

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2016-0101742 (43) 공개일자 2016년08월26일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A01N 65/44 (2009.01) A01N 31/04 (2006.01)	(71) 출원인 충남대학교산학협력단 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)	
(52) CPC특허분류 A01N 65/44 (2013.01) A01N 31/04 (2013.01)	(72) 발명자 박수혁 대전광역시 중구 계백로1646번길 84-47 가동 30 2호 (유천동, 성하하이츠빌라)	
(21) 출원번호 10-2015-0023835	박기웅 대전광역시 유성구 대학로 99 (뒷면에 계속)	
(22) 출원일자 2015년02월17일 심사청구일자 없음	(74) 대리인 이원희	

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 제조활성물질을 포함하는 수수 지상부 추출물 제조방법

(57) 요약

본 발명은 제조활성물질을 포함하는 수수 지상부 추출물 제조방법을 제공하기 위한 것으로, 수수 지상부로부터 제조활성물질로 알려진 페놀 화합물 함량이 높은 추출방법을 확립하였고, 상기 방법으로 제조된 수수 지상부 추출물이 잡초의 발아를 억제함을 확인함으로써, 상기 방법을 이용하여 수수로부터 제조활성물질이 증가된 수수 추출물을 제조하는데 유용하게 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

A01N 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

원옥재

대전광역시 대덕구 비래동로 44 103동 403호 (비래동, 금성백조아파트)

엄민용

대전광역시 서구 청사로 254 102동 1301호 (둔산동, 동지아파트)

배소현

대전광역시 서구 월평중로 50 101동 709호 (월평동, 전원아파트)

임민주

대구광역시 서구 평리로73길 45 (평리동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014-1591-01

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 지방대학 특성화 사업

연구과제명 지역맞춤형 미래농업인재 양성사업

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교 산학협력단

연구기간 2014.07.01 ~ 2015.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

- 1) 수수를 분쇄하는 단계;
- 2) 상기 단계 1)의 분쇄된 수수를 물에 침지시키는 단계; 및
- 3) 상기 단계 2)의 침지시킨 수수를 가열하여 수수 추출물을 제조하는 단계로 구성되는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법;

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 단계 1)의 수수는 황금찰수수, 남풍찰수수, 동안메수수, 밀양1호, 밀양3호 및 밀양5호로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 단계 1)의 수수는 수수의 지상부인 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 단계 2)의 침지는 6 내지 36시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 단계 2)의 가열은 1 내지 4시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 제조된 수수 추출물로부터 수수 부산물을 여과하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 여과는 2회 수행하는 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 제조활성물질은 페놀 화합물인 것을 특징으로 하는 제조활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 페놀 화합물은 4-하이드록시벤조익산(4-hydroxybenzoic acid), p-쿠마린산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 클로로젠산(chlorogenic acid) 및 카페인산(caffeic acid)으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 제초활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 수수 추출물은 피(Echinochloa crus-galli), 바랭이[Digitaria sanguinalis (L.)], 어저귀(Abutilon avicennae) 및 털비름(Amaranthus retroflexus)으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 잡초에 대한 제초 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 제초활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 제초활성물질을 포함하는 수수(Sorghum bicolor)의 지상부 추출물을 제조하기 위한 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 농산물 생산에 있어서 제초제는 매우 중요한 역할을 담당해 왔으나 유기합성농약의 오남용으로 인하여 환경오염을 비롯한 여러 가지 문제를 야기해 왔다. 몇몇 국가에서는 엄격한 독성기준을 마련함으로써 환경에 대해 위해 가능성이 있는 유기합성 제초제의 양을 줄이고자 하였고, 또한 생활수준의 향상과 건강에 대한 관심이 높아지면서 보다 안전한 농산물 생산이 요구되고 있다. 그로 인해 제초제를 사용하지 않고 농사를 짓는 무농약 재배, 유기농업 등의 친환경농법들이 개발되어 왔으나 이러한 방법들은 수량이 낮고, 잡초 및 병해충에 대한 피해가 크며, 많은 노력이 요구된다는 문제점이 있다. 하지만 제초제의 사용은 필수적이기 때문에 제초제의 사용량을 줄이기 위해 예방적, 생태적, 물리적, 생물적, 종합적 측면에서 다양한 방법을 모색하고 있다(Ku et al., 2001). 또한 제초제 저항성 잡초의 출현은 천연물 제초제 개발에 더욱 관심을 가지게 하였다. 제초제 저항성 잡초의 방제를 위해서 다른 작용기작을 가진 제초제의 개발이 필요하나, 기존의 합성 제초제에는 한계가 있어 천연물로부터 새로운 제초제 개발을 위해 많은 노력을 하고 있다.

[0003] 이러한 방법의 한가지로써, 일반적인 경합해 이상으로 인접식물에 치명적인 피해를 입히는 상호대립 억제작용(Allelopathy effect, 타감작용 효과)을 이용하려는 연구가 시도되고 있다. 타감작용(Allelopathy)은 식물 간에 서식지를 공유함에 있어 한 식물체가 만들어내는 식물 생리활성 물질로 인접한 종자의 발아 및 생장과 생산량, 토양 미생물의 번식에 영향을 주어 식물군락의 형성과 천이 등에 영향을 미치는 생화학적 상호작용을 말한다. 이러한 타감 화학물질(Allelochemical)은 생장조절물질과 유사하며, 잡초와 작물 모두에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있어 친환경 제초제로서 이용가능성이 있다.

[0004] 타감 화학물질은 주로 생합성 되는 경로에 따라 페놀(phenol), 퀴논(quinone), 유글론(juglone), 탄닌(tannin), 알칼로이드(alkaloid), 시아노하이드린(cyanohydrin), 테르페노이드(terpenoid)로 분류되며 자연계에는 수많은 식물이 이러한 타감 화학물질을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 타감작용 효과를 유발시키는 물질은 아세트산(acetic acid) 또는 시킴산(shikimic acid) 경로 등을 거쳐 생합성 되며, 단순한 휘발성 물질이나 지방족 물질에서부터 여러 개의 고리가 복잡하게 얽혀진 방향족 화합물에 이르는 다양한 화합물로 구성되어 있다(Rice, 1984).

[0005] 지금까지 밝혀진 타감 화학물질의 대부분은 페놀성(phenolic) 화합물이며, 그 외 탄닌(tannin), 알칼로이드(alkaloid) 화합물 등이 보고되었다(Chon et al., 2004). Guenzi와 McCalla(1966)는 밀(*Triticum aestivum* L.)에서 페룰산(ferulic acid)과 쿠마르산(p-coumaric acid)을, Kwak과 Kim(1984)은 맥류인 보리(*Hordeum vulgare* L.)짚에서 p-coumaric, p-hydroxybenzoic, vanillic, ferulic, salicylic acid를, 벼(*Oryza sativa* L.)에서는 발릭산(vaillic)과 파라-쿠마린산(p-coumaric acid)(Chou et al., 1991)를, Yang 등(1998)은 호밀(*Secale cereale* L.)에서 살리실린산(salicylic acid), 귀리(*Avena sativa*)에서 나린긴(naringin), 페룰릭산(ferulic), 파라-쿠마린산(p-coumaric), 시링산(syringic), 발릭산(vaillic acids)을, 그리고 은행(*Ginkgo*

biloba L.)있어서는 리놀렌산(linolenic), 팔미트산(palmitic), 파라-쿠마린산(p-coumaric acid) 및 플로로글루시놀(phloroglucinol)(Nam et al., 1997) 등을 분리 동정하였으며, 알팔파(*Medicago sativa* L.)와 여러 종류의 잡초종(Chung and Miller, 1995)에서도 타감작용 효과가 보고된 바 있다. 우리나라에서도 보리, 밀, 수수(*Sorghum bicolor*)(Kim et al., 1994), 해바라기(Park et al., 1992), 호밀(Kwon and Kim, 1985), 벧짚과 보리짚(Lee et al., 1997; Kim et al., 1999), 감잎(*Diospyros kaki*)(Chon et al., 2004), 수수(Won et al., 2011), 왕도깨비가지(*Solanum viarum Dunal*)(Kim et al., 2011) 등을 대상으로 많은 연구가 수행되었다.

[0006] 타감작용의 이용은 물 추출물로서 많이 사용되어 왔는데, 타감 화학물질의 종류가 다양하기 때문에 식물에 미치는 영향도 다양하다. 식물의 세포분열, 호르몬 생합성, 무기염류의 흡수와 수송(Rizvi et al., 1992), 막 투과성(Harper and Balke, 1981), 광합성(Einhellig and Rasmussen, 1979), 호흡, 단백질 대사 (Kruse et al., 2000), 수분흡수의 방해(Rice, 1984)를 통해 식물의 성장을 저해한다. 이렇게 물 추출물로 이용되는 작물은 여러 가지가 존재하는데 대표적으로 수수가 존재한다. Cheema와 Khaliq (2000)의 연구에 의하면, 수수 물 추출물을 처리하였을 때 15-47%의 잡초 밀도와 19-49%의 잡초 건물중(dry weight)의 감소를 나타냈다고 한다. 또한, 다양한 작물 및 처리시기에 따라 3-59%의 작물 수확량을 증가시켰다는 연구 결과가 나타났다(Cheema et al., 2012). 이러한 물 추출물은 단독으로 이용할 수도 있으나 다른 추출물, 혹은 제초제와 함께 이용함으로써 효과적으로 제초제의 사용량을 절감할 수 있다. 물 추출물 이외에도 토양 혼입 등을 통해 타감작용을 이용하는 방법이 있는데, 타감 효과를 것으로 알려진 식물의 뿌리를 토양에 처리하면 잡초를 억제한다고 보고되었다(Cheema et al., 2003a; Khaliq et al., 2010). 또한, 간작이나 혼작을 통해 타감 효과를 유도하여 잡초방제가 가능하다고 보고되었다(Iqbal et al., 2007; Farooq et al., 2013).

[0007] 이러한 타감 작용을 가지고 있는 작물 중 하나인 수수는 세계 5대 곡류 작물 중 하나로서 흡비력이 높은 화본과 작물로 알려져 있으며, 최근에는 다양한 증진속을 생물적으로 축적하는 능력이 높은 작물로 평가(Revathi et al., 2011)되고 있다. 또한, C4 작물로서 건조하고 온도가 높으며 질소원이 부족한 곳에서도 광합성을 할 수 있는 장점을 가지고 있다(Jo et al., 2004). 수수는 탄닌과 페놀성분에 의한 항산화작용 및 색소의 항암작용(Dykes et al., 2006)을 갖고 있으며, 안토시아닌 함량과 항산화 활성이 높아(Yoon et al., 2012) 앞으로도 재배면적이 계속 증가할 것으로 판단된다(Yun et al., 2012).

[0008] 피복작물(cover crops)의 이용은 토양침식을 줄이고, 토양수분 보존 및 토양영양상태를 개선하고, 잡초 방제에 효과적인 방법으로 알려져 있으며(Weston, 1996, 2005; Weston and Duke, 2003), 이러한 피복작물은 토양에 침투한 잔류물 혹은 화학적, 물리적인 방법으로 잡초를 방제함으로써 지난 30년간 효과적인 잡초방제방법으로 이용되어 왔다(Kohli et al., 2001). Putnam and DeFrank(1983)와 Putnam 등(1983)의 연구에 따르면, 타감작용을 가진 작물이 피복작물로 이용되었을 때 잡초억제에 매우 효과적이라고 보고되었다. 수수 또한 이러한 타감작용을 가진 작물로서 피복작물로 이용시 잡초억제에 효과적이라고 보고되었다. 수수와 수수교배종(*Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanese*)을 사과(*Malus pumila* var.) 과수원에서 재배하였을 때 각각 90%, 85%의 잡초 건물중 감소를 보였으며(Putnam and DeFrank, 1979; Putnam, 1990), Forney 등(1985)의 실험에서 여러 작물 중 수수가 피복작물로서 가장 효과적이라고 보고되었으며, 콩(*Glycine max* (L.)) 재배시 수수를 피복작물로 사용하면 6~8주 만에 잡초의 건물중(dry weight)을 90%이상 감소시켰음이 보고되었다. 또한, 파키스탄에서는 다년간 수수를 이용한 멀칭(mulching) 시의 효과에 대한 연구가 진행이 되었으며, 실험 결과 수수 멀칭은 잡초의 밀도와 건물중에 확실한 영향을 주었다(Cheema et al., 1997, 2000; Ahmad et al., 2000). 그러나 수수의 타감 작용 화학물질은 잡초와 작물 모두에게 억제효과가 있을 수 있으므로, 재배하고자 하는 작물에 따라 이러한 억제 효과에 대해 주의해야 한다. 일반적으로 수수의 이러한 타감 작용 화학물질은 식물생장 초기에 가장 많이 발생하는 것으로 알려져 있으며(Alsaadawi et al., 2007), 이러한 물질은 시간이 지나면 토양에 물리적, 영양적 이익을 준다(Bhowmik and Doll, 1982). 즉, 초기에는 잡초의 생장을 억제하며, 후에는 작물의 생장에 도움을 줄 수가 있다(Al-Bedairy et al., 2012).

[0009] 간작과 혼작은 작물 생산량을 늘리고, 토양침식의 위험을 줄이고, 잡초를 억제하는데 효과적인 경작법으로(Altieri et al., 1983), 수수는 빠르게 성장할 뿐 아니라 토양으로 타감 작용 화학물질을 방출하기 때문에 간작 혹은 혼작으로써 이용할 가치가 있는 작물이다(Geneve and Weston, 1988; Einhellig and Rasmussen, 1989; Alsaadawi and Dayan, 2009). Moody(1978)의 보고에 의하면 콩 재배시 수수를 간작하게 되면 무처리와 비슷한

효과를 보였다고 한다. 또한 Kondap 등(1990)의 연구에서는 동부콩 재배시 수수를 간작하면 잡초를 현저히 줄일 수 있다는 것을 밝혀냈다. 동부(Cowpea), 땅콩(ground nut), 녹두(green gram) 재배시 수수를 간작하면 높은 이익을 창출할 수 있다(Dusad and Morey, 1979). Mahmood 등(2012)은 옥수수(Zea mays) 재배시 수수와 혼작하면, 무치리에 비해 향부자(purple nutsedge)를 52% 감소시키고, 수확량은 6%가 감소되었다. 인도, 파키스탄, 아프리카, 북미 및 남미에서는 이러한 시스템을 이용하고 있으며, 토양의 질산화에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Alsaadawi et al., 1986).

[0010] 수수로부터 타감 작용 화합물질을 추출하여 제초활성을 보는 실험은 많이 이루어져왔다. Yu(1994) 등에 의하면 수수의 추출물은 작물과 잡초의 발아에 영향을 줄 수 있으며, 줄기와 뿌리 모두 타감 작용 화합물질을 함유하고 있는 것으로 보고되었다. 수수의 추출물이 잡초의 발아와 초기생육에 미치는 영향에 대해 연구를 수행하여, 수수의 건조분말 추출물질로 잡초의 발아율, 줄기 및 뿌리의 생육을 억제함을 확인하였다. 또한, 토양 혼화를 통해 발아 및 생육을 억제한다는 것을 확인하였다(Yu and Chung, 1997). Kim (1994) 등의 실험에서 수수에 함유된 타감물질의 억제 효과는 대상식물, 사용부위 및 사용농도에 따라 다른 것으로 나타났다. 또한 수수의 부위별 추출물의 타감작용에 대한 실험도 진행되었다. 뿌리에서는 소골리온(sorgoleone)이라는 물질이 1980년대 최초로 발견된 이후로 많은 연구가 진행되었으며 그 효능 또한 검증되었다. Uddin(2010)의 연구에서 소골리온은 토양 및 경엽 모두에서 높은 효능을 보였으며, 화본과 잡초보다 광엽 잡초에 효과가 높았다고 보고되었다. 수수의 지하부뿐만 아니라 지상부에서도 타감작용이 일어나는 것으로 알려져 있다. Cheema 등(2002)의 연구에 의하면 명아주(*Chenopodium album*), 애기카나리새풀(*Phalaris minor*), 메귀리(*Avena fatua*), 서양메꽃(*Convolvulus arvensis*), 소리쟁이(*Rumex dentatus*)의 잡초종에 대해 22%~39%의 밀도를 억제시켰으나, Small meliot(*Melilotus parviflora*)에 대해서는 효과를 보이지 못했다. 또한 이 실험에서 수수, 해바라기(*Helianthus annuus*), 유칼립투스(*Eucalyptus globulus*)의 추출물을 단일로 사용할 때보다 서로 혼합하여 사용할 때 더 큰 효과를 보였다(Cheema et al., 2002). 그러나 아직 지상부 추출물에서는 잡초 억제를 담당하는 특정 페놀 또는 화학성분이 밝혀지지 않았다. Won (2011)의 연구에서는 수수 잎 추출물은 발아 전과 발아 후 처리에서도 강한 생장억제력을 보였으며, 특히 갈퀴덩굴, 망초, 소리쟁이, 한련초, 질경이와 쇠비름에서 매우 높은 억제반응을 나타냈음을 보였다. 그러나 대부분의 작물은 수수 잎 추출물에 대해서 내성을 지니고 있었으나 40-50 배 농축처리에서는 지상부 생장이 경미하게 억제되었다. 수수 잎 추출물의 효과를 나타내는 성분을 분석한 결과, 15일 성장한 수수 잎에서 가장 높은 페놀화합물 함량을 보였다.

[0011] 타감작용을 이용한 잡초의 억제는 분명 효과적이거나, 실제로 등록된 제초제에 비하면 그 효과는 명확하게 떨어진다. 따라서 제초제의 사용량을 줄이면서 좀 더 높은 잡초방제 효과를 얻기 위해 두 가지를 혼합하여 이용하려는 시도가 있었다. Cheema 등(2003b, c), Al-Bedairy 등(2011)의 실험에서 위의 혼합제를 이용하였을 때 제초제만을 이용한 시험구에 비해 제초제의 사용을 30%~50% 정도로 줄일 수 있었다고 보고되었다. 이러한 제초제와의 혼합은 대상작물에 따라 그 비율이 달라진다. Jabran 등(2008)의 연구에서는 단순히 수수 추출물만 이용하는 것보다 제초제와 혼합하였을 때 효과도 좋으면서, 그 비용 또한 절감할 수 있음을 보였다. 단순히 제초제를 사용한 것과 비슷한 잡초 억제 능력을 보이면서, 약 30% 정도의 수익을 더 얻었다.

[0012] 수수의 뿌리와 잎 부분의 타감작용 분석을 실험실과 온실 연구에서 조사하였다(Ben-Hammouda et al., 1995; Czarnota et al., 2001). 실험실과 온실에서 실험을 수행한 결과, Sudex의 줄기 추출물에서는 일년생 잡초의 발아를 저해하는 물질을 함유하는 것으로 보고되었다(Geneve and Weston, 1988; Weston et al., 1989, 1997). 두 물질은 파라-하이드록시안식향산(p-hydroxybenzoic acid) 및 피드록시벤브알데하이드(phydroxybenzaldehyde)로 밝혀졌으며, 이 물질은 일반적으로 식물 조직의 배당체로 존재하며, 돌린(dhurrin)의 저하에서 생성된다. 파라-하이드록시안식향산(p-hydroxybenzoic acid) 및 피드록시벤브알데하이드(phydroxybenzaldehyde)는 오래되고 성숙한 수수보다 어린 수수일수록 많은 양을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 파라-하이드록시안식향산(p-hydroxybenzoic acid) 및 피드록시벤브알데하이드(phydroxybenzaldehyde)는 장기간 잡초억제에도 효과적으로 이용될 가능성이 있다(Weston et al., 1989; Weston and Czarnota, 2001). Sene 등(2000)은 세네갈에서 수수의 유전형에 따른 페놀물질에 관한 연구를 수행하였다. 실험 결과 페놀물질은 기후와 년도, 위치에 약간의 영향을 받는 것으로 보고되었다. 일반적으로, 수수는 뿌리와 줄기 모두에서 상당한 양의 페놀물질을 생산하고, 또한 수확 전까지 토양에 많은 양의 페놀물질을 방출한다. 8개의 페놀산(phenolic acids)과 3개의 알데하이드(aldehydes)가 발견되었다. 파라-하이드록시안식향산(p-hydroxybenzoic), 쿠마르산(coumaric) 및 페루릭산(ferulic acids)이 식물 조직에서 발견되었으며,

바닐산(vanillic) 및 파라-하이드록시안식향산(p-hydroxybenzoic acids)이 토양에서 발견되었다. 이러한 연구는 수수나 Sudex의 뿌리와 줄기 모두에서 상당한 수준의 페놀물질을 생산할 수 있으며, 이러한 페놀물질은 수확 전까지 토양에 잔류함을 보여준다. 특히 이러한 페놀물질에 의한 타감작용 효과가 있음을 보여준다.

[0013] 수수 뿌리의 소수성 추출물로부터 소골리온(2-hydroxy-5-methoxy-3-((8'Z,11'Z)-8',11',14' -pentadecatriene)-p-benzoquinone)을 분리하였고, 1986년에 최초로 기생 잡초인 witchweed(*Striga asiatica*)를 받아시키는 물질로서 찾게 되었으며, 수수의 지하부에서 상추의 성장을 85% 억제하는 제초활성물질 확인하였다(Netzly and Butler, 1986; Chang et al., 1996). 이후 1990년대 초반 소골리온을 포함한 수수 뿌리 추출물이 일년생잡초의 성장을 방해하는 것으로 밝혀졌다(Einhellig and Souza, 1992). 웨스턴 연구소는 수수 뿌리의 추출물이 식물의 성장에 강력한 억제를 한다는 것을 발견 한 후, 1980년대 후반에 자세히 소골리온에 대해 조사하기 시작했다(Geneve and Weston, 1988; Weston et al., 1989, 1997). 이들은 소골리온의 대량 수집 및 추출법이 개발되면서 뿌리의 머리 형성과 소골리온 생성이 관련 있음을 밝혀내었고(Nimbal et al., 1996; Weston et al., 1997; Czarnota et al., 2001, 2003a), 이러한 뿌리 추출물은 수수 종자 및 뿌리 머리 형성 3시간 이후에 생성되는 것으로 밝혀졌다(Czarnota et al., 2003).

[0014] 소골리온(Sorgoleone)의 화학구조는 플라스토퀴논(plastoquinone)의 화학구조와 유사하며(Rimando et al., 1998) 이의 작용점은 광합성 전자전달계 PS II의 일부인 D1 단백질 중 QB부위이다. 소골리온은 작용점 효소에 대하여 광합성 전자전달 저해제인 아트라진(atrazine; 6-chloro-N-ethyl-N'-(1-methylethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine)과 경쟁적 저해를 하며, 소골리온의 I50 값이 아트라진의 값보다 낮아 제초제 개발을 위한 후보물질로 강력하게 추천되고 있다(Nimbal et al., 1996). 그러나 경엽 처리시에는 흡수와 이행성이 매우 낮기 때문에 제초활성이 나타나지 않는 단점도 있다. 대부분 파라벤조퀴논(p-benzoquinone)으로 구성된 소골리온(분자량 358)은 뿌리추출물의 90% 이상을 차지한다. 소골리온은 일부 광엽 잡초 쇠비름, 털비름, 어저귀, 차풀, 독말풀과 화본과 잡초 바랭이, 강아지풀, 피의 성장을 억제하는 제초활성을 갖고 있다. 소골리온(100 μg/ml)을 처리한 배지에서 대부분의 잡초종이 68% 이상 방제되었으며, 독말풀의 경우 54%의 낮은 효과를, 털비름의 경우 92% 이상의 가장 높은 효과를 나타냈다(Einhellig and Souza, 1992). 수수의 지하부 추출물인 소골리온이 잡초방제에 효과적이며, 상추와 오이를 제외한 몇몇 작물에 대해 안전한 것으로 확인하였고(uddin et al., 2010), 또한 수수 잎 추출물의 제초활성에 대한 연구를 수행하여 수수 지하부 보다 수수의 지상부에 높은 제초활성 물질을 함유한 것으로 밝혀졌다(Won, 2011). 소골리온의 생합성 연구를 통해 수수의 뿌리털(root hair)에서 소골리온이 다량 생산되는 것을 확인(Nimbal et al., 1996)하였고, 소골리온 발현에 관여하는 SOR1 유전자를 밝혀냈으며, 소골리온의 생합성경로(biosynthetic pathway)를 밝혀냈다(Yang et al., 2004; Baerson et al., 2008).

[0015] Kim (1994)등의 연구에서는 수수 줄기의 타감물질에 대하여 분석을 하였는데, 수수 줄기에 함유된 타감물질 중 가장 강한 활성을 나타내는 물질을 rapid chromatography, flash flow column chromatography로 분리하고 thin layer chromatography와 HPLC로 정제하여 GC-MS로 분석한 결과 1-methyl-1-(2-propiononyl)-hydrazine, 1-aziridine ethanol, 5-chloro-2-pentanone, 2-(methylseleno)-ethanamine 중 한 물질일 것으로 추측된다고 보고되었다. 수수 지상부에 대해서는 줄기, 잎, 뿌리 추출물을 밀에 처리한 결과 각각 74.7, 68.5, 64.0%를 저해하는 것으로 나타났으며(Ben-Hammouda et al., 1995), 수수 줄기를 이용하여 밀 포장에서 처리한 결과, 35~49%의 잡초방제효과 및 밀의 수량이 10~21% 증가하였다(Cheema and Khaliq., 2000). 수수 지상부에서 발견된 타감작용 화학물질은 4-히드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid), 파라-쿠마린산(p-coumaric acid), 페룰릭산(ferulic acid), 트랜스-신나믹산(trans-cinnamic acid), 캄페롤(kaempferol) 등이 보고된바 있다(Won, 2011). 수수 지상부의 생체 생산량은 10 a/t으로 단위면적당 건물 생산량이 높은 편이고(잡곡의 문화와 정보, 2009), 지하부보다 지상부에서 더 뛰어난 제초활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한 지하부에 비해 상대적으로 지상부의 바이오매스 생산량이 월등히 높으며, 손쉽게 채취하여 이용할 수 있다. 수수의 부위별 추출물에 따른 제초효과는 전체<뿌리<줄기 순으로 우수하다고 알려져 있다. 이러한 장점에도 불구하고 수수 지상부에 대한 제초제로의 가능성 연구는 미미한 실정이다.

[0016] 이에, 본 연구자들은 친환경적인 잡초 방제제를 개발하기 위해 연구를 수행하던 중 수수 지상부로부터 제초활성 물질로 알려진 페놀 화합물 함량이 높은 추출방법을 확립하였고, 상기 방법으로 제조된 수수 지상부 추출물이 잡초의 발아를 억제함을 확인함으로써, 궁극적으로 친환경 작물재배지에서 잡초방제를 위한 생물제초제로서의

개발 가능성을 높이고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명의 목적은 제초활성물질을 포함하는 수수 지상부 추출물 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 상기 목적을 해결하기 위하여, 본 발명은 하기의 단계로 구성되는 제초활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법을 제공한다:

[0019] 1) 수수를 분쇄하는 단계;

[0020] 2) 상기 단계 1)의 분쇄된 수수를 물에 침지시키는 단계; 및

[0021] 3) 상기 단계 2)의 침지시킨 수수를 가열하여 수수 추출물을 제조하는 단계.

발명의 효과

[0022] 본 발명은 제초활성물질을 포함하는 수수 지상부 추출물 제조방법을 제공하기 위한 것으로, 수수 지상부로부터 제초활성물질로 알려진 페놀 화합물 함량이 높은 추출방법을 확립하였고, 상기 방법으로 제조된 수수 지상부 추출물이 잡초의 발아를 억제함을 확인함으로써, 상기 방법을 이용하여 수수로부터 제초활성물질이 증가된 수수 추출물을 제조하는데 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명은 하기의 단계로 구성되는 제초활성물질이 포함된 수수 추출물의 제조방법을 제공한다:

[0025] 1) 수수를 분쇄하는 단계;

[0026] 2) 상기 단계 1)의 분쇄된 수수를 물에 침지시키는 단계; 및

[0027] 3) 상기 단계 2)의 침지시킨 수수를 가열하여 수수 추출물을 제조하는 단계.

[0028] 상기 단계 1)의 수수는 수수(*Sorghum bicolor*), 수수 부산물 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 이때, 상기 수수는 황금찰수수, 남풍찰수수, 마일로수수, 붉은찰수수, 기다찰수수, 대풍수수, 목탁수수, 몽당수수, 꼬부랑수수, 꼬마단수수, 장수수, 붉은장목수수, 수송생이수수, 시경수수, 빗자루수수, 찰수수, 메수수, 동안메수수, 밀양1호, 밀양3호 및 밀양5호로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나를 사용할 수 있으나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 황금찰수수, 남풍찰수수, 동안메수수, 밀양1호, 밀양3호 및 밀양5호로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것이 바람직하다. 또한, 상기 단계 1)의 수수는 수수의 전초 또는 줄기, 잎, 뿌리, 꽃 부분을 모두 사용할 수 있으나, 지상부를 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0029] 상기 단계 2)의 침지는 6 내지 36시간 동안 수행하는 것이 바람직하나, 12 내지 30시간 동안 수행하는 것이 더욱 바람직하고, 20 내지 24시간 동안 수행하는 것이 가장 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 침지를 6시간 이하로 수행하였을 경우 수수로부터 충분한 양의 제초활성물질이 추출되지 않고, 침지를 36시간 이상으로 수행하는 경우 충분한 양의 제초활성물질이 추출되었음에도 침지를 오랫동안 수행함으로써 경제성이 떨어지는 문제점이 있다.

[0030] 또한, 상기 단계 3)의 가열은 1 내지 4시간 동안 수행하는 것이 바람직하나, 2 내지 3시간 동안 수행하는 것이

더욱 바람직하고, 2시간 동안 수행하는 것이 가장 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 가열을 1시간 이하로 수행하였을 경우 수수로부터 충분한 양의 제초활성물질이 추출되지 않고, 가열을 4시간 이상으로 수행하는 경우 충분한 양의 제초활성물질이 추출되었음에도 오랫동안 가열함으로써 추출된 성분의 변성이 발생할 수 있고, 경제성이 떨어지는 문제점이 있다.

[0031] 또한, 본 발명의 추출방법으로 제조된 수수 추출물로부터 수수 부산물을 여과하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 여과는 2회 이상 수행하는 것을 특징으로 하고, 1차 여과는 0.2 mm의 뜬채로, 2차 여과는 여과지를 이용하여 수행하는 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0032] 상기 제초활성물질은 인접식물에 치명적인 피해를 입히는 상호대립 억제작용(Allelopathy effect, 타감작용 효과)을 통해 제초활성을 나타내는 타감 화학물질인 것을 특징으로 한다. 상기 타감 화학물질은 페놀(phenol), 퀴논(quinone), 유글론(juglone), 탄닌(tannin), 알칼로이드(alkaloid), 시아노하이드린(cyanohydrin) 및 테르페노이드(terpenoid)로 구성된 군으로부터 선택되는 것이 바람직하나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 페놀 화합물이다. 상기 페놀 화합물은 페룰산(ferulic acid), 쿠마르산(p-coumaric acid), p-하이드록시벤조익산(p-hydroxybenzoic acid), 발릭산(vanillic acid), 살리실산(salicylic acid), 나린긴(naringin), 시링산(syringic acid), 리놀렌산(linolenic acid), 팔미트산(palmitic acid) 및 플로로글루시놀(phloroglucinol)로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것이 바람직하나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면, 4-하이드록시벤조익산(4-hydroxybenzoic acid), p-쿠마린산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 클로로겐산(chlorogenic acid) 및 카페인산(caffeic acid)으로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나인 것이 더욱 바람직하다.

[0033] 또한, 상기 수수 추출물은 잡초에 대한 제초활성을 나타내고, 상기 잡초는 화본과 잡초 또는 광엽 잡초인 것이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0034] 상기 화본과 잡초 또는 광엽 잡초는 바랭이[*Digitaria sanguinalis* (L.)], 개밀(*Agropyron amithii*), 피(*Echinochloacrus-galli*), 어저귀(*Abutilon avicennae*), 털비름(*Amaranthus retroflexus*), 까마중(*Solanum nigrum*), 자귀풀(*Aeschynomeme indica*), 도꼬마리(*Xanthium strumarium*) 및 메꽃(*Calystegia japonica*)로 구성된 군으로부터 선택되는 것이 바람직하나, 본 발명의 바람직한 실시예에 의하면 피(*Echinochloacrus-galli*), 바랭이[*Digitaria sanguinalis* (L.)], 어저귀(*Abutilon avicennae*) 및 털비름(*Amaranthus retroflexus*)으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 더욱 바람직하다.

[0035] 본 발명자들은 수수로부터 제초활성물질이 포함된 수수 추출물을 제조하기 위한 방법을 확립하던 중, 5가지 종류의 수수를 이용하여 추출물을 제조한 뒤 페놀 화합물 성분을 분석한 결과, 5가지 품종의 수수 지상부 추출물에서 4-하이드록시벤조익산(4-hydroxybenzoic acid), p-쿠마린산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 클로로겐산(chlorogenic acid) 및 카페인산(caffeic acid)이 검출됨을 확인하였다(표 1 참조).

[0036] 또한, 수수의 추출방법에 따른 페놀 화합물 함량변화를 분석한 결과, 24시간 침전 후 가열하여 추출한 경우 가장 높은 페놀 화합물이 검출됨을 확인하였다(표 2 참조).

[0037] 이들 수수 지상부 추출물의 제초활성을 확인하고자 피(*Echinochloacrus-galli*), 바랭이[*Digitaria sanguinalis* (L.)], 어저귀(*Abutilon avicennae*), 털비름(*Amaranthus retroflexus*)의 잡초 4종, 및 벼(*Oryza sativa* L.), 콩[*Glycine max* (L.) Merr.] 오이(*Cucumis sativus*), 보리(*Hordeum vulgare* L.)의 작물 4종에 대한 발아억제 효과를 확인한 결과, 1/4× 내지 1/16× 사이의 농도에서 잡초에 대한 제초 활성을 나타냄으로써(표 3 내지 표 5 참조), 본 발명의 방법으로 추출한 수수 추출물이 제초 활성이 있음을 확인하였다.

[0038] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0039] <실시예 1> 수수 지상부 추출물의 제조

[0040] <1-1> 수수의 가공

[0041] 밀양에서 재배한 5가지 품종의 수수(황금찰, 남풍찰, 동안메, 밀양1호, 밀양5호)의 지상부를 각각 20주씩 채취

하여 충남대학교 농업생명과학대학 비닐하우스에서 1주일간 건조시켰다. 상기 건조된 수수를 2 내지 3 cm의 간격으로 절단한 후, 믹서기(한일 HMF-1100)를 이용하여 분쇄하였고, 분쇄된 가루형태의 수수는 사용전까지 상온에서 보관하였다.

[0042] <1-2> 추출물의 제조

[0043] 상기 실시예 <1-1>의 방법으로 가공한 5가지 품종에 대한 가루형태의 수수 지상부를 이용하여 다음과 같은 방법으로 추출물을 제조하였다.

[0044] 구체적으로, 먼저 가루형태의 수수 지상부 1 kg에 물 20 ℓ를 첨가하여 24시간 동안 침전시킨 뒤, 버너를 이용하여 이를 2시간 동안 가열하여 추출물을 제조하였다. 상기 제조된 추출물에서 1차적으로 수수 부산물을 걸러내기 위하여 0.2 mm의 뜬체를 사용하였고, 여과지(filter paper, Advantec 2, 90 mm)와 펌프(SM electric motor)를 이용하여 2차로 불순물을 제거하였다. 2회에 거쳐 불순물이 제거된 수수 지상부 추출물을 60℃, 60 rpm의 조건으로 회전농축기(EYELA, Rotary evaporator NE-1001)로 농축한 뒤, 농축 후에는 -80℃의 냉동고(Sanyo)에서 이를 보관하였다. 그리고나서, 얼려진 추출물을 동결건조기를 이용하여 동결건조를 수행하여 수분을 제거하고, 이를 막자사발로 가루형태로 만들어 최종 가루형태의 수수 지상부 추출물 시료를 제조하였다. 이렇게 제조된 시료는 종이봉투에 수분흡수방지용 실리카겔을 넣어 상온에서 보관하였다.

[0045] <실시예 2> 수수품종에 따른 페놀 화합물 함량 분석

[0046] 상기 실시예 <1-2>의 방법으로 제조된 5가지 품종 수수의 지상부 추출물간 제조활성물질의 차이를 알아보고자 고속액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)(NS-4000)를 수행하여 추출물에 포함된 페놀 화합물을 분석하였다.

[0047] 구체적으로, 5가지 품종의 수수 지상부 추출물의 동결건조된 시료 1 g에 20 ml의 3차 증류수를 첨가한 뒤 13000 rpm의 속도로 5분간 원심분리하여 상등액을 수득하였다. 수득된 상등액을 주사기(Advantec DISMIC-13HP, Toyo Roshi Kaisha Ltd., 일본)를 이용하여 0.45 μm의 폴리테트라플루오로에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE) 필터로 여과한 뒤 분석에 사용하였다. HPLC는 Capcell PAK ODS column(250 mm×4.6 mm, 5 μm; Shiseido, 일본) 및 Shimadzu class-VP HPLC system(일본)을 사용하여 수행하였다. 이동상은 (a) 아세트산-물(0.15%), (B) 메탄올로 구성되었고, 초기 이동상의 조성은 용매(solvent) B 0%에서 시작하여 48분 동안 용매 B를 0에서 80%로 변화시켰다. 이후 추가적으로 10분간 용매 B를 0%로 유지하였다. 실험을 수행하는 동안 컬럼의 온도는 30℃, 유량은 1.0 ml/분, 주입량은 20 μl의 조건을 유지하였으며, 280 nm에서 모니터링을 수행하였다. 상이한 화합물은 피크(peak)의 면적에 기초하여 정량화하고, 대표적인 표준화합물의 당량으로 계산하였다.

[0048] 그 결과, 하기 표 1에 나타난 바와 같이 5가지 품종의 수수 지상부 추출물에서 4-하이드록시벤조익산(4-hydroxybenzoic acid), p-쿠마린산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 클로로젠산(chlorogenic acid) 및 카페인산(caffeic acid)이 검출되었다. 메수수와 찰수수간의 페놀 화합물의 차이는 없었으며, 동안메에서 가장 많은 페놀 화합물이 검출되었다. 동안메에서 검출된 페놀 화합물은 클로로젠산이 가장 많은 것으로 확인되었으며, 4-하이드록시벤조익산은 황금찰, p-쿠마린산은 밀양1호, 카페인산은 밀양 5호에서 가장 많은 것으로 확인되었다(표 1).

표 1

품종	페놀 화합물(mg/ℓ)					
	4-하이드록시벤조익산	p-쿠마린산	페룰산	클로로젠산	카페인산	합계
밀양1호	72.9 (27.9%)	132.9 (50.9%)	36.7 (14.1%)	13.8 (5.3%)	4.9 (1.9%)	261.2
밀양5호	42.8 (28.1%)	24.3 (15.9%)	35.8 (23.5%)	10.9 (7.1%)	38.6 (25.3%)	152.3
동안메	92.6 (23.0%)	42.2 (10.5%)	39.5 (9.8%)	215.1 (53.4%)	13.1 (3.3%)	402.6
황금찰	96.0 (34.2%)	75.1 (26.8%)	3.2 (1.2%)	100.4 (35.8%)	5.9 (2.1%)	280.6

남풍찰	51.9 (43.0%)	5.8 (4.8%)	28.6 (23.7%)	18.6 (15.4%)	15.9 (13.2%)	120.8
-----	-----------------	---------------	-----------------	-----------------	-----------------	-------

<실시예 3> 수수 추출 방법에 따른 추출물 내 페놀 화합물 함량 분석

추출방법의 차이에 따른 제초활성물질의 차이를 확인하고자, 상기 실시예 <1-2>의 방법으로 추출을 수행하는데 있어서, 밀양3호를 이용하여 분쇄 후 24시간 침전, 침전하지 않고 2시간 가열, 및 24시간 침전 후 2시간 가열의 조건으로 각각의 추출물을 제조한 뒤, 이의 동결건조 시료를 수득하였다. 수득된 시료를 이용하여 상기 <실시예 2>와 동일한 방법으로 페놀화합물 함량분석을 수행하였다.

그 결과, 하기 표 2에 나타난 바와 같이 24시간 침전 후 가열하여 추출한 경우 가장 높은 페놀 화합물이 검출되었으며, 품종별 비교와 동일하게 클로로겐산이 가장 많이 검출되었다. 또한, 가열에 따른 페놀 화합물 함량을 비교한 결과, p-쿠마린산의 경우 가열하였을 때 그 양이 증가했지만, 이를 제외한 다른 페놀 화합물은 가열하였을 때 그 양이 감소하는 것을 알 수 있었다(표 2).

표 2

방법	페놀 화합물(mg/ℓ)					
	4-하이드록시 벤조익산	p-쿠마린산	페룰산	클로로겐산	카페인산	합계
침전(24h)	104.9 (20.8%)	15.2 (3.0%)	84.1 (16.7%)	275.4 (54.6%)	24.4 (48.8%)	503.9
가열(2h)	57.7 (14.5%)	121.8 (30.7%)	20.9 (5.3%)	181.6 (45.8%)	14.9 (3.7%)	396.9
침전(24h)+가 열(2h)	94.0 (23.5%)	42.4 (10.6%)	39.7 (9.9%)	211.8 (52.9%)	12.6 (3.1%)	400.6

<실험예 1> 수수 지상부 추출물의 발아억제 효과 확인

상기 실시예 <1-2>의 방법으로 제조된 밀양3호 수수 지상부 추출물의 제초활성을 확인하고자 피(Echinochloa crus-galli), 바랭이[Digitaria sanguinalis (L.)], 어저귀(Abutilon avicennae), 털비름(Amaranthus retroflexus)의 잡초 4종, 및 벼(Oryza sativa L.), 콩[Glycine max (L.) Merr.] 오이(Cucumis sativus), 보리(Hordeum vulgare L.)의 작물 4종에 대한 발아억제 효과를 확인하였다.

구체적으로, 배양접시(petridish, SPL cell culture dish 11060, 60×15 mm)에 여과지(filterpaper, Hyundai 10, 50 mm) 2장을 넣은 후, 잡초 및 작물 종자를 각각 10개씩 파종하였다. 여기에 동결건조한 수수 지상부 추출물 1 g에 5 ml의 3차 증류수를 첨가하여 제조된 1× 수수 지상부 추출물 용액을 처리하였다. 상기 1× 수수 지상부 추출물 용액의 처리 농도는, 잡초종자의 경우 상기 용액을 1/2씩 희석하여 1/256×의 농도까지 처리하였고, 작물종자의 경우 상기 용액을 1/2씩 희석하여 1/64×의 농도까지 처리하였다. 그리고 나서 파라필름(parafilm)을 이용하여 배양접시를 밀봉한 뒤 생육상(growth chamber, Daihan labtech Co., LTD)에서 광조건 16시간, 30℃, 암조건 8시간 25℃의 환경에서 보관하였다. 파종 1주일 후 발아율 및 유근의 길이를 측정하였으며, 실험은 완전임의배치법 3회 반복으로 수행하였다.

그 결과, 하기 표 3에 나타난 바와 같이 수수 지상부 추출물 용액의 농도가 높을수록 잡초종자 및 작물종자의 발아율이 크게 저해되었으며, 특히 1×의 농도에서는 모든 종자가, 1/2×의 농도에서는 피를 제외한 모든 종자에서 발아율이 크게 저해되었다. 구체적으로, 피는 1/2×의 농도에서 발아율이 크게 저해되었으나, 1/4× 및 1/8×의 농도에서는 발아율 저해가 낮게 나타났으며, 그 이하의 농도에서는 100% 발아하였다. 피를 제외한 잡초종자의 경우 1/16×의 농도까지 70% 이상의 방제가를 보였으며, 1/32×의 농도에서도 50%에 가까운 방제가를 보였다. 또한, 1/256×의 농도를 처리하였을 때에도 100% 발아하지 못하였다. 작물의 경우, 1/2×의 농도까지는 전혀 발아하지 못했으나, 1/8×의 농도부터 콩을 제외한 종자에서 발아율이 많이 증가하는 것을 확인하였다. 특히 오이의 경우 1/8×의 농도부터 1/64×의 농도까지 모두 100% 발아하는 것을 확인하였다(표 3). 이러한 결과를 보았을 때, 1/4× 이하의 농도로 처리하면 약해를 줄이면서 피를 제외한 잡초에 대해 약효를 나타내고, 특히 1/4× 내지 1/16× 사이의 농도에서 최적의 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

표 3

농도	발아 억제율(%)							
	Ec ^a	Ds	Aa	Ar	Os	Hv	Cs	Gm
1× ^b	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0
1/2×	93.9 ±7.90	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0
1/4×	33.3 ±20.0	97.6±4.2	99.4±1.0	100.0 ±0.0	88.3 ±24.0	95.5±6.9	53.3 ±45.5	100.0 ±0.0
1/8×	8.9±11.3	88.0 ±16.6	94.9±7.2	96.4±1.8	47.2 ±15.7	57.7 ±31.6	0.0 ±0.0	95.0±5.5
1/16×	0.0 ±0.0	70.6 ±21.3	79.8 ±19.3	72.2 ±20.1	23.5 ±14.9	37.7 ±17.0	0.0 ±0.0	61.7 ±41.2
1/32×	0.0 ±0.0	45.7 ±18.7	54.4 ±24.8	35.2±4.4	3.5 ±5.6	20.4 ±20.8	0.0 ±0.0	31.7 ±29.9
1/64×	0.0 ±0.0	28.6 ±24.0	44.3 ±26.7	22.4±3.4	3.3 ±5.2	4.5 ±6.9	0.0 ±0.0	6.7 ±8.2
1/128×	0.0 ±0.0	5.0 ±4.4	36.0±4.0	6.5 ±2.8	-	-	-	-
1/256×	0.0 ±0.0	3.3 ±4.5	24.0±4.7	6.4 ±3.4	-	-	-	-

^aEc, 피; Ds, 바랭이; Aa, 어저귀; Ar, 털비름; Os, 벼; Hv, 보리; Gm, 콩; Cs, 오이

^b1×, 수수 1 g + H₂O 5 ml

값은 평균 ±SD 이다.

또한, 초기 뿌리 및 줄기의 길이를 측정한 결과 하기 표 4 및 표 5에 나타난 바와 같이, 농도의존적으로 생장이 억제되는 것을 확인하였다. 1/2×의 농도에서 발아율 측정결과와 동일하게 피를 제외한 모든 종자에서 발아가 전혀 진행되지 않았고, 피의 경우 98% 이상의 높은 생장 억제를 보였다. 또한, 잡초종자의 경우 1/2×, 1/4×, 1/8×의 농도에서 모두 90% 이상의 높은 생장 억제율을 나타내었고, 이와 대조적으로 작물종자의 경우 41 내지 78%로 상대적으로 낮은 생장 억제를 보였다. 1/32× 및 1/64×의 낮은 농도에서는 오히려 뿌리와 줄기에서 더 높은 생장을 보이는 경우를 확인할 수 있었는데, 이는 4종의 잡초 중 피와 바랭이에서만 이러한 현상이 일어난 반면 실험에 이용된 4종의 작물종자는 모두 생장이 증가하였다(표 4 및 표 5).

표 4

농도	줄기 성장 억제율(%)							
	Ec ^a	Ds	Aa	Ar	Os	Hv	Cs	Gm
1/2×	98.7±1.1	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0
1/4×	97.5±2.2	99.4±0.5	98.3±3.0	100.0 ±0.0	75.4±6.9	67.5 ±10.0	99.4±1.1	72.0 ±16.8
1/8×	48.8±9.5	90.6±8.2	92.3±6.7	99.7±0.5	51.3±4.2	64.1±2.4	44.8 ±11.5	54.1±4.3
1/16×	18.5 ±10.1	53.2 ±16.5	74.3 ±23.4	95.7±3.5	36.4±7.3	19.4±3.1	15.5 ±9.4	26.7 ±12.5
1/32×	-1.1 ±9.2	13.3 ±25.5	35.6 ±23.5	82.5±8.3	12.2 ±11.3	-0.4±4.0	-6.0 ±11.3	22.2 ±37.0
1/64×	2.1 ±10.1	14.0 ±24.3	36.6 ±20.0	18.0 ±77.3	-0.7 ±13.4	-6.2 ±9.6	-4.3 ±2.4	0.1 ±55.1

[0064] ^aEc, 피; Ds, 바랭이; Aa, 어저귀; Ar, 털비름; Os, 벼; Hv, 보리; Gm, 콩; Cs, 오이

[0065] ^b1×, 수수 1 g + H₂O 5 ml

[0066] 값은 평균 ±SD 이다.

표 5

[0067]

농도	뿌리 성장 억제율(%)							
	Ec ^a	Ds	Aa	Ar	Os	Hv	Cs	Gm
1/2×	98.4±1.6	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0	100.0 ±0.0
1/4×	97.3±2.5	99.4±0.6	98.7±2.3	100.0 ±0.0	98.9±0.2	82.1±4.0	99.6±0.8	73.8±4.1
1/8×	95.1±0.9	90.3 ±10.4	95.2±4.3	99.9±0.2	72.8 ±23.6	78.5±2.3	77.1 ±4.4	41.5±2.7
1/16×	53.5 ±16.4	40.1 ±13.4	81.8 ±11.6	95.8±3.3	1.7±41.2	62.1±1.0	57.4 ±12.1	20.9±1.3
1/32×	-8.4 ±14.4	13.7 ±28.0	53.6 ±11.1	93.5±0.9	-30.5 ±56.9	2.4± 12.5	12.9 ±10.1	4.0 ±8.8
1/64×	-22.3 ±27.5	-8.8 ±18.3	48.6 ±15.6	40.7 ±54.9	-19.6 ±28.4	-20.2 ±16.4	20.2 ±9.0	-5.6 ±26.2

[0068] ^aEc, 피; Ds, 바랭이; Aa, 어저귀; Ar, 털비름; Os, 벼; Hv, 보리; Gm, 콩; Cs, 오이

[0069] ^b1×, 수수 1 g + H₂O 5 ml

[0070] 값은 평균 ±SD 이다.