



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2015-0120600

(43) 공개일자

2015년10월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C09K 17/40 (2006.01) C09K 17/42 (2006.01)

C09K 17/50 (2006.01)

(21) 출원번호

10-2014-0046306

(22) 출원일자

2014년04월17일

심사청구일자

2014년04월17일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

양재경

경남 진주시 강변길 31, 103동 402호 (가좌동, 가호에일린의딸)

정지영

경남 사천시 숲피길 96, 가동 403호 (향촌동, 에이스빌라)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 7 항

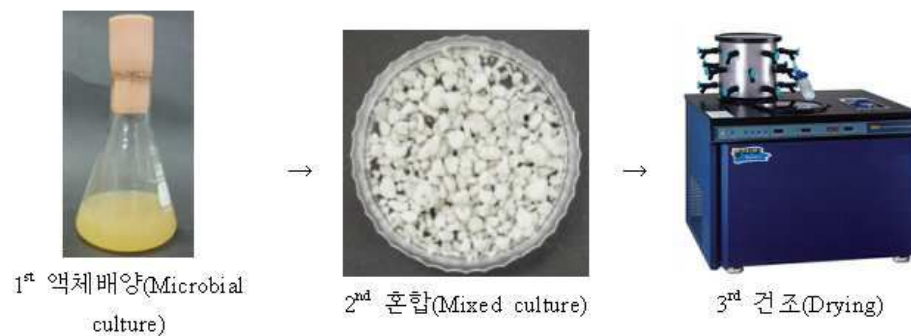
(54) 발명의 명칭 **미생물강화 기능성 식생기반재 및 그 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 피트모스(peat moss) 20 내지 40 중량%, 퍼라이트(perlite) 10 내지 20 중량%, 목질원료 20 내지 40 중량% 및 미생물강화제 20 내지 40 중량% 를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재를 제공한다.

따라서 산불 등에 의해 식생의 기반인 미생물과 유기물이 훼손된 토양에서도 식생이 빠르게 활착할 수 있다.

대표도 - 도8



(72) 발명자

하시영

경북 구미시 형곡서로 11-15, 102동 1507호 (형곡동, 형곡시영아파트)

김지수

경남 창원시 마산합포구 문화북2길 13, 102호 (문화동, 동성아트빌라)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 S211213L020430

부처명 산림청

연구관리전문기관 산림청

연구사업명 산림과학기초연구지원사업

연구과제명 (4핵심 3세부) 훼손지 생태복원에 적합한 맞춤형 식생기반재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교 산학협력단

연구기간 2013.04.15 ~ 2014.04.14

명세서

청구범위

청구항 1

피트모스(peat moss) 20 내지 40 중량%, 펄라이트(perlite) 10 내지 20 중량%, 목질원료 20 내지 40 중량% 및 미생물강화제 20 내지 40 중량%를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 미생물강화 기능성 식생기반재는, 피트모스 30 중량%, 펄라이트 10 중량%, 목질원료 30 중량% 및 미생물강화제 30 중량%를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 미생물강화제는 멸균된 펄라이트, 액체배양된 미생물 및 고착제를 포함하며, 상기 미생물강화제에 함유된 미생물은 단위 그램 당 1.2×10^{10} 내지 1.6×10^{10} cfu/g인 것을 특징으로 하는 미생물강화 기능성 식생기반재.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 미생물은 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 슈도모나스 푸티나(*Pseudomonas putida*), 및 바실루스 서브틸라스(*Bacillus subtilis*)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 미생물강화 기능성 식생기반재.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 목질원료는 20 내지 25 kgf/cm² 스팀으로 5 내지 10 분간 폭쇄처리하여 칩 형태인 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 졸참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 미생물강화 기능성 식생기반재.

청구항 6

목질원료를 폭쇄처리하는 단계;

미생물을 배양하고 고착제 및 펄라이트와 혼합하고 제형화하여 미생물강화제를 준비하는 단계; 및

피트모스, 펄라이트, 상기 목질원료 및 상기 미생물강화제를 혼합하고 혼합물을 제조하고 건조하는 단계를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재 제조방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 미생물강화제를 준비하는 단계는 상기 미생물을 배지에서 액체배양 후 액체배양된 균주 : 고착제를 1 내지 3 : 1 내지 3의 부피비로 혼합하여 펄라이트에 첨가하고, 배양기에서 다시 성장시킨 후 동결건조하는 것을 특징으로 하는 미생물강화 기능성 식생기반재 제조방법.

발명의 설명

기술분야

본 발명은 산지재해지역의 녹화복원을 위한 식생기반재 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

산불 등으로 산지가 훼손되는 경우 식생을 훼손할 뿐만 아니라 식생의 기반이 되는 토양 미생물 또한 박멸되는 문제가 발생한다. 토양에 함유되어 있는 미생물이 사멸되는 경우에 토양을 산성화시켜 식생을 할 수 없는 환경으로 변하여 식생을 복원하는데 일반적이 식생의 훼손보다 더 많은 간이 소모되며, 특히 훼손지역이 산지의 사

면인 경우 인한 토사의 노출로 인하여 침식상태가 가속되고, 다량의 토사를 유출시켜 2차적이 피해를 발생시킨다.

[0003] 이 때 토사의 유출과 침식을 막기 위해 시멘트 및 석축 등의 인공적인 시설물을 사용하기도 하나, 식물을 식재하고 녹화하여 토사의 유실을 막는 방법이 시도되고 있다. 특히 사면에서의 식물의 파종은 비교적 간단한 방법으로 사면의 침식을 막을 수 있다는 점에서 널리 활용되고 있다.

[0004] 미생물이 훼손된 토양은 환경적인 불리함으로 식생이 제대로 진행되지 못하는 경우가 다수 발생하고, 종자가 활착되지 못하므로 파종이후 짧은 시간 내에 식물의 활착할 수 있도록 하는 것이 가장 중요하다.

[0005] 한편 대한민국 공개특허공보 제10-2010-0045280호를 비롯하여, 대한민국 등록특허공보 제10-0748602호 등에서는 절개지 사면 또는 호안 노화용 식생매트를 개시한다. 사면의 절개지의 침식 및 토사 유출을 방지하기 위해 식물을 파종하는 방법이나, 모두 망체 또는 매트를 이용하여 식물의 종자를 사면에 활착시키는 것을 구성으로 하고 있어서, 산지재해지역의 직접적으로 식생에 적용하기 어려우며, 망체 및 식생용 매트를 추가적으로 준비하는 과정이 필요하므로 추가적인 비용이 소모되는 단점이 있으며, 무엇보다 미생물 및 유기물의 복원이 용이하지 않으므로, 미생물 및 유기물의 복원을 통하여 산지재해지역에 식물을 활착시키는 식생기반재가 여전히 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은, 산불로 인하여 미생물이 사멸된 산지재해지역 및 그 사면에서 빠른 시간 내에 식생을 활착시켜, 식생을 복원하고 토양의 유실을 방지하여 추가적인 피해를 막을 수 있는 미생물강화 식생기반재 및 그 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은, 피트모스(peat moss) 20 내지 40 중량%, 펄라이트(perlite) 10 내지 20 중량%, 목질원료 20 내지 40 중량% 및 미생물강화제 20 내지 40 중량%를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재를 제공한다.

[0008] 또한, 상기 미생물강화 기능성 식생기반재는, 피트모스30 중량%, 펄라이트 10 중량%, 목질원료 30 중량% 및 미생물강화제 30 중량%를 포함할 수 있다.

[0009] 또한 상기 미생물강화제는 멸균된 펄라이트, 액체배양된 균주 및 고착제를 포함하며, 상기 미생물강화제에 함유된 미생물은 단위 그램 당 1.2×10^{10} 내지 1.6×10^{10} cfu/g일 수 있다.

[0010] 또한 상기 균주는 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*), 바실루스 서브틸라스(*Bacillus subtilis*), 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 및 콜레토티리쿰 아큐타툼(*Colletotrichum acutatum*)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0011] 또한 상기 목질원료는 20 내지 25 kgf/cm² 스팀으로 5 내지 10 분간 폭쇄처리하여 칩(chip) 형태인 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 줄참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.

[0012] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 목질원료를 폭쇄처리하는 단계; 균주를 배양하고 고착제 및 펄라이트와 혼합하고 제형화하여 미생물강화제를 준비하는 단계; 및 피트모스, 펄라이트, 상기 목질원료 및 상기 미생물강화제를 혼합하고 혼합물을 제조하고 건조하는 단계를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재 제조방법을 제공한다.

[0013] 상기 미생물강화제를 준비하는 단계는 상기 균주를 배지에서 액체배양 후 액체배양된 균주 : 고착제를 1 내지 3 : 1 내지 3의 부피비로 혼합하여 펄라이트에 첨가하고, 배양기에서 다시 성장시킨 후 동결건조할 수 있다.

[0014] 여기서 상기 고착제는 카르복실 메틸 셀룰로오스(carboxyl methyl cellulose)를 사용할 수 있으며, 상기 미생물강화제에 대한 고착제의 농도는 10 내지 30 %일 수 있다.

[0015] 미생물강화제는 바실루스 서브틸라스 배양액 30ml 에 2 % 카르복실 메틸 셀룰로오스(carboxyl methyl cellulose; CMC) 30ml 혼합하여 제조되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0016]

본 발명에 따른 미생물강화 기능성 식생기반제는 산불 등에 의해 식생의 기반인 미생물과 유기물이 훼손된 토양에서도 식생이 빠르게 활착할 수 있다. 특히 산지재해지역이 산불에 의해 훼손된 경우 산지의 사면에서도 식생을 활착시킬 수 있어서 토양의 유실로 인한 추가적인 피해를 막을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017]

- 도 1은 본 발명에 사용된 목질원료인 편백나무 및 참나무의 이미지이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 목질원료의 전처리 후의 이미지이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 목질원료의 분쇄 후의 이미지이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료의 가스크로마토그래피를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료의 검량곡선을 나타낸 그래프이다.
- 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료에서 재배된 시료 종자의 잎 생장을 측정한 이미지이다.
- 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제를 제조하기 위한 공시 균주를 나타낸 이미지이다.
- 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제의 제조 과정을 나타낸 이미지이다.
- 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 폭쇄처리한 목질원료를 사용하여 배추종자의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- 도 10은 후처리 조건에 따른 참나무 목질원료의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- 도 11은 참나무 목질원료의 후처리 조건에 따른 길이생장을 나타낸 그래프이다.
- 도 12는 참나무 목질원료의 후처리 조건에 따른 잎 성장결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 13은 본 발명의 실시예에 따른 미생물의 길항성을 판단하기 위한 NA배지 상의 구역을 나타낸 이미지이다.
- 도 14는 본 발명의 실시예에 따른 균주의 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스에 대한 단시간 및 장시간 대치배양 이미지를 나타낸 것이다.
- 도 15는 본 발명의 실시예에 따른 균주의 콜레토티리쿰 아큐타툼에 대한 단시간 및 장시간 대치배양 이미지를 나타낸 것이다.
- 도 16은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물에 따른 종자의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- 도 17은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물에 따른 줄기 생장을 나타낸 그래프이다.
- 도 18은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물 종에 따른 배추종자의 생장을 나타낸 사진이다.
- 도 19는 본 발명의 실시예에 따른 미생물의 생장 전·후를 나타낸 이미지이다.
- 도 20은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제 및 피트모스 : 펄라이트 = 1 : 1 혼합원료의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- 도 21은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제의 줄기 생장 및 잎 생장을 나타낸 그래프이다.
- 도 22는 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화 기능성 식생기반제의 배추종자에 대한 발아율을 나타낸 그래프이다.
- 도 23은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화 기능성 식생기반제의 배추종자의 7일간 생장한 배추종자의 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018]

본 발명자는 식생의 훼손된 지역의 식생의 활착 강화 방법을 연구하던 중에 산불로 인한 산지재해지역의 경우 식생의 기반이 되는 미생물 및 유기물이 훼손되어 식생이 활착되기 어려운 것을 확인하고, 식생이 빠르게 활착할 수 있도록 미생물과 유기물을 최적의 비율로 함유한 식생기반제를 완성하였다.

- [0019] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0020] 본 발명은 피트모스(peat moss) 20 내지 40 중량%, 퍼라이트(perlite) 10 내지 20 중량%, 목질원료 20 내지 40 중량% 및 미생물강화제 20 내지 40 중량% 를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재를 제공한다.
- [0021] 상기 피트모스는 다량의 수분보유능력을 가지고 있어 종자에 대한 수분공급원으로 사용될 수 있으며, 토양과 혼합되는 경우 토양의 통기성을 증가시켜 뿌리의 성장을 돕는다. 또한 피트모스를 토양에 첨가하면 식생의 공급되는 영양성분이 용탈되는 것을 방지할 수 있으며, 토양이 고착되어 뿌리의 성장에 지장을 주는 것을 방지할 수 있다.
- [0022] 상기 피트모스가 상기 범위를 벗어나는 경우 기능성 식생기반재의 수분공급능력이 저하되어 식물의 활착 능력이 감소되는 문제점이 발생한다.
- [0023] 상기 퍼라이트는 다공성 물질로서 식생기반재에 포함되는 경우 공극을 제공하여 식생기반재가 통기성을 갖게 한다. 퍼라이트가 상기 범위를 초과하여 함유되는 경우 기능성 식생기반재를 사면에 점착시키기 어려우며, 퍼라이트를 토양에 고정하기 위한 점착제를 추가적으로 첨가하여야 하는 문제가 발생될 수 있다.
- [0024] 상기 목질원료는 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 졸참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있으며, 20 내지 25 kgf/cm² 스팀으로 5 내지 10 분간 폭쇄처리하여 칩(Chip) 형태로 할 수 있다.
- [0025] 폭쇄처리하는 경우 목질원료로부터 유효한 정유가 추출될 수 있으며, 상기 유효한 정유는 식생에 필요한 탄수화물, 무기물, 무기성분 및 페놀성 화합물을 공급할 수 있다.
- [0026] 상기 미생물강화제는 멸균된 퍼라이트, 액체배양된 균주 및 고착제를 포함하며, 상기 미생물강화제에 함유된 미생물은 단위 그램 당 1.2×10^{10} 내지 1.6×10^{10} cfu/g일 수 있다.
- [0027] 균주에 포함된 미생물의 함량이 상기 범위를 벗어나는 경우 과중된 종자의 발아율이 낮아지거나, 신속하게 발아하지 못하는 문제점이 발생될 수 있다.
- [0028] 상기 균주는 트리코데르마 하르시아눔(*Trichoderma harzianum*), 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*), 바실루스 서브틸라스(*Bacillus subtilis*), 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*), 및 콜레토티리쿰 아큐타툼(*Colletotrichum acutatum*)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.
- [0029] 상기 균주 이외에는 식물병원균에 대한 길항성이 떨어져서 식생기반재의 원료로 사용하는 경우에 병원균에 취약한 문제점이 있다.
- [0030] 상기 목질원료는 20 내지 25 kgf/cm² 스팀으로 5 내지 10 분간 폭쇄처리하여 칩 형태인 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 졸참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0031] 폭쇄처리하는 경우 목질원료로부터 유효한 정유가 추출될 수 있으며, 상기 유효한 정유는 식생에 필요한 탄수화물, 무기물, 무기성분 및 페놀성 화합물을 공급할 수 있으며, 폭쇄처리 시 상기 조건을 벗어나는 경우 상기 목질원료의 섬유가 찢어지거나, 분말화되지 않고, 변색 또한 일어나지 않아서 목질원료에서 유효한 정유를 추출할 수 없는 문제점이 발생할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 목질원료를 폭쇄처리하는 단계; 미생물을 배양하고 고착제 및 퍼라이트와 혼합하고 제형화하여 미생물강화제를 준비하는 단계; 및 피트모스, 퍼라이트, 상기 목질원료 및 상기 미생물강화제를 혼합하고 혼합물을 제조하고 건조하는 단계를 포함하는 미생물강화 기능성 식생기반재 제조방법을 제공한다.
- [0033] 상기 미생물강화제를 준비하는 단계는 상기 미생물을 배지에서 액체배양 후 액체배양된 균주를 고착제와 1 내지 3 : 1 내지 3의 부피비로 혼합하여 퍼라이트에 첨가하고, 배양기에서 다시 성장시킨 후 동결건조할 수 있다.
- [0034] 상기 조건을 벗어나는 경우 균주를 제형화 할 수 없는 문제점이 발생할 수 있다.
- [0035] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 목질원료의 전처리

1. 수증기 및 폭쇄처리

본 발명에 사용된 목질원료는 대한민국 국내 남부지방에 생육하고 있는 편백나무(Hinoki Cypress) 및 참나무(Oak)를 칩(Chip)으로 제조하여 사용하였다.

도 1은 본 발명에 사용된 목질원료인 편백나무 및 참나무의 이미지이다.

수증기 전처리 및 폭쇄처리를 적용하였으며, 수증기 전처리는 오토클레이브(autoclave)를 사용하였고, 폭쇄전처리는 경북 대구 소재의 (주)유림하이텍의 폭쇄처리기(steam explosion)를 사용하였다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 목질원료의 전처리 후의 이미지이다.

표 1은 전처리 조건을 나타낸 것이다.

[표 1]

수증기 전처리 및 폭쇄처리.

장비(Apparatus)	전처리조건(Pretreatment conditions)	
	온도(Temperature)	시간(Time)
오토클레이브(Autoclave)	120 °C	10 분
		20 분
		30 분
폭쇄기(Steam explosion)	25 kg-f/cm ²	5 분

2. 생육특성분석용 시료 제조

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 물리·화학적 특성을 분석하기 위해 전처리된 편백나무 및 참나무 원료를 윌리스 밀로 분쇄한 다음 20 mesh pass/ 80 mesh on 크기의 시료를 분급하여 분석에 이용하였다.

도 3은 본 발명의 실시예에 따른 목질원료의 분쇄 후의 이미지이다.

목질원료의 물리적 특성을 분석하기 위해 공극률 및 수분보유력을 측정하였다.

공극률을 측정하기 위해 아래 부분이 망으로 된 soil can에 전처리 및 폭쇄처리되고 분쇄된 시료(이하 ‘전건시료’)를 넣고 하단부를 거즈로 막은 후 수분으로 포화되도록 물이 채워진 접시에 올려놓은 다음 시료가 물로 포화되었으면 포화된 시료의 무게를 측정한 후 건조기에서 건조시켜 전건시료무게를 측정하였다. 공극률(%)은 하기 식 1에 의하여 계산하였다.

[식 1]

$$P = 100 - (100 \times M_{dr}) / 2.65 \times V_{cor}$$

여기서 P = 공극률(%), M_{dr} = 건시료무게(g), 2.65 = 진밀도 (g/cc), V_{cor} = 코어부피(cm³)이다.

수분보유력은 전건시료를 흡인여과기(buchner funnel) 위에 올려놓고 물로 포화시킨 후 24시간 동안 중력수가 제거되게 한 다음 시료 무게를 측정하고, 다시 105 °C에서 24시간 건조시킨 후 건조 시료 무게를 측정하였다. 수분보유력(%)은 하기 식 2에 의하여 계산하였다.

[식 2]

$$WHC = (M_{tot} - M_{dr} / M_{tot}) \times 100$$

여기서 WHC = 수분 보유력 (%), M_{tot} = 습시료 무게 (g), M_{dr} = 건시료 무게 (g)이다.

화학적 특성을 분석하기 위해 탄수화물함량, 무기물함량, C/N 비율 및 무기성분을 측정하였다.

탄수화물 함량은 에탄올 추출한 탈지시료를 사용하여 72% 황산(H₂SO₄)으로 30 °C 에서 60 분간 가수분해한 후 증류수를 첨가하여 4% 황산으로 희석시킨 가수분해액을 오토클레이브에서 121 °C에서 1시간 동안 처리한 후 여과하여, 여과액을 알디톨 아세티이트(alditol acetate) 유도체로 전환시켜 가스크로마토그래피(gas chromatography);

GC)로 분석하였다. GC 분석 조건은 DB-225 (15 m x 250 μ m i.d., 0.25 μ m) 컬럼(column)이 장착된 GC(YL-6100, Young Lin Ins. Co., Ltd. Korea)을 사용하였고, 컬럼의 온도는 190 $^{\circ}$ C에서 1분간 유지하였다가, 10 $^{\circ}$ C/분으로 220 $^{\circ}$ C까지 상승 후 10분간 동안 유지하였다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료의 가스크로마토그래피를 나타낸 그래프이다. 그래프는 표준당의 크로마토그램(chromatogram)을 나타낸다.

당의 %는 표준 당과의 머무름 시간(retention time)과 각 피크들의 면적비를 비교하여 계산하였다.

표2 는 표준 당의 머무름 시간(retention time)을 나타내었다.

[표 2]

표준 당의 머무름 시간(Retention time of standard sugar).		
단당류(Monosaccharide)	아디톨 아세테이트 유도체(Alditol acetate derivative)	머무름 시간 (Retention Time, 분)
아라비노스(Arabinose)	아라비니톨 아세테이트(Arabinitol acetate)	4.1333
자일로스(Xylose)	자일리톨 아세테이트(Xylitol acetate)	4.6617
마노스(Mannose)	만니톨 아세테이트(Mannitol acetate)	6.7142
갈락토스(Galactose)	갈락티톨 아세테이트(Galactitol acetate)	7.1100
글루코스(Glucose)	글루시톨 아세테이트(Glucitol acetate)	7.5542
이노시톨(Inositol)	이노시톨 아세테이트(Inositol acetate)	7.9617

전건시료 2 g을 정칭하여 도가니에 넣고 600 $\pm$ 25 $^{\circ}$ C의 전기로에서 24시간 동안 완전히 탄화시켜서 ash의 함량을 측정하였다. ash 함량(%)은 하기 식 3에 의하여 계산하였다.

[식 3]

$$\text{Ash} = \text{ash} / \text{raw material} \times 100$$

여기서 Ash = 무기물 함량 (%), ash = 탄화 후 시료 (g), raw material = 전건 시료 (g)

C/N 비(carbon/nitrogen ratio)는 시료에 포함되어있는 탄소(C), 수소(H), 질소(N), 황(S) 및 산소(O) 함량을 원소분석기(Flash 2000 Series, Thermo Fisher Scientific Inc, USA)를 이용하여 분석한 다음 확인된 총 탄소 함량에 대한 총 질소 함량의 비율로 계산하였으며, 분석조건은 다음과 같다.

[표 3]

분석조건(Aalytical conditions of equipment).	
Item	조건 (Condition)
시료크기(Sample size)	0.1 ~ 100 mg
측정범위(Measuring range)	0.01 ~ 100%
투입온도(Injection temperature)	1200
캐리어가스(Carrier gas)	He
캐리어가스흐름(Carrier gas flow)	120 cc/min
분석시간(Analysis time)	600 sec
검출기(Detector)	TCD

무기성분 함량은 전건시료 1 g을 습식분해액(HNO₃ : H₂SO₄ : HClO₄ = 10 : 1 : 4) 25 ml로 분해시킨 후 No. 2 여

과지를 이용하여 잔사를 분리하고 여액은 회석하여 분광광도계(ICP spectrometer, OPTIMA 4300 DV/5300 DV, Perkin Elmer, USA)로 함유된 원소의 함량을 정량하였다(RDA, 2000).

[0072] 산도(pH)는 전건시료 10 g에 증류수 50 mL을 가하여 진탕 후 pH meter (Orion, USA)를 사용하여 측정하였다.

[0073] 페놀성 화합물 함량을 측정하기 위해 전건시료 1 g에 아세톤 50 mL를 가하여 실온에서 24 시간동안 추출한 다음 여과하여 분석 시료로 사용하였고, 폴린-데니스(Folin-Denis)법에 의해 비색 정량하였다. 시료 30 μ l에 증류수 3 mL, 발색시약(Folin-Ciocalteu's phenol reagent) 0.1 mL를 가하여 3분간 정치한 후, 20% 탄산나트륨(Na_2CO_3) 0.3 mL 가하여 혼합하고 실온에서 30분간 방치하여 725 nm에서 흡광도를 측정 (U-3000, HITACHI)하였다. 검량곡선은 갈산(gallic acid)을 이용하여 작성하였다).

[0074] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료의 검량곡선을 나타낸 그래프이다.

[0075] 3. 생육특성 분석

[0076] 공시 초종으로서 (주) WORLD SEED에서 구입한 배추종자(*Brassia campestris*)를 이용하여 식물생장을 비교하였다.

[0077] 종자의 발아율은 직경 9 cm 페트리 접시(petri dish)에 전건시료 10 g 넣고 그 위에 25립의 종자를 3반복으로 치상한 다음, 수분이 부족하지 않도록 12시간 마다 3 mL의 증류수를 첨가하여 25 $^{\circ}\text{C}$ 암조건에서 5일간 발아 시켰다. 종자의 표피가 터지고 유근이 1 mm 이상 성장한 것을 발아된 종자로 하여, 1일 간격으로 발아한 종자의 수를 조사하였다. 발아율(%)은 하기 식 4에 의하여 계산하였다.

[0078] [식 4]

$$[0079] \text{SG} = (\text{EG} / \text{CG}) \times 100$$

[0080] 기서 SG = 발아율 (%), EG = 시험구의 발아수, CG = 대조구의 발아수이다.

[0081] 시료의 줄기 성장 정도를 측정하기 위해 페트리 접시 당 7개의 샘플을 채취하여 줄기의 길이를 측정하고 평균값을 계산하였다.

[0082] 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 전처리된 목질원료에서 재배된 시료 종자의 잎 생장을 측정한 이미지이다.

[0083] <실시예 2> 목질원료의 후처리

[0084] 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 폭쇄처리된 참나무 목질원료의 이미지이다.

[0085] 공시재료로써, 25 kgf/cm², 5 분간 폭쇄처리된 참나무(참나무 폭쇄재)를 이용하였다.

[0086] 폭쇄처리된 참나무와 증류수(distilled water) 및 10% 에탄올(ethanol)을 부피비로 각각 1: 20으로 혼합하여 shaking incubator에서 100 rpm, 30 $^{\circ}\text{C}$, 60 $^{\circ}\text{C}$ 온도 조건에서 각각 3, 12 및 24 시간 동안 후처리한 다음 감압 여과를 통해 후처리 참나무원료를 각각 획득하였다. 각 조건별로 획득된 후처리 참나무 원료는 60 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24 시간동안 건조한 다음 식물생장 평가를 위해 발아율, 길이 성장, 잎 크기를 측정하였다.

[0087] 표 4는 목질원료의 후처리 조건을 나타낸다.

[0088] [표 4]

후처리조건 (Post-treatment conditions)		
진행 용매 (Progress liquid)	처리 조건 (Treatment condition)	
	온도 (Temperature)	시간 (Time)
증류수 (Distilled water)	30 ℃,	24 h
	60 ℃,	3 h
	60 ℃,	12 h
에탄올 (10% ethanol)	30 ℃	24 h
	60 ℃	3 h
	60 ℃	12 h

[0089]

[0090] <실시예 3> 미생물강화제 제조

[0091] 1. 후보 미생물준비

[0092] 미생물강화제를 제조하기 위해 후보 미생물 3종 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*; 이하 '*T. harzianum*'), 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*; 이하 '*P. putida*'), 바실루스 서브틸라스(*Bacillus subtilis*; 이하 '*B. subtilis*'), 및 식물병원균 2종 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*; 이하 '*C. gloeosporioides*'), 콜레토티리쿰 아큐타툼(*Colletotrichum acutatum*; 이하 '*C. acutatum*')을 (주)한국바이오케미칼에서 제공받았다.

[0093] 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제를 제조하기 위한 공시 균주를 나타낸 이미지이다.

[0094] 미생물 및 식물병원균 생장을 위하여 NA(nutrient agar) 배지 및 NB(nutrient broth)배지를 사용하였다.

[0095] 미생물강화제의 베이스인 퍼라이트는 (주)성현퍼라이트로부터 구입하여 121℃에서 30 분간 멸균한 이후에 사용하였다.

[0096] 2. 고착제 준비

[0097] 균주를 고착시키는 고착제로 (주) 고려CMC에서 구입한 카르복실 메틸 셀룰로오스(carboxyl methyl cellulose; CMC)를 30분간 교반하여 2% 농도로 준비하였다.

[0098] 3. 미생물강화제 준비

[0099] 제형화를 위해 선정된 미생물 *B. subtilis*를 NB 배지에서 4일간 30 ℃, 100 rpm 조건으로 액체배양 후 멸균된 퍼라이트 100 g에 액체배양된 균주 30 ml와 2% CMC 용액 30 ml를 혼합하여 교반한 후에 30 ℃ 배양기에서 8일간 생장시켰다. 균주의 생장 후 35 ℃ 건조기에서 48시간 건조시켜 수분을 제거하고 동결건조하여 미생물강화제를 완성하였다.

[0100] 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제의 제조 과정을 나타낸 이미지이다.

[0101] 도면을 확인하면 액체배양 후 혼합하고 건조하여 미생물강화제를 완성하였다.

[0102] <실시예 4> 미생물강화 기능성 식생기반재 제조

[0103] 미생물강화 기능성 식생기반재를 제조하기 위해 피트모스, 퍼라이트, 상기 실시예 2에서 제조된 목질원료 및 실시예3에서 제조된 미생물강화제를 각각 3 : 1 : 3 : 3 (w/w/w/w)로 혼합하고 건조하여 미생물강화 기능성 식생기반재를 완성하였다.

[0104] <실험예 1> 전처리한 목질원료의 물성

[0105] 1. 물리적 특성 비교

[0106] 공극률은 식생기반재 원료의 통기성과 통수성을 평가할 지표로서, 일반적으로 식물생장을 위한 식생기반재의 공극률은 60 % 이상이다. 또한 식생기반재 원료의 공극률은 보수성, 단열성, 무기양분의 지속적 보유, 유해원소의 완충작용, 질소(N), 인(P), 칼륨(K) 등 기타 필수원소의 공급에 영향을 미친다.

[0107] 표 5는 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무 원료에 대한 공극률을 나타내었다.

[0108] 참나무의 공극률은 82 내지 90 %로 식생기반재와 유사한 수준으로 나타났고 편백나무의 공극률은 68 내지 76 %의 수준으로 참나무보다 낮은 결과를 보였다. 편백나무와 참나무 모두 수증기 전처리 시간이 증가할수록 공극률이 높아지는 것으로 나타났고 폭쇄처리 원료의 공극률은 무처리 및 수증기 전처리 원료보다 높은 공극률을 나타냈다.

[0109] [표 5]

스팀전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 공극률(Porosity of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질 원료(Wood species)	전처리(Pretreatment)	공극률(Porosity, %)
편백나무(Hinoki cypress)	Raw	68.1 ± 0.9c ¹⁾
	10 분간 수증기 전처리	68.1 ± 1.6c
	20 분간 수증기 전처리	69.4 ± 0.5c
	30 분간 수증기 전처리	73.8 ± 0.7b
	폭쇄처리	76.8 ± 0.4a
참나무(Oak)	Raw	82.5 ± 1.2c
	10 분간 수증기 전처리	85.2 ± 1.0b
	20 분간 수증기 전처리	86.0 ± 1.0b
	30 분간 수증기 전처리	84.9 ± 2.0b
	폭쇄처리	90.6 ± 0.9a

[0110] ¹⁾ P ≤ 0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 꺾임에서 분리방법

[0111] 수분보유력은 식물의 초기 발아와 식생의 생육보장 측면에서 중요한 역할을 한다. 암비탈면 등 불리한 생육환경에서 식생의 초기 활착과 지속적 성장 유지를 위한 식생기반재에 있어서 수분보유력은 중요한 요소이다.

[0112] 표 6은 본 발명의 실시예에 따른 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무와 참나무의 수분보유력을 나타낸 것이다.

[0113] 수증기 전처리된 편백나무는 무처리구와 비교하였을 때 수분보유력에 있어서 유의성이 나타나지 않았다. 10 분간 수증기 전처리된 참나무도 무처리구와 비교하였을 때 유의성을 나타내지 않았으나 10 분 및 20 분간 수증기 전처리된 참나무의 수분보유력은 유의성을 나타냈다. 특히, 폭쇄처리된 편백나무와 참나무의 수분보유력은 각각 42.9% 및 56.2%로 나타났으며 무처리구 및 수증기 전처리된 원료에 대하여 유의성을 나타냈다.

[표 6]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 수분보유력(Water retention power of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질원료(Wood species)	처리방법(Pretreatment)	수분보유력(Water retention power, %)
편백나무(Hinoki cypress)	Raw	32.2 ± 0.9b ¹⁾
	10분간 수증기 전처리	31.3 ± 0.6b
	20분간 수증기 전처리	31.0 ± 1.3b
	30분간 수증기 전처리	30.7 ± 1.5b
	폭쇄처리	42.9 ± 1.8a
참나무(Oak)	Raw	47.1 ± 0.8c
	10분간 수증기 전처리	47.8 ± 1.0c
	20분간 수증기 전처리	49.1 ± 0.8b
	30분간 수증기 전처리	49.2 ± 0.8b
	폭쇄처리	56.2 ± 1.5a

¹⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윗첨에서 분리방법

2. 화학적 특성 비교

탄수화물은 유기물 함량의 지표로서, 식물의 생장에 직접적인 영향을 미치며, 토양의 물리적 특성에도 영향을 미친다.

표 7은 전처리에 따른 목질원료의 탄수화물 함량을 나타낸 것이다.

폭쇄처리된 편백나무 및 참나무에서 탄수화물 함량이 각각 36.8 % 및 41.1 %로 가장 높은 수치를 나타냈다. 이러한 탄수화물은 식물이 직접 흡수할 수는 없다. 하지만 탄소원으로서 미생물의 에너지원으로 사용되며, 미생물이 탄수화물을 분해함으로서 질소 및 인산의 수용성 형태로 바뀌게 되어 결과적으로 식물의 에너지원으로서 이용되는 주요한 요소이다. 무처리구, 수증기 전처리원료 및 폭쇄처리 원료의 탄수화물 함량에 있어서 전체적으로 편백나무보다 참나무에서 탄수화물 함량이 높게 나타났으며, 이는 활엽수종의 특성으로 인한 것으로 확인되었다.

[표 7]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 탄소함유량(Carbohydrate content of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질원료 (Wood species)	전 처리 (Pretreatment)	조성(% dry weight)					
		아라비노 오스	자일로 스	마노스	갈락토스	글루코 스	총 (Total)
편백나무 (Hinoki cypress)	Raw	0.0	2.6b ¹⁾	0.8a	0.4c	26.2d	30.0c
	10분간 수증기 처리	0.0	2.3c	0.8a	0.5c	26.3d	29.9d
	20분간 수증기 처리	0.0	3.2a	0.6b	1.5a	26.5c	31.8b
	30분간 수증기 처리	0.0	2.3c	0.7ab	0.8b	26.8b	30.6c
	폭쇄처리	0.0	1.1d	0.0c	0.0d	35.7a	36.8a
참나무 (Oak)	Raw	0.0	8.3a	0.0	0.0	29.7b	38.0b
	10분간 수증기 처리	0.0	7.1c	0.0	0.0	28.9c	36.0c
	20분간 수증기 처리	0.0	7.0c	0.0	0.0	28.7c	35.7cd
	30분간 수증기 처리	0.0	7.4b	0.0	0.0	29.7b	37.1b
	폭쇄처리	0.0	5.4d	0.0	0.0	35.7a	41.1a

¹⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서 분리방법

표 8은 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무와 참나무의 무기물함량을 나타낸 것이다.

무처리구와 비교하였을 때 수증기 전처리 및 폭쇄처리로 인하여 무기물함량이 증가된 것을 확인할 수 있었으며, 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무의 무기물 함량은 각각 1.08% 및 1.12%로 각각 수증기 전처리된 편백나무 및 참나무의 무기물 함량에 대하여 유의성을 나타냈다. 이러한 무기물은 토양 중에 녹아들어 식물의 무기영양보충에 도움을 주는 역할을 한다.

[표 8]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 애쉬 함유량(Ash content of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질원료(Wood species)	전처리(Pretreatment)	애쉬 함량(% dry weight)
편백나무(Hinoki cypress)	Raw	0.26 ± 0.08c ¹⁾
	10 분간 수증기 처리	0.31 ± 0.02b
	20 분간 수증기 처리	0.31 ± 0.04b
	30 분간 수증기 처리	0.31 ± 0.01b
	폭쇄처리	1.08 ± 0.04a
참나무(Oak)	Raw	0.53 ± 0.11d
	10 분간 수증기 처리	0.75 ± 0.07b
	20 분간 수증기 처리	0.74 ± 0.09b
	30 분간 수증기 처리	0.64 ± 0.07c
	폭쇄처리	1.12 ± 0.02a

¹⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서 분리방법

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무와 참나무 C/N비를 비교하였다.

미생물의 유기물 분해와 관련된 중요한 요인 중 하나가 탄소와 질소의 비율인 탄질물(C/N ratio)이며, 탄질물이 큰 유기물은 탄질물이 작은 유기물보다 분해속도가 훨씬 느린 특징이 있다.

표 9는 수증기 전처리와 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무의 탄질물을 나타낸 것이다.

무처리 편백나무 및 참나무의 탄질물은 각각 711.0 및 425.1로 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무, 참나무의 탄질물과 비교하였을 때 가장 높은 수치를 나타냈다. 반면에 수증기 전처리와 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무의 탄질물의 수치는 낮아지게 되고 특히 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무의 탄질물은 각각 240.0 및 240.8의

수치를 나타냈다. 따라서 미생물에 의한 신속한 유기물 분해를 통해 활발한 식물생육 및 녹지화를 위해서는 무처리된 편백나무 또는 참나무를 이용하는 것 보다 수증기 전처리 또는 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무를 이용하는 것이 적합하였다.

[표 9]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 C/N비(C/N ratio of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질원료(Wood species)	전 처리 (Pretreatment)	탄 소 함 량 (C content, %)	질 소 함 량 (N content, %)	C/N ratio
편백나무 (Hinoki cypress)	Raw	50.3	0.1	711.0a ^{b)}
	10 분간 수증기 처리	50.0	0.1	450.2d
	20 분간 수증기 처리	49.9	0.1	514.7c
	30 분간 수증기 처리	51.8	0.1	520.2b
	폭쇄처리	51.8	0.2	240.5e
참나무 (Oak)	Raw	48.6	0.1	425.1a
	10 분간 수증기 처리	48.4	0.1	363.8b
	20 분간 수증기 처리	48.5	0.1	359.4c
	30 분간 수증기 처리	49.1	0.2	300.0d
	폭쇄처리	50.2	0.2	240.8e

^{b)} $P \leq 0.05$ 에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서 분리방법

표 10은 수증기 전처리와 폭쇄처리된 편백나무 또는 참나무의 무기성분 함량을 나타낸 것이다.

수증기 전처리 및 폭쇄처리로 인해 편백나무 또는 참나무의 칼슘(Ca), 마그네슘(Mg), 나트륨(Na) 및 칼륨(K) 함량이 증가하였는데 이는 식물 생장을 위한 필수원소(칼륨, 칼슘, 마그네슘, 아연, 철, 망간 및 인 등)로서 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무 또는 참나무는 양이온 교환용량이 높아 양분 보유력이 뛰어날 것으로 판단된다. 특히 폭쇄처리된 참나무는 질소 및 인산과 더불어 식물의 생육에 영향을 미치는 칼륨 함량이 높게 나타났기 때문에 칼륨으로 인한 식물의 광합성 및 아미노산으로부터의 단백질합성에 도움을 줌으로서 식물생장에 유리한 것으로 확인되었다.

모든 전처리 조건에 있어서 회수된 편백나무 또는 참나무의 비소(As)함량은 전체적으로 독성 기준치인 50 mg/kg에 비해 절반 이하인 최저 1.8 mg/kg에서 최대 23.0 mg/kg의 함량을 나타냈고, 유해성분인 카드뮴(Cd, <5 mg/kg), 납(Pb, <150 mg/kg), 크롬(Cr, <300 mg/kg) 및 구리(Cu, <500 mg/kg)성분은 모든 시료에서 검출되지 않았다. 따라서 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무 또는 참나무를 이용할 경우 중금속 유해성분으로 인한 식물생장독성 및 토양오염이 발생하지 않을 것으로 판단되었다.

[0135]

[표 10]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 미네랄 성분(Mineral element of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

미네랄 (Mineral element, mg/kg)	편백나무 (Hinoki cypress)					참나무 (Oak)				
	Raw	10 분간 수 증 기 전처리	20 분간 수 증 기 전처리	30 분간 수 증 기 전처리	폭쇄처리	Raw	10 분간 수 증 기 전처리	20 분간 수 증 기 전처리	30 분간 수 증 기 전처리	폭쇄처리
K	389.1 ± 23.3d	394.7 ± 12.5d	515.6 ± 17.4b	466.1 ± 2.1c	702.3 ± 11.7a	998.0 ± 10.4d	1176.6 ± 8.3b	1135.3 ± 10.1c	922.3 ± 26.3e	1250.1 ± 9.7a
Ca	516.7 ± 2.8d	513.3 ± 2.5d	539.0 ± 6.0c	665.8 ± 11.8b	2411.6 ± 35.6a	1196.0 ± 20.8d	1431.1 ± 18.1c	1527.4 ± 31.4b	1116.9 ± 24.4e	1982.6 ± 19.9a
Na	264.7 ± 2.4e	309.8 ± 2.4c	600.1 ± 6.0a	298.5 ± 4.8d	389.1 ± 5.5b	296.7 ± 5.6c	469.6 ± 6.6b	301.3 ± 1.9c	245.9 ± 5.1d	481.2 ± 3.0a
Mg	111.6 ± 0.6e	119.8 ± 0.8c	132.5 ± 12.3b	136.0 ± 2.4a	117.5 ± 1.7cd	105.6 ± 2.0c	106.5 ± 1.9c	112.6 ± 2.0b	97.6 ± 2.2d	173.1 ± 2.0a
Al	19.5 ± 2.4c	19.4 ± 0.2c	34.0 ± 0.5b	19.8 ± 0.6c	46.3 ± 0.5a	11.5 ± 0.1c	7.9 ± 0.2d	16.9 ± 0.1b	7.7 ± 0.1de	22.6 ± 0.2a
Fe	105.3 ± 1.6d	134.9 ± 1.8bc	137.8 ± 1.5b	30.4 ± 0.7e	348.3 ± 5.8a	165.7 ± 0.3a	70.6 ± 0.5b	52.9 ± 0.3d	18.3 ± 0.1e	58.3 ± 0.6c
Zn	16.0 ± 0.1c	24.5 ± 0.3a	20.8 ± 0.3b	11.8 ± 0.1d	8.1 ± 0.0e	9.4 ± 0.0a	4.4 ± 0.0c	3.6 ± 0.0d	2.5 ± 0.0e	5.1 ± 0.1b
Mn	102.9 ± 1.8c	107.2 ± 1.5ab	109.5 ± 0.4a	107.6 ± 1.3ab	53.5 ± 0.8d	15.3 ± 0.0c	14.7 ± 0.1d	16.6 ± 0.1b	12.0 ± 0.0e	24.1 ± 0.2a
B	3.5 ± 0.2d	3.0 ± 0.1e	48.1 ± 0.5a	7.1 ± 0.4c	36.4 ± 0.7b	3.1 ± 0.1c	1.5 ± 0.1d	3.9 ± 0.1b	1.3 ± 0.0e	15.3 ± 0.3a
Bi	2.3 ± 0.3b	23.1 ± 0.1a	2.0 ± 0.2bc	1.9 ± 0.2c	1.9 ± 0.2c	1.9 ± 0.0b	2.4 ± 0.1a	1.7 ± 0.2c	1.9 ± 0.2b	1.6 ± 0.2d
As	2.6 ± 0.3b	23.7 ± 0.5a	1.9 ± 0.4c	1.8 ± 0.2d	1.8 ± 0.9d	2.2 ± 0.5ab	2.3 ± 0.4a	2.2 ± 0.7ab	1.8 ± 0.3bc	2.1 ± 0.6b
Si	32.9 ± 0.6c	31.6 ± 0.5c	46.0 ± 0.6b	45.8 ± 1.0b	64.2 ± 1.0a	25.7 ± 0.1e	27.2 ± 0.1c	35.1 ± 0.3b	26.3 ± 0.2d	51.3 ± 0.3a
P	45.7 ± 1.8d	46.0 ± 1.1d	49.2 ± 0.7bc	51.9 ± 0.9b	65.3 ± 1.7a	60.5 ± 1.3d	69.9 ± 0.5b	69.4 ± 0.8b	62.1 ± 0.5c	94.6 ± 0.2a
Cd	- ^{a)}	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)} P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서 분리방법

^{a)} 불검출(Not detected)

[0136]

[0137]

식생기반재의 산도(pH value)는 양분 흡수에 영향력을 미치며, 작물 생육에 영향을 주는 화학성 특성 중 하나이다. 일반적인 작물생장을 위한 적정 pH는 5.5 내지 6.5이며 높거나 낮은 수치의 pH는 식물생육을 감소시킨다.

[0138]

표 11은 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무 또는 참나무의 산도를 나타낸 것이다.

[0139]

편백나무에 있어서 무처리구와 10분, 20분, 30분 수증기 전처리의 pH는 유의성을 나타내지 않았으나 폭쇄처리 편백나무는(pH 3.8) 무처리 및 수증기 전처리 편백나무에 대해서 유의성을 나타냈다. 참나무에서는 무처리구가 pH 5.8로 중성에 가까운 수치를 나타냈으나 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 참나무에서는 보다 무처리구 보다 낮은 pH를 나타냈다. 따라서 폭쇄처리된 편백나무 및 참나무는 단독으로 식생기반재로서 이용하기 보다는 기존 식생기반재와 적정 비율로 혼합하여 pH를 조정하는 것이 적합하였다.

[0140] [표 11]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 산도(The pH value of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질 원료(Wood species)	전처리(Pretreatment)	산도(pH)
편백나무(Hinoki cypress)	Raw	4.7 ± 0.0ab ¹⁾
	10 분간 수증기 처리	4.8 ± 0.0a
	20 분간 수증기 처리	4.8 ± 0.0a
	30 분간 수증기 처리	4.8 ± 0.0a
	폭쇄처리	3.8 ± 0.0c
참나무(Oak)	Raw	5.8 ± 0.0a
	10 분간 수증기 처리	4.3 ± 0.1c
	20 분간 수증기 처리	4.7 ± 0.0b
	30 분간 수증기 처리	4.7 ± 0.0b
	폭쇄처리	3.8 ± 0.0d

¹⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서의 분리방법

[0141]

[0142]

과농도의 페놀 화합물은 식물의 생장을 억제시키는 단점이 있으나, 반면에 식물의 씨를 발아시키고 특히 줄기의 신장에 관여하는 옥신과 같은 길항작용을 하는 장점이 있다.

[0143]

표 12는 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 편백나무, 참나무 조건별 페놀성 화합물 함량을 나타낸 것이다.

[0144]

참나무의 페놀성 화합물 함량은 2.3 내지 29.8 mg/g의 수치를 나타냈고 편백나무의 경우 2.9 내지 22.6 mg/g으로 참나무와 비슷한 수치를 나타냈다. 전처리 조건별 페놀성 화합물 함량은 참나무와 편백나무 모두 폭쇄처리 시 무처리구와 수증기 처리보다 높은 페놀성 화합물 함량을 나타내어 식생기반재 원료로써 식물의 생장을 조절하는데 유리할 것으로 판단되었다.

[0145]

[표 12]

수증기 전처리 및 폭쇄처리된 목질원료의 페놀성 화합물 함량(Total phenolic content of wood species after steaming and steam explosion pretreatment).

목질 원료(Wood species)	전처리(Pretreatment)	페놀성 화합물 함량(mg/g)
편백나무(Hinoki cypress)	Raw	3.7 ± 0.0b ²⁾
	10 분간 수증기 전처리	2.9 ± 0.0d
	20 분간 수증기 전처리	3.1 ± 0.0c
	30 분간 수증기 전처리	3.7 ± 0.0b
	폭쇄처리	22.6 ± 0.0a
참나무(Oak)	Raw	3.9 ± 0.0b
	10 분간 수증기 전처리	2.3 ± 0.0e
	20 분간 수증기 전처리	3.0 ± 0.0d
	30 분간 수증기 전처리	3.4 ± 0.0c
	폭쇄처리	29.8 ± 0.0a

²⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 윌콕슨에서 분리방법

[0146]

[0147]

목질원료를 전처리하는 경우 수증기 전처리 시료보다 폭쇄처리가 공극률, 수분보유력, 무기물 및 페놀화합물 성분함량이 높게 나타나서 폭쇄처리하는 것이 식생기반재 제조에 타당하였으며, 폭쇄처리 목질원료에서 탄수화물 함량이 높게 나타났으며, 폭쇄처리된 편백나무보다 폭쇄처리된 참나무(41.1%)에서 탄수화물 함량이 가장 높게 나타난 것으로 확인되었다.

[0148]

또한 수증기 및 폭쇄처리로 인해 편백나무 및 참나무 원료 내에 함유된 칼슘(Ca), 마그네슘(Mg), 나트륨(Na) 및 칼륨(K)의 함량이 크게 증가되었다.

- [0149] 3. 목질원료의 생육 특성 분석
- [0150] 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 폭쇄처리한 목질원료를 사용하여 배추종자의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- [0151] 수증기 전처리 및 폭쇄처리된 참나무 또는 편백나무와 대조구(대조구 1은 피트모스와 펄라이트, 1: 1 (w/w)) 혼합재, 대조구2는 (피트모스, 펄라이트 및 골판지페지 3: 1: 6 (w/w/w)) 혼합재를 비교했을 때, 20 분간 수증기 전처리된 참나무의 발아율이 가장 높은 것으로 나타났고, 폭쇄처리된 참나무 및 편백나무의 발아율은 보다 낮은 것으로 나타났다. 이는 폭쇄처리된 참나무 및 편백나무의 페놀성 화합물이 식물 성장을 하는데 영향을 미친 것으로 판단된다.
- [0152] 수증기 또는 폭쇄처리를 하는 시료의 발아율이 대조구보다 낮게 나타났지만 식생기반재로 물리·화학적 특성이 높으므로 후처리과정이 필요한 것을 확인하였다.
- [0153]
- [0154] <실험예 2> 후처리한 목질원료의 물성
- [0155] 후처리한 목질원료를 가지고 식물 성장을 평가하였다.
- [0156] 대조구로서 기존 식생기반재인 피트모스, 펄라이트 및 폭쇄 참나무를 각각 3: 1: 6 (w/w/w)비율로 혼합하여 이용하였고 실험구로 피트모스, 펄라이트 및 앞에서 후처리된 참나무를 각각 3: 1: 6 (w/w/w)으로 혼합하여 식물 성장평가를 하였다.
- [0157] 고시 초종으로 (주)WORLD SEED에서 구입한 배추종자(*Brassica campestris*)를 이용하여 식물생장을 비교하였다.
- [0158] 종자의 발아율은 직경 9 cm 페트리 접시에 후처리 참나무 혼합 원료를 10g 씩 넣고 그 위에 25립의 종자를 치상한 다음, 수분이 부족하지 않도록 12시간 마다 3 ml의 증류수를 첨가하여 20 ℃ 식물 성장용 챔버(plant growth chamber)에서 암조건 8시간, 광조건 16시간에서 7일간 발아 시켰으며, 종자의 표피가 터지고 유근이 1 mm 이상 성장한 것을 발아된 종자로 하여 1일 간격으로 발아한 종자의 수를 조사하였고 발아율(%)은 상기 4에 의하여 계산하였고 모든 시료는 3반복 하였다.
- [0159] 또한 줄기생장을 측정하기 위해 페트리 접시 당 3개의 샘플은 채취하여 줄기의 길이를 측정하고 평균값을 계산하였다. 잎 성장 정도를 측정하기 위해 페트리 접시 당 3개의 샘플은 채취하여 잎의 가로 길이와 세로길이를 곱하여 잎의 크기를 계산하였다.
- [0160] 도 10은 후처리 조건에 따른 참나무 목질원료의 발아율을 나타낸 그래프이다.
- [0161] 도면을 확인하면 증류수, 에탄올 추출 모두 4일째 발아가 되기 시작했고 60 ℃, 3시간 증류수 처리구의 경우 최초 발아일 이후 발아율이 더 이상 높아지지 않았다. 60 ℃, 3시간 10 % 에탄올 처리구가(64 %) 가장 높은 발아율을 나타냈고 증류수 처리구에서는 60 ℃, 12시간 처리구의 발아율(58 %)이 비교적 높았다. 따라서 식물 발아율에 있어서 60 ℃, 3시간 10 % 에탄올 처리조건이 최적인 것으로 확인되었다.
- [0162] 도 11은 참나무 목질원료의 후처리 조건에 따른 길이생장을 나타낸 그래프이다.
- [0163] 도면을 확인하면 에탄올 처리구(3.0 내지 3.6 cm)가 증류수 처리구(2.1 내지 3.3 cm)보다 길이생장이 활발하게 나타났으며, 참나무 목질원료 에탄올 추출 조건 중 60 ℃ 3시간 10% 에탄올 추출물 (3.6 cm)에서 길이 생장이 가장 높은 수치를 보였다.
- [0164] 도 12는 참나무 목질원료의 후처리 조건에 따른 잎 성장결과를 나타낸 그래프이다.
- [0165] 도면을 참조하면 잎 성장 크기는 증류수 및 에탄올 처리구는 전체적으로 0.6 내지 0.8 cm² 범위로서 큰 차이를 나타내진 않았으나 증류수 및 에탄올 60 ℃, 3시간 처리구에서 높은 수치를 가지는 잎 성장을 나타내었다.
- [0166] 식생기반재에 포함되는 상기 목질원료로 사용하기 위한 참나무 목질원료의 폭쇄처리 이후에 후처리는 10% 에탄올로 60 ℃에서 3시간 동안 처리하는 경우 원료의 발아율, 줄기 성장 및 잎 생장이 가장 높은 수치를 나타내었다.
- [0167] <실험예 3> 미생물강화제 물성
- [0168] 1. 후보 균주의 길항성 측정

[0169] 병원균에 대한 길항능력이 우수한 미생물을 측정하기 위해 두 균주 간의 거리가 30 mm가 되도록 NA 배지 상에 동시에 배치하였다. 25 °C에서 대치 배양하면서 대치선의 이동 경로를 단기간(7일) 및 장기간(30일)로 나누어 관찰하였다. 병원균에 대한 각 균주의 길항력과 그 지속성을 조사하였다.

[0170] 도 13은 본 발명의 실시예에 따른 미생물의 길항성을 판단하기 위한 NA배지 상의 구역을 나타낸 이미지이다.

[0171] 도면을 참고하면 길항력의 판정은 NA배지 상의 전체영역을 R₀에서 R₆까지 6개의 영역으로 세분한 후, 각 영역 내 대치선의 위치에 따른 길항력의 등급을 총 5개로 부여하여 각 균주의 병원균에 대한 길항력을 측정하였다.

[0172] 여기서 R-는 병원균이 배양 배지에서 지배적인 것을 의미하며, 아무런 길항작용도 나타내지 못하는 것이고, R은 병원균에 대해 최소한의 길항 작용을 나타내며, R+는 병원균에 대한 낮은 길항작용은 나타내고, R++는 병원균에 대한 적절한 길항작용을 나타내며, R+++는 시험 균주가 배양배지에서 지배적이어서, 높은 길항작용을 갖는 것을 나타낸다.

[0173] 도 14는 본 발명의 실시예에 따른 균주의 *C. gloeosporioides*에 대한 단시간 및 장시간 대치배양 이미지를 나타낸 것이고, 도 15는 본 발명의 실시예에 따른 균주의 *C. acutatum*에 대한 단시간 및 장시간 대치배양 이미지를 나타낸 것이다.

[0174] 표 13은 본 발명의 실시예에 따른 미생물의 길항성의 측정결과를 나타낸 표이다.

[0175] [표 13]

콜레토티리쿰 병원균에 대한 길항작용의 측정 (Level of antagonistic activity on *Colletotrichum* spp.)

배양 균주(Microbial strain)	콜레토티리쿰 글로에오스포리 콜레토티리쿰 아큐타툼			
	오이데스(<i>C. gloeosporioides</i>)		(<i>C. acutatum</i>)	
	단	장	단	장
	시	시	시	시
	간	간	간	간
	(Short-term ¹)	(Long-term ²)	(Short-term)	(Long-term)
트리코데르마 하르지	R++ ³	R++	R	R-
아눔(<i>T. harzianum</i>)				
슈도모나스 푸티다(<i>P. putida</i>)	R+	R+	R-	R-
바실루스 서브틸라스(<i>B. subtilis</i>)	R+	R++	R	R

¹ 7 일간 배양
² 30 일간 배양

[0176]

[0177] 콜레토티리쿰 병원균에 대한 길항작용의 측정(Level of antagonistic activity on *Colletotrichum* spp.)*T. harzianum*은 *C. gloeosporioides* 대하여 매우 강한 길항성을 나타내었으나, *C. acutatum*에 대해서는 대치배양 시간이 길어질수록 길항성이 매우 약해지는 것을 확인하였다. *P. putida*는 *C. gloeosporioides*에 대하여 R+ 수준의 길항력을 나타냈으나, *T. harzianum*처럼 *C. acutatum*에 대하여 길항성이 나타나지 않았다(R-). 반면에 *B. subtilis*는 *C. gloeosporioides*에 대하여 대치배양 시간이 지날수록 강한 길항성(R++)을 나타냈으며, *C. acutatum*에 대하여 *T. harzianum* 및 *P. putida*보다 꾸준한 길항성(R)을 나타내었다.

[0178] 후보 미생물로 배양된 균주의 길항성 측정에서 평가에서 *T. harzianum*은 *C. gloeosporioides*에 대해서만 매우 강한 길항성을 나타내었고, *B. subtilis*는 *C. gloeosporioides* 및 *C. acutatum*에 대하여 높은 길항성을 나타내는 것으로 확인되어 미생물강화제의 제조를 위한 최적의 미생물임을 확인하였다.

[0179] 2. 고착제 농도 탐색

[0180] 고착제의 최적 농도를 확인하기 위해 멸균된 펄라이트 100g에 *T. harzianum*, *P. putida* 및 *B. subtilis* 배양

액을 30 ml 각각 첨가한 후 미생물간의 결합을 향상시키고 고정하기 위한 고착제인 2% CMC를 각각 10, 20 및 30%(w/v)로 혼합하였다.

[0181] 퍼라이트와 미생물 배양액 및 고착제를 잘 혼합하여 식물생장실험을 실시하였다.

[0182] 공시초종으로 (주)WORLD SEED에서 구입한 배추종자(*Brassica campestris*)를 이용하여 식물생장을 비교하였다.

[0183] 종자의 발아율은 직경 9 cm 페트리 접시(petri dish)에 각각의 미생물 *T. harzianum*, *P. putida* 및 *B. subtilis*와 고착제 혼합량(10%, 20% 및 30%)에 따라 퍼라이트와 함께 혼합된 미생물강화제를 각각 10 g을 첨가하고, 그 위에 25립의 종자를 3회 반복으로 치상한 다음, 수분이 부족하지 않도록 12시간 마다 3 ml의 증류수를 첨가하여 25 °C 암조건에서 7일간 발아시켰다. 종자의 표피가 터지고 유근이 1 mm 이상 생장한 것을 발아된 종자로 하여, 1일 간격으로 발아한 종자의 수를 조사하였다.

[0184] 상기 식 4에 따라 발아율(%)을 계산하였다.

[0185] 시료의 줄기 및 잎의 생장 정도를 측정하기 위해 페트리 접시 당 7개의 샘플을 채취하여 줄기의 길이 및 잎의 크기를 측정하였으며, 잎의 크기는 다. 시료의 잎 생장 정도를 측정하기 위해 도 6에 나타난 바와 같이 잎의 가로길이와 세로길이를 곱하여 잎 크기(cm²)를 계산하였다.

[0186] 도 16은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물에 따른 종자의 발아율을 나타낸 그래프이다.

[0187] 대조구는 멸균처리된 퍼라이트를 이용하였으며, *B. subtilis*의 발아율이 91 내지 93 %로 가장 높았으며, *P. putida*의 발아율은 84 내지 86%로 나타났다. 또한 *T. harzianum*, *P. putida* 및 *B. subtilis* 모든 미생물 실험구에서 대조구보다 높은 발아율을 나타냈으며, 특히 30 %의 CMC를 첨가한 *B. subtilis* 실험구가 가장 높은 발아율을 나타내었다.

[0188] 도 17은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물에 따른 줄기 생장을 나타낸 그래프이다.

[0189] 3종의 미생물 중 *B. subtilis* 실험구가 대조구 및 다른 미생물 혼합 시료보다 높은 길이생장을 나타냈으며, *T. harzianum* 및 *P. putida* 실험구는 0.5 내지 0.7 cm로 비슷한 결과를 나타냈다. 고착제 농도가 커질수록 활발한 길이생장이 나타났고 고착제 30% 혼합된 *B. subtilis*에서 가장 높은 길이생장이 나타났다.

[0190] 도 18은 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물에 따른 잎 생장을 나타낸 그래프이고, 도 19는 본 발명의 실시예에 따른 고착제 농도 및 미생물 중에 따른 배추종자의 생장을 나타낸 사진이다.

[0191] 모든 미생물 처리구에서 대조구보다 잎 생장이 증가하였다. 특히, 고착제가 30% 혼합된 *B. subtilis* 처리구의 잎 생장이 가장 활발히 나타났으며, *T. harzianum* 및 *P. putida* 처리구에서는 고착제 농도에 따른 차이점이 나타나지 않았다.

[0192] 4. 미생물강화제의 제형화에 따른 미생물 함량

[0193] 식물 재배 전후의 미생물 함량을 측정하기 위해 NB배지에서 4일 액체배양된 *B. subtilis* 배양액 100 μ l를 멸균된 증류수 900 μ l가 들어있는 마이크로 테스트 튜브(e-tube)에 넣은 다음 교반 하였다. 회전 교반된 균사액을 다시 100 μ l 취한다음 900 μ l가 들어있는 마이크로 테스트 튜브에 넣어 순차적으로 희석시켰다. 희석된 균사액 100 μ l를 NA배지에 평판도말한 다음 밀봉하여 30 °C배양기에서 48 시간 정치배양 후 생장된 콜로니(colony) 수를 카운팅하여 CFU 값을 측정하였다.

[0194] CFU 값은 하기 식 5에 의해 계산되었다.

[0195] [식 5]

[0196] $CFU = \text{콜로니 수} \times \text{희석농도(dilution rate)}$

[0197] 표 14는 미생물강화제의 제형화에 따른 미생물의 함량을 나타낸 것이다.

[0198] [표 14]

동결건조에 의한 *B. subtilis*의 함량 변화.

배양균주(Microbial)	동결건조(Freeze drying)		미생물 생존력 (Microbial viability,%)
	건조 전(CFU/g)	건조 후 (CFU/g)	
<i>B. subtilis</i>	1.6×10^{10}	1.2×10^{10}	75 %

[0199]

[0200]

동결건조에 의한 *B. subtilis*의 함량 변화. *B. subtilis* 액체 배양액(5×10^9 cfu/g, 4일 배양)과 고착제를 펄라이트와 함께 혼합하여 고형화 하였을 때 미생물 함량은 1.6×10^{10} cfu/g 으로 나타났으며, 동결건조를 통한 제형화 후 미생물 함량은 1.2×10^{10} cfu/g 으로 나타났다. 동결건조로 인해 미생물의 생존율이 25 % 감소하였지만 결과적으로 동결건조를 통하여 제형화된 상태에서도 미생물 식생기반재로 활용하기 위한 기준치인 5×10^9 cfu/g 이상의 미생물 함량을 나타내었다.

[0201]

도 19는 본 발명의 실시예에 따른 미생물의 생장 전·후를 나타낸 이미지이다.

[0202]

종래의 기술과 미생물강화제의 식육 특성을 비교하기 위해 피트모스 : 펄라이트 = 1 : 1 (w/w) 혼합원료를 대조구로 미생물강화제와 발아율 비교하였다.

[0203]

도 20은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제 및 피트모스 : 펄라이트 = 1 : 1 혼합원료의 발아율을 나타낸 그래프이다.

[0204]

7일째 발아율을 확인하였을 때 대조구의 발아율이 53%로 나타났으나 미생물강화제의 발아율이 95%로 나타났으며, 이는 대조구에 비해서 1.7배 빠른 발아율이었다. 미생물강화제를 이용할 경우 종자치상 후 24 시간에서 발아가 35% 진행되었으며, 이를 제 85% 이상으로 매우 신속한 발아율을 나타내었다.

[0205]

도 21은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제의 줄기 생장 및 잎 생장을 나타낸 그래프이다.

[0206]

종자치상 후 24 시간 제 발아가 35% 진행되었으며, 이를 제 85% 이상 발아율을 나타내었다. 줄기 생장은 약 2 cm 였고 잎 생장은 0.5cm^2 로 나타났다.

[0207]

표 15는 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화제의 식물 생장 전·후에 따른 미생물 함량을 나타낸 것이다.

[0208]

[표 15]

식물생장 전·후의 미생물 함량(Compare of microbial concentration on plant growth.)

균주(Microbial)	식물생장(Plant growth)	
	전	후
<i>B. subtilis</i> (CFU/g)	1.2×10^{10}	3.1×10^5

[0209]

[0210]

식물생장 전 동결건조를 통해 제형화 된 미생물강화제의 미생물 함량은 1.2×10^{10} cfu/g 이었으나 식물생장 후 미생물강화형 식생기반재의 미생물 함량은 3.1×10^5 cfu/g으로 낮은 수치를 나타내었다.

[0211]

이는 이용 미생물에 대하여 작물이 특유의 물질 즉, 알카로이드, 테르페노이드, 유기 화합물, 방향성 화합물, 플라보노이드, 석탄산 등의 물질을 생산하여 분비함으로써 동종 식물이나 이종 식물에 영향을 주는 타감작용(allelopathy)으로 인한 미생물 저해 또는 식물생육으로 인한 온도, pH, 영양분 등의 미생물의 생존환경 변화에 의해 유용미생물이 사멸되었을 것이라 판단되었다.

[0212]

도 21은 본 발명의 실시예에 따른 식물 생장 전·후의 미생물 콜로니를 나타낸 이미지이다.

[0213]

도면을 확인하면, 본 발명에 따른 미생물강화제는 식물발아 및 초기생장에 대하여 매우 효과적인 영향을 미쳤다.

[0214] 표 16은 *B. subtilis*를 이용하여 제조된 미생물강화제의 식물생장 전·후에 대한 탄수화물 함량을 나타낸 것이다.

[0215] 탄수화물은 유기물 함량의 지표로서 식물의 생장에 직접적인 영향을 미치므로, 식물생장 시 미생물활성으로 인한 탄수화물 변화 및 특징을 확인해보고자 하였다.

[0216] 글루코스(Glucose)를 제외한 나머지 탄수화물은 검출되지 않았으며, 식물재배 전의 미생물강화제에 0.6%의 글루코스(glucose)가 함유되어있는 것을 확인할 수 있었다. 이는 제형화를 위해 투입하였던 고착제인 CMC로 인해 나타난 부분으로 판단되며, 이 역시 식물생장으로 인해 고착제의 역할인 CMC가 탄소원으로 식물 및 미생물의 생장 에너지로 소모된 것이다.

[0217] [표 16]

탄수화물(Carbohydrate)	식물생장(Plant growth)	
	전	후
아라비노오스(Arabinose)	0.0 ¹⁾ b	0.3 ¹⁾
자일로스(Xylose)	0.0b ²⁾	-
마노스(Mannose)	0.0b	-
갈락토스(Galactose)	0.0b	-
글루코스(Glucose)	0.6 ± 0.1a	-

¹⁾ 미소량(Trace) < 0.01

²⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 컬럼에서 분리방법

³⁾ 미검출(Not detected)

[0218]

[0219] 제조된 미생물 강화제는 동결건조를 통한 제형화 이후에도 미생물 비료로서 사용할 수 있는 미생물 기준치(5×10^9 cfu/g)이상의 수치를 나타내었으며, 제형화가 완료된 미생물 *B. subtilis*을 선택하여 제조된 미생물 강화제는 종자치상 이후 4일째에 96% 매우 빠르고 높은 발아율을 나타내어 최적의 미생물임을 확인하였다.

[0220] <실험예 4> 제조된 미생물강화형 기능성 식생기반재 물성

[0221] 제조된 미생물강화 기능성 식생기반재의 물리적 및 화학적 특성을 분석하였다. 발아율을 측정하기 위해 공시초종으로 사용한 배추(*Brassica campestris*)는 (주)WORLD SEED에서 제공받았다.

[0222] 표 17은 피트모스, 펄라이트, 후처리된 참나무 목질원료와 미생물강화제를 비율별로 혼합하여 pH, 공극률, 수분보유력을 측정한 것을 나타낸 것이다.

[0223] [표 17]

Treatment	혼합비율 (Mixing ratio)	pH	공극률 (Porosity, %)	수분보유력 (Water retention power, %)
대조구 ¹⁾	3: 1: 6 (w/w/w)	4.7 ± 0.0c ³⁾	91.5 ± 1.1b	13.1 ± 0.9a
PPPM ²⁾	3: 1: 1: 5 (w/w/w/w)	5.0 ± 0.0a	96.2 ± 0.6a	14.5 ± 0.8a
	3: 1: 5: 1 (w/w/w/w)	4.9 ± 0.0b	92.0 ± 1.3b	14.3 ± 1.0a
	3: 1: 3: 3 (w/w/w/w)	4.9 ± 0.1b	95.1 ± 1.2a	14.4 ± 1.0a

¹⁾ 피트모스+펄라이트+후처리 참나무 목질원료

²⁾ 피트모스+펄라이트+후처리 참나무 목질원료+B. subtilis로 제조된 미생물 강화제

³⁾ P≤0.05에서 Duncan의 다중검정에 의한 컬럼에서 분리방법

[0224]

[0225] 피트모스, 펄라이트, 후처리 참나무 목질원료 및 *B. subtilis*로 제조된 미생물 강화제가 혼합된 것(이하 'PPPM')은 혼합 비율에 따른 pH 변화가 크게 나타나지 않았다. 또한 대조구와 비교했을 때 기능성 원료의 혼합으로 인해 pH를 높이는 것으로 나타났다.

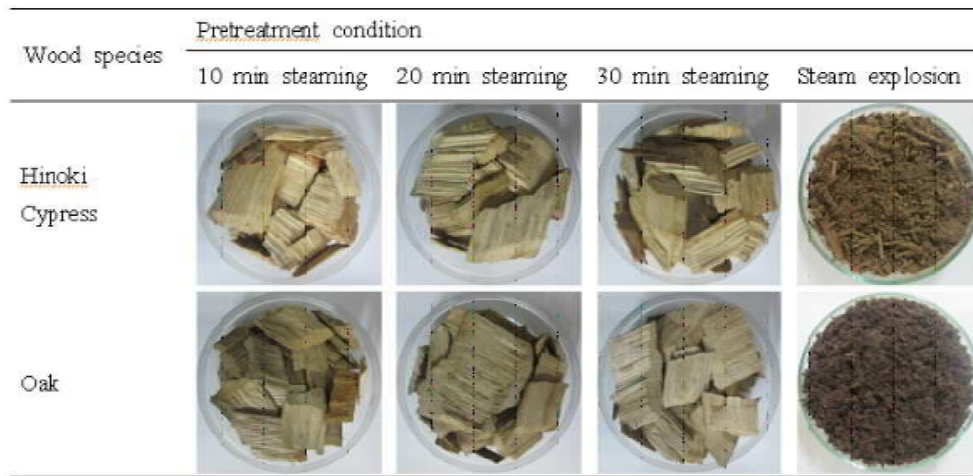
- [0226] 공극률은 토양 수분이나 토양 공기의 보유용량과 직결되고 투수성 및 시공성을 결정하는 토양의 중요한 요인이다.
- [0227] PM 혼합비율이 3: 1: 3: 3 (w/w/w/w)인 경우에 공극률도 높고 수분보유력도 우수한 것으로 확인되었다.
- [0228] 도 22는 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화 기능성 식생기반재의 배추종자에 대한 발아율을 나타낸 그래프이다.
- [0229] PPM이 3: 1: 3: 3(w/w/w/w)혼합비율에서 대조구보다 높은 75.0%의 발아율을 나타내었다.
- [0230] 도 23은 본 발명의 실시예에 따른 미생물강화 기능성 식생기반재의 배추종자의 7일간 생장한 배추종자의 이미지이다.
- [0231] 미생물강화 기능성 식생기반재에서 배추종자가 매우 빠르게 생장한 것을 확인하였으며, 최적의 혼합비율을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0232]
- [0233] 상기한 바와 같이 본 발명의 실시예에 따르면, 피트모스, 펄라이트, 목질원료 및 미생물강화제를 최적의 비율로 혼합하여, 산불 등에 의해 식생의 기반인 미생물과 유기물이 훼손된 토양에서도 식생이 빠르게 활착할 수 있는 식생기반재를 제조할 수 있다.
- [0234] 본 발명은 한정된 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

도면

도면1



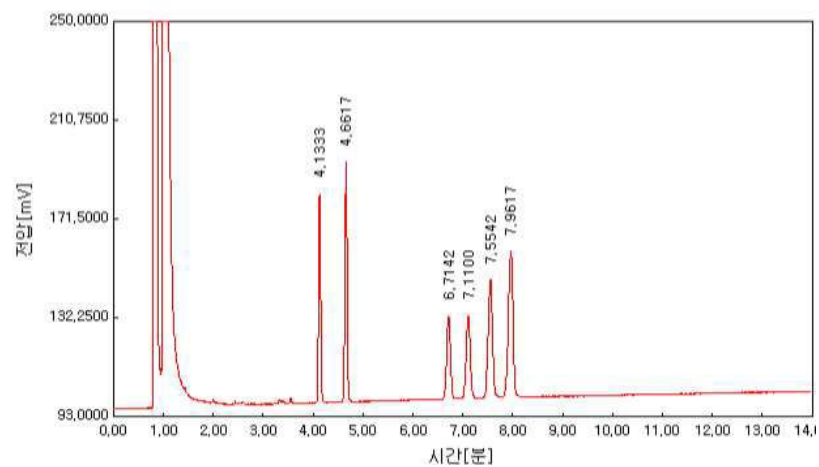
도면2



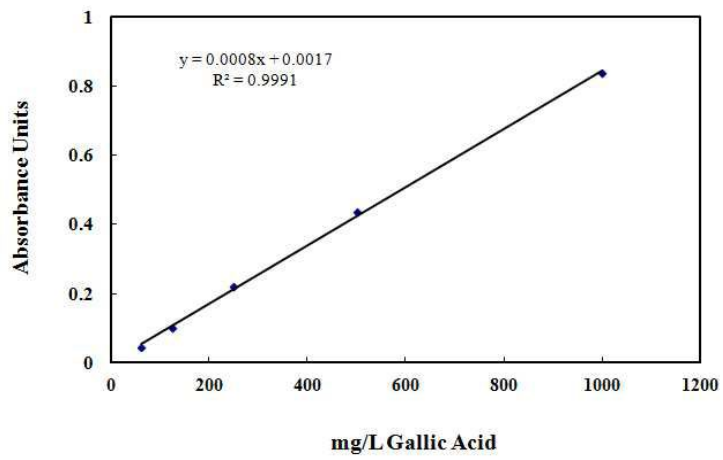
도면3



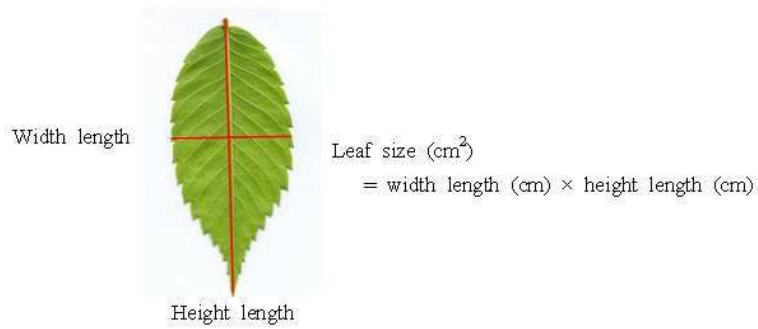
도면4



도면5



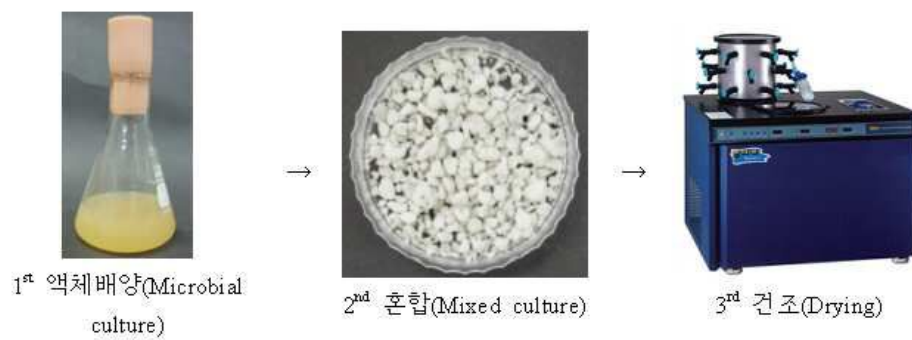
도면6



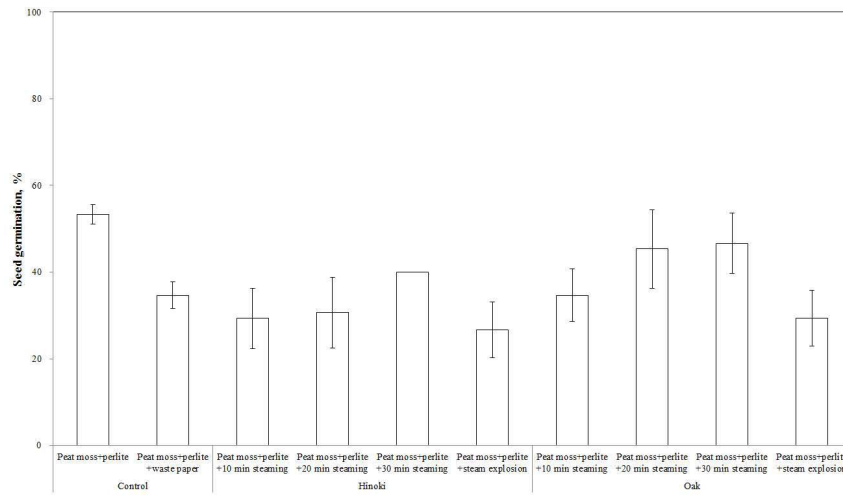
도면7

Division	Named	Photograph
후보균주(Candidate strain)	트리코데르마 하르시아눔 (<i>Trichoderma harzianum</i>)	
	슈도모나스 푸티다 (<i>Pseudomonas putida</i>)	
	바실루스 서브틸라스 (<i>Bacillus subtilis</i>)	
	병원균주(Pathogen strain)	
	콜레토티리쿰 글로에오스 (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	
	콜레토티리쿰 아큐타툼 (<i>Colletotrichum acutatum</i>)	

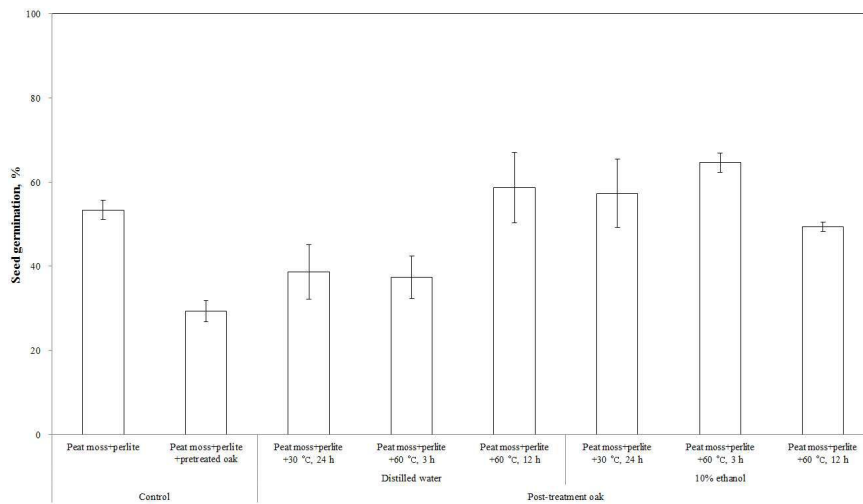
도면8



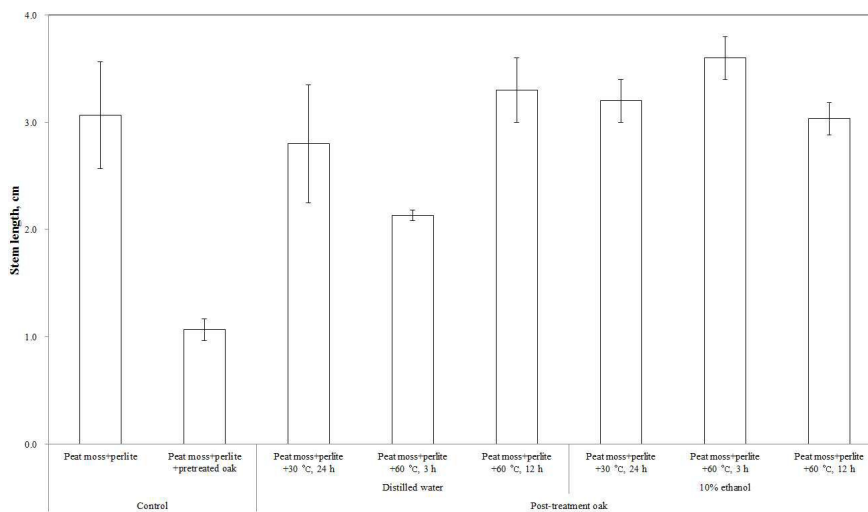
도면9



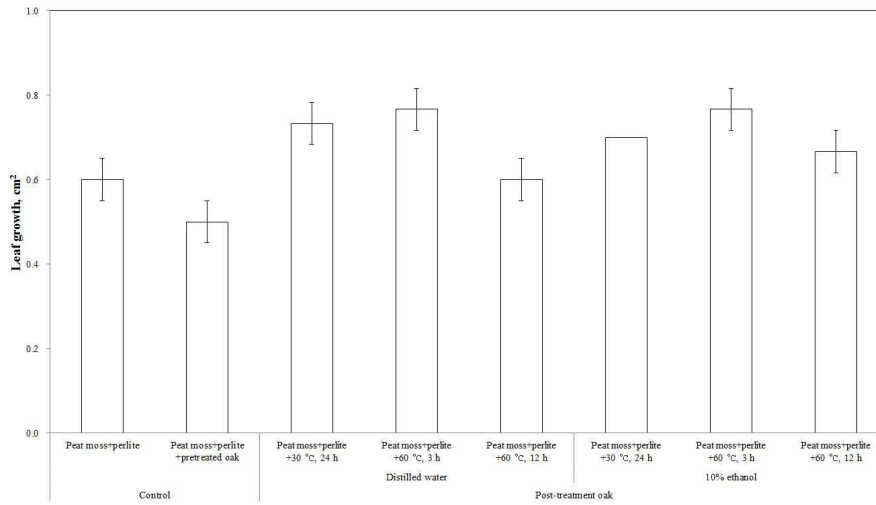
도면10



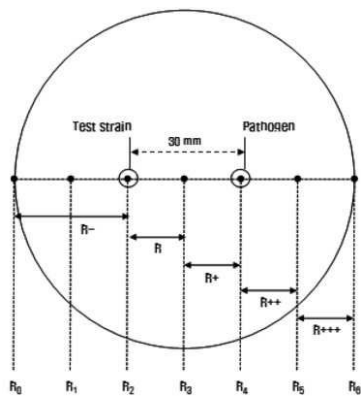
도면11



도면12



도면13



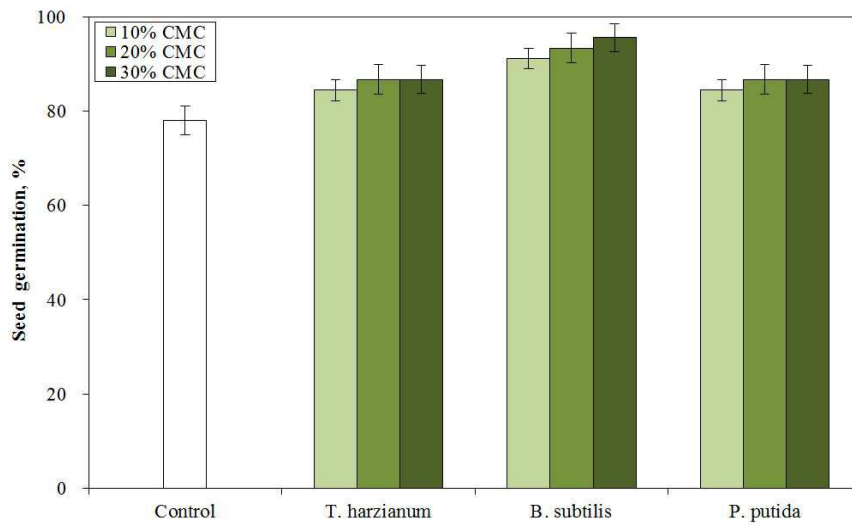
도면14

배양균주(Microbial strain)	성장기간(Growing period)	
	단시간(7 days)	장시간(30 days)
트리코데르마 하 르시아눔(<i>T. harzianum</i>)		
슈도모나스 푸티다(<i>P. putida</i>)		
바실루스 서브틸라스(<i>B. subtilis</i>)		

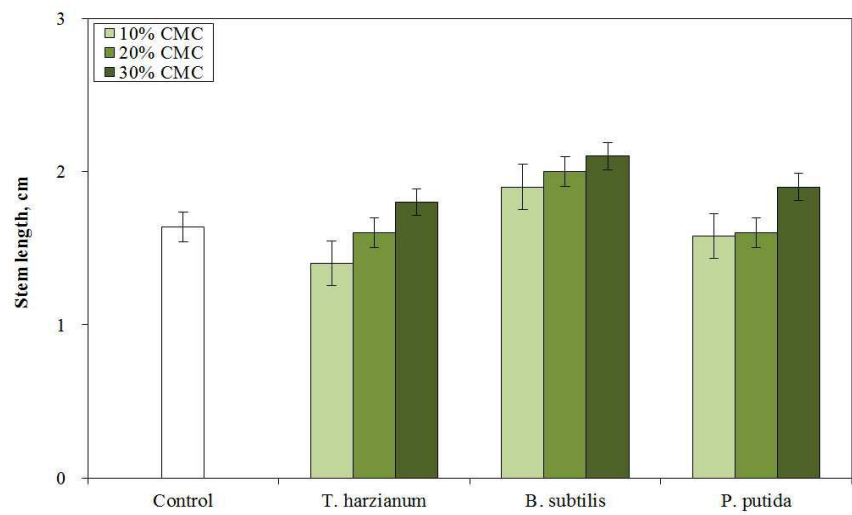
도면15

배양균주(Microbial strain)	성장기간(Growing period)	
	단시간(7 days)	장시간(30 days)
트리코데르마 하 르시아눔(<i>T. harzianum</i>)		
슈도모나스 푸티다(<i>P. putida</i>)		
바실루스 서브틸라스(<i>B. subtilis</i>)		

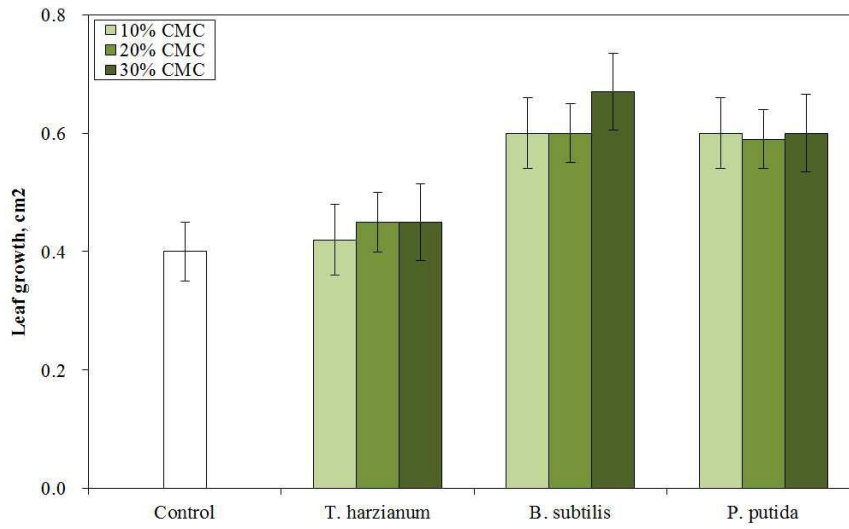
도면16



도면17



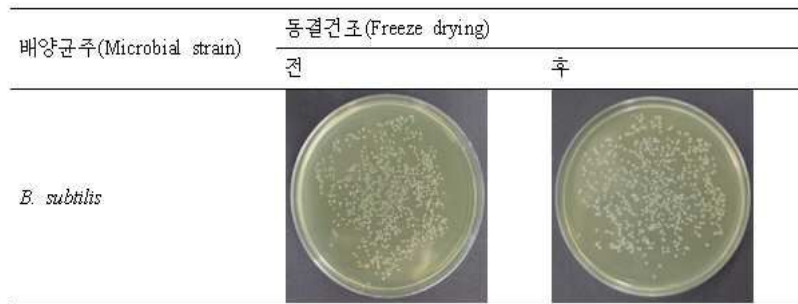
도면18



도면19

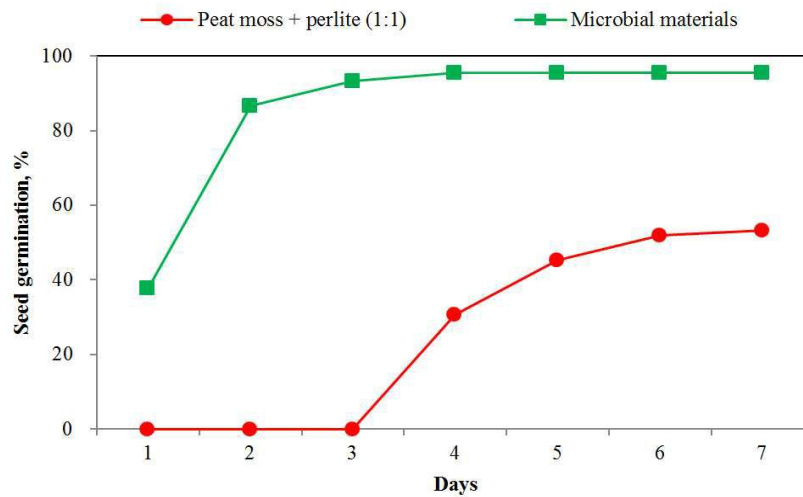
배양균 주 (Microbial strain)	고착제 농도 (Mixture concentration of CMC,%)	7 일간 생장
대조구 (Control)	None	
<i>T. harzianum</i>	10	
	20	
	30	
	30	
<i>B. subtilis</i>	10	
	20	
	30	
	30	
<i>P. putida</i>	10	
	20	
	30	
	30	

도면20

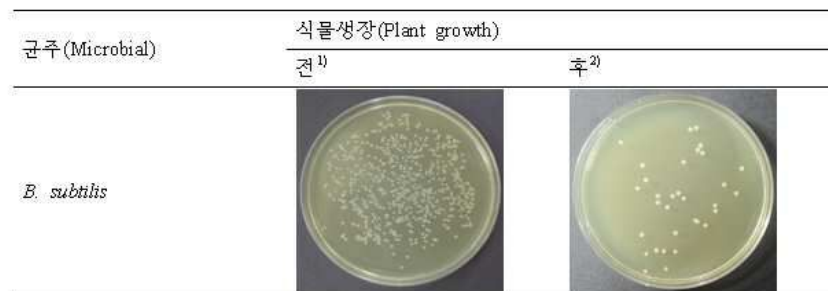


동결건조 후 활성 개체(Activated form of *B. subtilis* for freeze dry ($\times 10^3$)).

도면21



도면22



식물생장에 따른 균주의 콜로니(Colony of microbial on after plant growth), ¹⁾희석 농도(dilution rate): 10^7 , ²⁾희석 농도(dilution rate): 10^4 .

도면23

