

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

발간등록번호

11-1543000-002674-01

기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재개발 및 제형화 최종보고서

2018. 12. 27.

주관연구기관 / (사)한국친환경농자재협회

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재개발 및 제형화” (개발기간 : 2017. 12. 28~ 2018.12.27)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018.12. 28

주관연구기관명 : (사)한국친환경농자재협회 (대표자) 권옥술 (인)

참여기관명 : (사)한국친환경농자재협회 (대표자) 권옥술 (인)

주관연구책임자 : (사)한국친환경농자재협회 안인

참여기관책임자 : (사)한국친환경농자재협회 안인

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	117114-1	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.12.28.~ 2018.12.27	단 계 구 분	2018/ 2017-2018
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	가축질병대응기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재개발 및 제형화			
연구책임자	안 인	해당단계 참여연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 32,000천원 민간: 11,000천원 계: 43,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 5 명 내부: 5 명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 32,000천원 민간: 11,000천원 계: 43,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	(사)한국친환경농자재협회 (기술위원회)			참여기업명 (사)한국친환경농자재협회	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

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

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		10-201 8-0160 742									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

<연구 목적>

- 기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재선발 및 복합제형화(1종)
 - ▶ 내수 및 수출목표 : 개발 1년후 1억원 ▶ 3년후 4억원 ▶ 5년후 10억원

보고서 면수
1~38

<연구내용>

- ① 닭진드기 살충활성 유용 식물정유 스크리닝 선발
 - ▶ 님오일, 고삼 등 기 선발 식물정유 10여종 활용선발
 - ② 선발닭진드기 살충활성 소재 효능효과시험
 - ▶ 선발 소재종에 대한 닭진드기 실내 효과시험
 - ③ 닭진드기 친환경살비제 제형화
 - ▶ 기능성정유+식물성정유 복합제형화
 - ④ 시제품 안전성 확인 ▶ 급성독성시험 (CRO의뢰시험)
 - ⑤ 특허출원 ▶ 특허신청완료
- 천연식물추출물소재 중 닭진드기방제가 90% 이상 복합소재 1종 선발
 - 액상제제로 복합제형화 1종
 - 인축.생태독성 등 소재안전성시험 : 급성독성 3급이하
 - 천연식물 추출물을 유효성분으로 가지는 닭진드기 살비제조성물 특허출원(2018.12.13)
 - 산란계진드기 친환경방제기술 교육자료 발간(2018.11.12)
 - 산란계진드기 친환경방제기술 농민교육(2018.11.3)
 - 식물추출물 원료사용 닭진드기친환경구충제 허가절차 개선정책 건의(2018.12.7, 농식품부방역정책국 조류인플루엔자방역과장)
 - 식물추출물합제이용 산란계진드기 친환경살비제개발 ('18.10 농약과학회발표)
 - 홍보 : 6건 각 전문지 게재

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><연구 목적> ○ 기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재선발 및 복합제형화(1종) ▶ 내수 및 수출목표 : 개발 1년후 1억원 ▶ 3년후 4억원 ▶ 5년후 10억원</p> <p><연구내용> ① 닭진드기 살충활성 유용 식물정유 스크리닝 선발 ▶ 님오일, 고삼 등 기 선발 식물정유 10여종 활용선발 ② 선발닭진드기 살충활성 소재 효능효과시험 ▶ 선발 소재중에 대한 닭진드기 실내 효과시험 ③ 닭진드기 친환경살비제 제형화 ▶ 기능성정유+식물성정유 복합제형화 ④ 시제품 안전성 확인 ▶ 급성독성시험 (CRO의뢰시험) ⑤ 특허출원 ▶ 특허신청완료</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>○ 천연식물추출물소재 중 닭진드기방제가 90% 이상 복합소재 1종 선발 ○ 액상제제로 복합제형화 1종 ○ 인축.생태독성 등 소재안전성시험 : 급성독성 3급이하 ○ 천연식물 추출물을 유효성분으로 가지는 닭진드기 살비제조성물 특허출원(2018.12.13) ○ 산란계진드기 친환경방제기술 교육자료 발간(2018.11.12.) ○ 산란계진드기 친환경방제기술 농민교육(2018.11.3) ○ 식물추출물 원료사용 닭진드기친환경구충제 허가절차 개선정책 건의(2018.12.7, 농식품부방역정책국 조류인플루엔자방역과장) ○ 식물추출물합제이용 산란계진드기 친환경살비제개발 ('18.10 농약과학회발표) ○ 홍보 : 6건 각 전문지 게재</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 기능성정유+식물정유 복합제형화 : 액상닭진드기 친환경살비제 1종 개발 ○ 계란 살충제농약 저항성 문제 해소 및 무항생제 계란 인증패지 대안 마련 무항생제 축산농가의 닭진드기 친환경방제실천수단 제공 ○ 검증된 닭진드기 친환경 살비제를 개발 공급할 경우, 살충제계란에 대한 소비자 신뢰회복으로 친환경 계란 소비가 10% 정도 확산 기대 ○ 양계장 화학농약 사용저감 축사주변 생태계 오염 저감</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>닭진드기</p>	<p>친환경살비제</p>	<p>제형화</p>	<p>기능성정유</p>	<p>식물추출물</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Chicken tick</p>	<p>Eco-friendly acaricide</p>	<p>Formulation</p>	<p>Functional essential oil</p>	<p>Plant extract</p>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	11
2. 연구수행 내용 및 결과	12
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	30
4. 연구결과의 활용 계획 등	32
붙임. 참고 문헌	33

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

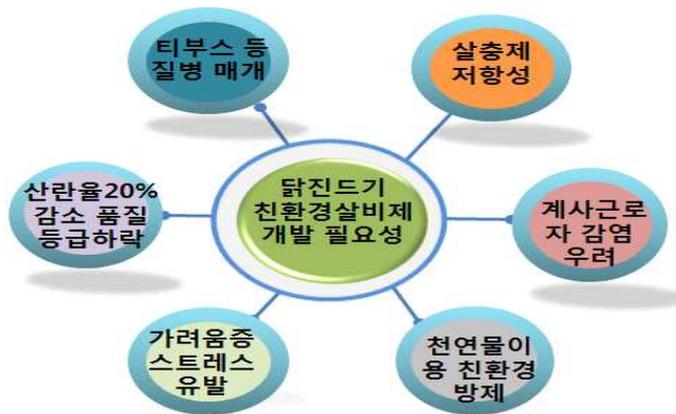
1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 산란계 닭진드기 친환경살비제 1종 제형화, 산란계농가 애로해소 및 해외 수출
 - 국제 경쟁력 있는 천연물복합제 2종이상 개발 내수공급 및 수출(5년후 백만\$ 목표)
 - 검증된 닭진드기 친환경 방제제 사용, 소비자 신뢰구축 친환경계란 소비 10% 확대 기대
 - 양계장 화학농약 사용 저감으로 주변 생태계 오염 저감

1-2. 연구개발의 필요성

- 2017년 8월 살충제계란 파동으로 수많은 산란계 농장에서 닭 진드기로 고통받고 있고 국내 120개 농장가운데 94%가 닭 진드기 감염 문제를 안고 있으며, 대다수 언론, 유관단체 및 기관 전문가들이 친환경살비제 개발을 원하고 있어 대책 마련이 시급



1-3. 연구개발 범위

- 닭진드기 살충활성 식물추출물 및 기능성정유 소재선발
 - 기 추출 보유 또는 시판중인 계피, 고삼, 정향, 제충국, 시트로넬라, 님오일 등 이용



- 닭진드기 살충활성 검증 : 닭진드기 천연 살충소재 선발 실험효과 스크리닝
- 닭진드기 친환경방제 소재선발 및 제형화 : 최적 조합비율 선택 복합 제형화
 - 경시변화 시험, 품질관리분석법, 제형화 및 부자제 선발 등 대량생산기술개발
- 독성(급성독성 5종) 등 안전성 검토 및 효과 최종확인 시제품화 1종이상
- ※ 액상 닭진드기 친환경살비제로 제형화

○ 기대효과

- 국제 경쟁력 있는 천연물복합제 1종이상 개발 수출촉진(5년후 백만\$ 목표)
- 검증된 닭진드기 친환경살비제 사용, 소비자 신뢰구축 친환경계란 생산소비 10% 확대기대
- 양계장 화학농약 사용 저감으로 인한 주변 생태계 악화 방지

2. 연구수행 내용 및 결과

제 1 절. 산란계닭진드기 친환경 살충물질 탐색 및 선발

1. 친환경 살충물질 탐색을 위한 선행연구

가. 닭진드기(Poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*) 살충효과 접종시험 방법 연구

○ 시험 전 진드기는 온도($30 \pm 3^\circ\text{C}$), 상대습도(50~80%), 광주기(light : dark = 16 : 8시간)조건으로 보관, 시험 7일후 즉시 폐기함

○ 닭진드기 살충효과 간이 실내검정 선행방법 검토

<엽 침지법>



<분무법>



<사과응애 *In vivo* 접종시험>



<포도 가루깍지벌레 *In vitro* 접종시험>



나. 닭진드기 살비효과 접종시험(*In vitro* warm plate) 방법 선발



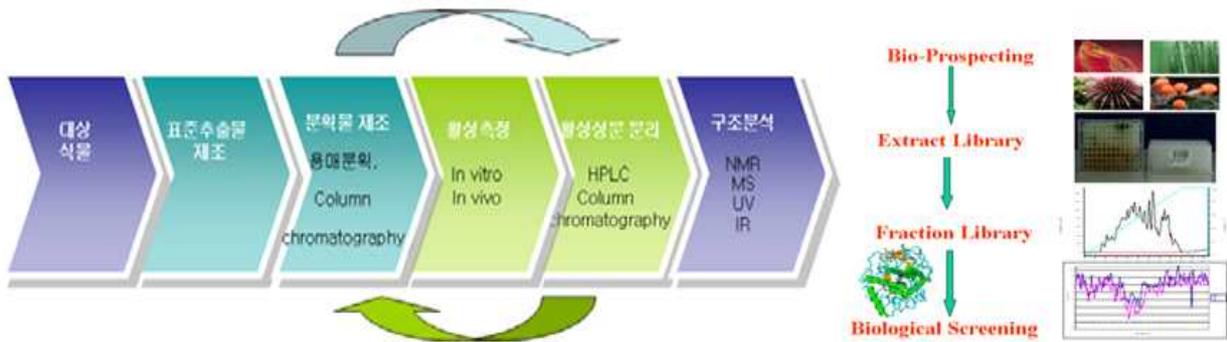
다. 천연물 소재탐색 선발과정 및 제제화 기술·독성시험방법 정립



※ 인축·생태독성 평가방법 정립

[제1단계 시험]		[제2단계 시험]		[제3단계 시험]
생태계생물 영향시험		표적외 근중영향시험 환경중 행적에 관한 시험	노출가능성 有	대응검토 (등록불가)
① 담수어류영향시험(급성)	영향 有 →			
② 담수무척추동물(물벼룩)				
③ 조류영향시험(성장저해)				
④ 꿀벌영향시험(급성접촉)	영향 無	다음시험으로 진행 필요없음	노출가능성 無 →	다음시험으로 진행 필요없음
⑤ 지렁이·토양미생물시험	→			

라. 식물로부터 활성성분 추출방법 및 지표물질 분석방법 확립



▶ GC, HPLC 및 LC/MS/MS 등 이용 추출 농축액 중 활성성분 분석 및 대표물질 규명



❖ 국내외 천연물 소재중 살충 유효 활성물질 추출분리 실내 검정방법 선발

▶ Quassia, Ryania, sabadilla, citronella, Karanja, Geraniol 등 식물정유 효과 스크리닝

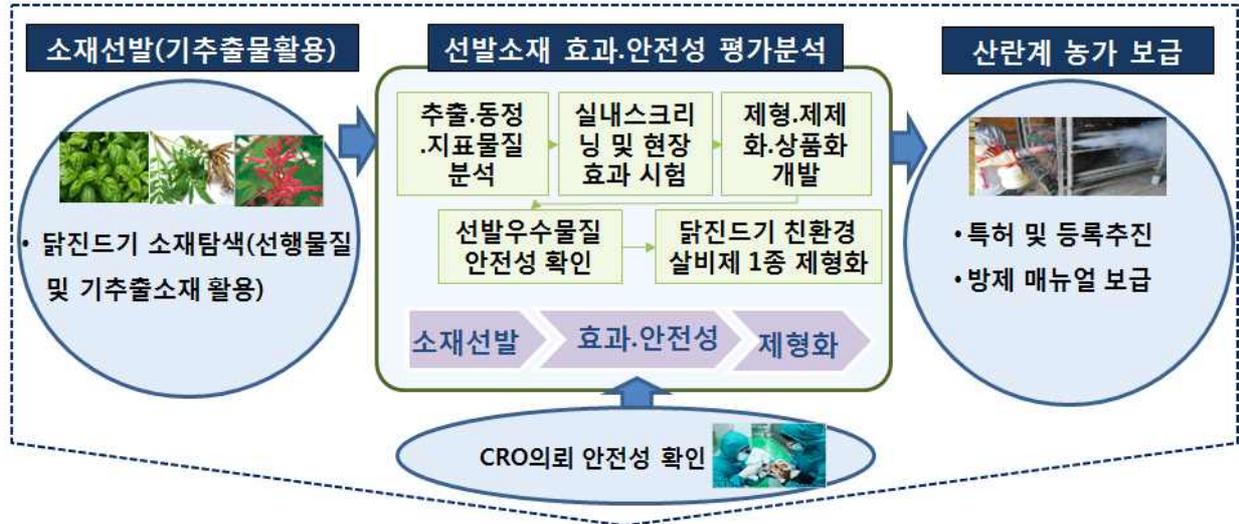


※ 닭진드기 살충활성물질 선발 안전성 및 효과확인 제형화 절차

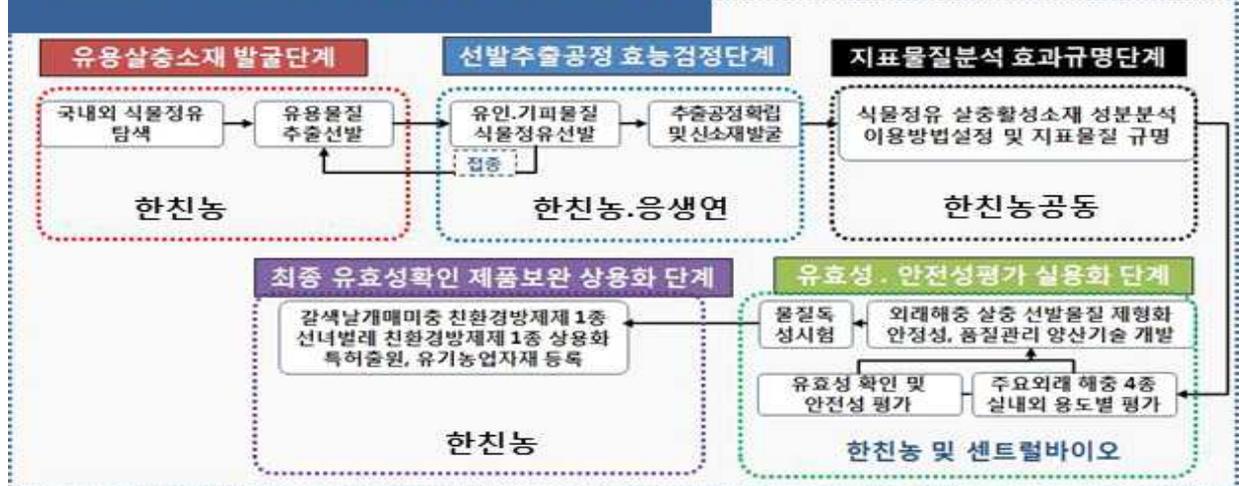


마. 닭진드기 친환경살비제 단계별 연구추진 전략

❖ 연구 추진전략 방법



닭진드기 소재선발 및 제형화 단계별 추진과정



❖ 월별 연구추진 전략 (2018년)



2. 닭 진드기 친환경 살충소재 선발 및 추출방법

가. 식물추출물 및 식물성정유 추출방법

- 본 연구에 사용된 천연살충물질은 산란계닭진드기에 대한 살충활성물질을 탐색하기 위해 문헌, 타 연구보고서의 선행연구를 토대로 총 12종 식물정유를 선발하였다.
- 이중 고삼, 사바딜라, 시트로넬라, 유칼립투스, 정향, 제충국, 데리스, 님, 계피, 피마자, 담배잎 10종은 중국 또는 인도에서 조 추출물을 구입하거나 이전 추출보유분을 320종의 잔류농약분석후 님, 시트로넬라 등 식물성정유는 물에 잘 안녹아 Tween 80 등 유화제와 산화방지제로 Ethoxyquin을 소량 첨가하여 혼합제를 만들어 사용하였다.
- 미국자리공, 돼지감자 등 2종은 민간에서 사용하고 있는 방법대로 건물을 잘게 분쇄 ethanol 등량과 혼합 1-2개월간 방치한 추출액을 filter paper로 여과하여 사용하였다. 파라핀오일, 목초액은 조 추출물을 강원목초(주)에서 구입 합제 또는 증량제로 사용하였다.

나. 식물추출물 및 식물성정유 소재선발

국내외 문헌과 타 연구보고를 토대로 닭진드기 및 응애 등 거미목 해충의 방제 가능하다고 판단되는 살충활성 물질 중 시트로넬라(Citronella.nardus ; citronella), 멀구슬(Toosendanin), 계피(Cinnamomum.verum ; Cinnamaldehyde), 님(Azadirachta.indica ; Neemoil), 고삼(Sophoraflavescens ; Matrine), 정향(Eugenia caryophyllata ; Ugenol), 데리스(Rotenone), 제충국(Pyrethrum), 목초액(wood vinegar) 등 9종을 선발하였다.

<표 1> 예비시험 공시 천연식물추출물

주요식물추출물	유효성분	작용특성	대상 해충
제충국	 Pyrethrin I, II	접촉독, 신경마비	응애 등 거미강 및 갈색날개매미충 등 매미목 해충에 님오일 등과 혼용살포시 효과증대
데리스	 Rotenone Deguelin	접촉독 소화중독	응애 등 거미강 및 매미목 해충에 님, 파라핀오일과 혼용살포시 효과증대 *진딧물, 가루이에도 효과
고삼	 Matrine, Sophordine	섭식, 기피 성장저해	응애, 선녀벌레 등 거미강, 나비목 해충과 진딧물등에 계피, 님오일등과 혼용살포시 효과증대
멀구슬	 Toosendanin	섭식, 기피, 성장저해	응애, 꽃매미, 갈색날개매미충, 선녀벌레에 양명아주+회화나무+님오일과 혼용시 효과증대
양명아주	 Matrine, geraniol	섭식, 기피 성장저해	응애, 진드기, 선녀벌레 등에 고삼대용 양명아주+회화+떡구슬+님 합제살포시 효과증대
회화나무	 Matrine Sophordine	섭식, 기피 성장저해	응애, 갈색날개매미충 등 매미, 거미강 해충에 희석사용 *고삼대용 양명아주+회화+떡구슬합제
계피오일	 Cinnamon	섭식, 기피 성장저해	갈색날개매미충, 미국선녀벌레에 고삼추출물과 혼용시 효과증대, 500~1000배로 희석살포
님오일	 Azadirachtin Salannin 등	섭식, 기피 성장저해	님(3000ppm이상)+고삼, 계피 또는 데리스 등과 혼용살포시 효과, 진딧물, 응애, 나방 등에 효과
시트로넬라 오일	 Geraniol Cymbopogon	기피효과	대표적 해충 기피물질로 고삼, 데리스 추출물 등과 혼용살포시 외래해충 방제가능
※ 기타	피마자, 미국자리공, 돼지감자 등을 합제로 사용		

<표 2> 공시 식물추출물 유효성분, 사용농도 및 처리방법

공시NO	시험 추출물	희석배수 및 사용량	처리 방법
A	Pyrethrum 2%	500배(40ml/20L)	*대상 : 응애, 닭진드기 *접종 : 반복당 10~15마리 *기준량. 배량에서 접종 후 24, 48, 72, 96, 120 시간에서 생존률조사
B	Rotenone 3%	500배(40ml/20L)	
C	Neem oil 0.3%	500배(40ml/20L)	
D	Sabadilla 3%	500배(40ml/20L)	
E	Citronella 3%	500배(40ml/20L)	
F	Eucalyptus 3%	500배(40ml/20L)	
G	Matrine 0.6%	500배(40ml/20L)	
H	Castor oil 20%	500배(40ml/20L)	
I	wood vinegar	500배(40ml/20L)	
J	Osthole 2%	500배(40ml/20L)	
K	Nicotine 2%	500배(40ml/20L)	
L	Stemonine 1%	500배(40ml/20L)	
M	Toosendanin 1%	500배(40ml/20L)	
N	Cinnamon 10%	100배(200ml/20L)	
O	Girasole 추출물	150배(133ml/20L)	
P	α -spinasterol추출물	500배(40ml/20L)	

<표 3> 거미강해충(응애)에 대한 예비시험 결과

시험 추출물	접종공시충수	살충률(%)			비고
		24hr	48h	120hr	
Pyrethrum 2%	10	30	60	90.0	생태독성강
Rotenone 3%	10	70	90	100.0	
Neem oil 0.3%	10	20	60	82.2	인축독성강
Sabadilla 3%	10	50	70	100.0	
Citronella 3%	10	0	40	100.0	지표물질무
Eucalyptus 3%	10	60	70	80.0	
Matrine 0.6%	10	60	70	90.0	
Castor oil 20%	10	60	70	80.0	
wood vinegar	10	20	50	60.0	
Osthole 2%	10	30	60	90.0	
Nicotine 2%	10	70	90	90.0	
Stemonine 1%	10	20	60	80.0	
Toosendanin 1%	10	50	70	100.0	
Cinnamone 10%	10	0	40	100.0	
Girasole	10	60	70	90.0	
α -spinasterol	10	60	70	90.0	
Control	10	5	10	10.0	

※ 120hr 경과후 90%이상 방제가를 나타낸 천연물을 대상으로 선발하되 지표물질 분석법이 확립되지 않은 소재는 닭진드기 공시대상에서 제외

<표 4> 닭진드기에 대한 예비시험 결과

*응애시험 및 기존성적 조사결과 지표물질 규명되고 효과인정된 8종 선발 공시

시험약제	접종 마리수	생존율(%)						
		12hr	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr	
임의배치 무반복	Pyrethrum 2%	15	33.3	26.7	19.8	13.2	6.6	6.6
	Rotenone 3%	15	46.7	33.3	26.7	13.2	6.6	6.6
	Neem oil 0.3%	15	60.0	40.0	33.3	26.7	19.8	19.8
	Citronella 3%	15	40.0	33.3	19.8	13.2	6.6	0.0
	Toosendanin 1%	15	40.0	33.3	26.7	19.8	13.2	6.6
	Cinnamone 10%	15	46.7	33.3	19.8	13.2	13.2	6.6
	Matrine 0.6%	15	40.0	33.3	26.7	19.8	13.2	6.6
	Ugenol 10%	15	33.3	26.7	19.8	19.8	13.2	6.6
Control	15	93.3	93.3	86.7	86.7	80.0	66.7	

※ 120hr 경과후 공시천연물은 모두 80%이상 방제효과 인정되었으나 이중 환경생태독성이 높은 Rotenone(데리스추출물)과 Toosendanin(멸구슬추출물)은 제외하고,, 유사성분으로 효과가 인정된 Matrine으로 대체, Neem oil은 효과는 다소 낮으나 식물성정유로 진드기 기공을 폐쇄 질식효과가 있으므로 혼합제화를 위해 본시험 복합시제품 원료로 사용함

3. 닭진드기 친환경방제를 위한 천연식물 추출물+정유 복합 제형화

가. 연구방법

(1) 시제품 제조

○ 선발된 님, 시트로넬라, 계피, 정향, 고삼, 제충국 추출물이 혼합된 조성물과 해충관리용 유기농자재로 공시기준에 맞는 보조제(미 EPA 4등급 이하)을 혼합 시제품을 제조하였다. 다만 제충국, 데리스 및 국산소재로 미국자리공, 돼지감자, 목초액 등을 추가하여 조제한 결과 효과는 우수하였으나 인축.생태독성이 높거나 지표물질 확립이 안되어 향후 추가연구 실시한 후에 국산소재비율을 높여 조제함이 타당할 것으로 판단하였다.

○ 시제품 1은 선발된 님오일, 시트로넬라, 계피, 정향, 고삼 추출물이 혼합된 액제로서 제제 안정성에는 문제가 없으나, 물에 안녹아 층분리가 있어 표면장력을 완충역할을 위해 Tween80(Polyoxyethylene sorbitan monolaurate) 및 산화방지제 Ethoxyquin을 첨가하였다.

○ 시제품2는 선발된 제충국, 정향, 님오일, 시트로넬라 추출물이 혼합된 액제로서 제제 안정성에는 문제가 없으나, 층분리가 있어 표면장력을 완충역할을 위해 Tween80 (Polyoxyethylene dodecyl mono ether)과 Isoprophy alcohol 및 산화방지제 Ethoxyquin을 소량 첨가하였다.

<표 5> 시제품 1의 제조조성비

원료 식물명	유효성분	투입비율(%)	함유량(%)
정향 추출물	Eugenol 3%	15	0.45
Neem-oil 추출물	Azadirachtin 0.3%	40	0.12
고삼 추출물	Matrine 0.6%	20	0.12
계피 추출물	cinnamom 20%	10	0.20
시트로넬라 추출물	Citronella-oil 23%	4	0.09
Non-ionic Surfactant	Tween80	5	보조제
Antioxidants	Ethoxyquin	0.01	나머지 물

<표 6> 시제품 2의 제조조성비

원료 식물명	유효성분	투입비율(%)	함유량(%)
정향 추출물	Eugenol 3%	15	0.45
Neem 추출물	Azadirachtin 0.3%	40	0.12
계피 추출물	Cinnamom 20%	10	0.20
제충국추출물	pyrethrin 20%	20	0.40
Non-ionic Surfactant	Tween80	5	보조제
Antioxidants	Ethoxyquin	0.01	나머지 물

(2) 시제품 유효성분 분석

○ 시제품의 품질관리 및 안정성을 확보하기 위하여 님추출물의 유효성분 Azadirachtin과 정향 추출물의 유효성분 Ugenol, 고삼추출물의 유효성분 Matrine, 시트로넬라의 Geraniol을 정성, 정량 분석하였다.

(가) 님추출물 유효성분 분석

유효성분인 Azadirachtin은 시제품 0.1g을 취하여 50ml Ethanol에 혼합하여 추출한 다음 여과하여 HPLC 분석기(Agilent Technology, 1260 Infinity)를 이용하여 표6의 조건으로 정성, 정량 분석을 하였다.

<표 7> Azadirachtin 분석조건

Column	Kinetex 5u c18 150*4.6
Detector	HPLC-UVD
Oventemperature	40℃
Flow	1ml/min
Injection Volumn	5ul

(나) 정향 추출물 유효성분 분석

유효성분인 Ugenol은 시제품 0.1g을 취하여 50ml Acetonitrile에 혼합하여 추출한 다음 여과하여 HPLC 분석기(Agilent Technology, 1260 Infinity)를 이용하여 표 7의 조건으로 정성, 정량 분석을 하였다.

<표 8> Ugenol 분석조건

Column	Kinetex 5u c18 150*4.6
Detector	HPLC-UVD
Oventemperature	40℃
Flow	1ml/min
Injection Volumn	5ul

(다) 시트로넬라 추출물 유효성분 분석

시트로넬라 추출물의 유효성분인 Geraniol은 시제품 0.1g을 취하여 50ml Acetonitrile에 혼합하여 추출한 다음 여과하여 HPLC 분석기(Agillent Technology, 1260 Infinity)를 이용하여 표 8의 조건으로 정성, 정량 분석을 하였다.

<표 9> Geraniol 분석조건

Column	Kinetex 5u c18 150*4.6
Detector	HPLC-UVD
Oventemperature	40℃
Flow	1ml/min
Injection Volumn	5ul

(라) 고삼 추출물 유효성분 분석

고삼 추출물의 유효성분인 Matrine은 시제품 0.1g을 취하여 50ml Acetonitrile에 혼합하여 추출한 다음 여과하여 GC 분석기(Agillent Technology, 6890N)를 이용하여 표 9의 조건으로 정성, 정량 분석을 하였다.

<표 10> Matrine 분석조건

Column	HypersilGold 5μm,250mm x4.6mm
Detector	UV 294nm
Oventemperature	ACN/DIwater=50/50
Flow	0.7ml/min
Injection Volumn	20ul

(3) 시제품에 대한 독성시험

인축독성은 급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성 등 4항목, 환경독성은 급성어류 독성, 물벼룩 등 2항목을 (주)센트럴바이오에서 위탁시험으로 시제품의 안전성 평가를 수행하였다.

(4) 시제품에 대한 잔류농약 분석

시제품 제조 시 유해물질 함유여부를 확인하고, 안전한 제품의 품질관리에 필요한 잔류 농약성분 분석을 농촌진흥청 농업기술실용화재단에 의뢰하여 농약 320종 성분에 대한 잔류 여부를 확인하였다.

나. 연구결과

(1) 시제품 제조

- 시제품 1은 선발된 님오일, 시트로넬라, 계피, 정향, 고삼 추출물이 혼합된 액제로서 안정성에는 문제가 없었으나, 식물성정유는 물에 안녹아 층분리가 있어 표면장력을 완충 역할을 위해 유화.현탁제인 Tween80 및 산화방지제 Ethoxyquin을 첨가하여 제조하였다.
- 시제품2는 선발된 제충국, 정향, 님오일, 시트로넬라 추출물이 혼합된 액제로서 제제 안정성에는 문제가 없으나, 식물성정유는 물에 안녹아 층분리가 있어 표면장력을 완충 역할을 위해 유화.현탁제인 Tween80(또는 Isopropy alcohol) 및 산화방지제 Ethoxyquin을 소량 첨가 제조하였다.
- 또한, 시제품 1, 2 모두 급성어류독성이 높아 유기농업자재로 공시가 어려운 것으로 검토 되어 급성어류독성이 강한 α -spinasterol, 데리스제는 제조처방에서 제외하고 어독성을 낮추기 위하여 유효성분의 함유량을 높이는 대신 닭진드기 숨구멍을 막아 질식사 등 살충 효과를 상승시킬 수 있도록 님추출물 함량을 높여 식물추출물과 식물성정유를 혼합 제조하였다. Pyrethrum이 혼합된 제제는 효과는 우수하였으나 어독성이 높아 투입량 재조정이 필요 하였고, 신규 추출물 중 정성, 정량분석법 확립 등이 추가로 요망된 추출물은 제형화를 보류하고 향후 추가로 지표물질 분석방법 연구를 실시기로 하였다.

(2) 시제품 유효성분 분석

(가) 님 추출물 유효성분 분석

님 추출물의 유효성분인 Azadirachtin의 HPLC 크로마토그램은 Fig.1과 같으며 Azadirachtin-A는 10.309 min에 Azadirachtin-B는 10.522 min에 peak를 보였고, Azadirachtin-A+B의 함량을 분석하여 계산한 결과, 0.377% \pm 0.047 함유되어 있는 것을 확인하였다.

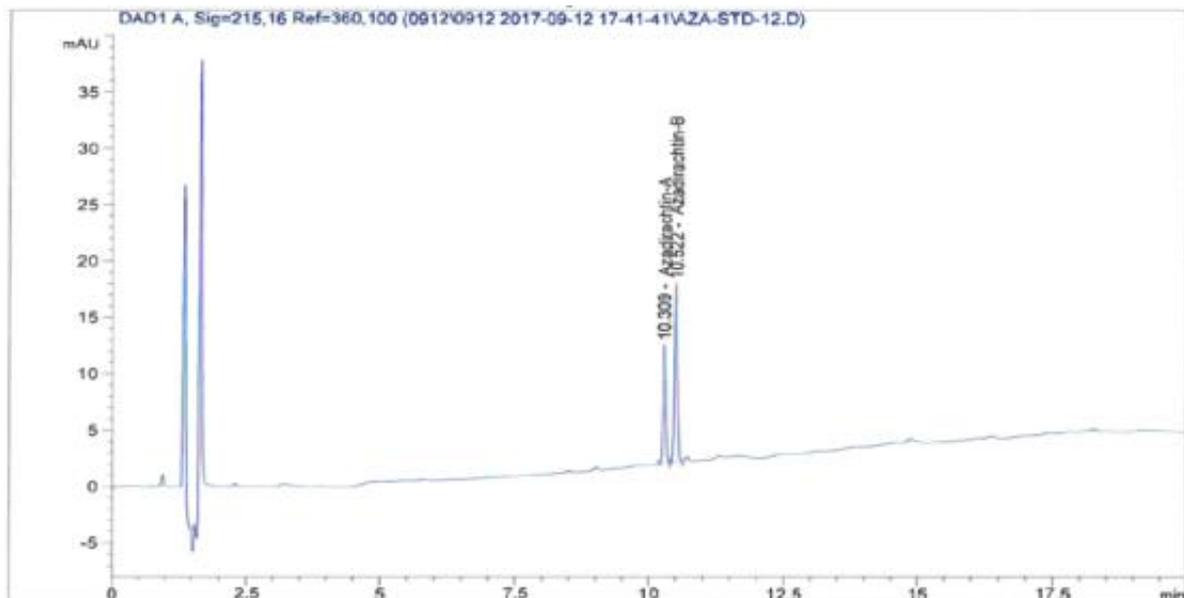


Fig1. Azadirachtin의 HPLC chromatogram

(나) 정향 추출물 유효성분 분석

데리스 추출물의 유효성분인 Ugenol을 분석한 HPLC 크로마토그램은 Fig.2와 같으며

8.325min에 peak를 보였고, 그 함량을 계산한 결과 $7.80 \pm 0.619\%$ 함유되어 있는 것을 확인하였다.

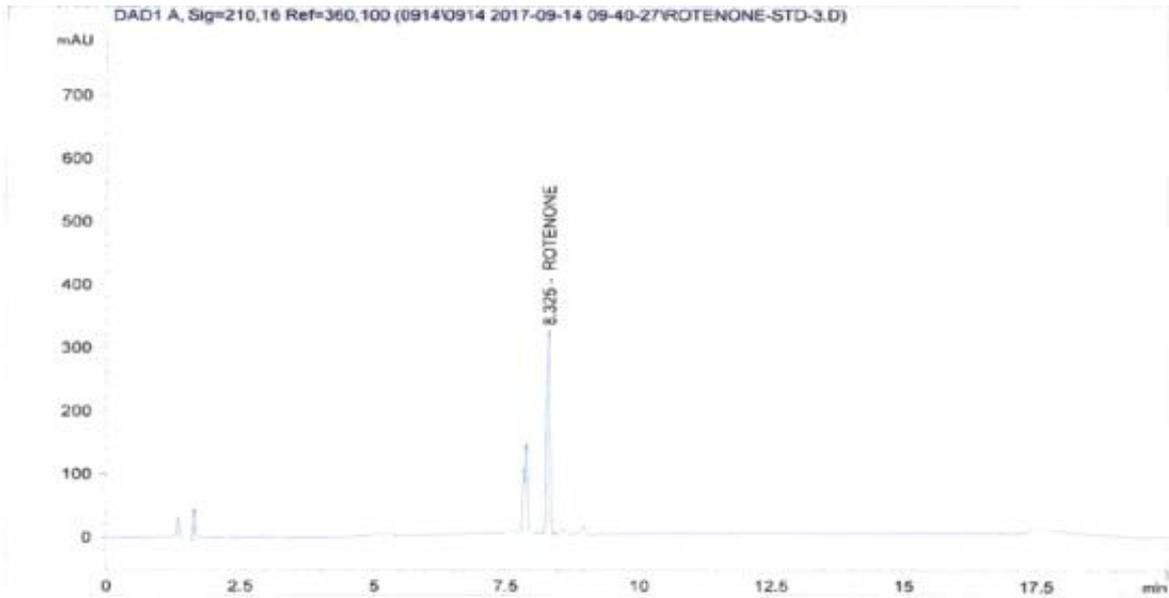


Fig.2 Ugenol의 HPLC chromatogram

(다) 시트로넬라 추출물 유효성분 분석

시트로넬라 추출물의 유효성분인 Geraniol을 분석한 HPLC 크로마토그램은 Fig.3와 같으며 7.763 min에 peak를 보였고, 그 함량을 계산한 결과 $23.857 \pm 0.096\%$ 함유되어 있는 것을 확인하였다.

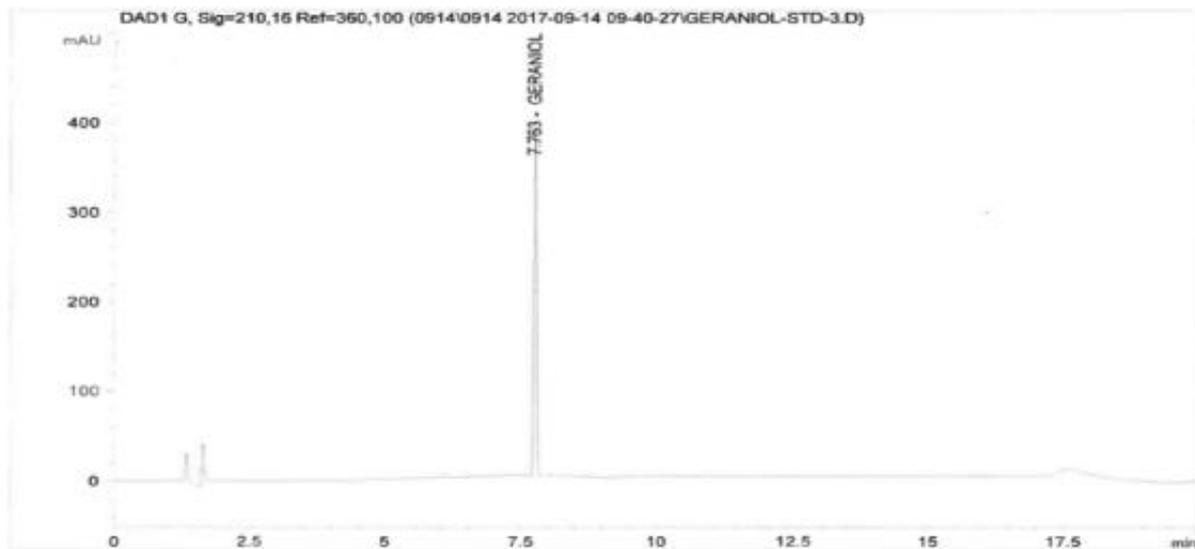


Fig.3 Geraniol의 HPLC chromatogram

(라) 고삼 추출물 유효성분 분석

고삼 추출물의 유효성분인 Matrine을 분석한 GC 크로마토그램은 Fig.4와 같으며 11.370

min에 peak를 보였고, 그 함량을 계산한 결과 1.079 ± 0.046 함유되어 있는 것을 확인하였다.

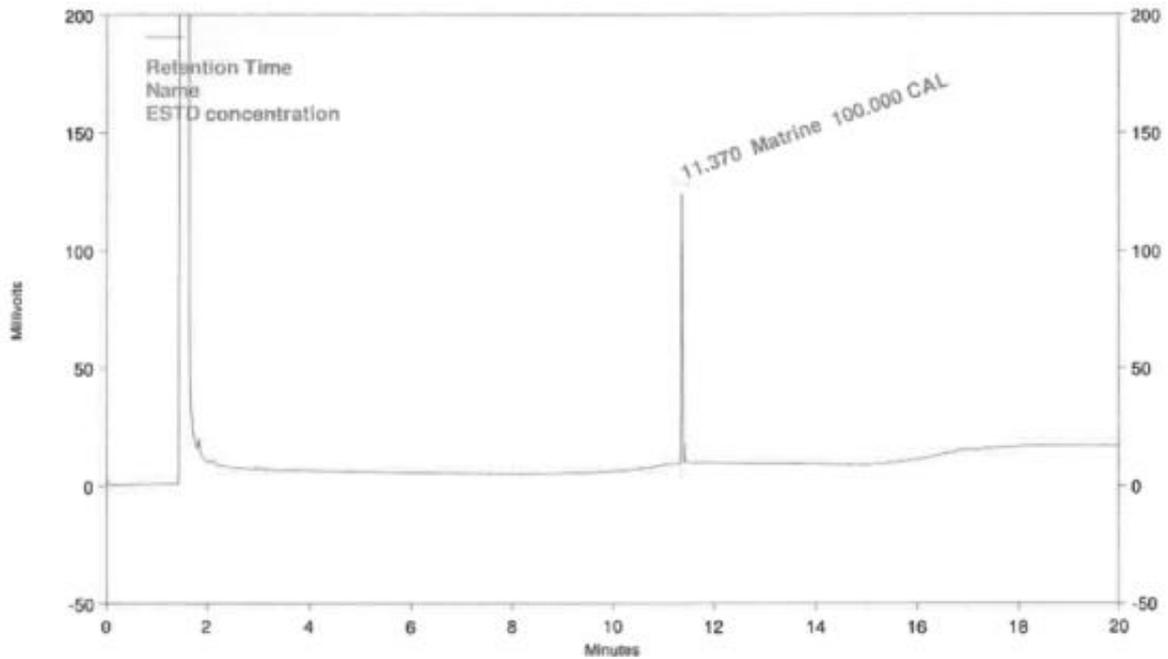


Fig.4 Matrine의 GC chromatogram

(3) 시제품의 산란계닭진드기에 대한 효과시험 결과

(가) 시험 대상해충 : 닭 진드기(Poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*)

(나) 시험 약제 : 시제품 KEPAMA-SM 1 및 KEPAMA-SM 2

<표 10> 공시 시제품 조성비 및 약제처리내용

시험약제	주요성분	희석배수 및 사용량(ml/20L)				처리시기 및 방법
		처리 1	처리 2	처리 3	처리 4	
시제품 KEPAMA-SM 1	Eugenol 3% + Neem oil 0.3% + Matrine 0.6% + cinnamom 20% + Citronella-oil 23%	100배 (200ml)	250배 (80ml)	500배 (40ml)	1,000배 (20ml)	공시충 집중후 약제 살포 (스프레이) SM1(8/09) SM2(8/11)
시제품 KEPAMA-SM 2	Pyrethrum 20% + Eugenol 3.0% + Neem oil 0.03% + Matrine 0.6% + cinnamom 20%	100배 (200ml)	250배 (80ml)	500배 (40ml)	1,000배 (20ml)	
대조군 (무처리)	20%에탄올용액을 1ml/600cm ² 로처리					

(다) 시험방법

○ 닭 진드기 공시충은 진주 8월 9일, 김제 8월 11일에서 국립축산과학원가금과(오상익 연구사)의 협조를 받아 채집한 야외충(성.유충 혼서)을 분양받아 실험용기(Φ9.0cm x

2.0cm, 플라스틱 용기)에 여과지를 깔고 증류수를 넣은후 처리구별 반복당 30마리씩을 접종하고, 그 후 공시약제를 100배, 250배, 500배, 1000배 4농도별로 희석하여 살포하였다.

※ 무처리구는 반복당 30마리 접종하여 생존수를 육안으로 카운팅 하였다

※ 본 실험기간 동안 고온범위인 온도(30±3℃), 상대습도(40~60%), 광주기 16L : 8D 및 간접조명(50~80%) 유지한 실험실 조건에서 3반복으로 실시하였다.

(라) 조사 내용

접종처리 후 12, 24, 48, 72, 96, 120시간에서 생사충수를 육안조사하되 확인이 필요할 경우 핀셋으로 건들어 생사여부를 정확히 확인 12hr~120hr까지 경시적으로 생사충율을 구하였다

(마) 조사결과

<표 11> 친환경살비제 시제품 처리별 생존율(%)

시험약제		반복당 접종 마리수	생존율(%)					
			12hr	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr
KEPAMA -시제품1	처리1	30	8.3	0				
	처리2	30	16.7	3.3	0			
	처리3	30	84.4	28.9	5.0	0		
	처리4	30	85.0	65.0	18.3	6.7	0	
KEPAMA -시제품2	처리1	30	0					
	처리2	30	28.9	0				
	처리3	30	80.0	35.6	6.7	0		
	처리4	30	93.3	55.5	35.5	8.9	0	
무처리		30	96.7	92.2	84.4	76.7	68.9	63.3

<표 12> 닭진드기 친환경살비제 시제품 처리별 방제효과(%)

시험약제		희석농도 (배수)	방제효과(%)				
			12hr	24hr	48hr	72hr	96hr
KEPAMA -시제품1	처리1	100×	91.4	100			
	처리2	250	82.7	96.4	100		
	처리3	500	12.7	68.7	94.1	100	
	처리4	1000	12.1	29.5	78.3	91.3	100
KEPAMA- 시제품2	처리1	100	100				
	처리2	250	70.1	100			
	처리3	500	17.3	61.4	92.1	100	
	처리4	1000	3.5	39.8	57.9	88.4	100
무처리		생충율	96.7	92.2	84.4	76.7	68.9

※방제가 : (무처리구-처리구)/무처리구 × 100

(바) 시험결과 요약

약제 처리후 12, 24, 48, 72, 96시간에서 경시적으로 생사충율을 조사한 결과 무처리생충율이 12~120시간 경과후 96.7%~63.3%가 생존하여 약효를 검토하기에 충분하였다. 닭진드기에 대한 친환경방제 약효조사결과 시제품 1의 100배 처리구는 24시간 경과후, 250배 처리구는 48시간 경과후, 500배 처리구는 72시간후, 1000배 처리구는 96시간후 100%가 사멸하여 높은 방제효과를 보였다. 시제품 2의 100배 처리구는 12시간후, 250배 처리구는 24시간 후, 500배 처리구는 72시간후, 1000배 처리구는 96시간후 100%가 사멸하여 시제품 1과 유사하게 100%의 완전 방제효과를 나타내었다. 닭진드기에 대한 이들 시제품 1 및 시제품 2 모두 96시간 경과후 100%의 방제효과를 나타내어 친환경 살비제로서 활용 가치가 충분하다고 평가되었다. 본 연구 친환경 분무제외에도 향후 연막제 또는 연무제 등으로 다양하게 제형화하여 보급할 경우 양계농가의 골칫거리인 닭진드기 화학적방제 대체 친환경방제에 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

● 산란계 닭농장 대상 현장실증시험의 문제점과 대안

산란계 닭진드기 발생농장을 구하고자 수십차례 산란계 농가를 방문하였으나 모두 진드기가 발생된다는 사실이 외부에 노출될 것을 우려하여 시험농장으로 임차를 기피함에 따라 식의약청 시험방법 고시대로 실내접종시험을 수행함. 향후 직접 양계사를 소규모로 지어 포장시험을 수행하여야 할 것으로 판단됨

● 기능성 추출물질 효능 추가검증을 위해 단일지표를 사용하는 문제는 방제가 가장 합리적인 지표이나, 유의성지표를 추가할 필요가 있으며 향후 추가연구를 통하여 액제의 연무제나 연막제로 개발 다양한 제형화가 필요하다고 판단됨

(4) 시제품에 대한 독성 시험 ((주) 센트럴바이오 위탁의뢰시험)

1. 랫드에 대한 급성경구 독성시험

가. 시험목적

1) 본 시험은 시험물질 KEPAMA-1의 암컷 SD계 랫드에 급성경구 투여 시 나타나는 독성반응을 관찰하고, 치사량 및 GHS의 Category를 알아보기로 수행한다.

나. 시험기준

1) 본 시험은 다음의 시험기준을 근거하여 실시하였다.

2) “농약 및 원제의 등록기준; [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법 12-1-20 급성경구독성시험 급성독성등급법” 농촌진흥청고시 제 2017-21 호(2017년 09월 20일)

다. 시험계 : 종 및 계통 : NSam:SD 랫드, SPF

라. 시험군 구성

시험물질	군	투여량	투여액량	성별	동물수	동물번호
KEPAMA1 -시제품	1단계	2000	10	암컷	3	2101 ~ 2103
	2단계	300	10	암컷	3	2201 ~ 2203
	3단계	300	10	암컷	3	2301 ~ 2303

마. 투여방법

- 1) 투여하기 전 하루밤 정도 먹이를 주지 않았고 랫드용 경구 투여용 주사기를 이용하여 경구투여 경로를 이용하여 위내에 1회 강제 투여하였다.

바. 결과 및 고찰

- 1) 본 시험은 시험물질 KEPAMA-1 시제품을 암컷 SD계 랫드에 급성경구 투여시 나타나는 독성반응을 관찰하고, 치사량 및 GHS의 Category를 알아보려고 수행하였다. 투여량은 2000 mg/kg B.W.(1단계) 및 300 mg/kg B.W.(2 단계 및 3 단계)로 설정하였고, 군당 3 마리를 사용하여 투여한 후 14 일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.
- 2) 시제품 KEPAMA-1은 2000 mg/kg B.W. (3 단계)시험물질 투여군 전례에서 약물혼입변 및 하복부 / 회음부 및 항문주위의 오염이 관찰되었고, 1 일째에 모두 사망하였다. 나머지 300 mg/kg B.W.(2단계 ~ 3 단계) 시험물질 투여군에서는 시험물질 투여에 의한 일반증상은 관찰되지 않았다. 그리고 시험물질 투여군에서는 시험물질 시제품 투여에 의한 사망동물 및 일반증상은 관찰되지 않았다.
- 3) 이상의 결과로 보아 본 시험조건에서 국제적으로 공인되고 조화된 화학물질 및 혼합물의 분류 시스템 GHS(Globally Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures)의 분류에서 KEPAMA-1 시제품은 Category 5(LD₅₀ Cut-off value : 2000 mg/kg 이상으로 분류하였다.

2. 랫드에 대한 급성경피 독성시험

가. 시험목적 : 본 시험은 시험물질 KEPAMA-1을 암수 SD계 랫드에 급성경피 투여시 나타나는 독성반응을 관찰하고, 치사량을 알아보려고 수행하였다.

나. 시험기준

- 1) 본 시험은 다음의 시험기준을 근거하여 실시하였다.
- 2) “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법 12-1-2, 급성경피독성시험 농촌진흥청고시 제 2017-21 호(2017 년 09 월 20 일)

다. 시험계

투여물질	군	투여량 (mg/kg B.W.)	투여액량 (ml/kg)	성별	동물	동물번호
관류용 멸균생리식염수	G1	0	5	수컷	5	1101-1105
				암컷	5	2101--2105
시제품 KEPAMA-1	G2	4000	5	수컷	5	1201-1205
				암컷	5	2201-2205

라. 투여방법

- 1) 시험물질 투여 전 실험동물의 등 부위에 체모를 피부가 손상되지 않도록 넓게 제모하였다. 제모부위의 4 cm × 4 cm 넓이를 투여부위로 하였다. 시험물질을 거즈에 도포한 후, 투여부위에 부착하였다. 시험물질의 유실을 막기 위해 비자극성 테이프(Tegarderm, 3M)와 탄력붕대(Coban, 3M)로 24 시간 고정하였다. 시험물질 노

출 종료 후 도포물을 제거한 후 피부에 남아있는 시험물질을 관류용 멸균생리식염수로 잘 닦아 주었다.

마. 결과 및 고찰

- 1) 시험 결과, 시험물질 투여에 의한 사망동물, 일반증상, 체중변화 및 부검소견에서의 이상소견이 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아 본 시험의 조건에서 시제품 KEPAMA- 1은 암수 SD계 랫드에 급성경피 투여한 결과, 사망동물이 관찰되지 않아 LD₅₀은 4000 mg/kg B.W. 이상 저독성으로 판단된다.

3. 토끼에 대한 피부자극성시험

바. 시험목적 : 본 시험은 시험물질 KEPAMA-시제품1의 수컷 NewZealand White계 토끼에 대한 피부자극성을 알아보기 위하여 수행하였다.

사. 시험기준

- 1) 본 시험은 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법 12-1-4, 농촌진흥청고시 제 2017-21 호 시험기준을 근거하여 실시하였다.

아. 시험계

- 1) 종 및 계통 : Sam:NZW 토끼 / SPF

자. 시험군 구성 및 투여량 설정

- 1) 실험동물은 건강한 동물 3 마리를 1 군으로 구성하였다.

시험물질	군	투여량(ml.)	성별	동물수	동물번호
KEPAMA-시제품1	1	0.5	수컷	3	1101-1103

차. 투여방법

- 1) 시험물질 투여 24 시간 전에 전기 제모기를 이용하여 토끼 등 부위의 털을 약 15 cm x 15 cm 의 넓이로 깎고 피부에 상처가 나지 않도록 제모된 건강한 피부를 만들었다. 투여방법으로는 아래 그림처럼 표시한 투여부위 위에 가로, 세로 2 cm × 3 cm의 시험물질을 적용한 거어즈를 피부와 접촉시킨 후, 멸균증류수를 가하여 습윤시켰다. 시험물질의 위에는 침투성이 없는 비자극성 의료용 테이프(Tegaderm, 3M_USA)와 탄력붕대(Coban, 3M_USA)를 이용하여 시험물질을 고정하였다. 시험물질은 투여 4 시간 경과 후 제거하였으며, 시험물질 투여부위는 멸균증류수로 가볍게 씻어냈다. 시험물질 투여는 아래와 같이 시험물질 및 대조물질로 하였다.

카. 결과 및 고찰

- 1) 본 시험은 KEPAMA-시제품1의 피부자극성을 조사하기 위하여 수컷 NewZealand White계 토끼의 피부에 투여한 후 사망률, 일반증상, 체중변화 및 피부자극성을 평가하였다.
- 2) 실험기간 중 시험물질 2종 투여에 의한 사망동물 및 이상반응은 관찰되지 않았다. 시험물질 투여 후, 피부반응 관찰 결과, KEPAMA-시제품1 흥반 및 부종이 관찰되었다. 자극성의 판정은 “피부자극표” 와 Draize의 산출방법에 따른 판정 결과 KEPAMA1의 일차자극지수(P.I.I.)는 “1.2” 로 산출되었다. 대조부위 또한 모든 관찰 시간에 흥반, 가피 및 부종의 피부반응이 관찰되지 않았다.

3) 이상의 결과로 보아 본 시험 조건 하에서 수컷 NewZealand White계 토끼의 피부에 대한 피부자극성시험 결과 자극성이 경도 물질로 판단되었다.

4. 시제품에 대한 토끼에 대한 안점막자극성시험

타. 시험목적 ; 본 시험은 시험물질 KEFAMA-1의 수컷 NewZealand White계 토끼에 대한 안점막자극성을 알아 보기 위하여 수행하였다.

파. 시험기준

- 1) 본 시험은 다음의 시험기준을 근거하여 실시하였다.
- 2) 농약 및 원제의 등록기준[별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법, 피부자극성시험
- 3) 농촌진흥청고시 제 2017-21 호(2017 년 09 월 20 일)
- 4) “유기농업자재 공시 및 품질인증기준(국립농산물품질관리원 고시 제 2016-58호)

하. 시험계

- 1) 종 및 계통 : Sam:NZW 토끼 / SPF

라. 시험군 구성

- 2) 실험동물은 건강한 동물 3 마리를 1 군으로 구성하였다.

시험물질	군	투여량(ml.)	성별	동물수	동물번호
KEFAMA-1	1	0.1	수컷	3	1101-1103

거. 투여방법

- 1) 토끼를 고정된 후 우안의 하안검을 가볍게 잡아 당기고 결막낭 내에 시험물질을 넣어 투여하였고, 시험물질의 손실을 막기 위해 상하 안검을 느슨하게 맞춰 잡고 약 1 초간 유지하였다. 좌안은 대조로 하여 투여하지 않았다.

너. 결과 및 고찰

- 1) 본 시험은 시험물질 KEFAMA-1의 안점막자극성을 조사하기 위하여 수컷 NewZealand White계 토끼의 안점막에 투여한 후 사망률, 일반증상, 체중변화 및 안점막자극성을 평가하였다.
- 2) 실험기간 중 시험물질 2종 투여에 의한 사망동물 및 이상반응은 관찰되지 않았다. 체중변화는 모든 동물에서 정상적인 체중 증가가 관찰되었다. 시험물질 투여 후 1, 24, 48 및 72시간째에 안점막자극성을 평가한 결과, 시험물질 KEFAMA-1 결막의 발적 및 부종의 안점막자극성이 관찰되었다. KEFAMA-1의 관찰된 자극성은 72 시간째에 모두 회복되었다. 따라서 Draize의 평가방법에 따라 각 관찰 시점별 평균 안점막 자극지수(M.O.I.)는 Ares의 경우 각각 4.0, 3.3, 2.0 및 0.0로 산출되었으며, Ares의 급성 안점막 자극지수(A.O.I.)는 “4.0” 으로 산출되었다. KEFAMA-1의 각막, 홍채에 대한 자극성 및 결막의 배출물은 관찰되지 않았으며, 대조부위인 좌안 또한 각막, 홍채 및 결막에 대한 특이한 증상이 관찰되지 않았다.
- 3) 이상의 결과로 보아 본 시험 조건 하에서 시험물질 KEFAMA-1의 수컷 NewZealand White계 토끼의 안점막에 대한 안점막자극성시험 결과 KEFAMA-1은 자극성이 없는 물질로 판단되었다.

5. 시제품의 어류(잉어, *Cyprinus carpio*)를 이용한 급성독성시험

다. 시험방법

- 1) 시험종 : 잉어(*Cyprinus carpio*)
- 2) 시험약제 : KEFAMA 1
- 3) 시험물질 조제
- 4) 시험물질 Ares를 주성분 및 함량(85 %) 기준으로 0.5882 g 을 시험용수(사육수)와 시험물질을 전자저울로 칭량하여 500 mL volumetric flask에 넣고, 1000 mg/L 의 stock solution을 조제하였다.

5) 시험농도 설정

예비시험의 결과, 잉어의 치사율이 10 mg/L에서 100 %, 0.50, 1.0 및 5.0 mg/L 에서 0 % 였다. 따라서 10 mg/L 를 최고농도로 하고, 이하 1.8로서 1.0, 1.8, 3.2, 5.8 및 10 mg/L 의 총 5 농도로 설정하였다. 또한, 음성대조군을 설정하였다.

러. 노출조건

- 1) 각 시험수조(Φ210 x 220mm)의 시험용액량은 시험군당 10 L 로 하였다. 시험용액의 수온[21 ~ 23 ° C(음성대조군의 초기온도 ± 1 ° C)], 용존산소농도(포화농도의 60 % 이상) 및 pH(6.0 ~ 8.5) 를 확인하였다. 공시어는 음성대조군 및 모든 시험물질 처리군에 10 마리씩 사용하고, 지수식으로 96 시간 노출하였다. 어류의 밀도는 1.0 g (평균어체중량)/L를 넘지 않았다. 조명은 실내광으로 하고 16 시간 점등/8 시간 소등으로 하였다. 노출 24 시간 전부터 노출종료 시까지 급이 하지 않았다.

며. 관찰 및 측정

- 1) 일반증상
- 2) 노출 3, 6, 24, 48, 72 및 96 시간 후에 음성대조군 및 시험물질 처리군의 모든 시험농도에 대하여 어류의 일반증상(치사, 유영, 외관 및 기능)을 관찰하여 치사개체를 기록하였다.
- 3) 어체검사
노출 96 시간 후 음성대조군에서 어체에 묻어 있는 물기를 티슈페이퍼로 제거하고 전장은 버니어 캘리퍼스로 측정한 후, 각 개체의 무게는 전자저울로 측정하였다.
- 4) 수온, 용존산소농도 및 pH
노출개시 전, 노출개시 후 24, 48, 72 및 96 시간 후에 음성대조군 및 모든시험물질 처리군에서 수온, 용존산소농도 및 pH를 pH/DO 측정기로 이용하여 측정하였다.
- 5) 시험용액의 상태
노출개시 전, 노출 24, 48, 72 및 96 시간 후에 음성대조군 및 모든 시험물질 처리군에 대하여 시험 용액의 상태(투명, 혼탁, 침전, 수면부유, 응집 등)를 관찰하였다.

버. 결과 및 고찰

- 1) 어류(잉어, *Cyprinus carpio*)에 시험물질은 지수식으로 10 mg/L 시험물질 처리군과 음성대조군을 설정해 96시간 노출시켜, 급성영향을 평가하고, 반수치사농도(Median lethal concentration, LC₅₀)를 산출하였다. LC₅₀는 노출 48 시간 후에 6.8 mg/L(95 % 신뢰한계: 5.9 ~ 7.9 mg/L), 노출 96 시간 후에 5.6 mg/L(95 % 신뢰한계: 4.4 ~ 7.2 mg/L) 였으며, 무영향농도는 노출 48 및 96 시간 후에 ≥ 10mg/L였다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

○ 성과목표

사업화 지표										연구기반 지표								
지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					인 증 등 록	학술성과		교 육 지 도	인 력 양 성	정책 활용·홍보		자 료 발 간	
특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시
											SCI	비 SCI						
1					1			1				1	1		1	6	1	

○ 연구 성과

가. 특허출원 : 1건

(1) 발명의 명칭 : 천연식물 추출물을 유효성분으로 가지는 닭진드기 살비제조성물
 특허출원번호 : 10-2018-0160742 (접수번호 1-1-2018-1251977-49) (2018.12.13.)

나. 논문 및 학술발표 : 1건

(1) In Ahn., In-Eae Lee., Ji-Won Yoo. 2018. Development of environment-friendly acaricide for control of laying chicken red mite using natural plant extract J. The Korean Society of Pesticide Science 2018 Annual Conference. p.113-114

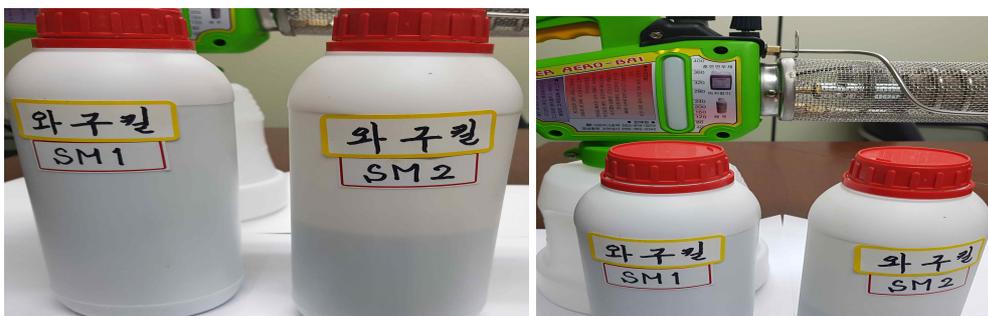
다. 정책 활용 : 식물추출물 원료사용 닭진드기친환경구충제 허가절차 개선정책 건의(2018.12.7, 농식품부방역정책국 조류인플루엔자방역과)

라. 자료 발간 : 산란계진드기 친환경방제기술 교육자료 발간(2018.11.12.)

마. 홍보 성과 : 천연물 이용 산란계진드기 친환경살비제 소재개발 (한국농어민신문 등 6건)

바. 대농민 기술지도 : 산란계진드기 친환경방제기술 농민교육(2018.11.3.) 1회 15명

사. 제품화 : 천연식물추출물을 유효성분으로 가지는 닭진드기 액상 살비제 “와구킬”



3-2. 목표 달성여부 : 100% 초과달성

(1) 목표 : 특허출원 1, 학술발표 1, 제품화 1, 교육지도 1, 정책활용 1, 홍보 6, 자료발간 1

3-3. 후속연구의 필요성

산란계 애로사항인 닭진드기 친환경방제수단이 없는 실정에서 액상제외 연막제 또는 연무제 개발 후속 계속과제 필요

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		20위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		5위

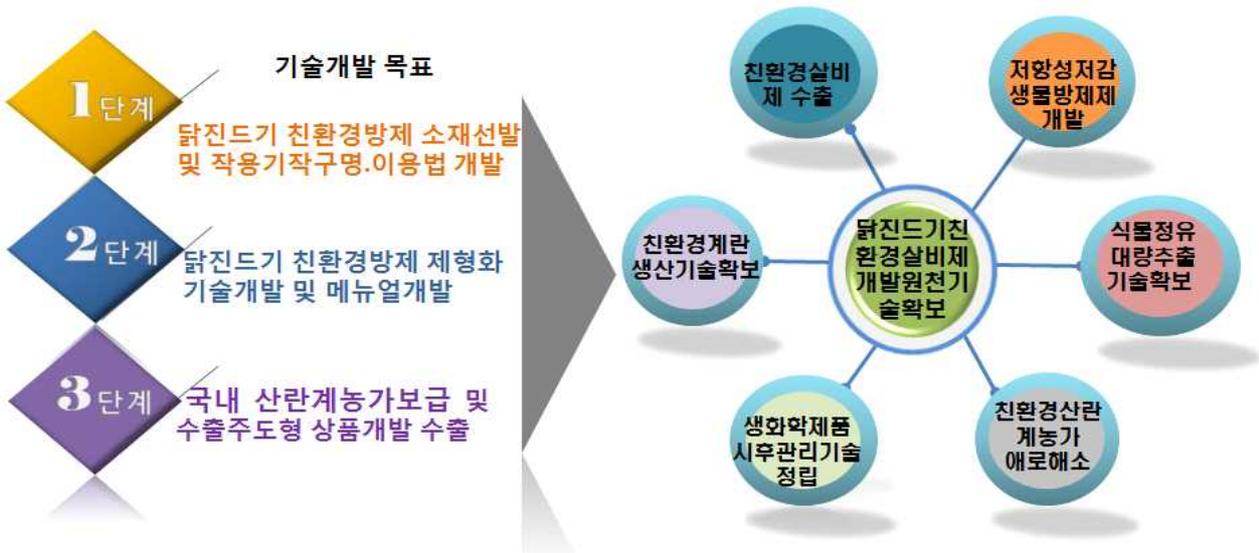
- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	1년			
	소요예산(백만원)	43백만원			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
			10억원	20억원	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내		10%	20%
국외			5%	10%	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	닭진드기 친환경살비제 연막제 및 연무제			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)		150억원	300억원	
	수 출		10억원	20억원	

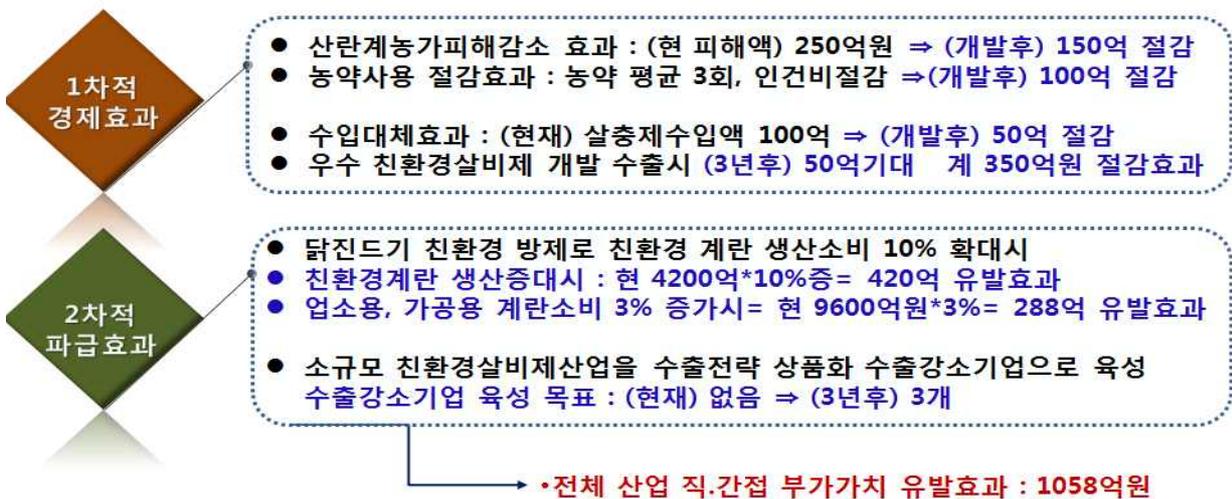
4. 연구결과의 활용 계획 등

- 국내 최초 닭진드기 친환경살비제 1종이상 개발 산란계농가 애로해소
 - 살충제계란 파동으로 수많은 산란계 농장 120개중 94%가 닭 진드기 감염 문제를 안고 방제 애로로 고통받고 있는 현실에서 친환경 닭진드기 살비제 개발로 친환경방제 애로 해소 가능
- 계란 살충제농약 저항성 문제 해소
- 검증된 닭진드기 친환경 살비제를 개발 공급할 경우, 살충제계란에 대한 소비자 신뢰회복
- 해외 수출시장 개척 판매망 확보 : 중국, 인도, 베트남 등에 수출 : 5차년도 100만\$

❖ 기술적 파급효과



■ 경제적 파급효과



※ 후속연구의 필요성

산란계농가의 애로사항인 닭진드기에 대한 친환경방제수단이 없는 실정에서 액상제의 연막제 또는 연무제 개발 후속 계속과제로 추진 산란계농가 애로해소 절실

[붙임] 참고문헌

- Ahn, I., Lee, I.E.(2016) Effective Usage of *Bacillus subtilis* Microbials For Eco-friendly Control of Apple *Alternaria* Leaf Spot. J. Korean Society of Environmental Agriculture. Vol. pp 68-69.
- Ahn, I., Lee, I.E., Jung, G.C., Yoo, J.W., Han, J.h.(2017) Development of environment-friendly insecticide for Ricaniid Planthopper using natural plant extract. J. Korean Society of Environmental Agriculture 2017 Annual Conference. pp.167-168.
- Choi, D.S.(2015). Occurrence Ecology of *Ricania* sp. (Hemiptera: Ricaniidae) and Selection of Environmental Friendly Agricultural Materials for Control. Korean J. Appl. Entomol. 51:141-148.
- Kim, C.H.(2004). Review of disease incidence of major crops in 2003. Research in Plant Disease, 10(1): 1-7.
- Kim, H.J., Jung, S.S., Kim, D.W., Park, J.S., Rhy, J., Bae, Y.K., & Yoo, S.J.(2008). Investigation into disease and pest incidence of *Panax ginseng* in Jeonbuk province. The Korean Journal of Medicinal Crop Science, 16(1): 33-38.
- Katz,T.M., Moller,J.H., Hebert,A.A.(2008). Insect repellents: historical perspectives and new developments. J.Am. Acad. Dermatol. 58,865-871.
- Park, C.K.(2015). Development of the environment-friendly pest management techniques against an exotic citrus flatid planthopper, *Metcalfa pruinosa* and its basic ecological and physiological study. Korean J. Appl. Entomol. Vol. No.10.
- Zapata,N., Smaghe,G.(2010). Repellency and toxicity of essential oils from theleave sand bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. Ind. Crops Prod. 32, 405.410.
- Kim J.R. , Perumalsamy H. , Lee J.H. , Ahn Y.J. , Lee Y.S. , Lee S.G. (2016) Acaricidal activity of *Asarum heterotropoides* root-derived compounds and hydrodistillate constitutes toward *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae) ., Exp. Appl. Acarol., Vol.68 ; pp.485-495
- .Kim S.I. , Na Y.E. , Yi J.H. , Kim B.S. , Ahn Y.J. (2007) Contact and fumigant toxicity of oriental medicinal plant extracts against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet. Parasitol., Vol.145 ; pp.377-382
- Kang M.S. (2018), Effect of Chicken Mite on Poultry Typhus Continuous Infection in Laying Hens, Korean Journal of Poultry Science, pp. 101-114
- Park K.T.(2018) Effects of Anti-chickens Control System and Practical Application Korean Journal of Poultry Science. pp. 73-100
- Ahn Y.J. (2011), Development of pesticide-altemative control technologies for livestock pests Jun J.W.(2018) Comprehensive control strategy for chicken tick control, Korean Journal of Poultry Science. pp 48-72

[별첨]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		117114-1	
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	가축질병대응기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	기능성 식물정유 활용 닭진드기 친환경살비제 소재개발 및 제형화			과제유형	(기초,응용,개발√)
연구기관	(사)한국친환경농자재협회			연구책임자	안 인
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2017.12.28.~ 2018.12.27	32,000	11,000	43,000
	2차연도				
	3차연도				
	4차연도				
	5차연도				
	계				
참여기업					
상대국				상대국연구기관	

2. 평가일 : 2018.12.27

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(사)한국친환경농자재협회	기술위원(부회장)	안 인

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
-----------	--

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (√아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

천연식물추출물+식물정유 복합제로 액상제형화하여 닭진드기 효과시험결과 120시간후 100% 방제효과를 나타내어 화학농약과 비등한 결과로서 획기적인 닭진드기 친환경 살비제 개발 성과를 나타냄

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (√아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

액상제형의 연무제 및 연막제로 제형화하여 조속히 산란계농가에 보급할 경우 '17년 계란 살충제 농약 파동 대안이 마련됨으로서 산란계농가 애로를 해소할 수 있을 것으로 판단됨

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (√아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

국내 닭진드기 친환경방제제가 극소수 개발되어 있으나 효과가 다소 미흡한 실정에서 본제제 개발 출시될 경우 국내 시장점유율을 압도할 수 있을 것이며, 국내뿐만아니라 세계각국이 와구모 피해가 심각한 실정인 바 동남아 등 수출상대국에 등록 수출할 경우 수출효과가 수백억에 달할 가능성이 있음. 와구모 수입농약대체제로서 향후 농약원제 100억원이상 수입대체효과기대

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, √우수, 보통, 미흡, 불량)

1년의 짧은기간동안 수많은 예비시험을 거쳐 우수약제 선발함으로서 당연 성실성이 돋보임

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, √우수, 보통, 미흡, 불량)

학술발표 1건, 홍보성과 6건, 교육지도 1건, 정책건의 1건, 자료발간 1건, 특허출원 1건으로 1년동안에 많은 성과거양

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
천연물복합제제 방제가	40	100	(목표) 80%→(성과) 100%
기능성분 2종이상	10	100	(목표)2종이상→ (성과)5종이상
안정화기술	20	100	(목표)2년이상→ (성과)3년이상
천연물 순도	10	100	(목표)90%이상→ (성과)90%
특허 출원	20	100	1건 출원
합계	100점	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 당초 식물추출물+기능성정유 복합제형화를 통하여 80% 정도 방제효과를 목표로 하였으나 공인시험기관과 공동으로 시험한 결과 뛰어난 방제효과를 보인 닭진드기 친환경살비제가 개발됨. 원가계산 결과 현재의 농약가격보다 약간 비싸 충분히 산란계농가 보급가치가 뛰어나다고 판단됨
- 산란계 닭진드기 발생농장을 구하고자 수십차례 산란계 농가를 방문하였으나 모두 진드기가 발생된다는 사실이 외부에 노출될 것을 우려하여 시험농장으로 임차를 기피함에 따라 식의약청 시험방법 고시대로 실내접종시험을 수행함. 향후 직접 양계사를 소규모로 지어 포장시험을 수행하여야 할 것으로 판단됨
- 기능성 추출물질 효능 추가검증을 위해 단일지표를 사용하는 문제는 방제가가 가장 합리적인 지표이나, 유의성지표를 추가할 필요가 있으며 향후 추가연구를 통하여 액제의 연무제나 연막제로 개발 다양한 제형화가 필요하다고 판단됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

액상제의 연막제 또는 연무제로 다양화하여 산란계농가가 더욱 편리하게 사용될 수 있도록 후속과제로 추진될 수 있도록 선처요망

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본제제가 개발 출시될 경우 국내 시장점유율을 압도할 수 있을 것이며, 국내뿐만아니라 세계각국이 와구모 피해가 심각한 실정인 바 동남아 등 수출상대국에 등록 수출할 경우 수출효과가 수백억에 달할 가능성이 있음. 와구모 수입농약대체제로서 향후 농약원제 100억이상 수입대체 효과가 기대되므로 보다 제형을 다양화하여 농가애로를 해소할 수 있도록 후속과제로 추진될 필요성이 절실함

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

특허 출원으로 지적재산권이 충분히 보호될 수 있을 것임

2. 연구기관 자체의 검토결과

특허 출원으로 문제없다고 판단됨