

발 간 등 록 번 호

11-1543000-001227-01

백합 대량증식용 조직배양용기 개발
(Development of tissue culture container
for lily mass propagation)

(주)한국과기산업

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “백합 대량증식용 조직배양용기 개발에 관한 연구” 과제(세부과제 “백합 조직 배양자구 대량증식용 조직배양용기 개발에 관한 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2016 년 1 월

주관연구기관명 : (주)한국과기산업

주관연구책임자 : 심 규 만

세부연구책임자 : 심 규 만

연 구 원 : 엄 대 영

연 구 원 : 임 건 우

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 백합 대량증식용 조직배양용기 개발				
	(영문) Development of tissue culture container for lily mass propagation				
주관연구기관	(주)한국과기산업		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 기업부설연구소	
참 여 기 업				(성명) 심 규 만	
총연구개발비 (26,700천원)	계	26,700천원	총 연구 기간	2014.12 17.~2015 .12 16 .(1년 0월)	
	정부출연 연구개발비	20,000천원	총 참 여 연구 원 수	총 인 원	3인
	기업부담금	6,700천원		내부인원	3인
	연구기관부담금			외부인원	0인
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기존 백합 조직배양방식을 벗어나 대규모 생산시설에 적합한 조직배양용기 개발 필요 - 생물반응기를 이용하여 대량 생산된 백합 체세포배를 대량으로 증식하기 위한 새로운 방식 적용 필요 - 높이가 낮고 배양용량을 늘리며 사용이 간편하고 저렴한 가격과 높은 품질을 가진 백합 조직배양자구 대량생산을 위한 조직배양용기 개발 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기존 배양용기 문제점 파악 - 신규 제작할 배양용기에 대한 구조적 설계 - 배양용기 금형 설계 - 배양용기 금형 제작 - 시사출물 제작 및 문제점 보완 - 시제품 생산 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 백합 조직배양자구 또는 인편 배양을 통해 농가에 보급 사업을 진행하고 있는 시군 기술센터의 생산량 증대 및 생산 효율을 높이는 효과 - Golden Seed Project 화훼사업단 내 백합프로젝트 내 백합 대량 생산에 필요한 용기로서 연간 최소 100,000ea 이상의 백합 조직배양종구 생산에 활용 계획 - 현재까지 50,000ea 배양용기를 단국대학교에 납품 완료 - 해외 수입 용기 및 비효율적인 배양용기를 사용하여 백합 기내식물체를 생산하는 연구실 또는 생산 업체의 대량생산용 배양용기로 사용 					

요 약 문

I. 제 목

백합 대량 증식용 조직배양용기 개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

항 목	계 획	실 적	달성도 (%)
연구 성과 목표	조직배양용기 기본 설계	조직배양용기 기본설계 완료	100
	조직배양용기 3D 설계	조직배양용기 3D 설계 완료	100
	조직배양용기 금형 설계	조직배양용기 금형 설계 완료	100
	조직배양용기 금형 제작	조직배양용기 금형 제작 완료	100
	조직배양용기 sample 제작	조직배양용기 sample 제작 완료	100
	조직배양용기 시제품 제작	조직배양용기 시제품 제작 완료	100
	조직배양용기 제품화	조직배양용기 제품화 완료	100
기타		50,000,000원 매출 달성	200

III. 연구개발의 목적 및 필요성

- 배발생 세포 배양으로부터 체세포배 발생 및 필요한 식물체의 대량생산방법은 다양한 품종과 연구를 통해 기술개발이 진행되었음
- 백합 뿐만 아니라 금낭화, 주목나무의 taxol 추출을 위한 대량생산 기술들이 개발되어있음.
- 기존 백합 자구 생산의 방식은 인경구의 저장엽(인편)을 하나씩 분리하여 새로운 배양용기에 옮겨 증식하는 방식으로 작업자의 손이 많이 가며 대량증식의 어려움이 있었음
- 현재의 방식은 여러 가지로 개발이 되었으나 그중 가장 효율적인 대량증식 방법으로 나온 기술은 생물반응기를 이용한 배발생 세포 공정배양을 통한 대량 공정생산 방식임.
- 이를 통해 증식된 배발생 세포를 조직배양용기에 옮겨 배양을 하여 조직배양자구를 생산함.
- 이때 사용되는 조직배양용기는 백합의 구 생산을 위해 규격화된 제품이 아닌 일반 조직배양용으로 생산된 배양용기 또는 소량 배양만이 가능한 소형 용기들로만 사용이 가능하였음.
- 또한 백합 종구 생산에 적합한 형태의 용기를 찾기 위해 유사 크기의 타용도(죽그릇, 음식용기) 용기를 이용하였지만 살균 후 용기의 변형이 발생하거나 오염율이 높아 배양용기로서의 기능을 하지 못하는 실정임.
- 본 연구개발은 이러한 문제점을 해결하기 위하여 백합 조직배양자구 생산에 특화된 조직배양용기를 개발함으로써 백합 농가에 안정적이고 건강한 배양체 공급과 백합 사업의 경제적인 효과를 높일 수 있다고 판단됨

IV. 연구개발 내용 및 범위

연구개발내용	세부연구범위
1. 기존배양용기 문제점 파악	- 기존 사용 중인 용기에 대한 문제점 조사 - 제품 내구성 및 금액 비교
2. 배양용기 구조 설계	- 배양용기 규격 선정 - 배양용기 소재 선정 - 3D 설계 및 목업 작업을 통한 sample 제작
3. 배양용기 금형 설계	- 배양용기 사출 방법 선정
4. 배양용기 금형 제작	- 금형 제작
5. 시사출물 test	- 시사출물 sample 제작 - 구조적 문제점 확인 및 보완 작업 - 용기 내구성 test - 식물 재배 test
6. 시제품 제작	- 시제품 sample 생산
7. 제품 판매에 대한 홍보	- 학회 또는 전시회를 통한 배양용기 판매 홍보

V. 연구개발결과

제품의 생산비와 저장 시 공간활용이 용이한 형태 및 소재의 선정을 통해 직사각형의 PP 재질로 개발한 백합전용 조직배양용기를 제작하였다.

배양용기는 사용 후 보관이 간편하도록 겹치는 구조로 제작하였으며 body와 cap는 크기를 6:4 비율로 하여 배양용기 개봉 시 작업자의 사용상 편의성을 높였으며 슬라이딩을 방지하기 위하여 배양용기 표면을 후처리(샌딩)하였다.

또한, 배양용기의 통기성을 높이기 위하여 배양용기의 body와 cap의 접촉부를 (n)형태로 제작하여 별도의 필터 부착 없이 통기성이 원활하도록 제작하였다.

VI. 연구 성과 및 성과활용 계획

- 강원도농업기술원, 충남농업기술원 화훼시험장 등 백합에 대한 조직배양 연구 및 생산하는 기관과 백합 조직배양을 사업적으로 생산 및 판매하는 업체의 수요 분석을 통해 국내 시장 진입을 계획함.

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표	6
제 1절 연구개발의 목적	6
제 2절 연구개발의 배경	6
제 3절 연구개발의 필요성	6
제 4절 연구개발의 범위	7
제 2 장 국내외 기술개발 현황	8
제 1절 국내외 기술 현황	8
제 2절 현재기술상태의 취약점	8
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	9
제 1절 연구 실적	9
1. 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용	9
2. 연구수행결과	9
가. 기존배양용기 문제점 파악	9
나. 배양용기 기본 설계	10
다. 배양용기 3D 설계	11
라. 배양용기 사출 금형 설계	12
마. 배양용기 금형 제작	12
바. 배양용기 시사출	13
사. 배양용기 시제품 제작	14
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	15
제 1절 목표대비 달성도	15
제 2절 정량적 성과	15
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	16

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1절 연구개발의 목적

본 연구는 백합(나리) 조직배양자구 대량생산에 이용되고 있는 배발생 켈러스를 이용한 2차 배양시 자구를 생산하는 기존 배양용기를 대체하고 보다 실용적이고 편의성이 있는 백합 조직 배양자구 생산 전용 조직배양용기를 개발하고자 하였다.

제 2절 연구개발의 배경

백합은 백합과에 속하는 단자엽 식물로 130여종이 북반구 온대지역에 분포하고 있으며 우리나라에서는 섬말나리를 비롯하여 10여종이 자생하고 있다. 백합은 튜립, 글리디올러스와 함께 세계 3대 구근화훼로서 주산지는 네덜란드, 벨기에 등 유럽국과 미국 그리고 일본이며 주요 품종은 주로 네덜란드에서 육종되어 보급되고 있다. 국내에서는 4대 절화작물의 하나로 종에 따라 절화용 및 화단용으로 이용되고 있다. 국내 절화 재배에 이용되는 백합 종구는 일부 농가에서는 인편 번식을 이용하여 자가 공급을 하고 있었으나 고품질 절화재배 생산이 균일화되지 못하여 기업, 연구기관, 관련대학 등에서 연구 및 보급되는 품종을 받아 재배를 하고 있는 상황이다. 그러나 대부분의 구근은 수입에 의존하는 실정이다. 이러한 점을 해결하기 위해 국내에서는 백합 자구를 대량으로 생산할 수 있는 연구가 진행되었으며 대규모 생산 시스템 확립에 대한 연구결과물도 나오고 있는 상황이다.

백합 우량종구 생산에 사용되는 조직배양 기술 중에는 대표적인 방법은 인편번식방법이다. 가장 보편적이고 안정적인 방법으로써 많은 백합 조직배양 시설에서 사용 중인 번식방법이다. 그러나 기내 인편배양은 절편체당 증식되는 자구의 수가 적어 대량생산에 필요한 여건을 충족시키지 못한다. 최근 들어 켈러스 유도를 이용한 배양방법의 활용을 통해 생물반응기 등을 사용하여 켈러스를 대량으로 생산하는 방법과 배 발생 켈러스를 대량으로 생산하는 방법 등을 이용하여 조직배양 자구 생산을 진행하고 있는 중이다.

제 3절 연구개발의 필요성

백합 배 발생 켈러스를 대량으로 증식하여 고체배양용기에서 소자구를 대량으로 생산하는 기술의 개발이 진행되면서 배양실의 구조 및 배양체 저장방법 등에 대한 문제점이 발생되었다.

백합의 경우 암조건에서 배양이 가능하기 때문에 다량의 배양용기를 적층으로 배양가능하다. 하지만 기존의 조직배양용기는 적층 시 쓰러지건 넘어질 수밖에 없는 구조이며 대량으로 배양하기에 상대적으로 작은 구조이기 때문에 많은 작업량이 필요하게 된다. 이러한 점을 대체하기 위해 적합한 형태의 배양용기를 구매하고자 하여도 시중에 배양용기 중에는 찾을 수 없다.

배발생 켈러스를 유도하여 백합 기내소자구 생산하는 연구시설의 경우 사각형 형태의 죽용기를 임시적으로 사용을 하고 있었으나 고압 멸균 시 배양용기에 변형이 발생하고 이로인해 오염이 발생하여 실용성이 떨어지는 점을 확인하였다. 배발생 켈러스를 이용한 백합 조직배양자구 생산에 필요한 **전용배양용기의 개발**을 통해 자구 생산 효율성을 높이고 대량생산 및 경제성을 가진 백합생산 기술의 확립에 도움이 되는 계기를 마련하게 된다.

제 4절 연구개발의 범위

○ 기존 배양용기 문제점 파악

- 기존 사용 중 인 용기의 가격, 크기, 내구성 등을 파악
- 용기 내부 통기성을 주기 위한 hole 시공 및 필터 부착에 대한 작업성 검토
- 여성 작업자가 배양용기 사용 시 배양용기의 open 방법의 편의성 검토

○ 배양용기 구조 설계

- 고압멸균기 사용 시 용기의 변형이 오지 않고 내구성을 가지기 위해 소재의 두께를 선정
- 통기가 가능하며 오염이 되지 않는 구조 배양용기 뚜껑과 몸체구조 설계
- 압배양 조건과 내구성 및 생산비용을 고려하여 배양용기 소재 선정
- 백합 조직배양자구 생산 시스템에 효율적인 활용에 적합한 높이로 설계
- 뚜껑과 본체는 세척 후 포개짐이 가능한 구조로 설계
- 배양 시 용기를 여러 단으로 쌓기 편하도록 뚜껑과 본체가 맞는 부분에 가이드를 설계
- 3D 설계를 통한 세부적인 제품 설계

○ 배양용기 금형 설계

- 용기 소재에 적합한 사출방법을 고려하여 이제 맞는 금형 설계
- 용기 사출시 발생하는 런너의 발생을 줄일 수 있는 형태로 설계

○ 배양용기 금형 제작

- 생산 규모를 고려하여 금형 1벌당 생산 가능한 케비티 수를 선정

○ 배양용기 시사출물 제작

- 시사출물 제작 및 구조 검토
- 문제점 보완 및 금형 수정
- 보완된 시제품 내구성 test(고압멸균 횟수에 따른 내구성 test)
- 백합 조직배양식물체 생육 test

○ 배양용기 시제품 제작

- 전국 백합 조직배양자구 생산 연구 기관 및 생산업체 시제품 sample 공급

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내외 기술 현황

국내의 경우 회사나 연구기관 마다 재배하는 작물에 따라 새롭게 개발 또는 제작한 배양용기를 사용하거나 또는 특허 출원이나 등록을 진행한 제품들은 많이 개발되었다..

다만, 백합 조직배양의 경우 기존 배양용기들을 이용한 형태로 인편배양을 주로 진행하였으며 본 연구기관에서 생산되었던 낮은 형태의 원형 조직배양용기를 이용하여 백합 인편 증식을 한 사례를 찾아볼 수 있다.

지자체의 농업기술원등에서 이러한 배양용기를 사용하고 있으며 암조건의 배양실에서 적층하여 배양을 진행하고 있다.

각 지자체 마다 다소 차이는 있지만 배양실 가용 인력이 부족한 곳에서는 생산량을 높일 수 없는 실정이다.

국내의 조직배양용기는 유리 형태와 플라스틱 형태로 구분되며 점차적으로 플라스틱의 비중이 높아지고 있는 실정이다.

플라스틱 제품은 대부분 고압멸균이 가능한 PC(polycarbonate), PP(polypropylene) 재질의 배양용기와 1회용으로 사용되는 PS(polystyrene)으로 구분하여 제작된다.

배양용기에 재질에 따라 금형 제작 및 사출방법이 다르기 때문에 이러한 경험과 기술력을 보유한 기업은 많이 없다.

제 2절 현재기술상태의 취약점

조직배양기술의 발전과 더불어 이를 이용할 수 있는 하드웨어(배양용기)의 개발이 필요하지만 제조 기술과과 발생되는 문제점을 해결할 수 있는 경험이 부족한 국내에서는 전용 용기개발에 어려움 상황이다.

또한 소규모 생산에 대한 사출업체의 협조 부분에 어려움을 가진다.

본 과제는 제품의 내구성, 편의성, 경제성, 저장성 등 대규모 생산에 적합한 형태의 배양용기 개발 연구를 진행하여 이러한 조건을 최대한 충족할 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 연구 실적

1. 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용

세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
백합 조직배양자구 대량생산 조직배양용기 개발	1. 기존배양용기 문제점 파악	100	- 기존 사용중인 용기에 대한 문제점 조사 - 제품 내구성 및 금액 비교
	2. 배양용기 구조 설계	100	- 배양용기 규격 선정 - 배양용기 소재 선정 - 배양용기 3D 구조 설계
	3. 배양용기 금형 설계	100	- 배양용기 사출 방법 선정 - 배양용기 금형 설계
	4. 백합배양용기 금형 제작	100	- 금형 제작
	5. Sample 시사출	100	- 시사출물 제작 - 구조 및 문제점 검토 - 구조 및 문제점 보완 - 용기 내구성 test - 식물 재배 test
	6. 시제품 제작	100	- 시제품 제작

2. 연구수행 결과

가. 기존배양용기 문제점 파악

- 기존 사용중인 배양용기는 정사각형 모양(13x13x14(h))의 배양용기는 PP제질의 재사용이

가능한 배양용기로서 범용으로 사용이 가능한 외산 제품이였다(그림 1-a). 이 제품의 단점은 용기의 높이가 높아 필요 이상이 공간을 차지하여 조금 낮은 형태가 필요하게 되었으며 사용 시 뚜껑을 열고 닫을 시 힘이 많이 가해져 대량 배양 시 손에 피로가 쌓이게 된다.

- 직사각형의 배양용기는 일회용 죽전용 용기로서 백합 조직배양 자구 생산에 이상적인 높이와 크기를 가지고 있으며 재질은 다른 배양용기와 같은 PP재질이지만 두께가 얇게 제작되어 실제 고압멸균 시 용기의 변형이 일어나 배양물의 오염이 발생하는 문제점이 있다.
- 두 용기는 3-6개월 동안 장기간 배양을 하는데 필요한 환기를 하기 위해 용기에 별도의 hole을 시공하고 필터를 부착하여 사용하기 때문에 작업성이 떨어지게 된다.
- 현재 사용중인 배양용기의 단점과 장점을 비교하여 이에 적합한 배양용기 설계 진행



a. 정사각형 배양용기



b. 직사각형 배양용기



c. 조직배양선반을 이용한 적층

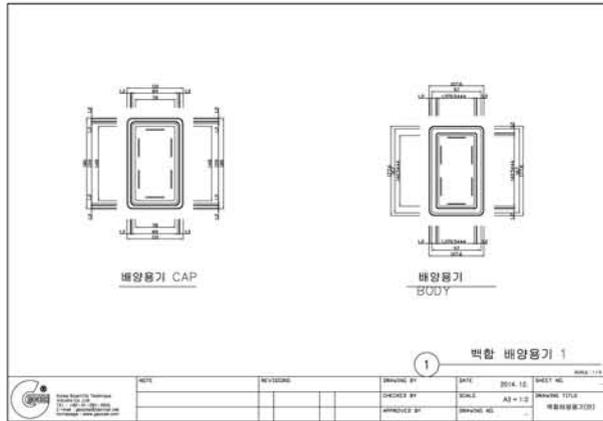


d. 작업상자를 이용한 적층

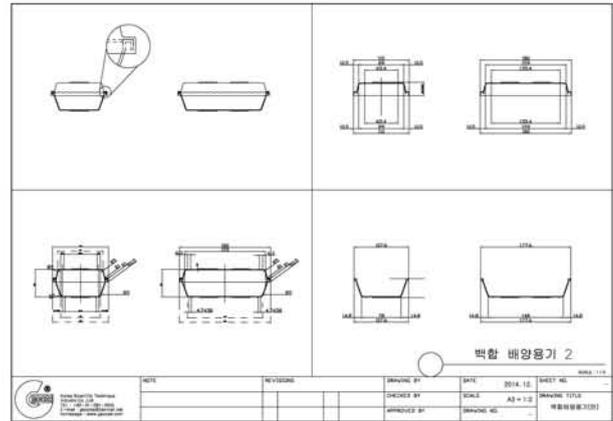
그림 1. 백합 조직배양용기 및 배양 모습

나. 배양용기 기본 설계

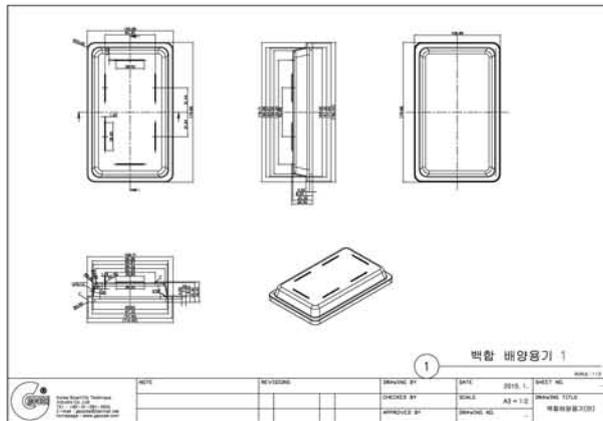
- 배양용기의 크기는 110mm*180mm*57mm(H)으로 하였으며, 조직배양자구 생육 높이를 고려하고 배양용기 적층 시 넘어지거나 쓰러지지 않도록 높이를 선정하였음.
- Body와 Cap은 3:2 비율로 제작하여 계대배양 또는 작업 시 용기의 중간부분을 열어 사용이 편리하도록 설계함.
- 배양용기의 Body와 Cap이 접치는 부분은 오염이 되지 않으면서 환기가 가능한 (n)자 구조로 설계
- 배양용기를 여러 층으로 적층할 경우 용기의 하중이 분산될 수 있도록 구조 설계
- 배양용기를 적층 시 움직임으로 인해 낙하되는 것을 방지하도록 배양용기의 상하부분에 연결 이음 부분 설계



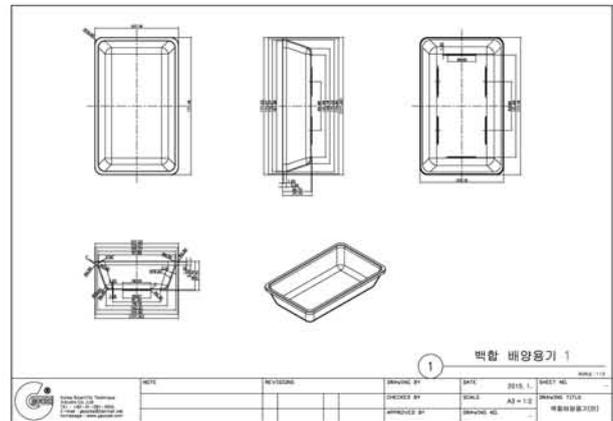
a. 배양용기 평면도



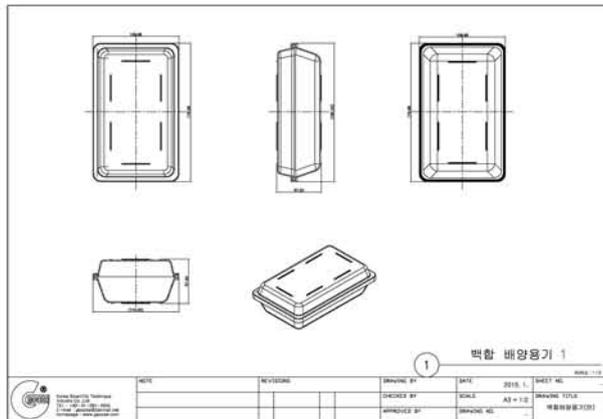
b. 배양용기 단면, 측면도



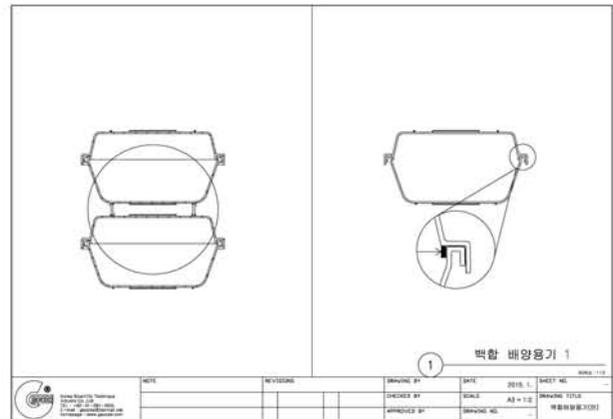
c. 배양용기 CAP 구조도



d. 배양용기 BODY 구조도



e. 배양용기 결합 구조도



f. 배양용기 적층 및 접합부 구조도

그림 2. 배양용기 기본설계

다. 배양용기 3D 설계

- 3D 설계를 통해 금형 설계 전 모델링 수행
- 3D 설계는 제품 금형 설계를 하기 위한 사전 작업으로 진행

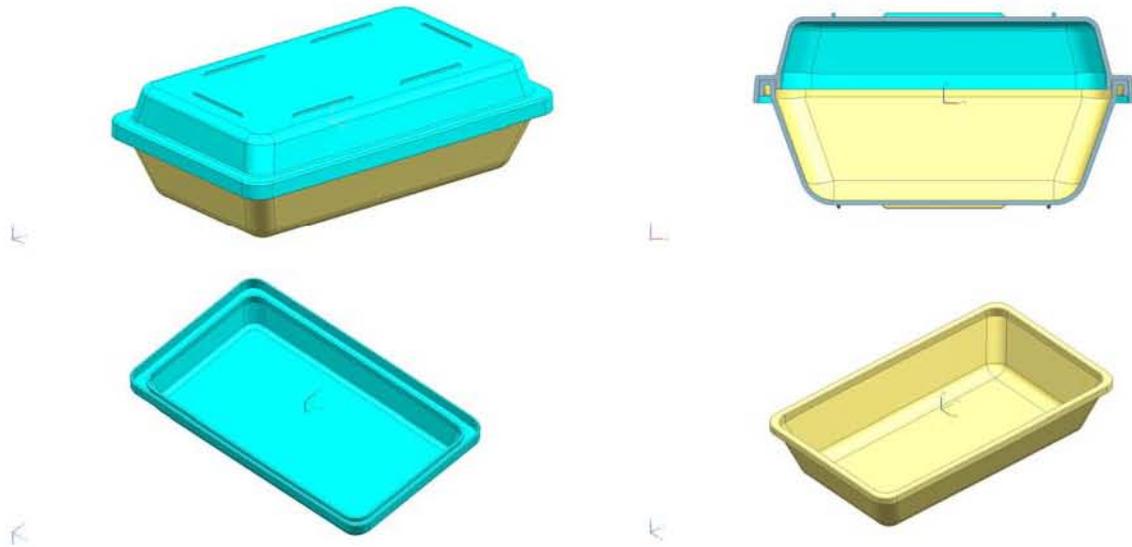
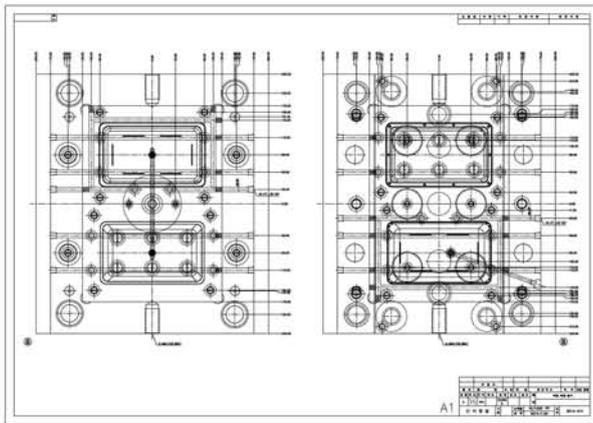


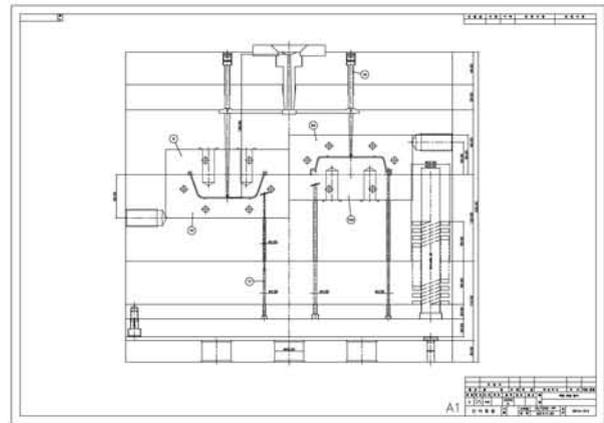
그림3. 배양용기 3D 설계 도면

라. 배양용기 사출 금형 설계

- 금형은 한 캐비티로 단벌로 설계
- 한 금형에 body와 cap을 한 번에 제작 가능하도록 설계
- 플라스틱 소재를 가열 용융상태로 만들어 캐비티 사이의 빈 공간에 주입 후 냉각시킬 수 있도록하는 방식으로 금형 설계
- 플라스틱 소재를 PP로 선정하여 재료 주입 후 잔여물(런너)이 남지 않도록 하트러너 적용



a. 배양용기 사출 금형 설계도



b. 플라스틱 주입구 구조도

그림4. 배양용기 사출 금형 설계도

마. 배양용기 금형 제작

- 배양용기 사출 금형 제작



그림 5. 배양용기 금형 제작

바. 배양용기 시사출

1) 1차 시사출

- 외형 이상 유무 확인
- 내부 코어 마감 및 돌기 마감 라운딩 추가 수정

2) 2차 시사출

- 용기 이상 유무 확인
- 용기 뚜껑 규격 보정 진행(용기 뚜껑과 몸체의 규격 조정 후 헐거움 발생)
- 용기 몸체 하단에 회사명과 제조국 표시 추가

3) 3차 시사출

- 용기 이상 유무 확인
- 사출시 냉각 속도 단축으로 배양용기 바닥 부풀어오름 발생
- 냉각 속도 및 뚜껑 고정 돌기 조정

4) 4차 시사출

- 용기 이상 유무 확인
- 뚜껑 연결부위 고정 돌기 추가
- 뚜껑 및 몸통 테두리 샌딩 처리 추가(넌슬라이딩 처리)

5) 5차 시사출

- 용기 이상 유무 확인
- 제품 로고 표기



a. 1차 시사출물 b. 2차 시사출물 c. 3차 시사출물 d. 4차 시사출물 e. 5차 시사출물
 그림6. 배양용기 시사출물

사. 배양용기 시제품 제작

- 시제품 3,200ea 제작
- 1상자당 200set 단위 포장
- 단국대학교, 강원도농업기술원, 충남농업기술원 등 백합 조직배양 연구기관에 sample 제공

그림 7. 시제품 제작

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 목표대비 달성도

항 목	계 획	실 적	달성도 (%)
연구 성과 목표	조직배양용기 기본 설계	조직배양용기 기본설계 완료	100
	조직배양용기 3D 설계	조직배양용기 3D 설계 완료	100
	조직배양용기 금형 설계	조직배양용기 금형 설계 완료	100
	조직배양용기 금형 제작	조직배양용기 금형 제작 완료	100
	조직배양용기 sample 제작	조직배양용기 sample 제작 완료	100
	조직배양용기 시제품 제작	조직배양용기 시제품 제작 완료	100
	조직배양용기 제품화	조직배양용기 제품화 완료	100
기타		50,000,000 매출 달성	200

제 2절 정량적 성과

성과목표	사업화지표								연구기반지표									
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용		홍보 전 시	기타 (타구용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정채 활용	홍보 전 시		
										SCI	비 SCI							
최종목표			1													1		
연구기간 내 달성실적			1		5천 만원											0		
달성율(%)			100		200											0		

제 5 장 성과활용 계획

- 백합 조직배양자구 또는 인편 배양을 통해 농가에 보급 사업을 진행하고 있는 도기술원이나 시군기술센터에 제품 보급
- GSP 화훼사업단 내 백합프로젝트 내 제품 보급
- 백합과 비슷한 배양조건을 가진 식물체 등을 확인하여 제품 보급
- 재사용이 가능한 제품으로 타분야의 활용도를 높일 수 있다고 판단됨

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술료사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술료사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.