

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개(), 발간등록번호(O)
농식품연구성과후속지원 사업 제 2차 연도 최종보고서

발간등록번호
11-1543000-003191-01

면역유도누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화시스템 개발 및 산업화

2020. 07. 17.

주관연구기관 / 그린테코(주)
위탁연구기관 / 동국대학교

농 립 축 산 식 품 부
농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발 및 산업화”(개발 기간 : 2018. 4. 30 ~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 07. 17.

주관연구기관명: 그 린 테 코(주) (대표이사) 이 상 훈



위탁연구기관명: 동국대학교 경주캠퍼스 산학협력단 (대표자) 김 규 태 (인)

주관연구책임자: 이 상 훈

위탁연구책임자: 구 태 원

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

과제고유번호	818026-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.01.01. ~ 2019.12.31	단 계 구 분	2차년도/ 2차년도						
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업									
	사 업 명	농식품연구성과후속지원사업									
연구과제명	대 과 제 명	면역유도누에 대량 생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발 및 산업화									
	세 부 과제명	항균활성을 보유한 면역유도누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발									
연구책임자	이 상 훈	해당단계 참여연구원 수	총: 4 명 내부: 3 명 외부: 1 명	해당단계 연구 개발비	정부: 146,000천원 민간: 48,700천원 계: 194,700천원						
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 8 명 내부: 6 명 외부: 2 명	총 연구 개발비	정부: 258,000천원 민간: 86,100천원 계: 344,100천원						
연구기관명 및 소속부서명	그린테크(주)			참여기업명							
국제공동연구 위탁연구	상대국명: 동국대학교			상대국 연구기관명: 구태원							
※ 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	
등록·기탁 번호								생명 정보	생물 자원	정보	실물
국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황											
구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호			
○ 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발											
- 동시 복수 연속 주사 유도 장치의 최적 조건을 위한 설계 및 디자인											
- 동시 복수 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작											
- 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 및 주입량 구명											

<ul style="list-style-type: none"> - 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> · 규모별 생산체제 모델 제시, 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등 ○ 누에 생체 내 천연항생제 대량 생산을 위한 최적 면역유도 조건개발 <ul style="list-style-type: none"> - 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발 - 선발 면역유도제의 최적 처리조건 및 처리 방법 개발 - 면역 유도제 주입 후 천연항생제 최대 발현 시기 구명 - 면역이 유도된 누에의 특성 분석: 항균, 항진균, 단백질가수분해 저항성 등 - 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관과제에 제공 - 주관과제로부터 대량생산된 면역유도 누에의 활성 평가: 항균, 항진균 등 	
---	--

<요약문>

1. 연구개발 내용 및 범위

가. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발

- 1) 동시 복수 연속 주사 유도 장치의 최적 조건을 위한 설계 및 디자인
- 2) 동시 복수 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작
- 3) 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 및 주입량 구명
- 4) 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화
 - 규모별 생산체제 모델 제시, 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등

나. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발

- 1) 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발
- 2) 선발 면역유도제의 최적 처리조건 및 처리 방법 개발
- 3) 면역 유도제 주입 후 천연항생제 최대 발현 시기 구명
- 4) 면역이 유도된 누에의 특성 분석: 항균, 항진균, 단백질가수분해 저항성 등
- 5) 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관과제에 제공
- 6) 주관과제로부터 대량생산된 면역유도 누에의 활성 평가: 항균, 항진균 등

2. 연구개발 결과

가. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발

- 1) 동시 복수 연속 주사 유도 장치의 최적 조건을 위한 설계 및 디자인 함
- 2) 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작
 - 주사라인 홈의 폭 8mm, 깊이 10mm 조건 시 상처율이 적은 가장 좋은 조건임
 - 1번 면역 유도 주사 시 528개(33*16)의 주사바늘이 동시에 면역유도 주사함
(누에 개체 당 2~3 부위에 주사 시 1회에 평균 98.5두 면역주사 가능 함)
- 3) 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 및 주입량 구명
 - 주사라인 홈 안착 조건은 -55℃ 냉풍 또는 냉동에서 3.5분 노출이 가장 적절함
- 4) 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화
 - 면역원 주사 자동화시스템 사용시 생산량
당초 개발(28,800두/1일) → 연구목표(140,000두/1일) → 연구결과(552,960두/1일)
 - 면역원 주사 자동화시스템 사용시 노동력 (28,800두 면역 유도 누에 생산 시간)
당초 개발(8시간/1일) → 연구목표(1시간36분/1일) → 연구결과(24분/1일)
 - 면역원 주사 자동화시스템 사용시 생산비 (면역 유도 분말 1kg 생산시 비용)
당초 개발(25,000원/1kg) → 연구목표(5,000원/1kg분말) → 연구결과(1,500원/1kg분말)

나. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발

- 1) 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발
 - 총 4종의 면역유도제 중 유산균(L. casei)를 누에 생체 내 천연 항생 물질 대량 생산을 위한 면역유도제로 최종 선발하였음

- 2) 선발 면역유도제의 최적 처리조건 및 처리 방법 개발
 - *L. casei*를 $1 \times 10^{7-9}$ cfu/ml의 농도로 주사했을 때 가장 많은 천연항생물질이 발현됨
- 3) 면역 유도제 주입 후 천연항생제 최대 발현 시기 구명
 - 2시간 이후부터 증가하기 시작하여, 24시간 후에 최대 발현함
- 4) 면역이 유도된 누에의 특성 분석: 항균, 항진균, 단백질가수분해 저항성 등
 - 면역유도 누에의 체액을 이용한 항균활성을 분석한 결과, 사용된 9종 균주에 따라 다소의 차이는 있었으나 9종 균주 모두에 높은 항균 활성을 나타내었으며, 특히 항생제내성 균과 진균에 대해서도 매우 높은 항균 활성을 나타내었음
 - 면역유도 누에의 체액 이용 단백질가수분해효소에 대한 저항성을 멜리틴과 비교분석한 결과, 멜리틴에 비해 높은 저항성을 가지는 것으로 확인됨
- 5) 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관과제에 제공
 - 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 개발 면역유도제인 *L. casei*를 주관과제에 분양함
 - 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 면역유도제(*L. casei*)의 최적 면역유도 조건을 제공함
- 6) 주관과제로부터 대량생산된 면역유도 누에의 활성 평가: 항균, 항진균 등
 - 추출 용매로 80% 초산 추출용매의 사용은 에탄올이나 메탄올을 사용하는 것에 비하여 면역유도 건조분말로부터 항균활성 물질을 과량으로 추출할 수 있었음
 - *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pullorum*, *S. typhimurium* 등 6종 세균에 대해 누에 건조 분말 추출물의 MIC 범위는 200 ~ 300ug/100ul로 측정되었음

다. 예상되는 연구개발성과 유형

구분	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명 자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
예상성과 (N/Y)	Y	Y	Y		Y						Y

라. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표										구기반지표								
	지식재산권			기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책·홍보		기타(타연구활동등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치	20	10		10		30	10		5				5	5			5		
최종목표	2	2		1		2	3,000		3				1	1			1		
1차년도	1																		
2차년도	1	1		1		2	30		1			1	1	1			1		
소계	2	1		1		2	30		1			1	1	1			1		
소계	목표	2	1		1	2	30		1			1	1	1			1		
	실적	2	1		1	4	30.9		1			1	2	1			1		

3. 연구개발성과의 활용계획(기대효과)

- 누에 생체 내 천연항생제(항균펩타이드) 대량 생산을 위한 면역유도 방법 개발
- 천연 항생제 발현 유도 누에의 가금류 면역증강 사료첨가제로서 효능 인정(국립축산과학원) 및 사료공정서 등록(농림축산식품부 고시, '16)을 통한 양산체계 구축
- 누에 유래 항생제 대체물질 및 기능성 사료자원 개발을 위한 기술 확립
- 고효율 항생제 대체물질 및 고기능성 사료소재 개발 및 산업화
- 고효율 항생제 대체물질 개발 및 적용을 통한 고품질 안전 가금 산물 생산기술 확립
- 천연항생제 생산 누에 이용 사료 제제화 및 제형화 시스템 실용화
- 타 곤충을 이용한 가축, 어류용 기능성 사료첨가제 개발에 활용
- 면역 유도 물질을 누에 생체 내 주입하는 천연항생제 대량 주사 장치 개발을 통해 면역 유도 누에의 대량생산이 가능함.
- 대량 생산된 면역 유도 누에를 이용한 사료첨가제의 제제화 및 제형화 시스템 구축
- 항균물질을 포함하는 기능성 누에를 이용한 사료첨가제의 개발 기술은 고부가가치 섬유 및 식·의약 소재를 포함 새로운 분야로 기술범위 확대
- 누에 유래의 기능성 검증을 통한 사료첨가제 개발은 여타의 곤충에 대한 새로운 소재화의 가능성을 증대
- 고기능성 생리활성물질의 산업적 활용을 위한 기술력 확보 및 관련 기술 제공
- 고부가가치 천연항생제 생산 누에 개발에 따른 양잠농가의 소득 증대 및 농가 수 확대
- 누에 자체의 부가가치 상승뿐만 아니라 사료회사 및 동물의약품 회사 등 관련 산업의 동반 성장으로 인한 경제적·산업적 이득이 예상됨

- 고품질 안전 가금산물 생산을 통한 농가 소득 증대, 소비자 신뢰 확보 및 국가 경쟁력 제고
- 면역증가 및 항균효과를 가지는 천연 사료첨가제 개발을 통한 고품질 안정 축산물 생산
- 수입 축산물과 차별화된 고품질 안전 축산물에 대한 소비자의 수요증가로 축산농가의 소득 증대
- 누에는 각종 유용단백질을 다량 함유하고 있어 사료첨가제로 사용시 가축의 성장촉진 효과 기대
- 곤충 유래 천연항생제 사용으로 화학항생제 사용감소에 따른 인체 부작용 감소
- 천연항생제 생산 누에의 사료첨가제제형 개발기술 확립에 따른 해외 사료첨가제 수입 의존도 감소 기대
- 면역증가 및 항균효과를 가지는 천연 사료 첨가제 개발을 통한 고품질 안정 축산물 생산
- 수입 축산물과 차별화된 고품질 안전 축산물에 대한 소비자의 수요증가로 축산농가의 소득증대
- 천연항생제 생산 누에의 사료 첨가제로써 적용 범위 확대 가능:
가금류(돼지·소·닭 등) → 애완동물→ 어류
- 천연항생제 생산 누에 공장 개발 및 효능분석에 따른 논문게재, 특허출원, 산업체 기술이전

< 목 차 >

제출문	3
보고서 요약서	4
요약문	6
목 차	10
제 1 장 연구개발 과제 의 개요	12
제 1 절 연구개발의 목적	12
제 2 절 연구개발의 필요성	12
제 3 절 연구개발의 범위	14
1. 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발	14
2. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발	14
제 4 절 연구성과 목표 대비 실적	15
제 5 절 국내 기술 수준 및 시장현황	15
1. 기술현황	15
2. 시장현황	15
3. 경쟁기관 현황	17
4. 지식재산권 현황	18
5. 표준화 현황	19
제 6 절 국외 기술 수준 및 시장현황	19
1. 기술현황	19
2. 시장현황	20
3. 경쟁기관 현황	21
4. 지식재산권 현황	22
5. 표준화 현황	23
제 2 장 연구수행 내용 및 결과	24
제 1 절 연차별 연구개발의 목표 및 수행내용	24
1. 1차년도 연구개발 목표 및 수행내용	24
2. 2차년도 연구개발 목표 및 수행내용	25
제 2 절 연구수행 내용 및 결과	26
1. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발(그린테코(주)): 1차년도	26
가. 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 설계 및 개발: 주사침을 동시 이용	26
나. 간이유도장치 1차 초기모델 개발 제작 및 보완	34
다. 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 구명	38
2. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발(그린테코(주)): 2차년도	41

가. 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작(1차년도 문제점 보완 및 추가)	41
나. 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화	48
다. 원가분석, 경제성 분석, 현장적용 등	50
라. 사업화성과 및 매출실적	57
3. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발 (동국대학교): 1차년도	58
가. 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발	58
나. 선발 면역유도제의 최적 처리조건 구명	58
다. 다양한 인·축 병원균에 대한 항균효능 분석	59
라. 누에 유래 천연항생제의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석	60
마. 누에 유래 천연항생제의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석	61
4. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발 (동국대학교): 2차년도	62
가. 역유도 누에의 체액 이용 항균 및 항진균 활성 분석	62
나. 역유도 누에의 건조 분말로부터 천연항생제 추출기술 개발	62
다. 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석	63
라. 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 최소 저해 활성 농도 설정	64
마. 누에 유래 천연항생제 추출물의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석	65
바. 누에 유래 천연항생제 추출물의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석	66
사. 면역유도 누에 유래 천연항생제 추출물의 세포독성 분석	67
5. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후 대책(후속 연구의 필요성 등)	67
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	68
제 1 절 1차년도	68
제 2 절 2차년도	71
제 4 장 연구 결과 및 활용계획	74
별첨. 참고문헌	75





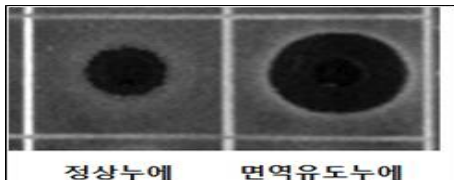
제 1 장 연구 개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적

농림축산식품부의 지정 공모과제(“누에를 활용한 항생제 대체용 천연 항생 펩타이드 함유 고기능성 사료 첨가제 개발 및 산업화”, ‘11.1~ ‘15.12)에서 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 장치의 현장적용 시 나타난 문제점인 과다 투자비를 보완 할 수 있는 방법으로 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발과 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건을 개발함으로써 항균 활성 보유 면역유도 누에를 사료 첨가제로 사용하는데 가격 경쟁력을 강화하고자 함

제 2 절 연구개발의 필요성

○ 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 생산을 위한 면역원 주사장치 개발 내용(그린테코)

순서	내용	세부내용	기타
1	유도물질 손으로 직접주입	   냉수집기 유도물질주사 봉입급여	○ 경제성 떨어짐
2	유도물질 자동조사 장치로 주입	  정상누에 면역유도누에	○ “누에를 활용한 항생제 대체용 천연 항생 펩타이드 함유 고기능성 사료 첨가제 개발 및 산업화”. ‘11.1~ ‘15.12) - 단일 연속 주사 자동 유도 장치는 연구개발 완료되었음 (생산 시 투자비가 많이 듦) - 정상 누에 대비 면역이 유도된 누에의 항균 활성 분석함
3	제안한 내용	○ 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발 ○ 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발	○ 누에의 동시 대량 연속 주사 유도 장치 개발 및 최적 면역유도 조건개발 ○ 경제성 향상 됨

○ 항생제 오남용으로 인한 국민건강, 공중보건, 환경오염 등 다양한 문제 대두

<ul style="list-style-type: none"> ● 축산물 내 항생제 내성균 조사 (09, 수검원) - 대장균 : 66.0~86.6% (암피실린, 트라사이클린) - 포도상구균 : 67% (페니실린) - 다제내성균 비율 : 39%  <p style="text-align: right;">내성균 증가</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 식중독 유발, 항생제 내성유전자 전이 가능 ● 항생제 잔류 위반율 (09, 식약청) - 0.26%(06)→0.23(07)→0.17(08)→0.09(09) - 일본 : 0.03%, 미국 : 0.82%, 영국 : 0.25%  <p style="text-align: right;">축산물 항생제 잔류</p>
 <p style="text-align: right;">질병저항성 약화</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 생산성·경제성 위주의 육종·개량 - 가축 성장과 질병·스트레스 역의 상관관계 ● 질병저항성 감소로 항생제 의존도 증가 - 초기 면역 형성 및 저항력 약화 	 <p style="text-align: right;">생태계 오염</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 가축 분뇨로 통한 항생제 유출 ● 토양, 지표수 유입 ● 축산 오·폐수로 인한 항생제 전이 ● 생태계 순환 고리 파괴

○ 핵심기술(핵심기술의 내용, 용도 등에 대해 세부내용 기술)

- 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발· 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치를 설계 및 개발하고 누에 마취조건 및 유도액 주입량을 분석하고 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화 등 평가함
- 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발
 누에 생체 내 천연항생제 최대 생산을 위한 면역 유도제 선별, 최적 처리조건 및 방법을 구명하며, 또한 면역이 유도된 누에의 특성 분석(항균, 항진균, 단백질가수분해 저항성 등)을 통하여 가축 가료첨가제로써 가치 제고와 누에 생체 내 천연항생제의 최대 발현 시기 구명을 통하여 우수한 항균 활성을 보유한 사료 첨가제를 개발하고자 함

제 3 절 연구개발의 범위

1. 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발

- 가. 동시 복수 연속 주사 유도 장치의 최적 조건을 위한 설계 및 디자인
- 나. 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작
- 다. 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 및 주입량 구명
- 라. 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화
 - 규모별 생산체제 모델 제시, 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등
- 마. 정량적 목표
 - 1) 생산량 500% 향상: 28,800두/1일(당초 개발 장치) → 140,000두/1일
 - 2) 투입 노동력 250% 절감: 8시간/1일(당초 개발 장치) → 1시간36분/1일
 - 3) 주사유도시생산비 500% 절감: 25,000원/1kg분말 → 5,000원/1kg분말

2. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발

- 가. 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발
- 나. 선발 면역유도제의 최적 처리조건 및 처리 방법 개발
- 다. 면역 유도제 주입 후 천연항생제 최대 발현 시기 구명
- 라. 면역이 유도된 누에의 특성 분석: 항균, 항진균, 단백질가수분해 저항성 등
- 마. 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관과제에 제공
- 바. 주관과제로부터 대량생산된 면역유도 누에의 활성 평가: 항균, 항진균 등
- 사. 정량적 목표
 - 1) 최적 면역유도제 선발: 2종 이상
 - 2) 면역유도제 주입 방법: 바늘 종류 및 두께 설정
 - 3) 면역유도누에의 항균활성분석: 10종 이상 병원균

제 4 절 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	명					
가중치	20	10		10		30	10		5				5	5			5		
최종목표	2	2		1		2	3,000		3				1	1			1		
연구기간내 달성실적	2	1		1		2	30		1			1	1	1			1		
연구 종료 후 성과창출 계획		1					2,970		2								1		

제 5 절 국내 기술 수준 및 시장현황

1. 기술현황

가. 누에를 포함한 다양한 곤충으로부터 향생 펩타이드 분리 및 향균 활성 분석

(~' 10, 농진청)

- 누에 유래 향균펩타이드: 누에신, 엔보신
- 곤충 유래 향균펩타이드: 코프리신, 파필리오신, 갈리오마이신 등

나. 다양한 동식물 세균 병 및 내성균에 대한 항세균 활성 확인

다. 곤충 유래 향생 펩타이드를 대장균 등 다양한 발현계를 이용하여 대량생산 연구를 추진 중이나, 경제성의 한계를 극복하지 못하고 있는 실정임

라. 누에의 선천성 면역기전을 이용에 의한 누에 생체 내 향생펩타이드 유도 기초기반 기술 개발(* 10, 농진청)

마. 곤충 유래 천연항생제 대량생산 형질전환 누에 제작을 위한 우수한 원천기술 보유 (* 10, 농진청)

바. 세계 최초로 누에 실용품종에서 형질전환 성공으로 농가 보급 가능

사. 누에 알 내 적정 미세 주사 위치 구멍에 의한 형질전환 효율 대폭 향상

- 0.7 ~ 3.9% (* 00, 일본) → 25 ~ 75% (평균 42.6 %, ' 10, 농진청)

아. 세계 최초로 알과 유충에서 형질전환체 동시 선발 기술개발 : 노동력 및 비용 대폭 절감

2. 시장현황

가. 농림축산식품부는 식용 곤충의 범위를 제한한 규제를 핵심 규제개혁 과제로 선정하고 곤충의 대상을 늘려 2020년까지 국내 곤충 시장을 5,000억 원 규모로 확대한다는 계획을 발표함

1) 국내 곤충 시장 규모: 1,680억 원('11) → 3,193억 원('15) → 5,582억('20)



그러나, 최근 식용 곤충의 규제개혁 일환으로 갈색거저리 등 7종의 곤충이 식품의약품안전처로부터 안전성 평가를 거쳐 식품원료로 인정받았으나, 혐오감 등으로 곤충의 식품소재 산업으로써 규모 확대는 매우 제한적임

- 2) 또한, 최근 누에, 갈색거저리, 동애등에 등 곤충이 식품뿐만 아니라 사료로써 높은 영양학적 가치가 인정되어 곤충을 사료 소재 산업으로 육성하고자 하였으나, 경제성의 한계를 극복하지 못하고 있는 실정임('10~, 그린테코; ' 14, 농과원, 서울대; ' 16, 농과원, 중부대)
- 3) 곤충 시장의 규모를 확대하기 위해서는 식품 및 가축 사료 원료뿐만 아니라 곤충을 바이오에너지 생산을 위한 소재로서의 용도 개발이 절실히 필요함
- 4) 동물용 항생제는 성장촉진용과 치료용으로 사용되어 왔으며, 오늘날 집약적·기업적 축산으로 대규모화되는 데 주도적인 역할을 하였음
- 5) 성장촉진용 항생제: 가축의 성장촉진, 장내 유해균 억제, 질병 예방, 사육환경 개선 등을 목적으로 저수준으로 사료 내 첨가 급여되는 항생제
- 6) 치료용 항생제: 가축의 이상증후 및 질병 발생 시 질병 치료를 목적으로 수의사 처방 하에 고수준으로 투여되는 항생제
- 7) 가축 사료 내 항생제 오남용으로 인한 내성균 출현, 축산물 내 항생제 잔류, 가축의 질병 저항성 약화, 분뇨로 유출된 항생제 잔류물로 인한 생태계 오염 등의 문제 대두
- 8) 우리나라 축산물 1톤 생산 시 항생제 0.91kg 사용으로 뉴질랜드 0.04kg, 미국 0.15kg, 일본 0.36kg에 비해 매우 높은 편임
- 9) 축산물 내 항생제 내성균 조사 결과, 대장균 53.6~69.3%(테트라사이클린, 암피실린), 장구균 62.4~68.9%(테트라사이클린, 엔트로마이신), 포도상구균 67%(페니실린), 3가지 계열 이상의 항생제 내성을 보인 다제내성균 비율 39% 차지(식품의약품안전처, '09)
- 10) 항생제 오남용 방지, 소비자의 축산물 위생·안전성 요구, 국내 축산 경쟁력 제고를 위한 항생제 사용 규제 강화 및 무항생제 축산물 인증 정책 추진에 따른 대책 마련 시급
- 11) 항생제 등 항균물질 사용 절감 방안('04)에 따라 항생제 허용품목 단계적 감축
 - 단계별 허용품목 감축: (당초) 44종 → ('05.5) 16 → ('09.1) 9 → ('11.7) 0
- 12) 성장촉진용 항생제 사용 감축으로 인한 경제적·환경적 부담 증가 문제 대두
 - EU 성장촉진용 항생제 금지('06) 후, 가축 생산비 증가, 소비자 경제적 부담 증가(연간 1인당 US\$10→40), 치료용 항생제 사용 증가, 사료 효율 저하에 따른 분뇨 N,P 배출량 증가
- 13) 무항생제 축산물 인증 정책 추진('07) 후, 무항생제 축산물 인증 오리 농가 수는 197호(' 11. 1)로 급속히 증가하고 있으나 유효한 항생제 대체물질이 없어 어려움을 겪고 있음
- 14) 성장촉진용 항생제 전면 금지 시 가축 질병 발생 및 폐사로 인해 치료용 항생제 사용량

이 많아져 인수공통항생제 사용 비중이 증가할 수 있음

- 15) 대장균, 로소니아(Lawsonia), 클로스트리디움(Clostridium)에 의한 설사, 괴사성 장염 등의 질병 발생 증가로 인수 공용 항생제인 테트라사이클린, 트리메토프림/설피아미이드, 린코사마이드 등의 사용 증가에 따른 내성 피해 가중 가능성 제기
- 16) 항생제 오남용에 따른 내성 균주를 퇴치할 수 있는 새로운 작용기작을 가지는 천연항생제 개발이 시급한 실정임
- 17) 누에를 포함한 곤충은 불량환경에서 오랜 진화의 역사를 통해 자기방어를 위해 강력한 항균물질을 보유하고 있어, 화학항생제를 대체 할 수 있는 천연항생제로써 개발의 소재로써 매우 우수함
- 18) 국내 가금 산업 규모는 급속히 성장하고 있으며, 과거 소규모 부업 형태에서 대규모 전업 형태로의 전환이 빠르게 이루어지고 있음
- 19) 전업화·계열화로 인해 대규모, 집약적 사육을 하는 양계 및 오리 농가의 경우 항생제 전면 금지 시 타 축종에 비해 피해가 더 클 것으로 예상
- 20) 성장촉진용 항생제 사용 제한 및 무항생제 사육으로 인한 생산성 감소, 질병 발생률 및 폐사율 증가, 품질 이상 등 문제 발생 예상
- 21) 누에는 인·축 적용 천연항생제 등 바이오의약품 생산을 위한 살아있는 생체공장으로 매우 적합
- 22) 천연항생제의 저가 대량생산이 가능
- 23) 높은 경제성 보유(20원/마리), 짧은 세대(45일), 인공사료 및 인공부화법이 개발되어 있어 연중 집단 대량 사육이 가능
- 24) 누에는 인수 공통병원균이 없어, 누에 이용 천연항생제는 인간 및 가축에 안정성이 매우 높음
- 25) 누에는 식품의약품안전처로부터 기능성 식품의 원료로 인정받아, 인간 및 가축에 안정성이 매우 높음
- 26) 누에는 각종 유용 단백질을 다량 함유하고 있어 사료 첨가제로 사용 시 가축의 성장촉진 효과를 나타낼 것으로 판단됨

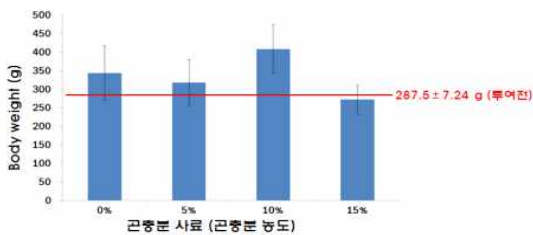
3. 경쟁기관 현황

- 가. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발기술을 보유하고 있는 경쟁기관은 없는 것으로 판단됨
- 나. 곤충 연구는 식품 가축 사료에 치중되어 있으며, 관련 연구는 국립농업과학원, 국립축산원 등 국가 기관을 중심으로 수행되고 있고 일부 대학(서울대, 세종대, 동국대, 전북대, 전남대, 순천향대등)에서도 관련 연구가 일부 수행되고 있는 실정임
- 다. 최근 농촌진흥청과 동아원(주)은 곤충을 이용한 양식 어류용 사료개발을 위한 공동 연구를 추진함
 - 1) 영양소 요구량에 맞춘 권장 급여율 작성 및 최적의 배합비 산출
 - 2) 과학적인 사양시험을 통해 갈색거저리에 의한 어분 50% 대체군과 100% 대체군에서 약 28% 이상으로 성장률이 확연히 증가함을 확인하였음

실험군	체중(g)			t-test (vs 0% 대체군)
	투여 전	투여 후	증감	
기존 사료(0%)	2.43±0.53	9.16±2.16	6.73	-
어분25%대체	2.43±0.53	9.90±3.22	7.47	p=0.19
어분50%대체	2.43±0.53	11.05±3.04	8.62	p<0.05
어분100%대체	2.43±0.53	10.36±1.65	7.93	p<0.05

<시험 결과에 대한 통계학적 유의성 검정결과 (95% 신뢰수준, t-test)>

- 기호성 역시 기존 어분 사용 사료보다 3배 이상 증가하여 곤충원료의 최적 배합비 산출 및 가공을 통해 우월한 기호성과 사료 효율을 확인하였고, 양식용 넙치 투여시험에서도 체중 증가 효과를 확인할 수 있었으며, 10% 곤충 분말 첨가 사료에서 대조군 대비 64.55%의 성장률 증가가 확인되었음



곤충분 농도	체중 (g)		증감(g)
	투여 전	투여 후	
0%	287.5±7.24	344.0±73.59	57
5%	287.5±7.24	318.22±61.3	31
10%	287.5±7.24	408.55±64.9	121
15%	287.5±7.24	272.0±39.04	-16

<군별 43일간 투여 후 넙치성장비교>

<곤충 분말 농도별 넙치 성장 비교>

- 3) 기업: 곤충 식품 및 식의약 소재는 한미양행, 삼락, 팜스밀 등에서, 관상어용 곤충 사료는 K-PET, NATURALHAN, 에스윅 등에서 시판 중에 있으며, 또한 동애등애를 이용한 가축 사료 및 애완동물 사료 개발이 CJ, CIEF, 그린테코 등에서 추진 중이고, 애완동물용 사료는 인섹트 비전, 케일, 네츄럴프로, 크리켄팜, 푸디웍 등에서 생산 및 시판 중에 있음

4. 지식재산권 현황

출원연도 (등록연도)	발명의 명칭	출원번호 (등록번호)	비고
2012	h S C F 재조합 단백질을 갖는 누에 형질전환체	10-2012-0065118	
2012 (2015)	융합 항균펩타이드 PAJE 및 이를 합성하는 방법	10-2012-0085187 (10-1465098)	
2012 (2014)	누에에 주사액을 주입하는 장치	10-2012-0123665 (10-1471558)	
2012 (2015)	멜리틴 항생 펩타이드를 함유한 누에고치를 생산하는 형질전환 누에	10-2012-0123980 (10-1480153)	
2013 (2015)	항균펩타이드를 함유하는 형질전환 누에	10-2013-0072200 (10-1570783)	
2013 (2014)	누에 면역반응 유도용 조성물 및 이에 의해 면적이 유도되어 항균 활성이 부가된 누에	10-2013-0072203 (10-1533602)	
2013 (2014)	누에에 주사액을 주입하는 장치	10-2013-0119745 (10-1532251)	
2014	재조합 항균펩타이드를 생산하는 형질전환 누에	10-2014-0003852	
2014	누에 자동 주사장치	10-2014-0145042	
2015	항균펩타이드가 강화된 누에를 포함하는 면역 증진용 사료 첨가제 및 이의 제조방법	10-2015-0093749	

출원연도 (등록연도)	발명의 명칭	출원번호 (등록번호)	비고
2015	멜리틴 항생 펩타이드를 생산하는 형질전환 누에 <유사기술 특허등록 현황>	10-2015-0129052	

5. 표준화 현황

- 가. 곤충을 식용으로 이용할 경우 “곤충산업의 육성 및 지원에 관한 법률 [법률 제12050호, 2013.8.13.]에 정한 기준에 적합하여야 하나, 사료용 등으로 생산 시에는 별도의 법적 제한이 없는 실정임
- 나. 가축 사료 관련 허가 사항: 사료 공정서 (농림축산식품부 고시 제2014 - 45호)에 준함
 - 1) 단미사료(동물성) : 거저리 유충(밀웜, 슈퍼밀웜), 건조 귀뚜라미, 건조 메뚜기, 동애등에 유충, 번데기(번데기박을 포함한다), 장구벌레, 파리 유충, 혼합유충
 - 2) 보조 사료(동물추출물) : 누에추출물, 키토산, 키틴

제 6 절 국외 기술 수준 및 시장현황

1. 기술현황

- 가. 핵자기공명 분광법(NMR)과 CD 분광법을 이용한 항균펩타이드의 구조와 기능에 관한 연구를 바탕으로 천연형 펩타이드보다 세포독성이 낮고 항균 활성이 강한 새로운 합성 항균펩타이드 개발에 관한 연구가 빠르게 진행되고 있음
- 나. 봉독에서 분리된 melittin의 세포독성을 제거하기 위해 cecropin A-melittin 하이브리드 항균 펩타이드(CEME) 개발하여 동물 임상시험에서 그 안정성이 입증됨
- 다. 중국의 경우 누에 이용 동물의약품을 생산하여 사료 첨가제로 활용하기 위한 연구가 진행 중이나 바이러스를 매개체로 하기 때문에 생산비용과 안전성에 대한 문제가 있음
- 라. 해충류 등 다양한 곤충을 이용한 사료 첨가제 개발이 시도되고 있음
- 마. 2000년도 일본에서 세계 최초로 누에 형질전환이 성공한 이후에 형질전환 누에를 이용한 다양한 인·축 바이오의약품 생산 및 강철 거미실크 등의 개발 추진
- 바. 2013년 일본(농업생물과학연구소)은 빨간색, 오렌지색 및 녹색 형광실크를 만드는 GM누에를 개발함
- 사. 2013년 7월 일본(농업생물자원연구소)은 녹색실크 GM누에(HC-EGFP)의 제1 종사용에 관한 승인신청서를 일본 농림수산장관과 환경 장관에게 제출함으로써, 환경방출 시험을 진행 중임
- 아. 2014년 일본 국립농업과학연구소와 신슈대학은 거미 dragline 실크 단백질과 날줄과 누에 실크 피브로인 헤비체인 단백질이 융합된 하이브리드 실크를 생산하는 GM누에 개발함
- 자. 2012년 미국(와이오밍대학, 노트르담대학)과 중국(저장대학)은 14회 반복하여 합성한 거미실크 dragline 유전자와 누에 실크 피브로인 유전자를 융합한 후 piggyBac 전이벡터 시스템에 도입하여 누에 알에 주입함으로써 누에/거미 하이브리드 실크를 생산하는 GM누에를 개발함

2. 시장현황

가. 세계 곤충산업의 시장 규모는 2007년 11조 원에서 2020년 38조 원으로 증가할 전망이며, 세계 각국은 곤충산업을 국가전략산업으로 지정하고 정책적으로 육성하고 있음

세계 곤충 시장 규모

구분	시장 규모(억원)	
	2007	2020
천적 곤충	9900	15조7300
화분 매개 곤충	1조2100	3조3000
애완 곤충	4조4000	4조4000
축제 행사용 곤충	4조5100	4조5100
기타	-	9조9000
합 계	11조1000	37조8400

자료: 함평 세계나비엑스포

- 나. 세계 곤충산업의 용도별 시장은 화분 매개, 학습 애완용, 천적, 축제 행사용 곤충산업이 주를 이루고 있으며, 최근에는 곤충이 식용, 가축 사료, 의약 소재 산업으로 급성하고 있는 실정임
- 다. 미국은 연간 약 1500억 원 규모의 천적 곤충 시장이 존재하며, 네덜란드는 육류대체품으로 친환경 곤충 이용 추진 및 상품화를 위한 연구개발에 박차를 가하고 있는 실정임
- 라. 유럽연합 (EU)은 곤충의 식용화 등에 대한 정서적 반감을 해석하기 위해 곤충 식용화를 위한 홍보 프로젝트에 265만 파운드 투입
- 마. 네덜란드는 천적을 이용한 친환경농산업을 통해 농물의 시장경쟁력을 높였으며, 천적 곤충을 상품화하여 세계 20여개 나라에 수출하고 있음
- 바. 중국의 곤충 시장은 약 10조 원의 시장 규모로 추정되며, 주로 애완용 곤충 시장과 식의 약 용 곤충 시장 중심으로 성장 되었으며, 약용으로 대량 사육하고 있는 곤충이 10종에 이르며, 미국 USDA 승인을 받은 사료용 갈색거저리의 경우는 미국으로 수출되고 있음
- 사. 미국 등 선진국의 경우는 곤충의 생리활성물질을 의약용으로 개발하거나 자원 확보, 가축사료 소재 개발 등에 주력하고 있음
- 아. 일본은 곤충산업 육성을 위해 2002년 이후 4년간 20억엔 이상을 투입하였으며, 곤충의 식·약 용 소재화를 위한 유전자 해독 프로젝트를 독자적으로 추진
- 자. 코스타리카는 대형 나비농장과 중소농가의 소형 나비사육시설을 체인식으로 연결하여 나비산업을 세계적 생태계 관광산업으로 발전시킴
- 차. 중국 사료 산업은 2005년 기준으로 안정적 발전을 유지하며 호황기를 누리고 있다. 2005년 사료 산업 총생산량은 전년 대비 6.8%가 증가한 9300만 톤을 초과하고, 총생산액은 2300억 위안에 달한다. 사료 산업 중 배합 사료는 6822만 톤으로 전년 대비 6.1%, 농축 사료는 2080만 톤으로 전년 대비 6.2% 증가하였다. 첨가제 혼합사료는 364만 톤으로 전년 대비 11.8%의 증가율로 가장 높았다. 국가 사료 산업 발전계획에 의하면, 2010년 중국의 사료 생산능력은 1억4천만 톤으로 예상되며 이중 배합 사료는 1억 톤, 농축 사료는 3천만 톤, 첨가제 혼합사료는 천만 톤에 달할 전망

〈2015년 중국 사료 제품의 예상 수요량〉

동물품종	동물 생산량	사료 예상보급률	사료 예상 수요량
돼지고기	5,587	45	7,542
쇠고기 및 양고기	1,352	30	811
닭고기	1,983	70	2,776
계란	2,926	50	3,218
우유	3,322	40	398
수산 양식	3,500	45	2,835
기타	-	-	200
합계	18,670	-	17,780

* 자료원: 농업부 사료공업발전계획

3. 경쟁기관 현황

- 가. 아주 값비싼 육분(양계업 원료 사료의 20%)을 바퀴벌레(*Blatta orientalis*) 및 흰개미(*Kaloterms flavicollis*) 분말로 대체 가능성 연구(콩고, Munnyuli Bin Mushambanyi 및 Balezi, 2002)
- 나. 영양분이 적은 폐기물에서 거저리(*Tenebrio molitor*)를 키워 육계에게 먹이는 실험 실시
→ 거저리는 영양분이 적은 폐기물을 고단백 먹이로 변환 → 거저리는 특히 가금류 사료의 대두분을 대체하는 유망한 대체 단백질원으로 부상(Ramos Elorduy 등, 2002)
- 다. 곤충 외골격에 있는 다당류인 키틴질은 면역 기능에 긍정적인 영향을 줄 수 있으므로 닭에게 곤충을 먹이면 양계업에서 항생제 사용으로 인한 인간의 약물내성 균주 감염을 줄일 수 있음을 연구(네덜란드)
- 라. Neptune Industries사는 미시시피 대학과 공동으로 곤충을 사료의 단백질 원료로 사용하기 위한 연구를 수행하여 곤충에서 추출한 단백질을 “Ento-Protein™” 이라 명명하고 상업적으로 생산 중임(USDA, 2013)
- 마. 식물성 단백질 발효를 통한 어분 대체 사료 연구(영국 리버풀대학교, 2012)
- 바. 일본 송어축진협회는 박쥐이 함유된 양조장 건조곡물(DDGS)의 양식사료 활용실험에서 사료의 비용 절감과 아울러 양식어류의 증체율이 동일하거나 향상되었음을 확인(DDGS 세미나, 2010)
- 사. 무지개송어를 위한 곤충 기반 어류 사료(아이다호주립대학교, 2009)
- 아. 중국은 1950년대 사육을 도입했고, 이후 지속적으로 사회에 확산되어, 각종 특별한 종류의 경제적 동물사육에 응용된 살아있는 생체사료로 장기간의 사육, 갈색거저리에 대한 고급 가공기술을 연구하여 이미 갈색거저리 오일, 사료(가축, 물고기, 새우용), 신선도유지제, 생체비료 등의 상품을 개발하고 있음
- 자. 중국 기업인 HaoCheng Mealworm Inc.는 거저리, 슈퍼 거저리 및 구더기의 사육 및 판매를 전문적으로 하는 기업임
- 차. 매년 호주, 유럽, 북미, 동남아시아에 건조, 통조림 및 분말 형태로 가공하여, 식품 뿐 아니라 애완동물의 사료 첨가제로 판매되고 있음



<애완동물 사료(첨가제)로 판매 중인 제품, 중국>

카. 네덜란드에서는 갈색거저리(*Tenebrio molitor*), 외미거저리(*Alphitobius diaperinus*), 슈퍼 거저리(*Zophobas morio*) 등과 같은 거저리과에 속하는 거저리종의 유충이 파충류, 및 조류 애완동물의 먹이로 사육됨



<슈퍼밀웜 대량 사육 시스템, 네덜란드>

타. 곤충이 가지고 있는 다양한 신소재의 사료화 가능성은 많은 연구를 통해 확인되고 있으나, 현장적용 기술은 세계적으로도 아직 그 수준은 높지 않음

파. 캐나다의 엔테라(Enterra)사는 곤충을 원료로 한 연어, 송어 등의 양어용 사료에 대해 캐나다 식품검사청(Canadian Food Inspection Agency)의 승인을 획득함

4. 지식재산권 현황

곤충자원의 산업화 관련 특허건수는 한국, 일본, 미국이 비슷하지만, 우리의 기술 수준은 일본의 80% 수준이며, 국가별 특허 점유율은 일본 379건(33%), 미국 359건(32%), 한국 314건(28%), 유럽 85건(7%) 등의 순이고, 곤충산업 기술 수준을 퍼센트로(%) 보았을 때 일본은 100%, 미국은 87%, 한국 80%, 중국은 68%로 보고 있음(출처: 곤충산업 현황과 전망(2013).

(한국농촌경제연구원)

<기술트리, 기술범위 및 유효특허 건수>

대분류	중분류	소분류	유효특허 건수					계	
			중국 (SIPO)	한국 (KIPO)	일본 (JPO)	미국 (USPTO)	유럽 (EPO)		
곤충을 이용한 사료 원료 개발 [A]	메뚜기 목 [AA]	사육 기술 [AAA]	4	3	1	-	-	8	
		사료개발 기술 [AAB]	5	3	1	-	-	9	
		유지가공 및 추출기술 [AAC]	-	-	-	-	-	-	
		곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [AAD]	-	-	-	-	-	-	
	딱정벌레목 [AB]	사육 기술 [ABA]	24	7	3	-	-	34	
		사료개발 기술 [ABB]	140	3	-	-	-	143	
		유지가공 및 추출기술 [ABC]	6	1	-	-	-	7	
		곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [ABD]	1	5	2	4	1	13	
		나비목 [AC]	사육 기술 [ACA]	22	5	2	1	1	31
			사료개발 기술 [ACB]	29	2	3	0	0	34
유지가공 및 추출기술 [ACC]	1		-	-	-	-	1		

	곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [ACD]	3	5	1	-	1	10
바퀴목 [AD]	사육 기술 [ADA]	5	-	-	-	-	5
	사료개발 기술 [ADB]	2	-	-	-	-	2
	유지가공 및 추출기술 [ADC]	-	-	-	-	-	-
	곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [ADD]	1	-	-	-	-	1
파리목 [AE]	사육 기술 [AEA]	47	30	2	8	2	89
	사료개발 기술 [AEB]	25	11	5	4	0	45
	유지가공 및 추출기술 [AEC]	8	-	1	1	1	11
	곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [AED]	3	5	-	-	-	8
기타 [AF]	사료개발 기술 [AFA]	25	1	-	1	-	27
	유지가공 및 추출기술 [AFB]	2	-	-	-	-	2
	곤충 유래 기능성 물질 이용기술 [AFC]	-	1	-	-	-	1
총계		353	82	21	19	6	481

5. 표준화 현황

- 가. 미국은 식물상과 동물상 관련법(곤충 관리) 등의 법률을 통해 곤충산업을 지원하고 있으며, 캘리포니아 중심으로 천적 곤충 100여 종 생산하고 있음
- 나. 네덜란드는 세계적인 곤충산업국으로 고품질 단백질 공급원으로서 곤충의 가치를 연구하며 사육과 관련된 표준 기술도 개발 중임
- 다. 유럽연방 식품안전처(FASFC)와 영국의 Food Standards Agency(FSA)는 일부 식용 곤충의 사료로 쓰이는 식물이 오염된 토지 및 환경에서 흡수한 중금속 또는 비소 등의 유해물질을 곤충이 2차적으로 흡수하여 최종 사용자인 인간이 섭취하게 될 수 있는 여지가 있기에 추가적인 연구가 진행중임(Kai Kupferschmidt, 2015)

제 2 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 연차별 연구개발의 목표 및 수행내용

1. 1차년도 연구개발 목표 및 수행내용

세부 과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
주관: 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발	○ 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 설계 및 개발	○ 주사전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 선행 조건 실험 ○ 면역 주사 전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 주사라인 홈 간격 및 깊이 조건 구명 ○ 면역 주사를 위한 격자분리부 또는 적재부 캠운동을 통한 적재부 주사라인 홈의 누에 삽입을 위한 조건 실험 ○ 자동 면역 유도 장치 시스템 설계
	○ 간이유도장치 1차 초기 모델 개발 제작 및 보완	○ 간이 유도 장치 특징 및 도면 ○ 간이 유도 장치 요약
	○ 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 구명	○ 비활성화(groogy) 마취조건 실험
위탁1: 누에 생체 내 천연항생제 대량 생산을 위한 최적 면역유도 조건개발	○ 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발	○ 누에의 선천성 면역기전을 인위적으로 유도하기 위한 최적 균주 선발
	○ 선발 면역유도제의 최적 처리조건 구명	○ 선발 면역 유도제 이용 누에 생체 내 항균펩타이드 대량발현을 위한 주사 농도 및 처리 시간 구명
	○ 면역 유도제 주입 후 누에 생체 내 전사체 발현 분석에 의한 천연항생제 최대 발현 시기 구명	○ 기존 밝혀진 누에 유래 항균펩타이드 유전자 중 cecropin A에 대한 전사체 발현 분석을 real-time PCR에 의해 분석
	○ 면역이 유도된 누에의 특성 분석	○ 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석 ○ 누에 유래 천연항생제의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석 ○ 누에 유래 천연항생제의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석 ○ 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관 과제에 제공

2. 2차년도 연구개발 목표 및 수행내용

세부 과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
주관: 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량 생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발	○ 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작(1차년도 문제점 보완 및 추가)	○ 비활성화와 공정 제거 및 주사라인 삽입 방법 개선 ○ 1차년 개발 장치와 2차년 개선 장치의 개선점 비교
	○ 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화	○ 누에 자동조사 시스템 2차년도 개선
	○ 규모별 생산체제 모델 제시, 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등	○ 누에 면역유도 분말 상품화 및 모델 제시함 ○ 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등 ○ 면역유도 누에 사료 첨가제로서의 경제성 분석 ○ 시판되고 있는 사료 첨가제(양계제품)
위탁1: 누에 생체 내 천연항생제 대량 생산을 위한 최적 면역유도 조건 개발 대량생산된 면역유도 누에의 특성 분석	○ 대량 생산된 면역유도 누에의 특성 분석	○ 주관과제에서 생산된 면역유도 누에의 체액 이용 항균 및 항진균 활성 분석
		○ 주관과제에서 생산된 면역유도 누에의 건조분말로부터 천연항생제 추출기술 개발
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 최소 저해 활성 농도 설정
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 단백질가수분해 효소에 대한 저항성 분석
		○ 면역유도 누에추출물이 가축 사료화를 위한 세포독성을 확인

제 2 절 연구개발 수행내용 및 결과

1. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발(그린테크(주): <1차년도>

가. 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 설계 및 개발 주사침을 동시 이용

누에들에 유도액을 동시에 주입할 수 있는 누에 대량생산 자동 주사장치 도면이 있음. 누에를 물이나 얼음 등 수조에 넣어 기절시킨 후 적재부에 투입하고 있는데, 이 경우 비활성화와 회복에 걸리는 시간이 오래 걸릴 뿐만 아니라 수분이 누에에 잔류하고 있어(건조시키지 않고) 주사바늘로 찌른 후 유도액에 침지시키는 경우 유도액 침투 효율이 떨어지고 누에를 낙하시켜 적재부 상에 위치시키는데, 낙하된 누에들이 뭉쳐 2층이나 3층 이상의 다층으로 적재되어 있는 경우, 맨 위의 누에에 주사바늘이 관통하거나 찢리는 개수가 많아지면 누에가 죽을 확률이 높고, 누에마다 니들에 찢리는 개수가 다른 경우 유도액 주입이 누에마다 균일하지 않는 문제가 있음, 이러한 문제를 해결하기 위해, 등록 특허의 장치는 낙하되어 뭉쳐진 누에를 작업자가 일일이 펴는 수작업이 요구되었음

1) 주사 전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 선행 조건 실험



조건 1: 물(10℃)침지(30분) 비활성화(groogy) 주사라인 홈 안착

조건 2: 활성화 누에 주사라인 홈 안착



사례 1: 얇은 판을 이용한 적재부 주사라인 홈 내 삽입

조건1은 누에가 힘 없이 늘어지며, 외피에 물이 묻어 표면장력이 증가하여 주사라인 홈 안착이 힘들, 조건2는 누에들이 다리로 서로를 붙잡아 주사라인 홈 안착이 10% 이상 힘들



사례 2: 메쉬망의 진동을 이용하여 주사라인 홈 내 삽입

조건1은 누에들이 물의 표면장력 때문에 서로 뒹어져 주사라인 홈 입구가 막히며 느려져 서로 잘 분리되지 않음, 조건2의 경우 누에들이 튕겨 나가나 일부 통과가 되며, 30% 전후로 주사라인 홈에 안착되지만 진동에 의해 누에 몸에 상처가 발생함

특징 요약 및 문제점 보완사항

조건1(비활성화)	조건2(활성화)
<p>물의 표면장력으로 인해 누에들이 서로 엉키고 뭉쳐 주사라인 홈 내 안착이 힘들 → 침지가 아닌 다른 방법의 비활성화 방법이 필요</p>	<p>비활성화 조건보다는 적재부 주사라인 홈 안착률이 높으나 안착률은 높이고 상처율을 낮추기 위해 서로 붙잡고 몸을 세우는 누에의 특성을 이용하는 다른 방법이 필요함 → 누에 안착 요동부의 부드러운 고무 격자 상하운동</p>

결론

활성화 누에를 부드러운 소재의 적재부 및 요동부를 이용하여 물리적인 방법으로 주사라인 홈에 안착시키고, 비활성화시켜 고정 후 주사하는 장치로 설계함

2) 면역 주사 전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 주사라인 홈 간격 및 깊이 조건 구명

가) 실험 조건

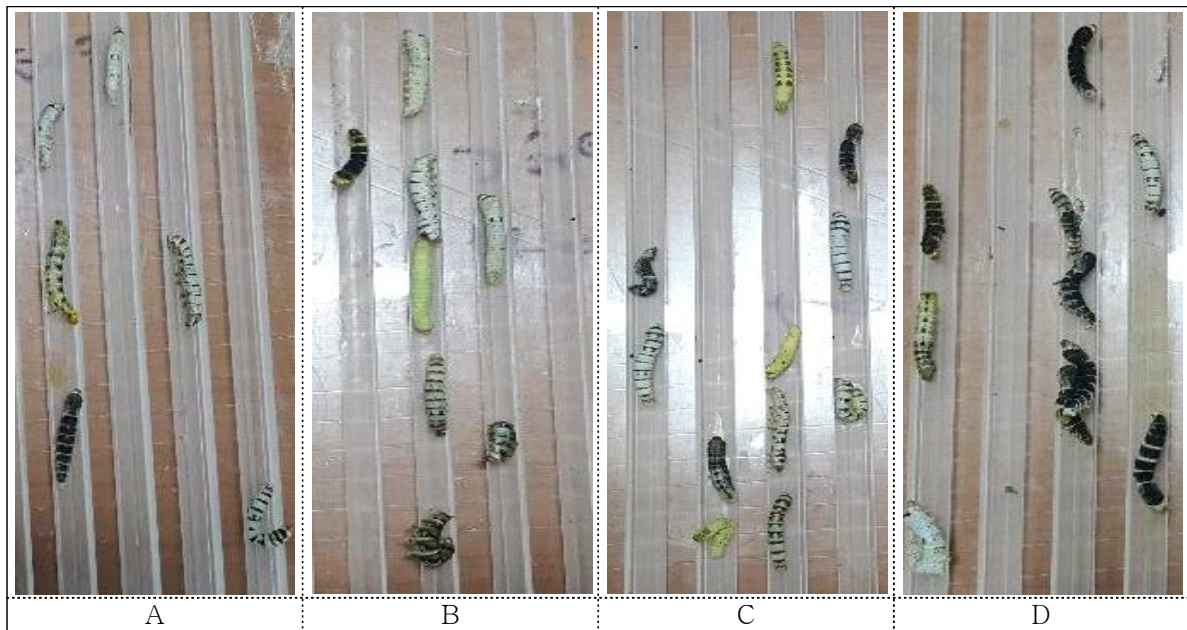
조건 \ 홈 (mm)	깊이	폭
A	8	13
B	8	10
C	10	13
D	6	13

※ 홈 간격은 10mm 동일

나) 재료 및 방법

- ① 실험 누에 종류 및 연령: 무늬 누에 5령 3일자
- ② 실험 방법: 조건별 적재부 주사라인 홈을 4개 씩 제작, 누에를 올려놓고 가로 캡을 동을 4~7초시키고 브러쉬로 퍼뜨림, 주사라인 홈 탈락 누에는 얇은 판으로 분리 후 누에 삽입상태를 주사라인 홈 내 삽입률, 이중삽입률, 상처율로 10회 모니터링함

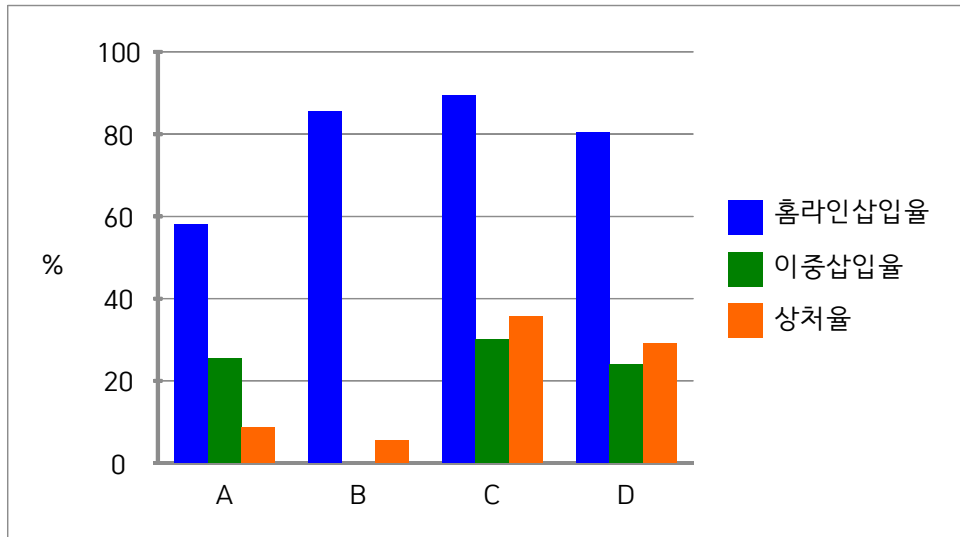
다) 실험 과정



라) 실험 결과

① 조건 별 누에 삽입상태

조건	삽입상태(%)	주사라인 홈 삽입률 (이중삽입률 포함)	이중삽입률	상처율
A		58.12±18.6	25.33±5.26	8.58±2.49
B		85.59±10.98	0	5.36±1.77
C		89.37±9.1	30.13±4.1	35.65±10.43
D		80.4±13.22	23.84±6.9	28.99±7.4



마) 결론

- ① 흡의 깊이가 얕으면 상처율, 깊으면 이중 삽입률, 상처율이 올라감
- ② 흡의 폭이 넓으면 이중삽입률이 올라감
- ③ 흡 깊이가 깊고 폭이 넓은 C조건이 삽입률은 가장 높지만, 이중 삽입률을 고려할 때 B 조건이 이중 삽입이 없고 상처율이 적은 가장 좋은 조건임

3) 면역 주사를 위한 격자분리부와 적재부 캡운동을 통한 적재부 주사라인 흡의 누에 삽입을 위한 조건 실험

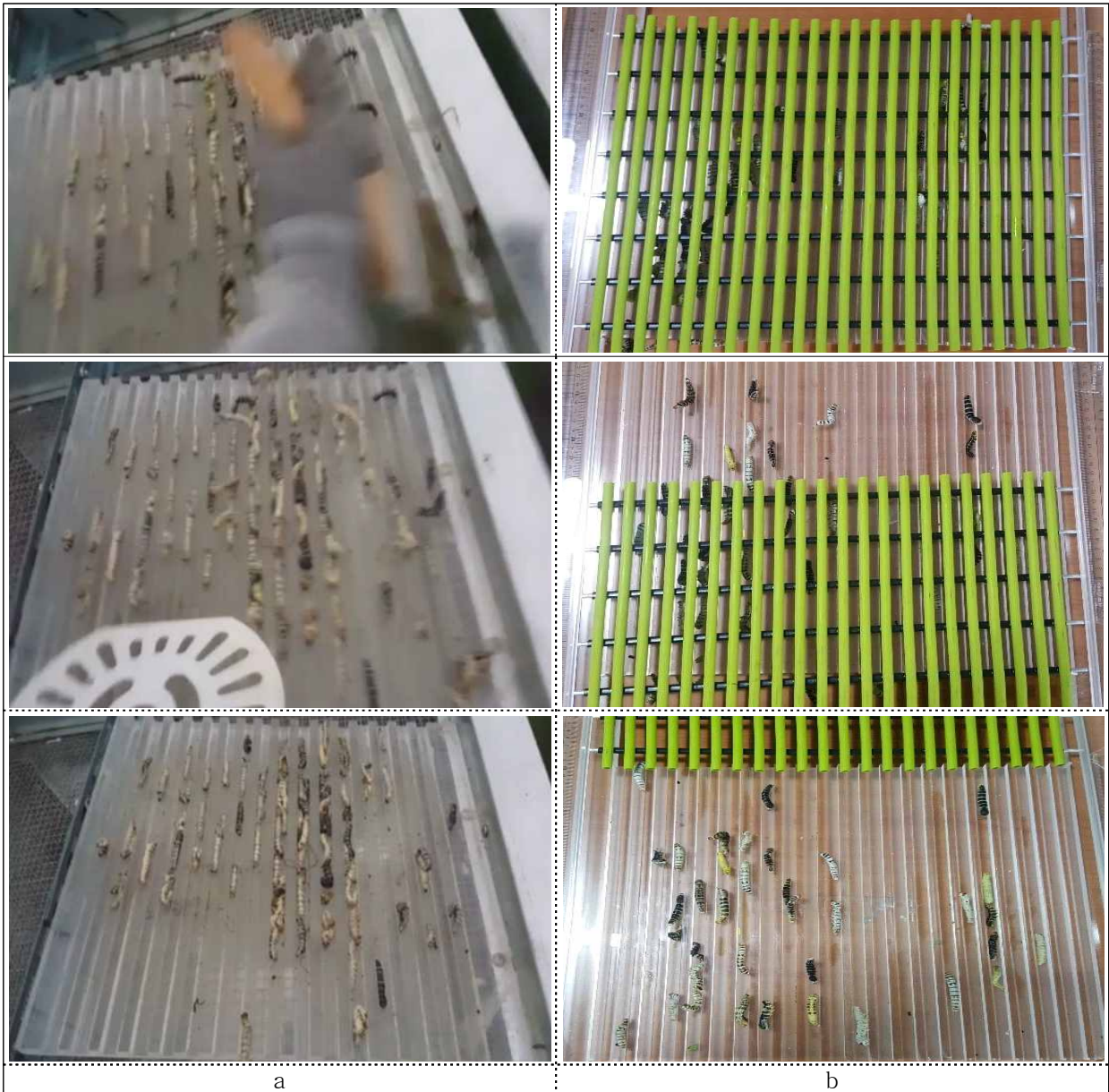
가) 실험 조건

운동 방식	적재부 가로 캡운동 방식	격자 분리부 세로 캡운동 방식
조건	a	b

나) 재료 및 방법

- ① 실험 누에 종류 및 연령: 무늬 누에 5령 3일자
- ② 실험에서 가장 적절한 적재부 주사라인 흡 B조건(흡 깊이 8mm 길이 10mm), 간격 10mm 적재부 제작
- ③ a조건은 적재부를 가로 방향으로 4~7초 캡운동 시키고 브러쉬로 퍼뜨림, 주사라인 흡 탈락 누에는 얇은 판으로 밀어서 분리
- ④ b조건은 적재부위에 격자(봉지름 7mm)를 밀봉은 가로, 윗봉은 세로로 간격(밀봉 38mm, 윗봉 7mm)을 두고 고정 시켜 세로 방향으로 4~7초 캡운동 시킴
- ⑤ 두 조건의 누에 삽입상태를 삽입률, 상처율로 10회 모니터링함

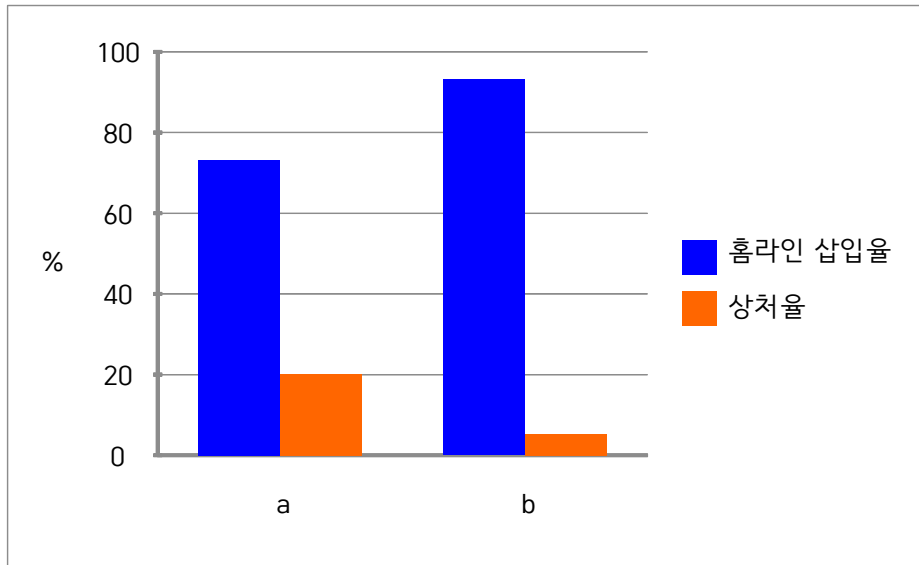
다) 실험 과정



라) 실험 결과

① 조건 별 누에 삼입상태

조건	삼입상태(%)	주사라인 홈 삼입률 (이중삼입률 포함)	상처율
a		73.2±5.39	20.13±8.36
b		93.1±4.4	5.3±3.97



마) 결론

- ① b조건이 a조건에 비해 주사라인 홈 내 삽입율과 높고 상처율은 낮음
- ② b조건은 격자의 윗 봉이 주사라인 홈을 잡아 주고, 밑 봉은 누에의 주사라인 홈 이 탈을 방지해주어 부드럽게 움직이며 상처율 또한 낮음

4) 자동 면역 유도 장치 시스템 설계(도 1)

가) 주사 전 적재부(10)를 가로 방향 또는 분리격자(70)를 세로 방향으로 흔들어 투입된 누에들을 단층으로 펴는 요동부(60)

- ① 누에는 점착성의 배다리가 있어 적재부 표면이나 인접 개체에 쉽게 부착되어 잘 떨어지지 않는 경향이 있음
- ② 도 2를 참고, 요동부(60)는 구동모터(미도시), 회전판(61), 제 1 커넥트(62), 제 2 커넥트(63) 및 받침판(64)을 설계함
- ③ 요동부(60)는 구동모터(미도시), 회전판(61), 커넥트(62), 연결부(63), 받침판(64) 및 수거통(미도시)을 설치함, 구동모터(미도시)와 연결된 회전판(61)과 커넥터(62)를 통해 적재부를 직선 왕복 운동시킴
- ④ 요동부 (60)는 적재부 상에 설치하고, 누에가 통과 가능한 복수의 슬릿(71)을 구비하는 분리격자(70)와 격자 요동부를 주사라인 홈(11)의 길이 방향을 따라 요동시키는 요동부(60)를 포함하여 누에를 주사라인 홈에 안착시킴
- ⑤ 분리격자는 누에가 통과할 수 있는 크기의 슬릿을 가지는 구조임 슬릿의 크기는 35~40mm(a)× 5~10mm(b)로 설계됨, 슬릿의 a 부분이 주사라인 홈(11)을 따라 왕복 운동할 수 있음, 복수의 막대(봉, 72)를 가로 세로로 고정시켜 설계됨, 막대의 직경은 5~10mm임
- ⑥ 도2 와 같이 적재부(10)는 바닥이 판상으로 형성되고, 판상에는 소정 간격으로 주사라인 홈(11)과 돌출벽(12)이 형성된 주사라인 홈은 실험 결과 폭은 8mm, 깊이는 10mm가 가장 적합함

- ⑦ 적재부 상면(주사라인 홈과 홈 사이의 상면)에는 윤활피막(12)이 코팅될 수 있음, 윤활 피막은 누에의 점착성 부착 능력을 떨어뜨려 좀 더 쉽게 누에를 적재부 상에 흔트려 펼 수 있음, 윤활피막은 공지된 윤활제를 사용할 수 있음, 윤활제로는 실리콘 왁스, 폴리올레핀 왁스, 테프론 코팅제, 몰리브덴 코팅제 등이 있음

(나) 적재부를 이동시키는 이송부(20)

- ① 사시도를 참고, 이송부(20)는 컨베이어벨트(21), 벨트 상에 위치하는 받침부(22) 및 구동부(도면 미표시)를 설계함
- ② 받침부(22)는 컨베이어 벨트에 탈부착 될 수 있으며, 내부에 적재부가 삽입되어 고정될 수 있음
- ③ 적재부는 받침부에 탑재되어 냉동터널을 관통하여 주사부 하단으로 이송될 수 있음

(다) 면역 유도를 위한 적재부를 냉동 터널(30), 냉동고로 이동시켜 비활성화(groogy) 시키는 마취부

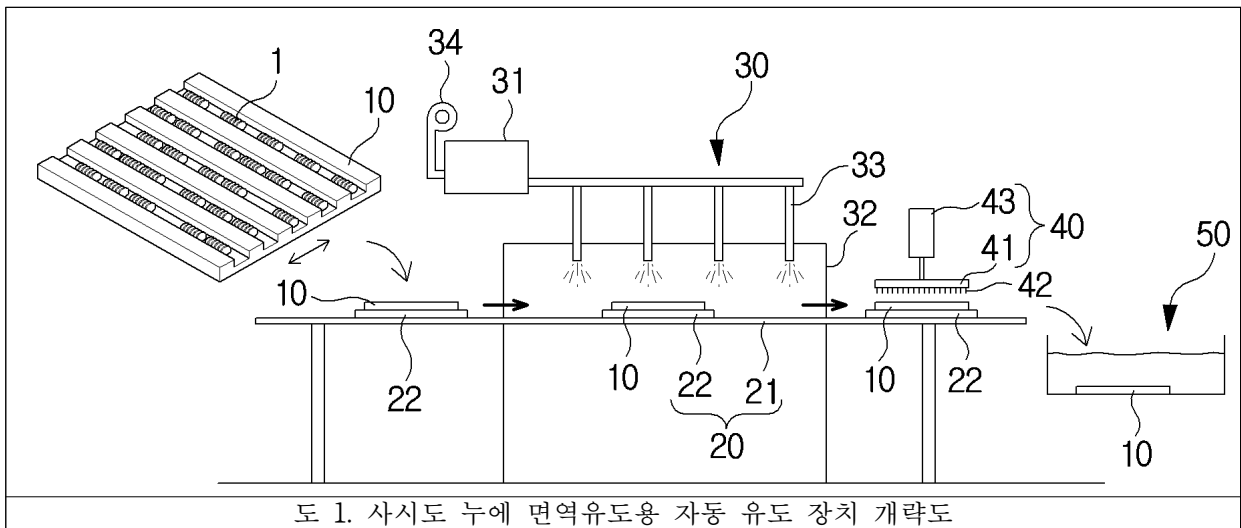
- ① $-10^{\circ}\text{C} \sim -60^{\circ}\text{C}$ 범위의 냉풍 또는 냉동을 적재부에 3분~5분 동안 공급하여 누에를 급속 비활성화(groogy)시킴
- ② 사시도를 참고, 냉동 터널(30)은 냉풍을 만드는 냉동기(31), 적재부가 통과하는 터널부(32), 및 터널부 내부로 냉풍을 공급하는 배관(33)을 설계함
- ③ 냉동기(31)는 블로우(34)로 상온의 공기를 유입시켜 냉풍으로 전환시켜 터널부에 공급할 수 있음
- ④ 냉동 터널에는 $-10^{\circ}\text{C} \sim -60^{\circ}\text{C}$ 범위의 냉풍 또는 냉동이 적재부에 공급되어 누에를 빠르게 비활성화(groogy)할 수 있으며, 수분 없이 비활성화를 진행하므로 별도의 건조공정이 필요하지 않음
- ⑤ 누에를 5분 이내에 비활성화하고, 비활성화되어 움직임이 없는 시간을 20초 ~3분 정도 유지할 수 있음, 누에가 비활성화된 상태에서 니들 주사단계가 진행되는 것이 면역유도에 유리함

(라) 면역유도를 위한 복수의 니들을 설치하여 적재부상의 누에에 상처나 틈을 형성하는 주사부(40)

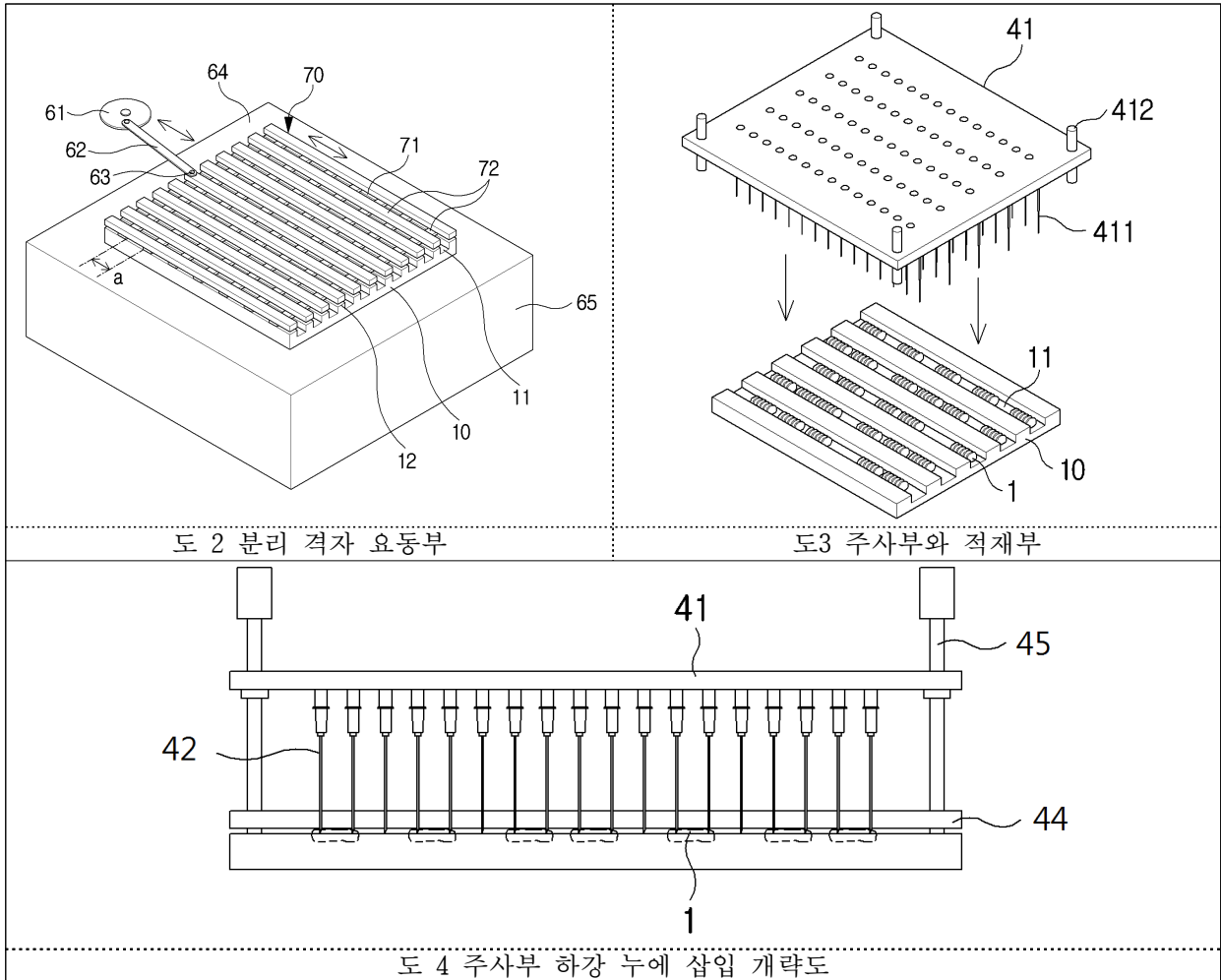
- ① 선행 연구(누에 복강 내 면역유도제 주사에 의한 생체 내 항균펩타이드 유도 조건 구명 '12,16')는 결과 누에 최대 면역유도 조건에 따라 누에를 적재부 주사라인 홈에 일렬로 안착, 비활성화(groogy) 시킨 후 0.8mm 굵기의 주사바늘로 15mm 간격으로 설계
- ② 사시도와 도 3을 참고, 주사부(40)는 니들의 끝 부분이 고정된 판상의 고정판(41), 고정판에 니들 팁(tip)이 하방으로 형성된 복수개의 니들(42) 및 고정판(41)을 상하 운동시키는 구동부(43)를 설계함
- ③ 누름판(44)과 누름 탄성부(45)를 설계하고 누름판(44)은 고정판(41) 하부에 15mm 간격으로 이격되어 위치하고 니들이 관통 가능한 홀(441)을 복수개 설계함
- ④ 누름 탄성부(45)는 고정판(41)에 일측이 고정되고, 누름판(44)을 관통하여 결합됨, 내부에 탄성수단을 설치함
- ⑤ 구동부(43)에 의해 고정판과 누름판이 하강함에 따라, 누름탄성부의 하단이 먼저 적재부 상에 위치함, 구동이 지속되면, 고정판(41)과 니들(42)은 계속 하강하고 누름 탄

성부는 압축됨

- ⑥ 니들이 홀(441)을 관통하여 유층을 소정 깊이로 찌르면, 구동부(43)는 고정판을 상승 시킴
 - ⑦ 고정판(41)과 니들(42)이 먼저 상승하고, 이때 누름판이 여전히 누에를 누르고 있으므로 니들은 누에와 분리되어 상승됨, 누름판이 상승하여 본래 위치로 복귀함
 - ⑧ 고정판이 적재부로 하강하는 경우, 니들(42)이 적재부의 주사라인 홈(11)에 위치하도록 니들이 고정판(41)에 배열됨
 - ⑨ 니들은 적재부의 주사라인 홈에 대응되도록 고정판에 15mm 간격으로 배열됨
- (마) 적재부를 면역유도액에 침지시키는 면역유도부(50)
- ① 면역 유도액은 생체에 독성이 없으면서 면역 능력을 조절하는 효과를 가지는 물질이 됨 [AHCC(Active Hexose Correlated Compound), Polysaccharides, Polysaccharide peptides, Nucleosides, Triterpenoids 등]
 - ② 면역유도액 침지 시간은 10~40분임
 - ③ 사시도를 참고, 면역 유도부(50)는 면역유도액이 소정량 담지된 저장 탱크임
 - ④ 면역유도부에 누에가 침지되면, 니들에 의해 형성된 상처나 틈을 통해 면역유도액이 누에에 주입
- (바) 설계도면



도 1. 사시도 누에 면역유도용 자동 유도 장치 개략도



나. 간이유도장치 1차 초기모델 개발 제작 및 보완

1) 특징(위 도면 참고) 및 2, 3D 도면

가) 적재부(10)상에 누에들을 단층으로 펴

- ① 복수의 주사라인 홈(11) 간격 10mm, 깊이 8mm, 폭 10mm을 설치하고, 분리 격자 요동시켜 누에를 주사라인 홈에 위치시킴
- ② 누에가 통과 가능한 복수의 슬릿(71)을 설치 격자 분리부(70)를 위치시키고, 누에를 격자분리부에 떨어트린 후 격자분리부를 주사라인 홈(11)의 길이 방향을 따라 요동시키는 누에를 적재부 주사라인 홈에 위치시킴
- ③ 적재부를 이동시키는 이송부(20)
- ④ 냉동 터널(30)이나 냉동고로 이동시켜 누에를 비활성화(groovy)시킴
- ⑤ 누에를 -1℃~80℃ 온도에서 2분~7분 동안 급속 냉각시킴
- ⑥ 냉동터널(30)은 냉풍을 만드는 냉동기(31), 적재부가 통과하는 터널부(32), 및 터널부 내부로 냉풍을 공급하는 배관(33)을 설치함
- ⑦ 복수의 니들을 설치하여 주사부(40)를 하강시켜 적재부상의 누에 몸에 상처나 틈을 형성시킴

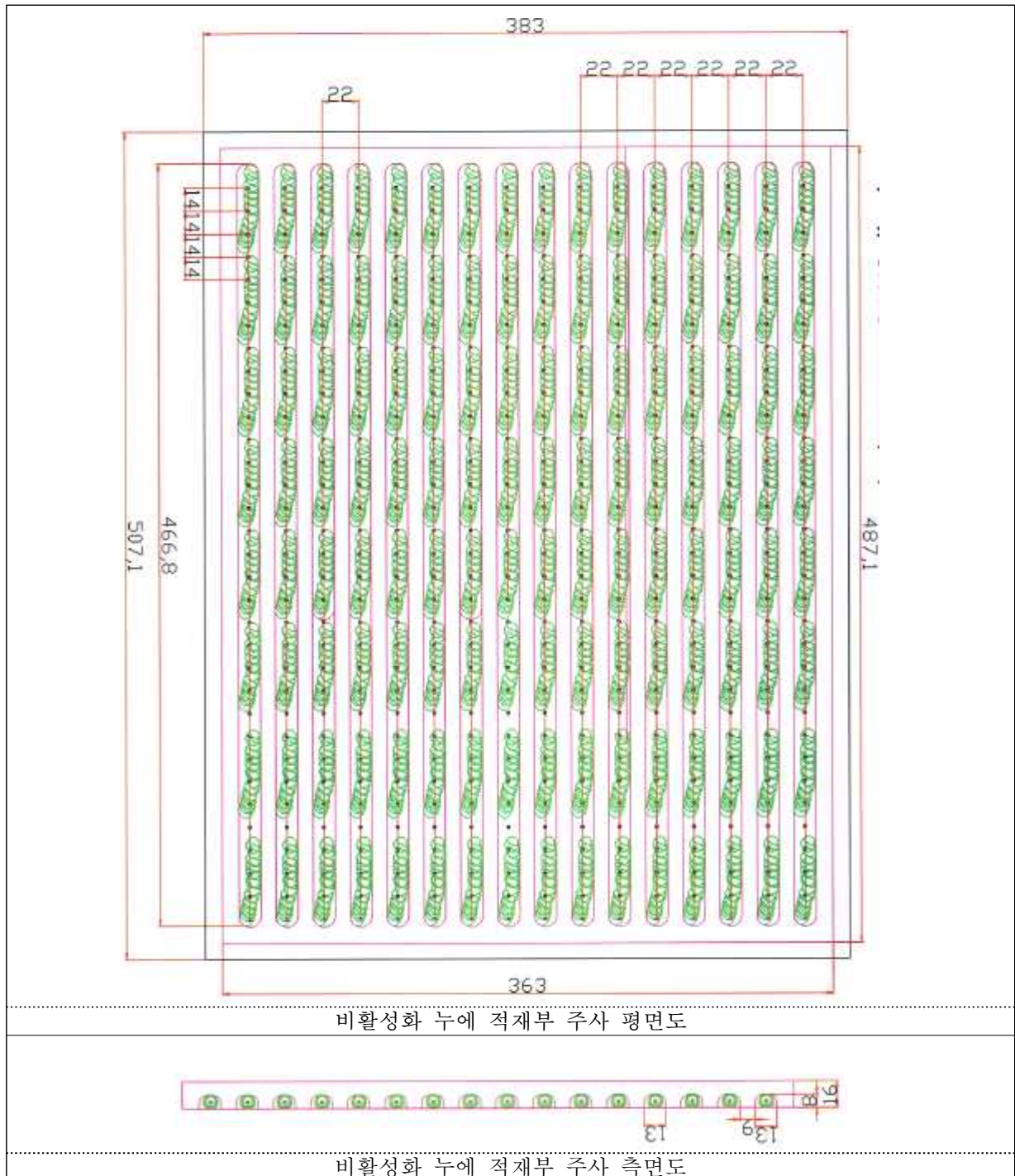
⑧ 주사부가 적재부 상으로 하강하는 경우, 니들(42)이 적재부의 주사라인 홈(11)에 위치하도록 니들이 고정판(41)에 배열되게 설치함

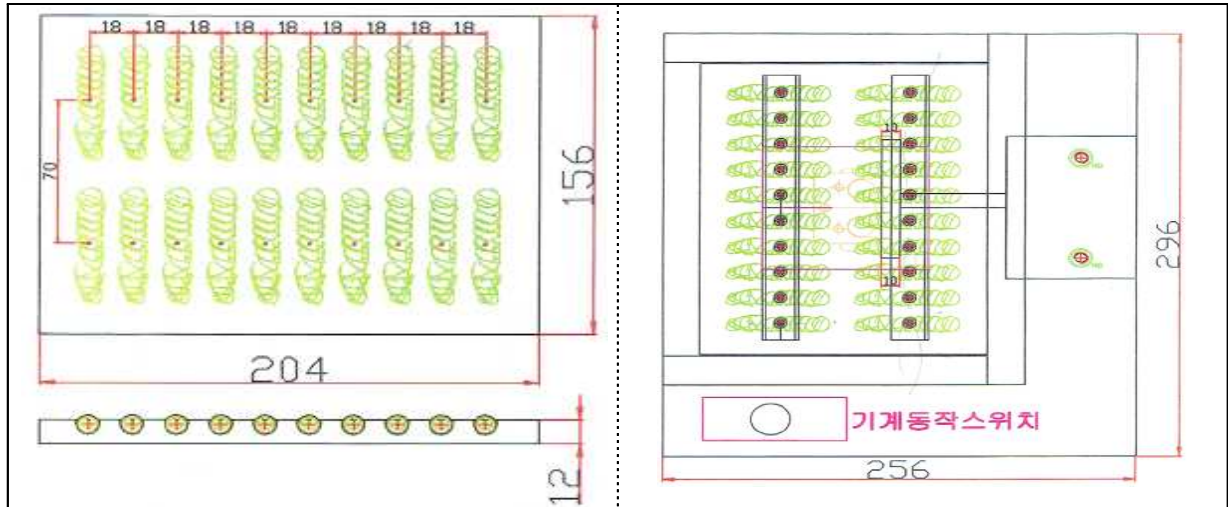
⑨ 아래 도면과 같이 주사바늘 33*16=528개 제작 후 누에 개체당 3 부위에 주사 가정 시 최대 8*16= 128마리 주사가 가능함

나) 적재부의 누에를 면역유도액에 침지시킴

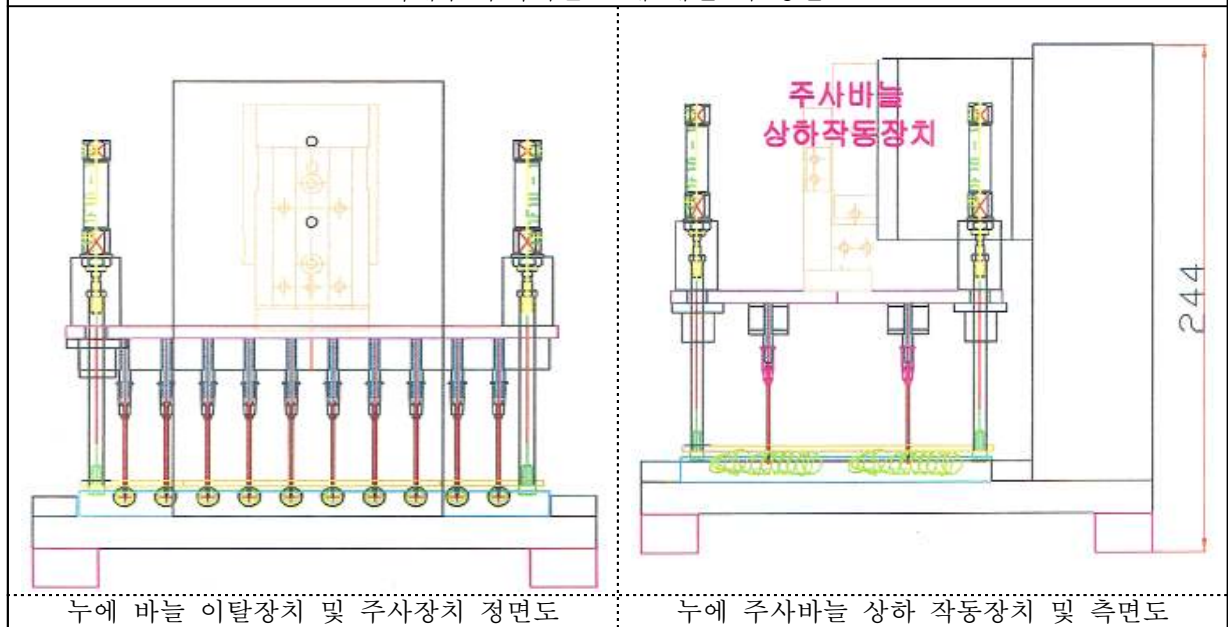
① 적재부가 면역유도액에 침지되어 상처나 틈을 통해 면역유도액이 적재부에 있던 누에 주입되는 면역 유도부(50)를 설치함

다) 주사부 2D 도면





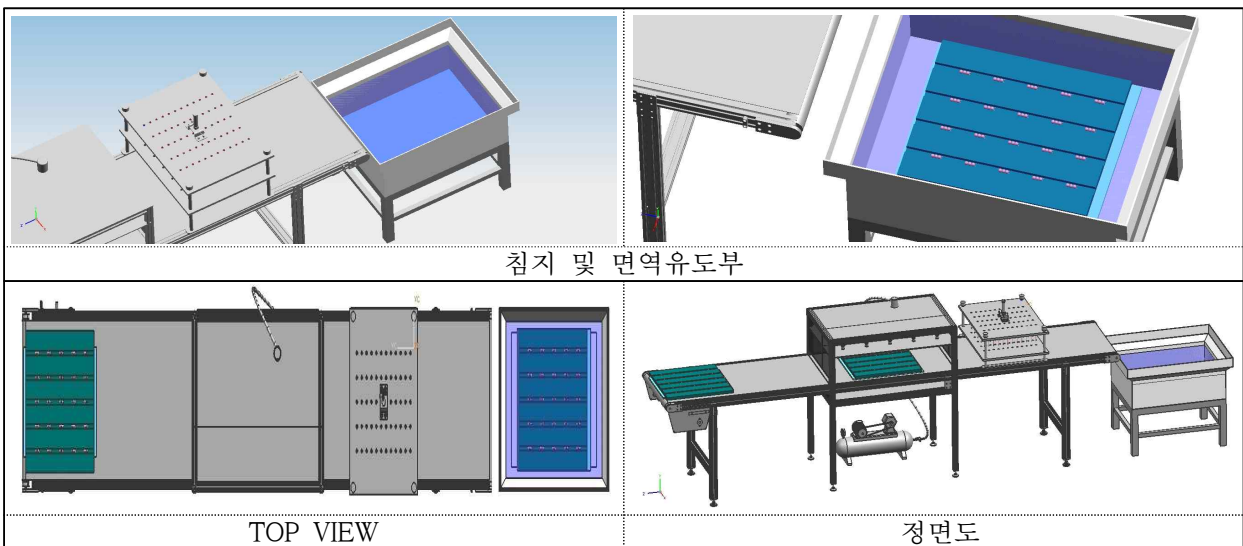
적재부 주사바늘 20개 배열 시 평면도



누에 바늘 이탈장치 및 주사장치 정면도

누에 주사바늘 상하 작동장치 및 측면도

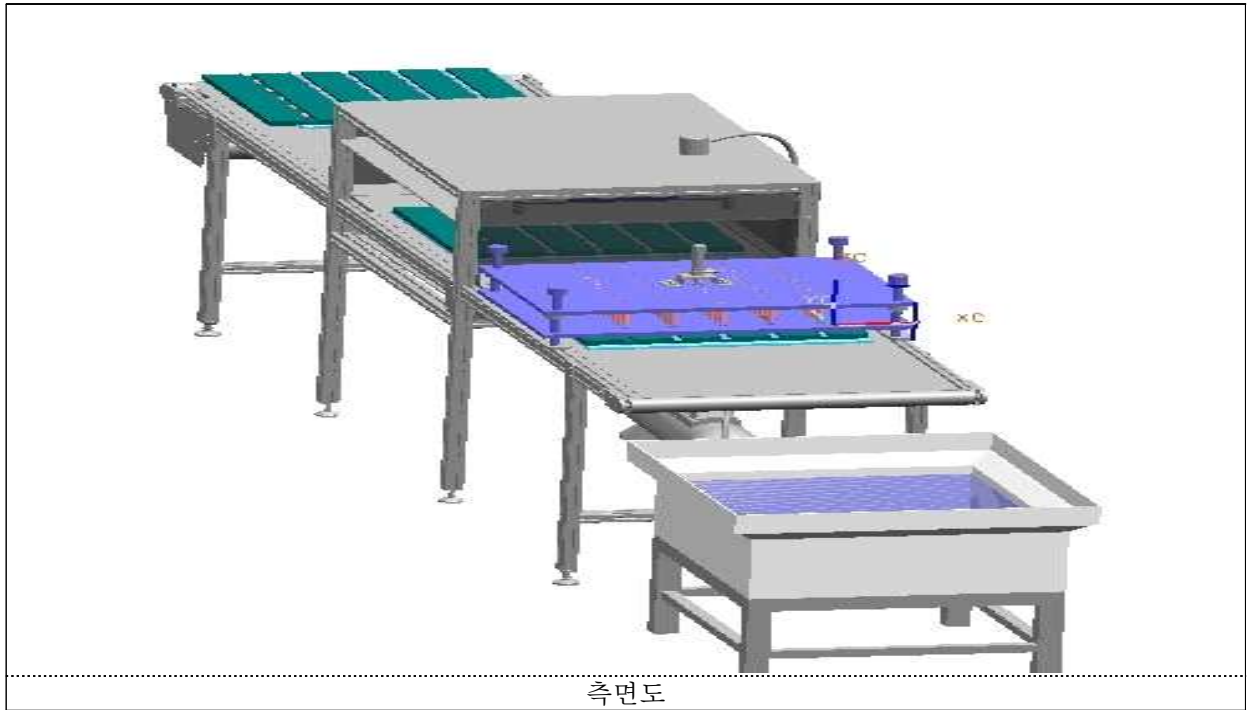
라) 간이 유도 장치 3D 도면



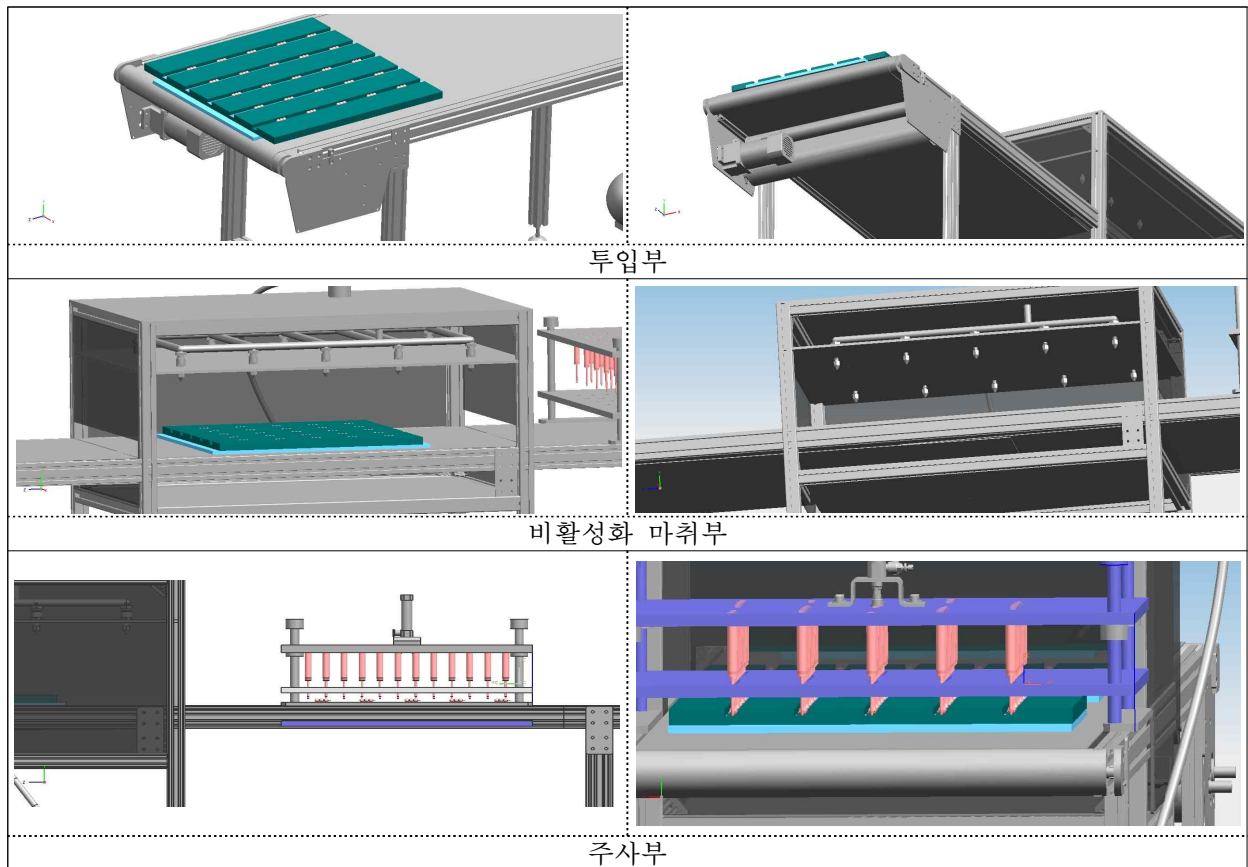
침지 및 면역유도부

TOP VIEW

정면도



- 3D 세부 도면



2) 장단점 요약

가) 누에 대량 면역 유도방법은 낙하되어 뭉쳐진 것을 요동시켜, 별도의 수작업 없이도

격자를 사용함으로써 상처와 탈락 이중 삽입 등을 줄여 적재부 상의 주사라인 홈에 누에를 위치시킬 수 있음, 따라서, 누에 대량 면역 유도방법은 니들에 찢리는 개수가 개체마다 거의 유사하므로 면역유도액 주입량도 개체마다 거의 균일하게 유지할 수 있음

- 나) 누에 대량 면역 유도방법은 물 사용 없이 냉풍으로 누에를 비활성화할 수 있어(건조공정이 필요 없고, 물을 이용한 경우보다 더 빠르게 누에가 비활성화됨) 작업 시간을 단축시킬 수 있음
- 다) 누에 대량 면역 유도방법은 니들에 의한 찢르는 단계와 침지를 통한 면역유도액 주입 단계를 분리시켜 누에를 좀 더 오랜 시간 동안 면역 유도액에 담가둘 수 있어 면역유도액 주입량을 최대로 높일 수 있음
- 라) 적재부 누에 분리 시 상처 및 탈락 되는 누에들을 줄이고 센서 및 제어부 보완 공정이 필요함

다. 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 구명

1) 비활성화(groogy) 마취조건 실험

가) 실험 조건: 19℃ 환경에서 각 처리구 당 20마리씩 무작위 선별 처리조건

조건	18℃ 물침지	4℃ 물침지	2℃ 물침지	4℃ 냉풍	-18℃ 냉풍	-55℃ 냉풍
처리구	①	②	③	④	⑤	⑥

- 나) 실험 누에 종류: 무늬 누에
- 다) 연령: 5령 3일자
- 라) 실험 방법
 - ① 조건별 처리 후 기절 시간 및 회복 시간 측정 후 대조구와 비교
 - ② 회복 시 미동 시간과 완전 회복 시간 측정
- 마) 실험 과정
 - ① 실험 처리구 셋팅



조

바) 조건 처리



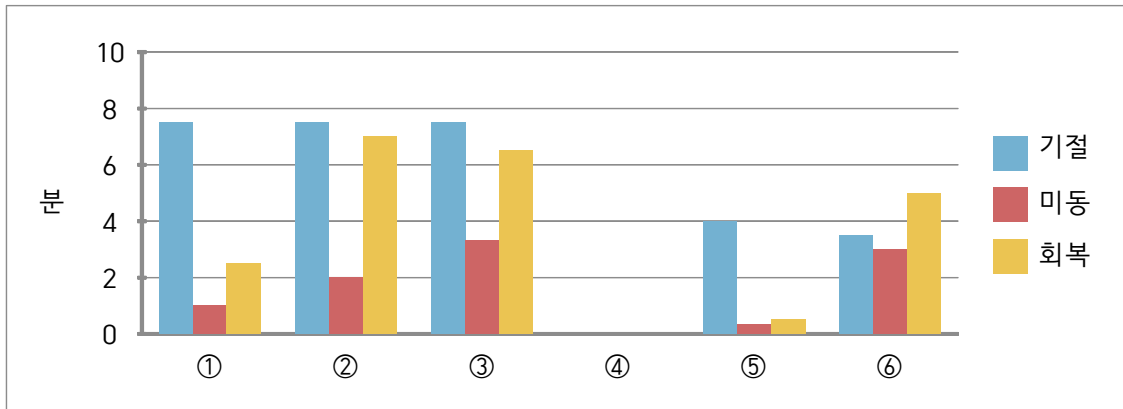
아) 실험 결과

① 회복 후 대조구와 육안 비교



자) 조건별 기절 및 회복 시간

조건	18℃ 물침지	4℃ 물침지	2℃ 물침지	4℃ 냉풍	-18℃ 냉풍	-55℃ 냉풍
처리구	①	②	③	④	⑤	⑥
기절 시간(분)	7.5	7.5	7.5	-	4	3.5
미동 시간(분)	1	2	3.33	-	0.33	3
회복 시간(분)	2.5	7	6.5	-	0.5	5



※ 처리구 ④ 30분 이상 기절 안됨, 처리구 ③, ⑥ 구토 증상을 보임

차) 결론

- ① 기절 소요 시간은 ⑥조건이 제일 짧고 회복 시간은 ⑤조건이 제일 짧음
- ② 산업적으로 빠른 기절 시간과 체외 물기가 없이 주사 주사라인 홈 내 안착 조건이 우수한 조건 ⑥이 가장 적절함

2. 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발(그린테크(주): <2차년도>

가. 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작 (1차년도 문제점 보완 및 추가)

1) 비활성화와 공정 제거 및 주사라인 삽입 방법 개선

가) 기존 비활성화 공정에 필요한 시간과 누에 체외에 결로를 방지하여 작업효율 향상

나) 주사라인 삽입 방법은 기존 격자캠운동으로 인한 누에 몸에 생기는 상처, 이탈을 방지하고 효율성이 더 높은 공정 개발

2) 1차년 개발 장치와 2차년 개선 장치의 개선점 비교

개선부분		개선점
1차년 개발	2차년 개선	
격자 캠운동 및 적재부 이동 방식	적재부 진동 운동 풍압 이동 방식	격자 캠운동으로 인한 누에의 상처, 이탈 발생 문제점 개선, 투입부, 적재부 이중 제어 진동시스템으로 누에를 안정적으로 주사라인 삽입
주사부 누름판으로 누에 고정 후 주사	주사부 상하운동만으로 주사	누에를 누름판에 의한 상처 및 쇼크로부터 보호하여 생존율 향상
캠운동의 진동으로 바닥에 다리를 고정 방식	중상부 진동감쇠장치와 바퀴 이동 방식	진동감쇠장치가 진동을 중상부에서 감쇠시켜 기계 상부만 진동함 바닥면을 고정하지 않고 바퀴를 장착하여 사용 할 수 있어 이동성과 작업 공간 효율 향상
이송부 비활성화를 위한 냉동 터널	이송부 주사 후 에어 분사 시스템	비활성화 공정 제거로 인한 회당 3.5분의 시간 단축 및 비활성화로 인한 쇼크 방지로 생존율 향상
		비활성화 후 누에 체외 결로 현상 제거로 누에 이송 효율 향상
		주사 시 체액에 유출에 의한 이송 장애를 풍압을 이용 이송 효율 향상
		적재부 진동 제어 및 주사 깊이 조절로 탈락 되는 누에 최소화로 안정된 주사 가능

3) 투입 대비 누에의 주사 후 생존률 비교

차수	1차년도 개발	2차년도 개선
경과 시간		
1시간 후	93.1±4.4	98.7±1.2
20시간 후	72.31±1.5	98.5±1.2



가) 1차년 개발 장치에 비해 2차년 개발 장치는 안정성, 작업효율 향상
 나) 생존율은 평균 작업 1시간 후 5.6%, 20시간 후 26.2% 향상

4) 2차년 개선 자동 유도 주사장치 특징

가) 제품 설명

사시도 내지 주사부를 참고하면, 누에 면역원 주사 자동화 시스템은 투입부(10), 이송부(20), 주사부(30), 에어분사부(40), 면역유도부(50) 및 진동부(60)를 포함함
 투입부(10)는 뭉쳐 있는 누에를 분리시켜 배출할 수 있음 투입부(10)는 진동 스크린 을 사용할 수 있음 투입부(10)는 하우스, 하우스 내부에 위치하는 진동모터와 스크린(소정 각도로 경사짐)을 제작함

이송부(20)는 투입부 후단에 위치하고, 길이 방향으로 형성된 복수개의 홈으로 형성된 주사라인(21)이 소정 간격으로 형성되고, 누에 이송방향으로 하향 경사짐 이송부(20)는 길이 방향으로 복수개의 홈(21)이 형성됨 이송부는 홈(21)이 복수개 형성된 판(22)과 판의 측면을 형성하는 가드프레임(23)을 제작함

홈은 누에가 삽입될 수 있을 정도의 폭과 깊이로 제작됨 홈의 폭은 3~20mm, 깊이는 3~20mm일 수 있음

홈은 누에가 이송되는 통로가 됨 또한, 홈의 직상부에는 주사부의 니들이 각각 위치되며, 주사부의 니들이 하강하여 누에를 찌르는 주사라인(injection line)임 이송부(20)는 누에 이송방향으로 하향 경사지고, 경사각은 1~45° 일 수 있음

이송부의 상면(홈과 홈 사이의 상면)과 홈에는 윤활피막이 코팅될 수 있음 윤활 피막은 누에의 점착성 부착 능력을 떨어트려 좀 더 쉽게 누에를 홈에 넣을 수 있음 윤활피막은 윤활제를 사용할 수 있음

진동부(60)는 이송부 하단에 위치하며 이송부를 진동시킬 수 있음

진동부를 참고하면, 진동부(60)는 모터(61), 제 1 샤프트(62), 제 2 샤프트(63), 제 1 샤프트 및 제 2 샤프트 양단에 결합되고 내부에 회전추(도면 미표시)가 위치하는 커버(64), 모터에서 제 1 샤프트로 회전력을 전달하는 제 1 벨트(65), 제 1 샤프트에서 제 2 샤프트로 회전력을 전달하는 제 2 벨트(66) 및 회전추에 발생하는 진동을

이송부에 전달부는 접속부(67)로 제작함 접속부(67)는 이송부와 접합되어 발생한 진동을 이송부로 전달할 수 있음

즉, 진동부는 모터의 회전력을 회전추에 전달하여 진동을 발생시키고, 발생한 진동은 이송부로 전달됨

면역원 주사 자동화 시스템은 경사진 이송부(20)를 진동시켜 이송부의 홈으로 누에를 (전진 방향으로)이동시킬 수 있으므로, 누에가 담겨지거나 침지액이 보관된 적재함을 전진 및 후진시키는 종래 공정에 비해 이송 방식이 연속적이어서 작업효율을 향상시킬 수 있음

주사부(30)는 이송부 후단 상부에 위치하고, 복수의 니들을 구비하며 이송부로 하강하여 이송부 홈으로 이송된 누에에 상처나 틈을 형성시킬 수 있음

주사부(30)는 니들의 끝 부분이 고정된 관상의 고정판(31), 니들 팁(tip)이 주사라인(21) 직상부에 위치하는 복수개의 니들(32), 및 고정판을 상하 운동시키는 구동부(33)를 제작함

고정판이 이송부로 하강하는 경우, 니들(32)이 이송부의 홈(21)에 위치하도록 니들이 고정판(41)에 배열됨 즉, 니들은 적재부의 홈에 대응되도록 고정판에 소정 간격으로 배열될 수 있음

구동부(33)는 모터(331) 및 커넥터(332)를 구비하여 모터의 회전운동을 직선운동으로 전환하여 고정판을 상하로 이동시킬 수 있음

주사부는 이송부와 동일한 각도로 하향 경사지도록 설치될 수 있음 주사부는 지지바(34)를 하부 프레임(1)과 경사프레임(2)에 이송부와 동일한 각도로 경사를 주어 고정하고, 지지바에 결합된 상판(35), 내측면이 고정판(31)의 측면과 결합되고, 외측면이 커넥터(332)에 고정된 연결판(36) 및 연결판(36)에 탄성을 부여하는 스프링바(37)로 제작함 주사부가 하강하여 누에를 찌르는 경우, 니들은 이송부의 홈(21)의 바닥 깊이(h)의 3/4이내, 바람직하게는 1/100~3/4 범위로 삽입될 수 있음

니들이 바닥 깊이(h)의 1/100 이내로 얇게 삽입되는 경우, 누에에 생기는 상처나 틈을 통한 면역유도액 의 유입이 원활하지 않고, 니들이 바닥 깊이(h)의 3/4을 초과하도록 깊게 삽입되는 경우 누에의 사망률이 높아짐

주사부는 니들의 주사기 간격은 5~50mm이고 니들 두께는 $0.35 \pm 0.5\text{mm}$ 임 1회 면역유도 시 유충 1마리에 3개 이하로 동시에 니들이 누에에 삽입 할 수 있음

에어 분사부(40)는 이송부 상부 및 주사부 전단에 위치하고, 이송부 홈이나 주사부의 니들 방향으로 공기를 분사할 수 있음 에어분사부(40)는 에어 공급부(41), 분배부(42) 및 복수의 분사바(43)를 제작하여, 주사부에 의한 주사 후 공기를 분사시켜 누에를 강제로 이송시킬 수 있음

분배부(42)는 이송부 상부에 위치하는 관(pipe)일 수 있음 분배부(42)는 이송부의 세로방향으로 고정됨

분사바(43)는 소정 길이를 가지는 미세관임 분사바(43)는 일단이 분배부에 결합되어 공기를 공급받고, 타단이 홈(21)의 직상부에 위치하되, 타단의 공기배출 방향은

주사부의 니들 방향일 수 있음 분사바(43)는 흡(21) 또는 주사라인을 따라 유출에 면역 유도 주사 후 공기를 분사함으로써 흡에 체류하고 있는 누에뿐만 아니라 주사시 유출되는 체액까지도 강제로 배출할 수 있어 누에의 이송 효율을 높일 수 있음
 면역원 주사 자동화 시스템은 이송부와 지지부(70) 사이에 진동을 줄이는 진동감쇠부(80)를 추가로 포함할 수 있음
 진동감쇠부로 인해, 시스템은 지지부에 전달되는 진동 세기가 크게 감소하여 하단에 바퀴(3)를 구비할 수 있음
 면역 유도부(50)는 면역 유도액이 소정량 담지된 저장 탱크임 면역 유도부(50)는 이송부 후단 아래에 위치함
 면역 유도액은 생체에 독성이 없으면서 면역 능력을 조절하는 효과를 가지는 물질임 면역유도액은 생체반응조절 물질(BRM: Biological Response Modifier)이 될 수 있으며, AHCC(Active Hexose Correlated Compound), Polysaccharides, Polysaccharide peptides, Nucleosides, Triterpenoids임
 면역유도부에 누에가 1초이상 면역유도부에 누에가 침지되면, 니들에 의해 형성된 상처나 틈을 통해 면역유도액이 누에에 주입될 수 있음 면역원 주사 자동화시스템은 누에를 좀 더 오랜 시간 동안 면역유도액에 담가둘 수 있어 면역유도액 주입량을 최대로 높일 수 있음
 면역 원 주사 자동화 시스템은 진동부, 주사부, 이송부 및 에어분사부의 콘트롤하는 제어부를 설계함 제어부는 각 장치의 가동 여부, 가동시간, 진동 횟수 및 이송속도, 주사부의 상승 및 하강여부, 주사부의 하강 깊이(니들의 흡 삽입 깊이), 주사부의 하강 및 상승시간 등을 컨트롤할 수 있음 제어부는 사용자의 입력 조건이나 작동 프로세스(알고리즘)를 프로그램 명령 형태로 컴퓨터 내장 및 시스템화되어 면역원 주사 자동화 시스템의 동작을 실행할 수 있음 면역원 주사 자동화 방법은 사시도 내지 주사부의 면역원 주사 자동화 시스템을 사용할 수 있음
 면역원 주사 자동화 방법은 투입단계, 이송단계, 주사단계, 에어분사 단계 및 면역 유도 단계로 나뉨
 투입단계는 뭉쳐 있는 누에를 분리시켜 배출하는 단계임 투입단계에서는 진동 스크린을 이용하여 뭉쳐 있는 누에를 분리해 배출할 수 있음
 이송단계는 이송부(20)와 진동부(60)를 이용하여 누에를 주사부(30) 하부까지 이동시키는 단계임
 이송단계는 이송부(20)를 진동부로 진동시켜 이송부의 흡(21)으로 누에를(전진 방향으로)이동시킬 수 있으므로, 누에가 담겨지거나 침지액이 보관된 적재함을 전진 및 후진시키는 종래 공정에 비해 이송 방식이 연속적이어서 작업효율을 향상시킬 수 있음
 주사부 주사단계는 주사부(30)가 이송부로 하강하여, 이송부의 흡에 위치하는 누에를 니들로 찌르고, 다시 상승하는 단계임
 주사단계는 설정 시간에 따라 반복될 수 있으며, 주사단계에 진입되면 진동부의

모터 가동은 중단됨 4~7초 간격으로 주사단계에 진입되고, 주사단계는 2초나 3초로 설정됨 4~7초 동안 진동부가 가동되어 누에가 전진되면, (4~7초 경과 후) 진동부의 가동이 중단되고, 주사부가 하강하여 누에를 찌른 고 상승한 후(2~3초), 진동부가 다시 작동됨

주사부가 하강하여 누에를 찌르는 경우, 제어부는 주사부의 니들을 이송부의 홈(21)의 바닥 깊이(h)의 3/4이내, 바람직하게는 1/100~3/4 범위로 삽입하도록 컨트롤 할 수 있음 에어분사단계는 에어분사부(40)를 이용하여 이송부의 홈(주사라인, 21)을 따라 공기를 분사시키는 단계임

에어분사 단계는 주사부가 하강 후 상승하면 시작되고, 소정시간(에어 분사부 가동 후 1초~20초) 동안 작동된 후 중지되고, 다시 주사부가 하강 후 상승하면 작동됨

에어분사 단계는 홈(21) 또는 주사라인을 따라 공기를 분사함으로써 이송부홈(21)에 체류하고 있는 누에뿐만 아니라 주사시 유출되는 체액까지도 강제로 배출할 수 있어 누에의 이송 효율을 높일 수 있음

제어부는 주사부의 상승이나 하강여부를 판단하여 진동부, 에어분사부등의 작동을 제어할 수 있음

면역유도 단계는 면역유도부에 누에가 침지되면, 니들에 의해 형성된 상처나 틈을 통해 면역유도액이 누에에 주입되는 단계임 면역유도 단계는 1초 이상임

나) 제품 특징

몽쳐 있는 누에를 분리해 배출하는 투입부(10)

투입부 후단에 위치하고, 길이 방향으로 형성된 복수개의 홈으로 형성된 주사라인(21)이 소정 간격으로 형성되고, 이송 방향으로 하향 경사진 이송부(20)

이송부 후단 상부에 위치하고, 복수의 니들을 구비하며 이송부로 하강하여 이송부으로 이송된 누에에 상처나 틈을 형성시키는 주사부(30)

이송부 상부 및 주사부 전단에 위치하고, 이송부 홈이나 주사부의 니들 방향으로 공기를 분사하는 에어분사부(40)

면역유도액을 구비하며, 이송부 후단 아래에 위치하여 수용된 누에가 면역유도액에 침지되어 상처나 틈을 통해 면역유도액이 누에에 주입되는 면역 유도부(50) 및 이송부 하단에 위치하고, 이송부를 진동시키는 진동부(60)가 설치된 대량생산용 면역 원주사 자동화 시스템

면역원 주사 자동화 시스템은 이송부와 지지부(70) 사이에 진동을 줄이는 진동감쇠부(80)를 추가로 설치한 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템 에어분사부(40)는 에어 공급부(41), 분배부(42) 및 복수의 분사바(43)를 설치하되, 주사부에 의한 주사 후 공기를 분사시켜 누에를 강제로 이송시키는 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템

진동부(60)는 모터(61), 제 1 샤프트(62), 제 2 샤프트(63), 제 1 샤프트 및 제 2 샤프트 양단에 결합되고, 내부에 회전추(도면 미표시)가 위치하는 커버(64), 모터에서 제 1 샤프트로 회전력을 전달하는 제 1 벨트(65), 제 1 샤프트에서 제 2 샤프트로

회전력을 전달하는 제 2 벨트(66) 및 회전추에 발생하는 진동을 이송부에 전달부는 접속부(67)를 설치하는 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템
 주사부(30)는 니들의 끝 부분이 고정된 관상의 고정판(31), 니들 팁(tip)이 주사라인(21) 직상부에 위치하는 복수개의 니들(32), 및 고정판을 상하 운동시키는 구동부(33)를 설치하고, 주사부는 이송부와 동일한 각도로 하향 경사진 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템
 주사부의 니들은 이송부 홈(21)의 바닥 깊이(h)의 3/4이내로 삽입되는 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템
 주사부는 니들의 주사기 간격은 5~50mm이고 니들 두께는 0.2mm~0.5mm인 것을 특징으로 하는 대량생산용 면역원 주사 자동화 시스템

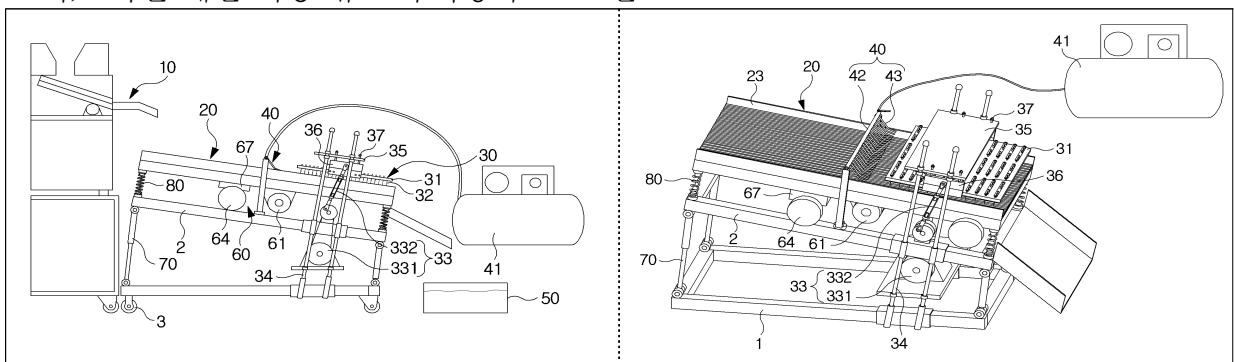
다) 요약

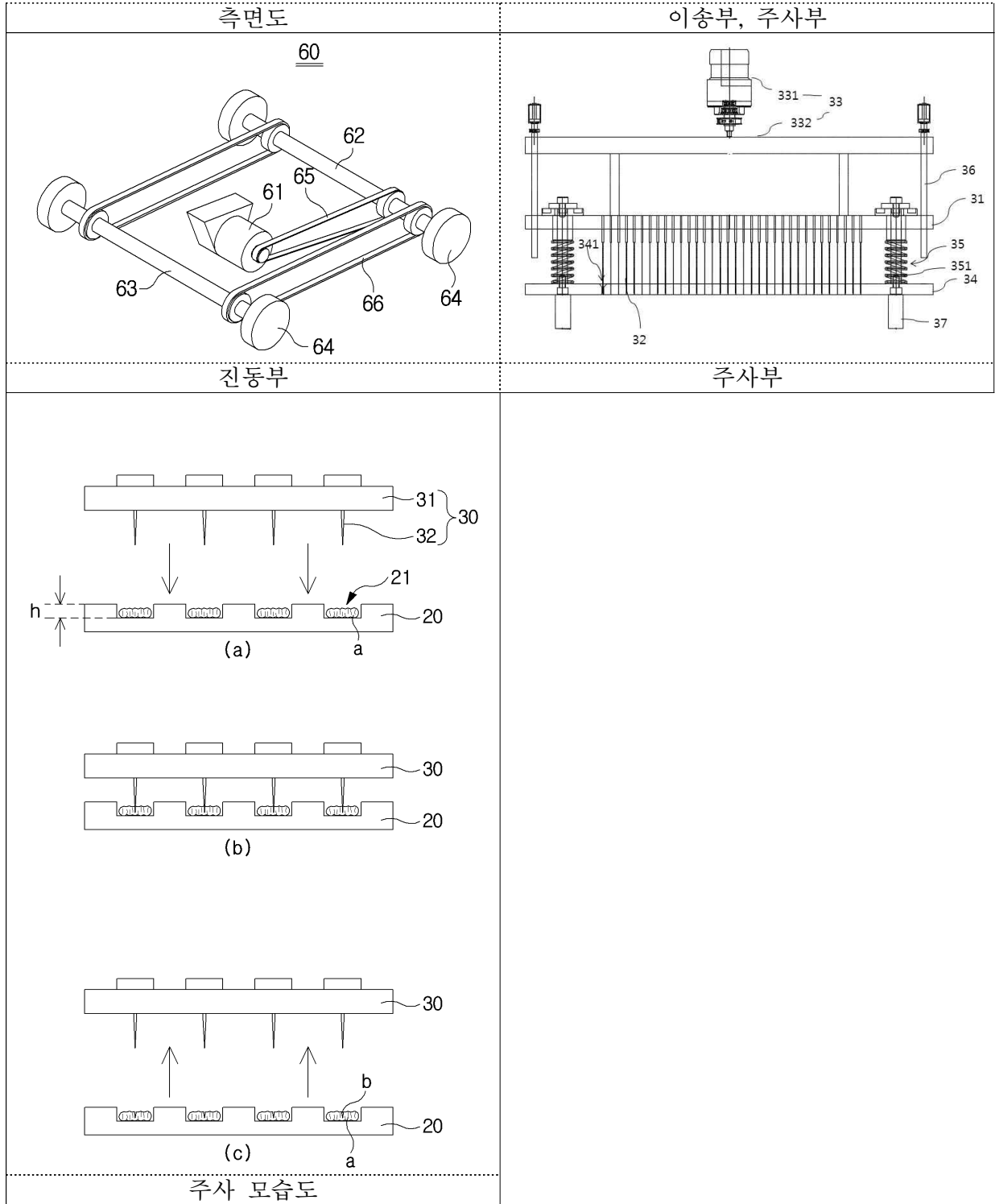
면역원 주사 자동화 시스템은 주사부 누름판을 없애고 니들을 주사라인(21)의 홈 일부까지만 삽입되도록 조절하여 (누에에 니들이 관통하지 않도록 제어) 누에가 상처 및 쇼크로 죽는 경우를 최소화할 수 있음
 면역원 주사 자동화 시스템은 주사라인이 형성된 이송부를 경사지게 위치하고, 이송부를 진동시킴과 동시에 공기를 분사시켜 누에를 이송부의 주사라인을 따라 이동시키는 방 요약식을 취함에 따라 종래 면역유도액이나 누에가 담긴 적재부를 이송부로 이송시키는 방식에 비해 이송 방식이 연속적이어서 작업 효율을 향상시킬 수 있음
 면역원 주사 자동화 시스템은 이송부와 지지부 사이에 진동을 줄이는 진동감쇠부와 지지부 하단에 바퀴를 구비하여 이동성과 작업 공간 효율을 높일 수 있음

누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사는 주사라인 홈의 폭 8mm, 깊이 10mm 조건으로 1번 면역 유도 주사 시 528개(33*16)의 주사바늘이 동시에 면역유도 주사하였음 (누에 개체 당 2~3 부위에 주사 시 1회에 평균 98.5두 면역주사)

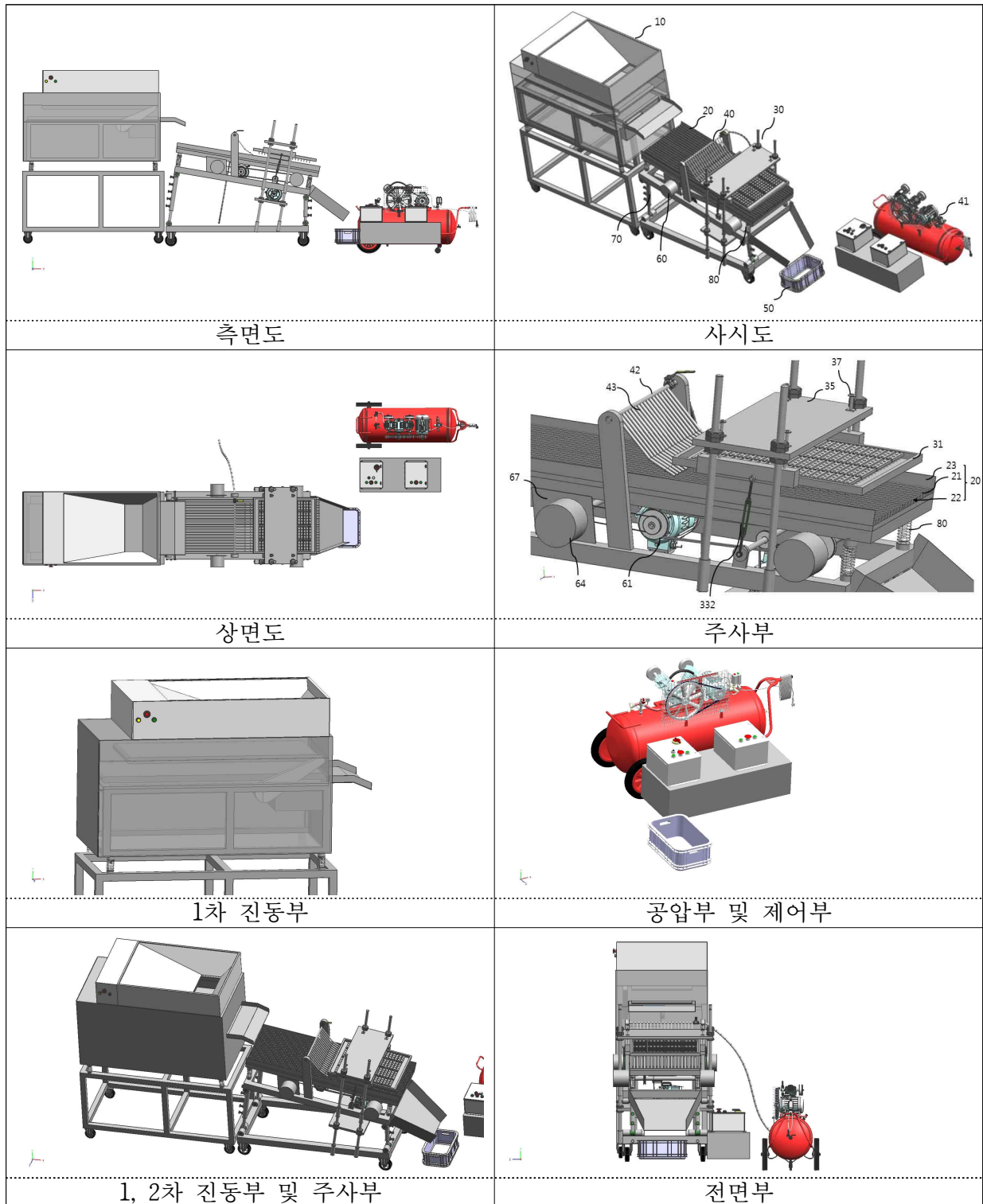
내용 실험(날짜)	유도시간(분)	동시 연속 주사량(두)	기타
1차 면역유도(6월10일)	10	14,700	1회(4초마다 98.5두 면역 주사함
2차 면역유도(6월11일)	60	88,725	
3차 면역유도(6월13일)	480	709,200	
합계	550	812,625	

라) 2차년 개선 자동 유도 주사장치 2d 도면





마) 2차년 개선 자동 유도 주사장치 3d 도면



나. 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화

1) 누에 자동주사 시스템

- 1번 면역 유도 주사 시 528개(33*16)의 주사바늘이 동시에 면역유도 주사함 (누에 개체 당 2~3 부위에 주사 시 1회에 평균 98.5두 면역주사 가능 함)

- 면역원 주입에 사용되는 주사 바늘의 오염 문제 해결 방안
 (면역 주사 작업 후 물로 세척 → 건조 → 알콜세척 → 건조 → 보관)



정면



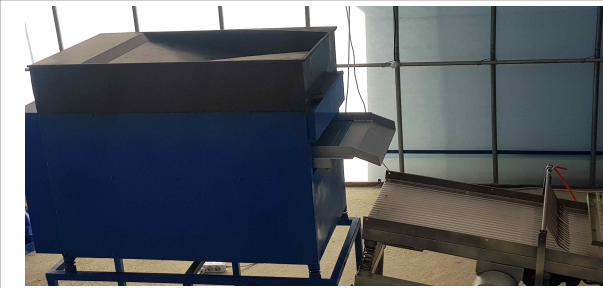
측면



제어부



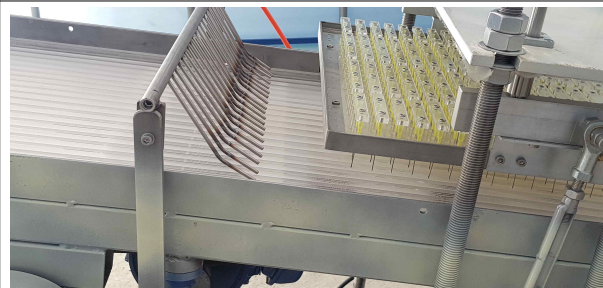
주사부



투입 1차 진동 이송부



진동 주사 라인 이송부 2차 진동 이송부



2차 진동 이송부 에어분사 시스템



2차 진동 주사라인이송부 누에 이동 모습



누에 주사 모습



주사후 누에 모습

2) 누에 면역유도 분말 상품화 및 모델 제시

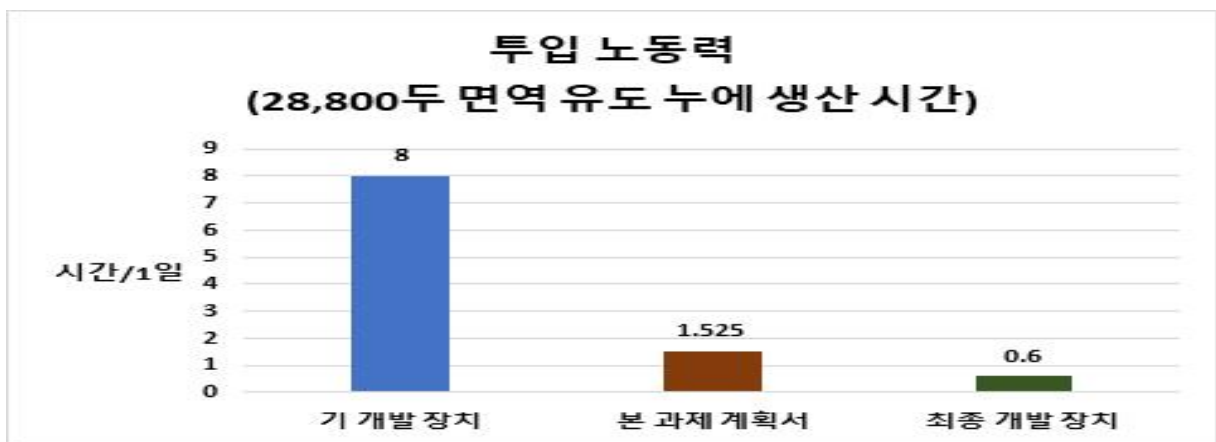
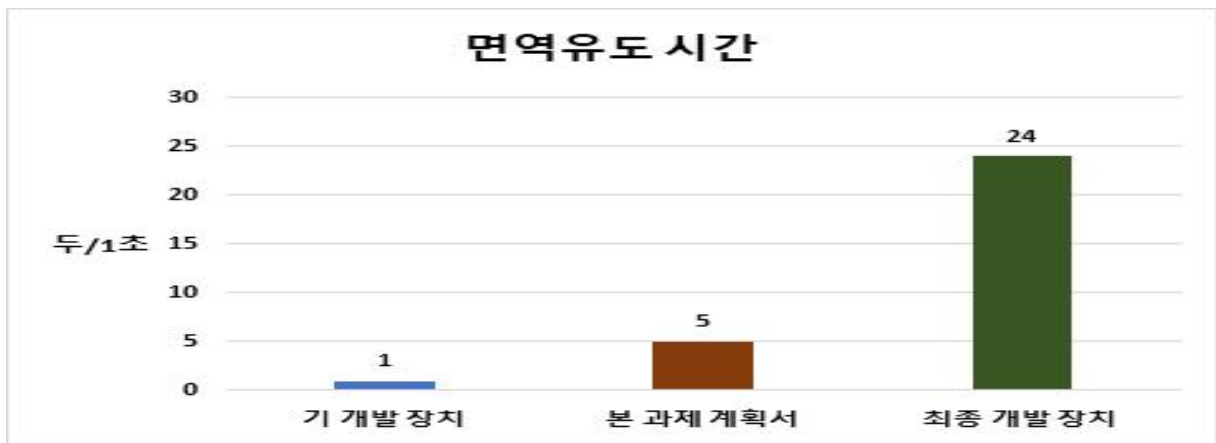
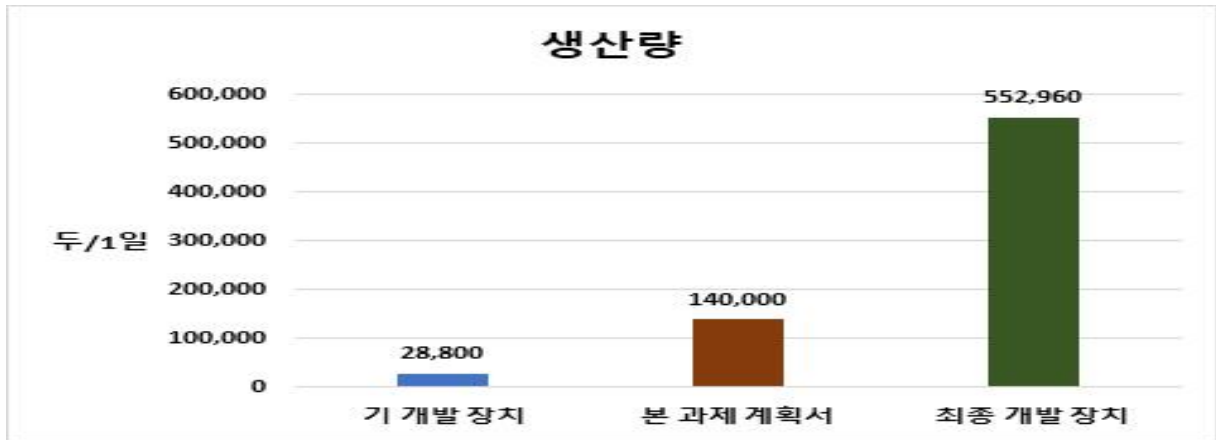
- 누에 생체 내 천연항생물질을 인위적으로 대량 유도하여 면역이 유도된 누에로부터 천연 고기능성 사료 첨가제 대량생산
- 사료 첨가제로서 최적의 제형화 개발, 대량생산 시스템 개발, 항생효과 및 안전성 평가, 사료 소재로서의 사료·영양적 가치 평가를 위한 현장 적용함



다. 원가분석, 경제성 분석, 현장적용 등

1) 작업효율 및 생산량 비교(표) (그래프)

비교 장치 개선점	당초 개발 장치	본 과제 연구 목표	최종 개발 장치
생산량	28,800두/1일	140,000두/1일	552,960두/1일
면역유도 시간	1두/1초마다	5두/1초1마다	96두/4초마다
투입 노동력 (28,800두 면역 유도 누에 생산 시간)	8시간/1일	1시간 36분/1일	24분/1일
주사 유도 시 생산비	25,000원/1kg 분말	5,000원/1kg 분말	1,500원/1kg 분말



2) 무게 대비 건조수율

내용	5령3일	4일	5일	6일첫밥	7일	기타
무게	3g	3.9g	4.5g	5.4	4.5	
건조 수율	13.6%	16.8%	17.7%	19.7%	23.4%	수분+자체무게

3) 면역유도 누에 사료 첨가제로서의 경제성 분석: 시장 동향 경제성 분석

번호	내용	1kg 분말기준 가격(단위:원)	10kg 분말 기준 가격(단위:원)	기 타
가)	살아 있는 누에 구입가격 (5령5일자)	5.9kg=59,000	59kg=590,000	- 누에분말 1kg 생산시 살아 있는 누에 5령5일자 필요량 5.9kg - 살아있는 누에 1kg: 10,000 원
나)	유산균 유도시 비용	1,500	15,000	- 유산균 및 자동 주사
다)	건조비	5,000	50,000	- 마이크로 웨이브 건조
라)	제형화비(코팅)	1,500	15,000	- 1kg 코팅비 1,500원 (원료71%, 코팅29%) - 코팅으로 무게 상승 29%
마)	기타 (전기료,포장비 등)	5,000	50,000	
	①--소 계	72,000	720,000	
	②--loss(10%)	7,200	72,000	
	③--영업비 및 관리비(①+②)* 35%	27,720	277,200	
바)	합 계(①+②+③)	106,920	1,069,200	
	이윤(18%)	23,080	230,800	
사)	예상 판매가	130,000	1,300,000	

4) 시판되고 있는 사료첨가제(양계제품)

제품명	생산업체	효능·효과	첨가율(%)
베타포스플러스	(주)에스에프	고온 및 저온스트레스 사료섭취량 개선	0.1 ~ 0.2
티아피드	(주)에스에프	CRD 예방 및 치료 성장촉진	0.25 ~ 1
세라토	(주)에스에프	면역증강 분뇨악취감소	0.1 ~ 0.2
우진 콜리스틴-10	우진 비앤지	대장균증, 비브리오성	육계전기 0.1 육계후기 .02 ~ 0.05
옵티맥스	(주)이글벳	증체율, 분만시간단축	0.05 ~ 0.1
월로벳 린팩	유한양행	마이코플라즈마	0.3 ~ 0.5
셀멜 가용산	유한양행	세균성장염 콕시든통증 예방	0.3 ~ 0.6
월로벳 린코마이신	유한양행	괴사성 장염예방 증체율 개선	0.002 ~ 0.004
록시푸러스수용산	(주)신일바이오젠	CRD, CCRD 예방 및 치료	음수투여 0.1
골든리버큐	우성양행	식욕증진 지방간 예방	음수투여 0.1 ~ 0.2
파워믹스플러스	우성양행	산란율증가 수정율 및 부화율개선	0.1 ~ 0.2
씨티씨100	(주)제일바이오	면역력증진 항병력 향상	0.05 ~ 0.2
제일 콜리스틴	(주)제일바이오	설사병 예방 사료효율 개선	0.025 ~ 0.2
에스에프 엔라피트	(주)에스에프	사료효율 향상 성장촉진	0.1 ~ 1
에스에프 콜리틴20	(주)에스에프	대장균증, 성장촉진, 료효율개선	육계전기 0.5 종계 0.1 ~ 0.3
에스에프 네오산110첨가제	(주)에스에프	살모넬라균증,대장균증 청관병, 장염 예방	1 ~ 2
엑테신-40	(주)에스에프	류코싸이토준병 세균성 장염 예방	예방 5 ~ 7.5 치료 5 ~ 10
슈퍼락토	(주)에스에프	질병 저항력 강화 대사성 질병 발생 감소	브로일러 0.5 ~ 1 산란계, 0.5
에스에프 토코밀	(주)에스에프	부화율 향상 산란율 향상	0.05 ~ 0.2

제품명	생산업체	효능·효과	첨가율(%)
클로린	(주)에스에프	성장촉진, 사료효율개선 세균성 질병 및 치료	0.5 ~ 1
엔비바EO	(주)이글벳	유해 박테리아 증식 억제 사료 섭취량 증가	1 ~ 2
블라디수용산	(주)이글벳	성장촉진, 사료효율 개선 정장작용	0.1 ~ 0.2
베타핀플러스	(주)이글벳	고온스트레스 억제 사료섭취량 증가	1 ~ 2
폴스타	(주)이글벳	연과란 감서, 생산성 향상, 사료효율향상	산란계 1 ~ 2 육계 2 ~ 4
린스펙틴-F	(주)이글벳	마이코플라즈마병의 예방 및 치료	1.25 ~ 2.5
바이오톱-SC	(주)신일바이오젠	성장촉진, 사료효율개선 설사예방	산란계 육성기 1 ~ 2
파워독스	(주)제일바이오	마이코플라즈마에 의한 CCRD 예방 및 치료	초생추 0.25 종계 및 산란계 0.5
린코프라임F	(주)제일바이오	살모넬라균증 예방 및 치료	1 ~ 2
암피프로	(주)제일바이오	포도상구균, 가금콜레라, 추백리 등 예방 및 치료	0.5 ~ 1

5) 누에 관련 자료 수집(포장디자인, 유통기한 참고용)

제품	생산업체	제품형태 (kg당 가격)	유통기한
	(주)산마을	동결건조분말 (30만원)	제조일로부터 24개월
	산청군 양잠농협	냉동건조분말 (13만원)	제조일로부터 12개월
	천호식품	동결건조누에환 (28만원)	제조일로부터 24개월
	상주 양잠협동조합	동결건조분말 (13만원)	제조일부 12개월

	영천 양잠협동조합	동결건조분말 (13만원)	제조일로부터 12개월
	정읍 양잠협동조합	동결건조분말 (9만원)	제조일로부터 12개월
	영천양잠 농업협동조합	동결건조분말 (16만4천원)	제조일로부터 12개월
	정우당	동결건조분말 (22만5천원)	제조일로부터 24개월
	동광한방물	동결건조누에환 (11만8천원)	제조일로부터 24개월
	보은 토종누에농장	동결건조누에환 (13만원)	제조일로부터 24개월
	산골누에농장	동결건조누에환 (15만원)	제조일로부터 24개월
	청명약초	건조 누에 (15만원)	제조일로부터 24개월
	푸른들판	동결건조누에환 (18만7천 원)	제조일로부터 24개월

	시골내음	동결건조누에환 (14만원)	제조일로부터 24개월
	순천 잠실 영농조합법인	동결건조누에환 (11만5천원)	제조일로부터 24개월
	참두리	열풍건조 누에 (12만원)	포장일로부터 24개월
	(주)두손에약초	동결건조누에환 (18만원)	제조일로부터 24개월
	인삼마루4	동결건조누에환 (10만원)	제조일로부터 24개월

라. 사업화성과 및 매출실적

1) 사업화성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.309억원
			향후 3년간 매출	9억원
		관련제품	개발후 현재까지	0.309억원
			향후 3년간 매출	10억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내: 50% 국외: 50%
			향후 3년간 매출	국내: 60% 국외: 60%
		관련제품	개발후 현재까지	국내: 60 % 국외: 60 %
			향후 3년간 매출	국내: 60 % 국외: 60 %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		2위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		2위

2) 사업화 계획 및 매출실적

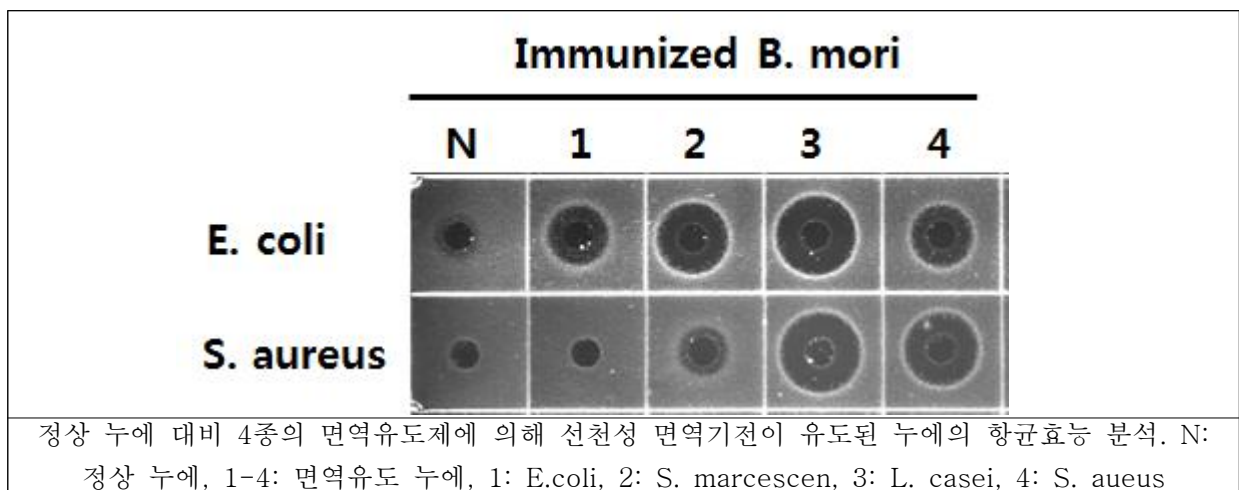
항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		2년		
	소요예산(백만원)		300		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0.309	10	30
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	60	60	60
		국외	60	60	60
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		식용곤충을 중심으로 면역유도 기술 개발 및 활용			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)		현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)		-	-	-
	수 출		-	-	-

3. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건 개발(동국대학교):

〈1차년도〉

가. 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발

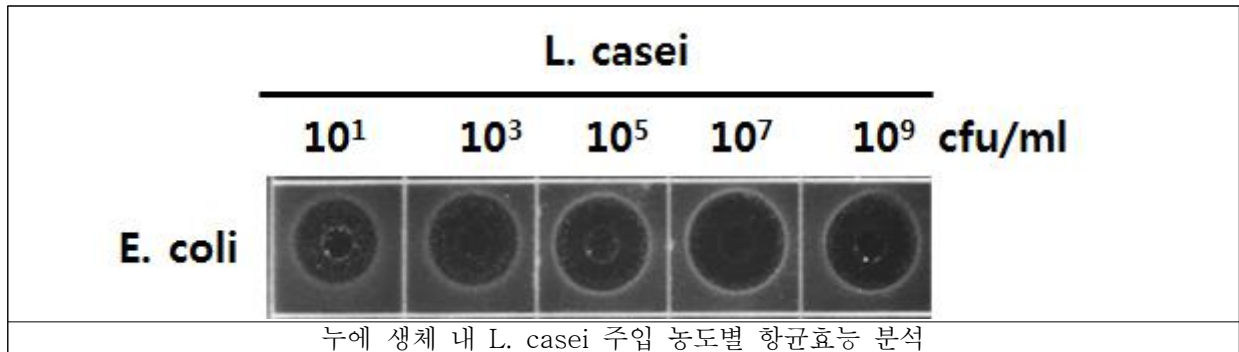
- 1) 누에 생체 내 인위적으로 선천성 면역기전을 유도함으로써 천연항생제를 대량발현 시키기 위하여 면역 유도제를 주입하였는데, 이때 사용된 면역 유도제로는 유산균(Lactobacillus casei), 대장균(Escherichia coli), 황색포도상구균(Staphylococcus aureus) 및 곤충병원균(Serratia marcescens) 등 총 4종의 생균을 사용하였음
- 2) 면역유도제의 누에 생체 내 주입은 4종의 면역유도제를 각각 1×10^9 cfu/ml로 적정한 다음 주사바늘 두께 중(0.2, 0.4, 0.6, 0.8mm)가장 높은 면역유도 효율을 나타낸 0.8mm 두께의 주사바늘에 면역 유도제를 묻혀 누에 복강 내 주입하고, 24시간 후에 면역 유도제가 처리된 누에로부터 체액 10ul를 채취하여 100°C, 30분간 처리한 다음, 그람음성균(Escherichia coli: 4×10^6 cfu/ml) 및 그람양성균(Staphylococcus aureus: 4×10^6 cfu/ml)에 대하여 각각 RDA(radial diffusion assay) 분석법으로 항균효능을 분석하였음
- 3) 항균효능 분석결과, 그람음성균인 E. coli 및 그람양성균 S. aureus에 대해서 정상 누에는 거의 항균효능을 나타내지 않는 반면에, 4종의 면역 유도제에 의해 선천성 면역기전이 유도된 누에의 경우에는 면역 유도제로 사용한 E. coli, S. aureus 및 S. marcescens는 비교적 낮은 항균효능을 나타내었으나 L. casei는 강한 항균효능을 나타내었음
- 4) 따라서 그람음성균과 그람양성균에 대하여 가장 높은 항균효능을 나타낸 L. casei를 누에 생체 내 천연 항균 물질 대량생산을 위한 면역 유도제로 최종 선발하였음



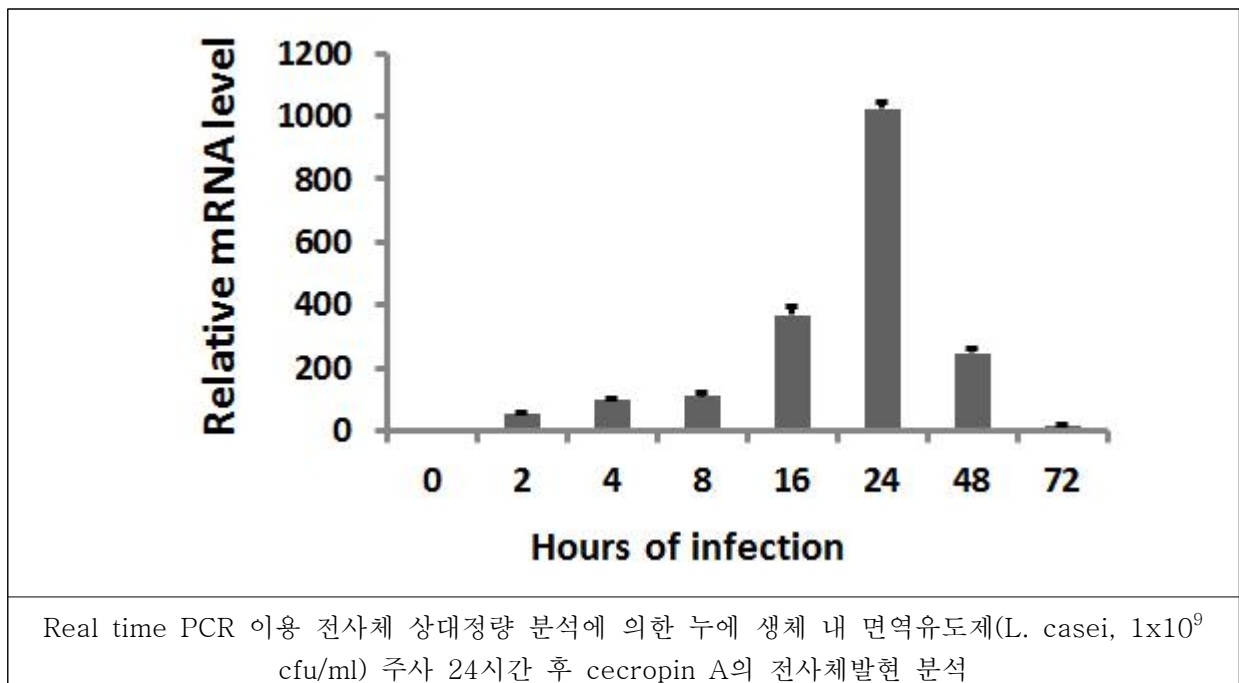
나. 선발 면역유도제의 최적 처리조건 구명

- 1) 누에 생체 내 천연항생제의 최대 발현을 위한, 선발 면역유도제인 L. casei의 최적 처리조건을 확립하기 위하여 L. casei의 처리농도를 $1 \times 10^1 \sim 10^9$ cfu/ml로 달리하여 최적 처리농도를 구명하였고, 선정된 최적 농도의 L. casei를 누에의 복강에 주사하여 천연항생제가 최대로 발현되는 시기를 결정하였음
- 2) 그 결과, 누에 생체 내 천연항생제의 최대 발현을 위한 선발 면역 유도제는 농도 의존적

으로 항균효능이 증가하였는데, 따라서 *L. casei*를 $1 \times 10^{7-9}$ cfu/ml의 농도로 주사했을 때 가장 많은 천연 항생물질이 발현됨을 확인할 수 있었음



- 3) 누에 생체 내 천연항생제의 최대 발현되는 시기를 결정하기 위한 전사체 발현분석은, *L. casei*(1×10^9 cfu/ml)를 주사한 후 시간별로 누에를 회수하고 total RNA를 분리한 다음 cDNA를 합성하였음
- 4) 시간별 각각의 cDNA를 주형으로 real-time PCR를 수행하여 누에 항균펩타이드 (cecropin A) 유전자의 전사체가 최대 발현되는 시기를 결정하였고, cecropin A 유전자에 대한 프라이머는 Primer3 프로그램(<http://simgene.com/Primer3>)을 사용하여 디자인하였음
- 5) 전사체 발현 분석 결과, cecropin A 유전자의 전사체는 2시간 이후부터 증가하기 시작하여, 24시간 후에 최대 발현을 나타내다가 이후 급격하게 감소하였음

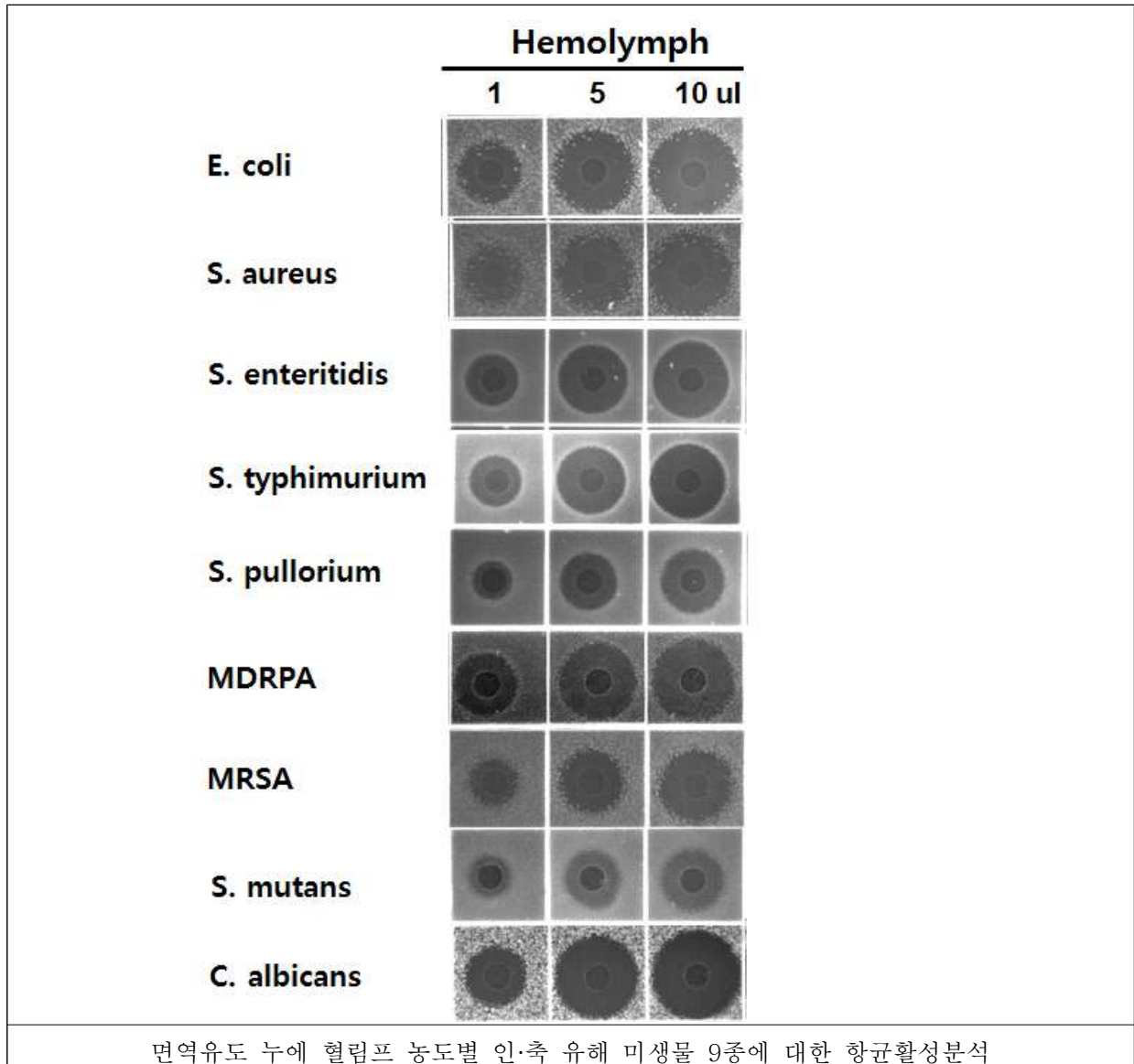


다. 다양한 인·축 병원균에 대한 항균효능 분석

- 1) 면역이 유도된 누에로부터 각각 혈림프(체액)를 회수하여, 농도별(1, 5, 10ul)로 인·축 병원균에 대한 항균 활성을 분석하였음
- 2) 실험에 사용된 인·축 유해 세균류로는 대장균(*E. coli*), 황색포도상구균(*S. aureus*), 살

모넬라균 3종(*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. pullorum*), 항생제내성균 2종(MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MDRPA : Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa*), 충치균(*S. mutans*), 진균(*C. albicans*) 등 9종을 사용하였음

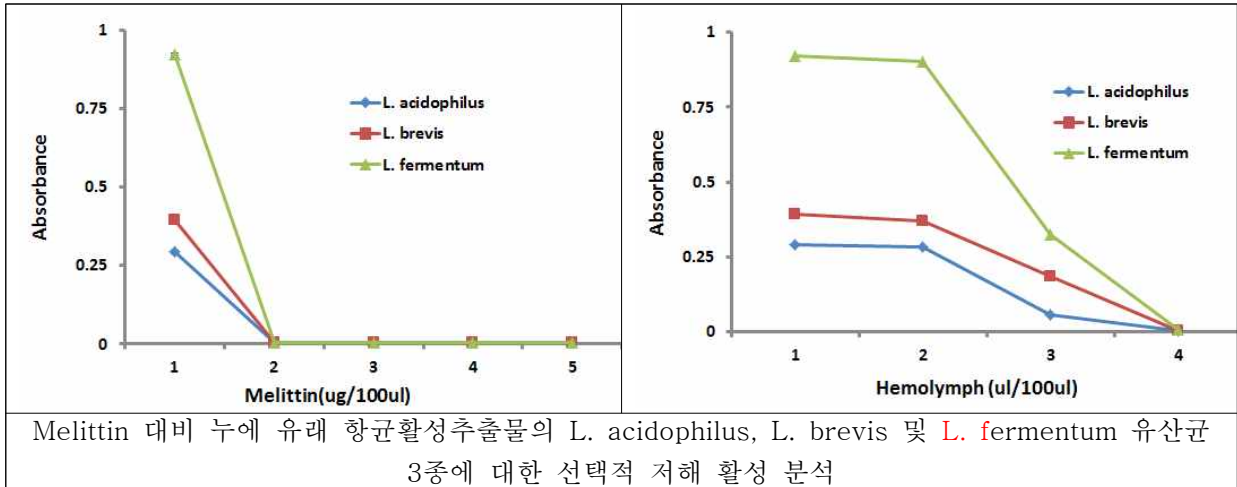
3) 항균 활성은 면역유도 누에의 혈림프 농도 의존적으로 증가하였으며, 사용된 9종 균주에 따라 다소의 차이는 있었으나 높은 항균 활성을 나타내었으며, 특히 항생제내성균과 진균에 대해서도 매우 높은 항균 활성을 나타내었음



라. 누에 유래 천연항생제의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석

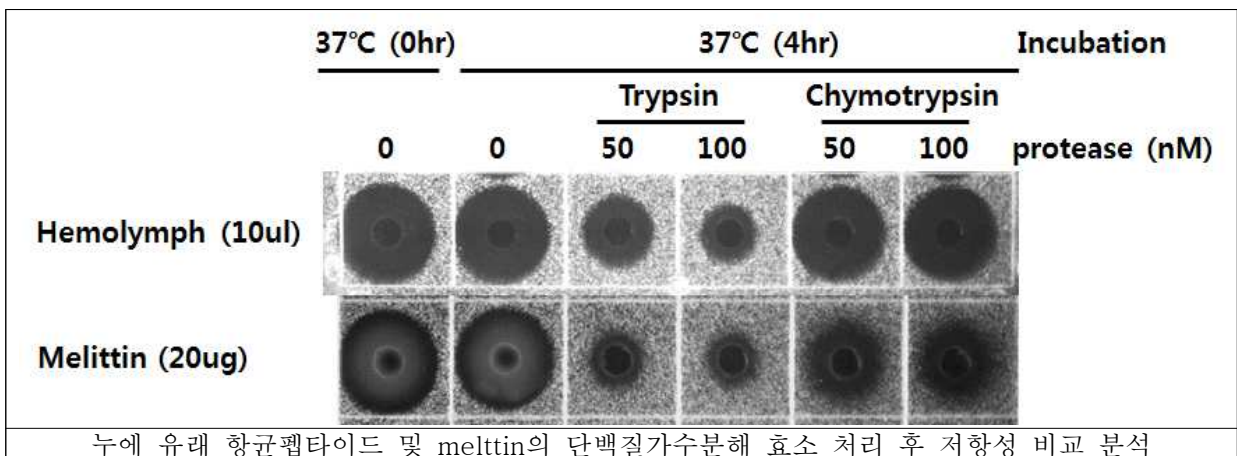
- 1) 현재까지 보고된 항균펩타이드(antimicrobial peptide; AMP)는 화학 합성 항생제와 마찬가지로 인·축 유해균 및 유익균에 대한 선택성이 없는 것으로 보고되어 있음
- 2) 면역유도 누에의 체액이 인·축 유해균 및 유익균에 선택성을 가지는지 확인하기 위하여, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* 및 *Lactobacillus fermentum* 유산균 3종에 대하여 melittin과의 항균 활성을 최소억제농도(MIC) 분석으로 비교한 결과, 불행히도 누에 유래 항균펩타이드 melittin 등 다른 종류의 항균펩타이드와 유사하

계 유해균과 유익균에 대한 선택적 저해활성은 없는 것으로 판단됨



마. 누에 유래 천연항생제의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석

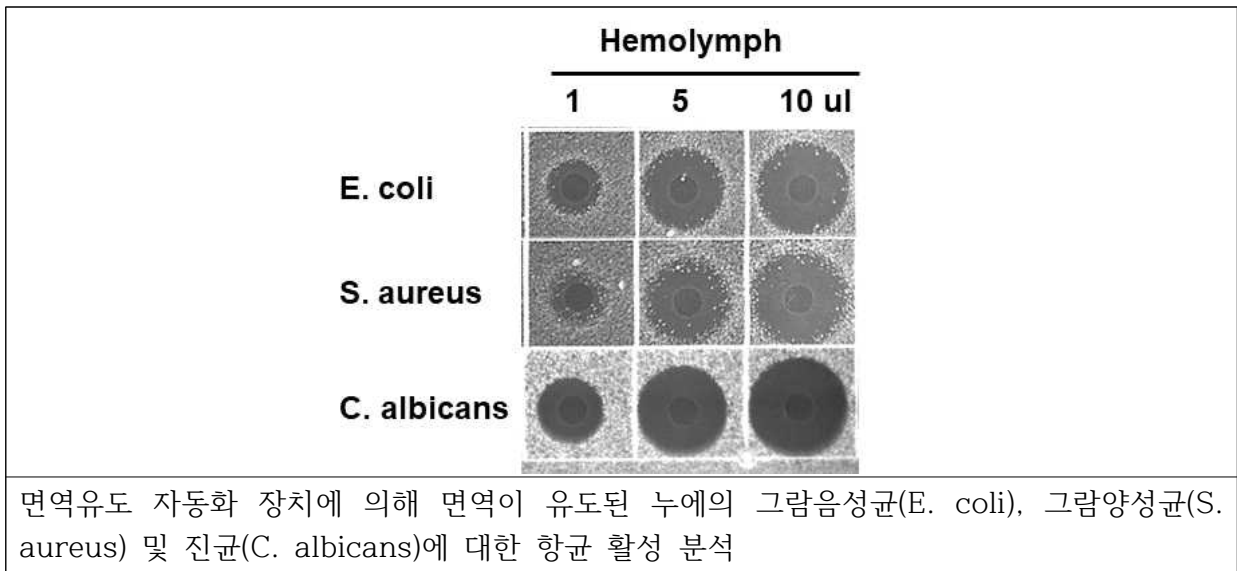
- 1) 현재까지 보고된 항균펩타이드(antimicrobial peptide; AMP)는 단백질가수분해효소에 대하여 매우 낮은 저항성을 가지는 것으로 보고됨
- 2) 면역유도 누에의 체액 내 항균물질의 단백질가수분해효소에 대한 안정성을 분석하기 위하여, 단백질가수분해효소로는 trypsin 및 chymotrypsin을 사용하였으며, 대조 천연항균물질은 Sigma사의 별도의 주성분인 melittin을 사용하였음
- 3) Trypsin(50 및 100nM) 및 chymotrypsin(50 및 100nM)을 면역유도 누에 혈림프 및 melittin에 각각 단독 처리한 다음, 37°C에서 4시간 정치 후 단백질가수분해효소에 대한 안정성을 방사선 확산 분석을 통하여 비교 분석하였음
- 4) 그 결과, melittin의 경우 trypsin 처리의 경우 대부분이 분해되어 거의 항균활성을 나타내지 않았으며 chymotrypsin 처리에 의해서도 상당 부분이 분해되었으나, 누에의 체액 내 항균물질은 trypsin 처리에 의해서는 melittin과 거의 유사하게 상당 부분이 분해되는 반면에 chymotrypsin 처리에 대해서는 매우 높은 높은 저항성을 가지는 것으로 판단되었음



4. 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건 개발(동국대학교):
 (2차년도)

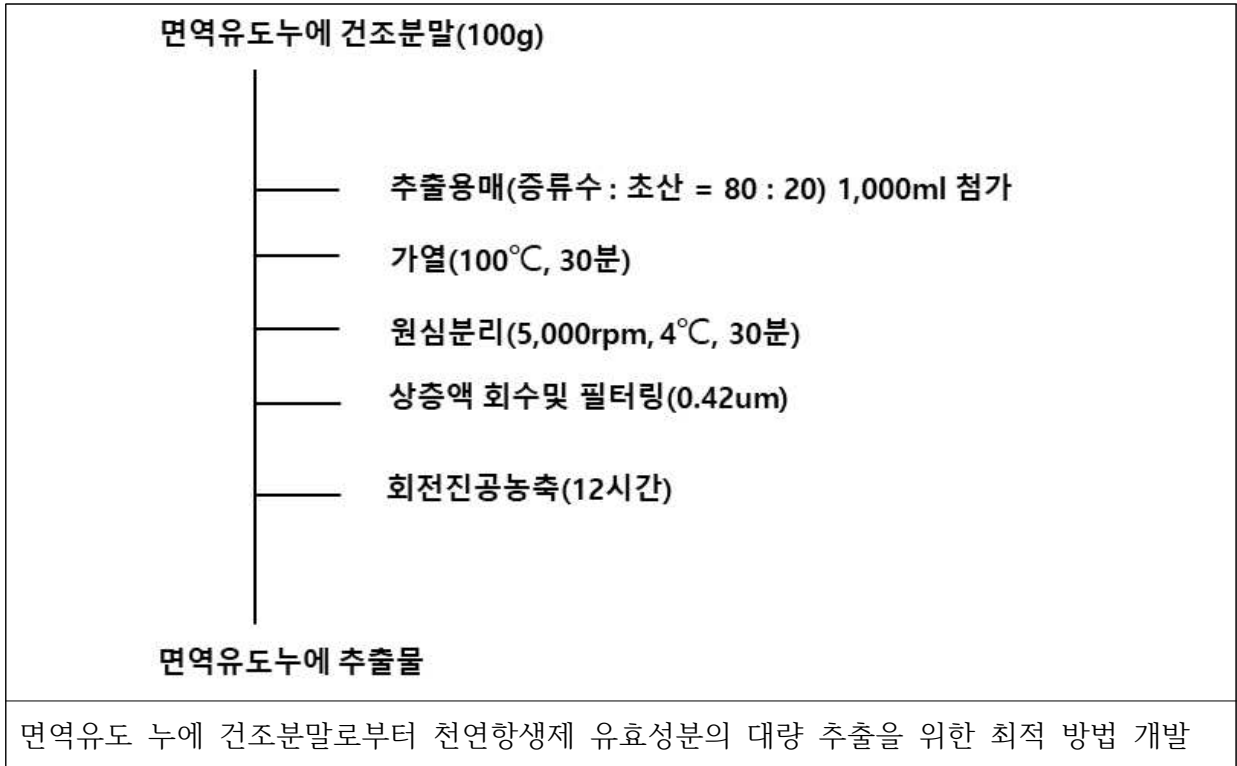
가. 역유도 누에의 체액 이용 항균 및 항진균 활성 분석

- 1) 주관연구기관인 그린테크(주)에서 자동면역유도장치로 면역을 유도한 누에를 분양받아 혈림프(체액)를 회수한 다음, 농도별(1, 5, 10ul)로 그람음성균인 *E. coli*, 그람양성균인 *S. aureus* 및 진균인 *C. albicans*에 대하여 항균활성을 분석하였음
- 2) 그 결과, 항균 활성은 사용된 3종 균주 모두에서 면역유도 누에의 혈림프 농도 의존적으로 증가하는 결과를 나타내어, 주관연구기관에서 제작한 누에 면역유도 자동화장치는 면역유도 효율이 매우 높은 것으로 판단되었음



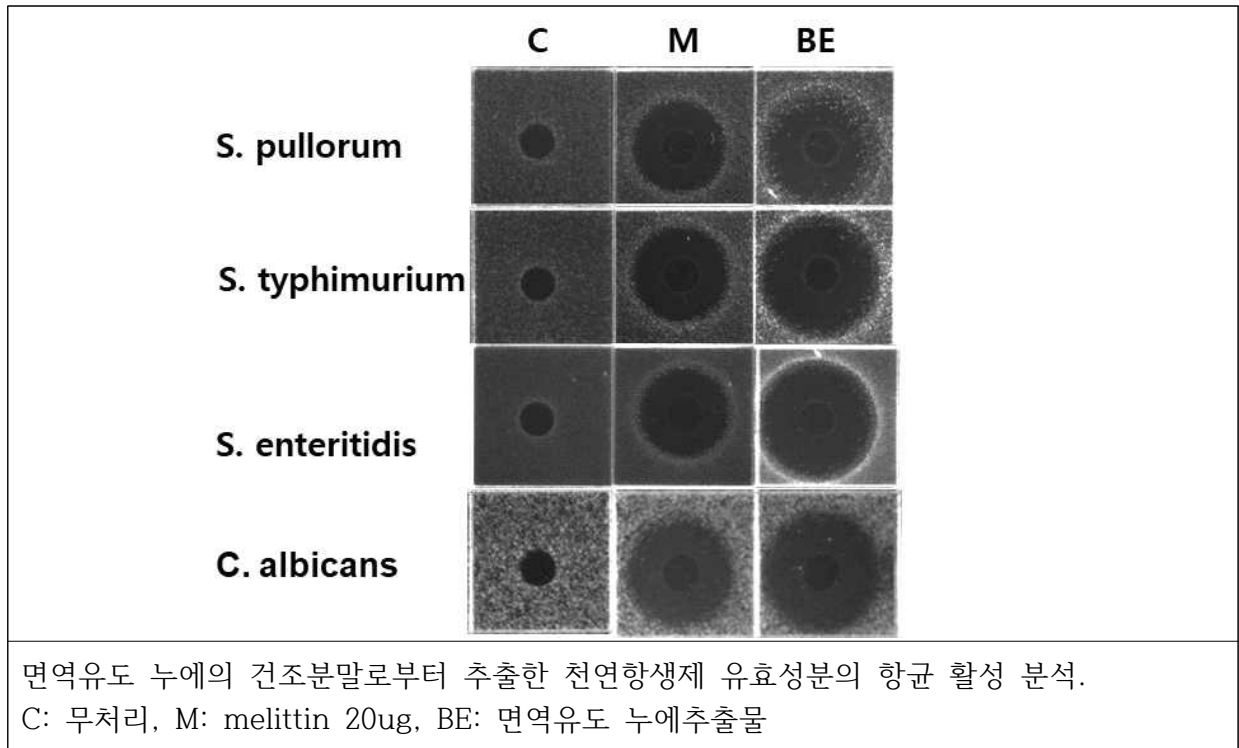
나. 면역유도 누에의 건조 분말로부터 천연항생제 추출기술 개발

- 1) 주관연구기관인 그린테크(주)로부터 분양받은 면역유도 누에 분말로부터 천연항생제를 최대 추출할 수 있는 방법을 확립하였음
- 2) 면역유도 건조분말 100g 당 추출용매 (증류수:초산 = 80:20) 10배액 (1,000ml)을 첨가하여 100°C에서 30분간 끓인 후, 원심분리(4°C, 5,000rpm, 30min)하였음
- 3) 원심분리 후 상등액을 회수한 다음, 회수한 상등액을 0.42µm 필터를 사용하여 필터링함으로써 순수 상등액만을 회수하였음
- 4) 순수 분리한 상등액은 진공 농축 원심분리기를 이용하여 12시간 동안 농축하여 추출물을 확보한 다음, 멸균증류수 또는 0.05% acetic acid에 녹인 후 항균 활성을 분석한 결과, 추출 용매로 에탄올이나 메탄올을 사용하는 것에 비하여 훨씬 강력한 항균 활성을 나타내었음



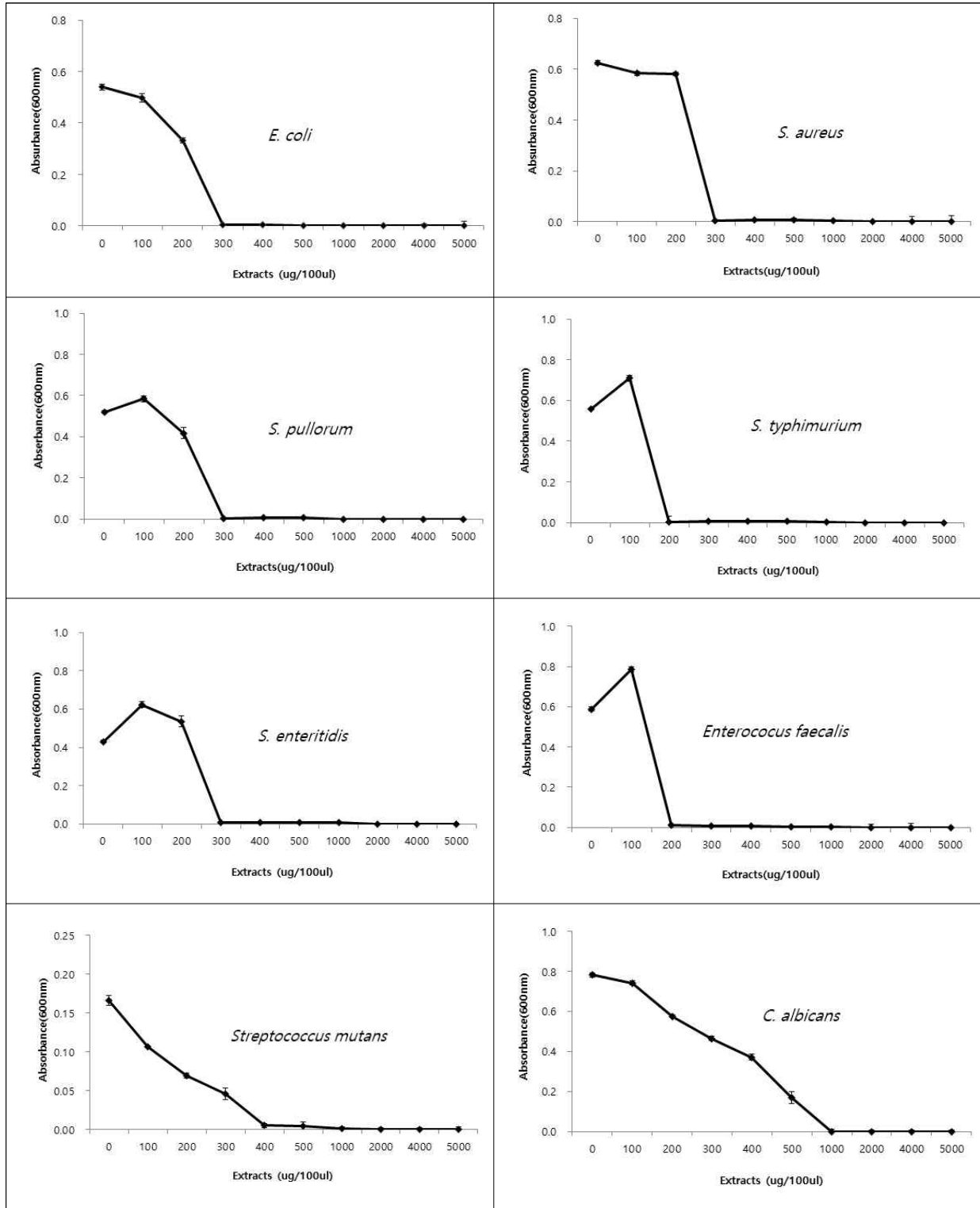
다. 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석

- 1) 면역유도 누에로부터 상기 방법으로 추출한 천연항생제 추출물(5,000ug)이 살모넬라균 및 진균에 대하여 항균활성을 나타내지는 확인하기 위하여 *S. pullorum*, *S. typhimurium* 및 *S. enteritidis* 3종의 살모넬라균에 대해 항균활성을 melittin 1ug과 비교 분석한 결과, 진균 및 살모넬라균 3종 모두에 대하여 melittin 20ug에 비해 훨씬 강력한 항균활성을 나타내었으며 특히, 국내 닭 도체로부터 분리한 24종의 살모넬라균 중 17종을 나타낸 *S. enteritidis* (70.8%)에 대하여 가장 높은 항균 활성을 나타내었음



라. 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 최소 저해 활성 농도 설정

- 1) 액체 배지에서 자란 대수증식기의 세균 및 진균을 1×10^6 cell/mL가 되도록 희석하여, 90 μ L씩 96-well plate에 분주한 후, serial dilution법으로 희석한 시료를 농도별로 10 μ L씩 주입한 다음, 37°C에서 24 시간동안 배양기에서 배양하여 흡광도 (OD₆₀₀)를 측정하여 최저성장저해 농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하여 분석하였음
- 2) 실험에 사용된 인·축 유해 세균류로는 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus mutans* 등 7종과 *Candida albicans* 진균 1종을 사용하였음
- 3) *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pullorum*, *S. typhimurium* 등 6종 세균에 대해 누에 건조 분말 추출물의 MIC 범위는 200 ~ 300ug/100ul로 측정되었으며, 충치균인 *S. mutans* 및 진균류인 *C. vaginitis*에 대한 MIC 범위는 각각 300 ~ 400ug/100ul 및 500 ~ 1,000ug/ul로 상기 6종 세균에 비하여 다소 높게 측정되었음



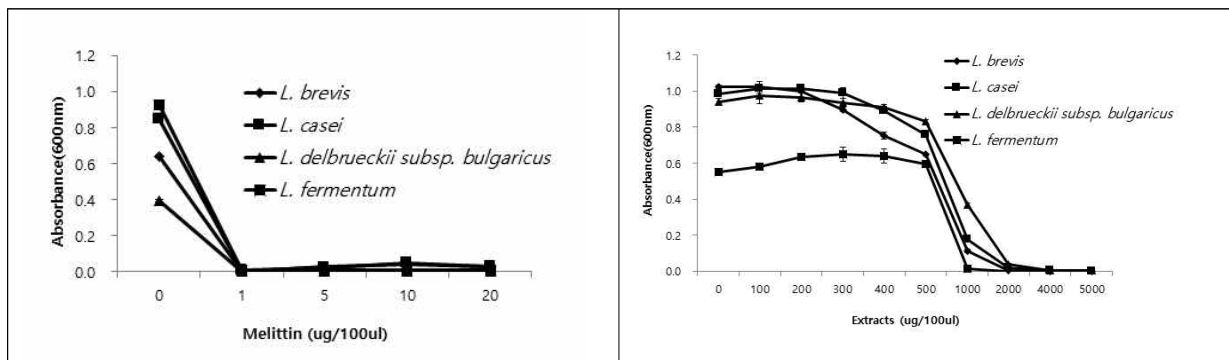
면역유도 누에추출물의 농도별 인·축 유해 미생물 8종에 대한 최소억제농도(MIC) 분석

마. 누에 유래 천연항생제 추출물의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석

1) 상기 결과(그림 5)에서 면역유도 누에의 체액은 melittin 등 다른 종류의 항균펩타이드와 유사하게 유해균과 유익균에 대한 선택적 저해 활성은 없는 것으로 나타났으나, 면역유도 누에 유래 항균 활성 물질 추출물이 인·축 유해균 및 유익균에 선택성을

가지는지 확인하기 위하여, *actobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 및 *Lactobacillus fermentum* 유산균 4종에 대하여 melittin과의 항균 활성을 비교하였음

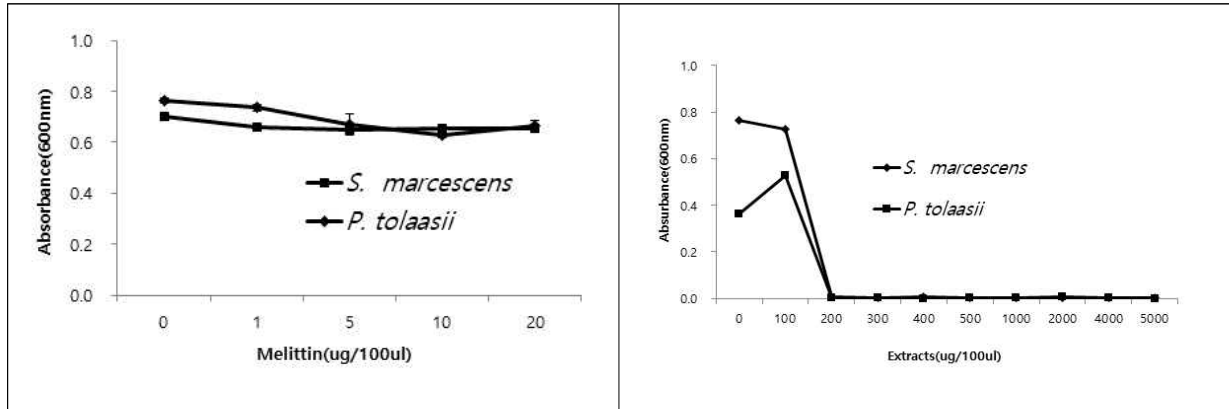
- 2) melittin은 유해균을 저해하는 농도의 약 1/10 농도로 유익균을 사멸시키는 반면에, 면역유도 누에 항균 활성 물질은 유해균을 저해하는 농도의 약 3배 이상의 농도에서 유익균의 성장을 억제하여 약한 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성을 가지는 것으로 판단되었음
- 3) 면역유도 누에의 추출물 내에는 체액과는 달리 유해균과 유익균을 선택적으로 사멸할 수 있는 항균물질이 포함된 것으로 추정할 수 있었음



Melittin 대비 면역유도 누에 유래 천연항생제 추출물의 *L. brevis*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* 및 *L. fermentum* 유산균 4종에 대한 선택적 저해 활성 분석

바. 누에 유래 천연항생제 추출물의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석

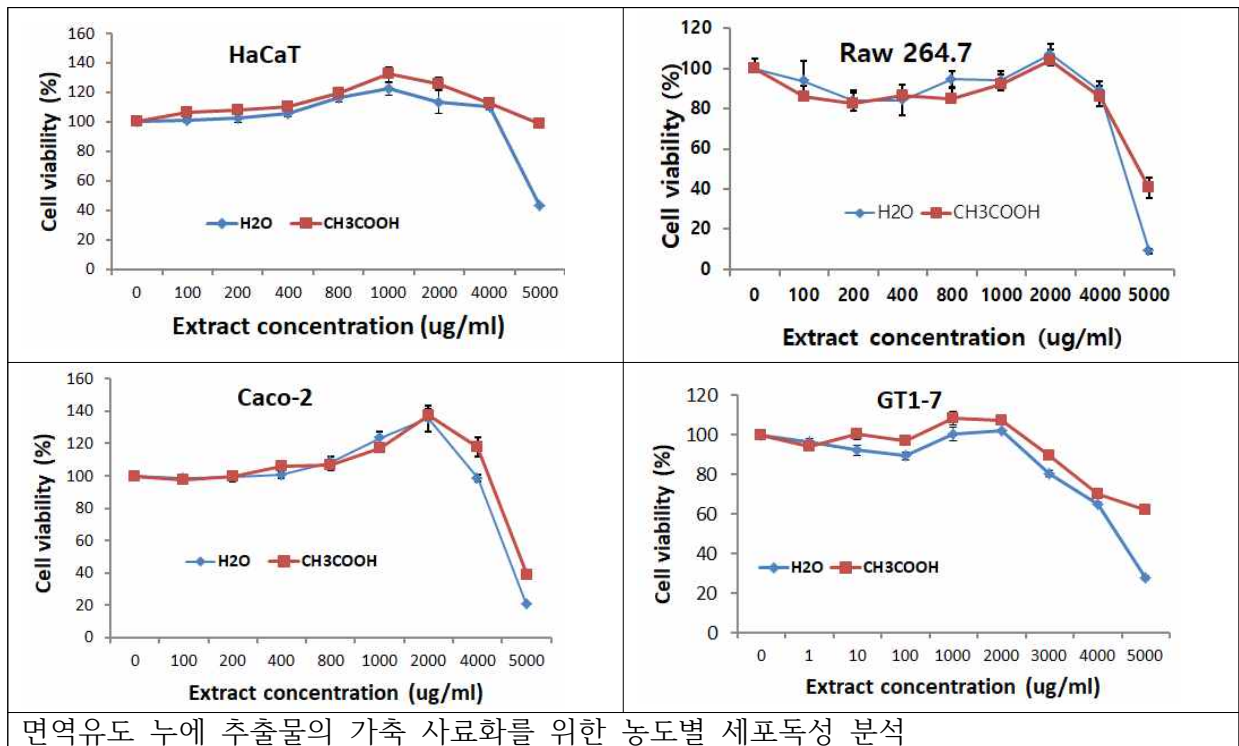
- 1) 현재까지 항균펩타이드(antimicrobial peptide; AMP)에 대해 내성을 가지는 균주는 *Burkholderia cepacia*와 *Serratia marcescens* 2종이 보고되었는데, 이들 균주는 외막이 AMP와 반응성이 없거나 AMP에 대한 분해효소를 생산하기 때문인 것으로 판단되고 있음
- 2) 버섯 갈반병의 주요 병원균인 *Pseudomonas tolaasii* 또한, AMP에 대한 내성을 가지는 것으로 확인되었음
- 3) 이들 항균펩타이드 내성균에 대해 melittin과 누에 추출물의 항균활성을 비교 분석한 결과, melittin은 *S. marcescens*와 *P. tolaasii*에 대해 어떠한 항균활성을 나타내지 못하는 반면에, 누에 항균 활성 추출물은 AMP 내성균에 대해 강력한 항균 활성을 나타내었음



Melittin 대비 면역유도 누에 천연항생제 추출물의 항균펩타이드 내성균(*Serratia marcescens* 및 *P. tolaasii*)에 대한 항균 활성 분석

사. 면역유도 누에 유래 천연항생제 추출물의 세포독성 분석

- 1) 면역유도 누에추출물의 가축 사료화를 위한 세포독성을 확인하기 위하여 피부 상피세포(HaCaT), 대식세포(Raw264.7), 소장 상피세포(Caco-2) 및 신경세포(hypothalamic neuronal GT1-7 cells)에 대하여 면역유도 누에 건조분말 추출액의 농도별 MTT assay를 수행하여 세포독성을 분석하였음
- 2) 모든 세포주에 대해 물 추출 및 30% 초산 추출물을 4,000ug 이하 농도로 처리한 경우에는 세포독성을 나타내지 않았으며, 특정 농도 처리구에서는 무첨가구에 비하여 오히려 세포 생존율이 증가하였음



5. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후 대책(후속 연구의 필요성 등): 관련사항 없음

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제 1 절 1차년도

세부 과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	달성도(%)	연구결과
주관: 항균 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발	○ 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 설계 및 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주사전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 선행 조건 실험 ○ 면역 주사 전 적재부 주사라인 홈 내 누에 안착을 위한 주사라인 홈 간격 및 깊이 조건 구명 ○ 면역 주사를 위한 격자분리부 또는 적재부 캠운동을 통한 적재부 주사라인 홈의 누에 삼입을 위한 조건 실험 ○ 자동 면역 유도 장치 시스템 설계 	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활성화 누에를 부드러운 소재의 적재부 및 요동부를 이용하여 물리적인 방법으로 주사라인 홈에 안착시키고, 비활성화시켜 고정 후 주사하는 장치로 설계함 ○ 주사라인 홈의 깊이가 얕으면 상처율, 깊으면 이중 삼입률, 상처율이 올라감, 주사라인 홈의 폭이 넓으면 이중삼입률이 올라감, 이중삼입률을 고려할 때 폭 8mm, 깊이 10mm 조건이 상처율이 적은 가장 좋은 조건임 ○ 격자가 있는 세로 캠운동 조건이 누에의 주사라인 홈 이탈을 방지해주고 부드럽게 움직여 상처율 또한 낮음 ○ 누에를 적재부 상에 주사라인 홈에 안착하는 격자 요동부를 통해 안착, 냉풍 급속 비활성화, 적재부 안착 된 누에 일정하게 주사, 면역유도액 침지를 통해 약물(면역유도물질 등)을 빠르고 쉽게 주입하는 누에 대량 면역 유도 장치 설계
	○ 간이유도장치 1차 초기모델 개발 제작 및 보완	<ul style="list-style-type: none"> ○ 간이 유도 장치 특징 및 도면 ○ 간이 유도 장치 요약 	100	<ul style="list-style-type: none"> ○ 낙하 되어 멎쳐진 누에를 적재부 상에 골고루 퍼서 니들에 찢리는 개수가 개체마다 거의 균일한 누에 대량 면역 유도 장치 제작 ○ 별도의 수작업 없이도 격자를 사용함으로써 상처와 탈락 이중 삼입 등을 줄여 적재부 상의 주사라인 홈에 누에를 위

				<p>치시킬 수 있음, 면역유도액 주입량을 개체마다 거의 균일하게 유지할 수 있음, 물 사용 없이 냉풍으로 누에를 비활성화할 수 있어 작업 시간을 단축시킬 수 있음, 침지를 통한 면역유도액 주입 단계를 분리시켜 오랜 시간 동안 면역유도액에 담가둘 수 있어 면역유도액 주입량을 최대로 높일 수 있음, 추후 적재부 누에 분리 시 상처 및 탈락률을 줄이고 센서 및 제어부 보완 공정 추가 예정</p>
	○ 누에 생체 내 면역원의 누에 마취조건 구명	○ 비활성화(groogy) 마취조건 실험		○ 산업적으로 빠른 기절 시간과 체외 물기가 없이 주사라인 홈 안착 조건이 우수한 조건 -55℃ 냉풍에 3.5분 노출 시킨 조건이 가장 적절함
위탁1: 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발	○ 누에 생체 내 천연항생제 최대 유도를 면역 유도제 선발	○ 누에의 선천성 면역기전을 인위적으로 유도하기 위한 최적 균주 선발	100	○ 면역유도제로는 유산균(<i>Lactobacillus casei</i>), 대장균(<i>Escherichia coli</i>), 황색포도상구균(<i>Staphylococcus aureus</i>) 및 곤충병원균(<i>Serratia marcescens</i>) 등 총 4종의 생균을 사용한 결과, 그람음성균과 그람양성균에 대하여 가장 높은 항균 효능을 나타낸 <i>L. casei</i> 를 누에 생체 내 천연 항균 물질 대량생산을 위한 면역유도 제로 최종 선발하였음
	○ 선발면역 유도제의 최적 처리 조건 구명	○ 선발 면역 유도제 이용 누에 생체 내 항균펩타이드 대량 발현을 위한 주사 농도 및 처리 시간 구명	100	○ 선발 면역유도 제인 <i>L. casei</i> 의 최적 처리조건을 확립하기 위하여 처리농도를 $1 \times 10^4 \sim 10^9$ cfu/ml로 달리하여 처리한 결과, <i>L. casei</i> 를 $1 \times 10^{7-9}$ cfu/ml의 농도로 주사했을 때 가장 많은 천연항생물질이 발현됨을 확인할 수 있었음
	○ 면역 유도제 주입 후 누	○ 기존 밝혀진 누에 유래 항균펩타이드	100	○ 누에 유래 항균펩타이드 cecropin A 유전자의 전사체는 2

	<p>에 생체내 전사체 발현 분석에 의한 천연항생제 최대 발현 시기 구명</p>	<p>유전자 중 cecropin A에 대한 전사체 발현 분석을 real-time PCR에 의해 분석</p>		<p>시간 이후부터 증가하기 시작하여, 24시간 후에 최대 발현을 나타내다가 이후 급격하게 감소하였음</p>
	<p>○ 면역이 유도된 누에의 특성 분석</p>	<p>○ 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석 ○ 누에 유래 천연항생제의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석 ○ 누에 유래 천연항생제의 단백질가수분해효소에 대한 저항성 분석</p>	<p>100</p>	<p>○ 대장균 등 9종 균주에 대한 항균활성 분석 결과, 균주에 따라 다소의 활성 차이는 있었으나 9종 균주 모두에 높은 항균 활성을 나타내었으며, 특히 항생제내성균과 진균에 대해서도 매우 높은 항균 활성을 나타내었음 ○ 면역유도 누에 추출물에 대하여 유산균 3종에 대한 선택적 저해 활성 분석결과, 항균활성 추출물의 경우에는 멜리틴에 비하여 높은 선택적 저해 활성을 나타냄 ○ 면역유도 누에의 체액 이용 단백질가수분해효소에 대한 저항성을 멜리틴과 비교분석한 결과, 멜리틴에 비해 높은 저항성을 가지는 것으로 확인됨</p>
		<p>○ 개발한 면역 유도제 및 면역유도 조건을 주관과제에 제공</p>	<p>100</p>	<p>○ 누에 생체 내 천연항생제 대량 생산을 위한 개발 면역유도제인 L. casei를 주관과제에 분양함 ○ 누에 생체 내 천연항생제 대량 생산을 위한 면역유도제(L. casei)의 최적 면역유도 조건을 제공함</p>

제 2 절 2차년도

세부 과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	달성도(%)	연구결과
주관: 항공 활성을 보유한 면역유도 누에 대량생산을 위한 면역원 주사 자동화 시스템 개발	○ 누에 생체 내 면역원을 동시 대량 연속 주사할 수 있는 자동 유도 장치 개발 및 제작(1차년도 문제점 보완 및 추가)	○ 비활성화와 공정 제거 및 주사라인 삽입 방법 개선 ○ 1차년 개발 장치와 2차년 개선 장치의 개선점 비교	100	○ 1차년 개발 장치에 비해 2차년 개발 장치는 안정성, 작업효율 향상 누에 생존율은 평균 작업 1시간 후 5.6%, 20시간 후 26.2% 향상
	○ 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화	○ 누에 자동조사 시스템 2차년도 개선	100	○ 주사라인 홈의 폭 8mm, 깊이 10mm 조건 시 상처율이 적은 가장 좋은 조건임 ○ 1번 면역 유도 주사 시 528개 (33*16)의 주사바늘이 동시에 면역유도 주사함(5회 반복 실험 결과 누에 개체 당 2~3 부위에 주사 시 1회에 평균 98.5두 면역 주사 가능함)
	○ 규모별 생산 체제 모델 제시, 원가 분석, 경제성 분석, 현장 적용 등	○ 누에 면역유도 분말 상품화 및 모델 제시함 ○ 원가분석, 경제성 분석, 현장 적용 등 ○ 면역유도 누에 사료 첨가제로서의 경제성 분석 ○ 시판되고 있는 사료 첨가제 (양계제품)	100	○ 3개 모델(그린 누에 플러스) 120g, 1kg, 5kg ○ 1kg 분말생산 시 면역유도비: 1,500원 (16.7배 향상) ○ 1kg 분말생산 시 면역 판매가: 130,000원 ○ 경제성 타진을 통한 시제품 제작 및 산업화 - 생산량 당초 개발: 28,800두/1일 → 연구목표: 140,000두/1일 → 연구결과: 552,960두/1일 - 노동력 (28,800두 면역 유도 누에 생산 시간) 당초 개발: 8시간/1일 → 연구목표: 1시간36분/1일 → 연구결과: 24분/1일 - 생산비

				(면역 유도 분말 1kg 생산시 비용) 당초 개발: 25,000원/1kg → 연구목표: 5,000원/1kg분말 → 연구결과: 1,500원/1kg 분말
위탁1: 누에 생체 내 천연항생제 대량생산을 위한 최적 면역유도 조건개발 대량생산된 면역유도 누에의 특성 분석	○ 대량 생산된 면역유도 누에의 특성 분석	○ 주관과제에서 생산된 면역유도 누에의 체액 이용 항균 및 항진균 활성 분석	100	○ 항균 활성은 사용된 3종 균주 모두에서 면역유도 누에의 혈림프 농도 의존적으로 증가, 누에 면역유도 자동화장치는 면역유도 효율이 매우 높은 것으로 판단
		○ 주관과제에서 생산된 면역유도 누에의 건조분말로부터 천연항생제 추출기술 개발	100	○ 추출 용매로 80% 초산 추출 용매의 사용은 에탄올이나 메탄올을 사용하는 것에 비하여 면역유도 건조분말로부터 항균 활성 물질을 과량으로 추출할 수 있었음 ○ 면역유도 건조분말 100g 당 추출 용매 10배액을 첨가하여 100℃에서 30분간 끓인 후, 원심 분리 하여 상등액을 회수한 다음, 상등액을 필터링함으로써 순수 상등액 회수하고, 상등액을 12시간 동안 농축하여 항균 활성 추출물을 확보
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 항균 및 항진균 활성 분석	100	○ 천연항생제 추출물을 살모넬라균과 진균에 대하여 항균 활성을 분석한 결과 진균 및 살모넬라균 모두에 대하여 강력한 항균 활성이 나타남
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 가축 등 병원균에 대한 최소 저해 활성 농도 설정	100	○ 6종에 균에 대해 누에 건조분말 추출물의 MIC 범위는 200 ~300 ug/100ul 측정됨 ○ 충치균 및 진균류는 6종 세균에 비하여 MIC가 다소 높게 측정됨
		○ 누에 유래 천연항생제 추출물의 유해균 및 유익균에 대한 선택적 저해 활성 분석	100	○ 면역유도 누에추출물 내에는 체액과 달리 유해균과 유익균을 선택적으로 사멸할 수 있는 항균물질이 포함된 것으로 추정
		○ 누에 유래 천연항생	100	○ melittin은 S. marcescens와 P. t

		제 추출물의 단백질 가수분해효소에 대한 저항성 분석		olassii에 대해 항균 활성을 나타내지 못하며 누에 항균 활성 추출물은 AMP 내성균에 대해 강력한 항균 활성을 나타냄
		○ 면역유도 누에추출물이 가축 사료화를 위한 세포독성을 확인	100	○ 모든 세포주에 대해 물 추출 및 30% 초산 추출물을 4,000ug 이하 농도로 처리한 경우 세포독성 나타나지 않았으며, 특정 농도 처리구에서는 무침가 구에 비해 세포 생존율이 증가

제 4 장 연구 결과 및 활용계획

- 누에 생체 내 천연항생제(항균펩타이드) 대량 생산을 위한 면역유도 방법 개발
- 천연 항생제 발현 유도 누에의 가금류 면역증강 사료첨가제로서 효능 인정(국립축산과학원) 및 사료공정서 등록(농림축산식품부 고시, '16)을 통한 양산체계 구축
- 누에 유래 항생제 대체물질 및 기능성 사료자원 개발을 위한 기술 확립
- 고효율 항생제 대체물질 개발 및 적용을 통한 고품질 안전 가금 산물 생산기술 확립
- 천연항생제 생산 누에 이용 사료 제제화 및 제형화 시스템 실용화
- 면역유도 물질을 이용한 누에 생체 내 대량 천연항생제 유도 장치 개발
- 타 곤충을 이용한 가축, 어류용 기능성 사료첨가제 개발에 활용
- 면역 유도 물질을 누에 생체 내 주입하는 천연항생제 대량 주사 장치 개발을 통해 면역 유도 누에의 대량생산이 가능함
- 대량 생산된 면역 유도 누에를 이용한 사료첨가제의 제제화 및 제형화 시스템 구축
- 항균물질을 포함하는 기능성 누에를 이용한 사료첨가제의 개발 기술은 고부가가치 섬유 및 식·의약 소재를 포함 새로운 분야로 기술범위 확대
- 누에 유래의 기능성 검증을 통한 사료첨가제 개발은 여타의 곤충에 대한 새로운 소재화의 가능성을 증대
- 천연항생제 유도 누에의 대량 생산 체계 구축
- 고부가가치 천연항생제 생산 누에 개발에 따른 양잠농가의 소득 증대 및 농가 수 확대
- 누에 자체의 부가가치 상승뿐만 아니라 사료회사 및 동물의약품 회사 등 관련 산업의 동반성장으로 인한 경제적·산업적 이득이 예상됨 (농협, 농업기술센터, 농가 등 협력)
- 고품질 안전 가금산물 생산을 통한 농가 소득 증대, 소비자 신뢰 확보 및 국가 경쟁력 제고
- 면역증가 및 항균효과를 가지는 천연 사료첨가제 개발을 통한 고품질 안정 축산물 생산
- 수입 축산물과 차별화된 고품질 안전 축산물에 대한 소비자의 수요증가로 축산농가의 소득 증대
- 천연항생제 생산 누에의 사료첨가제으로써 적용범위 확대 가능
- 누에는 각종 유용단백질을 다량 함유하고 있어 사료첨가제로 사용시 가축의 성장촉진 효과 기대
- 곤충 유래 천연항생제 사용으로 화학항생제 사용감소에 따른 인체 부작용 감소
- 천연항생제 생산 누에의 사료첨가제제형 개발기술 확립에 따른 해외 사료첨가제 수입 의존도 감소 기대
- 면역증가 및 항균효과를 가지는 천연 사료 첨가제 개발을 통한 고품질 안정 축산물 생산
- 천연항생제 생산 누에 공장 개발 및 효능분석에 따른 논문게재, 특허출원, 산업체 기술이전
- 곤충 유래 천연항생제 사용으로 화학항생제 사용감소에 따른 인체 부작용 감소
- 누에의 선천적 면역기전을 유도하는 우수한 면역유도제를 선발하고 선발 면역유도제의 최적 처리조건을 구명함으로써 누에 생체 내 천연항생제 유효성분의 대량발현이 가능함
- 면역유도 누에 유래 천연항생제를 기 상품화된 벌독 유래 melittin (Sigma사)과의 항균 활성을 비교한 결과, melittin에 비해 단백질가수분해효소에 대한 높은 저항성을 가지는 것으로 확인되었으며, 면역유도 누에 유래 천연항생제의 개발은 melittin에 비하여 경제적 측면에서도 매우 긍정적 임

참고문헌

1. Tanaka, H., Yamakawa, M. Regulation of the innate immune responses in the silkworm, *Bombyx mori*. *Isj-Invert Surviv J* **2011**, *8*, 59-69.
2. Silverman, N.; Zhou, R.; Stoven, S.; Pandey, N.; Hultmark, D.; Maniatis, T. A *Drosophila* I κ B kinase complex required for Relish cleavage and antibacterial immunity. *Genes Dev* **2000**, *14*, 2461-2471.
3. Tanaka, H.; Matsuki, H.; Furukawa, S.; Sagisaka, A.; Kotani, E.; Mori, H.; Yamakawa, M. Identification and functional analysis of Relish homologs in the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochim Biophys Acta* **2007**, *1769*, 559-568.
4. Tamura, T.; Thibert, C.; Royer, C.; Kanda, T.; Abraham, E.; Kamba, M.; Komoto, N.; Thomas, J.L.; Mauchamp, B.; Chavancy, G.; Shirk, P.; Fraser, M.; Prudhomme, J.C.; Couble, P. Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a piggyBac transposon-derived vector. *Nature Biotechnology* **2000**, *18*, 81-84.
5. Berghammer, A.J.; Klingler, M.; and Wimmer, E.A. A universal marker for transgenic insects. *Nature* **1999**, *402*, 370-371.
6. Goo, T.W.; Yun, E.Y.; Kim, S.W.; Choi, K.H.; Kang, S.W.; Yu, K.; Kwon, K.; Kwon, O.Y. *Bombyx mori* protein disulfide isomerase enhances the production of nuecin, an antibacterial protein. *Bmb Rep* **2008**, *41*, 400-403.
7. Horn, C.; Schmid, B. G.; Pogoda, F. S.; Wimmer, E. A. Fluorescent transformation markers for insect transgenesis. *Insect Biochem Mol Biol* **2002**, *32*, 1221-1235
8. Thomas, J.L.; Da Rocha, M.; Besse, A., Mauchamp, B.; Chavancy, G. 3xP3-EGFP marker facilitates screening for transgenic silkworm *Bombyx mori* L. from the embryonic stage onwards. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **2002**, *32*, 247-253.
9. Kim, J.K.; Lee, E.; Shin, S.; Jeong, K.W.; Lee, J.Y.; Bae, S.Y.; Kim, S.H.; Lee, J.; Kim, S.R.; Lee, D.G.; Hwang, J.S.; Kim, Y. Structure and function of papiliocin with antimicrobial and anti-inflammatory activities isolated from the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*, *J Biol Chem* **2011**, *286*, 41296-41311.
10. Barton, M.D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutr Res Rev*, **2000**, *13*, 279-299.
11. Baltzer, S.A.; Brown, M.H. Antimicrobial peptides: promising alternatives to conventional antibiotics. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol* **2011**, *20*, 228-235.
12. Andreu, D.; Rivas, L. Animal antimicrobial peptides: an overview. *Biopolymers* **1998**, *47*, 415-433.
13. Steiner, H.; Hultmark, D.; Engstrom, A.; Bennich, H.; Boman, H.G. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* **1981**, *292*, 246-248.
14. Sugiyama, M.; Kuniyoshi, H.; Kotani, E.; Taniai, K.; Kadono-Okuda, K.; Kato, Y.; Yamamoto, M.; Shimabukuro, M.; Chowdhury, S.; Xu, J. Characterization of a *Bombyx mori* cDNA encoding a novel member of the attacin family of insect antibacterial proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **1995**, *25*: 385-392.
15. Tanaka, H.; Ishibashi, J.; Fujita, K.; Nakajima, Y.; Sagisaka, A.; Tomimoto, K.; Suzuki, N.;

- Yoshiyama, M.; Kaneko, Y.; Iwasaki, T.; Sunagawa, T.; Yamaji, K.; Asaoka, A.; Mita, K.; Yamakawa, M. A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **2008**, *38*, 1087–1110.
16. Hara, S.; Yamakawa, M. Moricin, a novel type of antibacterial peptide isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *J Biol Chem* **1995**, *270*, 29923–29927.
 17. Kaneko, Y.; Tanaka, H.; Ishibashi, J.; Iwasaki, T.; Yamakawa, M. Gene expression of a novel defensin antimicrobial peptide in the silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci Biotechnol Biochem* **2008**, *72*, 2353–2361.
 18. Tanaka, H.; Sagisaka, A.; Nakajima, Y.; Fujita, K.; Imanishi, S.; and Yamakawa, M. Correlation of differential expression of silkworm antimicrobial peptide genes with different amounts of rel family proteins and their gene transcriptional activity. *Biosci Biotechnol Biochem* **2009**, *73*: 599–606.
 19. Belluco, S.; Losasso, C.; Maggioletti, M.; Alonzi, CC.; Paoletti, MG.; Ricci, A. Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2013**, *12*: 296–313
 20. Balit, CR.; Geary, MJ.; Russell, RC.; Isbister, GK. Prospective study of definite caterpillar exposures. *Toxicon* 2003. *42(6)*:657–62.
 21. Beckett, JL.; Oltjen, JW. Estimation of the water requirement for beef production in the United States. *J Anim Sci* **1993**, *71(4)*:818–26.
 22. Bukkens, S. Insects in the human diet: nutritional aspects. In: Paoletti MG, editor. Ecological implications of minilivestock: potential of insects, rodents, frogs and snails. **Enfield, N.H.: Science Publisher. 2005**, p 545–77.
 23. Christensen, DL.; Orech, FO.; Mungai, MN.; Larsen, T; Friis, H.; Aagaard-Hansen, J. Entomophagy among the Luo of Kenya: a potential mineral source? *Int J Food Sci Nutr* **2006**, *57(3-4)*:198–203.
 24. DeFoliart, GR. Insects as human food: gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. *Crop Prot* **1992**, *11(5)*:395–9.
 25. Kim S.R., Hong M.Y., Park S.W., Choi K.H., Yun E.Y., Goo T.W., *et al.* Characterization and cDNA cloning of cecropin-like antimicrobial peptide, Papiliocin from the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. *Mol Cells* **2010**, *29*: 419–423.
 26. Morishima I., Suginaka S., Ueno T., Hirano H. Isolation and structure of cecropins, inducible antibacterial peptides, from the silkworm, *Bombyx mori*. *Comp Biochem Physiol B* **1990**, *95*: 551–554.
 27. Bulet P., Hetru C., Dimarcq J., Hoffmann D. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Dev Comp Immunol* **1999**, *23*, 329–344.
 28. Boman H.G. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* **1995**, *13*, 61–92.
 29. A review of innate immunity of silkworm, *Bombyx mori*. *Afr j Agric Res* **2013**, *8(20)*, 2319–2325.
 30. Brogden K. A. **2005**. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. *Nature Rev. Microbiol.* *3*, 238–250.
 31. Casteels, P, Ampe, C, Riviere, L, Damme, J. V, Elicone, C, Flemin, M, Jacobs, F. and Tempst,

- P. **1990**. Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Eur. J Biochem.* 187, 381-386.
32. Choi, Y. C, Park, K. H, Nam, S. H, Jang, B. G, Kim, J. H, Kim, D. W. and Yu, d. J. **2013**. The Effect on Growth Performance of Chicken Meat in Broiler Chicks by Dietary Supplementation of Black soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens* (Diptera : *Stratmyidae*). *J. Seric. Entomol. Sci.* 51, 30-35.
33. Hoffman, . A, Kafatos, F. C, Janeway, C. A. and Ezekowitz, R. A. **1999**. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 284, 1313-1318.
34. Kim, A. R, Lee, Y. J, Kang, M. S, Kwag, S. I. and Cho, J. K. **2007**. dissemination and tracking of *Salmonella* spp. in integrated broiler operation. *J. Ver. Sci.* 8, 155-161.
35. Kim, S. R, LEe, E. M. Yoon, H. J, Choi, Y. S, Yun, E. Y, Hwang, J. S, Jin, B. R, Lee, I. H. and Kim, I. **2007**. Antibacterial activity of peptides synthesized based on the *Bombus ignitus* abaecin, a novel prolinerich antimicrobial peptide. *Int. J. Indust. Entomol.* 14, 147-150.
36. Lee, H. W, Hong, C. H. and Jung, B. Y. **2007**. Characteristics of *Salmonella* spp. isolated from poultry carcasses. *Korean J. Ver. Serv.* 30, 339-351.
37. Looft, T, Johnson, t. A, Allen, H. K, Bayles, D. O, Alt, D. P, Stedtfeld, R. D, Sul, WJ, Stedtfeld, T. M, Chai, B, Cole, J. R, Hashsham, S. A, Tiedje, J. M. and Stanton, T. B. **2102**. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 1691-1696.
38. Otvos, L. **2000**. Antibacterial peptides isolated from insects. *J. Peptide Science* 6, 797-811.
39. Park, S. I, Kim J. W. and Yoe, S. M. **2015**. Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Dev. Comp. Immunol.* 52, 98-106
40. Walkenhorst, W. F, Klein, J. W, Vo, P. and Wimley, W. C. **2013**. pH Dependence of microbe Sterilization by cationic antimicrobial peptides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 7, 3312-3320.
41. Yi, H. Y, Chowdhury, M, Huang, Y. D. and Yu, X. Q. **2014**. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 5807-5822.
42. Yoo, J. H, Park, G. H, Sung, J. S, Song, H. N, Shin, S. Y, Jung, W. H. and Jung, M. H. **2014**. Feed additives in broiler diets to produce healthy chickens without in-feed antimicrobial compounds. *CNUJournal of Agricultural Science.* 41, 441-453.
43. Zasloff, M. **2002**. Antimicrobial peptides of multicellular organism. *Nature* 415, 329-344.
44. Hancock R. E. and A. Patrzykat. **2002**. Clinical development of cationic antimicrobial peptides: from natural to novel antibiotics. *Curr. Drug Targets Infect Disord.* 2, 79-83.
45. Lambert, J. E. Keppi, J. L. Dimarcq, C. Wicker, J. M. Reichhart, B. Dunbar, P. Lepage, Dorselaer. A. Van, J. Hoffmann, J. Fotherfill and D. Hoffmann, **1989**. insect immunity: isolation from immune blood of the dipteran *Phormia terranova* of two insect antibacterial peptides with sequence homology to rabbit lung macrophage bactericidal peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 86, 262-266.
46. Yeaman, M. R. and N. Y. Yount. **2003**. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Re.* 55, 27-55.

47. Bexfield A, Nigam Y, Thomas S, Ratcliffe NA (2004) Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbes and Infection* 6, 1297-1304.
48. Bexfield A, Bond AE, Roberts EC et al. (2008) The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a <500 Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Microbes and Infection* 10, 325-333.
49. Blueman D, Bousfield C (2012) The use of larval therapy to reduce the bacterial load in chronic wounds. *Journal of Wound care* 21, 244-253.
50. Chaberris L, Woodrow S, Brown AP et al. (2003) Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases of the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *The British Journal of Dermatology* 148, 14-23.
51. Feng GJ, Zhu ZG, YU CL et al. (2007) Study of anticoagulant activity of ethanol extracts from leech in vitro. *Zhong Yao Cai* 30, 909-911.
52. Ganz T (2002) Antimicrobial polypeptides in host defense of the respiratory tract. *The Journal of Clinical Investigation* 109, 693-697.
53. Hoffmann JA, Reichhart JM, Hetru C (1996) Innate immunity in higher insects. *Current Opinion Immunology* 8, 8-13.
54. Kawabata T, Mitsui H, Yokota K, Ishino K, Oguma K, Sano S (2010) Induction of antibacterial activity in larvae of the blowfly *Lucilia sericata* by an infected environment. *Medical and veterinary Entomology* 24, 375-381.
55. Lee JH, Kim IW, Kim SH et al. (2015) Anticancer Activity of the Antimicrobial Peptide colopendrasin VII Derived from the Centipede, *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 25, 1275-1280.
56. Myers HM, Tomberlin JK, Lambert BD, Kattes D (2008) Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. *Environmental entomology* 37, 11-15.
57. Rifflet A, Gavalda S, Téné N et al. (2012) Identification and characterization of a novel antimicrobial peptide from the venom of the ant *Tetramorium bicarinatum*. *Peptides* 38, 363-370.
58. Singh NK, Pakkianathan BC, Kumar M et al. (2013) Vitellogenin from the silkworm, *Bombyx mori*: an effective anti-bacterial agent. *PloS One* 8, e73005, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073005>.
59. Singh CP, Vaishna RL, Kakkar A, Arunkumar KP, Nagaraju J (2014) Characterization of antiviral and antibacterial activity of *Bombyx mori* seroin proteins. *Cellular Microbiology* 16, 1354-1365.
60. Thomas S, Andrews AM, Hay NP, Bourgoise S (1999) The antimicrobial activity of maggot secretions: results of a preliminary study. *Journal of Tissue Viability* 9, 127-132.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 2018년도 농식품연구성과후속지원 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 2018년도 농식품연구성과후속지원 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.