426)	63,333 (3,115)
	Actinomy	1,270 (100)	32,000 (2,520)	23,000 (1,811)	9,767 (769)
	Fungi	2 (100)	45 (2,250)	33 (1,650)	130 (6,500)
	Tricho	5 9100)	10.3 (206)	37 (740)	18 (360)
Rice bran (double times)	Total	3,310 (100)	111,401 (3,366)	195,805 (5,916)	96,697 (2,921)
	Bacteria	2,033 (100)	81,667 (4,017)	148,667 (7,313)	53,333 (2,623)
	Actinomy	1,270 (100)	29,667 (2,336)	47,000 (3,701)	41,667 (3,281)
	Fungi	2 (100)	45 (2,250)	85 (4,250)	1,617 (80,850)
	Tricho	5 (100)	22 (440)	53 (1,060)	80 (1,600)
Microbial product (standard)	Total	3,310 (100)	73,934 (2,234)	45,363 (1,370)	14,663 (443)
	Bacteria	2,033 (100)	58,667 (2,886)	22,267 (1,095)	16,000 (787)
	Actinomy	1,270 (100)	14,767 (1,163)	23,000 (1,811)	12,333 (971)
	Fungi	2 (100)	267 (13,350)	53 (2,650)	527 (26,350)
	Tricho	5 (100)	233 (4,660)	43 (860)	203 (4,060)
Microbial product (double times)	Total	3,310 (100)	153,606 (4,640)	97,399 (2,943)	42,159 (1,274)
	Bacteria	2,033 (100)	75,333 (3,706)	69,000 (3,394)	22,333 (1,099)
	Actinomy	1,270 (100)	77,667 (6,116)	28,333 (2,231)	19,667 (1,549)
	Fungi	2 (100)	500 (25,000)	40 (2,000)	117 (5,850)
	Tricho	5 (100)	106 (2,120)	26 (520)	42 (840)

각각 65.0배 및 808.5배 증가하였다. 미강을 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.0배 및 13.3배 증가하였다.

미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 8.6배 및 12.0배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.1배 및 3.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 263.5배 및 58.5배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 경우가 배양 처리한 경우에 비하여 곰팡이의 수의 증가가 높았다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 33.8배 및 7.0배 증가하였다. 곰팡이의 수적인 증가의 경향과 같이 미생물 제재를 기준량 처리한 경우가 배양 처리한 경우에 비하여 트리코데마 수의 증가가 높았다.

상추재배 토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 일반적인 토양과 같이 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 비율은 매우 낮았다. 미강 및 미생물 제재를 처리한 상추재배 토양의 미생물 수는 처리하지 않은 토양에 비하여 세균뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코데마도 일정한 비율로 증가하였으며 곰팡이와 트리코데마의 증가 비율이 상대적으로 높았다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B. stearothermophilus* DL-3이 상추재배 토양에 안정적으로 정착하여 생존하는 것으로 판단되며, 상추재배 토양에 존재하는 유익한 미생물의 증진을 촉진시키는 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

2) 미강 및 미생물 제재의 처리가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향

간장박과 사과박 및 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 사용하여 제조한 미생물 제재와 미생물 제재를 제조하기 위하여 사용한 미강의 투여가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양, 미생물 제재를 기준량 및 배양 처리한 토양과 미강을 기준량 및 배양 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종별 밀도를 조사하였으며 그 결과는 표 2와 같다. 배추를 재배하기 위한 토양에 존재하

Table 2. Change in numbers of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbages after treatment of rice bran and microbial product made with *B. stearotherophilus* DL-3

Treatment		Cell number ($\times 10^4$ CFU/g) and increase rate(%)			
		Before treatment	First treatment	Second treatment	Third treatment
Non treatment	Total	3,310 (100)	1,989 (60)	1,816 (55)	7,618 (230)
	Bacteria	2,033 (100)	1,130 (56)	1,133 (56)	4,100 (202)
	Actinomy	1,270 (100)	840 (66)	673 (53)	3,500 (276)
	Fungi	2 (100)	6 (300)	9 (450)	17 (850)
	Tricho	5 (100)	13 (260)	1 (20)	1 (24)
Rice bran (standard)	Total	3,310 (100)	28,260 (854)	64,964 (1,963)	26,235 (793)
	Bacteria	2,033 (100)	15,800 (777)	46,000 (2,263)	12,667 (623)
	Actinomy	1,270 (100)	12,400 (976)	18,900 (1,488)	13,400 (1,055)
	Fungi	2 (100)	23 (1,150)	43 (2,150)	153 (7,650)
	Tricho	5 (100)	37 (740)	21 (420)	15 (300)
Rice bran (double times)	Total	3,310 (100)	196,873 (5,978)	226,769 (6,851)	99,921 (3,019)
	Bacteria	2,033 (100)	133,333 (6,558)	200,000 (9,838)	58,000 (2,853)
	Actinomy	1,270 (100)	63,333 (4,987)	56,667 (4,462)	41,667 (3,281)
	Fungi	2 (100)	10 (500)	43 (2,150)	137 (6,850)
	Tricho	5 (100)	197 (3,940)	59 (1,180)	117 (2,340)
Microbial product (standard)	Total	3,310 (100)	112,320 (3,393)	39,798 (1,202)	56,086 (1,694)
	Bacteria	2,033 (100)	90,000 (4,427)	14,667 (721)	31,667 (1,558)
	Actinomy	1,270 (100)	22,067 (1,738)	25,000 (1,969)	24,000 (1,890)
	Fungi	2 (100)	173 (8,650)	93 (4,650)	387 (19,350)
	Tricho	5 (100)	80 (1,600)	38 (760)	32 (640)
Microbial product (double times)	Total	3,310 (100)	95,574 (2,887)	124,085 (3,749)	86,638 (2,617)
	Bacteria	2,033 (100)	67,000 (3,296)	63,000 (3,099)	46,667 (2,295)
	Actinomy	1,270 (100)	28,333 (2,231)	61,000 (4,803)	39,667 (3,123)
	Fungi	2 (100)	111 (5,550)	63 (3,150)	270 (13,500)
	Tricho	5 (100)	130 (2,600)	22 (440)	34 (680)

는 총 균, 박테리아, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 각각 $3,310 \times 10^4$ CFU/g, $2,033 \times 10^4$ CFU/g, $1,270 \times 10^4$ CFU/g, 2×10^4 CFU/g 및 5×10^4 CFU/g이었다. 시간의 경과에 따른 토양 미생물의 수는 토양에 처리한 미강 및 미생물 제제의 양에 비례하여 증가함을 알 수 있었다.

미강 또는 미생물 제제를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $1,989 \times 10^4$ CFU/g, $1,816 \times 10^4$ CFU/g 및 $7,618 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 시간에 따라 변화하였으며 6주 후에 상대적으로 증가하였다. 이는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양의 총 균수는 온도와 같은 환경적인 영향을 많이 받음을 알 수 있는 결과로 생각된다. 미강을 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $28,260 \times 10^4$ CFU/g, $64,964 \times 10^4$ CFU/g 및 $26,235 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미강을 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 3.4배 증가하였다. 미강을 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $196,873 \times 10^4$ CFU/g, $226,769 \times 10^4$ CFU/g 및 $99,921 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미강을 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 13.1배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 3.8배 증가한 것이다.

미강을 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.1배 및 14.1배 증가하였다. 미강을 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 3.8배 및 11.9배 증가하였다. 미강을 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 9.0배 및 8.1배 증가하였다. 미강을 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 15.0배 및 117.0배 증가하였다.

미생물 제제를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $12,320 \times 10^4$ CFU/g, $39,798 \times 10^4$ CFU/g 및 $56,086 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에 비하여 6주 후에 1.9배 증가하였다. 미생물 제제를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각 $95,574 \times 10^4$ CFU/g, $124,085 \times 10^4$ CFU/g 및 $86,638 \times 10^4$ CFU/g이었다. 미생물 제제를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하

여 11.4배 증가하였으며, 기준량 처리했던 토양의 총 균수에 비하여 1.5배 증가한 것이다.

미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배량 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 7.7배 및 11.4배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 6.9배 및 11.3배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량과 배량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 22.8배 및 15.9배 증가하였다. 미생물 제재를 기준량 처리한 경우가 배량 처리한 경우에 비하여 곰팡이의 수의 증가가 높았다. 미생물 제재를 기준량과 배량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 32.0배 및 34.0배 증가하였다. 세균, 방선균 및 트리코데마의 수는 처리한 미생물 제재의 양에 비례하여 증가하였으나 곰팡이의 수적인 증가는 기준량 처리한 경우가 배량 처리한 경우에 비하여 높았다.

배추재배 토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 일반적인 토양과 같이 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 비율은 매우 낮았다. 미강 및 미생물 제재를 처리한 배추재배 토양의 미생물 수는 처리하지 않은 토양에 비하여 세균뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코데마도 일정한 비율로 증가하였으며 곰팡이와 트리코데마의 증가 비율이 상대적으로 높았다. 미강만을 처리한 토양에 비하여 미생물 제재를 처리한 토양의 총 균수 증가가 상대적으로 높았다. 또한 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수적인 증가도 미생물 제재를 처리한 토양에서의 증가가 미강만을 처리한 토양보다 높았다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B. stearothermophilus* DL-3이 배추재배 토양에 안정적으로 정착하여 생존하는 것으로 판단되며, 배추재배 토양에 존재하는 유익한 미생물의 증진을 촉진시키는 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

나. 효과 검정

1) 미강 및 미생물 제재의 처리가 상추의 생장에 미치는 영향

미강 및 미생물 제재의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양, 미강을 기준량 및 배량 처리한 토양과 미생물 제재를 기준량 및 배량 처리한 토양에서 생육한 상추를 6주 후의 채취하여 엽장, 엽폭, 엽수, 지상부의 생체중량 및 건물중을 측정하였으며 그 결과는 표 3과 같다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추

에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 67%, 193%, 71%, 767% 및 600% 증가하였으며 미생물 제재를 배양 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 83%, 232%, 92%, 829% 및 650% 증가하였다. 미강을 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추의 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량은 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추에 비하여 생장률이 낮았으며 미강을 배양 처리한 토양에서 재배한 상추는 미생물 제재를 배양 처리한 토양에서 재배한 상추에 비하여 생장률이 낮았다. 따라서 미강만을 처리한 토양에서 재배한 상추의 증식은 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추에 비하여 생장률이 낮았기 때문에 상추의 증식효과는 미강뿐만 아니라 미생물 제재에 존재하는 미생물의 역할에 기인한다고 말할 수 있다.

Table 3. Effect of rice bran and microbial product made with *B. stearothersophilus* DL-3 on growth of lettuces in a pot

Part ¹⁾	Leaf length (cm)		Leaf width (cm)		Leaf No. (No.)		Wet weight (g)		Dry weight (g)	
1	16.3	(100)	6.2	(100)	17.7	(100)	40.7	(100)	4.4	(100)
2	25.2	(154)	12.9	(208)	21.3	(120)	116.7	(287)	11.4	(259)
3	27.3	(167)	18.2	(293)	30.3	(171)	353.0	(867)	30.8	(700)
4	25.3	(155)	15.0	(242)	24.3	(137)	223.3	(549)	22.5	(511)
5	29.9	(183)	20.0	(323)	34.0	(192)	378.0	(929)	33.0	(750)
LSD 5%	2.06	-	1.79	-	2.99	-	26.51	-	1.42	-
LSD 1%	3.00	-	2.60	-	4.35	-	38.57	-	2.06	-

1. non treatment
2. standard treatment of rice bran
3. double times treatment of rice bran
4. standard treatment of microbial product
5. double times treatment of microbial product

2) 미강 및 미생물 제재의 처리가 배추의 생장에 미치는 영향

미강 및 미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향은 조사하기 위하여 미생물 제재를 처리하지 않은 토양, 미강을 기준량 및 배량 처리한 토양과 미생물 제재를 기준량 및 배량 처리한 토양에서 생육한 상추를 6주 후의 채취하여 엽장, 엽폭, 엽수, 지상부의 생체중량 및 건물중을 측정하였으며 그 결과는 표 4과 같다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 배추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 배추에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 137%, 163%, 67%, 900% 및 1,650% 증가하였으며 미생물 제재를 배량 처리한 토양에서 재배한 배추는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 배추에 비하여 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량이 각각 145%, 180%, 93%, 950% 및 1,825% 증가하였다. 미강을 기준량 처리한 토양에서 재배한 배추의 엽장, 엽폭, 엽수 생체중량 및 건조중량은 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 재배한 상추에 비하여 성장률이 낮았으며 미강을 배량 처리한 토양에서 재배한 배추는 미생물 제재를 배량 처리한 토양에서 재배한 배추에 비하여 성장률이 낮았다. 따라서 미강만을 처리한 토양에서 재배한 배추의 증식은 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 배추에 비하여 성장률이 낮았기 때문에 배추의 증식효과는 미강뿐만 아니라 미생물 제재에 존재하는 미생물의 역할에 기인한다고 말할 수 있다.

Table 4. Effect of rice bran and microbial product made with *stearothermophilus* DL-3 on growth of Chinese cabbages in a pot

Part ¹⁾	Leaf length (cm)		Leaf width (cm)		Leaf No. (No.)		Wet weight (g)		Dry weight (g)	
1	10.0 (100)		4.1 (100)		10.0 (100)		6.0 (100)		0.4 (100)	
2	20.0 (200)		8.4 (205)		14.0 (140)		31.0 (517)		2.9 (725)	
3	23.7 (237)		10.8 (263)		16.7 (167)		60.0 (1,000)		7.0 (1,750)	
4	20.1 (201)		9.1 (222)		16.7 (167)		50.7 (845)		5.7 (1,425)	
5	24.5 (245)		11.5 (280)		19.3 (193)		63.0 (1,050)		7.7 (1,925)	
LSD 5%	0.92	-	1.06	-	1.31	-	3.18	-	0.84	-
LSD 1%	1.34	-	1.54	-	1.90	-	4.63	-	1.23	-



Fig. 1. Effect of microbial product on growth of lettuces in a pot (a; non treatment, b; standard treatment of rice bran, c; double treatment of rice bran, d; standard treatment of microbial product and e; double treatment of microbial product)

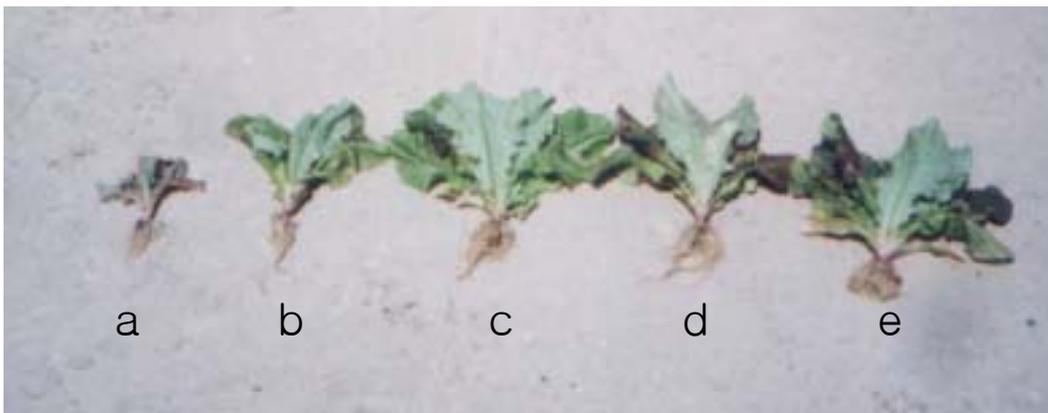


Fig. 2. Effect of microbial product on the shape of lettuce in a pot (a; non treatment, b; standard treatment of rice bran, c; double treatment of rice bran, d; standard treatment of microbial product and e; double treatment of microbial product)



Fig. 3. Effect of microbial product on growth of Chinese cabbage in a pot (a; non treatment, b; standard treatment of rice bran, c; double treatment of rice bran, d; standard treatment of microbial product and e; double treatment of microbial product)

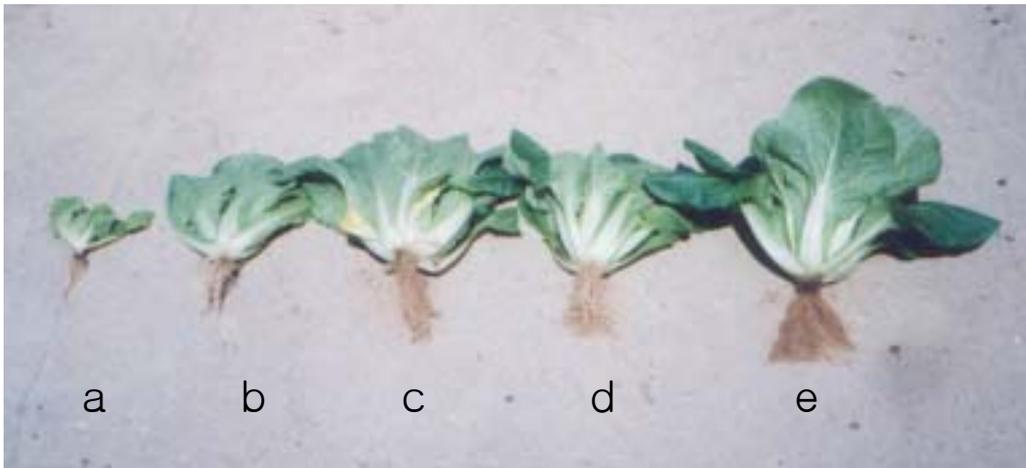


Fig. 4. Effect of microbial product on the shape of Chinese cabbage in a pot (a; non treatment, b; standard treatment of rice bran, c; double treatment of rice bran, d; standard treatment of microbial product and e; double treatment of microbial product)

제9절 미생물 제제의 유기질 사료효과 검정-I: 닭

1. 연구수행방법

가. 미생물 제제의 제조

유기질 사료효과의 검정을 위하여 사용한 미생물 제제는 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제와 미강만을 사용하여 제조한 미생물 제제를 사용하여 실험하였다. 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제의 제조는 사과박과 간장박을 2: 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 첨가하고 pH 6.8의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제제를 제조하였다. 또한, 미생물 제제의 구성성분 중에서 미강의 효과를 관찰하기 위하여 미강과 *B. stearothermophilus* DL-3 균주 배양액을 12 : 1의 비율로 혼합한 후, 전체 수분함량이 30%가 되도록 pH 6.8의 완충용액을 첨가하였다. 혼합물을 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제제를 제조하였다.

나. 사료효과 검정

미생물 제제의 사료효과 검정실험은 경상남도 밀양시의 민들레 농장을 임대하여 부화한지 7일된 300마리의 병아리를 사용하여 수행하였다. 검정실험은 일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 수행하였으며 일주일 간격으로 28일간 병아리의 무게를 측정하였다. 효과실험에 사용한 병아리의 마리 수는 각 구당 100마리이었다.

2. 연구 결과

미생물 제제의 사료효과 검정실험의 결과는 표 1에서와 같이 일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 수행하였으며 각구의 평균 병아리 무게는 각각 $41.10 \pm 2.50\text{g}$, $41.60 \pm 3.20\text{g}$ 및 $42.30 \pm 2.90\text{g}$ 이었다. 시간의 경과에 따라 각 구에 속한 병아리들의 평

균 무게는 다소 차이가 있었으며 28일 후, 각 구에 속한 병아리들의 평균 무게는 각각 $547.65 \pm 91.7g$, $560.13 \pm 17.19g$ 및 $562.24 \pm 32.49g$ 이었으며 각 구에 속한 병아리들의 평균 무게 증가는 각각 $506.55g$, $518.53g$ 및 $519.94g$ 이었다. 일반사료만을 급여한 구 및 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구보다 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구의 무게 증가가 가장 높았다. 따라서 식품가공 부산물인 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제는 병아리의 사육을 위한 기능성 사료로서의 효과가 있다는 결과를 얻을 수 있었다. 대부분의 사료용 곡물을 수입에 의존한다는 사실을 감안할 때 본 연구의 결과는 사과박과 간장박 및 미강과 같이 국내의 식품가공 산업에서 대량 발생하는 폐자원의 재활용이란 측면에서도 의미가 큰 것이다.

Table 1. Effect of microbial product made of *B. stearothersophilus* DL-3 on growth of chickens

Time (Day)	Weight (g)		
	Control ¹⁾	A Group ²⁾	B Group ³⁾
0	41.10 ± 2.50 (0) ⁴⁾	41.60 ± 3.20 (0)	42.30 ± 2.90 (0)
7	104.22 ± 4.65 (63.12)	97.92 ± 4.05 (56.32)	102.75 ± 4.65 (60.45)
14	219.60 ± 4.76 (178.50)	215.59 ± 19.30 (173.99)	227.40 ± 11.68 (185.10)
21	339.08 ± 19.44 (297.98)	378.56 ± 25.70 (336.96)	367.14 ± 19.17 (324.84)
28	547.65 ± 9.17 (506.55)	560.13 ± 17.19 (518.53)	562.24 ± 32.49 (519.94)

1) group fed with general feed

2) group fed with general feed and 10% microbial product made of *B. stearothersophilus* DL-3 and rice bran

3) group fed with general feed and 10% microbial product made of *B. stearothersophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran

4) increase of body weight

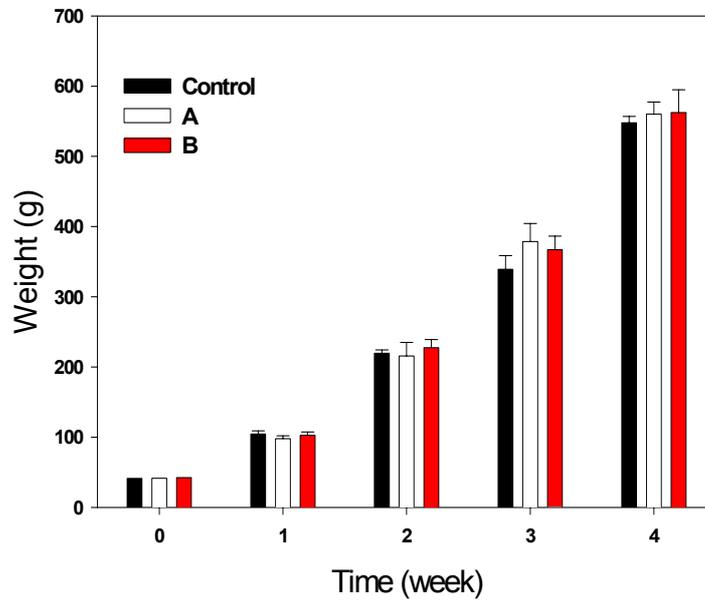


Fig. 1. Effect of microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 on growth of chickens (control; general feed, A; general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 and rice bran and B; general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran)



Fig. 2. General feature of animal farm for chickens (a; house before encage, b, house after encage and c; chickens to be tested)



Fig. 3. Chickens after 2 weeks (a; general feed, b; general feed and 10% microbial product made of *B. stearrowthermophilus* DL-3 and rice bran and c; general feed and 10% microbial product made of *B. stearrowthermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran)



Fig. 4. Chickens after 6 weeks (a; general feed, b; general feed and 10% microbial product made of *B. stearrowthermophilus* DL-3 and rice bran and c; general feed and 10% microbial product made of *B. stearrowthermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran)

제10절 미생물 제재의 유기질 사료효과 검증-II: 돼지

1. 연구수행방법

가. 미생물 제재의 제조

유기질 사료효과의 검정을 위하여 사용한 미생물 제재는 병아리를 사용한 효과 검증 실험에서 사용한 미생물 제재와 같은 방법으로 제조하였다. 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재의 제조는 사과박과 간장박을 2 : 8의 비율로 섞은 후, 사과박과 간장박 전체 무게의 10%(v/v)에 해당하는 *B. stearrowthermophilus* DL-3 균주 배양액을 첨가하고 pH 6.8의 완충용액을 사용하여 사과박과 간장박 및 균주 배양액의 혼합물의 수분함량을 80%로 조절한 후, 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양한 혼합물에 흡착제로서의 미강을 첨가한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제재를 제조하였다. 또한, 미생물 제재의 구성성분 중에서 미강의 효과를 관찰하기 위하여 미강과 *B. stearrowthermophilus* DL-3 균주 배양액을 12 : 1의 비율로 혼합한 후, 전체 수분함량이 30%가 되도록 pH 6.8의 완충용액을 첨가하였다. 혼합물을 37°C에서 24시간 배양하여 전체 수분함량이 약 20%인 미생물 제재를 제조하였다.

나. 사료효과 검증

미생물 제재의 사료효과 검증은 경상남도 양산시의 대부농장을 임대하여 생후 32일된 60마리의 돼지를 사용하여 수행하였다. 효과검정 실험은 일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 일주일 간격으로 37일간 돼지의 무게를 측정하였다. 효과실험에 사용한 돼지의 마리 수는 각 구당 20마리였으며 각 구당 수퇘지와 암퇘지의 비율은 1: 1이었다.

2. 연구 결과

미생물 제재의 사료효과 검증실험의 결과는 표 1에서와 같이 일반사료를 급여한 구, 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구 및 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구로 나누어 수행하였으며 각 구의 평균 돼지 무게는 각각 $9.28 \pm 0.99\text{kg}$, $9.38 \pm 1.14\text{kg}$ 및 $9.55 \pm 1.01\text{kg}$ 이었다. 시간의 경과에 따라 각 구에 속한 돼지들의 평균

무게는 다소 차이가 있었으며 37일 후, 각 구에 속한 돼지들의 평균 무게는 각각 19.25 ± 4.08kg, 20.20 ± 3.93kg 및 20.75 ± 4.18g이었으며 각 구에 속한 돼지들의 평균 무게 증가는 각각 10.65kg, 10.82kg 및 11.20kg이었으나 각구에 속한 돼지의 성별에 따라 다소 차이가 있었다. 즉, 수돼지는 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구에서 가장 높은 무게의 증가를 나타냈으며 암돼지는 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구에서 가장 높은 무게의 증가를 나타냈다. 일반적으로 일반사료만을 급여한 구 및 일반사료에 미강을 사용하여 제조한 미생물 제제를 10% 첨가한 사료를 급여한 구보다 일반사료에

Table 1. Effect of microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 on growth of pigs

Time (Day)	Weight (kg)								
	Control ¹⁾			A Group ²⁾			B Group ³⁾		
	Male	Female	Mean	Male	Female	Mean	Male	Female	Mean
0	9.65	8.90	9.28	9.25	9.50	9.38	9.50	9.60	9.55
	± 1.25 (0) ⁴⁾	± 0.72 (0)	± 0.99 (0)	± 0.94 (0)	± 1.34 (0)	± 1.14 (0)	± 0.78 (0)	± 1.24 (0)	± 1.01 (0)
9	10.35	9.75	10.05	11.30	10.80	11.05	11.80	11.60	11.70
	± 2.07 (0.70)	± 1.01 (0.85)	± 1.61 (0.78)	± 1.30 (2.05)	± 1.67 (1.30)	± 1.48 (1.67)	± 1.46 (2.30)	± 1.31 (2.00)	± 1.35 (2.15)
16	13.30	12.80	13.05	14.50	12.55	13.53	13.80	13.50	13.65
	± 2.91 (3.65)	± 1.67 (3.90)	± 2.32 (3.77)	± 1.87 (5.25)	± 2.05 (3.05)	± 2.16 (4.15)	± 2.57 (4.30)	± 1.80 (3.90)	± 2.16 (4.10)
23	15.85	15.05	15.45	16.80	15.30	16.05	15.05	16.15	15.60
	± 2.97 (6.20)	± 1.54 (6.15)	± 2.34 (6.17)	± 3.47 (7.55)	± 3.06 (5.80)	± 3.28 (6.67)	± 2.73 (5.55)	± 1.87 (6.55)	± 2.35 (6.05)
30	18.65	17.45	18.05	17.30	18.25	17.78	17.45	18.40	17.93
	± 3.04 (9.00)	± 2.11 (8.55)	± 3.20 (8.77)	± 3.30 (8.05)	± 2.94 (8.75)	± 3.08 (8.40)	± 3.61 (7.95)	± 2.86 (8.80)	± 3.20 (8.38)
37	19.25	20.60	19.93	21.95	18.45	20.20	19.30	22.20	20.75
	± 4.08 (9.60)	± 4.20 (11.70)	± 4.59 (10.65)	± 3.58 (12.70)	± 3.93 (8.95)	± 4.53 (10.82)	± 4.97 (9.80)	± 2.72 (12.60)	± 4.18 (11.20)

1) group fed with general feeder

2) group fed with general feeder and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 and rice bran

3) group fed with general feeder and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran

4) increase of body weight

사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구의 무게 증가가 가장 높았다. 일반사료에 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재를 10% 첨가한 사료를 급여한 구의 무게 증가는 일반사료만을 급여한 구의 무게 증가에 비하여 약 5% 높음을 알 수 있었다. 따라서 병아리를 사용하여 수행한 효과 검정 실험에서와 같이 식품가공 부산물인 사과박과 간장박 및 미강을 사용하여 제조한 미생물 제재는 돼지의 사육을 위한 기능성 사료로서의 효과가 있다는 결과를 얻을 수 있었다. 대부분의 사료용 곡물을 수입에 의존한다는 사실을 감안할 때 본 연구의 결과는 사과박과 간장박 및 미강과 같이 국내의 식품가공 산업에서 대량 발생하는 폐자원의 재활용이란 측면에서도 의미가 큰 것이다.

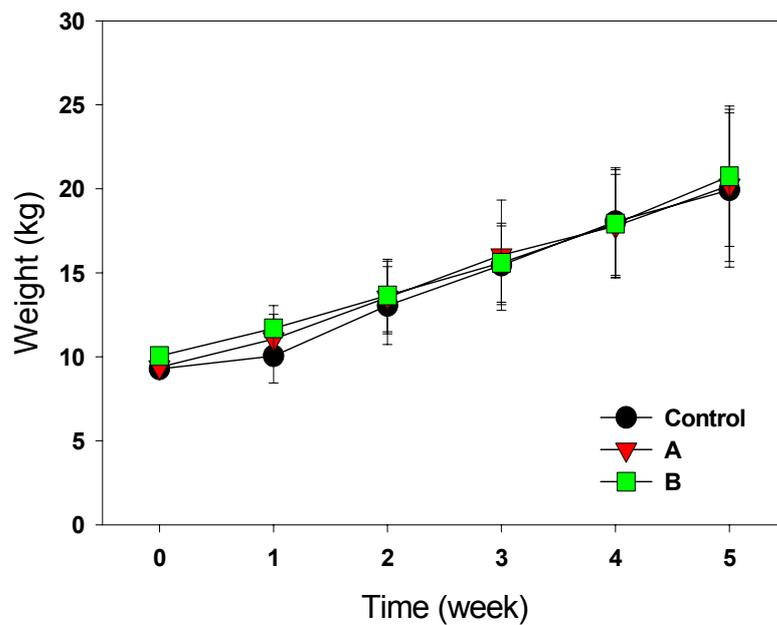


Fig. 1. Effect of microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 on growth of pigs (control; general feed, A; general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 and rice bran and B; general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran)

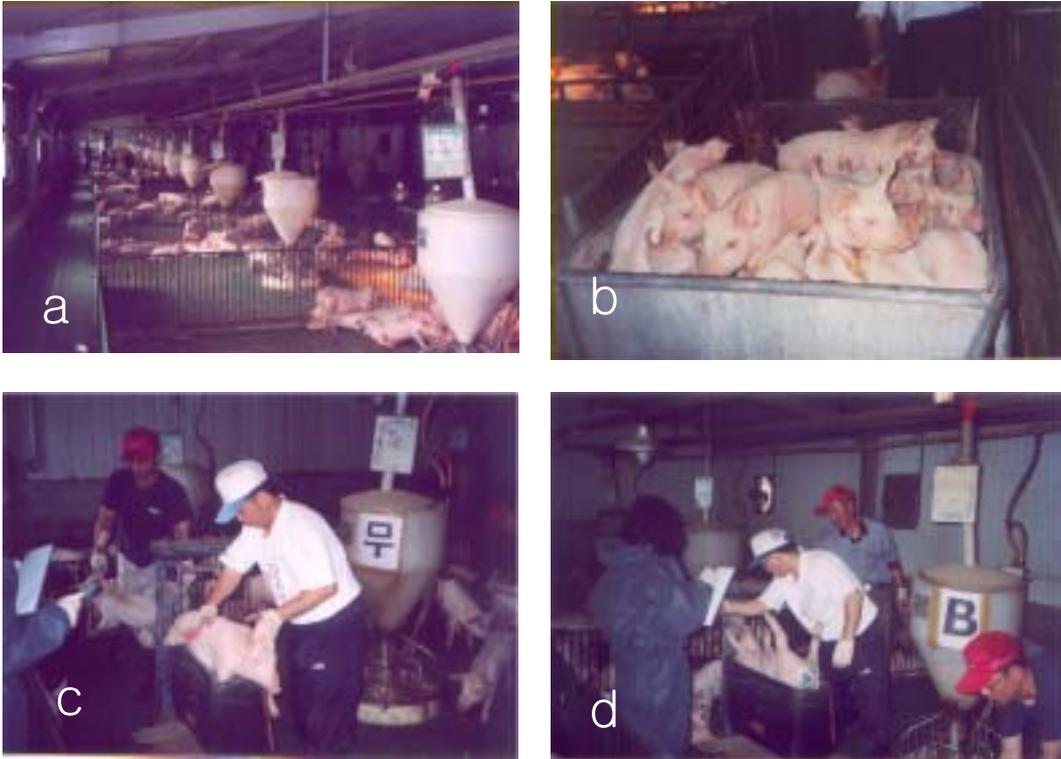


Fig. 2. General feature of animal farm for pigs (a; pigs in cages, b; pigs to be tested, c and d; process for weighting pigs)



Fig. 3. Pigs fed with general feed (a; pigs after 5 weeks and b; pigs after 10 weeks)



Fig. 4. Pigs fed with general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3 and rice bran (a; pigs after 5 weeks and b; pigs after 10 weeks)



Fig. 5. Pigs fed with general feed and 10% microbial product made of *B. stearothermophilus* DL-3, apple pomace, soybean pomace and rice bran (a; pigs after 5 weeks and b; pigs after 10 weeks)

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 연구개발목표의 달성도

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	척도(점수)
1차년도 (2001년)	• 사과박과 간장박의 물리·화학적 성질 분석	5.0
	• 보유 유용 미생물들의 사과박 및 간장박 이용도 측정	5.0
	• 사과박을 탄소원으로 이용하는 미생물의 최적 배지 조성 확립	2.5
	• 유용 미생물의 최적 배지 조성 확립	2.5
	• 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하는 최적 배지 조성 확립	2.5
	• 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물의 최적 배양조건 확립	2.5
	• 미생물 제재의 최적 제제화 확립	5.0
2차년도 (2002년)	• 사과박과 간장박 물리·화학적 성질 분석	2.5
	• 대량 배양된 유효 미생물들의 배양액 분석	2.5
	• 사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 사용하는 최적 배지 조성 확립	2.5
	• 유용 미생물의 최적 배양조건 확립	2.5
	• 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물들의 대량 생산조건 확립	5.0
	• 각 유용 미생물들의 최적 혼합비 확립	2.5
	• 미생물 제재의 보관 방법 최적화	2.5
	• 미생물 제재의 제제화 확립	2.5
	• 유기질 비료로서의 미생물 제재 효과검정	5.0
	• 토양내의 미생물상 변화 및 유기물과 무기물 변화 측정	5.0
3차년도 (2003년)	• 대량 배양된 유효 미생물들의 배양액 분석	5.0
	• 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물의 배양조건 확립	5.0
	• 사과박과 간장박을 이용한 유용 미생물들의 대량 생산조건 확립	7.5
	• 각 유용 미생물들의 최적 혼합비 확립	2.5
	• 미생물 제재의 제제화 확립	2.5
	• 기능성 사료로서의 미생물 제재 효과검정	15.0
	• 미생물 제재의 대량 생산	5.0
최종평가	○ 사과박과 간장박의 물리·화학적 성분 분석	10
	○ 사과박과 간장박을 이용한 미생물 제재의 대량생산	60
	○ 미생물 제재의 효과 검정	30

제2절 관련분야의 기술발전예의 기여도 및 기대효과

1. 기술적 측면

가. 유용 미생물의 특성 연구 및 청정기술의 개발

사과박과 간장박을 탄소원과 질소원으로 이용하여 생육하는 유효 미생물에 대한 배양 조건 등을 확립할 수 있으며 이 균주들이 생산하는 유효 물질의 특성 등을 알 수 있다. 또한 사과박과 간장박을 이용한 유효 미생물의 대량 배양 기술을 확립하여 환경 오염성의 부산물을 대량으로 처리할 수 있는 청정기술을 개발할 수 있다.

나. 사과박과 간장박을 이용한 유기질 비료 개발

사과박과 간장박을 미생물 생육 배지의 탄소원과 질소원으로 사용하여 미생물을 대량 배양하여 제조한 미생물 제제는 미생물에 의하여 생산된 여러 가지 유효 물질과 사과박과 간장박의 구성 성분에 유래된 유기질이 풍부한 유기질 비료가 될 수 있다. 따라서 단순한 오염성 부산물인 사과박과 간장박을 이용하여 유기질 비료를 생산할 수 있는 기술을 개발 할 수 있다.

다. 사과박과 간장박을 이용한 기능성 사료의 개발

효모의 일종인 *Saccharomyces*속의 미생물들은 쌀겨, 밀기울 등 농가 부산물의 발효시 발열의 주요 미생물로서 유기물의 분해 능력이 뛰어나며 어떠한 악조건에서도 발효력 및 생존력이 우수하며, 새로운 단백질 공급원인 단세포 단백질의 생산원으로 각광받고 있는 미생물이다. 유산균의 한 종류인 *Lactobacillus*속의 미생물들은 각종 분해효소와 비타민, 아미노산 핵산 등을 생산한다. 유익 곰팡이인 *Aspergillus*속의 미생물은 섬유질 분해 능력이 우수하여 톱밥, 볏짚과 같은 섬유질 성분을 분해하여 유용한 산물을 만든다. 따라서 이와 같은 유효 미생물 및 이 미생물이 생산하는 유효 물질이 함유된 기능성 사료를 개발 할 수 있다.

2. 경제·산업적 측면

가. 환경 오염성부산물의 청정 기술개발에 의한 시장 경쟁력 상승

환경 오염성 부산물인 사과박과 간장박을 미생물 제제의 탄소원과 질소원으로 사용하여 완전히 소모시키므로 각기 생산공장에서 이와 같은 부산물을 처리하기 위해 소

비되는 비용을 절감할 수 있으며 이는 농업에 기반을 두고 있는 능금조합 및 장류를 생산하는 기업의 생산성 향상에 도움이 되며 이들 기업의 시장 경쟁력이 상승되는 것이다.

나. 사과박과 간장박을 이용한 유기질 비료의 생산

표 1에서 보는 것과 같이 배추, 시금치, 상추 등을 포함하는 시설작물의 재배 면적은 1998년 현재 약 75,812 ha이며 이 시설작물에 소요되는 상토재의 양은 약 820,00 톤 정도로 추산된다. 상토재의 가격을 kg 당 400원으로 계산하면 시설 작물에 소요되는 상토재의 총 가격은 약 3,600 억원이 된다. 따라서 가격 경쟁력을 갖춘 양질의 유기질 비료를 상토재로 사용한다면 유기질 비료로서의 미생물 제제의 시장은 최소한 연간 약 3,600 억원이 된다.

표 1. 전국의 시설작물 재배면적, 상토재 소요량 및 매출량 추정 (400원/kg 기준)

구분	재배면적 (ha)	소요량 (ton)	매출량 (억원)
배추	5,336	64,566	288
시금치	3,234	29,995	156
상추	4,376	32,850	211
수박	20,628	249,599	998
참외	9,199	111,308	445
오이	4,771	57,720	230
호박	2,705	32,731	130
토마도	4,940	50,644	210
딸기	5,572	67,474	269
무우	5,217	63,126	252
고추	4,586	55,491	221
화훼	5,248	63,501	254
합계	75,812	815,504	3,662

다. 사과박과 간장박을 기능성 사료의 생산

한육우 및 젖소를 포함하여 전국의 가축사육 규모는 약 9,600 백만 마리이며(표 2), 이 들을 사육하기 위한 사료의 양은 연간 15,800 톤 정도이다 (표 3). 따라서 사과박과 간장박을 이용하여 미생물 제제를 생산하고 이 미생물 제제를 기능성 사료로 개발한다면

충분한 경쟁력과 방대한 시장을 확보한 것이라 할 수 있다. 양계, 양돈, 낙농우 및 비육우 등의 가축용 배합 사료에 첨가될 기능성 사료 (바이오 효모)의 연간 필요량은 468 톤으로 추정하고 있으며 (표 4) 시장 규모는 약 2,320 억원으로 추정되고 있다 (표 5). 사료에 첨가되는 바이오 효모는 단일 미생물로 한가지 기능뿐이 없으나, 본 연구 개발 사업의 목표인 미생물 제제는 유용한 여러 가지 미생물을 혼합하여 복합적인 기능이 강화된 제제이므로 기존의 미생물 제제에 비하여 더욱 효과가 있는 기능성 사료가 될 것이다. 미생물 제제의 상품 특성 및 지리적인 특성을 고려하여 부산과 경남·북의 시장만을 고려하여도 시장규모는 약 540억원이 되므로 품질의 우수성과 경제성만 해결된다면 판로에는 문제가 없을 것으로 생각된다.

표 2. 전국 가축사육 통계 (1998년 3월 기준, 단위; 1,000)

한육우		젓소		돼지		닭		합계	
가구수	마리수	가구수	마리수	가구수	마리수	가구수	마리수	가구수	마리수
474	2,762	17	568	27	7,440	141	85,911	660	96,682

표 3. 가축사육용 배합사료 생산통계 (1997년 12월 기준, 단위; 톤)

양계용	양돈용	낙농용	비육우용	기타	합계
3,762	5,051	2,087	3,928	972	15,800

표4. 가축 사육용 배합사료에 첨가될 바이오 효모의 수요량 (년간, 단위 kg)

양계용	양돈용	낙농용	비육우용	기타	합계
165,810	278,125	15,625	7,386	1,025	467,971

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 연구논문 발표

본 연구에서 얻은 결과를 국내의 전문 학술지에 2편 발표하고 학술발표대회에서 14회 발표하여 미생물 제재 및 미생물 제재의 기능성 비료와 유기질 사료로서의 가능성에 대한 새로운 사실을 보고하였다.

2. 특허출원의 의한 지적 재산권의 등록

본 연구에서 얻은 결과를 국내특허로 출원하였으며 그 내용은 다음과 같다; 바실러스 스테아로써르필리스 DL-3 균주, 이를 포함하는 미생물 제재 및 이의 생산방법 (대한민국 특허청 출원번호 10-2003-0004615)

3. 기술 이전

가. 본 연구사업의 참여기업인 (주)케이비피와 기술이전 및 실용화를 위하여 계속적으로 연구 결과의 토의를 통하여 결과를 공유하고 있다.

나. 미생물 제재를 생산하는 (주)풍년농산 (경주 소재)과 미생물 제재의 효과 검증 및 대량 생산을 위한 연구 자문을 받고 있으며 대량생산에 대한 일정을 계획 중이다.

다. 본 연구에서 미생물 제재를 제조하기 위한 9종류의 미생물 중의 하나인 *B. stearothermophilus* DL-3이 생산하는 섬유소 분해효소 (cellulase)를 이용하여 농업부산물의 재활용에 대한 연구를 베틀 도정하여 쌀을 판매하는 (주)PN RPC (부산 소재)와 논의 중이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음

제 7 장 참고문헌

(외국문헌)

- Ashadi, R. W., K. Shimokawa, and K. Ogawa. 1996. The mechanism of enzymatic cellulose degradation (II). mode of action of cellulose hydrolyzing enzyme from *Aspergillus niger* UC. J. Gen. Appl. Microbiol. 42:103-108.
- Azizah, A-H. and Y. S. Luan. 2000. Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. Food Chem. 68:15-19.
- Chowdhury, I., D. Watier, I. Leguerinel and J.-P. Hornez. 1997. Effect of *Pectinatus cerevisiophilus* on *Saccharomyces cerevisiae* concerning its growth and alcohol production in wort medium. Food Microbiol. 14: 265-272.
- Chumchuere, S. and R. K. Robinson. 1999. Selection of starter cultures for the fermentation of soya milk. Food Microbiol. 16:129-137.
- Corsetti, A. M. Gobbetti and E. Smacchi. 1996. Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57. Food Microbiol. 13:447-456.
- Cristina, G. R. and S. Bartnicki-Garcia. 1997. Apical Branching in a Temperature Sensitive Mutant of *Aspergillus niger*. Fungal Genet. Biol. 22:53-167.
- Gassem, M. A., K. A. Sims, and J. F. Frank. 1997. Extracellular Polysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR in a Continuous Fermentor. Food Sci. Technol. 30:273-278.
- Gobbetti, M., M. De Angelis, P. Arnaut, P. Tossut, A. Corsetti, and P. Lavermicocca. 1999. Added pentosans in breadmaking: fermentations of derived pentoses by sourdough lactic acid bacteria. Food Microbiol. 16:409-418.
- Gobbetti, M., M. S. Simonetti, A. Corsetti, F. Santinelli, J. Rossi and P. Damiani. 1995. Volatile compound and organic acid productions by mixed wheat sour dough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking. Food Microbiol. 12:497-507.
- Graciela, L. L. and F. de V. Graciela. 1999. The Effect of Suboptimal Growth Temperature and Growth Phase on Resistance of *Lactobacillus acidophilus* to

- Environmental Stress. *Cryobio.* 39:144-149.
- Haki, G. D. and S. K. Rakahit. 2003. Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. *Biores. Technol.* 89:17-34.
- Haq, I., H. Ashraf, J. Iqbal, and M. A. Qadeer. 2003. Production of alpha amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium. *Biores. Technol.* 87:57-61.
- Hong, Seok-In, Yun-Ji Kim and Yu-Ryang Pyun. 1999. Acid Tolerance of *Lactobacillus plantarum* from Kimchi. *Food Sci. Technol./Lebensmittel -Wissen und Technologie*, 32:142-148.
- Hugas, M., F. Pag, M. Garriga, and J. M. Monfort. 1998. Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol.* 15:639-650.
- Israilides, C., Scanlon, B., Smith, A., Harding, S. E., and Jumel, K. 1994. Characterization of pullulans from agro-industrial waste. *Carbohydr. Polym.* 25:203-209.
- Kang, S. W., Y. S. Park, J. S. Lee, S. I. Hong, S. W. Kim. 2004. Production of cellulase and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass. *Biores. Technol.* 91:153-156.
- Kent, R. A., Stephens, R. S., and Westland, J. A. 1991. Bacterial cellulose fiber provides an alternative for thickening and coating. *Food Technol.* June:108.
- Lapdot, A., A. Mechaly, and Y. Shoham. 1996. Overexpression and single-step purification of a thermostable xylanase from *Bacillus stearothermophilus* T-6. *J. Biotechnol.* 51:259-264.
- Lee, J. W., and Day, D. F. 1995. Bioacetylation of seaweed alginate. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:650-655.
- Lee, J. W. Yeomans, W. G., Allen, L. A., Kaplan, L. D., and Gross, R. A., 1997a. Exopolymers from curdlan production: incorporation of glucose-related sugars by *Agrobacterium* sp. ATCC 31749. *Can. J. Microbiol.* 43:149-156.
- Lee, J. W. Yeomans, W. G., Allen, L. A., Kaplan, L. D., and Gross, R. A., 1997c. Production of Zoogloea gum by *Zoogloea ramigera* with glucose analogs. *Biotechnol. Lett.* 19(8):799-802.
- McNeil, B., and Kristiansen, B. 1990. Temperature effects on polysaccharide formation

- by *Aureobasidium pullulans* in stirred tanks. *Enz. Microb. Technol.* 12:521-526.
- Murashima, K., T. Nishimura, Y. Nkamura, J. Koga, T. Moriya, N. Sumida, T. Yaguchi, and T. Kono. 2002. Purification and characterization of new endo-1,4- β -D-glucanses from *Rhizopus oryzae*. *Enz. Microb. Technol.* 30:319-326.
- Pelach, M. A., F. J. Pastor, J. Puig, F. Vilaseca, and P. Mutje. 2003. enzymatic deinking of old newspaer with cellulase. *Pro. Biochem.* 38:1063-1067.
- Richter, K and C. Berthold. 1998. Biotechnological Conversion of Sugar and Starchy Crops into Lactic Acid. *J. Agri. Eng. Res.* 71:181-191.
- Torabizadeh, H., S. A. Shojaosadati and H. A. Tehrani. 1996. Preparation and characterisation of bioemulsifier from *Saccharomyces cerevisiae* and its application in food products. *Food Sci. Technol.* 29:734-737.
- Viljoen, B. C., I. Geornaras, A. Lamprecht and A. von Holy. 1998. Yeast populations associated with processed poultry. *Food Microbiol.* 15:113-117.
- Wyk, J. P. H. and M. Mohulatsi, M. 2003. Biodegradation of wastepaper by cellulase from *Trichoderma viridae*. *Biores. Technol.* 86:21-23.
- Xia, L. and S. Xueliang. 2004. High-yield cellulase production by *Trichoderma reesei* ZU-02 on corn cob residue. *Biores. Technol.* 91:259-262.
- Yamada, Y., H. Uemura, H. Nakaya, K. Sakata, T. Takatori, M. Nagao, H. Iwase and K. Iwadate. 1996. Production of hydroxy fatty Acid (10-Hydroxy-12(Z)-octadecenoic acid) by *Lactobacillus plantarum* from linoleic acid and its cardiac effects to guinea pig papillary muscles. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 226:391-395.
- Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., Mituhashi, S., Nishi, Y., and Uryu, M. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *J. Mat. Sci.* 24:3141-3143.

(국내문헌)

- 박완철. 1998. 축산폐기물의 퇴비화 처리시설 개발, 환경청, 환경기술정보자료.
- 손상목. 2002. 유기농업의 국제동향과 유기농업의 핵심원리 및 기술내용.
- 이승진, 유주순, 정수열, 최용락. 1997. Cellulose 생합성 세균의 분리 및 특징. *한국농화학 회지.* 40:101-106.

- 임동규, 문윤호, 신제성, 우기대. 1994. 우변의 유기질비료화 연구. 한국토양비료학지. 24:192-199.
- 수질연구부. 1996. 오폐수처리 신 공법-연구실규모 plant운전에 의한 오수 및 축산폐수 처리 기술개발. 환경청, 환경기술정보자료.
- 조명호. 1994. 질석을 이용한 유기성 쓰레기의 유기질 비료화. 동아대학교 대학원. 석사학위논문.
- 한국산업기술진흥협회. 2002. 2002년 통계요람.
- 환경기술정보자료. 혈분 (도축피)를 이용한 사료화. 환경청.