

317027

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

발간등록번호

11-1543000-002676-01

동절기 FMD-AI 방역용 소독제의 부동 희석액 개발 및 산업화 최종보고서

2018.12.31.

주관연구기관 / 농업회사법인 주식회사 과농
협동연구기관 / 경상대학교 수의과대학
협동연구기관 / 농림축산검역본부
참여기관 / (주) 칸젠

동
절
기
F
M
D
-
A
I
방
역
용
소
독
제
의
부
동
희
석
액
개
발
및
사
업
화

최
종
보
고
서

2018

농
림
축
산
식
품
부

농
림
수
산
식
품
기
술
기
획
평
가
원

농 립 축 산 식 품 부

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “동절기 FMD-AI 방역용 소독제의 부동 회석액 개발 및 사업화”(개발기간 : 2017.06. ~ 2018.12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018.12.31.

주관연구기관명 : 농업회사법인 (주) 과농 (대표자) 채원석

협동연구기관명 : 경상대학교 산학협력단 (대표자) 정종일

협동연구기관명 : 농림축산검역본부 (대표자) 박봉균

참여기관명 : (주)칸젠 (대표자) 박태규



주관연구책임자 : 채원석

협동연구책임자 : 이후장

협동연구책임자 : 이광직

참여기관책임자 : 이주하

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	317027-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.01.01.~ 2018.12.31.	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	가축질병대응기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	동절기 FMD-AI 방역용 소독제의 부동 희석액 개발 및 사업화			
연구책임자	채원석	해당단계 참여연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 25명 내부: 18명 외부: 7명	총 연구개발비	정부: 544,000천원 민간: 182,000천원 계: 726,000천원
연구기관명 및 소속부서명	농업회사법인 (주)과농 경상대학교 수의과대학 농림축산검역본부			참여기업명 (주)칸젠	
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											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)	보고서 면수
---	--------

<요약문>

<p align="center">연구의 목적 및 내용</p>	<p>동절기에 주로 발생하는 가축 질병인 구제역과 조류인플루엔자로 인한 피해가 급증하는 상황에서 소독제의 동결로 인한 사용상의 불편이 야기되고 있으나, 이를 해결하기 위한 해결방안이 미흡한 실정이다. 본 연구과제에서는 구제역과 조류인플루엔자 바이러스용 소독제의 결빙현상을 방지하고 소독제 효력을 나타낼 수 있는 부동 희석액을 개발하여 영하의 온도에서 효력을 확인하였다. 또한 결빙되지 않는 부동 소독제를 개발하여 -30℃에서도 동결되지 않게 하였다. 결빙방지를 위해 사용된 물질은 환경친화적인 성분으로 환경에 미치는 영향을 평가하였다. 동절기 현장의 온도별 부동 희석액의 희석비율 결정하였으며 최적화된 부동 희석액과 부동 소독제를 산업화한다.</p>				
<p align="center">연구개발성과</p>	<p>환경부하를 최소로 하는 물질을 사용하여 부동 희석액을 적용장소에 따라 유기계와 무기계로 개발하였으며, -30℃의 온도에서 결빙되지 않음을 확인하였다. 공인시험기관의 결과에 의하면 어는점이 각각 -72.7℃와 -43.1℃로 확인되었다. 부동 희석액으로 희석된 기존 소독제에 대한 영하 온도에서 구제역 및 조류인플루엔자 바이러스의 효력시험을 수행하였고, 소독제 성분의 차이보다는 적용 농도에 따라 효력의 차이가 있었다. 결빙방지와 부식억제를 동시에 구현하는 부동 희석액은 담수조류에 대한 생장저해시험에서 유기계와 무기계 모두에서 >1,000 mg/L의 결과로 확인되었다. 본 과제를 통하여 효력시험지침의 선택시험조건에 대한 정책적인 시험방법을 제안할 수 있었으며 영하의 온도에서 효력시험을 수행할 때 조작이 원활한 저온장치를 개발하였다.</p>				
<p align="center">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>본 과제에서 개발한 부동 희석액은 동절기에 사용되는 기존 소독제의 결빙 현상을 방지하므로 방역활동을 원활하게 할 수 있다. 부동 소독제는 외부 기온이 낮은 동절기에도 얼지 않기 때문에 보온장치가 없는 발판 소독조에 사용할 수 있으며, 항상 외기 노출되어 결빙을 피할 수 없는 차량비치 및 장착용 소독제로 사용이 가능하다.</p>				
<p align="center">국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p align="center">구제역 바이러스</p>	<p align="center">조류인플루엔자 바이러스</p>	<p align="center">부동 희석액</p>	<p align="center">부동 소독제</p>	<p align="center">친환경</p>
<p align="center">영문핵심어 (5개 이내)</p>					

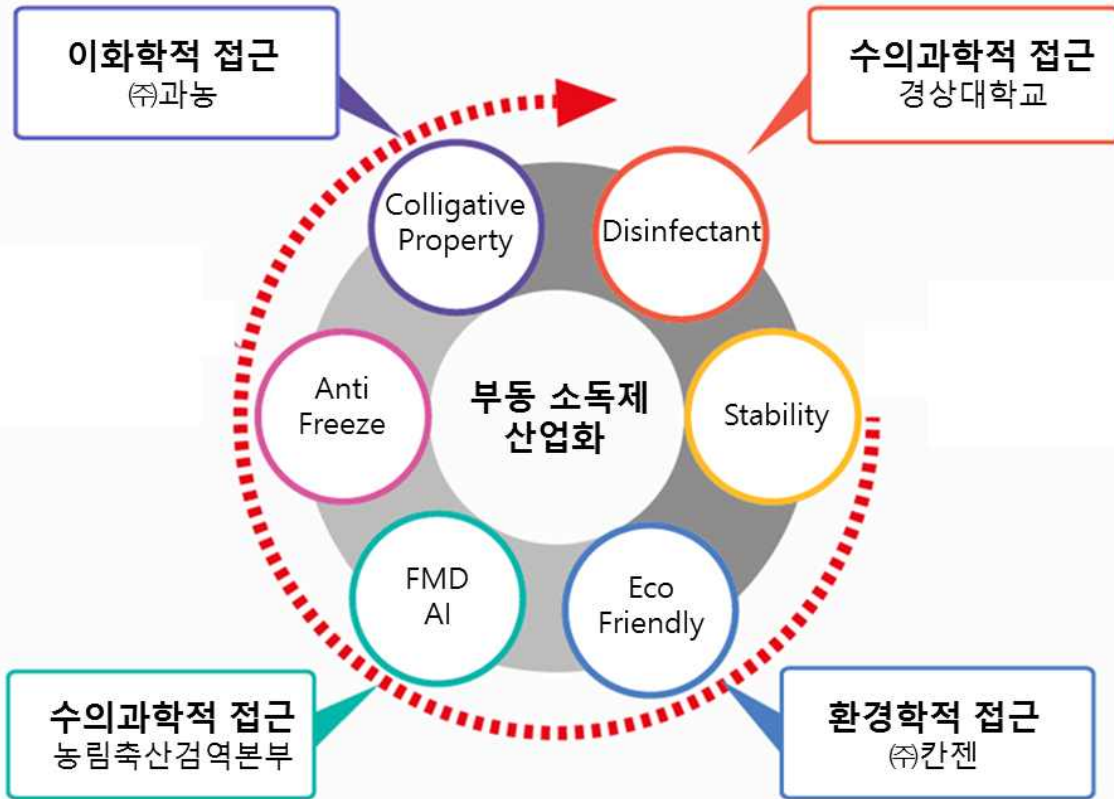
※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	1
1-1. 연구개발 목적	2
1-2. 연구개발의 필요성	4
1-3. 연구개발 범위	5
2. 연구수행 내용 및 결과	9
2-1. 국내외 선행연구 조사 결과	9
2-2. 동결점의 정의와 측정방법	13
2-3. 부동 희석액의 동결점의 측정	15
2-4. 『소독제 효력시험지침』에 따른 부동 희석액 동결시험 조건	24
2-5. 부동 희석액의 최적화 결과	27
2-6. 부동 희석액의 부식 및 억제효과 측정	34
2-7. 소독제의 선정	43
2-8. 구제역 바이러스 소독 효력시험 결과	51
2-9. 조류인플루엔자 바이러스 소독 효력시험 결과	62
2-10. 부동 희석액의 친환경성 시험결과	67
2-11. 부동 소독제 개발 결과	74
2-12. 부동 소독제 안정성 시험 결과	77
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	86
3-1. 목표	86
3-2. 목표 달성 여부	87
3-3. 목표 미달성 시 원인 및 차후대책	87
3-4. 소독제 효력지침 [선택시험조건] 시험방법 조건제시	88
4. 연구결과의 활용 계획 등	91
4-1. 축산농가 출입구 장화(boots) 세정액 및 살균소독제 활용	91
4-2. 동절기 이동수단 전용 부동 살균소독제 : 대형차량	92
4-2. 동절기 이동수단 전용 부동 살균소독제 : 소형차량	93
붙임. 참고 문헌	95
붙임. 증빙 자료	
담수조류 성장저해시험 공인기관 시험결과(유기계)	96
담수조류 성장저해시험 공인기관 시험결과(무기계)	107
부동 소독제 효력시험 승인공문	119
부동 소독제 항균시험 공인기관 성적서	121
부동 소독제 어는점 시험 공인기관 성적서	126
부동 소독제 위해우려제품 검사 공인기관 성적서	127
연구노트 사본	130

1. 연구개발과제의 개요

○ 연구개발 개요 : 동절기 -30℃에서 결빙되지 않는 부동 소독제를 산업화하기 위한 부동 희석액 및 최적 소독제 개발



○ 핵심 기술

- 부동희석액 : 용액의 총괄성(colligative property)을 이용한 용질과 용매의 분자 간 상호작용(수소결합 / 쌍극자 힘) 활용한 어는점 내림
 - 저온에서의 동결방지는 고농도에서 가능하므로 부동희석액의 환경부하 고려
 - $\Delta T = K_f \cdot m \cdot i$ (ΔT =어는점 변화, K_f =어는점 내림상수, m =몰랄농도, i =Van't Hoff 인자)
 - 부식성 고려한 차량(도로)용 부동희석액 : 프로필렌글리콜(Propylene glycol(PG))
 - 경제성 고려한 농장 현장용 부동희석액 : 염화칼슘(Calcium chloride(CaCl_2))
 - PG Van't Hoff 인자 ≈ 1
 - CaCl_2 Van't Hoff 인자 ≈ 2.71
- 부동 소독제 : 부동희석액에 희석되는 소독제는 종류에 따라 희석액과 상호작용으로 효력감소가 예상되므로 안정성에 대한 이화학적 고려 필수
 - 부동희석액과 소독제의 종류별(산화제·산성제 등) 상호작용 유무·정도 판단을 위한 함량분석
 - 상호작용 최소화 및 억제 방안 강구
 - 온도별(25℃~-30℃) 소독 효력 확인

1-1. 연구개발 목적



- 소독제 동결 효력저하
- 도로결빙 사고유발



- 소독제 동결문제 해결
- 소독 효력 입증
- 도로결빙 방지
- 환경부하 최소화

- 부동희석액 개발 및 효력입증 소독제 개발
- 부동희석액 응용분야 확산
- 부동 소독제 적용분야 확대

구분	내용
최종목표	<p>동절기 FMD·AI 방역용 소독제의 부동 희석액 개발 및 산업화</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 25℃ ~ -30℃ 온도별 부동 희석액 혼합비율 확립 ■ 부동희석액 사용 시 소독제 효력 99.99% 확보
세부목표	<p>부동 희석액</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 환경부하 최소 희석액 산업화 ■ 부식성 최소 유기 희석액 : propylene glycol ■ 경제성 최대 무기 희석액 : calcium chloride / potassium acetate ■ 부동 희석액 용법/용량 제시 <p>소독제</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 부동 소독제 산업화 ■ 구연산 / Na-DCC / glutaraldehyde / benzalkonium-Cl / phenolics ■ 부동희석액과 상호작용 최소 또는 억제 ■ FMD-AI 동시 소독 혼용 소독제(산성제+산화제+유기계) 2액형 고려

평가지표	단 위	최종 개발목표	가중치 (%)	객관적 측정방법
				시험규격
1. 부동 희석액 유기계 부동온도	℃	-30	15	공인시험기관
2. 부동 희석액 무기계 부동온도	℃	-30	15	공인시험기관
3. 부동 소독제 유효성 : FMD	%	99.99	15	동물용의약품 유효성평가지침
4. 부동 소독제 유효성 : AI	%	99.99	15	동물용의약품 유효성평가지침
5. 부동 희석액 유기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	10	동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향 평가 시험지침
6. 부동 희석액 무기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	10	동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향 평가 시험지침
7. 부동 소독제 안정성	mon	24	10	동물용의약품 안정성시험지침
8. 부동 희석액 및 최적화 소독제 산업화	%	100	10	제품 품목등록
합계			100	

측정결과외 증빙방법 제시

- 평가지표 1~2의 경우 한국건설생활환경시험연구원의 시험성적서 제출
- 평가지표 3~4의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품 유효성평가지침에 의한 시험성적서 제출
- 평가지표 5~6의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향평가 시험지침에 의한 자료제출
- 평가지표 7의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품 안정성시험지침에 의한 자체 시험수행
- 평가지표 8의 경우 부동희석액은 위해우려제품 관리기준 준수, 소독제는 동물용의약품 품목등록

1-2. 연구개발의 필요성

○ 동절기 소독제 동결로 인한 효력 감소 및 사용상의 문제점 발생



24일 오전 강원도 태백시 동점동 구제역 이동통제초소 앞 도로가 소독약품이 얼어붙으면서 빙판길로 변해 있다. 구제역이 전국으로 확산 되고 있는 가운데 강력한 한파까지 몰아쳐 방역당국이 어려움을 겪고 있다. [연합뉴스]

동절기 발생

- 겨울철 발생 고정화
- 겨울 철새 이동
- 가축 면역력 감소
- 도로 결빙/빙판 조성

구제역 방역 교통사고, 책임은 누가?

남양산 IC 살포기 액 결빙으로 차량파손 주장 시"보상관련 규정 없어 행정소송 통해 보상"

미희연 기자 송인 2011.01.19 10:15 댓글 1

구제역 청정구역인 양산이 IC 주변 방역에 힘쓰는 가운데 교통사고가 발생해 양산시와 사고자가 책임여부를 놓고 진통을 일으키고 있다.



▲ 최근 추워진 날씨로 인해 살포기 액이 도로에 얼어붙는 결빙현상이 생기고 있다.

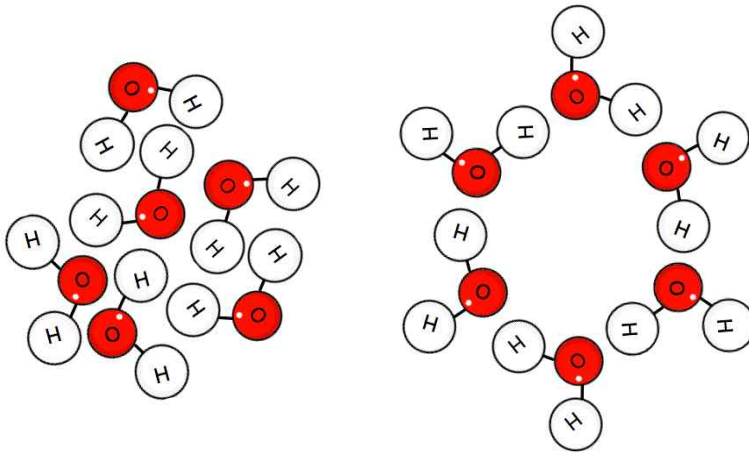
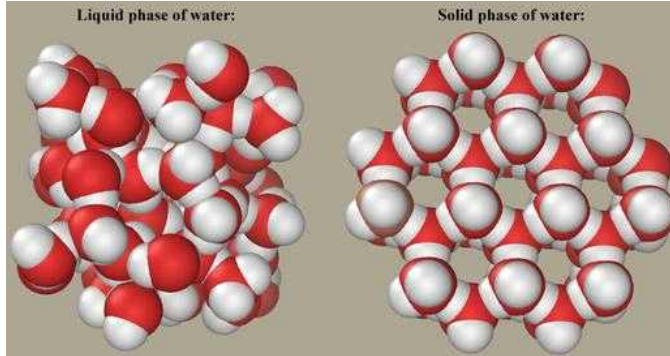
양산시에 따르면 지난달 14일부터 구제역 방역을 시작했고 19일부터 결빙이 우려돼 도로과와 읍면 등지에 비축된 염화칼슘을 뿌리는 한편 도로 결빙에 대한 주의를 요구하는 표지판을 설치했다.

개선 방안

- 소독제 효력 유지
- 부동 소독제 필요
- 환경부하 최소화
- 최소량 살포 필요

1-3. 연구개발 범위

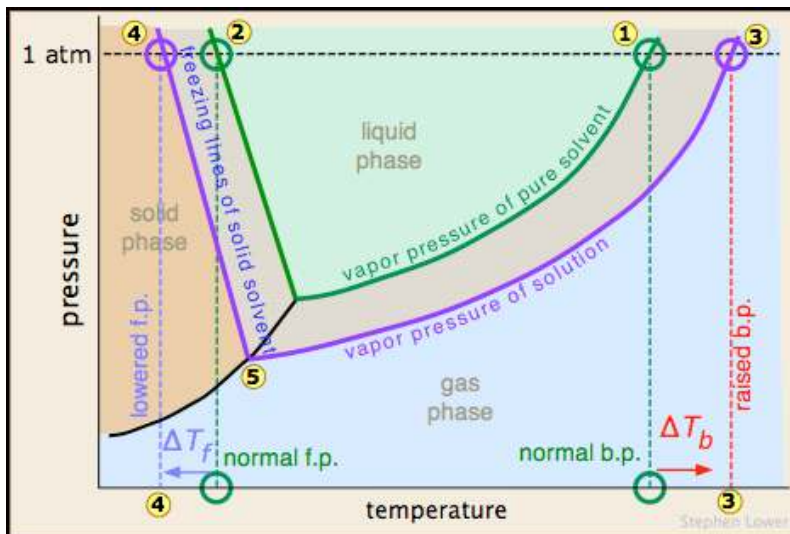
- 결빙(freezing) : 순수한 물은 어는점 0°C에서 수소결합이라는 분자 간힘(intermolecular force)에 의해 정렬되어 고체인 얼음이 됨.



Liquid water

Solid ice crystal or snowflake

- 어는점 내림 : 용질을 이용한 물 분자의 수소결합 억제

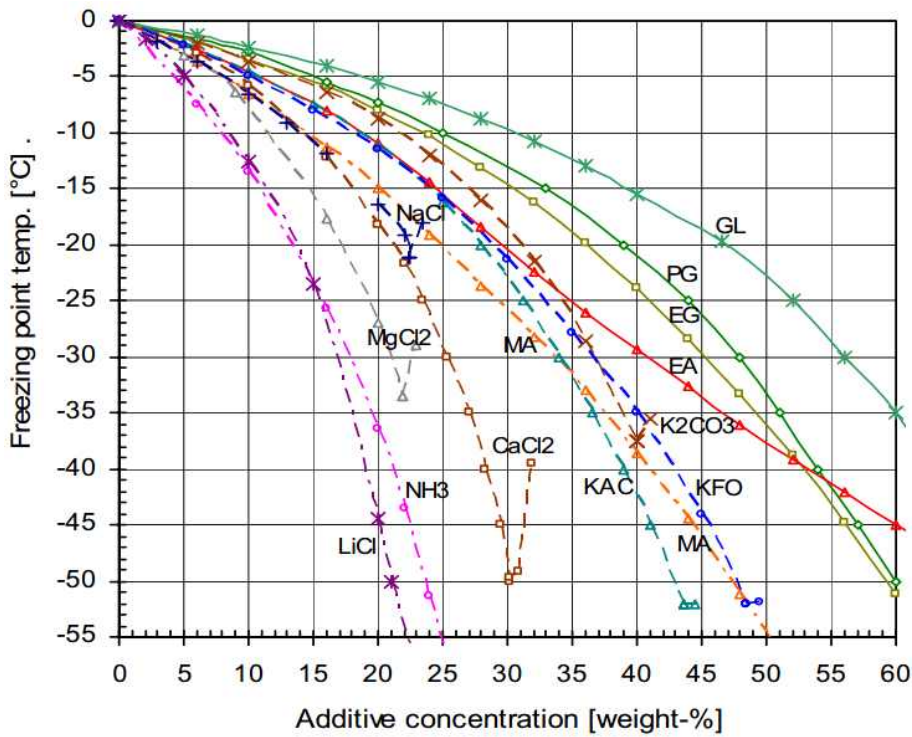


물

- 극성분자 물
- 전기음성도 : 산소
- 쌍극자
- 수소결합
- 결빙 시 부피팽창
- 육각형 구조
- 밀도감소

총괄성 = 용질 + 용매

- 끓는점 올림
- 증기압 내림
- 어는점 내림
- 용질-용매 분자 간섭
- Van't Hoff 인자 고려
- $\Delta T = K_f \cdot m \cdot i$
- 무기물 : 입자 수
- 유기물 : 극성정도



출처 : Ake Melinder, Ph.D. Thesis (2007) "Thermophysical properties of aqueous solutions used as secondary working fluids", Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden.

- EG : ethylene glycol
- EA : ethyl alcohol
- GL : Glycerol
- PG : propylene glycol
- MA : methyl alcohol
- KFO : formate-K
- KAC : acetate-K
- K₂CO₃
- CaCl₂
- MgCl₂
- NaCl
- NH₃
- LiCl

- 무기용질의 어는점 내림 우세
 - 무기용질은 용해 시 최소 2개 입자로 해리
 - Van't Hoff 인자 증가
 - 용매(물) 분자 간섭 최대
 - ΔT=30℃ 무기용질 중량% : 최소 17%(LiCl) 최대 33%(NaCl)
 - 무기용질 공통점 : 금속 부식촉진 (전도도 증가 원인)

- 유기용질의 낮은 부식성
 - 용액의 전도도 증가와 무관
 - Van't Hoff 인자 최소 : $i = 1$
 - 용매 분자 간섭 미약
 - ΔT=30℃ 유기용질 중량% : 최소 34%(MA) 최대 56%(GL)

무기용질

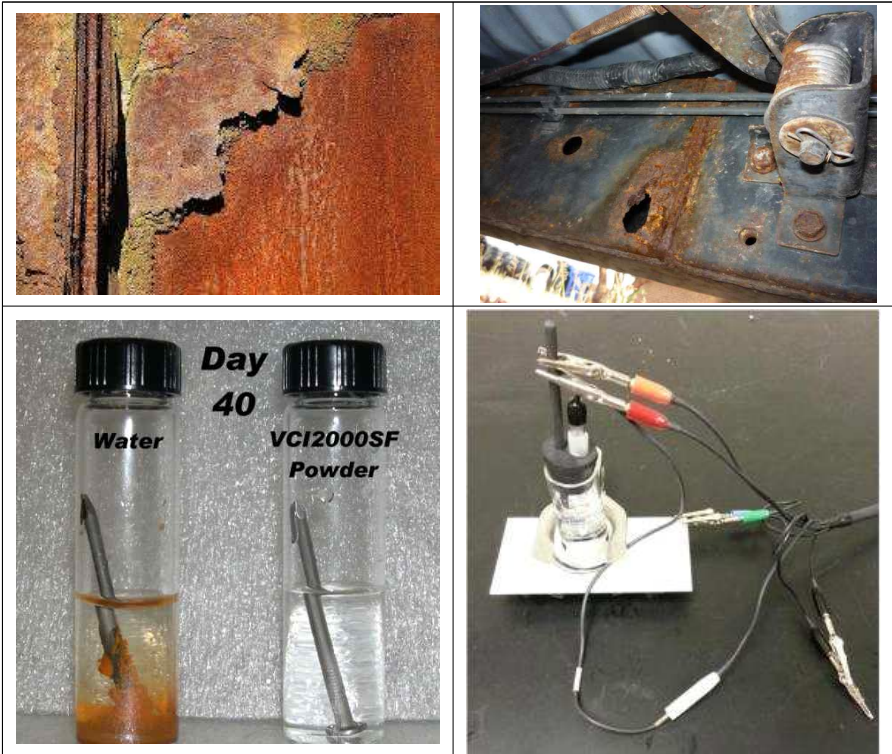
- 경제성 장점
- 부식성 단점
- 농가주변 대량 살포용

유기용질

- 경제성 단점
- 부식성 장점
- 도로방역 소량 살포용

● 부동희석액 부식성 연구

- 고전적 부식 측정법 : 육안관찰법, 질량감소법, 이온농도 분석법
- 현대적 부식 측정법 : 전기저항 측정법, 분극저항법

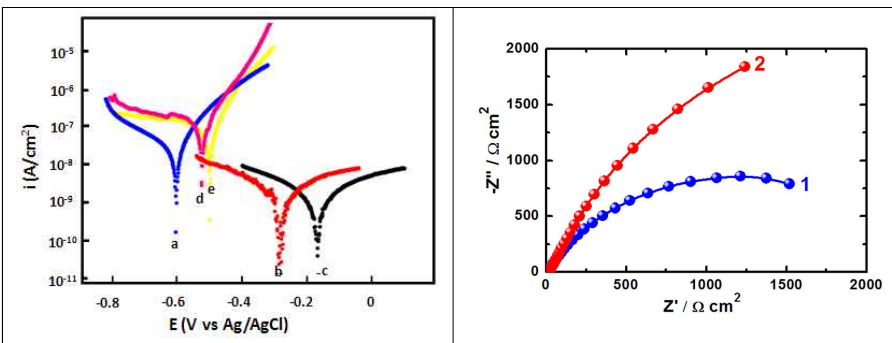


전기화학적 부식측정

- 산화-환원 반응
- 신속한 부식측정
- 부식변수 적용용이
- 부식방지제 연구적용

● 전기화학적 부식 연구

- Tafel plot
- Impedance



부식전류 및 부식저항

- 부동희석액 부식촉진
- 부식억제제 효과입증

- 부동희석액과 화학적 소독제 유효성분 이화학적 분석
 - 무기 부동희석액 : 고농도 경수 조건화
 - 유기 부동희석액 : 고농도 유기물 조건화
 - 경수 및 유기물 조건 하에서 소독제 유효성분 이화학적 분석
 - CaCl_2 0.305 g + $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.139 g / 증류수 1 리터
 - 5% fetal bovine serum
- 부동희석액과 화학적 소독제 효력시험
 - 경수 및 유기물 조건 하에서 소독제 효력유지 여부 확인
 - 무기물 유기물 부동희석액 사용한 유효희석배수 판정
- FMD-AI 화학적 소독제 유효성분
 - 산성제 : 구연산, 사과산, 말산; 계면활성제 복합
 - 산화제(산소계) : 삼중염(MPS), 과초산, 과산화수소(구연산)
 - 산화제(염소계) : NaDCC
 - 계면활성제 : 4급 암모늄
- 부동조건 화학적 소독제 유효성분 \Leftrightarrow FMD
 - 산성제 0.2% 구연산
 - -20°C for 5/30 min
 - more efficient 0.2% citric acid than 4% Na_2CO_3
 - Ethanol 30% & NaCl 25%
- 부동조건 화학적 소독제 유효성분 \Leftrightarrow AI
 - 산화제(염소계) 0.3% NaDCC & 0.1% Glutaraldehyde
 - -10°C no information of additives

경수(hard water)

- CaCl_2 0.305 g
- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.139 g
- 증류수 1 리터
- 무기물 : 0.0444%

유기물희석액

- 5% FBS
- 희석액 최소 34% MA

- 농림축산검역본부
- 2015년 연구결과
- App.Evn.Micro. (2015)

- 농림축산검역본부
- 2014년 연구결과
- Poultry Sci. (2014)

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 국내외 선행연구 조사 결과

가. 기술수준 및 시장 현황

○ 국내 소독제 현황

구제역(FMD) 살균소독제
(2017년 3월 21일 현재 품목등록 현황)

작용기전 분류	종수	%	성상	종수
계면활성제	2종	1.3	산제	70종
산성제	65종	41.1		
산화제(산소계)	57종	36.1	액제	83종
산화제(염소계)	10종	6.3		
알데히드	19종	12.0	정제	5종
염기제	2종	1.3		
기타	3종	1.9		
합계	158	100.0	합계	158

• 158종 58개 제조사

조류인플루엔자(AI) 살균소독제
(2017년 3월 21일 현재 품목등록 현황)

작용기전 분류	종수	%	성상	종수
계면활성제	9종	5.1	산제	67종
산성제	56종	32.0		
산화제(산소계)	57종	32.6	액제	101종
산화제(염소계)	15종	8.6		
알데히드	31종	17.7	정제	5종
염기제	2종	1.1		
페놀	1종	0.6	훈증제	2종
기타	4종	2.3		
합계	175	100.0	합계	175

• 175종 63개 제조사

Sporicidal Activity of Peracetic Acid and β -Propiolactone at Subzero Temperatures

LYNWOOD A. JONES, JR., ROBERT K. HOFFMAN, AND CHARLES R. PHILLIPS
Department of the Army, Fort Detrick, Frederick, Maryland

Received for publication 21 October 1966

- *Bacillus subtilis*
- @ -30 & -40°C for < 1hr
- 3% Peracetic acid
- Ethylene glycol
- 45% & 53%

Evaluation of Disinfectants with the Addition of Antifreezing Compounds Against Nonpathogenic H7N2 Avian Influenza Virus

S. Davison,^A C. E. Benson,^B A. F. Ziegler,^A and R. J. Eckroade^A

^ALaboratory of Avian Medicine and Pathology

^BLaboratory of Microbiology

University of Pennsylvania, 382 West Street Road, Kennett Square, PA 19348

Received 4 December 1998

- Avian influenza
- @ -15°C
- Phenol 100
- Quaternary Ammonium
- Methanol 70%
- Propylene glycol 50%
- Ethylene glycol 50%

An evaluation of disinfectants for the sanitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated transport vehicles at cold temperatures

Scott Dee, John Deen, Danny Burns, George Douthit, Carlos Pijoan

Swine Disease Eradication Center, 385 C Animal Science/Veterinary Medicine Building, University of Minnesota College of Veterinary Medicine, 1988 Fitch Avenue, St. Paul, Minnesota 55108, USA (Dee, Deen, Pijoan); Genetiporc LLC, Alexandria, Minnesota 56308, USA (Douthit, Burns).

- PRRS
- @ -20°C
- Benzalkonium Cl + glutaraldehyde
- Methanol 40%
- Propylene glycol 10%

Evaluation of changes induced by temperature, contact time, and surface in the efficacies of disinfectants against avian influenza virus

Yangho Jang,* Joongbok Lee,† Byungjae So,* Kwangjick Lee,* Seonjong Yun,* Myoungheon Lee,* and Nonghoon Choe†¹

*Animal and Plant Quarantine Agency, Anyang, Gyeonggi, Korea 430-757; and †College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Hwayang-1dong, Gwangjin-gu, Seoul, Korea 143-701

2014 Poultry Science 93:70-76

<http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03452>

- Avian influenza
- @ -10°C
- 0.3% NaDCC
- 0.1% Glutaraldehyde
- w/o additives

Enhanced inactivation of avian influenza virus at -20°C by disinfectants supplemented with calcium chloride or other antifreeze agents

Jiewen Guan, Maria Chan, Brian W. Brooks, Elizabeth Rohoczky

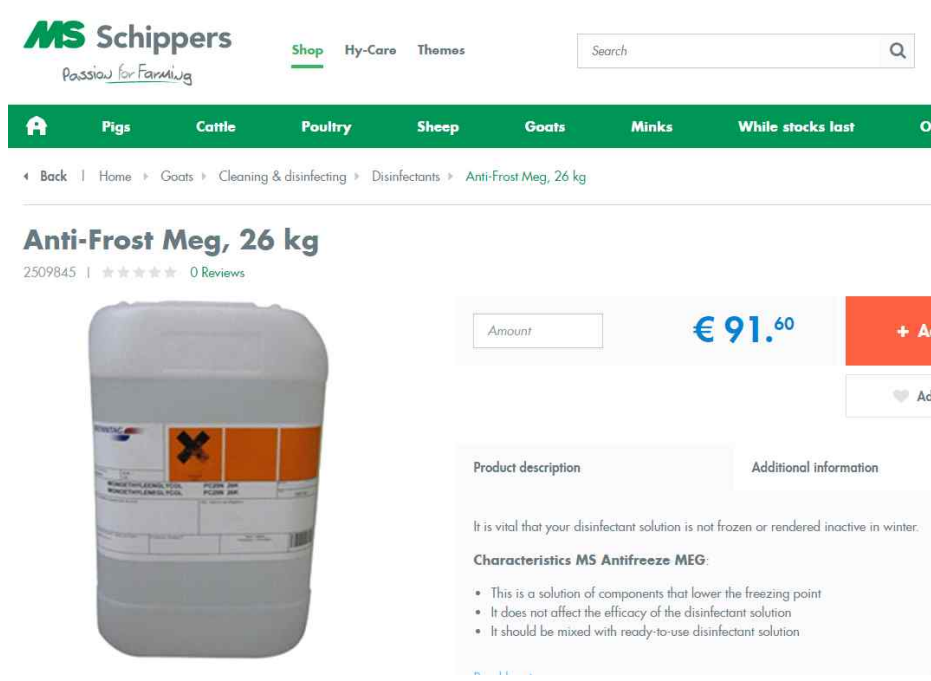
Ottawa Laboratory (Fallowfield), Canadian Food Inspection Agency, 3851 Fallowfield Road, Ottawa, Ontario K2H 8P9.

Address all correspondence to Dr. Jiewen Guan; telephone: 343-212-0450; fax: 343-212-0206; e-mail: Jiewen.Guan@inspection.gc.ca

- Avian influenza
- @ -20°C for 5 min
- 2% MPS (삼중염)
- 6.5% Accel (H₂O₂)
- Propylene glycol 30%
- Methanol 20%
- CaCl₂ 20% → 5log 10min

<p>NOTE <i>Virology</i></p> <p>Efficacy of five commercial disinfectants and one anionic surfactant against equine herpesvirus type 1</p> <p>Koji TSUJIMURA^{1)*}, Harutaka MURASE²⁾, Hiroshi BANNAI¹⁾, Manabu NEMOTO¹⁾, Takashi YAMANAKA¹⁾ and Takashi KONDO¹⁾</p> <p>¹⁾Epizootic Research Center, Equine Research Institute, Japan Racing Association, 1400-4 Shiba, Shimotsuke, Tochigi 329-0412, Japan ²⁾Equine Science Division, Hidaka Training and Research Center, Japan Racing Association, 535-13 Nishicha, Urakawa-cho, Urakawa-gun, Hokkaido 057-0171, Japan</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Equine herpes v • @ -10°C for 10 min • 0.05% Virkon S (삼종염) • 0.05% Na-dodecylbenzene sulfonate • Methanol 20%
<p> AEM Journal of ASM.org</p> <p>Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Virus by Citric Acid and Sodium Carbonate with Deicers</p> <p>Jang-Kwan Hong, Kwang-Nyeong Lee, Su-Hwa You, Su-Mi Kim, Dongseob Tark, Hyang-Sim Lee, Young-Joon Ko, Min-Goo Seo, Jong-Hyeon Park, Byoungnan Kim</p> <p>Foot and Mouth Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Anyang, Gyeonggi, Republic of Korea</p>	<ul style="list-style-type: none"> • FMD • @ -20°C for 5/30 min • 0.2% citric acid • 4% Na₂CO₃ • Ethanol 30% • NaCl 25%

○ 시장현황

	<ul style="list-style-type: none"> • Ethylene glycol 99% • Brenntag/Nether lands • 11만4천원/26 kg
---	--

○ 경쟁기관현황

- 국내 동절기 효력검증 부동 소독제 부재
- 국외 동절기 소독제용 부동 희석액 판매 중

○ 지식재산권현황



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

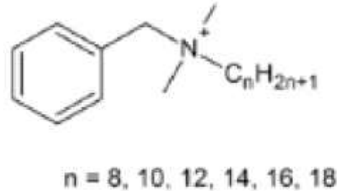
(45) 공고일자 2013년12월26일
(11) 등록번호 10-1338873
(24) 등록일자 2013년11월28일

(54) 발명의 명칭 **내동결성 친환경 소독제 복합조성물 및 그 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 축사나 도로, 농장차량 및 축산기구를 소독하기 위한 내동결성 친환경소독제에 관한 것이다. 더욱 상세히 설명하면 4급암모늄 5 ~ 15중량%, 무수구연산 5 ~ 25중량%, 인산 5 ~ 15중량%, 식물혼합추출물 10 ~ 40중량% 및 정제수 5 ~ 75중량%를 포함하는 복합조성물로서 소독력과 내동결성이 우수하고 독성이 낮아 환경친화적인 것을 특징으로 하는 내동결성 친환경소독제 복합조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



부동희석액 성분

- 식물추출물을 이용한 내동결성

소독제 성분

- 4급 암모늄
- 구연산
- 인산

Freezeproof foam disinfectant and preparation method thereof
CN 101507430 A

초록

The invention relates to a foam disinfectant, in particular to an antifreezing foam disinfectant and a preparation method thereof. The antifreezing foam disinfectant is obtained from 30 to 55 weight portions of antifreeze agent, 4 to 8 weight portions of foaming agent, 0.3 to 1 weight portion of foam stabilizer and 5 to 10 weight portions of disinfectant, by taking the weight portion of the antifreeze agent as reference, adding water into the materials until the total weight is 100 weight portions and uniformly mixing the materials. The antifreezing foam disinfectant can be well adhered to the surface of a smooth object, and reduces the dosage of the disinfectant, and medicines are uniformly dispersed, so that the antifreezing foam disinfectant is particularly suitable for disinfection of the surface of the smooth object. The antifreezing foam disinfectant has good antifreezing effect, cannot be frozen at the antifreezing temperature of between 0 DEG C and 40 DEG C below zero according to different formulations, realizes the aim of the disinfection at a low temperature, and simultaneously reduces the corrosivity of the antifreezing foam disinfectant on metals.

발명 번호	CN101507430 A
발명 유형	출원
출원 번호	CN 200910081297
공개 날짜	2009년 8월 19일
출원일	2009년 3월 31일
우선일 ①	2009년 3월 31일
발명자	琳, 张顺合, 郑慈, 李金友, 林王, 陈青田
신청자	中国检验检疫科学研究院
특허정보 내보내기	BIBTeX, EndNote, RefMan
참조: (4) 분류 (6) 특허 관련 법적 내용 (3)	
외부 링크: SIPO, Espacenet	

부동희석액 성분

- Methanol
- Ethanol
- Ethylene
- NaCl
- Na-dodecyl sulfate

설명 원본 언어: 중국어

Antifreeze foam disinfectant and its preparation method

Technical Field

The present invention relates to a foam disinfectants, antifreeze particularly to a foam disinfectant and its preparation. BACKGROUND

Our long border, many ports of entry. Disinfectants used in ports, mainly powder, liquid, tablets, granules, foam disinfectant in the country, although there have been reported (see reference: Zhu Dalan, Zhang Wenfu hydrogen peroxide sterilization law of disinfectant foam. [J.] Chinese Journal of Disinfection, 2006;

청구 범위 (6) 원본 언어: 중국어

An antifreeze foam disinfectants, wherein: cryoprotectants containing 30 to 55 parts by weight per 100 parts by weight of the total weight of the foam disinfectant in antifreeze, 4 to 8 parts by weight of a foaming agent, a foam stabilizer 0.3 to 1 part by weight, 5 to 10 parts by weight of disinfectant, and the balance water; cryoprotectant in parts by weight as the reference.

2. The antifreeze foam disinfectant according to claim 1, characterized in that: said antifreeze agent is selected from the group of methanol, ethanol, ethylene glycol, sodium chloride, sodium dodecyl sulfate consisting at least one.

소독제 성분

- Benzalkonium-Cl
- NaOCl
- NaDCC
- Hydrogen peroxide

2-2. 동결점의 정의와 측정방법

가. 동결점의 정의

순수한 물(H₂O)에 대한 냉각 곡선은 아래의 그림 1과 같은 온도변화를 나타낸다. 1 기압 200℃(A)에서 75 g의 스팀이 시간의 변화에 대한 온도변화 곡선이다. 스팀의 열은 주위로 전달되며 물의 온도는 100℃(B)까지 떨어지고 액체 물로 응축되며 일정 온도를 유지하다가 온도가 감소되며 냉각되고 0℃(E)에서 평형을 유지한다. 0℃ 이하(D)로 초냉각(supercooling)이 일어나는 경우가 있으나 평형을 유지((E)→(F))하다가 얼음의 온도가 0℃ 이하(G)로 떨어진다.

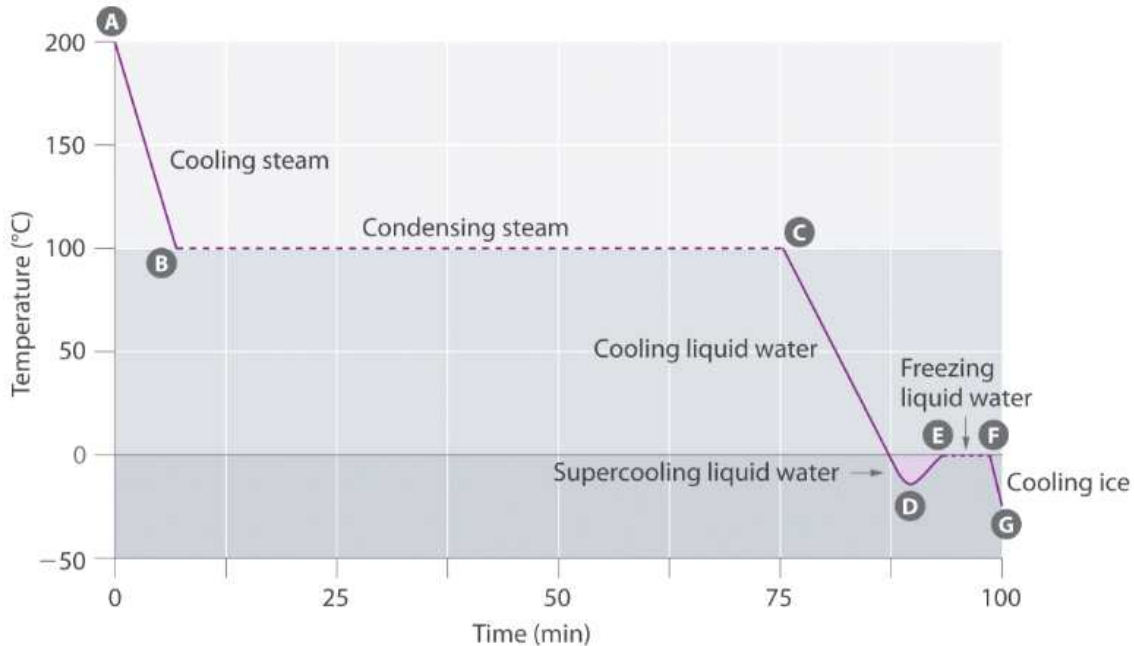


그림 1. 전형적인 물의 냉각곡선.

본 과제에서의 부동희석제는 목표온도인 -30℃까지 동결되지 않고 (E)→(F)에 도달할 수 있는 조성을 갖춘 부동희석액을 준비하는 것이며, 이를 위하여 -50℃를 유지할 수 있는 냉동고에 부동상태를 유지하기 위한 조성물의 냉각곡선을 얻어 정량적인 실험결과를 관찰하였다.

나. 동결점 측정방법 및 장치

부동액으로 많이 사용되며 친환경 물질로 알려진 프로필렌 글리콜(PG; propylene glycol, 99%(EP), 덕산과학)과 제설제로 많이 사용되는 염화칼슘(CC; Calcium chloride, 74%(공업용), OCI)에 대한 냉각곡선을 얻기 위하여 폴리에틸렌(PE) 병에 일정량을 넣고 -50℃로 설정된 냉동고(BD100T-300, 초저온참치냉동고, 스타쿨)에서 온도측정기(OM-DAQPRO-5300-UNIV)와 온도측정센서(PT-100)를 연결하였다.

그림 2는 냉동고에 넣기 위해 준비한 PE 병과 온도측정센서(thermocouple; T/C)이다. 그림 3은 PG를 중량비로 5, 10, 20, 50 wt% 용액에 대한 냉각곡선이다. PG는 문헌조사에서 48 wt% 농도에서 어는점이 -30℃로 확인되었으며, 실험결과에서도 -30℃까지 액체의 냉각곡선을 관찰하였다. 그림 4는 본 과제에서 초기에 사용한 저온 냉동고로써 -40℃의 냉동이 가능하나 온

도 편차가 심하고 내부와 연결되는 케이블 관로가 없어 냉기가 새는 단점이 있다. 그림 5는 내부에 부동 희석액을 넣고 동결곡선을 얻기 위한 상태이다. 그림 6은 그림 3과 같은 조건의 실험에서 장시간의 변화를 관찰한 결과로서 3시간 이후에는 모든 농도의 PG가 -40°C 의 온도를 유지하고 있음을 알 수 있으며 이는 냉동고의 내부온도와 평형을 유지하고 있는 것으로 판단할 수 있다.

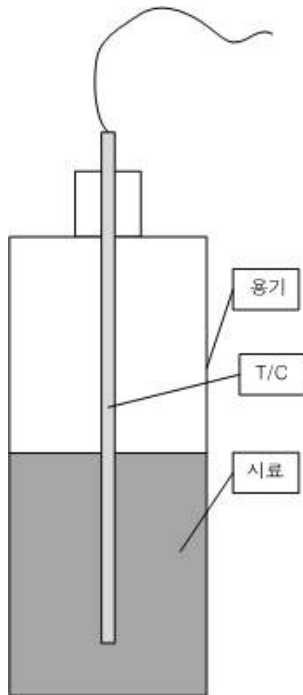


그림 2. 부동 희석액의 냉각곡선을 얻기 위한 시료용기 및 온도 측정장치(T/C)

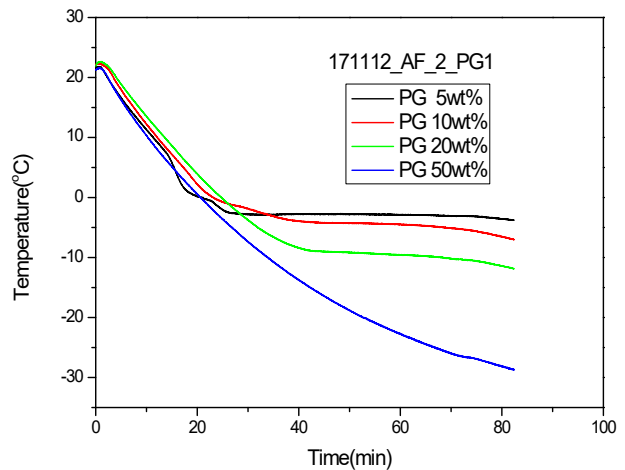


그림 3. 프로필렌 글리콜의 농도에 따른 냉각곡선



그림 4. 부동 희석액 동결측정용 저온냉동고



그림 5. 부동 희석액 동결온도 측정 장비

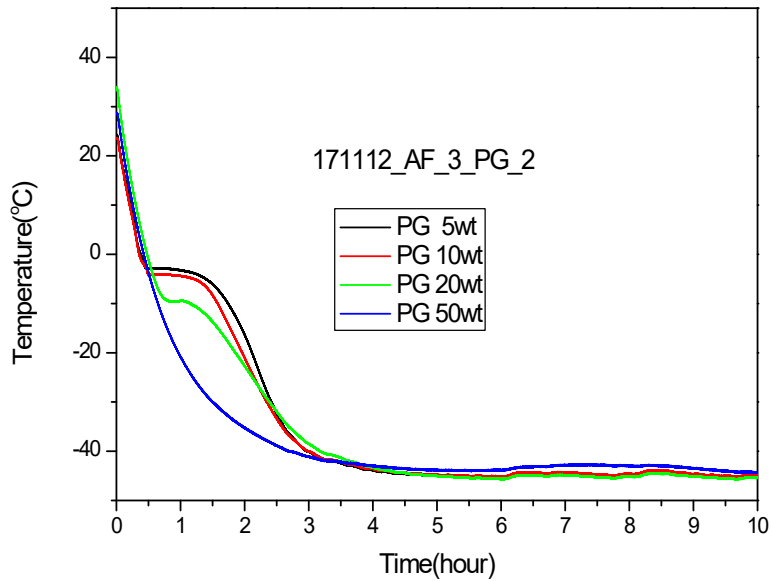


그림 6. 프로필렌 글리콜의 농도에 따른 10시간 냉각곡선

2-3. 부동 희석액의 동결점 측정

가. 유기계 부동 희석액의 동결점 측정

그림 7은 50 wt% PG 농도에서 냉각곡선에 대한 초기 냉각변화 구간과 평형구간의 접선에 대한 교점분석을 통하여 어는점 온도와 시간에 대하여 고찰하였다. 교점의 시간은 65.5분이며 온도는 -42.7°C 이다. 50 wt%의 PG는 65.5분까지 액체상태로 유지되며 액체로서의 온도는 냉각되어 가파른 온도감소변화를 나타내고 있으나 동결상태는 아님을 알 수 있다. 또한 교점의 온도인 -42.7°C 는 냉동고의 평형온도이고 평형이 유지되기 시작하는 시간은 3시간 이후이므로 65.5분까지는 동결되지 않는 결과를 관찰할 수 있었다.

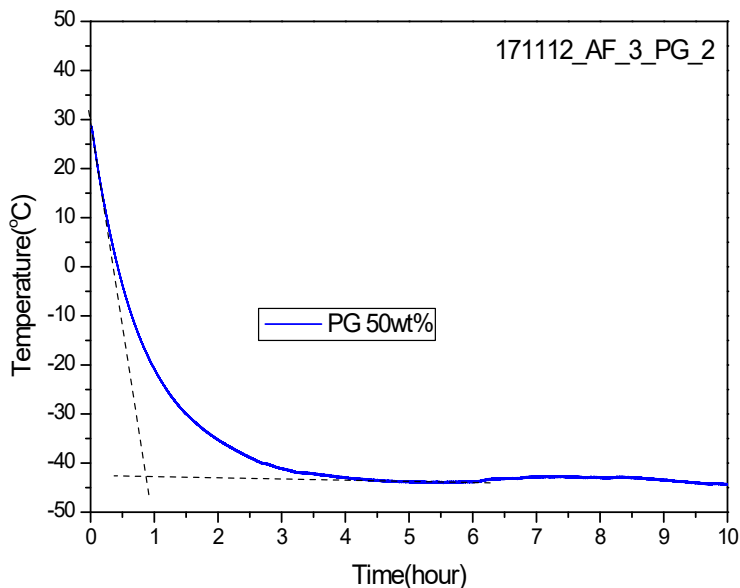


그림 7. 50 wt% 프로필렌 글리콜의 냉각곡선에 대한 교점분석

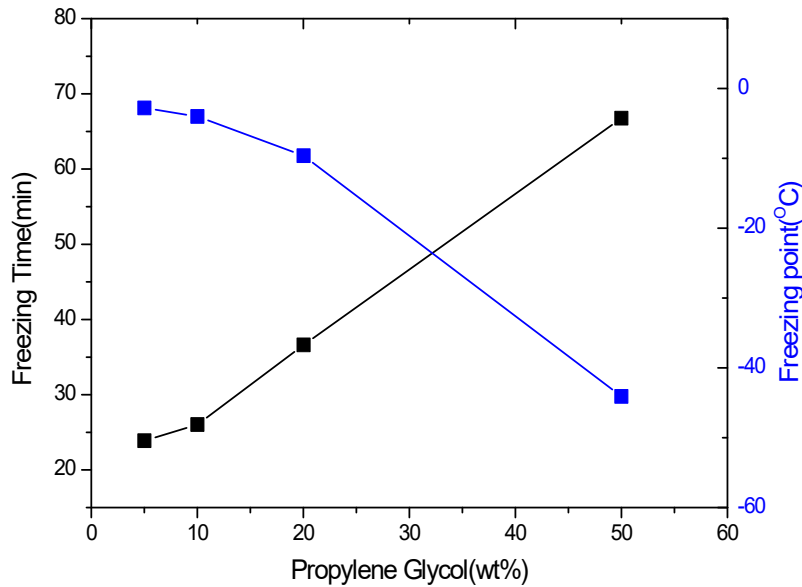


그림 8. 프로필렌 글리콜의 농도에 따른 교점분석

냉각곡선의 교점분석을 통한 PG의 농도변화 따른 동결 시간 및 동결 온도를 분석하여 그림 8에 나타내었다. PG의 농도가 증가할수록 동결 시간 및 동결 온도가 비례관계에 있음을 알 수 있으며 경향성 있는 결과를 확인하였다.

나. 무기계 부동 희석액의 동결점 측정

무기질 물질에 대한 어는점 내림을 확인하기 위하여 아세트산 소듐을 사용하였으며, 결과를 그림 9와 10에 나타내었다. 농도별 냉각곡선에서 최고농도 35 wt%의 농도에서도 -20°C 이전에 결빙되어 동결된 평형구간이 나타났으며, 이후에 얼음의 온도가 지속적으로 내려가는 것을 확인하였다.

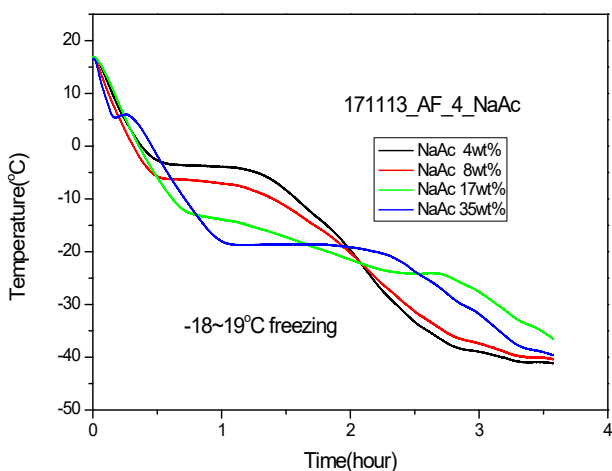


그림 9. 어는점 내림 확인을 위한 아세트산 소듐의 냉각곡선

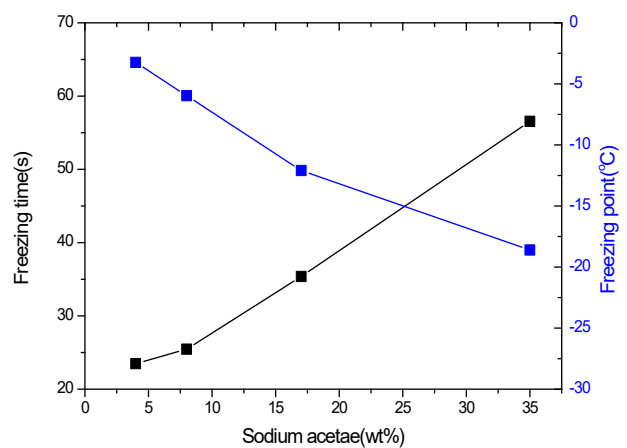


그림 10. 아세트산 소듐의 농도에 따른 교점분석

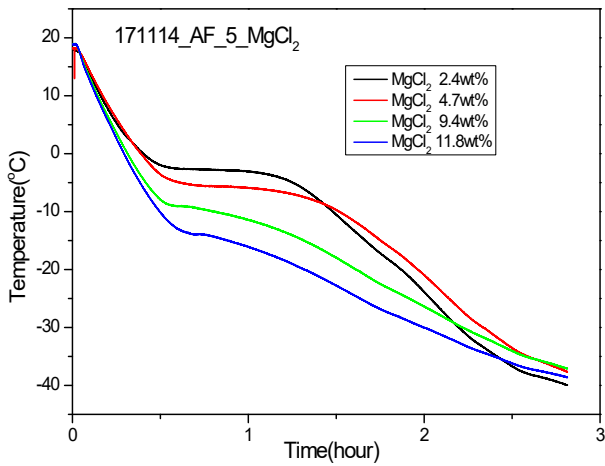


그림 11. 염화마그네슘의 냉각곡선

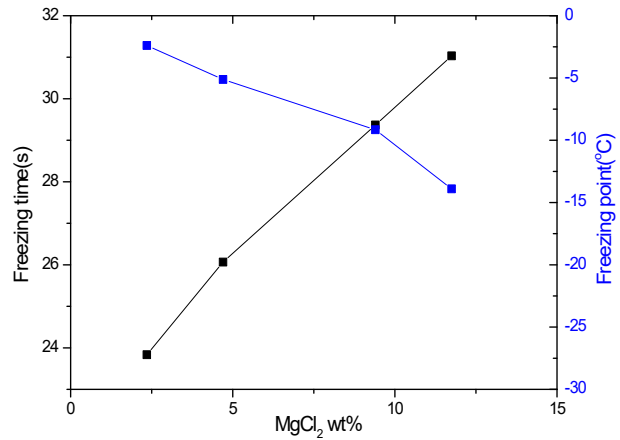


그림 12. 염화마그네슘의 농도에 따른 교점분석

무기물질인 염화마그네슘에 대해서도 냉각곡선을 얻었으며, 그림 11과 12에 결과를 나타내었다. 염화마그네슘의 용해도가 높지 않은 관계로 약 12 wt%의 농도까지 냉각곡선을 얻었으나 -15°C의 동결온도로 측정되었으며 동결시간은 28분으로 나타났다.

다. 자동차 부동액 동결점 측정

시중에 유통되는 자동차 부동액(불스원)에 대한 냉각곡선을 측정하였다. 그림 13과 14에서와 같이 50 wt%의 농도부터는 비슷한 동결온도와 동결시간으로 나타났음을 알 수 있다. 불스원의 주성분은 에틸렌 글리콜로서 환경유해성의 논란이 있는 물질이므로 본 과제에서는 사용물질로 제한을 두었고, 프로필렌 글리콜의 실험결과와도 비슷한 결과를 나타내므로 친환경적인 프로필렌 글리콜을 사용하였다.

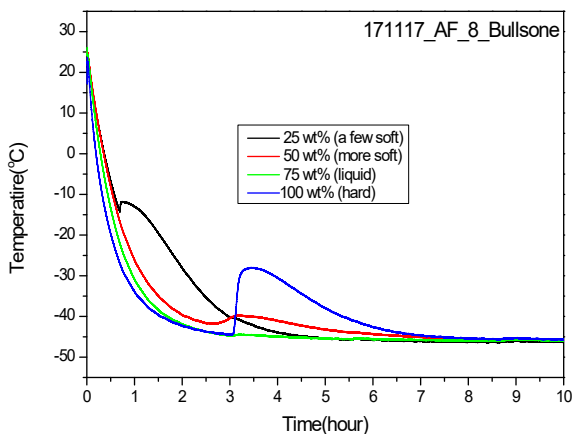


그림 13. 시판 자동차부동액(불스원) 냉각곡선

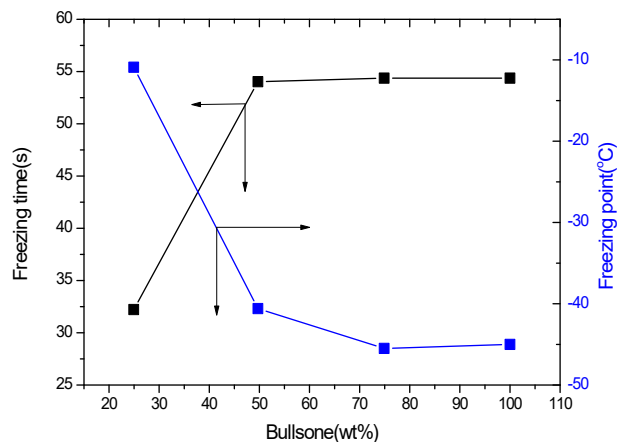


그림 14. 불스원의 농도에 따른 교점분석

본 연구에서 부동액의 조성을 만족시키기 위한 유기물은 PG이며 무기물은 염화칼슘이 유력한 물질이다. PG는 식품첨가물로 사용되며 염화칼슘은 제설제로 전 세계적으로 사용되고 있는 물질로서 적합성의 지닌다. 동결기 소독제의 희석을 목적으로 부동액을 개발하므로 소독제의

효력을 저하시키는 유기물 조건을 지양하고자 PG와 염화칼슘의 혼합조성은 각각의 어는점 내림현상에 대한 상승효과를 기대할 수 있다.

라. 제설제 동결점 측정

시중에 유통되는 제설제 4종에 대한 동결곡선을 관찰하였다. 국내산 친환경 제설제인 SDI-100은 OCI사에서 조제되는 제품으로 부식방지제가 첨가된 제품이며, PC-10은 한국화학제품, SSZ-2000은 중국산 제품이다. 친환경 제설제는 염화칼슘 염화마그네슘 등이 주성분이며 첨가제로 부식방지제 등이 들어 있는 것으로 확인되었다. OCI사의 일반 염화칼슘과의 비교에서 친환경 제품은 동일한 농도에서 동결시간과 동결온도가 기대에 미치지 못함을 알 수 있었다.

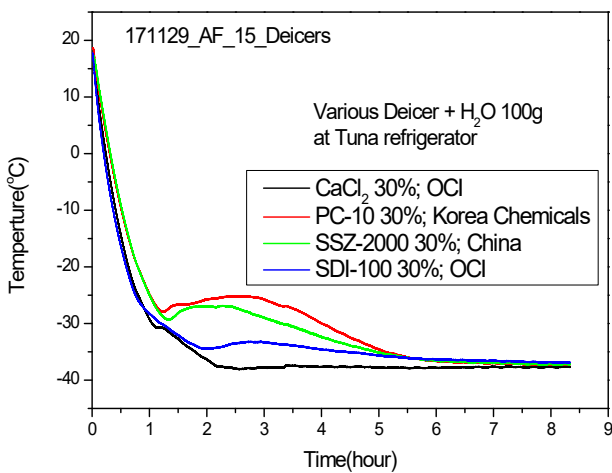


그림 15. 30% 제설제의 동결점 측정 결과

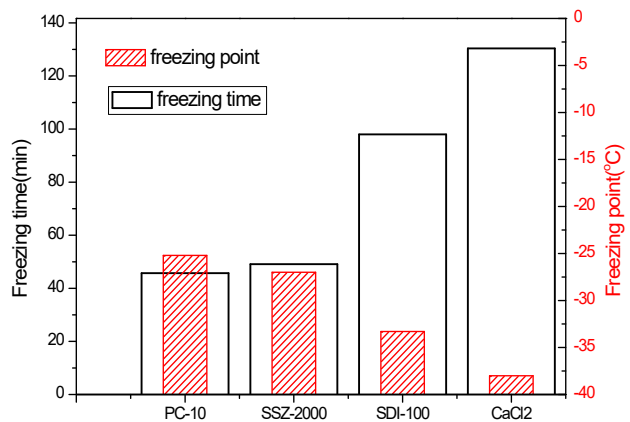
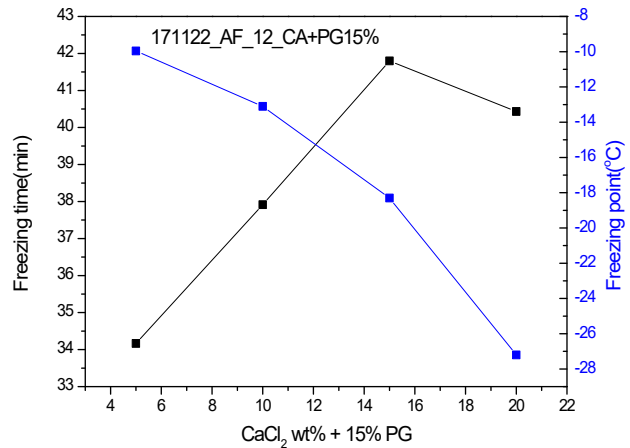
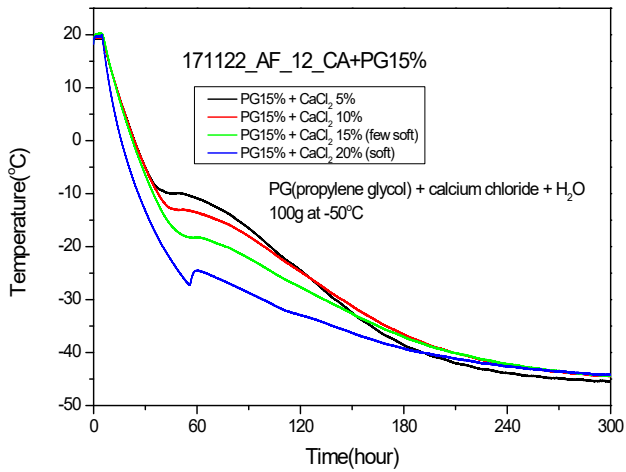
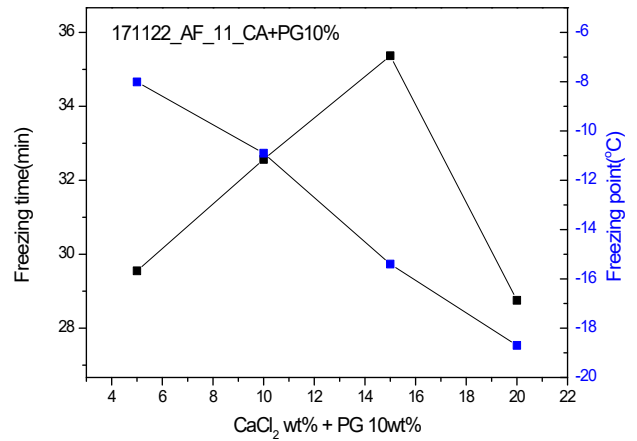
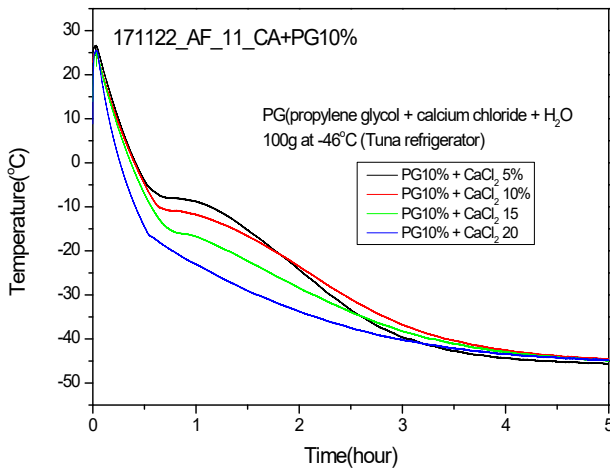
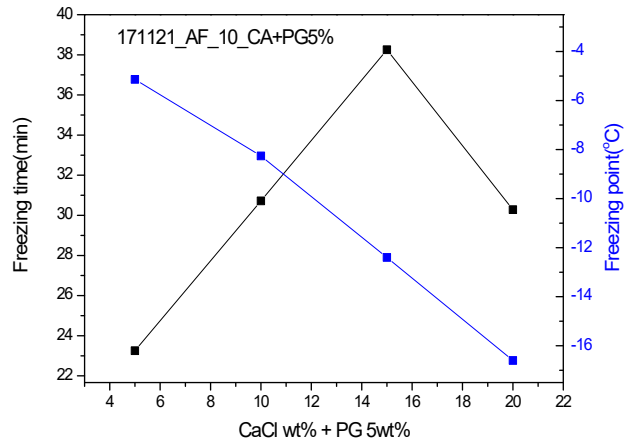
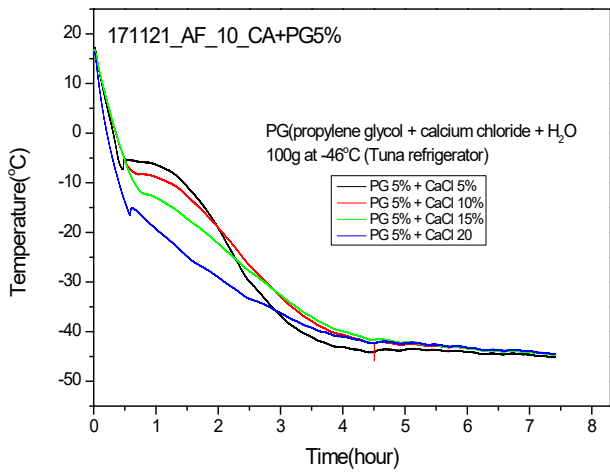


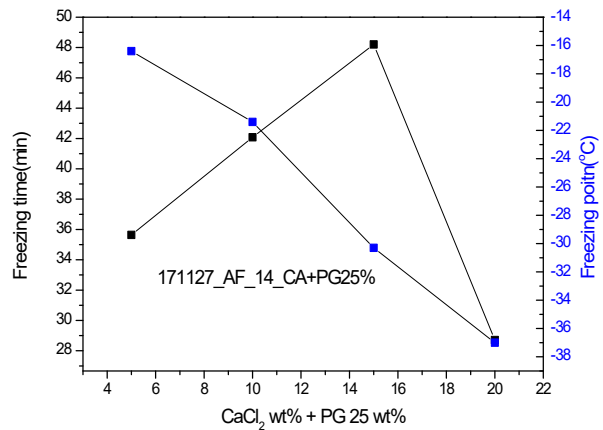
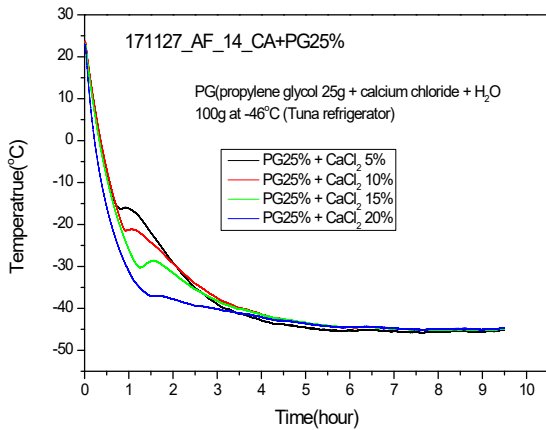
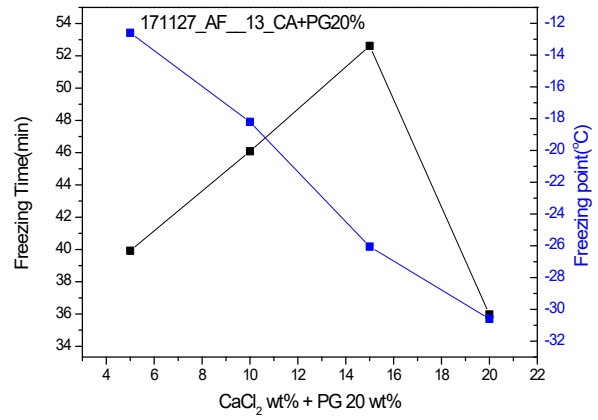
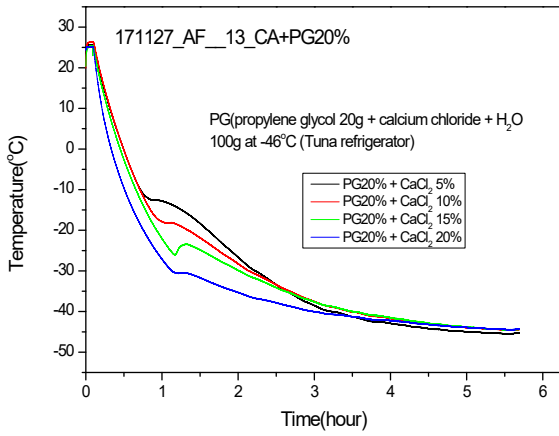
그림 16. 30% 제설제의 어는점과 동결시간

마. 유기계-무기계 혼합조성 부동 희석액의 동결점 측정

용액의 총괄성에서 어는점 내림 현상은 용매와 용질의 상호 간섭으로 설명할 수 있다. 동종 성분 간의 고체화 진행 시 분자 간에 규칙적 배열이 엔트로피(무질서도) 감소로 열역학적 발열 반응에 의한 자유에너지 감소로 자발적으로 진행된다. 그러나 이종 성분 간에 규칙적 배열은 용매의 고체화를 방해하고 무질서도가 증가하여 어는점을 더욱 낮추게 된다.(용매와 용질의 극성에 따라 반대 경우가 나타나기도 한다.) 본 과제에서 추구하는 친환경성과 경제성을 고려하면 PG와 염화칼슘은 두 가지 고려사항을 충족할 수 있기 때문에 각각을 혼합하여 물의 어는점을 낮추고자 하였다.

PG의 농도를 5~25%로 염화칼슘의 농도를 5~20%까지 변화시키면 각각의 조성에서 어는점과 동결에 걸리는 시간을 측정하였다. -30°C이하의 어는점을 얻기 위한 조성은 PG의 농도가 20% 이상이고 염화칼슘의 농도가 20% 농도이었다. 순수한 PG와 염화칼슘의 20% 농도에서의 어는점이 각각 -12°C와 -15°C이고 40%에서 -30°C보다 높은 어는점이므로 혼합용액에서의 -30°C 이하의 어는점은 용액의 총괄성을 활용한 결과로 판단한다.





바. 유기-무기 혼합조성 부동 희석액의 최적 비율 조사

유기계 부동액으로 PG를 사용하고 무기계열로 염화칼슘을 사용하는 혼합조성 부동 희석액의 최적 비율을 조사하기 위하여 총합의 농도를 30~40%로 정하고 각각을 비율별로 혼합하여 동결점과 동결시간을 측정하였다. 그림 17과 그림 18은 PG와 염화칼슘의 혼합용액에 대한 동결점과 동결시간을 나타낸다. 혼합물의 어는점은 동일한 농도%에서 순수한 PG나 염화칼슘의 농도에 비하여 더 낮은 결과를 나타내었으며, 어는데 걸리는 시간도 길게 측정되었다. 혼합물에서 용액의 총괄성은 용매와 용질의 상호간섭 현상이 더 크게 작용한 결과로 판단된다.

그림 19의 결과와 같이 염화칼슘과 PG의 농도가 각각 20%와 5%에서 -30°C의 어는점이 측정되었고 동결시간은 60분 이상이 소요되었다. 용질의 농도가 높을수록 동결점은 낮아지나 용질의 농도를 많이 높이면 환경부하가 높아지게 되므로 -30°C의 어는점을 갖는 최적의 용질 농도 결정이 필요하였다. 본 과제에서 염화칼슘과 PG의 농도 합이 25, 30, 40%인 농도의 조합으로 어는점을 확인하였으며 그 결과를 그림 20과 그림 21에 나타내었다.

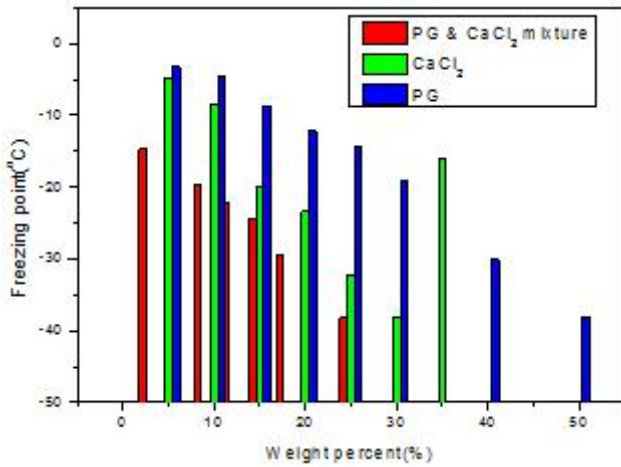


그림 17. 염화칼슘과 PG 혼합용액의 동결점

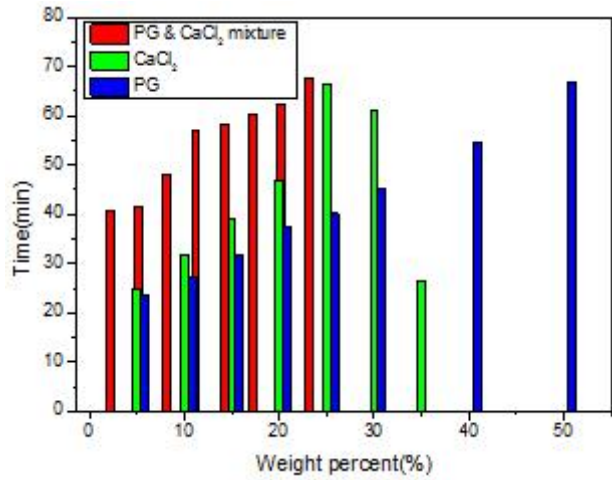


그림 18. 염화칼슘과 PG 혼합용액의 동결시간

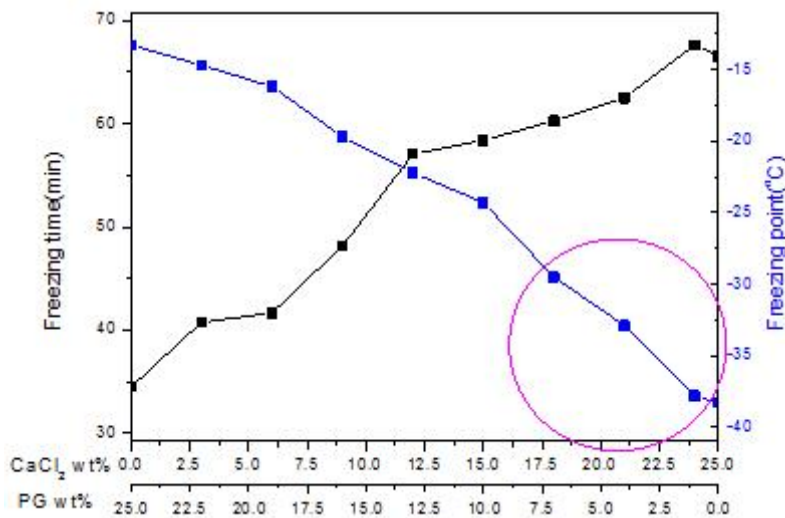


그림 19. 염화칼슘과 PG 혼합용액의 동결점 및 동결시간

PG와 염화칼슘의 농도 총합이 25%인 경우에는 -30°C 이하의 동결점이 PG가 7%이상이고 염화칼슘이 18%이상인 조성에서 확인할 수 있었으며 동결되는데 걸리는 시간은 모두 1시간이었다. 30%의 농도에서는 PG의 농도가 13%이상이고 염화칼슘의 농도가 17%이상에서 나타났고, 40%농도에서는 대부분의 조성에서 동결점이 -30°C 로 얻어졌다. 그림 22와 그림 23은 25%의 염화칼슘과 PG의 농도가 각각 20%와 5%에서 부식 억제제인 아질산소듐과 계면활성제를 추가하였을 때 동결점과 동결시간을 확인한 결과이다. 어는점은 모든 조성에서 -30°C 의 결과로 나타났으며 부식 억제제로 사용한 아질산소듐에 의해 어는점이 더 낮아지고 동결시간도 길게 향상되는 결과를 확인할 수 있었다.

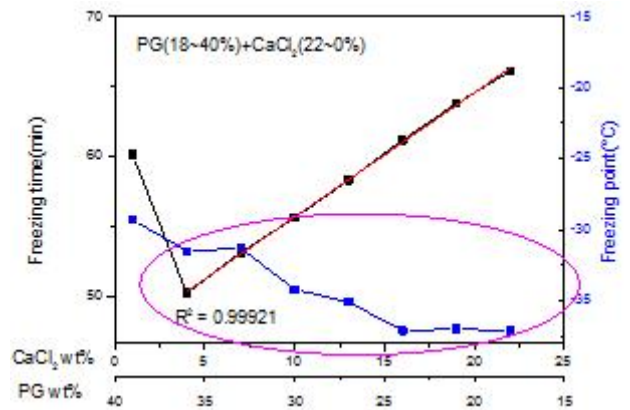
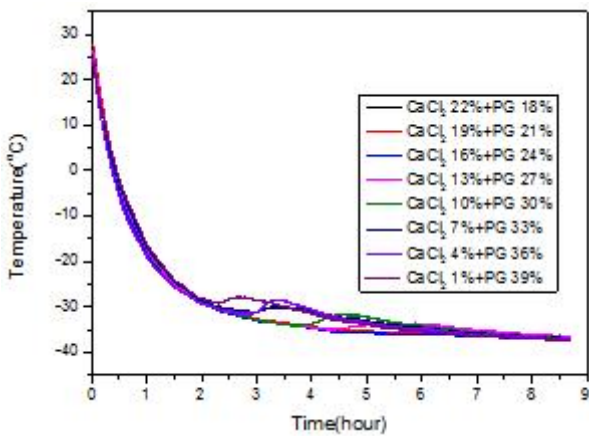
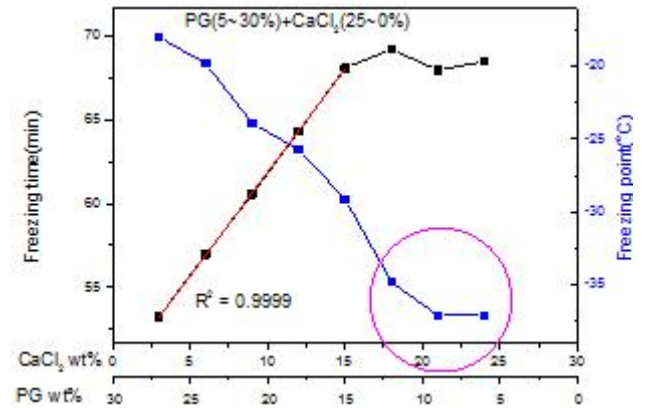
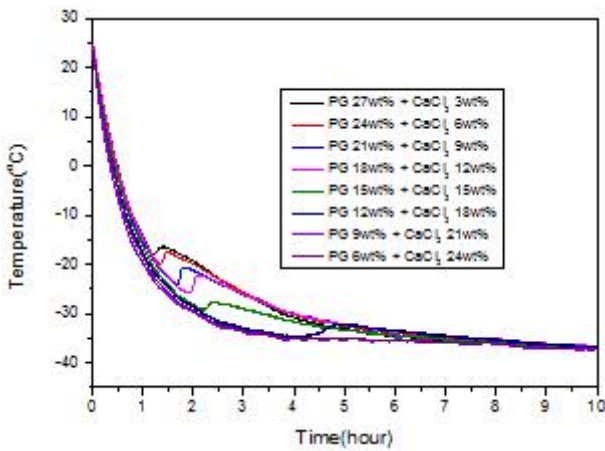
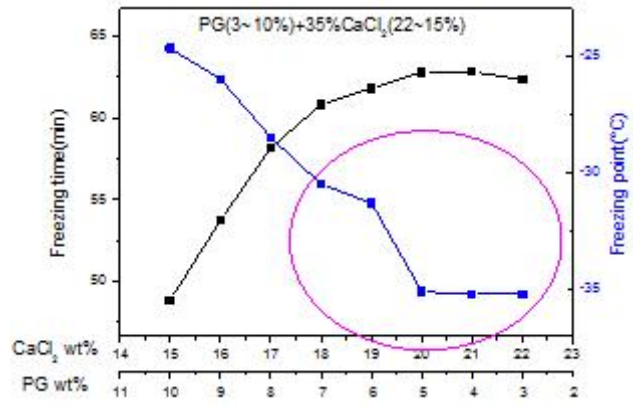
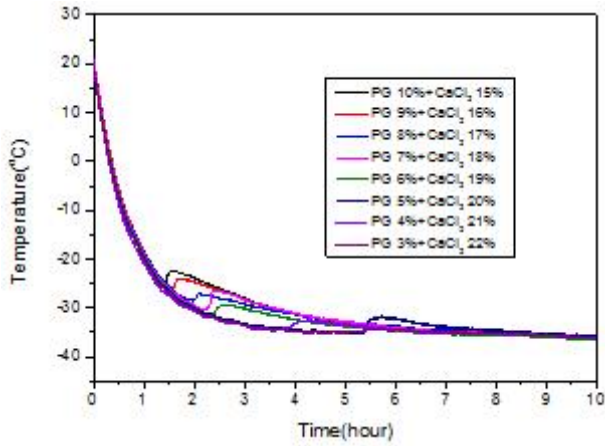


그림 20. 염화칼슘과 PG의 혼합 비율별 온도변화

그림 21. 염화칼슘과 PG의 혼합비율별 동결점 및 동결시간

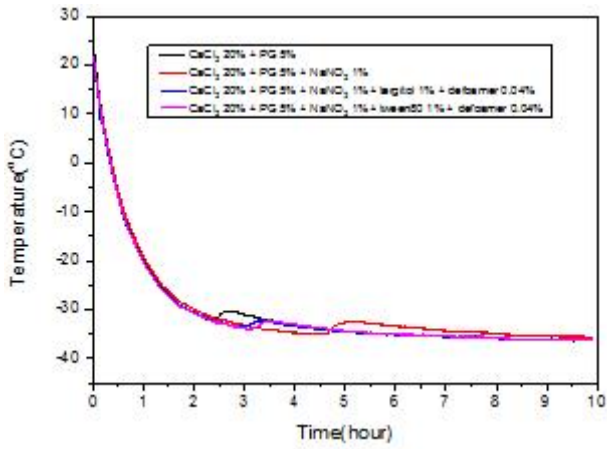


그림 22. PG와 염화칼슘 혼합물의 동결곡선

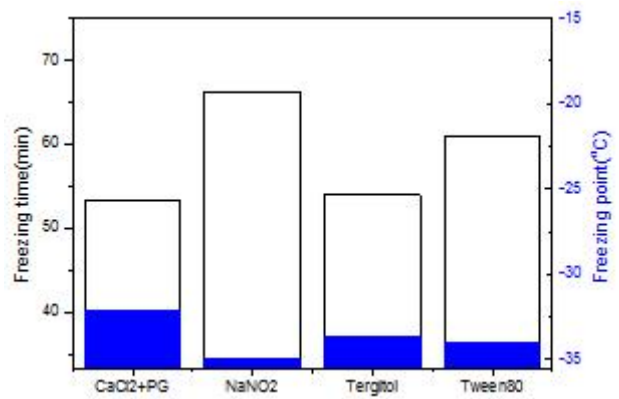


그림 23. PG와 염화칼슘 혼합물의 동결점 및 동결시간

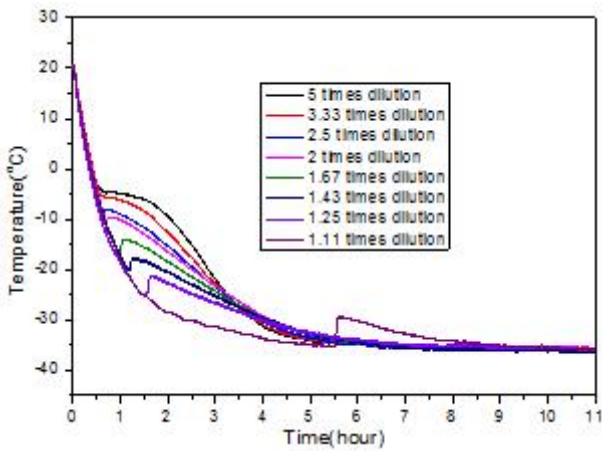


그림 24. 35% PG와 염화칼슘의 희석비율별 동결곡선

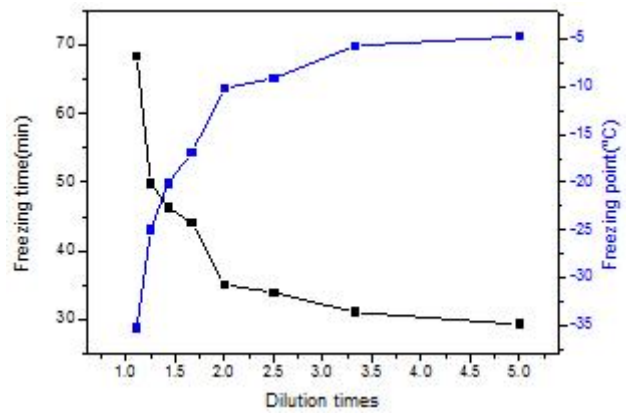


그림 25. 35% PG와 염화칼슘의 희석비율별 동결점 및 동결시간

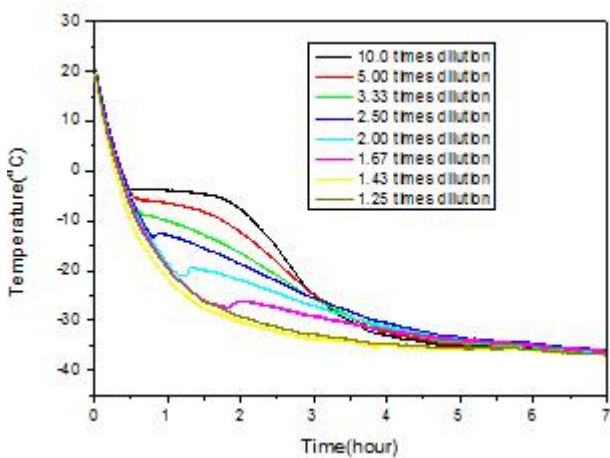


그림 26. 40% PG와 염화칼슘의 희석비율별 동결곡선

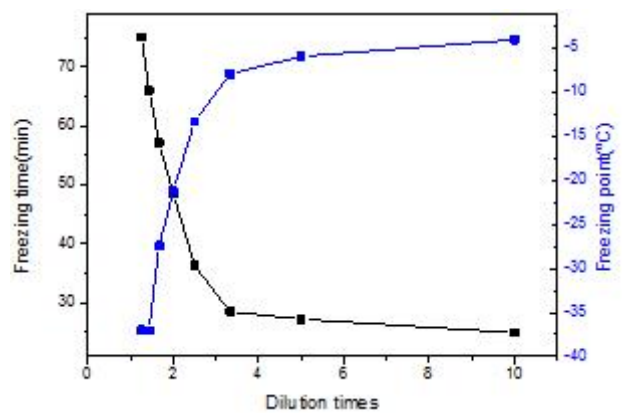


그림 27. 40% PG와 염화칼슘의 희석비율별 동결점 및 동결시간

부동 희석액은 원액상태에서 -30°C 이하의 동결점을 갖고 희석비율에 따라 높은 온도에서의 동결점을 갖게 되므로 사용온도에 따라 희석배율을 결정하여 방역현장의 온도 따라 희석하여 사용할 수 있다. 그림 24에서 그림 27은 총합의 농도가 각각 35%와 40%인 15% PG와 20% 염화칼슘 혼합물 및 18% PG와 22% 염화칼슘을 희석하여 측정한 동결곡선 실험결과이다. 희석비율이 높을수록 어느 온도는 높아지고 어느데 걸리는 시간이 짧아짐을 알 수 있다. 방역현장의 온도에 따라 부동 희석액의 희석비율이 결정된다.

2.4. 『소독제 효력시험지침』에 따른 부동 희석액 동결시험 조건

가. 효력시험지침의 소독제 반응조건

소독제의 반응조건은 “표준시험조건”과 “선택시험조건”으로 구분되어 각각에는 반응온도와 반응시간 등이 규정되어 있다. 4°C 30분간 반응조건인 표준시험조건과 다른 -10°C , -5°C 등의 온도조건과 1분, 5분, 15분 등의 반응시간을 선택할 수 있는 선택시험조건이 있다. [별표1]의 세균 등 소독제 유효희석배수 결정시험의 소독제 반응조건에서 2.5 mL의 세균 혼합액을 4°C 에 보관된 동량의 소독제(2.5 mL) 희석액에 혼합 후 4°C 에서 30분간 반응시킨다. 도중에 10분마다 혼합해야 한다. [별표2]의 바이러스 소독제 유효희석배수 결정시험의 소독제 반응조건에서 2.5 mL를 4°C 에 있는 동량의 소독제(2.5 mL)에 넣고 혼합 후 4°C 에서 30분간 반응시키며 10분마다 혼합하여 준다.

소독제 효력시험 조건을 충족하기 위한 부동 희석액은 소독제와 혼합 후에 5 mL(= 균액 2.5 mL + 소독액 2.5 mL)의 용량에서 반응시간인 30분 동안 결빙현상이 일어나지 않게 해야 된다. 또한 소독액과 균액의 균질한 반응을 위하여 10분마다 혼합되어야 되므로 냉동조건에서 동일한 방법으로 혼합하는 과정이 필요하며, 이러한 혼합과정이 부동 희석액으로 희석된 소독액에 미치는 결빙여부를 판단해야 한다. 또한 세균의 소독제 반응조건에 따라 37°C 에 보관된 세균 4 mL를 4°C 의 5% 유기물희석액 96 mL에 섞은 후 동량의 비율로 소독제 희석액과 혼합하는 시험을 -30°C 의 선택시험조건에서 수행한다면, 5% 유기물희석액도 소독제 희석액과 같은 온도인 -30°C 에 보관하여 될 것이다. 만일 5% 유기물희석액이 4°C 에 보관된 것이라면 -30°C 의 소독제 희석액의 온도는 선택시험조건을 충족시킬 수 없으며, -30°C 의 냉동고에 다시 넣더라도 반응시간인 30분 동안 선택시험조건인 -30°C 를 유지할 수 없을 것으로 판단된다.

<p>세균에 대한 소독제 반응 조건</p>	<p>37°C의 세균 4 mL + 4°C의 5% 유기물희석액 96 mL 상기 혼합액 2.5 mL + 4°C의 동량 소독제 희석액 4°C에서 정확히 30분간 반응 도중에 10분마다 혼합하여 준다.</p>
<p>바이러스에 대한 소독제 반응 조건</p>	<p>증식된 4°C의 바이러스액 1.0 mL + 4°C희석액 19.0 ml 상기 혼합액 2.5 mL + 4°C의 동량 소독제 희석액 4°C에서 정확히 30분간 반응 도중에 10분마다 혼합하여 준다.</p>

본 과제에서 개발한 부동 희석액은 소독제의 효력과 밀접한 관련이 있으며 소독제의 효력은 효력시험지침에 의해 판단되므로 최대한 지침에서 제시한 시험방법에 의해 효력시험을 수행하였을 때 소독제의 효력이 판단될 수 있어야 한다. 이를 위하여 부동 희석액의 동결온도를 총 부피 5 mL에서 수행하고 10분마다 혼합하여 혼합과정이 동결온도와 시간에 어떤 영향을 미치는지 알아보았다. 기존의 냉동고는 10분마다 혼합하려면 문을 열어야 되며 이때 시료와 냉동고 내부의 온도가 변하므로 문을 열지 않고도 시료를 혼합해 줄 수 있는 장갑형 냉동고가 본 과제 참여연구진에 의해 고안되었고, 전문제작 업체와의 논의 하에 제작되었다(특허 출원 중).



그림 28. 본 과제를 통하여 개발된 장갑형 냉동고(glove freezer)

그림 28은 부동 희석액의 동결온도와 시간을 측정하기 위하여 고안된 냉동고로써 전면부에 투시창과 장갑을 통해 내부로 연결되는 입구가 있으므로 시험자가 소독액과 균액을 혼합할 수 있으며, 시험액의 온도를 실시간으로 측정할 수 있는 측정센서를 포함하고 있다. 이러한 장비를 통하여 선택시험조건으로 선택한 온도에 도달하였을 때 시험자는 소독액과 균액을 혼합하여 반응시킬 수 있으며 선택조건에 맞는 정확한 시험이 가능할 것으로 판단된다. 본 과제에서는 특별제작된 장갑형 냉동고를 이용하여 효력시험지침에서 규정한 시험조건에 부합한 소독제의 선택온도에서

부동상태 유지 여부를 판단하고자 실험을 수행하였다.

나. 효력시험지침 선택시험조건과 부동 희석액의 조건

-25℃에서 부동 희석액과 대조액으로 수돗물 5-mL에 대한 냉각곡선을 측정하여 그림 29에 나타내었다. 수돗물은 과냉각 과정을 거쳐 0℃의 어는점을 보였으며, 혼합 부동 희석액은 희석 배율이 높을수록 높은 동결점을 보였고 배율이 낮을수록 동결점은 낮은 온도에서 관찰되었다. 동결온도에 비하여 냉각곡선에서 주목할 부분은 냉각시간으로서 -25℃로 맞춰진 냉동고에서 100 mL의 시료가 동결되지 않고 냉동고의 내부온도와 평형을 이루는 시간이 약 2시간이 소요되었다. 이런 실험결과를 바탕으로 지금까지 다른 연구진에서 수행한 내동형 소독제 또는 영도 이하의 동결온도조건 반응시간과 선택온도의 적합성에 의구심이 생긴다. 만약에 설정온도로 맞춰진 냉동고에서 일정시간의 반응시간만 소독제와 균액이 반응하였다면 반응액은 선택온도에 도달하지 않은 높은 온도상태에서 반응이 되었을 가능성이 높기 때문이다.

소독액과 균액이 혼합된 반응액의 온도가 설정온도로 맞춰지기 위해서는 많은 시간이 걸리기 때문에 반응시간의 규정을 만족할 수 없으므로 본 과제에서 사용한 냉동고와 같은 장갑형 냉동고를 사용하여 소독액과 균액이 선택시험조건에서 설정온도에 도달한 것을 확인하고 혼합하여 설정시간 동안 반응시키며 10분마다 혼합하여야 했을 것이다. 그러나 다른 연구진의 연구 결과에서 장갑형 냉동고의 사용이나 유사한 방법이 적용되었다는 것을 찾아 볼 수 없었다. 선택시험조건이 -20℃에서 15분이면 소독액과 균액은 부동 희석액으로 준비된 상태에서 -20℃의 냉동고에 보관하고 설정온도에 도달했을 때 혼합하여 15분 동안 반응시키며 10분 후 반응액을 혼합해야 효력시험지침에서 규정한 선택온도를 유지하면서 선택시간 동안의 소독제 효력을 판단할 수 있을 것이다.

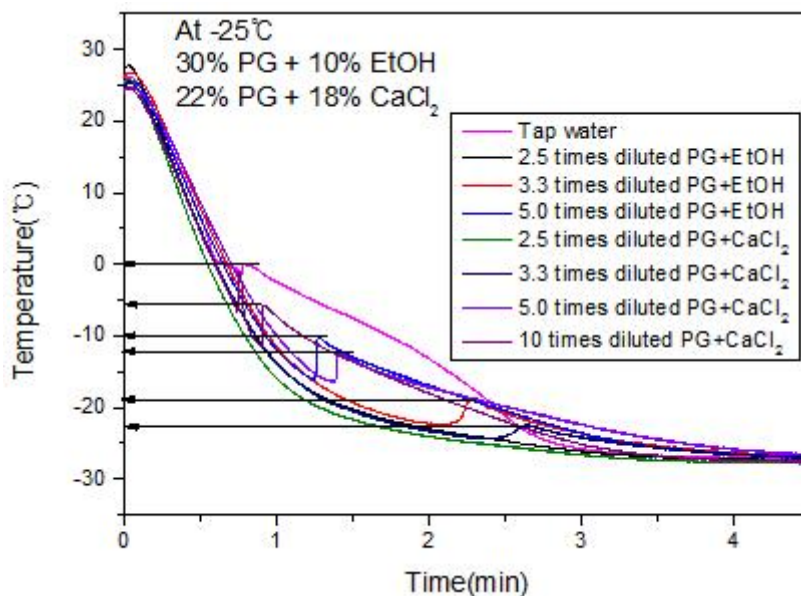


그림 29. 장갑형 냉동고에서 100-mL의 부동 희석액에 대한 희석배율별 냉각곡선

2-5. 부동 희석액의 최적화 결과

가. 유기계 부동 희석액의 친환경성 및 경제성

유기계열의 부동 희석액은 에탄올과 PG가 친환경적인 물질로서 식품첨가물로 사용되는 안전한 원료로 사용할 수 있다. 경제적인 측면을 고려하면 에탄올에 비하여 이소프로판올(isopropanol; IPA)이 리터 당 단가가 20% 저렴하기 때문에 각각의 물질에 대한 동결시험을 수행하여 그림 32에 나타내었다.

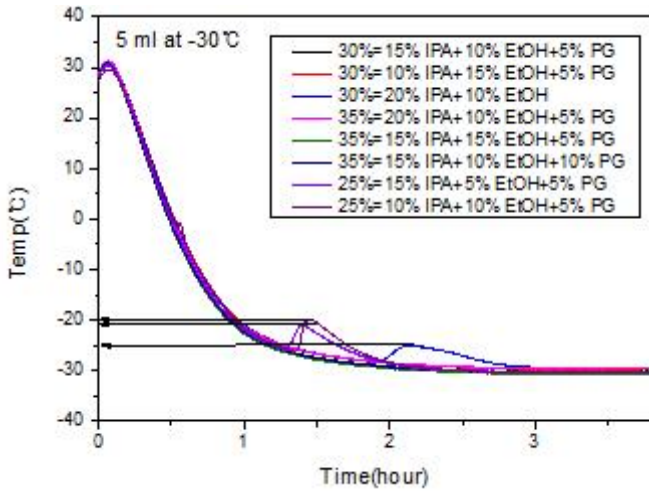


그림 32. IPA, PG 및 에탄올 혼합조성물의 동결곡선

그림 33에는 유기계열 혼합물의 조성이 40%가 되도록 준비하고 -30°C의 장갑형 냉동고에서 5 mL의 혼합물에 대한 10시간 이상의 동결여부를 확인하였다. 온도 센서에 의한 과냉각 현상이나 동결현상이 관찰되지 않았으며 용액이 액체상태를 유지하였다. 상기에서 언급한 바와 같이 소독제 효력시험을 선택온도조건인 -30°C에서 수행할 경우에 소독제 및 균액을 부동 희석액으로 희석하거나 준비해야만 한다. 이유는 선택온도로 설정된 냉동고에 보관하여 온도를 유지해야 되기 때문이며, 설정온도가 -30°C인 경우에는 냉동고에서 보관되어야 할 시간은 최소 2시간 이상이어야 한다.

-30°C의 장갑형 냉동고에서 5 mL의 IPA와 PG 및 에탄올로 구성된 부동 희석액은 25%의 조성에서 -30°C도 미치지 못하고 -20°C에서 동결되었으며 그때의 동결시간은 1시간 30분이 소요되었다. 세 종류의 30% 조성에서 PG가 없는 희석액은 -25°C에서 동결되었으며, 2시간 이후에 진행되었다. 같은 30%의 조성에서 PG를 5% 추가한 조성에서는 2시간 이후에도 동결되지 않고 냉동고의 설정온도인 -30°C와 평형상태를 유지하였다.

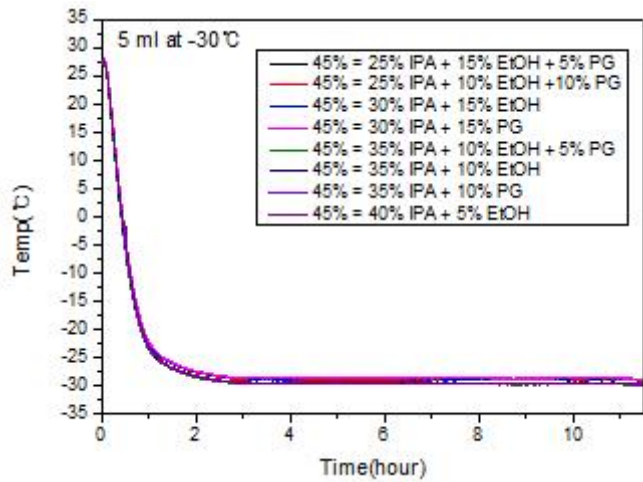


그림 33. IPA, PG 및 에탄올 혼합조성물의 동결곡선

나. 유기계 부동 희석액 최적화

유기계 부동 희석액의 조성은 식품첨가물로 사용되는 에탄올, 이소프로판올 및 PG로 구성되어 최적화되는 조성을 동결곡선을 측정하여 관찰하였다. 그림 34부터 그림 39까지 조성물의 총 농도가 40, 45, 50%로 다양한 조성비에서 관찰되었다. -40℃로 유지된 냉동고에서 10시 이상의 온도를 측정하였다. 모든 조성비율에 -30℃ 이하의 동결온도가 관찰되었으나 40% 조성에서는 4시간 이후에 동결 현상이 관찰되었다. 45% 조성에서는 동결 현상이 6시간 이후로 관찰되었으며 특히 이소판올과 에탄올, PG가 각각 25%, 15%, 5%로 함유된 조성에서는 10시간 이상에서도 동결 현상이 관찰되지 않았다(그림 37).

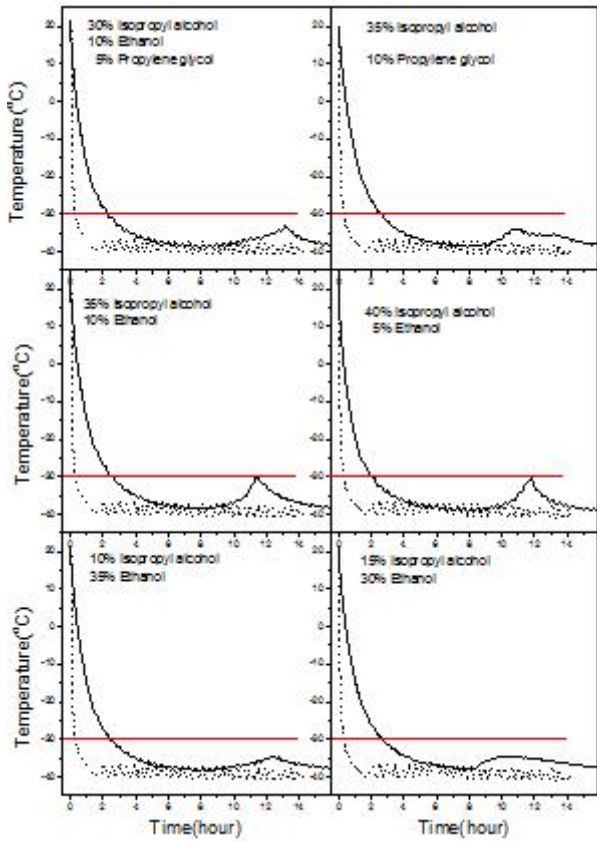


그림 34. 유기계열 부동 희석액 45% 용액의 동결곡선

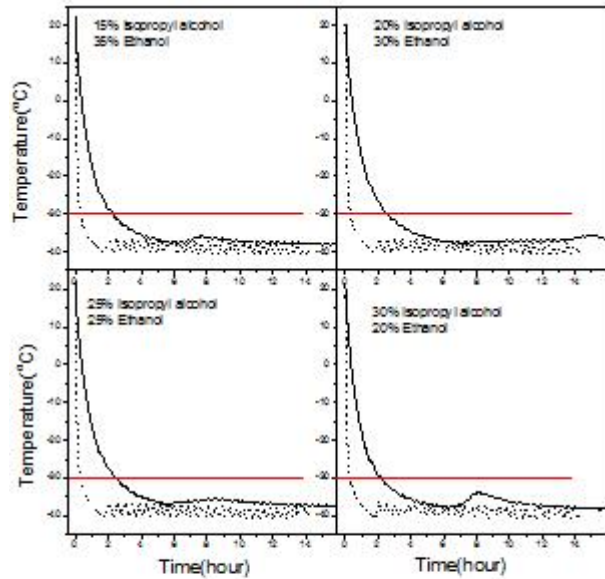


그림 35. 유기계열 부동 희석액 50% 용액의 동결곡선

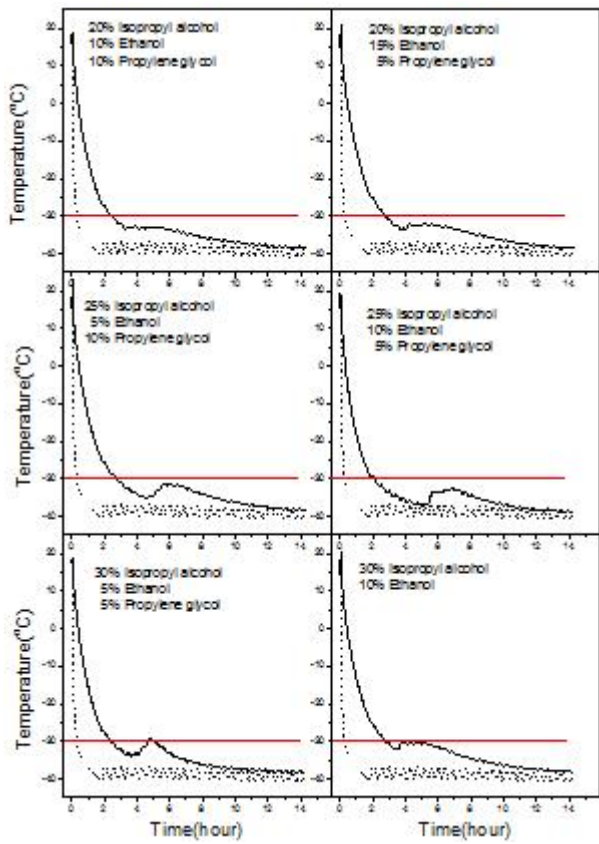


그림 36. 유기계열 부동 희석액 40% 용액의 동결곡선(1)

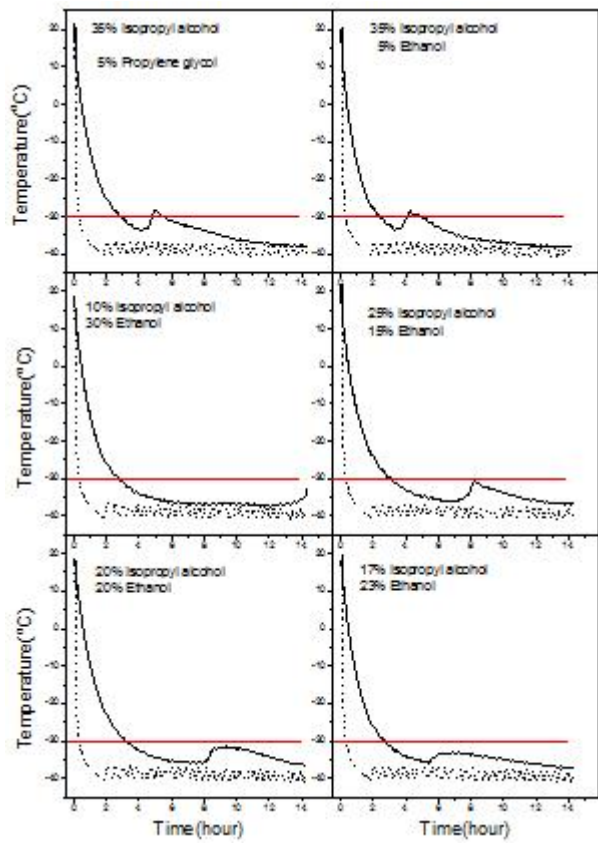


그림 37. 유기계열 부동 희석액 40% 용액의 동결곡선(2)

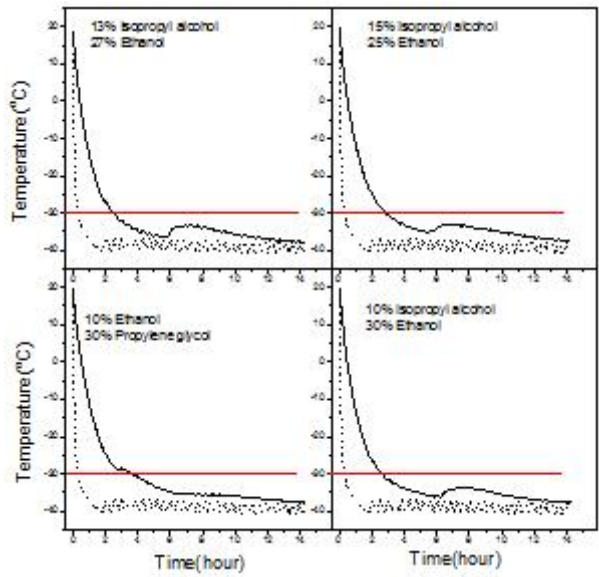


그림 38. 유기계열 부동 희석액 40% 용액의 동결곡선(3)

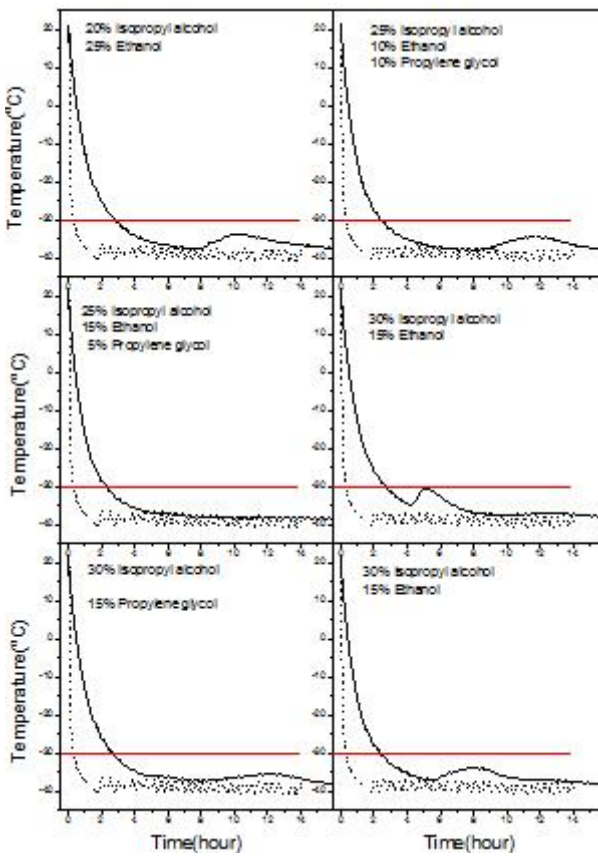
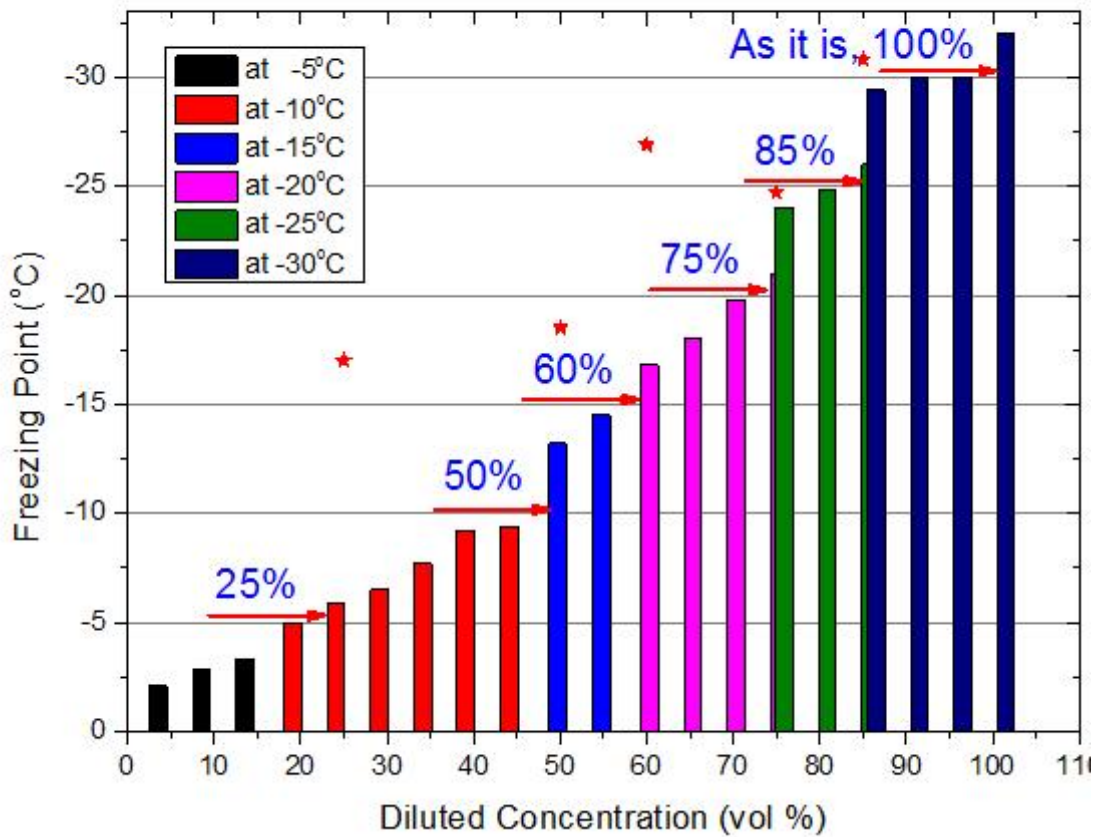


그림 39. 유기계열 부동 희석액 45% 용액의 동결곡선(1)



15% 에탄올과 30% PG로 구성된 유기계 부동 희석액에 대한 희석비율별 동결온도를 측정하였다. 이 데이터는 방역현장의 온도(기온)에 따라 부동 희석액을 일반 물로 희석하여 용량을 늘릴 수 있는데 활용할 수 있다. 데이터에 의하면 유기계 부동 희석액 사용 시 -10°C에서는 50%만 사용해도 얼지 않기 때문에 두 배의 용량으로 사용할 수 있다.

다. 무기계 부동 희석액 최적화

무기계 부동 희석액의 조성은 이소프로판올이 함유된 염화칼슘으로 구성되도록 준비하여 동결곡선을 관찰하였다(그림 40). 염화칼슘의 16% 농도는 -20°C 부근에서 동결되었으며 32%의 염화칼슘도 냉동고에서 8시간에 동결되는 현상을 관찰하였다. 그러나 염화칼슘과 이소프로판올을 혼합한 경우에는 동결 현상이 나타나지 않았으나, 20% 염화칼슘과 이소프로판올 5%의 조성에서 안정된 동결 곡선을 얻을 수 있었다.

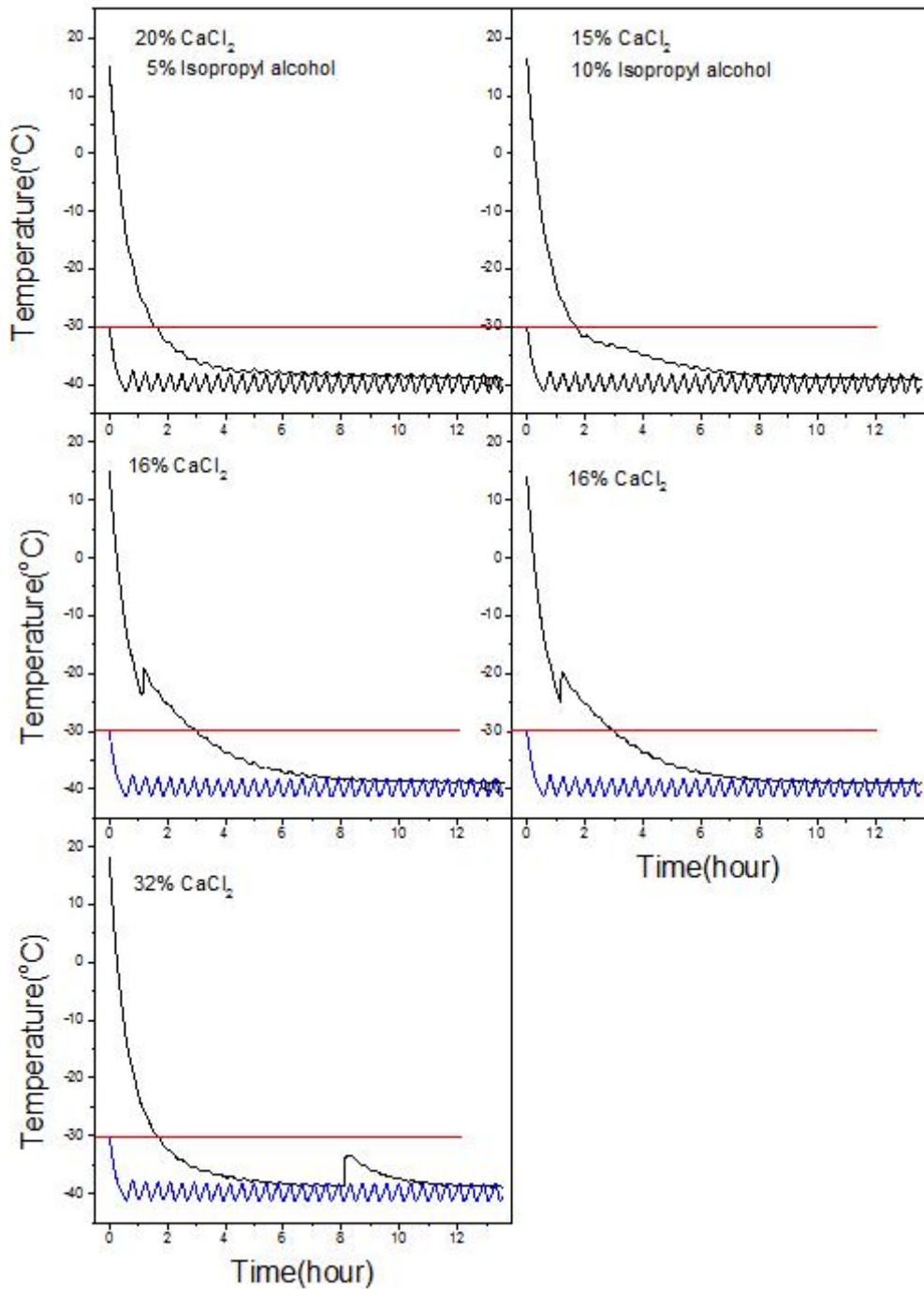
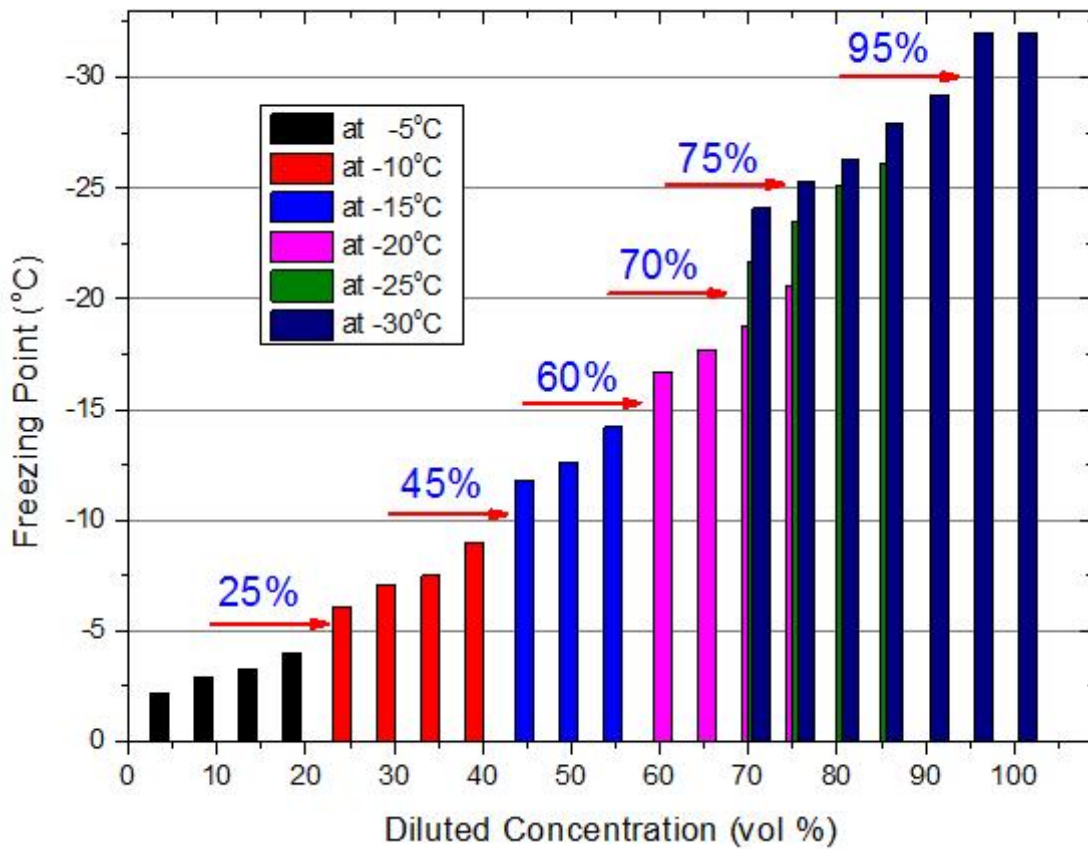


그림 40. 무기계열 부동 희석액 동결곡선



20% 염화칼슘과 이소프로판올 5%의 조성으로 구성된 무기계 부동 희석액에 대한 희석 비율별 동결온도를 측정하였다. 이 데이터는 방역현장의 온도(기온)에 따라 부동 희석액을 일반 물로 희석하여 용량을 늘릴 수 있는데 활용할 수 있다. 상기 데이터에 의하면 무기계 부동 희석액 사용 시 -10°C 이하에서는 50%만 사용해도 얼지 않기 때문에 두 배의 용량으로 사용할 수 있다.

라. 부동 희석액의 어는점 확인(공인기관)

최적화된 부동 희석액의 어는점을 확인하기 위하여 공인시험법(KS M 1071-1 : 2017)으로 시험하였다. 유기계열 부동 희석액의 조성은 25% 이소판올과 15% 에탄올, 5% PG로 구성되었으며, 무기계열은 염화칼슘 20%와 이소프로판올 5%로 구성되었다. 외부기관에 의뢰한 부동 희석액은 원액부터 4배 희석된 용액까지 6단계로 희석된 시료에 대하여 측정되었다. 시험결과는 원액의 경우에 유기계의 측정된 어는점은 -72.7℃로 냉동고에서 측정한 결과보다 낮은 결과를 나타내었으며 최고 희석된 4배 희석의 경우에는 -17℃로 측정되었다. 본 연구진의 실험결과에서 동결 현상이 관찰되지 않은 결과와 일치하였다. 무기계 원액의 측정결과에서도 연구진의 결과보다 낮은 -43.1℃로 측정되었다.

BEYOND ASIAN HUB, TOWARD GLOBAL WORLD

TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동) TEL (031)853-8072 FAX (031)853-8075

성적서번호 : TAK-2018-157776 접수 일자 : 2018년 10월 17일
 대표 자 : 채원석 시험완료일자 : 2018년 11월 06일

업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농
 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대진테크노파크 303호)

시 료 명 : 부동희석액(유기계) 농도별 6종

시험결과				
시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
어는점	℃	25 %	-17.0	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	50 %	-18.5	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	60 %	-26.9	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	75 %	-24.7	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	85 %	-30.8	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	100 %	-72.7	KS M 1071-1 : 2017

* 측정장비 : DSC(Differential Scanning Calorimeter)
 -용 도 : 품질관리용

비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로써 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
 2. 이 성적서는 총보, 선전, 광고 및 소송용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
 3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과치 참고용입니다.

2018년 11월 06일

Park Jae-hyun
직장자 : 박재현
Tel : 02-2092-3700

You Book
기술책임자 : 유석
Tel : 1577-0091(ARS ①-③)

KTR 한국화학융합시험연구원

위변조 확인용 QR code

Page : 1 of 1

BEYOND ASIAN HUB, TOWARD GLOBAL WORLD

TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동) TEL (031)853-8072 FAX (031)853-8075

성적서번호 : TAK-2018-157777 접수 일자 : 2018년 10월 17일
 대표 자 : 채원석 시험완료일자 : 2018년 11월 06일

업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농
 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대진테크노파크 303호)

시 료 명 : 부동희석액(무기계) 농도별 6종

시험결과				
시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
어는점	℃	25 %	-13.2	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	45 %	-16.4	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	60 %	-16.9	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	70 %	-35.1	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	75 %	-28.9	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	95 %	-43.1	KS M 1071-1 : 2017

* 측정장비 : DSC(Differential Scanning Calorimeter)
 -용 도 : 품질관리용

비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로써 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
 2. 이 성적서는 총보, 선전, 광고 및 소송용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
 3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과치 참고용입니다.

2018년 11월 06일

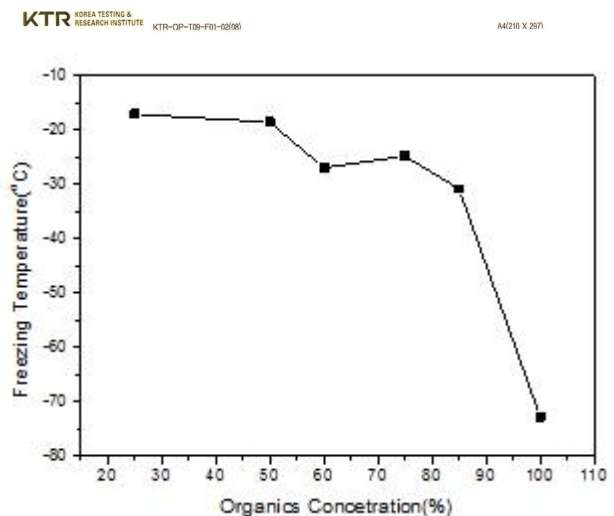
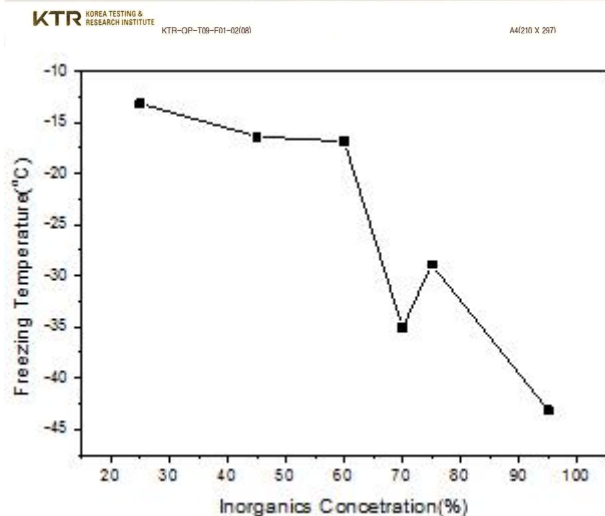
Park Jae-hyun
직장자 : 박재현
Tel : 02-2092-3700

You Book
기술책임자 : 유석
Tel : 1577-0091(ARS ①-③)

KTR 한국화학융합시험연구원

위변조 확인용 QR code

Page : 1 of 1



2-6. 부동 희석액의 부식 및 억제효과 측정

가. 부식의 정의와 측정방법

금속이 그 표면에서 화학적 또는 전기적으로 산화 또는 변질되어 가는 것을 부식이라 하며, 부식되는 양 및 접촉하는 물질에 따라서 크게 다르다. 일반적으로 낮은 온도에서는 화학반응속도가 저하되기 때문에, 부식속도도 현저하게 감소한다. 또 강은 일반적으로 알칼리성보다도 산성일 때 현저하게 부식되는 양이 커진다. 보일러 또는 압력용기에는 산소, 산, 부식성 생성물 또는 응력 등에 의한 부식이 중요한 것이다. 강(鋼)이 물에 접촉하면 강에 포함되어 있는 강 표면의 일부 Fe원자가 Fe^{2+} 1개와 전자 e^- 2개로 분리하며, Fe^{2+} 는 물 속으로 용출(溶出)한다($Fe \rightleftharpoons Fe^{2+} + 2e^-$). 이 때문에 전자를 남겨진 금속체의 강은 \ominus 에 대전(帶電)하고, 물 속에 용출한 Fe^{2+} 를 전기적으로 끌어당겨 Fe^{2+} 를 계속해서 용출을 억제하지만, 여기서 물 속에 Cl^- , OH^- 등이 있으면 $Fe + 2H_2O \rightarrow Fe(OH)_2 + H_2$ 가 된다.

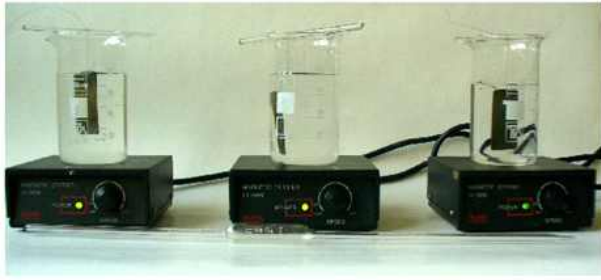
이 상태는 평형을 이룬 상태이며, 제일산화철의 피막으로 해서 철면을 보호해 부식은 진행되지 않는다. 여기서 물의 pH가 낮은 것이 용존 산소(O_2), 염산(HCl), 염화마그네슘($MgCl_2$) 등이 존재하면 상기의 $Fe(OH)_2 + H_2$ 에 변화를 주어 Fe^{2+} 유출이 계속되어 부식은 진행된다.



본 과제에서의 부동 희석액의 부식을 전기화학적 방법으로 측정하여 부식정도를 확인하고 부식을 억제하는 억제제를 첨가함으로써 부동 희석액으로 인한 부식을 억제하고자 하였다. 부식억제제는 식품첨가물로 사용되는 물질을 우선적으로 사용하고 부식진행 속도를 비교하여 부동 희석액의 완성도를 높이고자 하였다.

전기화학적 부식측정은 공정시험방법을 적용하였으며, 시험방법은 KS D 0279와 KS D ISO 17475를 사용하였다. 부동 희석액 중 유기물에 의한 부식은 크지 않으므로 무기물인 염화칼슘에 대한 부식을 측정하였으며, 별도의 지지 전해질이 없는 조건에서 염화칼슘의 농도에 따른 부

식속도를 측정하여 부식 억제제 유무 및 농도에 따른 부식속도를 측정하여 비교하였다.



KS KS

부식 시험에서 전기 화학적
측정에 대한 규정

KS D 0279 : 2005

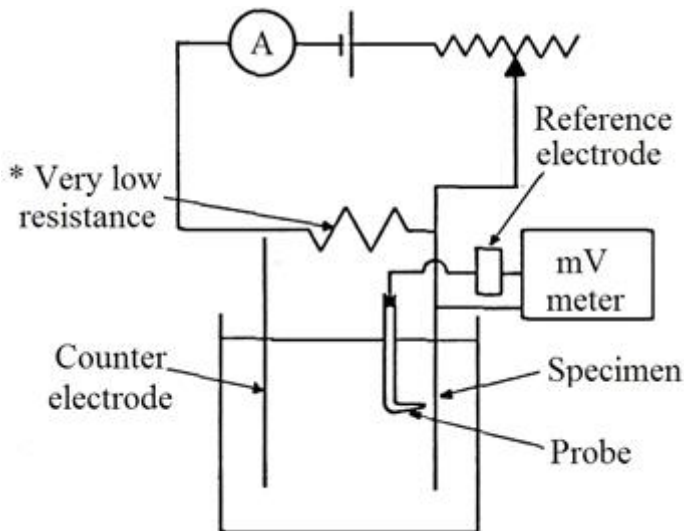
금속 및 합금의 부식-전기화학적
시험방법-정전위 및
동전위 분극 측정 지침
KS D ISO 17475:2008

JIS G 0579 : 1983, *Method for making anodic polarization measurement for stainless steels*

European Federation Corrosion Publication No. 2 : 1996, *A working party report on practical corrosion principles*

ASTM G150 : 1999, *Standard test method for electrochemical critical pitting temperature testing of stainless steels*

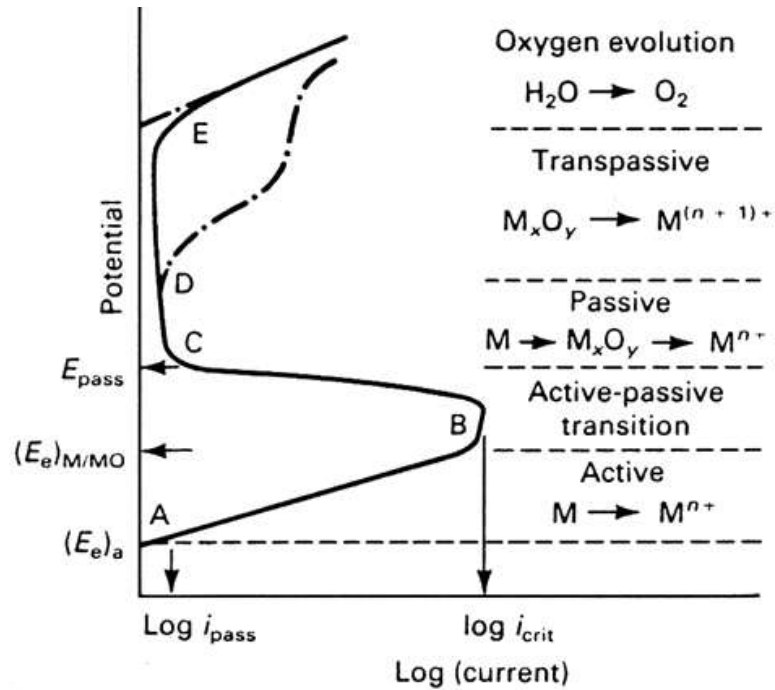
ASTM G5 : 1994, *Standard reference test method for making potentiostatic and potentiodynamic anodic polarization measurements*



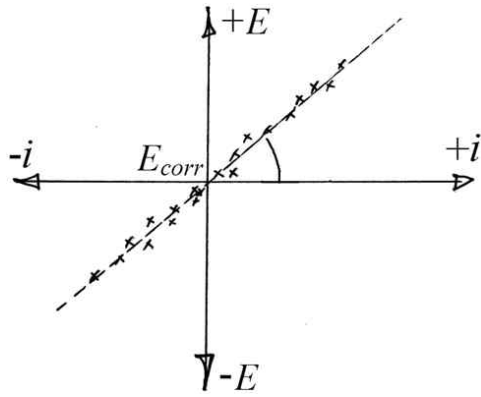
Corrosion Measurements

Potentiostat

- applying a potential vs. reference electrode
- measuring the current
- working electrode = Iron sample
- counter or auxiliary electrode



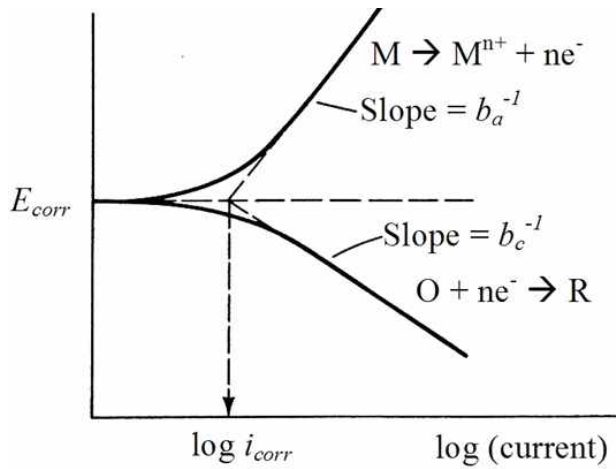
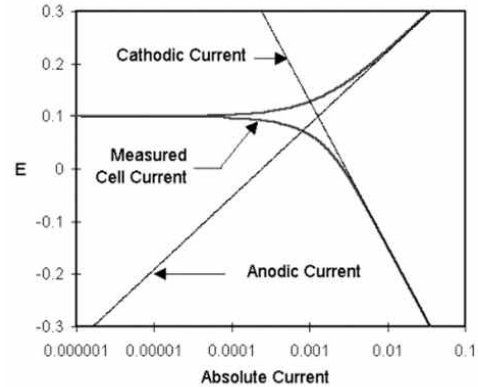
금속의 부식은 전기화학적으로 산화반응을 통하여 진행되므로 금속시편의 산화전위와 전류량은 부식의 반응성과 속도를 측정하는데 사용된다. 부식진행의 초기속도는 전체 부식반응의 속도를 결정하기 때문에 Tafel 범위에서의 전류와 산화전위 비교로 부식정도를 결정하게 된다. 이때 전류량은 로그함수(Log)에 비례하므로 전위에 대한 Log 전류량의 비교를 통하여 부식속도와 부식경향을 판단하였다.



$$\frac{\Delta E}{\Delta i}$$

during linear polarization measurements we plot E vs i (not $\log i$) around the corrosion potential

If the iE curve is curved, the polarization resistance can be obtained by drawing a line that is tangential to the curve at E_{corr} and at zero current.



Extrapolation of the Tafel regions
Corrosion potential, E_{corr}
Corrosion current, i_{corr}

$$\text{Corrosion Rate (cm/s)} = \frac{i(E.W.)}{d F A}$$

E.W. = equivalent weight = M/n

$$Q = i t$$

W/t = corrosion rate (g/s)

A = electrode area (cm^2)

d = density of corroding species

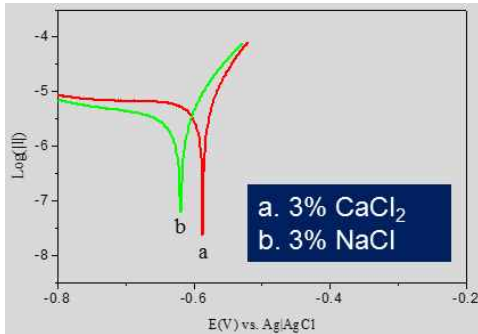
$$\eta = \beta \log \frac{i}{i_{corr}}$$

금속의 부식속도 결정을 위하여 Tafel 범위에서의 산화 전류량 측정으로 연간 부식속도를 결정한다.

$$C.R.(mm/y) = \frac{i(\frac{A}{cm^2}) \times EW(g)}{d(\frac{g}{cm^3})} \times 3270$$

$$3270 = 0.01 \times \{1 \text{ year(in sec)}/96487\}$$

96487 = Faraday constant



나. 부동 희석액의 농도에 따른 부식전류 측정

염화칼슘 용액에서의 부식을 농도의 변화에 대하여 관찰하였다. 그림39에서와 같이 염화칼슘의 농도를 30, 15, 7.5 3w%로 달리하여 부식정도를 측정하였을 때, 농도가 낮은 염화칼슘의 경우에 비하여 가정 농도가 진한 30w%의 농도에서 가장 양의 전위에서 부식전위가 관찰되었고, 낮은 농도로 갈수록 부식전위는 음의 전위로 이동하였다. 높은 농도의 염화칼슘에서는 철의 부식이 -0.54 V에서 진행되기 시작하였으나 낮은 농도인 7.5w%와 3w%에서는 -0.62 V의 전압에서 부식이 진행되었다. 이러한 이유는 염화칼슘의 높은 농도는 이온 활동도가 떨어지기 때문에 부식의 진행이 다소 늦게 시작되는 것으로 생각할 수 있다.

겨울철에 염화칼슘이 제설제로 사용되는 경우에도 초기 부식속도는 높은 농도로 인하여 부식이 지체될 수 있으나, 강설 및 우수에 의해 희석되는 동안에 부식진행 정도는 증가할 것으로 판단된다. 그러므로 부동 희석액의 경우에도 고농도의 희석액을 사용하여 초기 부식속도를 늦출 수 있으나 희석이 진행 동안의 부식을 억제하기 위해서는 적합한 부식억제제의 사용이 필수적이라 할 수 있다. 부식속도는 산화전류량에 비례하며 부식의 정도는 전압의 이동으로 판단된다. 고농도의 염화칼슘에 비하여 저농도에서 부식전압이 음의 방향으로 이동하는 것은 전극인 철(Fe)이 전자를 잃기 쉬운 상태로 변화되는 것을 의미하며 이는 철이 존재하는 주위가 철의 산화를 용이하게 한다는 것이다. 즉 고농도의 상태에서는 이온세기(ionic strength) 높기 때문에 이온의 활동도(activity)가 낮아 전해질의 역할이 부족하여 철의 산화를 촉진시키지 않지만 저농도에서는 반대현상이 일어나게 된다.

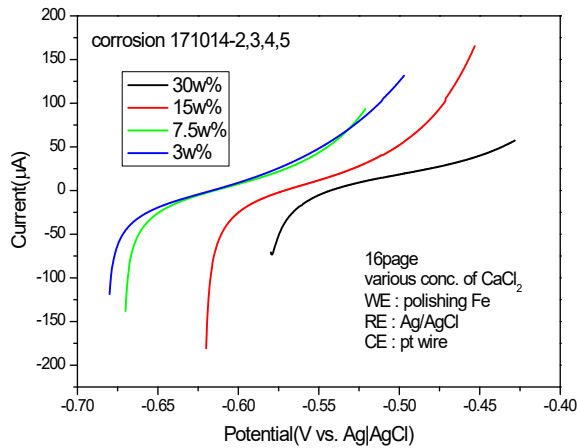


그림 41. 염화칼슘의 농도별 분극곡선

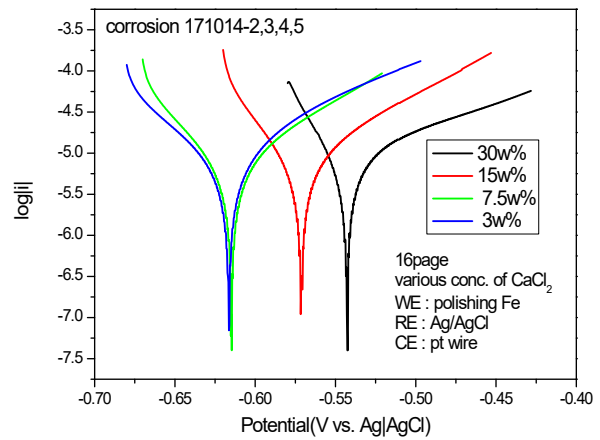


그림 42. 염화칼슘의 농도별 Tafel plots

다. 부식 억제제의 첨가된 부동 희석액의 부식전류 측정

본 과제에서 사용한 부식억제제는 아질산소듐(NaNO_2)으로서 식첨첨가물로 사용되며, 특히 육포, 소시지 등에 첨가물로 사용되고 있다. 염화칼슘에 의한 부식이 빠르게 진행되는 농도인 6w%의 농도에서 부식억제제를 첨가하여 부식속도를 비교하였다. 그림 41의 결과와 같이 염화칼슘만 존재하는 경우에는 -0.43 V 의 전압에서 부식이 시작되었으며, 이때 부식전류는 10^{-4} A 의 전류로 측정되었고 부식속도는 0.398 mm/y 로 계산되었다. 억제제를 0.12% 추가한 경우에 양의 전위로 부식전위가 이동하여 -0.125 V 부근에서 부식이 시작되었으며 부식전류는 10^{-6} A 로 측정되었다. 억제제인 아질산소듐을 0.12% 보다 많이 넣은 0.15%인 경우에 부식전위가 음의 방향으로 이동하고 부식전류가 증가되었다.

방역현장에서 살균소독을 위한 소독제의 부동조건을 만들기 위한 희석액은 차량에 분무되는 경우가 가장 많기 때문에 차량을 구성하는 철 구조물의 부식을 억제하여야 한다. 부식반응은 산화반응으로써 철의 산화를 방지할 수 있어야 된다. 방식제는 다양한 기전으로 부식을 억제하나 환경적인 측면과 경제성을 고려할 때 아질산소듐은 이상적인 첨가물로 판단된다. 그림 43에서와 같이 부식전류가 100배 감소한 결과로 확인되었다.

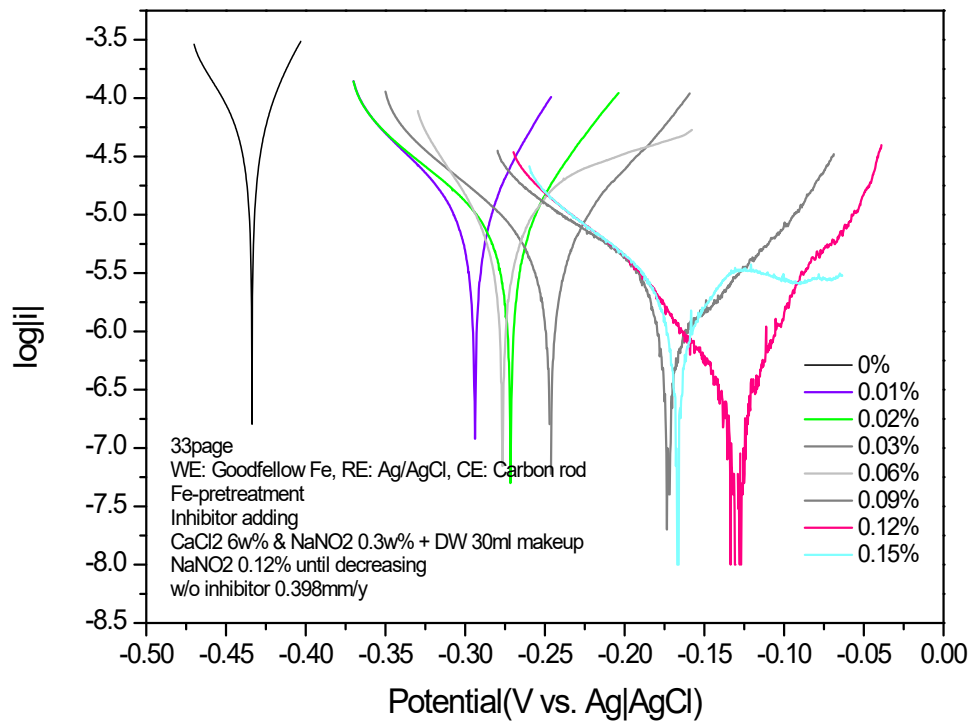


그림 43. 6% 염화칼슘 용액에서 부식억제제에 의한 부식억제 효과

라. 부동 희석액 액체 저항성 관찰(KS MISO 2815-1 : 2012)

금속 시편을 30일간 액체(부동 희석액)에 담근 후 30일간(720시간) 보관하고 전후의 질량을 비교하여 부동 희석액이 금속에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 공인기관에 의뢰하여 시험하였다. 제공된 시편은 50 x 50 x 0.2 mm의 금속 판이며 부동 희석액은 어느점 측정에서 의뢰한 동일한 농도의 유기계와 무기계이다. 720시간 이후에 금속 시편의 질량 감소는 유기계에서 0 g으로 나타났으며 무기계의 경우에는 0.01 g으로 나타났다. 유기계 부동 희석액은 이온성 화합물이 아니기 때문에 용액의 전도도가 낮아 전기화학적 산화반응이 원활하지 못하므로 산화(부식)이 촉진되지 않은 반면에 무기계는 염화칼슘으로 구성된 이온성 화합물이 양이온과 음이온으로 용해되어 용액의 전도도를 높이기 때문에 산화반응이 촉진되어 부식이 더 많이 진행된 것으로 판단된다.

본 연구에서도 정성적으로 부식의 진행과 억제효과를 관찰하였고 억제제가 들어 있지 않은 동일한 시편의 경우에 부식이 많이 진행되었으나 억제제가 들어 있는 부동 희석액에서는 부식의 진행을 관찰할 수 없었다.


BEYOND ASIAN HUB. TOWARD GLOBAL WORLD

TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동) TEL (031)853-8072 FAX (031)853-8075
 성적서번호 : TAK-2018-157771 집 수 일 자 : 2018년 10월 17일
 대 표 자 : 재원사 대 표 자 : 재원사
 업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농 업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농
 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대전테크노파크 303호) 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대전테크노파크 303호)
 시 료 명 : 부동화석(무기계)

시험결과				
시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
액체지방질(부동화석, 720 h)-질량분율	g	-	0	KS M ISO 2812-1 : 2012, 외원자계급시험방법

-시험 및 시편 : 외원자계급
 -시편 크기 : 약 (50 x 50 x 0.2) mm
 -용 도 : 품질관리용
 비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 재물에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
 2. 이 성적서는 총보, 선진, 광고 및 소순용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
 3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과치 참고용입니다.


 작상자 : 김이혁
 Tel : 02-2092-3699


 기술책임자 : 유석
 Tel : 1577-0091(ARS 0-6)

2018년 11월 30일

KTR 한국화학융합시험연구원 

Page : 1 of 1

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE KTR-OP-T09-F01-02008
AK210 X 207


BEYOND ASIAN HUB. TOWARD GLOBAL WORLD


TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동) TEL (031)853-8072 FAX (031)853-8075
 성적서번호 : TAK-2018-157773 집 수 일 자 : 2018년 10월 17일
 대 표 자 : 재원사 대 표 자 : 재원사
 업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농 업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농
 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대전테크노파크 303호) 주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대전테크노파크 303호)
 시 료 명 : 부동화석(무기계)


시험결과				
시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
액체지방질(부동화석, 720 h)-질량분율	g	-	0.01	KS M ISO 2812-1 : 2012, 외원자계급시험방법

-시험 및 시편 : 외원자계급
 -시편 크기 : 약 (50 x 50 x 0.2) mm
 -용 도 : 품질관리용
 비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 재물에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
 2. 이 성적서는 총보, 선진, 광고 및 소순용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
 3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과치 참고용입니다.


 작상자 : 김이혁
 Tel : 02-2092-3699


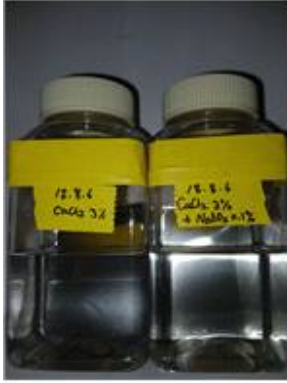





 기술책임자 : 유석
 Tel : 1577-0091(ARS 0-6)

2018년 11월 30일

KTR 한국화학융합시험연구원 

Page : 1 of 1

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE KTR-OP-T09-F01-02008
AK210 X 207

정성적 부식 측정	수돗물 억제제 비교	3% 염화칼슘 억제제 비교	30% PG 10% 에탄올 억제제 비교
2018년 8월 6일 14:34 0시간			
2018년 8월 8일 09:53 44시간			

정성적 부식 측정	수돗물 억제제 비교	3% 염화칼슘 억제제 비교	30% PG 10% 에탄올 억제제 비교
2018년 8월 8일 11:53 46시간			
2018년 8월 11일 16:45 122시간			
2018년 8월 20일 09:57 332시간			
2018년 8월 28일 09:53 524시간			

2-7. 소독제의 선정

가. 소독제 선정을 위한 자료 및 분석결과

동결조건에서 소독제의 효력을 시험하기 위한 대상제품을 선정하기 위하여 2010년부터 2016년 7년 동안 판매자료를 분석하였다. 총 225종의 제품이 품목허가 되어 있으며 작용기전별로 가장 많은 작용기전은 산성제이며 산화제(산소계), 알데하이드, 산화제(염소계), 계면활성제 순이다. 2010년부터 2016년까지 매년 가장 높은 판매금액 순으로 상위 10 제품을 정리하였고, 작용기전별로 정리하여 상위 10 제품의 등록횟수를 분류하였다. 7년 동안 상위 10 제품은 총 70종이나 중복 등록되어 28종이었으며, 작용기전별로는 산성제가 16종, 산화제(산소계)는 9종, 알데하이드가 3종이다. 제품의 작용기전에 대한 특성을 고려한 선정을 위하여 상위 10 등록 제품과 등록 외 제품을 고르게 반영하였다. 작용기전별로 산성제와 산화제(산소계)를 7종씩 선정하였고, 계면활성제 3종, 산화제(염소계) 2종, 알데하이드 2종, 염기제 1종 및 기타 1종을 선정하여 총 23종의 소독제이나, 분류별 제품수를 고려하여 최종 20종을 선정하였으나, 2016년 소독제 전수조사에서 성분미달 제품을 제외하고 성분과 함량이 중복되는 제품을 제외하여 총 10종의 소독제를 선정하였다.

분류(작용기전)	종수
계면활성제	17
산성제	88
산화제(산소계)	57
산화제(염소계)	19
알데하이드	34
염기제	4
페놀류	1
기타	5
총계	225

2010 상위 10		2011 상위 10		2012 상위 10		2013 상위 10	
버콘-S	3,156,948	팜닥터	3,776,009	버콘-S	1,014,486	버콘-S	866,995
세라텍	2,283,461	세라텍	2,685,626	팜닥터	947,766	라이프라인	661,641
팜닥터	2,174,857	버콘-S	2,484,185	라이프라인	690,089	팜닥터	655,150
트리플G	1,603,207	킹사이드	2,369,215	팜가드	616,494	트리플G	463,871
프로텍트 M	1,476,213	바로크린	1,616,644	B.K. 그린	514,534	팜가드	422,359
프리-팜	1,253,024	트리플G	1,606,472	트리플G	503,174	탑-클린	413,214
스누캡	1,238,867	케이맥스-리퀴드	1,478,570	세라텍	456,017	판킬	404,779
케이맥스-리퀴드	1,205,767	프로텍트 M	1,339,361	하이캡	427,324	세라텍	392,379
케이원	1,055,943	하나텐	1,317,588	팜 크리너	384,345	바로크린	378,353
판킬	1,000,278	판킬	1,266,808	대성 하이크린	374,517	이과수	343,876

2014 상위 10		2015 상위 10		2016 상위 10	
버콘-S	1,742,417	팜닥터	1,519,493	버콘-S	1,773,154
바로크린	1,342,626	버콘-S	1,478,136	팜닥터	1,263,088
팜닥터	1,151,961	라이프라인	1,034,520	라이프라인	1,127,606
라이프라인	1,087,375	쎄라텍	926,647	바로크린	742,059
팜가드	1,017,472	씨트라킬	871,318	B.K. 그린	696,560
쎄라텍	977,085	바로크린	852,821	노프러블럼액	586,742
트리플G	848,990	B.K. 그린	823,460	바이킹	570,569
탑-클린	773,757	팜가드	758,732	하나텐 파워	555,583
B.K. 그린	700,260	탑-클린	749,787	케이세븐	461,393
라미아—킬	676,141	쎄니클린스프레이	715,650	킹사이드	431,109

2010 상위 10		2011 상위 10		2012 상위 10		2013 상위 10	
버콘-S	산화제(산소계)	팜닥터	산성제	버콘-S	산화제(산소계)	버콘-S	산화제(산소계)
쎄라텍	산성제	쎄라텍	산성제	팜닥터	산성제	라이프라인	알데하이드
팜닥터	산성제	버콘-S	산화제(산소계)	라이프라인	알데하이드	팜닥터	산성제
트리플G	산화제(산소계)	킹사이드	알데하이드	팜가드	산성제	트리플G	산화제(산소계)
프로텍트 M	산화제(산소계)	바로크린	산성제	B.K. 그린	산화제(산소계)	팜가드	산성제
프리-팜	산화제(산소계)	트리플G	산화제(산소계)	트리플G	산화제(산소계)	탑-클린	산성제
스누캡	산성제	케이맥스-리퀴드	산성제	쎄라텍	산성제	판킬	산화제(산소계)
케이맥스-리퀴드	산성제	프로텍트 M	산화제(산소계)	하이캡	산화제(산소계)	쎄라텍	산성제
케이원	산화제(산소계)	하나텐	산성제	팜 크리너	산성제	바로크린	산성제
판킬	산화제(산소계)	판킬	산화제(산소계)	대성하이크린	산화제(산소계)	이과수	산성제

2014 상위 10		2015 상위 10		2016 상위 10	
버콘-S	산화제(산소계)	팜닥터	산성제	버콘-S	산화제(산소계)
바로크린	산성제	버콘-S	산화제(산소계)	팜닥터	산성제
팜닥터	산성제	라이프라인	알데하이드	라이프라인	알데하이드
라이프라인	알데하이드	쎄라텍	산성제	바로크린	산성제
팜가드	산성제	씨트라킬	산성제	B.K. 그린	산화제(산소계)
쎄라텍	산성제	바로크린	산성제	노프러블럼액	산성제
트리플G	산화제(산소계)	B.K. 그린	산화제(산소계)	바이킹	산성제
탑-클린	산성제	팜가드	산성제	하나텐 파워	산성제
B.K. 그린	산화제(산소계)	탑-클린	산성제	케이세븐	알데하이드
라미아—킬	산성제	쎄니클린스프레이	산성제	킹사이드	알데하이드

품명	분류(작용기전)	상위 10 등록횟수	비고
버콘-S	산화제(산소계)	7	<p style="text-align: center;">총 28종 제품</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 산화제(산소계) : 9 ▪ 산성제 : 16 ▪ 알데하이드 : 3
팜닥터	산성제	7	
썬라텍	산성제	6	
라이프라인	알데하이드	5	
바로크린	산성제	5	
트리플G	산화제(산소계)	5	
B.K. 그린	산화제(산소계)	4	
팜가드	산성제	4	
탑-클린	산성제	3	
판킬	산화제(산소계)	3	
케이맥스-리퀴드	산성제	2	
킹사이드	알데하이드	2	
프로텍트 M	산화제(산소계)	2	
노프러블럼액	산성제	1	
대성 하이크린	산화제(산소계)	1	
라미아-킬	산성제	1	
바이킹	산성제	1	
스누캡	산성제	1	
썬니클린스프레이	산성제	1	
씨트라킬	산성제	1	
이과수	산성제	1	
케이세븐	알데하이드	1	
케이원	산화제(산소계)	1	
팜 크리너	산성제	1	
프리-팜	산화제(산소계)	1	
하나텐	산성제	1	
하나텐 파워	산성제	1	
하이캡	산화제(산소계)	1	
총계		70	

동결조건 시험대상 선정 제품				
분류(작용기전)	종수	선정 제품 품명	상위 10 등록횟수	선정제품
계면활성제	17	팜세이프	0	3종
		팜액트	0	
		파콤-에이	0	
산성제	88	팜닥터	7	7종
		세라텍	6	
		바로크린	5	
		팜가드	4	
		탐-클린	3	
		케이맥스-리퀴드	2	
		노프러블럼액	1	
산화제(산소계)	57	버콘-S	7	7종
		트리플G	5	
		B.K. 그린	4	
		판킬	3	
		프로텍트 M	2	
		대성 하이크린	1	
		퍼시트	0	
산화제(염소계)	19	라이프가드-정	0	2종
		월로벳 하라솔	0	
알데하이드	34	라이프라인	5	2종
		킹사이드	2	
염기제	4	뉴어스텍	0	1종
페놀류	1	-	-	
기타	5	베타딘농후액	0	1종
합계	225		합계	23종

동결조건 시험대상 선정 제품(변경 전)						
분류(작용기전)	종수	비율별 선정 수	선정 제품 품명	성상	제조사	효력시험
계면활성제	17	2	팜세이프	액제	(주)우성양행	AI
			팜액트	액제	동부팜한농(주)	구제역, AI
산성제	88	8	팜닥터	액제	참신약품(주)	구제역, AI
			쌌라텍	액제	(주)크린파스	구제역, AI
			바로크린	액제	한국쌌벤(주)	구제역, AI
			팜가드	액제	(주)코미팜	구제역, AI
			탑-클린	액제	(주)우성양행	구제역, AI
			케어맥스-리퀴드	액제	진우약품(주)	구제역, AI
			노프러블럼액	액제	(주)삼양애니팜	구제역, AI
			라미아-킬	액제	바이오텐(주)	구제역, AI
산화제(산소계)	57	5	버콘-S	산제	바이엘코리아(주)	구제역, AI
			트리플G	산제	참신약품(주)	구제역, AI
			B.K. 그린	산제	(주)보국	구제역, AI
			판킬	산제	(주)코미팜	구제역, AI
			퍼시트	액제	(주)과농	구제역, AI
산화제(염소계)	19	2	라이프가드-정	정제	(주)고려비엔피	구제역, AI
			월로벳 하라솔	액제	이화팜텍(주)	구제역
알데하이드	34	3	라이프라인	액제	(주)고려비엔피	구제역, AI
			킹사이드	액제	대한뉴팜(주)	구제역, AI
			바이로시드	액제	(주)씨티씨바이오	구제역, AI
염기제	4		-	-	-	-
페놀류	1		-	-	-	-
기타	5		-	-	-	-
합계	225	20				

동결조건 시험대상 선정 제품(1차 변경 후)

[변경 사유 : 2016년 전수조사에 의한 성분미달 제품 제외 및 대체]

분류(작용기전)	종수	비율 별 선정 수	선정 제품 품명	성상	제조사	효력시험
계면활성제	17	2	팜세이프	액제	(주)우성양행	AI
			팜액트	액제	동부팜한농(주)	구제역, AI
산성제	88	8	팜닥터	액제	참신약품(주)	구제역, AI
			팜크리너	액제	(주)유니바이오테크	구제역, AI
			바로크린	액제	한국썸벤(주)	구제역, AI
			바이킹	액제	(주)코미팜	구제역, AI
			이화클린팜	액제	(주)우성양행	구제역, AI
			팜크린골드	액제	진우약품(주)	구제역, AI
			노프러블럼액	액제	(주)삼양애니팜	구제역, AI
케이-투	액제	(주)이-글벳	구제역, AI			
산화제(산소계)	57	5	버콘-S	산제	바이엘코리아(주)	구제역, AI
			트리플G	산제	참신약품(주)	구제역, AI
			B.K. 그린	산제	(주)보국	구제역, AI
			판킬	산제	(주)코미팜	구제역, AI
			퍼시트	액제	(주)과농	구제역, AI
산화제(염소계)	19	2	라이프가드-정	정제	(주)고려비엔피	구제역, AI
			월로벳 하라슬	액제	이화팜텍(주)	구제역
알데하이드	34	3	라이프라인	액제	(주)고려비엔피	구제역, AI
			킹사이드	액제	대한뉴팜(주)	구제역, AI
			바이로시드	액제	(주)씨티씨바이오	구제역, AI
염기제	4	-	-	-	-	
페놀류	1	-	-	-	-	
기타	5	-	-	-	-	
합계	225	20				

2차 수정 결과 및 사유 : 성분의 중복

계면활성제	팜세이프	액제	디데실디메틸 암모니아염 5%			(주)우성양행	AI
	팜액트	액제	4급암모늄염 124.3g	글루타알데하이드 53.63g		동부팜한농(주)	구제역, AI
제외사유	동일계열의 Quaternary Ammonium 유효성분 중복 및 알데하이드계에 동일성분 제품 포함되어 제외						
산성제	팜닥터	액제	구연산 200g	복합4급암모늄 100g		참신약품(주)	구제역, AI
	팜크리너	액제	구연산 200g	벤잘코늄염화물 200g	인산 60g	(주)유니바이오테크	구제역, AI
	바로크린	액제	구연산 200g	벤잘코늄염화물 100g	인산 60g	한국썸벤(주)	구제역, AI
	바이킹	액제	구연산 200g	4급암모늄염 100g	인산 100g	(주)코미팜	구제역, AI
	이화클린팜	액제	구연산 200g	복합4급암모늄 100g,	인산 100g	(주)우성양행	구제역, AI
	팜크린골드	액제	구연산 200g	복합4급암모늄 100g		진우약품(주)	구제역, AI
	노프러블럼액	액제	구연산 200g	복합4급암모늄 100g		(주)삼양애니팜	구제역, AI
	케이-투	액제	구연산 200g	복합4급암모늄 100g		(주)이-글벳	구제역, AI
제외사유	산성제 성분(구연산)과 함량이 동일하며, Quaternary Ammonium 성분이 동일하여 제외						
산화제 (산소계)	버콘-S	산제	삼중염 500g	사과산 100g		바이엘코리아(주)	구제역, AI
	트리플G	산제	삼중염 500g	사과산 100g		참신약품(주)	구제역, AI
	B.K. 그린	산제	삼중염 500g	사과산 100g		(주)보국	구제역, AI
	판킬	산제	삼중염 500g	NaDCC 50g		(주)코미팜	구제역, AI
	퍼시트	액제	시트르산수화물 620g	과산화수소 110g		(주)과농	구제역, AI
제외사유	산화제 성분(삼중염)과 함량이 동일하여 제외						
산화제 (염소계)	라이프가드-정	정제	NaDCC 5g/정			(주)고려비엔피	구제역, AI
	월로벳 하라솔	액제	차아염소산나트륨액 990ml/L			이화팜텍(주)	구제역
제외사유	산화제(염소계) 제품 중 차아염소산나트륨 제품의 사용빈도 낮음으로 제외						
알데하이드	라이프라인	액제	G(50%)100g	F(38%) 210g	복합4급암모늄 60g	(주)고려비엔피	구제역, AI
	킹사이드	액제	G 150g	4급암모늄 100g		대한뉴팜(주)	구제역, AI
	바이로사드	액제	G 107.25g	복합4급암모늄 248.6g		(주)씨티씨바이오	구제역, AI
제외사유	Glutaraldehyde 및 Quaternary Ammonium 유효성분의 중복으로 제외						

동결조건 시험대상 최종선정 제품

분류(작용기전)	총 수	비율별 선정 수	선정 제품 품명	성상	주성분 및 분량
계면활성제	17	1	팜세이프	액제	디데실디메칠암모니아염 5%
산성제	88	4	팜크리너	액제	구연산200g, 벤잘코늄염화물200g, 인산 60g
			바로크린	액제	구연산 200g, 벤잘코늄염화물 100g, 인산 60g
			바이킹	액제	구연산 200g, 4급암모늄염 100g, 인산 100g
			케이-투	액제	구연산 200g, 복합4급암모늄 100g
산화제(산소계)	57	3	버콘-S	산제	삼중염 500g, 사과산 100g
			판킬	산제	삼중염 500g, NaDCC 50g
			퍼시트	액제	시트르산수화물 620g, 과산화수소 110g
산화제(염소계)	19	1	라이프가드-정	정제	NaDCC 5g/정
알데하이드	34	1	킹사이드	액제	G 150g, 4급암모늄 100g
염기제	4		-	-	-
페놀류	1		-	-	-
기타	5		-	-	-
합계	225	10			

2-8. 구제역 바이러스 소독 효력시험 결과

가. 선택시험조건에서의 FMD 바이러스 효력시험 결과

■ -10℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과(제조사 권장희석 배수)

실험방법

1) 바이러스원액을 희석액*에 희석한 후, 2.5ml을 꺼내어 동량의 소독제*에 넣고 혼합

* 바이러스(구제역 바이러스 O형) 및 소독제의 부동 희석액: 부동액 조건

2) -10℃에서 15분간 반응

3) 반응이 끝나면 1ml을 꺼내어 동량의 중화배지(비동화된 10% 소태아혈청을 첨가한 DMEM배지)에 넣고 혼합한 다음 희석하여 LFBK 세포주에 접종

4) 바이러스에 의한 세포변성효과를 측정

소독제	부동액 조건	비고
판킬	2.4	바이러스 역가 감소치(virus titer reduction). 바이러스 역가(상용대수 환산 값)는 바이러스 대조군의 역가 4.5를 기준으로 계산한 수치임
케이-투	1.2	
바이킹	0	
킹사이드	1.4	
바로크린	1.2	
버쿰-S	0.4	
라이프가드-정	0.6	
팜 크리너	1	
퍼시트	4.5	

■ -10℃ / 5분, 10분 반응조건에서의 효력시험 결과(제조사 권장희석 배수)

실험방법

1) 바이러스원액을 희석액*에 희석한 후, 2.5ml을 꺼내어 동량의 소독제*에 넣고 혼합

* 바이러스(구제역 바이러스 O형) 및 소독제의 부동 희석액: 1/10 희석액(1X경수) 또는 5% FBS 첨가액

2) -10℃에서 5분, 10분간 각각 반응

3) 반응이 끝나면 1ml을 꺼내어 동량의 중화배지(비동화된 10% 소태아혈청을 첨가한 DMEM배지)에 넣고 혼합한 다음 희석하여 LFBK 세포주에 접종

4) 바이러스에 의한 세포변성효과를 측정

-10℃	1/10 희석액		5%FBS 첨가액		비고
	5분	10분	5분	10분	
퍼시트	5.5	3.8	4	5	바이러스 역가 감소치. 바이러스 역가(상용대수 환산 값)는 바이러스 대조군의 역가 4.5를 기준으로 계산한 수치임

■ -20℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과(제조사 권장희석 배수)

실험방법

1) 바이러스원액을 희석액*에 희석한 후, 2.5ml을 꺼내어 동량의 소독제*에 넣고 혼합

* 바이러스(구제역 바이러스 O형) 및 소독제의 부동 희석액

2) -20℃에서 15분간 반응

3) 반응이 끝나면 1ml을 꺼내어 동량의 중화배지(비동화된 10% 소태아혈청을 첨가한 DMEM배지)에 넣고 혼합한 다음 희석하여 LFBK 세포주에 접종

4) 바이러스에 의한 세포변성효과를 측정

소독제	부동액 조건	비고
퍼시트	5.3	바이러스 역가 감소치. 바이러스 역가(상용대수 환산 값)는 바이러스 대조군의 역가 5.3를 기준으로 계산한 수치임

■ -20℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과(미국 USDA 및 캐나다 CFIA 권고농도)

- 유기계 및 무기계 부동액을 이용한 소독제 희석(소독제의 농도는 2%)

실험방법

1) 바이러스원액을 희석액*에 희석한 후, 2.5ml을 꺼내어 동량의 소독제*에 넣고 혼합

* 바이러스(구제역 바이러스 O형) 및 소독제의 유기계 및 무기계 부동 희석액

2) -20℃에서 15분간 반응

3) 반응이 끝나면 1ml을 꺼내어 동량의 중화배지(비동화된 10% 소태아혈청을 첨가한 DMEM배지)에 넣고 혼합한 다음 희석하여 LFBK 세포주에 접종

4) 바이러스에 의한 세포변성효과를 측정

소독제	유기계 부동액 조건	무기계 부동액 조건	비고
판킬	4.5	4.5	바이러스 역가 감소치. 바이러스 역가(상용대수 환산 값)는 바이러스 대조군의 역가 4.5를 기준으로 계산한 수치임 ▶ 소독제를 각각 2% 농도로 실험한 결과, 실험에 사용한 모든 소독제에 대하여 바이러스의 역가 감소치(virus titer reduction)는 4이상으로 확인됨.
케이-투	4.5	4.5	
바이킹	4.5	4.5	
킹사이드	4.5	4.5	
바로크린	4.5	4.5	
버콘-S	4.5	4.5	
라이프가드-정	4.5	4.5	
팜 크리너	4.5	4.5	
퍼시트	4.5	4.5	

나. 선택시험조건에서의 FMD 바이러스 효력시험 결과분석

선정된 소독제에 대한 부동 희석액을 사용한 선택시험조건인 -10℃ 15분의 반응시간에서 고배율의 저농도 소독제는 효력시험 기준에 불충족하지 못한 결과를 보였다. 산화제 계열의 소독제인 [퍼시트]는 효력기준인 4Log 이상의 감소(4.5Log)를 보였으며, 부동 희석액을 10% 사용한-10℃ 5분의 반응시간에서는 5.5Log의 감소를 나타내었다. 소독제 제조사의 권장희석배율은 효력시험지침의 경수 또는 유기물 조건에서 수행한 결과를 토대로 반영된 희석배율이기 때문에 부동 희석액과 같은 고농도의 유기물이나 무기물이 존재하는 경우에 효력이 감소할 것이므로 동절기 소독제의 사용 시 부동 희석액 사용한다면 희석배율을 낮춰서 사용해야 할 것이다.

미국과 캐나다의 동절기 부동액을 이용한 소독제 사용 시 권고내용을 반영한 고농도 소독제 효력시험에서 선정된 소독제 모두에서 4.5Log 감소의 결과를 확인할 수 있었다. 소독제 [퍼시트]의 구성성분과 함량을 비교하면 다른 소독제에 비하여 구연산의 함량이 높고 권장희석배수가 낮기 때문에 유효성분의 사용농도가 높아 효력이 나타난 것으로 판단된다.

4℃ / 30분	버콘-S 구제역 바이러스 권장희석배수(1/1500) 1 kg → 1500L = 1/1500 = 6.7 x 10 ⁻⁴	미국과 캐나다에서 권장하는 버콘-S의 사용농도인 2%는 50배의 희석배수이므로 국내 버콘-S의 부표상의 권장희석배수인 1,500배와 30배의 차이를 보임.
0 ~ -20℃	미국 EPA : 버콘-S 20그램 + 물 0.7리터 + PG 0.3리터 = 0.02 kg → 1L = 0.02/1 = 0.02	
-21℃ ~ -25℃	미국 EPA : 버콘-S 20그램 + 물 0.7리터 + PG 0.3리터 = 0.02 kg → 1L = 0.02/1 = 0.02	
-5℃ -10℃ -20℃	캐나다 CFIA 2% 버콘-S / 20분 접촉 권장	

소독제	구제역 희석배수	희석배수 % 농도	소독제 주요성분	계열
관킬	1,100	0.091	삼중염 500g NaDCC 50g	산화제 (산소계)
버콘-S	1,500	0.067	삼중염 500g 사과산 100g	
퍼시트	400	0.250	과산화수소 110g 구연산 620g	
블루스카이	800	0.125	과산화수소 275g 과초산 58g	
K-2	800	0.125	구연산 200g 벤잘코늄염화물 100g	산성제 계면활성제
바이킹	1,200	0.083	구연산 200g 디데실디메틸암모니아염 100g 인산100g	
바로크린	400	0.250	구연산 200g 벤잘코늄염화물 100g 인산 60g	
팜크리너	480	0.208	구연산 200g 벤잘코늄염화물 200g 인산 60g	
킹사이드	64	1.563	글루타알데하이드 150g 4급암모늄 100g	알데하이드
라이프가드-정	190	0.526	NaDCC 5g/정	산화제 (염소계)

미국 USDA APHIS 동절기 결빙조건에서 버콘-S + 프로필렌 글리콜 사용 권고내용

FIFRA SECTION 18 Emergency Exemption Label(2016.01.21.)
 [Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act]
 유관부서 : 미국 농무성(USDA), 동식물 건강 검역소(APHIS)
 관계자 : USDA-APHIS
 화학물 : 버콘-S (EPA 등록 No. 71654-6) / 프로필렌 글리콜(PG) 혼합물
 버콘-S Active Ingredient : 삼중염, 염화소듐
 병원체 : 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스
 승인날짜 : 2016.01.20.
 유효기간 : 2019.01.20.
 적용장소 : 물이 어는 온도를 전제하고 계사 외부의 딱딱한 비다공성 표면 운반트럭, 트랙터, 농장 바퀴, 운반도구, 농장 기구 및 신발장화 등에 국한하지 않으며 포함한다.
 사용법 : 모든 사용법, 제한사항, 주의사항은 버콘-S에 준한다. 소독 전에 표면은 청결하여야 한다. 전체적인 오염, 유기물, 잔해/쓰레기는 부러쉬(건식) 및/또는 물과 비누 또는 세정제(습식)로 반드시 제거되어야 한다.
 최종 용액은 2% 버콘-S와 공기온도에 따라 30 또는 40% PG이다. 버콘-S/PG 용액을 혼합할 때, 2% 버콘-S를 얻기 위해 사용되는 물의 30 또는 40%는 PG의 상응하는 부피로 대체되어야 한다. 날씨가 더 추우면 동결방지를 위하여 더 많은 PG 가 필요하다. 아래 표에는 외부 공기온도에 기초한 처방 및 예제 용액농도가 있다.

외부 온도범위	전체 처방	전체 부피	물 (리터)	PG (리터)	버콘-S (그램)	반응접촉 시간
0 ~ -20℃	70% 물 + 30% PG + 버콘-S	4리터	2.8	1.2	80	5분
		1리터	0.7	0.3	20	
-21℃ ~ -25℃	60% 물 + 40% PG + 버콘-S	4리터	2.4	1.6	80	15분
		1리터	0.6	0.4	20	

FIFRA SECTION 18 EMERGENCY EXEMPTION LABEL (Rev. 01/21/16)

AGENCY: U.S. Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)

APPLICATORS: USDA-APHIS and those under APHIS' oversight.

CHEMICAL: Virkon[®]S (EPA Reg. No. 71654-6) and propylene glycol mixture

Virkon[®]S A.I.: potassium peroxymonosulfate
sodium chloride

PESTS: Highly Pathogenic Avian Influenza Virus

DATE APPROVED: January 20, 2016

DATE EXPIRES: January 20, 2019

USE SITES: Hard nonporous surfaces that are outdoors on poultry premises in freezing temperatures, including but not limited to, delivery trucks, tractors, farm vehicles, and other conveyances, farm equipment, and footwear.

USE DIRECTIONS: All applicable directions, restrictions and precautions on the registered product for Virkon[®]S (EPA Reg. No. 71654-6) are to be followed. Surfaces must first be cleaned prior to disinfection. Gross contamination, organic material, and debris must be removed via mechanical means like brushing (dry cleaning) and/or the use of water and soap or detergents (wet cleaning).

Final solution is 2% Virkon[®]S and 30 or 40% PG, depending on air temperature. When mixing the Virkon[®]S /PG solution, 30 or 40% of the water that is used to obtain 2% Virkon[®]S per labeled directions must be replaced by the corresponding volume of PG. The colder the temperature, the more PG is necessary to keep the mixture from freezing. In the below table are formulations and example solution concentrations based on outdoor air temperatures.

Outdoor Temperature Range	Total Formulation	Total volume of solution	water	PG	Virkon [®] S	Contact time
0 to -20°C (12.2 to -4 °F)	70 % water + 30% PG + Virkon [®] S*	1 gal (128 fl oz)	7/10 gal (89.5 fl oz)	3/10 gal (38.5 fl oz)	2.7 fl oz	5 minutes
		1 qt (32 fl oz)	7/10 qt (22.5 fl oz)	3/10 qt (9.5 fl oz)	0.7 fl oz	
-21 to -25 °C (-5.8 to -13°F)	60 % water + 40% PG + Virkon [®] S*	1 gal (128 fl oz)	6/10 gal (77 fl oz)	4/10 gal (51 fl oz)	2.7 fl oz	15 minutes
		1 qt (32 fl oz)	6/10 qt (19 fl oz)	4/10 qt (13 fl oz)	0.7 fl oz	

* The volume of the Virkon[®]S concentrate is not typically taken into account in the total solution volume.

캐나다 동절기 결빙조건에서 버콘-S + 프로필렌 글리콜 사용방법

소독약

온도

- 대부분의 소독제는 실온에서 시험됩니다.
- 일부 제조업체는 제품을 테스트하고 온도 범위에 대한 권장 사항을 제공합니다.
- 온도가 낮으면 화학 반응 속도가 느려지고 종종 필요한 접촉 시간이 길어집니다. 매우 추운 온도에서 소독제가 완전히 작동을 멈출 수 있습니다.
- 추운 날씨, 특히 영하에서 사용할 소독제의 필요한 접촉 시간과 농도에 대해서는 제조업체에 문의하십시오

영하 소독

- Virkon S[®]의 일상적인 사용은 접촉 시간 10 분 동안 1%의 솔루션입니다.
- 조류 바이러스를 이용한 연구에 따르면 -20°C에서 15분의 접촉시간으로 바이러스를 죽이기 위해 Virkon S[®] (40% 프로필렌 글리콜 함유) 2%가 필요함을 알았습니다.
- 결과적으로 CFIA의 대응팀에 대한 권장 사항은 섭씨 영하 이하에서 두배 강도와 두배 접촉 시간을 사용하는 것입니다. 예 : 2 % Virkon S[®] 및 20분 접촉 시간

동결 방지

- CFIA (Canadian Food Inspection Agency)는 Bleach (표백제) 및 Virkon 용액을 사용하여 Propylene Glycol로 일부 소독 효능 테스트를 실시했습니다.

-5°C	-10°C	-20°C
20% 프로필렌 글리콜(PG)	30% 프로필렌 글리콜(PG)	40% 프로필렌 글리콜(PG)
200mL PG + 800mL 물	300mL PG + 700mL 물	400mL PG + 600mL 물

다른 소독제

사용 전 제조사에 확인:

- Tek-trol: NaOH, ethylene glycol, amylphenol, phenylphenol, etc
- 1 Stroke: NaOH, hexylene glycol, amylphenol, phenylphenol, etc
- Virkon S: 삼중염, 사과산, 설과민산, 헥사메타인산나트륨, 도데실벤젠설포산나트륨
- Chlorox (표백제): 하이포아염소산
- Synergize: 4급암모늄, 글루타알데히드, 인산

FIFRA SECTION 18 EMERGENCY EXEMPTION LABEL (Rev. 01/21/16)

AGENCY: U.S. Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)

APPLICATORS: USDA-APHIS and those under APHIS' oversight.

CHEMICAL: Virkon[®]S (EPA Reg. No. 71654-6) and propylene glycol mixture

Virkon[®]S A.I.: potassium peroxymonosulfate
sodium chloride

PESTS: Highly Pathogenic Avian Influenza Virus

DATE APPROVED: January 20, 2016

DATE EXPIRES: January 20, 2019

USE SITES: Hard nonporous surfaces that are outdoors on poultry premises in freezing temperatures, including but not limited to, delivery trucks, tractors, farm vehicles, and other conveyances, farm equipment, and footwear.

USE DIRECTIONS: All applicable directions, restrictions and precautions on the registered product for Virkon[®]S (EPA Reg. No. 71654-6) are to be followed. Surfaces must first be cleaned prior to disinfection. Gross contamination, organic material, and debris must be removed via mechanical means like brushing (dry cleaning) and/or the use of water and soap or detergents (wet cleaning).

Final solution is 2% Virkon[®]S and 30 or 40% PG, depending on air temperature. When mixing the Virkon[®]S /PG solution, 30 or 40% of the water that is used to obtain 2% Virkon[®]S per labeled directions must be replaced by the corresponding volume of PG. The colder the temperature, the more PG is necessary to keep the mixture from freezing. In the below table are formulations and example solution concentrations based on outdoor air temperatures.

Outdoor Temperature Range	Total Formulation	Total volume of solution	water	PG	Virkon [®] S	Contact time
0 to -20°C (12.2 to -4 °F)	70 % water + 30% PG + Virkon [®] S*	1 gal (128 fl oz)	7/10 gal (89.5 fl oz)	3/10 gal (38.5 fl oz)	2.7 fl oz	5 minutes
		1 qt (32 fl oz)	7/10 qt (22.5 fl oz)	3/10 qt (9.5 fl oz)	0.7 fl oz	
-21 to -25 °C (-5.8 to -13°F)	60 % water + 40% PG + Virkon [®] S*	1 gal (128 fl oz)	6/10 gal (77 fl oz)	4/10 gal (51 fl oz)	2.7 fl oz	15 minutes
		1 qt (32 fl oz)	6/10 qt (19 fl oz)	4/10 qt (13 fl oz)	0.7 fl oz	

* The volume of the Virkon[®]S concentrate is not typically taken into account in the total solution volume.

검역본부 FMD 바이러스 효력시험 결과

시험조건 소독제	제조사 권장희석배수		미국/캐나다 권고농도(2%)		소독제 주요성분	계열	
	-10℃ 15분		-20℃ 15분				
	유기 부동액	무기 부동액	유기 부동액	유기계 부 동액 조건			무기계 부 동액 조건
판킬	2.4	1.4		4.5	4.5	삼중염 500g, NaDCC 50g	산화제 (산소계)
버콘-S	0.4	1		4.5	4.5	삼중염 500g, 사과산 100g	
퍼시트	4.5	1.6	5.3	4.5	4.5	과산화수소 110g, 구연산 620g	
블루스카이		0.6				과산화수소 275g, 과초산 58g	
K-2	1.2	1.2		4.5	4.5	구연산 200g, 벤잘코늄염화물 100g	산성제 계면활성제
바이킹	0	1.4		4.5	4.5	구연산 200g, 디테실디메칠암모니아염 100g, 인산 100g	
바로크린	1.2	1.6		4.5	4.5	구연산 200g, 벤잘코늄염화물 100g, 인산 60g	
팜크리너	1	1.4		4.5	4.5	구연산 200g, 벤잘코늄염화물 200g, 인산 60g	
킹사이드	1.4	4.4		4.5	4.5	글루타알데하이드 150g, 4급암모늄 100g	알데하이드
라이프가드-정	0.4	1		4.5	4.5	NaDCC 5g/정	산화제 (염소계)
팜세이프	FMD 효력시험 미 실시 제품				디테실디메칠암모니아염 5%		계면활성제

구제역 바이러스 소독 효력시험에 사용된 제품의 권장희석배수는 유효성분의 %농도가 미국과 캐나다의 권장농도인 2%에 미치지 못하며 사용된 산화제 중에는 그림 44에 보인바와 같이 [퍼시트]의 권장농도가 가장 높고 농도가 가장 높은 제품은 [킹사이드]이다. FMD에 대한 동결 조건에서의 효력시험은 유기계 부동 희석액에서는 산화제 [퍼시트]와 무기계 부동 희석액에서는 [킹사이드]가 유효한 효력을 나타냈다. 소독제를 구성하는 성분의 차이가 아닌 유효성분의 농도 차이에 의한 효력의 차이로 판단된다.

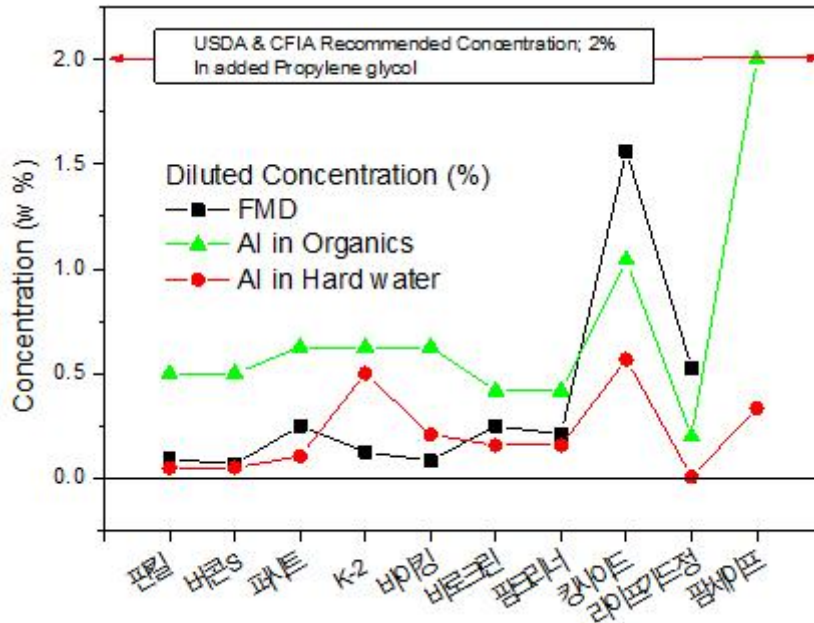


그림 44. 소독제 권장희석배수에서 주성분의 % 농도

그림 45과 같이 4°C 30분의 표준시험조건에서 소독제는 각각의 성분함량에 따라 기준 효력을 나타내었다. 비교적 함량이 많은 소독제와 함량은 적은 소독제에서 유효한 효력을 확인하였다. 그러나 제조사의 권장희석배수를 적용한 유효성분의 농도는 그림 46에서와 같이 차이가 있음을 알 수 있으며 유효농도의 차이는 -10°C 15분의 효력시험 결과와 비례하는 결과로 나타났다. [퍼시트]와 같이 유효성분의 농도가 1.5%인 소독제는 효력기준인 4Log이상의 결과를 보였으나, 농도가 높더라도 알데히드 계열의 [킹사이드] / 산화제(염소계) [라이프가드-정]은 효력기준을 충족하지 못하였다.

산성제와 계면활성제가 복합된 제품인 [K-2], [바이킹], [바로크린], [팜크리너]는 유효성분인 구연산, 4급암모늄, 인산 등의 함량이 유사하나 낮은 권장희석 배수(높은 농도)를 갖는 [바로크린]과 [팜크리너]에서 유효성분의 함량에 비례하여 바이러스 감소효과가 높게 관찰되었다. 산화제(산소계), 산성제/계면활성, 알데히드, 산화제(염소계) 소독제를 부동 희석액으로 희석한 효력 시험 결과를 통하여 산화제(산소계)와 산성제/계면활성제 소독제가 적합한 것으로 사료되며, 현재 설정된 권장희석 배수에 비하여 낮은 배수(높은 농도)의 소독제 적용이 필요할 것으로 판단된다.

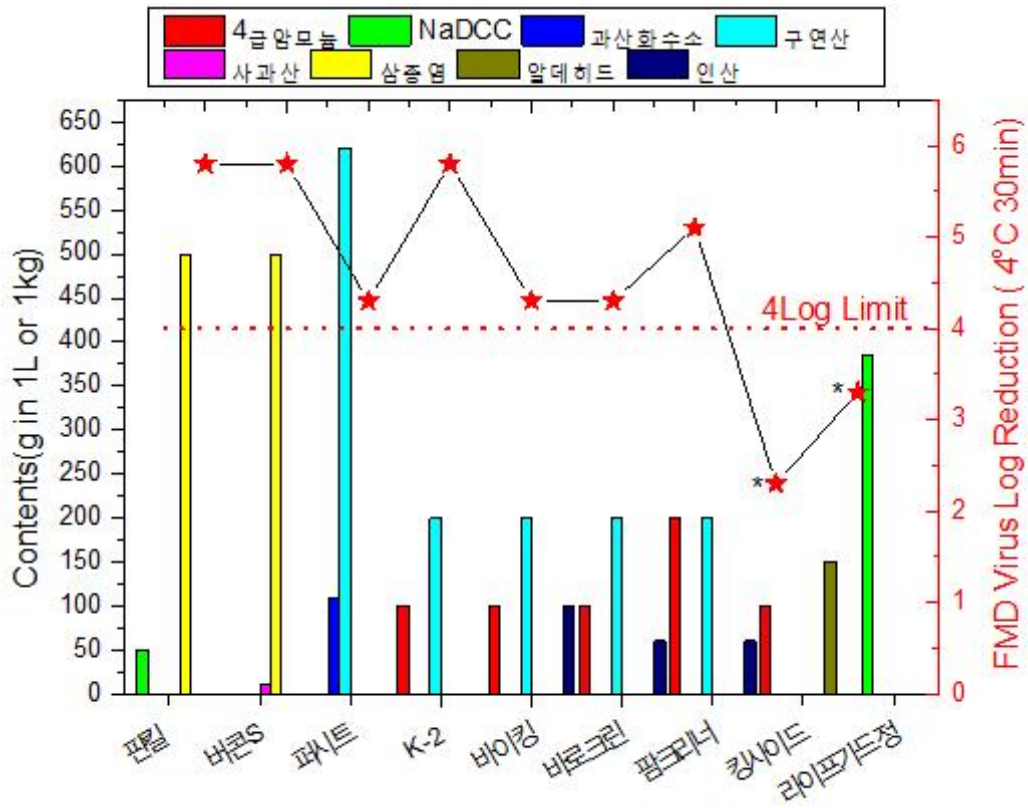


그림 45. 소독제의 유효성분에 대한 함량 및 4°C 30분에서의 Log 감소값 (* 1% 경수조건 허가제품)

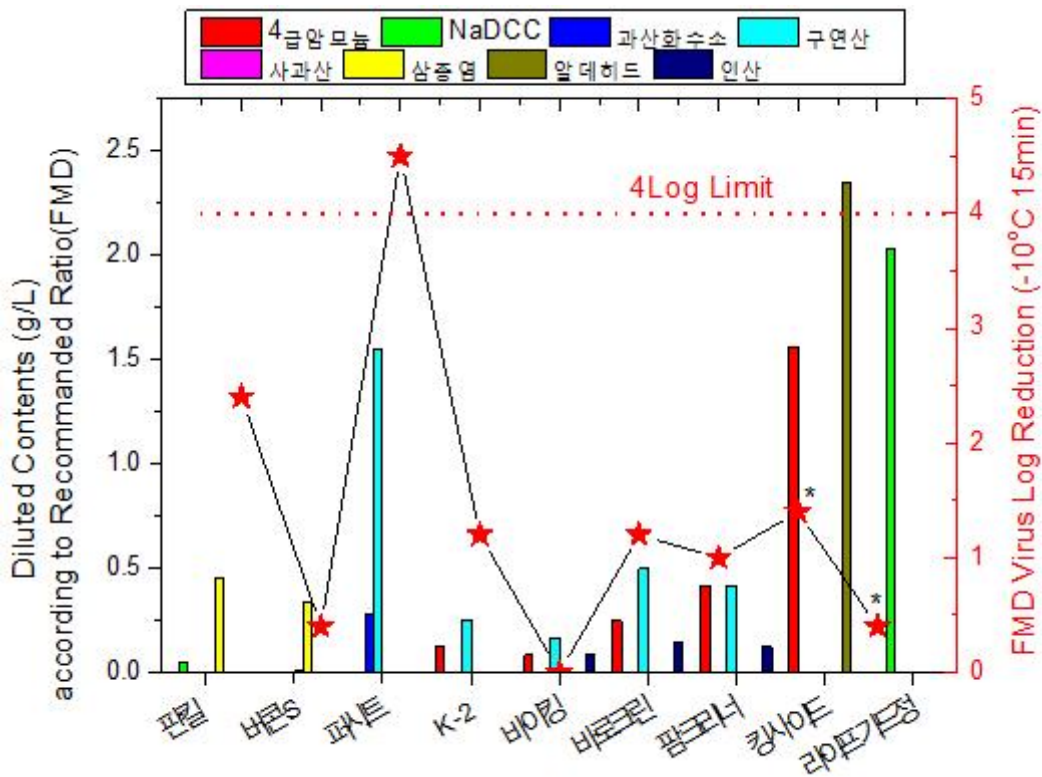


그림 46. 소독제의 권장희석배수에서 유효성분의 농도 및 -10°C 15분에서의 Log 감소값 (* 1% 경수조건 허가제품)

2-9. 조류인플루엔자 바이러스 소독 효력시험 결과

가. 선택시험조건에서의 AI 바이러스 효력시험 결과

■ -5, -10, -20, -30℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과(제조사 권장희석 배수)

시험방법

농림축산검역본부 고시 제2018-16호 ‘소독제 효력시험지침’의 선택시험조건에 따라 다음과 같이 진행하였다.

- ① 소독제를 주어진 희석배수로 각각의 유·무기계 부동 희석액으로 희석하고 희석한 소독제 2.5 ml 씩을 5개 시험관에 넣고, 냉동고에서 각각의 온도 (-5, -10, -20, -30℃)가 되도록 하였다.
- ② 발육계란과 PK-15 cell에 각각 접종하여 계대배양한 Avian influenza virus (AIV) 배양액 1 ml을 19 ml의 각각의 유·무기계 부동희석액과 혼합한 후, 혼합액 2.5 ml를 꺼내어 각각의 온도 (-5, -10, -20, -30℃)로 조정된 동량의 소독제 희석액이 들어 있는 5개 시험관에 넣고 혼합하였다.
- ③ 소독제 희석액과 균액을 혼합한 시험관을 각각의 온도 (-5, -10, -20, -30℃)에서 정확히 15분간 반응을 시켰다.
- ④ 반응이 끝난 직후, 소독제의 효능을 중화하기 위하여, 즉시 1.0 ml를 꺼내어 37℃의 1.0 ml 중화배지 (AIV: 인산완충식염수 (PBS, pH 7.2)에 비동화한 10% 소태아혈청 첨가)에 넣고 혼합한 다음, 적합한 양을 종란 혹은 PK-15 cell line에 접종한 다음 바이러스 증식여부를 확인하였다.
- ⑤ 병원체 대조군의 바이러스 감염역가에 비하여 소독제 처리군의 바이러스 감염역가가 10^4 TCID₅₀ (또는 EID₅₀) 이상 불활화가 인정될 경우에 효과가 있는 것으로 판정하였다.

유기계 부동 희석액으로 희석한 소독제들의 영하온도에서 AIV에 대한 효과

소독제	희석배수	반응온도			
		-5℃	-10℃	-20℃	-30℃
관킬	200	×	×	×	×
버콘S	200	×	×	×	×
K-2	200	×	×	×	×
바이킹	200	○(5.2)	○(4.2)	×	×
바로크린	300	×	×	×	×
팜크리너	300	×	×	×	×
킹사이드	500	○(5.8)	○(4.4)	×	×
팜세이프	50	○(5.4)	○(4.2)	×	×
퍼시트	200	○(4.8)	○(4.0)	×	×
라이프가드	500	×	×	×	×

○: 소독효과 있음; ×: 소독효과 없음. () 안은 log reduction.

무기계 부동 희석액으로 희석한 소독제들의 영하온도에서 AIV에 대한 효과

	희석배수	반응온도			
		-5℃	-10℃	-20℃	-30℃
판킬	200	○(6.0)	○(4.8)	○(4.0)	×
버쿰S	200	○(6.2)	○(5.0)	○(4.0)	×
K-2	200	×	×	×	×
마이킹	200	×	×	×	×
바로크린	300	×	×	×	×
팜크리너	300	×	×	×	×
킹사이드	500	×	×	×	×
팜세이프	50	○(5.4)	○(4.0)	×	×
퍼시트	200	○(6.2)	○(5.2)	○(4.2)	×
라이프가드	500	×	×	×	×

○: 소독효과 있음; ×: 소독효과 없음. () 안은 log reduction.

■ -20℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과(미국 USDA 및 캐나다 CFIA 권고농도)

시험방법

농림축산검역본부 고시 제2018-16호 ‘소독제효력시험지침’의 선택시험조건에 따라 다음과 같이 진행하였다.

- ① 소독제를 주어진 희석배수로 각각의 유·무기계 부동 희석액을 사용하여 2% 농도로 희석하고 희석된 소독제 2.5 ml 씩을 5개 시험관에 넣고, 냉동고에서 -20℃가 되도록 하였다.
- ② 발육계란과 PK-15 cell에 각각 접종하여 계대배양한 Avian influenza virus (AIV) 배양액 1 ml을 19 ml의 각각의 유·무기계 부동희석액과 혼합한 후, 혼합액 2.5 ml를 꺼내어 각각의 온도 -20℃로 조정된 동량의 소독제 희석액이 들어 있는 5개 시험관에 넣고 혼합하였다.
- ③ 소독제 희석액과 균액을 혼합한 시험관을 -20℃에서 정확히 15분간 반응을 시켰다.
- ④ 반응이 끝난 직후, 소독제의 효능을 중화하기 위하여, 즉시 1.0 ml를 꺼내어 37℃의 1.0 ml 중화배지 (AIV: 인산완충식염수 (PBS, pH 7.2)에 비동화한 10% 소태아혈청 첨가)에 넣고 혼합한 다음, 적합한 양을 종란 혹은 PK-15 cell line에 접종한 다음 바이러스 증식여부를 확인하였다.
- ⑤ 병원체 대조군의 바이러스 감염역가에 비하여 소독제 처리군의 바이러스 감염역가가 10^4 TCID₅₀ (또는 EID₅₀) 이상 불활화가 인정될 경우에 효과가 있는 것으로 판정하였다.

유기계·무기계 부동 희석액으로 희석한 소독제들의 -20℃에서 AIV에 대한 효과

소독제	Log reduction	
	유기계 부동액	무기계 부동액
판킬	4.2	4.8
버콘S	4.0	4.4
K-2	4.6	5.0
바이킹	4.8	5.2
바로크린	4.0	4.6
팜크리너	5.0	5.4
킹사이드	4.6	5.0
팜세이프	4.8	5.2
퍼시트	5.2	5.8
라이프가드	4.4	4.8

■ -30℃ / 15분 반응조건에서의 효력시험 결과

시험방법

농림축산검역본부 고시 제2018-16호 ‘소독제 효력시험지침’의 선택시험조건에 따라 다음과 같이 진행하였다.

- ① 소독제를 주어진 희석배수로 각각의 유·무기계 부동 희석액을 사용하여 10% 농도로 희석하고 희석된 소독제 2.5 ml 씩을 5개 시험관에 넣고, 냉동고에서 -30℃가 되도록 하였다.
- ② 발육계란과 PK-15 cell에 각각 접종하여 계대배양한 Avian influenza virus (AIV) 배양액 1 ml을 19 ml의 각각의 유·무기계 부동희석액과 혼합한 후, 혼합액 2.5 ml를 꺼내어 각각의 온도 -30℃로 조정된 동량의 소독제 희석액이 들어 있는 5개 시험관에 넣고 혼합하였다.
- ③ 소독제 희석액과 균액을 혼합한 시험관을 -30℃에서 정확히 15분간 반응을 시켰다.
- ④ 반응이 끝난 직후, 소독제의 효능을 중화하기 위하여, 즉시 1.0 ml를 꺼내어 37℃의 1.0 ml 중화배지 (AIV: 인산완충식염수 (PBS, pH 7.2)에 비동화한 10% 소태아혈청 첨가)에 넣고 혼합한 다음, 적합한 양을 종란 혹은 PK-15 cell line에 접종한 다음 바이러스 증식여부를 확인하였다.
- ⑤ 병원체 대조군의 바이러스 감염역가에 비하여 소독제 처리군의 바이러스 감염역가가 10^4 TCID₅₀ (또는 EID₅₀) 이상 불활화가 인정될 경우에 효과가 있는 것으로 판정하였다.

유기계·무기계 부동 희석액으로 희석한 소독제들의 -30℃에서 AIV에 대한 효과

소독제	Log reduction	
	유기계 부동액	무기계 부동액
판킬	4.0	4.4
버쿤S	4.0	4.2
K-2	4.2	4.4
바이킹	4.2	4.6
바로크린	4.4	4.8
팜크리너	4.6	5.0
킹사이드	4.2	4.6
팜세이프	4.4	4.8
퍼시트	4.6	5.0
라이프가드	4.2	4.6

나. 선택시험조건에서의 AI 바이러스 효력시험 결과분석

영하의 온도에서 소독제에 대한 효력시험을 수행하였다. 부동 희석액을 사용하여 소독제를 희석배율로 희석하고 선택한 온도를 유지한 상태에서 부동 희석액과 혼합된 배양액을 선택한 온도에서 보관하여 온도에 도달하였을 때 동량으로 혼합하여 15분간 반응 시켰다. 유기계 부동 희석액에서는 -5℃와 -10℃에서 효력이 나타나는 소독제가 [바이킹], [킹사이드], [팜세이프], [퍼시트]로 나타났으며, 무기계 부동 희석액을 사용한 경우에는 -20℃에서도 효력이 나타난 소독제는 [판킬], [버쿤S], [퍼시트]이다. -5℃와 -10℃에서는 [팜세이프]도 효력이 확인되었다. 부동 희석액은 고농도의 유기물이거나 경수 조건인 조성을 갖고 있다. AI 바이러스 소독시험에서 효력이 나타난 소독제의 주요성분은 4급 암모늄인 계면활성제와 산성인 구연산 / 인산, 산화제인 삼중염 / 과산화수소이다. 특히 유기계와 무기계 부동 희석액에서 -20℃의 온도까지 효력을 나타낸 소독제는 산성과 산소계 산화제로 구성된 [퍼시트]이다.

그림 47의 결과 정리를 통해서 소독제의 효력과 사용농도의 관계를 알 수 있다. 사용된 소독제의 유효성분에 대한 차이는 크지 않으나 희석 후에 농도에는 차이가 있어서 5회의 시험에서 3회 이상의 효력을 나타낸 소독제는 권장희석배수에서 높은 농도를 갖고 있었다. [판킬]과 [버쿤S]는 무기계 부동 희석액 사용 시 -20℃까지의 온도에서도 효력이 나타났으며, [팜세이프]는 계면활성제 소독제 중에서 가장 높은 농도를 갖고 있기에 4회의 효력이 나타났다. 5회 모두에서 효력이 나타난 [퍼시트]는 희석 후 가장 높은 농도를 갖고 있는 소독제로 제조사의 권장희석배수에서 -5℃부터 -20℃까지 AI 바이러스에 대한 효력이 있음을 확인할 수 있었다.

소독제	희석배수	소독제 주요성분	계열
판킬	200	삼중염 500g NaDCC 50g	산화제 (산소계)
버콘-S	200	삼중염 500g 사과산 100g	
K-2	200	구연산 200g 벤잘코늄염화물 100g	산성제 계면활성제
바이킹	200	구연산 200g 디테실디메틸암모니아염 100g 인산100g	
바로크린	300	구연산 200g 벤잘코늄염화물 100g 인산 60g	
팜크리너	300	구연산 200g 벤잘코늄염화물 200g 인산 60g	
킹사이드	500	글루타알데하이드 150g 4급암모늄 100g	알데하이드
팜세이프	50	염화디테실디메틸암모늄 50g	계면활성제
퍼시트	200	과산화수소 110g 구연산 620g	산화제 (산소계)
라이프가드-정	500	NaDCC 5g/정	산화제 (염소계)

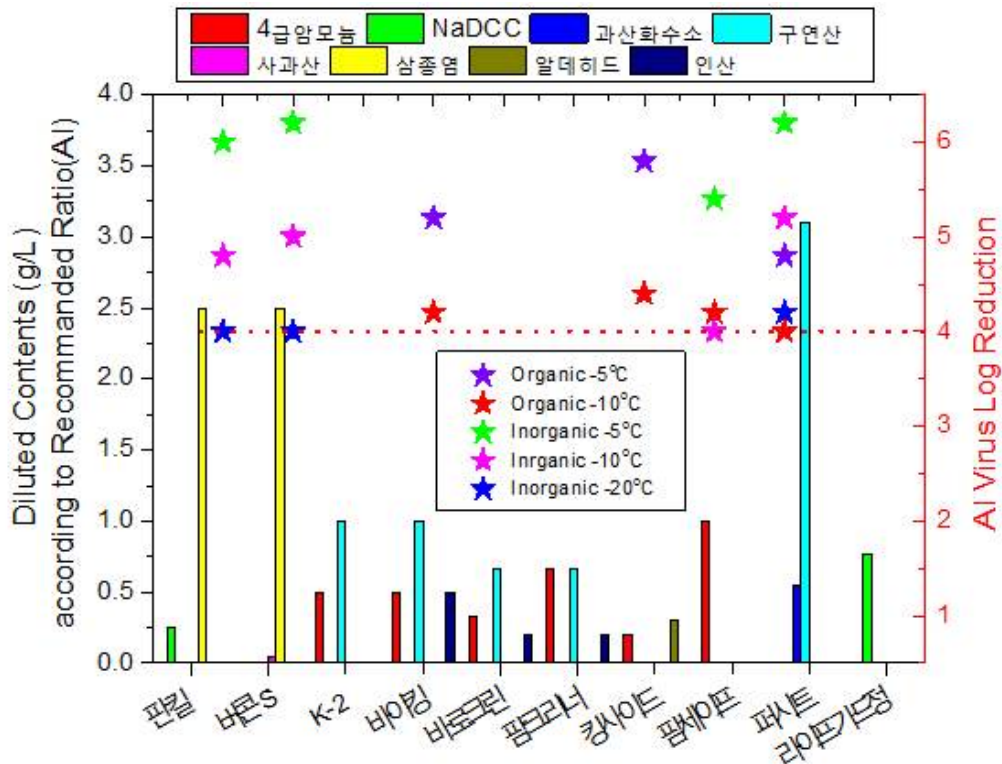


그림 47. 소독제의 권장희석배수에서 유효성분 농도 및 유/무기 부동 희석액 사용별 -5°C, -10°C, -20°C 15분에서의 Log 감소값

2-10. 부동 회석액의 친환경성 시험결과

가. 미세조류 성장저해시험 결과

부동 회석액과 선정된 소독제와 생태영향을 시험하기 위하여 미세조류 성장저해시험을 수행하였다. 시험방법은 공인시험법을 적용하였으며, 실험방법은 아래와 같다.

A. Algal culturing medium 제작

- a) 10ml Nutrient stock A, 1ml Nutrient stock B, C and D를 넣고 deionized water(D.W)를 1L에 맞춰 넣고 잘 섞는다.
- b) pH 8.1 ± 0.2 를 HCl과 NaOH로 맞춘다.
- c) Filtered Air로 30분간 Equilibrate 한다.

B. 미세조류 시료 준비

- a) Algal beads의 용액을 내용물이 나오지 않게 버린 후, 5ml Matrix dissolving medium을 넣고 vortexing 후, 3,000rpm 10min 원심분리하여 상등액을 버린다.
- b) 10ml D.W로 같은 방법으로 washing 한다.
- c) 10ml Algal culturing medium 을 넣고 vortexing 한다.

C. 미세조류 농도 측정

- a) Algal suspension solution에 Algal culturing medium을 넣어 25ml을 맞춘다.
- b) 670nm에서 흡광도를 측정한다.(N1)
- c) 이 algal suspension solution을 다시 algal culturing medium으로 100ml을 맞춘다.
- d) 670nm에서 흡광도를 측정한다.(N2- 1×10^6 algal cells/ml)

D. 시료 희석

- a) 측정할 sample을 algal culturing medium에 희석하여 100ml 씩 C1-5까지 제조한다.
- b) 1×10^6 algal cells을 첨가하고 잘 섞어준다.
- c) Test vials에 25ml씩 분주한다.

E. 배양 및 결과 확인

- a) $23 \pm 2^\circ\text{C}$ lux 10,000에서 배양한다.
- b) 24hr, 48hr, 72hr에서 670nm 흡광도를 측정한다.

부동 회석액에 대한 미세조류 성장저해시험은 유기계와 무기계로 구분하여 진행되었으며, 유기계는 에탄올과 PG가 함유된 부동 회석액이고, 무기계는 이소프로판올과 염화칼슘이 함유된 회석액이다. 미세조류의 성장저해 시험결과로부터 부동 회석액은 미세조류의 성장에 영향을 주지 않을 것을 판단할 수 있다.

24hr

유기계 부동 회석액 미세조류 시험결과

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.282	0.287	0.283	0.287	0.277	0.284
2	0.274	0.278	0.281	0.282	0.286	0.275
3	0.271	0.277	0.286	0.287	0.283	0.283
평균	0.275667	0.280667	0.283333	0.2845	0.282	0.279
%	100	101.8138	102.7811	103.2044	102.2975	101.2092
EC50(24)	6409.88	6409877				

48hr

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.359	0.47	0.372	0.376	0.337	0.272
2	0.326	0.368	0.324	0.323	0.307	0.275
3	0.304	0.378	0.311	0.299	0.278	0.297
평균	0.3425	0.373	0.3175	0.311	0.307333	0.281333
%	100	108.9051	92.70073	90.80292	89.73236	82.14112
EC50(48)	31.2909	31290.9				

72hr

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.755	1.233	0.873	0.718	0.72	0.532
2	1.086	1.034	0.784	0.687	0.584	0.603
3	0.718	0.718	0.675	0.626	0.561	0.579
평균	0.9205	0.876	0.7295	0.6565	0.621667	0.571333
%	100	95.16567	79.25041	71.31993	67.53576	62.06772
EC50(72)	14.425	14425				

24hr

무기계 부동 회석액 미세조류 시험결과

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.02	0.271	0.274	0.269	0.268	0.277
2	0.274	0.285	0.287	0.276	0.287	0.289
3	0.277	0.288	0.281	0.286	0.293	0.291
평균	0.190333	0.281333	0.280667	0.2725	0.282667	0.29
%	100	147.8109	147.4606	143.1699	148.5114	152.3643
EC50(24)	0	0				

48hr

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.253	0.306	0.303	0.265	0.236	0.198
2	0.237	0.194	0.178	0.186	0.155	0.159
3	0.248	0.173	0.18	0.163	0.181	0.167
평균	0.245	0.1835	0.179	0.1745	0.190667	0.174667
%	100	74.89796	73.06122	71.22449	77.82313	71.29252
EC50(48)	37.9386	37938.6				

72hr

	C0	C5	C4	C3	C2	C1
농도	0	1	1.5	3	6	12
1	0.831	0.938	0.917	0.9	0.812	0.706
2	0.7	0.657	0.55	0.521	0.473	0.416
3	0.537	0.438	0.513	0.513	0.502	0.539
평균	0.7655	0.5475	0.5315	0.517	0.595667	0.553667
%	100	71.52188	69.43174	67.53756	77.81406	72.32745
EC50(72)	29.8028	29802.8				

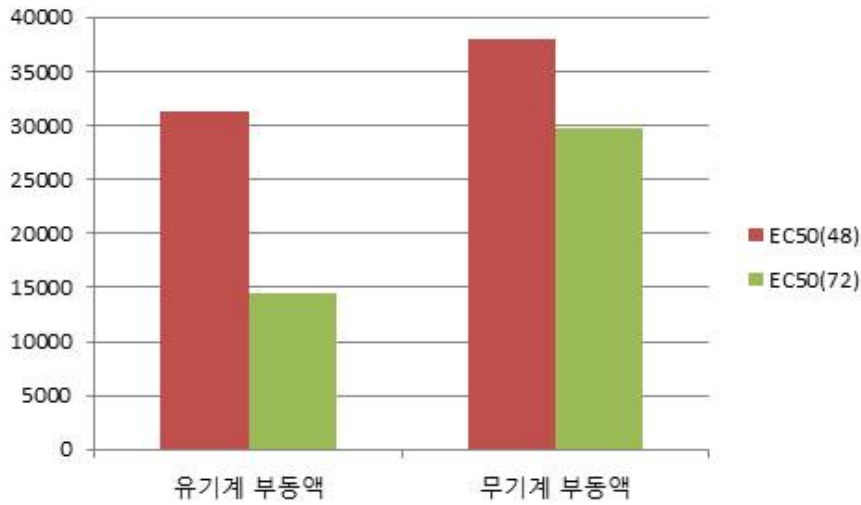


그림 48. 미세조류 성장저해 시험결과

나. 담수조류 성장저해시험 결과

부동 희석액의 생태영향을 확인하기 위하여 담수조류에 대한 성장저해시험을 외부 고인기 관(한국생물안전성연구소)에서 수행하였다. 시험결과는 첨부 자료로 수록하였다. 시험결과에 의하면 각각의 부동 희석액은 목표달성치인 담수조류의 환경독성에서 EC₅₀의 결과가 >1,000 mg/L로 나타났다. 무기계의 경우에 1,000 mg/L에서 저해율이 50%를 초과하지 않았지만 음성 대조군과 유의한 차이로 결과가 나타났으며, 이는 본 연구진에서 시험한 결과와 유사한 결과이며 이온성 화합물인 무기계열의 염화칼슘이 삼투압을 높여 조류의 성장에 영향을 준 것으로 판단된다.

1. 요약 [Summary]

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 72시간 동안 지수식으로 실시하여 성장저해율 및 이상증상을 관찰하였다.

시험용액 중 시험물질의 농도는 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L로 구분하였으며, 결과는 아래와 같다.

Observation		E ₁ C ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E _y C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	1000.000
	Yield	> 1000.000	1000.000

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate

b: Median effect concentration based upon yield

c: No observed effect concentration

해당시험 조건하에서, 부동 희석액(유기계)의 담수조류에 대한 72시간 반수영향농도 (E₁C₅₀, E_yC₅₀)는 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L 초과이었다.

그림 49. 담수조류 성장저해시험결과(유기계 부동 희석액 : 한국생물안전성연구소)

1. 요약 [Summary]

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 72시간 동안 지수식으로 실시하여 성장저해율 및 이상증상을 관찰하였다.

시험용액 중 시험물질의 농도는 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L로 구분하였으며, 결과는 아래와 같다.

Observation		EC ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E _y C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	-
	Yield	> 1000.000	-

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate

b: Median effect concentration based upon yield

c: No observed effect concentration

설정농도 1000.000 mg/L에서 평균비생장률에 대한 저해율 (%)은 10.4%, 수율에 대한 저해율 (%)은 32.1%로 각각 50%를 넘지는 않았고, 통계 처리한 결과 음성대조군과 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었다.

그림 50. 담수조류 성장저해시험결과(무기계 부동 희석액 : 한국생물안전성연구소)

다. 물벼룩 성장저해시험 결과

부동 희석액과 선정된 소독제와 생태영향을 시험하기 위하여 미세조류 성장저해시험을 수행하였다. 시험방법은 공인시험법을 적용하였으며, 실험방법은 아래와 같다.

A. Preparation of standard freshwater

- 2000ml 메스플라스크에 약 1리터의 증류수를 채운다.
- vial1(NaHCO₃), vial2(CaCl₂), vial3(MgSO₄) 및 vial4(KCl)의 내용물을 플라스크에 붓는다.
- 증류수를 넣어 2000ml volum을 맞춘다.
- 15분간 aeration 한다.

B. Hatching of the ehippia

- ehippia가 든 유리병의 내용물을 microsieve에 부어 모든 ehippia가 옮겨지도록 한다.
- storage medium를 제거하기 위해 수돗물로 ehippia를 깨끗이 씻는다.
- Standard Freshwater 15ml로 부화용 petri dish에 ehippia를 옮겨 담는다.
- petri dish를 덮고 20-22°C에서 최소 6000lux의 연속조명(petri dish 상단 조도)으로 72시간 동안 배양한다.

C. Preparation of the toxicant dilutions

- 50ml에 sample에 맞춰 희석하여 사용한다.

D. Pre-feeding of the test organisms

- 72에서 80시간의 배양한 물벼룩 부화를 확인한다.

- b) 유리병에 Spirulina powder와 Standard Freshwater을 넣고 잘 섞어준다.
- c) test용 물벼룩을 수집하기 2시간 전에 petri dish에 섞은 내용물을 붓고 부드럽게 흔들어 feeding한다.

E. Filling of the test plate

- 각 sample 농도별 10ml을 해당 행의 각 well에 분주한다.

F. Transfer of the neonates to the test wells

- a) 미리 영양을 공급해둔 물벼룩이 담긴 petri dish를 해부현미경이나 dark light strip이 있는 light table 위에 올려둔다.
- b) 최소 20마리의 물벼룩을 각 열의 X열에 옮긴다.
- c) 각 X열의 물벼룩 5마리를 각 행에 이동시킨다.

G. Incubation of the test plate

- a) Parafilm strip을 plate 위에 놓고 뚜껑을 단단히 닫는다.
- b) plate를 어둡게 하여 20°C의 인큐베이터에 넣는다.

H. Scoring of the results

- a) 24시간에서 48시간 배양 후 plate를 해부현미경이나 light table 위에 놓는다.
- b) 각 well에서 살아있는 test 유기체의 숫자와 비교하여, 죽은 물벼룩과 고정된 물벼룩의 수를 기록한다.
- c) "Results Sheet"에 수치를 표시한 후, 각 독성 농도의 죽은 물벼룩 수를 계산하여 평균 및 %효과를 계산한다.

유기계 부동 희석액에 대한 물벼룩 성장저해시험 결과												
	Control		conc.5		conc.4		conc.3		conc.2		conc.1	
g/L	0		1		1.5		3		6		12	
Exposure (h)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	0	0	0	0	0	0	1	3	4	5	4	3
B	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	4	5
C	0	0	0	0	0	1	1	1	4	4	4	5
D	0	0	0	1	0	1	1	1	3	5	5	5
total	0	0	0	1	0	2	3	5	14	18	17	18
%Effect	0	0	0	5	0	10	15	25	70	90	85	90

24hr EC50	6.50703	48hr EC50	5.41584
-----------	---------	-----------	---------

6507.03

5415.84

무기계 부동 희석액에 대한 물벼룩 성장저해시험 결과												
	Control		conc.5		conc.4		conc.3		conc.2		conc.1	
g/L	0		1		1.5		3		6		12	
Exposure (h)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	0	0	0	0	0	2	1	3	2	4	5	5
B	0	0	0	0	0	1	1	4	4	5	5	5
C	0	0	0	0	1	2	2	5	3	5	5	5
D	0	0	0	0	0	1	1	5	4	4	5	5
total	0	0	0	0	1	6	5	17	13	18	20	20
%Effect	0	0	0	0	5	30	25	85	65	90	100	100

24hr EC50	5.78412	48hr EC50	3.73325
-----------	---------	-----------	---------

5784.12

3733.25

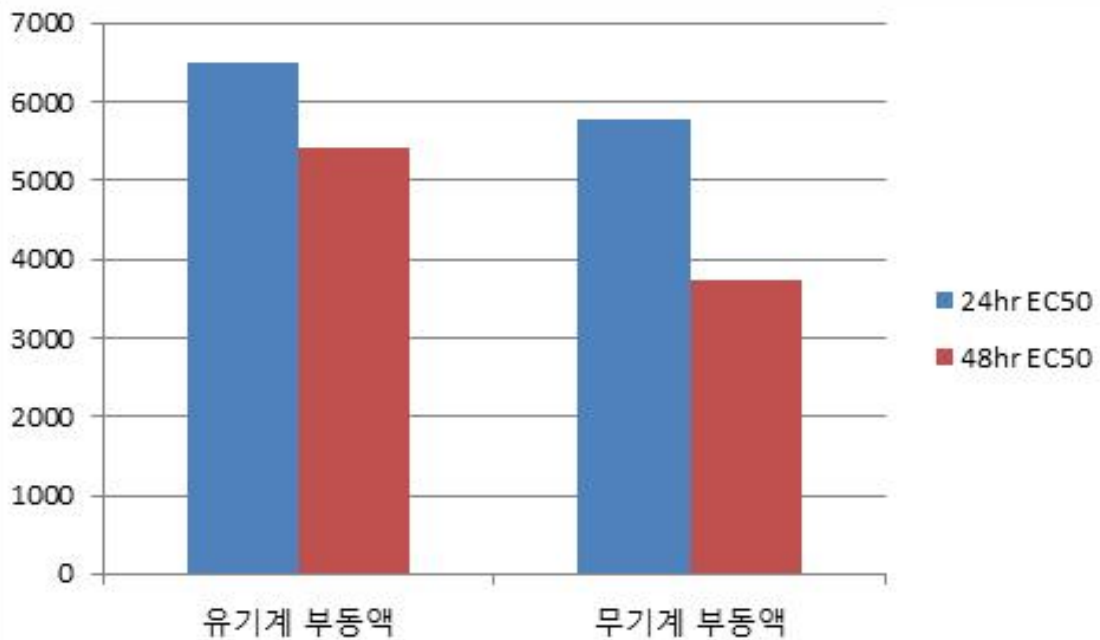


그림 51. 물벼룩 성장저해 시험결과

2-11. 부동 소독제 개발 결과

가. 부동 소독제 구비 조건

부동 소독제는 일반적인 상황이 아닌 특수한 상황인 겨울철 혹한기에 사용이 가능한 소독제이어야 한다. 병원체의 소독은 대부분의 소독제인 액체의 접촉에 의해 효력이 나타나므로 동절기에 액체인 소독제가 결빙되면 병원체와 접촉이 불가능하여 소독을 할 수 없게 된다. 소독제와 병원체와의 접촉은 화학반응과 같이 접촉에 의해서만 가능하다. 화학반응은 분자와 분자 사이에 접촉으로 반응이 가능하기 때문이다. 병원체를 분자로 간주하면 소독제와의 접촉이 없으면 반응은 일어나지 않게 된다.

액체 소독제의 결빙을 방지하는 유일한 방법은 용액의 총괄성을 이용하는 방법으로써 어는 점이 낮은 유기용매나 무기질을 용질로 사용하여 물에 녹여서 용질에 의해 용매 분자 간의 응집을 막는 방법이 가장 이상적이다. 이때 소독 유효성분의 효력은 감소하게 된다. 유효성분의 활동도가 결빙을 방지하는 용질 분자에 의해 방해받거나 소독제 성분과 상호작용하여 병원체와의 접촉반응 횟수가 감소하기 때문이다.

결빙을 방지하기 위한 용질의 필수불가결한 조건과 소독 유효성분 간의 방해작용을 최소화할 수 있는 용질과 소독성분의 선택이 가장 중요할 것으로 판단되며, 이때 용질과 소독제 성분은 화학적 반응성이 없거나 적은 물질을 선택해야 한다. 본 과제에서는 부동 희석액으로 유기계와 무기계를 개발한 이유는 경제성을 고려했기 때문이다. 대량의 희석액이 소요될 경우를 대비하기 위하여 상대적으로 저렴한 염화칼슘을 용질로 선택하였으나, 유기계열의 이소프로판올과 에탄올은 계면활성제 성분과 특별한 반응성 없이 공존할 수 있는 화합물이므로 이들을 활용한 부동 소독제는 가장 이상적이라 사료된다. 부동 희석액 개발과정에서 수행한 동결곡선 측정에서 에탄올과 이소프로판올이 각각 25%와 15%일 때 동결점이 -30°C 이하임을 확인하였고, 4급 암모늄 계열의 계면활성제의 농도가 0.2~1% 농도에서 소독 효력이 있음이 확인되어 시제품을 제작하였다.

나. 부동 소독제 개발 경과

본 과제의 연구진은 우리나라보다 위도가 높은 일본의 홋카이도 지역의 동절기 방역현황을 조사하기 위하여 2018년 8월에 출장을 다녀왔다. 동절기에 사용하기 위한 특별한 소독제와 부동 희석액은 준비되어 있지 않으며, 특수목적으로 상시 소독을 반드시 해야 하는 시설에 보온 시설을 갖추고 결빙을 방지하고 있었다. 그러나 소규모의 발판 소독이나 차량 마취만 소독하기 위해 결빙되지 않는 소독제에 대한 정보를 입수하여 부동 소독제를 개발하게 되었다. 본 과제에서 개발한 부동 소독제는 염기성 용액에서 효력이 높은 계면활성제를 사용하여 소독제의 상태가 산성으로 변하면 용액의 색깔이 없어지는 가시적인 효력확인이 가능하며, -10°C 에서 사용할 경우에 5배까지 희석해서 사용해도 효력이 있는 제품이다.

제품등록에 앞서 제품명은 [얼지아니]로 하였으며, 일반세균에 대한 살균력을 공인시험기관에서 확인하였고, 어는점을 확인하였다. [얼지아니]는 4배와 10배 용액에서 대장균, 녹농균, 폐

렴균에 대하여 99.9%의 살균력이 나타났으며, 어느점 측정에서 원액의 어느점은 수행기관의 장비에서 측정이 불가하였으며 5배 희석액에 대한 어느점이 -11.4℃로 측정되었다. 부동 소독제 제품화를 위한 절차를 진행 중이며 효력시험 검토결과(승인) 통보를 받아 공시제품에 대한 함량분석이 진행 중이다. 또한 부동 소독제 [얼지아니]는 축산농가에서 동물용의약외품이 아닌 생활화학제품으로의 사용도 가능하도록 위해우려제품의 등록을 병행하기 위한 자가품질검사에서 합격판정을 받았다.

7. 시험결과

시험 항목		시험방법	시험 결과			시험환경
			초기농도 (CFU/mL)	24시간 후 농도 (CFU/mL)	세균감소율 (%)	
항균시험 : 대장균	BLANK	KCL-FIR-1002 :2018	3.8×10^4	7.3×10^5	-	(37.0 ± 0.2) °C
	얼지아니 (4배희석액)		3.8×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 녹농균	BLANK		2.4×10^4	5.0×10^5	-	
	얼지아니 (4배희석액)		2.4×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 폐렴균	BLANK		2.6×10^4	7.9×10^5	-	
	얼지아니 (4배희석액)		2.6×10^4	< 10	99.9	

그림 52. 부동 소독제(얼지아니) 4배액의 항균시험 결과

7. 시험결과

시험 항목		시험방법	시험 결과			시험환경
			초기농도 (CFU/mL)	24시간 후 농도 (CFU/mL)	세균감소율 (%)	
항균시험 : 대장균	BLANK	KCL-FIR-1002 :2018	3.8×10^4	7.3×10^5	-	(37.0 ± 0.2) °C
	얼지아니 (10배희석액)		3.8×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 녹농균	BLANK		2.4×10^4	5.0×10^5	-	
	얼지아니 (10배희석액)		2.4×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 폐렴균	BLANK		2.6×10^4	7.9×10^5	-	
	얼지아니 (10배희석액)		2.6×10^4	< 10	99.9	

그림 53. 부동 소독제(얼지아니) 10배액의 항균시험 결과(KCL)

시험 결과				
시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
어는점	℃	20 %	-11.4	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	40 %	-20.6	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	55 %	-38.2	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	75 %	-42.5	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	80 %	-42.8	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	100 %	Chart 참조(**)	KS M 1071-1 : 2017

* 측정장비 : DSC(Differential Scanning Calorimeter)

** 시료의 측정구간(제공된 데이터 참조)에서 발열반응 피크가 확인되지 않음

그림 54. 부동 소독제(얼지아니) 어는점 측정 결과(KTR)

2. 검사대상품목		
품명 살생물제품(소독제)	품목분류번호(HS) -	모델명 얼지아니
생산업체명 농업회사법인 (주)과농	생산국명 대한민국	수입회사명(수입품에 한함) -
중량/용량/매수 1 000 mL	안전·표시기준상의 모델 구분 기타(신발, 장화바닥 소독용), 액체형	

3. 검사기간: 2018년 10월 30일 ~ 2018년 11월 13일

4. 검사방법: 위해우려제품 지정 및 안전·표시기준(환경부 고시 제2018-12호(2018.01.22.))

5. 환경조건: 온도 : (22 ± 3) °C, 습도 (50 ± 20) % R.H.

6. 검사결과: 합격(용기강도 시험:합격)

7. 유효기간: 2018년 11월 13일 ~ 2021년 11월 12일(최초발급일: 2018년 11월 13일)

8. 시료사진: 불임 참조

그림 55. 부동 소독제(얼지아니) 위해우려제품 자가검사(KTR)

나. 부동 소독제 특허출원

본 과제를 통하여 개발된 부동 소독제에 대한 특허를 출원하였다. 특허명칭은 “축사용 부동 세정 및 살균소독제” 이다.

발명의 명칭	축사용 부동 세정 및 살균소독제		
분류	C11D 11/00 [A01N 25/30, C11D 1/38, C11D 1/62, C11D 11/00, C11D 3/04, C11D 3/40, C11D 3/48]	출원소급일자	2018.10.12
출원번호	10-2018-0121580 <input type="button" value="심사처리상황"/>	출원일자	2018.10.12
출원구분		우선권주장여부	N
우선심사청구	N	조기공개신청일자	
심사청구항수	11	심사청구일자	2018.10.12
공개번호		공개일자	
공고번호		공고일자	
등록번호		등록일자	
최종처분내용		등록상태	
원출원번호		원출원일자	
국제출원번호		국제출원일자	
이의신청번호	<input type="button" value="이의신청번호없음"/>		
심판(취소신청)번호	<input type="button" value="심판(취소신청)번호없음"/>		
> 관련인 정보			
대표 출원인	농업회사법인 주식회사 과농 <input type="button" value="출원인정보보기"/>		
발명(고안)자	채원석		
대표 대리인	특허법인명 <input type="button" value="대리인정보보기"/>		

2-12. 부동 소독제 안정성 시험 결과

가. 안정성 시험지침 및 수행내용

안정성 시험 지침	수행내용
<p>(정의)</p> <p>① "안정성 시험(이하 "시험"이라 한다)"이라 함은 동물용의약품등의 저장방법 및 유효기간 등을 설정하기 위하여, 경시변화에 따른 품질의 안정성을 평가하는 시험을 말한다.</p> <p>② "장기보존시험"이라 함은 동물용의약품등의 저장조건하에서 유효기간 또는 사용기간(이하 "유효기간등"이라 한다)을 설정하기 위하여 장기간에 걸쳐 동물용의약품등의 물리·화학 및 생물학적 안정성을 확인하는 시험을 말한다.</p>	<p>■ 제품의 유통기간을 설정하기 위하여 장기보존 시험과 가속시험을 수행하여 경시변화와 유효성분(벤잘코늄염화물)의 함량을 평가한다.</p>

안정성 시험 지침	수행내용
<p>(시험기준)</p> <p>① 장기보존 시험기준</p> <p>1. 로트의 선정</p> <p>가. 시판할 제품과 동일한 제형 및 포장용기를 사용한다. 다만, 안정성에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 경우에는 예외로 할 수 있다.</p> <p>나. 검체수 : 3로트 이상</p> <p>2. 보존조건 : 사용온도에 따라 다음의 조건에서 실험해야 하며 다만, 별도의 저장온도가 설정된 경우에는 그 설정온도로 할 수 있다.</p> <p>가. 실온보관 동물용의약품등 : $25 \pm 2^\circ\text{C}$ / 상대습도 $60 \pm 5\%$ 또는 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ / 상대습도 $65 \pm 5\%$로 한다. 다만, 반투과용기의 경우 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ / 상대습도 $40 \pm 5\%$ 또는 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ / 상대습도 $35 \pm 5\%$로 한다.</p> <p>나. 냉장보관 동물용의약품등 : $5 \pm 3^\circ\text{C}$로 한다.</p> <p>다. 냉동보관 동물용의약품등 : $-20 \pm 5^\circ\text{C}$로 한다.</p> <p>3. 시험기간 : 신약은 최소 12개월, 자료제출용 동물용의약품등은 최소 6개월 이상 시험한다. 다만, 해당 품목의 특성에 따라 시험기간을 따로 정할 수 있다.</p> <p>4. 측정시기 : 시험개시 때와 첫 1년간은 3개월마다, 그 후 2년까지는 6개월마다, 2년 이후부터는 1년에 1회 시험한다.</p> <p>5. 시험항목 : 기준 및 시험방법에 설정한 전 항목을 원칙으로 한다. 다만, 시험항목을 생략할 경우에는 그 사유서를 명확히 기재하여야 한다.</p> <p>6. 시험횟수 : 각 시험 항목별로 3회 이상 실시하여 그 평균치를 기재한다.</p>	<p>■ 제품과 동일제형인 액제를 동일 포장용기 재질인 폴리에틸렌 용기를 사용한다.</p> <p>■ 검체는</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 장기보존시험 3개 로트를 준비하며 로트별로 3개의 검체를 준비한다. ● 장기보존시험 12개월은 최초시험을 포함하여 5회(3개월 간격)를 수행한다. <p>■ 실온보관 동물용의약품외품 살균소독제로서 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ / 상대습도 $60 \pm 5\%$에서 장기보존 시험을 수행한다.</p> <p>■ 자료 제출용 동물용의약품외품 축사소독제로서 12개월의 장기보존 시험을 수행한다.</p> <p>■ 제품의 함량측정은 최초 측정 이후 매 3개월 마다 측정하여 총 5회의 측정을 수행한다.</p>
<p>③ 가속시험기준</p> <p>1. 검체수 : 3개 로트 이상</p> <p>2. 보존조건 : 다음 각 목의 조건으로 한다</p> <p>가. 실온보관 동물용의약품등 : $40 \pm 2^\circ\text{C}$ /</p>	<p>■ 제품과 동일제형인 액제를 동일 포장용기 재질인 폴리에틸렌 용기를 사용한다.</p>

상대습도 $75 \pm 5\%$ 또는 온도에 따른 적절한 상대습도를 고려하여 장기보존 시험 지정저장온도 보다 $15\text{ }^\circ\text{C}$ 이상 높은 온도로 한다. 다만, 반투과용기의 경우 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ /상대습도 25%이하로 한다.

나. 냉장보관 동물용의약품등 : $25 \pm 2^\circ\text{C}$ /상대습도 $60 \pm 5\%$ 로 한다.

다. 냉동보관 동물용의약품등 : 개개의 품목에 따라 별도로 기준을 정한다.

3. 시험기간 : 6개월 이상

4. 측정시기 : 시험개시 때를 포함하여 최소 3번의 시험이 수행되어야 하며, 약물의 개발단계 도중 가속시험에서 유의적인 변화가 관찰된 경우에는 최소 4번의 시험이 수행되어야 한다.

5. 시험항목 및 횟수 : 장기보존시험 기준에 따른다.

6. 상기 보존조건 및 시험기간 등이 가속 시험 목적에 부적당하거나 경시변화가 일어나기 쉽다고 판단되는 경우에는 장기 보존 시험기준에 따른다.

■ 검체는

- 가속시험 3개 로트를 준비하며 로트별로 3개의 검체를 준비한다.
- 가속시험 6개월은 최초시험을 포함하여 3회(3개월 간격)를 수행한다.

■ 검체의 보존조건은 온도 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ 상대습도 $75 \pm 5\%$ 에서 가속시험을 수행한다,



나. 유효성분의 시험법

■ 벤잘코늄염화물 : KVP 동물용의약품공정서 일반시험법 [53. 적정종말점검출법]에 따른다.

- 시액의 조제

* 0.02 mol/L sodium tetraphenylborate(NaTPB) 시액 : 시약급 NaTPB 0.6878 g을 정밀히 달아 100-mL 부피플라스크에 넣고 증류수를 적당히 넣고 녹인 후 표선까지 채운다. (NaTPB 시액은 실험직전에 조제하여 사용한다.)

* 9% 염산 시액 : 100-mL 비커에 증류수 37.5 g을 준비하고 시약급 염산(35%) 12.5 g을 서서히 저어가며 혼합하여 제조

- 정량법 : 본제 약 1 g을 정밀하게 달아 증류수 9 mL에 녹이고 9% 염산 시액을 사용하여 용액의 pH가 2.6~3.4 사이에 오도록 맞춘다. pH를 맞춘 용액에 메틸오렌지 지시약 5방울을 넣는다. 0.02 mol/L NaTPB 시액으로 적정하여 진분홍색이 되었을 때를 종말점으로 한다.

0.02 mol/L NaTPB 시액 1 mL = 7.08 mg 벤잘코늄염화물

다. 유효성분(벤잘코늄염화물) 안정성 시험결과

Lot 1	장기보관 시험개시	20180604 Long-term test0				
		Preparation of NaTPB				
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
			324.2160	0.6872	0.0212	
		Calculation_Test_Result BKC-titration				
		얼지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
	0.9512		1.32	1.041		
	0.9501		1.29	0.961		
	0.9532		1.32	0.980		
		Average =		0.99		
	장기보관 3개월 후	20180906 Long-term test1				
		Preparation of NaTPB				
NaTPB		Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)		
		324.2160	0.6881	0.0212		
Calculation_Test_Result BKC-titration						
얼지아니		Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)		
	0.9488	1.29	1.021			
	0.9506	1.32	0.983			
	0.9521	1.34	0.996			
	Average =		1.00			
장기보관 6개월 후	20181206 Long-term test2					
	Preparation of NaTPB					
	NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)		
		324.2160	0.6875	0.0212		
	Calculation_Test_Result BKC-titration					
	얼지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)		
0.9551		1.28	1.006			
0.9499		1.33	0.991			
0.9542		1.32	0.979			
	Average =		0.99			

Lot 2	장기보관 시험개시	20180604 Long-term test0			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6877	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
	0.9546		1.32	1.038	
	0.9567		1.31	0.969	
	0.9532		1.32	0.980	
		Average =		1.00	
	장기보관 3개월 후	20180906 Long-term test1			
		Preparation of NaTPB			
NaTPB		Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
		324.2160	0.6876	0.0212	
Calculation_Test_Result BKC-titration					
열지아니		Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
	0.9452	1.3	1.033		
	0.9562	1.33	0.985		
	0.9601	1.35	0.996		
	Average =		1.00		
장기보관 6개월 후	20181206 Long-term test2				
	Preparation of NaTPB				
	NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
		324.2160	0.6881	0.0212	
	Calculation_Test_Result BKC-titration				
	열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
0.9516		1.29	1.018		
0.9524		1.32	0.981		
0.9562		1.33	0.985		
	Average =		0.99		

Lot 3	장기보관 시험개시	20180604 Long-term test0			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6877	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
	0.9544		1.33	1.046	
	0.9568		1.32	0.977	
	0.9572		1.33	0.984	
		Average =		1.00	
	장기보관 3개월 후	20180906 Long-term test1			
		Preparation of NaTPB			
NaTPB		Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
		324.2160	0.6879	0.0212	
Calculation_Test_Result BKC-titration					
열지아니		Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
	0.9532	1.3	1.024		
	0.9545	1.33	0.987		
	0.9528	1.34	0.996		
	Average =		1.00		
장기보관 6개월 후	20181206 Long-term test2				
	Preparation of NaTPB				
	NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
		324.2160	0.6879	0.0212	
	Calculation_Test_Result BKC-titration				
	열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
0.9542		1.28	1.008		
0.9566		1.33	0.984		
0.9567		1.33	0.984		
	Average =		0.99		

Lot 1	가속시험 3개월 후	20180906 Acceleration test1			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6875	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
			0.9552	1.32	1.037
			0.9561	1.29	0.955
			0.9549	1.32	0.979
			Average =		0.99
Lot 1	가속시험 6개월 후	20181206 Acceleration test2			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6877	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
			0.9542	1.29	1.015
			0.9523	1.3	0.967
			0.9557	1.3	0.963
			Average =		0.98

Lot 2	가속시험 3개월 후	20180906 Acceleration test1			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6874	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
			0.9564	1.29	1.012
			0.9554	1.32	0.978
			0.9561	1.33	0.985
			Average =		0.99
Lot 2	가속시험 6개월 후	20181206 Acceleration test2			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6879	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
		열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)
			0.9515	1.25	0.987
			0.9526	1.31	0.974
			0.9542	1.31	0.972
			Average =		0.98

Lot 3	가속시험 3개월 후	20180906 Acceleration test1			
		Preparation of NaTPB			
		NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)
			324.2160	0.6875	0.0212
		Calculation_Test_Result BKC-titration			
	열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
		0.9532	1.33	1.047	
		0.9554	1.34	0.993	
		0.9542	1.34	0.994	
		Average =		1.01	
가속시험 6개월 후	20181206 Acceleration test2				
	Preparation of NaTPB				
	NaTPB	Molecular weight(g)	weighing mass(g)	Concentration (M)	
		324.2160	0.6879	0.0212	
	Calculation_Test_Result BKC-titration				
	열지아니	Sample_weight(g)	End-Point(mL)	BKC (%)	
		0.9567	1.28	1.005	
		0.9531	1.32	0.981	
		0.9522	1.32	0.981	
		Average =		0.99	

라. 부동 소독제의 안정성 시험에 대한 중간결과

장기보존시험 6개월간 3회 시험과 가속시험 2회의 시험결과를 통하여 부동 소독제 [열지아니]는 성상과 내용량의 변화가 없었으며, 유효성분인 벤잘코늄염화물의 함량이 시험기준 범위 (90~110%) 내에서 유지되고 있음을 확인하였다. 가속시험에서 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았으며, 6개월의 가속시험조건에서 벤잘코늄염화물은 초기값의 1.34%의 함량 감소를 나타내었다. 가속시험에서 유의성 있는 감량이 관찰되지 않았기 때문에 장기보존시험 기간인 12개월의 2배인 24개월로 유통기한을 설정할 것이다. 장기보존시험 기간이 6개월 남아 있으나, 통계 분석법에 의한 외삽법(선형회귀분석)으로 시간에 따른 함량의 감소가 95% 신뢰한계 하한의 단측검정을 수행하여 유효성분의 90%에서 외삽하여 유통기한을 정하고자 한다.

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0억원	
			향후 3년간 매출	6억원	
		관련제품	개발후 현재까지	0억원	
			향후 3년간 매출	0억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : 5 % 국외 : %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세 부 항 목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		과제 종료 후 1년		
	소요예산(백만원)		30		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0	2	3
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내			
국외					
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		발판, 축산 기구, 손잡이, 자동차 바퀴 전용 스프레이 부동 소독제			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출				

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

평가지표	단 위	최종 개발목표	가중치 (%)	객관적 측정방법
				시험규격
1. 부동 희석액 유기계 부동온도	℃	-30	15	공인시험기관
2. 부동 희석액 무기계 부동온도	℃	-30	15	공인시험기관
3. 부동 소독제 유효성 : FMD	%	99.99	15	동물용의약품 유효성평가지침
4. 부동 소독제 유효성 : AI	%	99.99	15	동물용의약품 유효성평가지침
5. 부동 희석액 유기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	10	동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향 평가 시험지침
6. 부동 희석액 무기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	10	동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향 평가 시험지침
7. 부동 소독제 안정성	mon	24	10	동물용의약품 안정성시험지침
8. 부동 희석액 및 최적화 소독제 산업화	%	100	10	제품 품목등록
합계			100	
측정결과의 증빙방법 제시				
<ul style="list-style-type: none"> • 평가지표 1~2의 경우 한국건설생활환경시험연구원의 시험성적서 제출 • 평가지표 3~4의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품 유효성평가지침에 의한 시험성적서 제출 • 평가지표 5~6의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품등이 자연환경에 미치는 영향평가 시험지침에 의한 자료제출 • 평가지표 7의 경우 농림축산검역본부 동물용의약품 안정성시험지침에 의한 자체 시험수행 • 평가지표 8의 경우 부동희석액은 위해우려제품 관리기준 준수, 소독제는 동물용의약품 품목등록 				

3-2. 목표 달성여부

평가지표	단 위	최종 개발목표	달성도 (%)	목표 달성 여부
1. 부동 희석액 유기계 부동온도	℃	-30	100	친환경 유기계 부동 희석액 개발 완료
2. 부동 희석액 무기계 부동온도	℃	-30	100	친환경 무기계 부동 희석액 개발 완료
3. 부동 소독제 유효성 : FMD	%	99.99	100	부동 희석액 사용 소독제 FMD 유효성 확인
4. 부동 소독제 유효성 : AI	%	99.99	100	부동 희석액 사용 소독제 AI 유효성 확인
5. 부동 희석액 유기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	100	유기계 부동 희석액 생태 환경독성(담수조류) 개발목표 달성
6. 부동 희석액 무기계 환경독성, 담수조류	EC ₅₀ mg/L	> 1,000	100	무기계 부동 희석액 생태 환경독성(담수조류) 개발목표 달성
7. 부동 소독제 안정성	mon	24	80	부동 소독제 안정성 시험
8. 부동 희석액 및 최적화 소독제 산업화	%	100	50	부동 소독제 품목등록 진행 중 부동 희석액 품목등록 논의 중

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

가. 부동 소독제 안정성

안정성시험지침에 의한 장기보관시험(12개월 중 6개월)과 가속시험(6개월 수행 완료)을 진행 중이며 품목등록을 위한 효력시험설계서가 검토승인 되었다. 공시제품에 대한 공인기관의 함량 분석시험이 진행 중이다. 효력시험결과가 나오는 시기에 안정성 시험이 종료되어 품목등록 신청이 가능하다.

나. 부동 희석액 및 최적화 소독제 산업화 미달성 사유

부동 소독제는 기존의 소독제(동물용의약외품) 범주에서 기능적으로 동결방지제의 추가 이외에 기존 소독제와 성분이나 함량의 차이가 없기 때문에 산업화를 위한 품목등록 절차를 진행하고 있다.

부동 희석액은 “동물용의약외품의 범위 및 지정 등에 관한 규정“에 적합한 품목을 찾을 수 없는 실정이다. 규정에는 동물용의약외품에 해당되는지 여부를 검토의뢰할 수 있으므로 본 연구결과를 바탕으로 해당여부에 대한 검토를 의뢰하고자 한다. 일반 제품으로 산업화할 수 있는 방법을 모색하였으며, 가장 근접한 품목은 환경부에서 관할하는 “위해우려제품“중 부동액이나 적용범위가 ‘내연기관용 냉각수의 동결방지와 냉각기구의 부식 방지에 사용하는 화학제품’으로 되었다.

3-4. 소독제 효력시험지침 [선택시험조건] 시험방법 조건제시

소독제 효력시험지침 중 [선택시험조건]의 영하 온도에서 시험조건이 명확하지 않은 상황이다. 본 연구과제를 통하여 영하 온도에서의 효력시험 조건에 대한 결과를 정리하여 논문으로 발표하였다.

pISSN 2466-1384 eISSN 2466-1392
Korean J Vet Res (2019) 59(1):1~3
<https://doi.org/10.14405/kjvr.2019.59.1.1>

SHORT COMMUNICATION

Conditions for the disinfectant efficacy test under subzero temperatures

Won-Seok Chae¹, Wooseog Jeong², Hu-Jang Lee^{3,*}

¹Division of Life-Science & Chemistry, Daejin University, Pocheon 11159, Korea

²Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea

³Institute of Animal Medicine and College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

Abstract: To establish appropriate conditions for a disinfectant efficacy test at subzero temperatures, this study examined mixtures of frozen foot-and-mouth disease virus or avian influenza virus solutions and disinfectant diluents at -5°C and monitored temperature and freezing status of an anti-freezing diluent (AFD, 15% ethanol + 30% propylene glycol + 55% distilled water) over time at various subzero temperatures. Viral solutions and disinfectant diluents froze before the mixtures reached -5°C , whereas the AFD was not frozen at -30°C . The times taken for the AFD to reach -10 , -20 , -30 , and -40°C from room temperature were 36, 39, 45, and 48 min, respectively.

Keywords: foot-and-mouth disease virus, avian influenza virus, disinfectant efficacy test, subzero temperature, anti-freezing diluent

*Corresponding author

Hu-Jang Lee
Institute of Animal Medicine and College
of Veterinary Medicine, Gyeongsang
National University, 501 Jinju-daero, Jinju
52828, Korea

Tel: +82-55-772-2352
Fax: +82-55-772-2308
E-mail: hujung@gnu.ac.kr
ORCID:
Won-Seok Chae:
<https://orcid.org/0000-0003-0551-525X>
Wooseog Jeong:
<https://orcid.org/0000-0002-3214-9323>
Hu-Jang Lee:
<https://orcid.org/0000-0002-7552-6416>

Conflict of Interest
The authors declare no conflicts of interest.

Received: February 7, 2019
Revised: March 11, 2019
Accepted: March 12, 2019

Occurrences of foot-and-mouth disease (FMD) and highly pathogenic avian influenza (HPAI) have been reported in Korea since 2000, and such infections have almost exclusively arisen during the period from the end of November to February [1, 2]. During that period in Korea, difficulties in disinfection arise due to freezing of the liquid disinfectants used for biosecurity. The disinfectants used for domestic animals marketed in Korea are products whose efficacies have been confirmed in accordance with the regulation on the veterinary disinfectant efficacy test guidelines (2017-29) [3]. However, most commercially available animal disinfectants are prepared by reacting a bacterial or viral solution with a disinfectant diluent at 4°C for 30 min, based on the standard test conditions (STC) in the Korean regulation [3]. Therefore, there is a difference between laboratory and field conditions under which such disinfectants are used. In accordance with the selective test conditions (SEC) described in the Korean regulation [3], disinfectant efficacy under field conditions where organic matters such as feces and urine are high, and there are various temperature changes, can be confirmed by reacting the bacterial (or viral) solution and the disinfectant diluent for 15 min under different temperature conditions.

Recently, livestock epidemics such as FMD and HPAI have occurred mainly during the winter season, and several studies on disinfectants that are effective without freezing in the winter season, have been reported [4-6]. However, some problems with the experimental methods of the previous studies tested under subzero temperature conditions have arisen because the SEC presented in the Korean regulation are unclear. Therefore, this study was carried out with the aim of establishing precise conditions for a disinfectant efficacy test under subzero temperatures.

In this study, FMD virus (FMDV) and avian influenza virus (AIV) solutions and nine commercially available disinfectants (Table 1) were confirmed to be frozen at -5°C . Additionally, the temperature and freezing status of an anti-freezing diluent (AFD, 15% ethanol + 30% propylene glycol + 55% distilled water) were measured and monitored over time at various subzero temperatures (-10 , -20 , -30 , and -40°C).

In the present study, the FMDV and AIV solutions and all disinfectant diluents froze before reaching -5°C (data not shown). Fig. 1 shows the time

1

Table 1. List of disinfectants used in this study

Samples	Classification	Active ingredient	Concentration of active ingredient	Used concentration
A	Oxidizing	KMPS + NaDCC	500 + 50 g/kg	1:1,100
B	Oxidizing	KMPS + MA	500 + 100 g/kg	1:1,500
C	Oxidizing	HP + CA	110 + 620 g/L	1:400
D	Acid	CA + BKC	200 + 100 g/L	1:1,000
E	Acid	DDAC + CA + PA	100 + 200 + 100 g/L	1:1,200
F	Acid	BKC + CA + PA	100 + 200 + 60 g/L	1:400
G	Acid	BKC + CA + PA	200 + 200 + 60 g/L	1:480
H	Aldehyde	GA + DCBAC	150 + 100 g/L	1:64
I	Oxidizing	NaDDC	5 g/tablet (13 g)	1:190

KMPS, potassium monopersulfate; NaDCC, sodium dichloroisocyanurate; MA, malic acid; HP, hydrogen peroxide; CA, citric acid; BKC, benzalkonium chloride; DDAC, didecylidimethylammonium chloride; PA, phosphoric acid; GA, glutaraldehyde; DCBAC, dodecylidimethylammonium chloride.

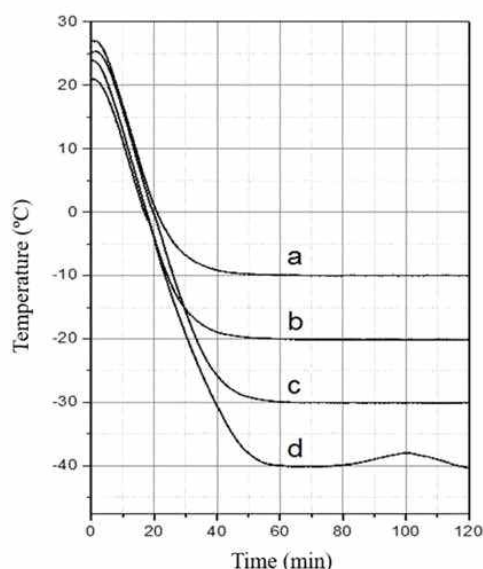


Fig. 1. Temperature-time dependence of an anti-freezing diluent (15% ethanol + 30% propylene glycol) in a chamber adjusted to 10°C (A), 20°C (B), 30°C (C), and 40°C (D).

required for the temperature of the AFD to reach various subzero temperatures and the freezing status of the AFD at those temperatures. The AFD was not frozen at -30°C , but it began to freeze after more than 15 min at -40°C . In addition, when exposed to temperatures of -10 , -20 , -30 , and -40°C , respectively, the durations until the temperature of the AFD reached -10 , -20 , -30 , and -40°C , respectively, were approximately 36, 39, 45, and 48 min, respectively.

Under the STC of the Korean regulation [3], the bacterial (or viral) solution and the disinfectant diluent adjusted to 4°C are allowed to react for 30 min. However, it would be consistent with the purpose of the SEC of the Korean regulation if the pathogen solution and the disinfectant diluent, when adjusted to the desired temperature, be allowed to react for

15 min.

In a previous study [4], an FMDV solution stored in a refrigerator was mixed in the same amount of a mixture of disinfectant diluent and deicer, adjusted to -20°C , and reacted in a freezer at -20°C for 5 and 30 min. However, it was overlooked that the temperature of the mixed solution became higher than -20°C when the viral solution at 4°C and the disinfectant and deicer mixture at -20°C were mixed in equal amounts. Additionally, although it takes time for the temperature of a mixed solution at higher than -20°C to reach to -20°C , the study's reaction times were fixed and did not consider the time taken for the mixture to cool to -20°C .

In other previous studies [5, 6], six commercially available disinfectants were diluted with hard water to the manufacturer's recommended dilution, and after the diluent was placed on ice at 0°C for 30 min, the disinfectant diluents were placed in a freezer set at -10°C for 10 min to reduce the temperature of the diluent to -10°C . Equal amounts of bacterial or AIV solutions at 4°C and the disinfectant diluent at -20°C were mixed and reacted for a set time in a freezer set to -10°C . The authors reported that the temperature of the disinfectant diluent dropped from 0°C to -10°C after 10 min in the freezer set to -10°C . However, in the present study, the disinfectant dilutions were completely frozen before cooling to -5°C , and the AFD took more than 25 min to cool to -10°C (Fig. 1). In the above studies [5, 6], although the initial temperature of the mixture of bacterial or AIV solutions at 4°C and the disinfectant diluent at -10°C was higher than -10°C , the mixture was placed in a freezer adjusted to -10°C and reacted for various set times. As pointed out for the study of Hong *et al.* [4], the authors of the above studies [5, 6] did not consider the time taken for the mixture to cool to -10°C .

Furthermore, Tsujimura *et al.* [7] reported on mixtures of $20\ \mu\text{L}$ of equine herpes virus diluted four-fold with 20% methanol and $180\ \mu\text{L}$ of one of six disinfectants (5 commercial disinfectants and 1 anionic surfactant) that were reacted at -10°C for 10 min. In their study, the disinfectant diluent and the viral solution were mixed without first adjusting them to -10°C , and the mixtures were reacted in a freezer

adjusted to -10°C for 10 min without considering the time taken for them to cool to -10°C ; an approach that is inconsistent with the Korean regulation [3]. Thus, it is inappropriate to state that the reaction was carried out at -10°C for 10 min.

Despite the widespread use of astronomical disinfectants to control the spread of FMD and HPAI in Korea during winter periods, the disinfectants have not been effective in blocking the transmission of FMD and HPAI because the disinfectants are less than effective due to the freezing. In addition, the SEC for freezing conditions in the Korean regulation [3] were not clearly defined.

According to the results obtained in the present study, when the AFD was not added to the pathogen and disinfectant diluent mixture prior to the mixture attaining a subzero temperature ($< -5^{\circ}\text{C}$), as per the SEC in the Korean regulation [3], the pathogen and disinfectant diluent mixture froze before reaching to -5°C . Thus, it was impossible to effectively perform the disinfectant efficacy test under subzero temperatures.

Therefore, there is a need to establish a new evaluation rule for the use of AFD for disinfectants. In addition, there is a need to specify in the SEC of the Korean regulation [3] that the bacterial (or viral) solution and disinfectant diluent (or mixture of disinfectant and deicer) mixture should be reacted for a set time at the same subzero temperature after the solutions and diluents are established at the appropriate subzero temperature.

Acknowledgments

This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) through Animal Disease Management Technology Development Program, funded by Ministry

of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) (IPET 317027).

References

1. Kwon HI, Kim EH, Kim YI, Park SJ, Si YJ, Lee IW, Nguyen HD, Yu KM, Yu MA, Jung JH, Choi WS, Kwon JJ, Ahn SJ, Baek YH, Van Lai D, Lee OJ, Kim SW, Song MS, Yoon SW, Kim CJ, Webby RJ, Mo IP, Choi YK. Comparison of the pathogenic potential of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N6, and H5N8 viruses isolated in South Korea during the 2016-2017 winter season. *Emerg Microbes Infect* 2018;7:29.
2. Park JH, Tark D, Lee KN, Chun JE, Lee HS, Ko YJ, Kye SJ, Kim YJ, Oem JK, Ryoo S, Lim SB, Lee SY, Choi JH, Ko MK, You SH, Lee MH, Kim B. Control of type O foot-and-mouth disease virus by vaccination in Korea, 2014-2015. *J Vet Sci* 2018;19:271-279.
3. Animal and Plant Quarantine Agency (KR). Regulation on the veterinary disinfectant efficacy test guidelines. Notice 2017-29 (July 5, 2017).
4. Hong JK, Lee KN, You SH, Kim SM, Tark D, Lee HS, Ko YJ, Seo MG, Park JH, Kim B. Inactivation of foot-and-mouth disease virus by citric acid and sodium carbonate with deicers. *Appl Environ Microbiol* 2015;81:7610-7614.
5. Jang Y, Lee J, So B, Lee K, Yun S, Lee M, Choe N. Evaluation of changes induced by temperature, contact time, and surface in the efficacies of disinfectants against avian influenza virus. *Poult Sci* 2014;93:70-76.
6. Jang Y, Lee K, Yun S, Lee M, Song J, Chang B, Choe NH. Efficacy evaluation of commercial disinfectants by using *Salmonella enterica* serovar Typhimurium as a test organism. *J Vet Sci* 2017;18:209-216.
7. Tsujimura K, Murase H, Bannai H, Nemoto M, Yamanaka T, Kondo T. Efficacy of five commercial disinfectants and one anionic surfactant against equine herpesvirus type 1. *J Vet Med Sci* 2015;77:1545-1548.

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 축산농가 출입구 장화(boots) 세정액 및 살균소독제 활용

일반적으로 농가의 작업자는 장화를 신는 경우가 많으며 오염물을 세정하기 쉬운 신발이다. 그러나 겨울철 혹한기에는 세정 소독액이 결빙되어 담글 수 없는 경우가 생기므로 청결유지에 어려움을 겪고 있다. 본 과제에서 개발한 부동 소독제는 동절기 옥외의 소독조에도 결빙되지 않고 농가 외부로부터 이물질이나 오염물을 축사로 옮기지 않도록 할 수 있는 제품으로 활용할 수 있다.



일본 홋카이도
오비히로 축산대학
축산실습장 입구에
설치된 장화 소독조

Katsuya Kida 교수

4-2. 동절기 이동수단 전용 부동 살균소독제 : 대형차량

차량에 의한 오염물 전파가 가장 많을 것으로 판단된다. 농가 출입차량은 저가의 장치를 구축하면 이동 중에도 오염원을 여러 곳에 전파하지 않을 수 있다. 가축질병이 동절기에 많기 때문에 일반적인 소독제는 겨울철 추운 밤에 동결되어 분무가 될 수 없으나, 본 과제에서 개발된 부동 소독제는 어는점이 -30°C 이하므로 우리나라 어느 곳에서도 사용이 가능할 것으로 판단된다. 대형 차량의 경우에 압축공기를 사용할 수 있으므로 바퀴 펜더(fender) 부위에 수개의 노즐만 부착하고 부동 소독제를 저장용기에 담아두기만 하면 차량이 이동하면서 이물질이나 오염원을 다른 곳으로 옮기지 않을 수 있다.



일본 홋카이도
서부 BSE 검사실

Tokachi LHSC BSE Lab.
Rendering Plant

Yuuji Nakaoka 실장

4-3. 동절기 이동수단 전용 부동 살균소독제 : 소형차량

동절기 긴급 상황이 발생되면 “이동제한” 발동한다. 수의사와 관계자들은 이동을 하지 않을 수 없다. 이동 차량의 바퀴와 신발을 소독할 수 있다면 오염물의 전파를 최대한 차단할 수 있을 것이다. 소형차량에는 압축공기를 사용할 수 없으나 12 V 직류전압을 이용한 소형 펌프를 사용한다면 바퀴와 신발바닥의 오염물을 소독할 수 있으나 기존의 소독제는 동절기에 결빙되어 사용할 수 없으므로 본 과제에서 개발한 부동 소독제를 활용한다면 오염원을 차단할 수 있다.



일본 홋카이도
Tokachi LHSC

Dr. Okumura
Dr. Nakaoka
Dr. Chiba



붙임. 참고 문헌

1. L.A. Jones, Jr., R.K. Hoffman, C.R. Phillips, *Applied Microbiology*, 15 (2), 357-362 (1967).
2. S. Davison, C.E. Benson, A.F. Ziegler, R.J. Eckroade, *Avian Diseases*, 43, 533-537 (1999).
3. S. Dee, J. Deen, D. Burns, G. Douthit, C. Pijoan, *The Canadian Journal of Verterinary Research*, 69, 64-70 (2005).
4. Y. Jang, J. Lee, B. So, K. Lee, S. Yun, M. Lee, N. Choe, *Poultry Science*, 93 70-76 (2014).
5. J. Guan, M. Chan, B.W. Brooks, E. Rohonczy, *The Canadian Journal of Verterinary Research*, 79, 347-350 (2015).
6. K. Tsujimura, H. Murase, H. Bannai, M. Nemoto, T. Yamanaka, T. Kondo, *J. Vet. Med. Sci.*, 77(11) 1545-1548 (2015).
7. J.-K. Hong, K.-N. Lee, S.-W. You, S.-M. Kim, D. Tark, H.-S. Lee, Y.-J. Ko, M.-G. Seo, J.-H. Park, B. Kim, *Appl. Environ. Microbial.*, 81(21) 7610-7614 (2015).
8. E. Rohonczy, B. Brooks, S. Theriault, L. Miller, 4th Internation Symposium on Managing Aniaml Mortality, "Cold Weather Decontamination", Dearborn, MI May 21-24 2012.
9. D. Shoham, A. Jahangir, S. Ruenphet, K. Takehara, *Influenza Research and Treatatment*, vol. 2012, ID 912326.
10. J. Guan, M. Chan, B.W. Brooks, L. Rohonczy, *The Canadian Journal of Verterinary Research*, 77, 100-104 (2013).
11. M. Nagai, R. Kamimura, R. Seki, T. Shimoyama, T. Kubota, J. Shirai, *Open J. Vet. Med.*, 3 247-251 (2013).
12. 부동산액, KS M 2142 (2015).
13. 제설제의 성능평가-강제 부식영향 시험방법, EM502-1 (2014).
14. 제설제의 성능평가-콘크리트 동결 용해 시험방법, EM50202 (2014).
15. 제설제의 성능-평가 - 용빙 성능 시험방법, EM502-3 (2014).
16. Ake Melinder, Ph.D. Thesis, " Thermophysical Properties of Aqueous Solutions Used as Secondary Working Fluids", Royal Institute of Technology, KTH, Stockholm, Sweden 2007.
17. 자동차 부동산액, EL506 (2013).
18. Scientific Report of EFSA, "Available data on notified biocides efficacy under field conditions", *EFSA Journal* 7(10) 259 (2009).
19. M.A. Rohaim, R.F. El-Naggar, A.M. Gamal, E. Ismael, M.M. Hamoud, S.T. Moubarak, A.M. Metwally, M.M. Zaki, S.A.E. Nasr, S. Elsaid, M.M. Ali, H.A. Hussein, O.K. Zahran, *British J. Virology*, 2(5), 80-87 (2015).

최종보고서

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험



(주)한국생물안전성연구소



제 출 문

시험물질 : 부동 희석액(유기계)
시험제목 : 부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험

상기 독성시험을 “화학물질의 시험방법에 관한 규정”, 제3장 제1항 “담수조류 성장저해시험” (국립환경과학원 고시 제 2018-12호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2018년 12월 20일
(주)한국생물안전성연구소
시험책임자 정 호 섭



목 차

[Contents]

보고서표지 1
 제출문 2
 목차 [Contents] 3
 1. 요약 [Summary] 5
 2. 시험실시의 개요 [Introduction] 6
 2.1 시험제목 6
 2.2 시험물질 6
 2.3 시험목적 6
 2.4 시험방법 6
 2.5 시험의뢰자 6
 2.6 시험기관 6
 2.7 시험장소 6
 2.8 시험책임자 6
 2.9 시험관계자 7
 2.10 시험일정 7
 2.11 시험물질의 보관 7
 2.12 시험자료의 보관 7
 3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods] 8
 3.1 시험물질 및 대조물질 8
 3.2 시험생물 8
 3.3 시험생물 선별 기준 9
 3.4 시험방법 9
 4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination] 11
 4.1 세포수 관찰 및 형태변형 관찰 11
 4.2 시험용액의 수질검사 11
 4.3 시험환경의 조사 11
 4.4 통계처리 및 결과의 표시 11
 5. 시험결과 [Results] 12
 5.1 시험용액 중 시험물질의 농도 12
 5.2 생물량 12
 5.3 이상증상 12
 5.4 평균비생장율 및 수율에 대한 저해율 12
 5.5 시험환경조건 12



5.6 시험의 유효성 기준 12
 5.7 생장저해시험결과 13
 6. 참고문헌 [References] 14
 7. Tables 15
 Table 1. Biomass during the test 15
 Table 2. Abnormal response of *Pseudokirchneriella subcapitata* and the state of the test solution 16
 Table 3. Percent Inhibition of average specific growth rate and yield during the test 17
 Table 4. pH-values 18
 Table 5. Temperature 18
 Table 6. Light intensity 18
 Table 7. Validity of the test 1 - Propagation rate 19
 Table 8. Validity of the test 2 - The mean coefficient of variation for section-by-section specific growth rates in the control cultures 19
 Table 9. Validity of the test 3 - The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures 20
 Table 10. EC₅₀ and NOEC in the test 20
 8. Appendices 21
 Appendix 1. Positive control study 21
 Appendix 2. Growth curves during the test 22
 Appendix 3. Homogeneity of variance test by statistics program (SPSS, Ver. 19) 23



1. 요약 [Summary]

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 72시간 동안 지수식으로 실시하여 성장저해율 및 이상증상을 관찰하였다.

시험용액 중 시험물질의 농도는 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L로 구분하였으며, 결과는 아래와 같다.

Observation		E ₁ C ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E ₁ C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	1000.000
	Yield	> 1000.000	1000.000

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
 b: Median effect concentration based upon yield
 c: No observed effect concentration

해당시험 조건하에서, 부동 희석액(유기계)의 담수조류에 대한 72시간 반수영향농도 (E₁C₅₀, E₁C₅₀)는 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L 초과이었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1 시험제목

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험

2.2 시험물질

부동 희석액(유기계)

2.3 시험목적

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 통하여 시험물질의 안전성 기초자료로 활용하고자 실시한다.

2.4 시험방법

상기 독성시험을 "화학물질의 시험방법에 관한 규정", 제3장 제1항 "담수조류 성장저해시험" (국립환경과학원 고시 제 2018-12호)에 준하여 실시하였다.

2.5 시험의뢰자

명칭: 농업회사법인 주식회사 과농
 소재지: 경기도 포천시 자작로 155 경기대진TP 303호

2.6 시험기관

명칭: ㈜한국생물안전성연구소
 소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20
 연락처: Tel: 043-882-0297, Fax: 043-882-0298

2.7 시험장소

명칭: ㈜한국생물안전성연구소 GLP 연구동 조류실험실
 소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20

2.8 시험책임자

성명: 정호섭
 소속: ㈜한국생물안전성연구소 독성연구팀



2.9 시험관계자

시험물질의 조제/노출: 엄지영
 관찰/측정/평가: 엄지영
 담수조류사육: 엄지영

2.10 시험일정

예비시험: 2018년 11월 12일~2018년 11월 15일
 본시험물질 노출일: 2018년 11월 19일
 본시험 종료일: 2018년 11월 22일
 최종보고서 제출일: 2018년 12월 20일

2.11 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.
 시료번호: 18-1-101
 시험물질보관기간: 시험 종료 후 5년

2.12 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.
 시험번호: CTA-18002
 시험기초자료: 자료보관실
 최종보고서: 자료보관실
 자료하드디스크: 자료보관실
 자료보관기간: 시험 종료 후 5년
 자료관리담당자: 박선영

3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]**3.1 시험물질 및 대조물질****3.1.1 시험물질**

물질명: 부동 희석액(유기계)
 순도: 100% (제품기준)
 입수일: 2018년 11월 05일
 입수량: 200 g
 시료번호: 18-1-101
 외관 및 색상: 무색, 액상
 보관조건: 실온, 차광
 공급원: 농업회사법인 주식회사 과농

3.2 시험생물**3.2.1 시험생물**

시험종: 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
 분양원: 코람바이오텍㈜ (서울 강남구 선릉로76길 4, 5-7층)
 분양일: 2016.04.01
 시험종의 선정이유: 본 시험에 사용된 *Pseudokirchneriella subcapitata*는 해당 시험법에 추천된 시험생물이며, 국내외적으로 비교할 수 있는 충분한 시험 기초자료가 축적되어 있어 선정하였다.

3.2.2 배양환경

배양실: (주)한국생물안전성연구소 GLP 연구동 조류배양실
 배양수조: 250 mL 용량의 삼각플라스크를 사용하여 배양하였다.
 환경조건: 회전식 배양기에서 배양하며, 설정온도는 21~24°C, 광조건은 24시간, 조도는 4440~8880 lux범위, 배양기의 분당회전수는 100 rpm으로 설정하였다.
 환경 모니터링: 배양기간 동안 배양기 내의 온도와 조도 (5군데)는 2회 이상 측정하였으며, 측정결과 온도는 설정온도의 $\pm 2^\circ\text{C}$ 이내, 조도는 4440~8880 lux 범위 이내로 유지되었다.
 배양배지: 조류배지 (OECD guideline 201, 28 July 2011)를 사용하였다.

3.3 시험생물 선별 기준

시험에 사용될 담수조류를 관찰하여 비정상적인 모양 (형태변형, lysis 등)이 관찰되지 않은 경우 시험에 사용하였다.

3.4 시험방법

3.4.1 시험농도의 설정

본 시험물질에 대한 예비시험을 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 1000.000 mg/L로 설정하여 실시한 결과, 설정농도 1000.000 mg/L 농도순으로 72시간의 평균 비생장률에 대한 저해율(%I)은 2.9 %I였고, 수율(yield)에 대한 저해율(%I)은 10.2 %I이었다.

예비시험의 결과를 바탕으로 본 시험은 순도 (제품기준 100%) 기준으로 설정농도 1000.000 mg/L로 설정하였고, 각 시험군과 대조군 모두 5.0×10⁴ cells/mL의 담수조류를 노출하였으며 각각 6반복으로 시험하였다. 대조군은 무처리한 배지를 음성대조군으로 하여 시험하였다. 양성대조군은 본 기관에서 가장 최근에 시험한 potassium dichromate (K₂Cr₂O₇)에 대한 담수조류에 대한 성장저해시험의 결과로 대처하였다 (Appendix 1).

3.4.2 시험용액의 조제

시험물질 1.000 g을 측정하여 100 mL volumetric flask에 넣고 조류배지를 표선까지 정용하였다. 이후 30분 동안 교반을 실시하여 10000 mg/L의 시험농축용액 (stock solution)을 조제하였다. 200 mL 이상의 삼각플라스크에 조류배지를 100 mL씩 정량하여 채우고 삼각플라스크에서 10.000 mL을 제한 후 동량의 시험농축용액을 처리하여 시험군을 6반복씩 조제하였다.

3.4.3 시험환경 및 노출 조건

기간: 72시간
 온도: 설정온도 23°C (21~24°C)
 광주기: 24시간 광주조건
 시험용기: 250 mL 삼각플라스크를 사용하였고, 각 시험용기는 공기 투과마개를 해주었다.
 시험용액: 조류배지 (OECD guideline 201, 28 July 2011)를 사용하였다.
 생물량: 0.5 mg/L 이하 (건조중량 기준)
 노출방법: 지수식 시험 (static system)



4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

4.1 세포수 관찰 및 형태변형 관찰

시험시작 0시간에는 집중세포수를 기록하였고, 24시간, 48시간 및 72시간에 시험용액의 mL 당 세포수를 측정하였으며 이때 형태학적인 변화도 함께 관찰하여 기록하였다.

4.2 시험용액의 수질검사

시험용액의 pH는 시험시작 0시간과 72시간에 측정하였다. 시험시작 0시간 및 72시간에 시험에 사용된 플라스크 중 음성대조군 및 각 시험농도군 당 한 개 반복구의 시험용액에 대한 pH를 측정하였다.

4.3 시험환경의 조사

시험기간 중 배양기 내의 온도 및 조도는 매일 측정하였다.

4.4 통계처리 및 결과의 표시

4.4.1 평균 비생장률

시험기간 동안 일정기간의 평균 비생장률은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\mu_{ij} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} \text{ (day}^{-1}\text{)}$$

μ_{ij} : 평균 비생장률 (i에서 j까지의 시간)

X_i : i 시간에서의 생물량

X_j : j 시간에서의 생물량

4.4.2 평균 비생장률에 대한 저해율

평균 비생장률에 대한 저해율 (%I)은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\%I = \frac{\mu_c - \mu_r}{\mu_c} \times 100$$

%I: 평균 비생장률에 대한 저해율

μ_c : 대조군에서의 평균 비생장률 (μ)의 평균값

μ_r : 각 처리군에서의 평균 비생장률

4.4.3 수율

수율은 시험이 끝났을 때의 생물량에서 시험을 시작할 때의 생물량을 뺀 값으로서 다음의 식에 의하여 구하였다.



$$Y = X_{72} - X_0$$

Y: 수율

X₀: 시험을 시작할 때의 생물량

X₇₂: 시험이 끝났을 때의 생물량

4.4.4 수율에 대한 저해율

수율에 대한 저해율 (%I)은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\%I = \frac{(Y_C - Y_T)}{Y_C} \times 100$$

%I: 수율에 대한 저해율

Y_C: 대조군의 평균 수율

Y_T: 각 처리군의 수율

4.4.5 반수영향농도 (EC₅₀), NOEC 및 LOEC 산출

정규성은 Shapiro-Wilk normality test, 등분산 및 평균의 동일성은 독립표본 T 검정 (Levene test)을 통해 확인하였으며, 설정농도 1000.000 mg/L에서 시험이 종료되어 평균 비생장률에 대한 저해율과 수율에 대한 저해율의 반수영향농도 (E₁C₅₀, E₂C₅₀) 및 95% 신뢰구간은 통계처리를 하지 않았다. 통계프로그램으로는 IBM SPSS (Ver. 19)를 사용하였다.



5. 시험결과 [Results]

5.1 생물량

시험기간 동안 음성대조군의 생물량은 0, 24, 48 및 72시간에 각각 5.0×10⁴, 1.9×10⁵, 7.6×10⁵ 및 1.8×10⁶ cells/mL로 측정되었고, 시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)은 5.0×10⁴, 2.0×10⁵, 7.9×10⁵ 및 1.8×10⁶ cells/mL로 측정되었다 (Table 1, Appendix 2).

5.3 이상증상

시험기간 동안 음성대조군 및 시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)의 시험용액은 모두 투명하였고, 담수조류 세포의 형태변형도 관찰되지 않았다 (Table 2).

5.4 평균비생장률 및 수율에 대한 저해율

시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)에서 평균비생장률에 대한 저해율 (%I)은 1.1%이었고, 수율에 대한 저해율 (%I)은 4.1%이었다 (Table 3).

5.5 시험환경조건

시험기간 동안 시험용액의 pH는 평균 8.29 (7.58~9.02)이었고, 온도는 평균 21.9°C (21.8~22.0°C), 조도는 평균 4733 lux (4460~5250 lux)로 측정되었다 (Table 4~6).

5.6 시험의 유효성 기준

음성대조군의 생물량은 시험기간 동안 약 36.9배 증가하였고, 음성대조군 각 반복구의 24시간 간격의 구간별 (μ₀₋₂₄, μ₂₄₋₄₈, μ₄₈₋₇₂) 비생장률의 변동계수 평균값은 25.1%, 시험기간 동안 음성대조군 반복구의 평균 비생장률의 변동계수는 약 3.0%이었다 (Table 7~9).

유효성 기준 항목	기준	결과
음성대조군의 세포증식율	≥ 16 배	36.9 배
음성대조군의 24시간 간격의 특이성장률의 변동계수	≤ 35%	25.1%
음성대조군의 0~72시간에 대한 반복구들의 평균특이성장률의 변동계수	≤ 7%	3.0%



5.7 성장저해시험결과

부동 희석액(유기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해 시험을 72시간 동안 지수식으로 실시한 결과, 평균 비성장률에 대한 저해율과 수율에 대한 저해율의 반수영향농도 (E_rC_{50} , E_yC_{50})는 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L 초과이었다 (Table 10, Appendix 3).

Observation		$E_rC_{50}^a$ (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	$E_yC_{50}^b$ (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	1000.000
	Yield	> 1000.000	1000.000

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
 b: Median effect concentration based upon yield
 c: No observed effect concentration

6. 참고문헌 [References]

- 1) 국립환경과학원 고시 제 2018-12호 (2018.4.9) "화학물질의 시험방법", 제3장 제1항 "담수조류 성장저해시험"
- 2) OECD guidelines for the testing of chemicals", Section 2, Effects on Biotic Systems, No. 201 "Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test" (Adopted: Jul. 28, 2011)



7. Tables

Table 1. Biomass during the test

Nominal concentration (mg/L)	Replication	0 hour		24 hours		48 hours		72 hours	
		Biomass (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)	
Control	1	5.0×10 ⁴	68		326		718		
	2		87		321		721		
	3		76		268		644		
	4		83		307		686		
	5		72		347		772		
	6		79		261		883		
	Mean		5.0×10 ⁴		78		1.9×10 ⁵		305
1000.000	1	5.0×10 ⁴	71		324		730		
	2		93		336		725		
	3		84		350		678		
	4		81		266		669		
	5		67		332		794		
	6		84		278		652		
	Mean		5.0×10 ⁴		80		2.0×10 ⁵		314

a: Biomass (cells/mL) = Counting number ÷ 4 (number of repeats) × 10000

Table 2. Abnormal response of *Pseudokirchneriella subcapitata* and the state of the test solution

Nominal concentration (mg/L)	Replication	Abnormal response							
		0 hour		24 hours		48 hours		72 hours	
		Cells	Test solution	Cells	Test solution	Cells	Test solution	Cells	Test solution
Control	1	A	1	A	1	A	1	A	1
	2	A	1	A	1	A	1	A	1
	3	A	1	A	1	A	1	A	1
	4	A	1	A	1	A	1	A	1
	5	A	1	A	1	A	1	A	1
	6	A	1	A	1	A	1	A	1
1000.000	1	A	1	A	1	A	1	A	1
	2	A	1	A	1	A	1	A	1
	3	A	1	A	1	A	1	A	1
	4	A	1	A	1	A	1	A	1
	5	A	1	A	1	A	1	A	1
	6	A	1	A	1	A	1	A	1

※ Observation key of cells & test solution

- A: Normal B: Swelling C: Shrink D: Rupture E: Etcetera
 1: Transparency 2: Turbidity 3: Precipitation 4: Floating 5: Agglutination



Table 3. Percent Inhibition of average specific growth rate and yield during the test

Nominal concentration (mg/L)	Replication	Average specific growth rate (0~72 hr)	%I ^a	Yield (0~72 hr)	%I ^b
Control	1	0.050	0.7	1,745,000	2.7
	2	0.050	0.6	1,752,500	2.3
	3	0.048	3.8	1,560,000	13.0
	4	0.049	2.0	1,665,000	7.2
	5	0.051	-1.3	1,880,000	-4.8
	6	0.053	-5.0	2,157,500	-20.3
	Mean	0.050	0.0	1,793,333	0.0
1000.000	1	0.050	0.3	1,775,000	1.0
	2	0.050	0.5	1,762,500	1.7
	3	0.049	2.3	1,645,000	8.3
	4	0.049	2.7	1,622,500	9.5
	5	0.051	-2.1	1,935,000	-7.9
	6	0.048	3.4	1,580,000	11.9
	Mean	0.050	1.1	1,720,000	4.1

a: Percent inhibition in average specific growth rate
 b: Percent inhibition of yield



Table 4. pH-values

Nominal concentration (mg/L)	pH	
	0 hour	72 hours
Control	7.58	9.02
1000.000	7.59	8.95

Table 5. Temperature

Observation time	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Temperature (°C)	21.9	21.9	22.0	21.8

Table 6. Light intensity

Observation point	Light intensity (lux)			
	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Top left	4780	4670	4740	4760
Top right	4640	4700	4680	4720
Center	5220	5240	5240	5250
Bottom left	4470	4540	4500	4460
Bottom right	4470	4540	4520	4520



Table 7. Validity of the test 1 - Propagation rate

Group	Replication	Propagation rate			
		0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Control	1	5.0×10^4	1.7×10^5	8.2×10^5	1.8×10^6
	2	5.0×10^4	2.2×10^5	8.0×10^5	1.8×10^6
	3	5.0×10^4	1.9×10^5	6.7×10^5	1.6×10^6
	4	5.0×10^4	2.1×10^5	7.7×10^5	1.7×10^6
	5	5.0×10^4	1.8×10^5	8.7×10^5	1.9×10^6
	6	5.0×10^4	2.0×10^5	6.5×10^5	2.2×10^6
	Mean	5.0×10^4	1.9×10^5	7.6×10^5	1.8×10^6
Fold	-	3.9	15.3	36.9	

Table 8. Validity of the test 2 - The mean coefficient of variation for section-by-section specific growth rates in the control cultures

Group	Replication	Specific growth rates					C.V.(%) ^b
		$\mu(0-24)$	$\mu(24-48)$	$\mu(48-72)$	Mean	S.D. ^a	
Control	1	0.051	0.065	0.033	0.050	0.016	32.7
	2	0.061	0.054	0.034	0.050	0.014	28.8
	3	0.056	0.053	0.037	0.048	0.010	21.2
	4	0.059	0.055	0.034	0.049	0.014	27.9
	5	0.053	0.066	0.033	0.051	0.016	32.1
	6	0.057	0.050	0.051	0.053	0.004	7.7
	Mean						25.1

a: Standard deviation
b: Coefficient of variation



Table 9. Validity of the test 3 - The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures

Group	Replication	Average specific growth rates			
		$\mu(0-72)$	Mean	S.D. ^a	C.V.(%) ^b
Control	1	0.050	0.050	0.002	3.0
	2	0.050			
	3	0.048			
	4	0.049			
	5	0.051			
	6	0.053			

a: Standard deviation
b: Coefficient of variation

Table 10. EC₅₀ and NOEC in the test

Observation		EC ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E _y C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	1000.000
	Yield	> 1000.000	1000.000

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
b: Median effect concentration based upon yield
c: No observed effect concentration



8. Appendices

Appendix 1. Positive control study

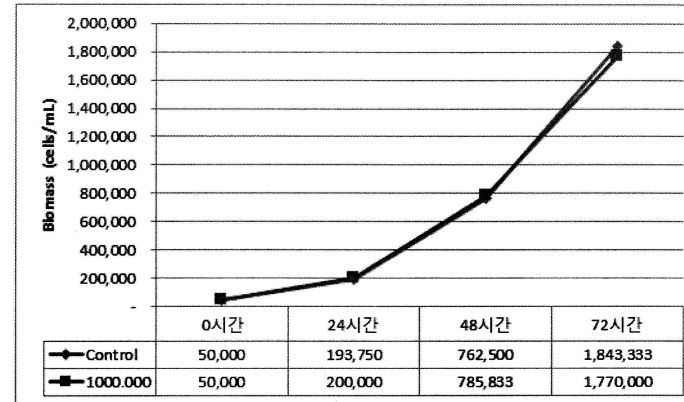
Study No.	Study period	$E_r C_{50}^a$ (mg/L) ^c (95% confidence limits)	$E_y C_{50}^b$ (mg/L) ^c (95% confidence limits)
18-KET-PA001	2018.03.05 ~2018.03.22	1.686 (1.057~2.952)	0.910

- a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
- b: Median effect concentration based upon yield
- c: Based upon nominal concentration of test substance

* Test substance: Potassium dichromate
 * Test species: *Pseudokirchneriella subcapitata*



Appendix 2. Growth curves during the test



Appendix 3. Homogeneity of variance test by statistics program (SPSS, Ver. 19)

1. Tests of Normality

concentration		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
growth_rate	.000	.230	6	.200 [*]	.944	6	.685
	1000.000	.212	6	.200 [*]	.932	6	.599
yield	.000	.245	6	.200 [*]	.922	6	.517
	1000.000	.217	6	.200 [*]	.923	6	.529

a. Lilliefors Significance Correction
 * This is a lower bound of the true significance.

2. Homogeneity of variance test

		Levene's Test for Equality of Variances	
		F	Sig.
growth_rate	Equal variances assumed	.443	.521
	Equal variances not assumed		
yield	Equal variances assumed	.636	.444
	Equal variances not assumed		

Independent Samples Test

t-test for Equality of Means						
t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
.707	10	.496	.00052500	.00074302	-.00113055	.00218055
.707	8.723	.498	.00052500	.00074302	-.00116399	.00221399
.732	10	.481	73333.333	100138.793	-149789.801	296456.468
.732	8.442	.484	73333.333	100138.793	-155501.401	302168.067



최종보고서

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 생장저해시험




(주)한국생물안전성연구소



제 출 문

시험물질 : 부동 희석액(무기계)
시험제목 : 부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험

상기 독성시험을 "화학물질의 시험방법에 관한 규정", 제3장 제1항 "담수조류 성장저해시험" (국립환경과학원 고시 제 2018-12호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2018년 12월 20일
㈜한국생물안전성연구소
시험책임자 정 호 섭 



목 차

[Contents]

- 보고서표지 1
- 제출문 2
- 목차 [Contents] 3
- 1. 요약 [Summary] 5
- 2. 시험실시의 개요 [Introduction] 6
 - 2.1 시험제목 6
 - 2.2 시험물질 6
 - 2.3 시험목적 6
 - 2.4 시험방법 6
 - 2.5 시험의뢰자 6
 - 2.6 시험기관 6
 - 2.7 시험장소 6
 - 2.8 시험책임자 6
 - 2.9 시험관계자 7
 - 2.10 시험일정 7
 - 2.11 시험물질의 보관 7
 - 2.12 시험자료의 보관 7
- 3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods] 8
 - 3.1 시험물질 및 대조물질 8
 - 3.2 시험생물 8
 - 3.3 시험생물 선별 기준 9
 - 3.4 시험방법 9
- 4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination] 11
 - 4.1 세포수 관찰 및 형태변형 관찰 11
 - 4.2 시험용액의 수질검사 11
 - 4.3 시험환경의 조사 11
 - 4.4 통계처리 및 결과의 표시 11
- 5. 시험결과 [Results] 12
 - 5.1 시험용액 중 시험물질의 농도 12
 - 5.2 생물량 12
 - 5.3 이상증상 12
 - 5.4 평균비생장율 및 수율에 대한 저해율 12
 - 5.5 시험환경조건 12



5.6 시험의 유효성 기준 12
 5.7 성장저해시험결과 13
 6. 참고문헌 [References] 14
 7. Tables 15
 Table 1. Biomass during the test 15
 Table 2. Abnormal response of *Pseudokirchneriella subcapitata* and the state of the test solution 16
 Table 3. Percent Inhibition of average specific growth rate and yield during the test 17
 Table 4. pH-values 18
 Table 5. Temperature 18
 Table 6. Light intensity 18
 Table 7. Validity of the test 1 - Propagation rate 19
 Table 8. Validity of the test 2 - The mean coefficient of variation for section-by-section specific growth rates in the control cultures 19
 Table 9. Validity of the test 3 - The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures 20
 Table 10. EC₅₀ and NOEC in the test 20
 8. Appendices 21
 Appendix 1. Positive control study 21
 Appendix 2. Growth curves during the test 22
 Appendix 3. Homogeneity of variance test by statistics program (SPSS, Ver. 19) 23



1. 요약 [Summary]

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 72시간 동안 지수식으로 실시하여 성장저해율 및 이상증상을 관찰하였다.

시험용액 중 시험물질의 농도는 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 설정농도 1000.000 mg/L로 구분하였으며, 결과는 아래와 같다.

Observation		Ec ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E _y C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	-
	Yield	> 1000.000	-

- a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
- b: Median effect concentration based upon yield
- c: No observed effect concentration

설정농도 1000.000 mg/L에서 평균비생장률에 대한 저해율 (%)은 10.4%, 수율에 대한 저해율 (%)은 32.1%로 각각 50%를 넘지는 않았고, 통계 처리한 결과 음성대조군과 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1 시험제목

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험

2.2 시험물질

부동 희석액(무기계)

2.3 시험목적

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해시험을 통하여 시험물질의 안전성 기초자료로 활용하고자 실시한다.

2.4 시험방법

상기 독성시험을 "화학물질의 시험방법에 관한 규정", 제3장 제1항 "담수조류 성장저해시험" (국립환경과학원 고시 제 2018-12호)에 준하여 실시하였다.

2.5 시험의뢰자

명칭: 농업회사법인 주식회사 과농
소재지: 경기도 포천시 자작로 155 경기대진TP 303호

2.6 시험기관

명칭: (주)한국생물안전성연구소
소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20
연락처: Tel: 043-882-0297, Fax: 043-882-0298

2.7 시험장소

명칭: (주)한국생물안전성연구소 GLP 연구동 조류실험실
소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20

2.8 시험책임자

성명: 정호섭
소속: (주)한국생물안전성연구소 독성연구팀



2.9 시험관계자

시험물질의 조제/노출: 엄지영
관찰/측정/평가: 엄지영
담수조류사육: 엄지영

2.10 시험일정

예비시험: 2018년 11월 12일~2018년 11월 15일
본시험물질 노출일: 2018년 12월 03일
본시험 종료일: 2018년 12월 06일
최종보고서 제출일: 2018년 12월 20일

2.11 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.
시료번호: 18-1-109
시험물질보관기간: 시험 종료 후 5년

2.12 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.
시험번호: CTA-18003
시험기초자료: 자료보관실
최종보고서: 자료보관실
자료하드디스크: 자료보관실
자료보관기간: 시험 종료 후 5년
자료관리담당자: 박선영



3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]

3.1 시험물질 및 대조물질

3.1.1 시험물질

물질명:	부동 희석액(무기계)
순도:	100% (제품기준)
입수일:	2018년 11월 20일
입수량:	200 g
시료번호:	18-1-109
외관 및 색상:	무색, 액상
보관조건:	실온, 차광
공급원:	농업회사법인 주식회사 과농

3.2 시험생물

3.2.1 시험생물

시험종:	담수조류 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)
분양원:	코람바이오텍㈜ (서울 강남구 선릉로76길 4, 5-7층)
분양일:	2016.04.01
시험종의 선정이유:	본 시험에 사용된 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 는 해당 시험법에 추천된 시험생물이며, 국내외적으로 비교할 수 있는 충분한 시험 기초자료가 축적되어 있어 선정하였다.

3.2.2 배양환경

배양실:	㈜한국생물안전성연구소 GLP 연구동 조류배양실
배양수조:	250 mL 용량의 삼각플라스크를 사용하여 배양하였다.
환경조건:	회전식 배양기에서 배양하며, 설정온도는 21~24°C, 광조건은 24시간, 조도는 4440~8880 lux범위, 배양기의 분당회전수는 100 rpm으로 설정하였다.
환경 모니터링:	배양기간 동안 배양기 내의 온도와 조도 (5군데)는 2회 이상 측정하였으며, 측정결과 온도는 설정온도의 ± 2°C 이내, 조도는 4440~8880 lux 범위 이내로 유지되었다.
배양배지:	조류배지 (OECD guideline 201, 28 July 2011)를 사용하였다.

3.3 시험생물 선별 기준

시험에 사용될 담수조류를 관찰하여 비정상적인 모양 (형태변형, lysis 등)이 관찰되지 않은 경우 시험에 사용하였다.



3.4 시험방법

3.4.1 시험농도의 설정

본 시험물질에 대한 예비시험을 음성대조군과 순도 (제품기준 100%) 기준 1000.000 mg/L로 설정하여 실시한 결과, 설정농도 1000.000 mg/L 농도순으로 72시간의 평균 비생장률에 대한 저해율(%)은 12.4 %/이었고, 수율(yield)에 대한 저해율(%)은 37.4 %/이었다.

예비시험의 결과를 바탕으로 본 시험은 순도 (제품기준 100%) 기준으로 설정농도 1000.000 mg/L로 설정하였고, 각 시험군과 대조군 모두 5.0×10⁴ cells/mL의 담수조류를 노출하였으며 각각 6반복으로 시험하였다. 대조군은 무처리한 배지를 음성대조군으로 하여 시험하였다. 양성대조군은 본 기관에서 가장 최근에 시험한 potassium dichromate (K₂Cr₂O₇)에 대한 담수조류에 대한 성장저해시험의 결과로 대체하였다 (Appendix 1).

3.4.2 시험용액의 조제

시험물질 1.000 g을 측정하여 100 mL volumetric flask에 넣고 조류배지를 표선까지 정용하였다. 이후 30분 동안 교반을 실시하여 10000 mg/L의 시험농축용액 (stock solution)을 조제하였다. 200 mL 이상의 삼각플라스크에 조류배지를 100 mL씩 정량하여 채우고 삼각플라스크에서 10.000 mL을 제한 후 동량의 시험농축용액을 처리하여 시험군을 6반복씩 조제하였다.

3.4.3 시험환경 및 노출 조건

기간:	72시간
온도:	설정온도 23°C (21~24°C)
광주기:	24시간 광조건
시험용기:	250 mL 삼각플라스크를 사용하였고, 각 시험용기는 공기 투과마개를 해주었다.
시험용액:	조류배지 (OECD guideline 201, 28 July 2011)를 사용하였다.
생물량:	0.5 mg/L 이하 (건조중량 기준)
노출방법:	지수식 시험 (static system)



4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

4.1 세포수 관찰 및 형태변형 관찰

시험시작 0시간에는 점중세포수를 기록하였고, 24시간, 48시간 및 72시간에 시험용액의 mL 당 세포수를 측정하였으며 이때 형태학적인 변화도 함께 관찰하여 기록하였다.

4.2 시험용액의 수질검사

시험용액의 pH는 시험시작 0시간과 72시간에 측정하였다. 시험시작 0시간 및 72시간에 시험에 사용된 플라스크 중 음성대조군 및 각 시험농도군 당 한 개 반복구의 시험용액에 대한 pH를 측정하였다.

4.3 시험환경의 조사

시험기간 중 배양기 내의 온도 및 조도는 매일 측정하였다.

4.4 통계처리 및 결과의 표시

4.4.1 평균 비생장률

시험기간 동안 일정기간의 평균 비생장률은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\mu_{ij} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} \text{ (day}^{-1}\text{)}$$

μ_{ij} : 평균 비생장률 (i에서 j까지의 시간)
 X_i : i 시간에서의 생물량
 X_j : j 시간에서의 생물량

4.4.2 평균 비생장률에 대한 저해율

평균 비생장률에 대한 저해율 (%I)은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\%I_r = \frac{\mu_c - \mu_r}{\mu_c} \times 100$$

$\%I_r$: 평균 비생장률에 대한 저해율
 μ_c : 대조군에서의 평균 비생장률 (μ)의 평균값
 μ_r : 각 처리군에서의 평균 비생장률

4.4.3 수율

수율은 시험이 끝났을 때의 생물량에서 시험을 시작할 때의 생물량을 뺀 값으로서 다음의 식에 의하여 구하였다.



$$Y = X_{72} - X_0$$

Y: 수율

X_0 : 시험을 시작할 때의 생물량

X_{72} : 시험이 끝났을 때의 생물량

4.4.4 수율에 대한 저해율

수율에 대한 저해율 (%I)은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\%I_r = \frac{(Y_c - Y_r)}{Y_c} \times 100$$

$\%I_r$: 수율에 대한 저해율

Y_c : 대조군의 평균 수율

Y_r : 각 처리군의 수율

4.4.5 반수영향농도 (EC₅₀), NOEC 및 LOEC 산출

정규성은 Shapiro-Wilk normality test, 등분산 및 평균의 동일성은 독립표본 T 검정 (Levene test)을 통해 확인하였으며, 설정농도 1000.000 mg/L 단일 농도로 시험하여 평균 비생장률에 대한 저해율과 수율에 대한 저해율의 반수영향농도 (E_rC₅₀, E_rC₅₀) 및 95% 신뢰구간은 통계처리를 하지 않았다. 통계프로그램으로는 IBM SPSS (Ver. 19)를 사용하였다.



5. 시험결과 [Results]

5.1 생물량

시험기간 동안 음성대조군의 생물량은 0, 24, 48 및 72시간에 각각 5.0×10^4 , 1.8×10^5 , 7.3×10^5 및 1.8×10^6 cells/mL로 측정되었고, 시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)은 5.0×10^4 , 1.1×10^5 , 4.3×10^5 및 1.1×10^6 cells/mL로 측정되었다 (Table 1, Appendix 2).

5.3 이상증상

시험기간 동안 음성대조군 및 시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)의 시험용액은 모두 투명하였고, 담수조류 세포의 형태변형도 관찰되지 않았다 (Table 2).

5.4 평균비생장율 및 수율에 대한 저해율

시험물질 처리군 (설정농도 1000.000 mg/L)에서 평균비생장율에 대한 저해율 (%)은 10.4%이었고, 수율에 대한 저해율 (%)은 32.1%이었다 (Table 3).

5.5 시험환경조건

시험기간 동안 시험용액의 pH는 평균 8.43 (7.72~9.11)이었고, 온도는 평균 21.9°C (21.7~22.0°C), 조도는 평균 4714 lux (4460~5220 lux)로 측정되었다 (Table 4~6).

5.6 시험의 유효성 기준

음성대조군의 생물량은 시험기간 동안 약 36.2배 증가하였고, 음성대조군 각 반복구의 24시간 간격의 구간별 (μ_{0-24} , μ_{24-48} , μ_{48-72}) 비생장률의 변동계수 평균값은 22.2%, 시험기간 동안 음성대조군 반복구의 평균 비생장률의 변동계수는 약 3.0%이었다 (Table 7~9).

유효성 기준 항목	기준	결과
음성대조군의 세포증식율	≥ 16 배	36.2 배
음성대조군의 24시간 간격의 특이성장률의 변동계수	≤ 35%	22.2%
음성대조군의 0~72시간에 대한 반복구들의 평균특이성장률의 변동계수	≤ 7%	3.0%



5.7 성장저해시험결과

부동 희석액(무기계)의 담수조류 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)에 대한 성장저해 시험을 72시간 동안 지수식으로 실시한 결과, 설정농도 1000.000 mg/L에서 평균비생장률에 대한 저해율 (%)은 10.4%이었고, 수율에 대한 저해율 (%)은 32.1%로 50%를 넘지는 않았고, 통계 처리한 결과 음성대조군과 유의한 차이가 있는 것으로 확인되었다 (Table 10, Appendix 3).

Observation		E ₁ C ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E ₇ C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	-
	Yield	> 1000.000	-

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
 b: Median effect concentration based upon yield
 c: No observed effect concentration



6. 참고문헌 [References]

- 1) 국립환경과학원 고시 제 2018-12호 (2018.4.9) "화학물질의 시험방법", 제3장 제1항 "담수조류 성장저해시험"
- 2) OECD guidelines for the testing of chemicals", Section 2, Effects on Biotic Systems, No. 201 "Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test" (Adopted: Jul. 28, 2011)

7. Tables

Table 1. Biomass during the test

Nominal concentration (mg/L)	Replication	0 hour	24 hours		48 hours		72 hours	
		Biomass (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)	Counting number	Biomass ^a (cells/mL)
Control	1	5.0×10 ⁴	68	1.8×10 ⁵	340	7.3×10 ⁵	743	1.8×10 ⁶
	2		72		268		779	
	3		72		313		790	
	4		69		273		589	
	5		62		254		699	
	6		77		294		742	
	Mean		5.0×10 ⁴		70		290	
1000.000	1	5.0×10 ⁴	60	1.1×10 ⁵	192	4.3×10 ⁵	445	1.1×10 ⁶
	2		41		162		461	
	3		52		233		483	
	4		47		201		441	
	5		46		204		526	
	6		54		222		631	
	Mean		5.0×10 ⁴		43		173	

a: Biomass (cells/mL) = Counting number ÷ 4 (number of repeats) × 10000



Table 2. Abnormal response of *Pseudokirchneriella subcapitata* and the state of the test solution

Nominal concentration (mg/L)	Replication	Abnormal response							
		0 hour		24 hours		48 hours		72 hours	
		Cells	Test solution	Cells	Test solution	Cells	Test solution	Cells	Test solution
Control	1	A	1	A	1	A	1	A	1
	2	A	1	A	1	A	1	A	1
	3	A	1	A	1	A	1	A	1
	4	A	1	A	1	A	1	A	1
	5	A	1	A	1	A	1	A	1
	6	A	1	A	1	A	1	A	1
1000.000	1	A	1	A	1	A	1	A	1
	2	A	1	A	1	A	1	A	1
	3	A	1	A	1	A	1	A	1
	4	A	1	A	1	A	1	A	1
	5	A	1	A	1	A	1	A	1
	6	A	1	A	1	A	1	A	1

※ Observation key of cells & test solution

- A: Normal B: Swelling C: Shrink D: Rupture E: Etcetera
 1: Transparency 2: Turbidity 3: Precipitation 4: Floating 5: Agglutination



Table 3. Percent Inhibition of average specific growth rate and yield during the test

Nominal concentration (mg/L)	Replication	Average specific growth rate (0~72 hr)	%I _r ^a	Yield (0~72 hr)	%I _y ^b
Control	1	0.050	-0.7	1,807,500	-2.7
	2	0.051	-2.1	1,897,500	-7.9
	3	0.051	-2.4	1,925,000	-9.4
	4	0.047	5.7	1,422,500	19.1
	5	0.049	1.0	1,697,500	3.5
	6	0.050	-0.7	1,805,000	-2.6
	Mean	0.050	0.0	1,759,167	0.0
1000.000	1	0.043	13.6	1,062,500	39.6
	2	0.044	12.6	1,102,500	37.3
	3	0.044	11.3	1,157,500	34.2
	4	0.043	13.8	1,052,500	40.2
	5	0.045	8.9	1,265,000	28.1
	6	0.048	3.8	1,527,500	13.2
	Mean	0.045	10.4	1,194,583	32.1

a: Percent inhibition in average specific growth rate

b: Percent inhibition of yield



Table 4. pH-values

Nominal concentration (mg/L)	pH	
	0 hour	72 hours
Control	7.79	9.11
1000.000	7.72	9.10

Table 5. Temperature

Observation time	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Temperature (°C)	21.7	22.0	21.8	22.0

Table 6. Light intensity

Observation point	Light intensity (lux)			
	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Top left	4740	4720	4690	4680
Top right	4680	4640	4660	4640
Center	5220	5220	5030	4980
Bottom left	4560	4580	4490	4480
Bottom right	4610	4620	4580	4460



Table 7. Validity of the test 1 - Propagation rate

Group	Replication	Propagation rate			
		0 hour	24 hours	48 hours	72 hours
Control	1	5.0E+04	1.7E+05	8.5E+05	1.9E+06
	2	5.0E+04	1.8E+05	6.7E+05	1.9E+06
	3	5.0E+04	1.8E+05	7.8E+05	2.0E+06
	4	5.0E+04	1.7E+05	6.8E+05	1.5E+06
	5	5.0E+04	1.6E+05	6.4E+05	1.7E+06
	6	5.0E+04	1.9E+05	7.4E+05	1.9E+06
	Mean	5.0E+04	1.8E+05	7.3E+05	1.8E+06
Fold	-	3.5	14.5	36.2	

Table 8. Validity of the test 2 - The mean coefficient of variation for section-by-section specific growth rates in the control cultures

Group	Replication	Specific growth rates					
		$\mu(0-24)$	$\mu(24-48)$	$\mu(48-72)$	Mean	S.D. ^a	C.V.(%) ^b
Control	1	0.051	0.067	0.033	0.050	0.017	34.4
	2	0.053	0.055	0.044	0.051	0.006	11.0
	3	0.053	0.061	0.039	0.051	0.012	22.5
	4	0.052	0.057	0.032	0.047	0.013	28.2
	5	0.047	0.059	0.042	0.049	0.009	17.2
	6	0.056	0.056	0.039	0.050	0.010	20.0
	Mean						22.2

a: Standard deviation

b: Coefficient of variation



Table 9. Validity of the test 3 - The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures

Group	Replication	Average specific growth rates			
		$\mu(0-72)$	Mean	S.D. ^a	C.V.(%) ^b
Control	1	0.050	0.050	0.001	3.0
	2	0.051			
	3	0.051			
	4	0.047			
	5	0.049			
	6	0.050			

a: Standard deviation
b: Coefficient of variation

Table 10. EC₅₀ and NOEC in the test

Observation		E ₁ C ₅₀ ^a (mg/L)	NOEC ^c (mg/L)
Time (hr)	Item	E ₇ C ₅₀ ^b (mg/L)	
72	Average specific growth rate	> 1000.000	-
	Yield	> 1000.000	-

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
b: Median effect concentration based upon yield
c: No observed effect concentration

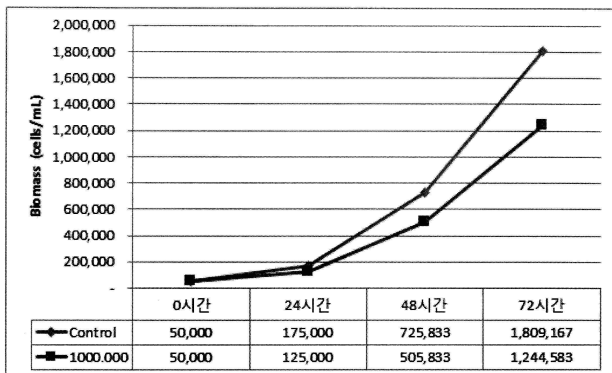
8. Appendices**Appendix 1. Positive control study**

Study No.	Study period	E ₁ C ₅₀ ^a (mg/L) ^c (95% confidence limits)	E ₇ C ₅₀ ^b (mg/L) ^c (95% confidence limits)
18-KET-PA001	2018.03.05 ~2018.03.22	1.686 (1.057~2.952)	0.910

a: Median effect concentration based upon average specific growth rate
b: Median effect concentration based upon yield
c: Based upon nominal concentration of test substance

* Test substance: Potassium dichromate
* Test species: *Pseudokirchneriella subcapitata*

Appendix 2. Growth curves during the test



Appendix 3. Homogeneity of variance test by statistics program (SPSS, Ver. 19)

1. Tests of Normality

	concentration	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
growth_rate	.000	.276	6	.173	.830	6	.108
	1000.000	.231	6	.200*	.853	6	.166
yield	.000	.265	6	.200*	.856	6	.176
	1000.000	.248	6	.200*	.825	6	.098

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

2. Homogeneity of variance test

		Levene's Test for Equality of Variances	
		F	Sig.
growth_rate	Equal variances assumed	.379	.552
	Equal variances not assumed		
yield	Equal variances assumed	.001	.979
	Equal variances not assumed		

Independent Samples Test

t-test for Equality of Means						
t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
5.321	10	.000	.00524167	.00098501	.00304692	.00743641
5.321	9.488	.000	.00524167	.00098501	.00303077	.00745256
5.371	10	.000	564583.333	105119.145	330363.281	798803.385
5.371	9.998	.000	564583.333	105119.145	330356.229	798810.437



구구여거나 신뢰받는 기업
정밀한 연구를 통해 Solution을 제공하는 기업
농업회사법인 주식회사 과농

수신자 농림축산검역본부
장 조 동물약품관리과장

제 목 **소독제 효력시험설계서 승인 요청**

1. 귀본부와 귀과의 발전을 기원합니다.
2. 동물용의약품 소독제(열지아니)에 대한 효력시험설계서의 승인을 요청드립니다.

첨부1. 효력시험설계서 1부.

첨부2. 위탁연구개발계약서 1부.

농업회사법인 주식회사 과농 대표이사



담당자 정재구 상무이사 박철규 대표이사 채원석
 협조자
 시 행 공문-대외-190057 (2018.11.07.) / 접수 ()
 주 소 경기도 포천시 자작로 155
 우 487-711 경기대진테크노파크 303호 / www.kowasan.kr
 전화 031-531-7715 / 전승 031-532-7714 jkchunha@nate.com / 공개

"감사없는 도전과 열정"

국민의 나라 정의로운 대한민국



농림축산검역본부



수신 (주)과농(대표자: 채원석) 귀하 (우11158 경기도 포천시 자작로 155, 경기대진테크노파크 303호 (자작동))

(경유)

제목 소독제(열지아니) 효력시험 설계서 승인 알림

1. 소독제 효력시험 설계서 승인 요청('18.11.26.) 관련입니다.
2. (주)과농에서 신청한 소독제 "열지아니"의 효력시험 설계서가 *S. typhimurium* 및 AI V.에 대해 불임의 "동물용의약품등 기술검토의견서"를 반영하는 조건으로 승인되었음을 알려드리며, 소독제 효력 시험은 승인된 설계서에 따라 실시하여야 하며 시험 중 변경이 불가피한 경우 그 변경 사유를 제출하고 변경할 내용에 대해 재승인받아야 함을 알려드립니다.

불임 동물용의약품등 기술검토의견서 1부, 끝.

농림축산검역본부장



주무관 박나래 수의사무관 대령 2018.11.8 김윤선 동물약품관리과 전담
 협조자
 시행 동물약품관리과-290 접수
 우 39660 경상북도 김천시 혁신8로 177, 농림축산검역본부 동물약품관리과 http://www.qia.go.kr
 전화번호 054-912-0544 팩스번호 054-912-0530 / paknate@korea.kr /비공개(7)

동물용의약품등 기술검토의견서

○ 제품명: 얼지아니

○ 신청회사: (주)과농

구 분	검 토 의 견
1. 원료약품 및 분량	-
2. 제 조 방 법	-
3. 효능·효과	-
4. 용법·용량	-
5. 저장방법 유효기간	-
6. 유효기간	-
7. 휴약기간	-
8. 부작용	-
9. 금기사항	-
10. 기준 및 시험방법	○ 관련규정 수정 : 농림축산검역본부 고시 제2018-16호 '소독제 효력시험지침' ○ 영하조건에서 소독제 얼지아니의 시 바이러스에 대한 소독제 효력 시험 나. 3) 소독제 반응 -균액 희석액(경수 및 유기물조건)에 대하여 얼지않는 최소의 온도를 명기 -(반응시간) 반응물(소독액과 균액)이 선택온도에 도달한 시간부터 계속
11. 독성 및 안전성	-
12. 기타	-
13. 종합의견	위의 사항에 따라 실험을 진행하여 주시기 바랍니다.

구 분	검 토 의 견
1. 공시소독제 (시험재료)	○ 공시제품의 봉인 상태 및 함량 시험 결과를 확인한 후 이상이 없는 제품을 시험에 사용할 것 명시 - 소독제 효력지침(2018-16) 제4조의2 ④
6. 시험방법	○ 단위를 명확히 표기하여 주시기 바랍니다. - 3page : ml당 10 ⁸ → ml당 10 ⁸ CFU - 4page : ml당 2x10 ⁵ → ml당 2x10 ⁵ CFU
종합의견	○ 위 사항을 반영하여 실험을 진행하시기 바랍니다.

기술검토 부서	기술검토 담당자	전화번호	비고
세균질병과	항생제내성연구실	054-912-0739	

기술검토 부서	기술검토 담당자	전화번호	비고
동물약품평가과	바이오사이드제 연구실	054-912-0560	

구분	검토의견
1. 원료약품 및 분량 (균독주 적합성)	-
2. 성상	-
3. 제조방법	-
4. 효능 및 효과	-
5. 용법 및 용량	-
6. 포장단위	-
7. 저장방법 및 유효기간	-
8. 주의사항	-
9. 기준 및 시험방법	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고시 제2018-16호('18.5.31.)에 근거하여 소독제 효력시험을 수행 요망 ○ 고시 제2018-16호 별표 2에 근거하여 소독제의 반응은 증식된 4℃의 바이러스액 1.0ml을 4℃ 경수 또는 유기물 희석액 19.0ml에 각각 섞은 후에, 1분 간격으로 혼합액 2.5ml를 꺼내어 4℃에 있는 동량의 소독제 희석액이 들어있는 시험관에 넣고 혼합하여 수행함을 명시 요망 ○ 선택시험조건인 경우, 소독제 희석액 및 바이러스 희석액이 각각 반응 온도에 정확히 도달한 시점부터 진행하고, 해당 반응온도가 정확히 유지되는 조건에서 반응시간을 계속하여 실험 요망 ○ 특히 영하조건에서 실험시의 환경유지 조건, 반응액의 동결여부를 반드시 명시 할 것 ○ 고시 제2018-16호 제 3조에 근거하여 '공시제품에 대한 유효희석배수의 결정은 3반복 시험결과, 상용대수로 환산한 값이 4 이상으로 산술평균의 20%(±10%) 오차범위 내에 있는 결과값의 중위수(median)로 함'을 명시 요망 ○ 조류인플루엔자 바이러스의 소독제 효력시험 수행 중 바이러스 감염력 상실 정도 측정 시 1% 닭적혈구를 사용하여 혈구응집반응을 실시함으로 수정 요망
10. 비고	-
11. 종합의견	<ul style="list-style-type: none"> ○ 상기와 같이 수정이 필요함. ○ 위 조건을 반영함을 전제로 소독제 효력시험 설계서를 인정함.

기술검토 부서	기술검토 담당자	전화번호	비고
조류인플루엔자 연구진단과	시병원체 특성연구실	054-912-0970	

the way to trust

2047-7749-5157-7807

시험성적서

1. 성적서 번호 : CT18-107634
2. 의뢰자
 - 업체명 : (주)과농
 - 주소 : 경기도 포천시 자작로 155 경기대진테크노파크 303호
3. 시험기간 : 2018년 10월 11일 ~ 2018년 11월 19일
4. 시험성적서의 용도 : 품질관리
5. 시료명 : 알지아니(10배희석액)
6. 시험방법
 - (1) KCL-FIR-1002:2018

확인	작성자명	이정민	이재민	기술책임자명	배상복	
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="font-size: 8px;"> 비고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명에 한정된 결과로서 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않습니다. 2. 이 성적서는 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다. 3. 이 성적서의 진위여부는 홈페이지(www.kcl.re.kr)에서 확인 가능합니다. </div> <div style="text-align: right; font-size: 24px; font-family: cursive;"> </div> </div>						

2018년 11월 19일

한국건설생활환경시험연구원

군포시험실 : 15845 경기도 군포시 공단로 149 1' VALLEY군포 805호 (031)389-9100

결과문의 : 그린소재평가센터 ☎ (031)389-9186

총 5페이지 중 1페이지

양식QP-20-01-05(6)

시험성적서

성적서번호 : CT18-107634

7. 시험결과

시험 항목	시험방법	시험 결과			시험환경
		초기농도 (CFU/mL)	24시간 후 농도 (CFU/mL)	세균감소율 (%)	
항균시험 : 대장균	BLANK	3.8×10^4	7.3×10^5	-	(37.0 ± 0.2) °C
	일지아니 (10배희석액)	3.8×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 녹농균	BLANK	2.4×10^4	5.0×10^5	-	
	일지아니 (10배희석액)	2.4×10^4	< 10	99.9	
항균시험 : 폐렴균	BLANK	2.6×10^4	7.9×10^5	-	
	일지아니 (10배희석액)	2.6×10^4	< 10	99.9	

※ CFU : Colony Forming Unit

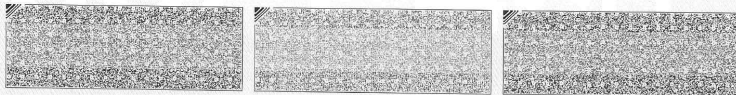
※ 검증균 세균농도(CFU/mL) : 대장균 : 3.8×10^6 , 녹농균 : 2.4×10^6 , 폐렴균 : 2.6×10^6

※ 사용균주 : *Escherichia coli* ATCC 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442
Klebsiella pneumoniae ATCC 4352

※ 시료 : 액상원액

총 5페이지 중 2페이지

양식QP-20-01-06(5)



시험성적서

성적서번호 : CT18-107634



<사진 1. 대장균 - BLANK (24 h)>



<사진 2. 대장균 - 일지아니(10배희석액) (24 h)>

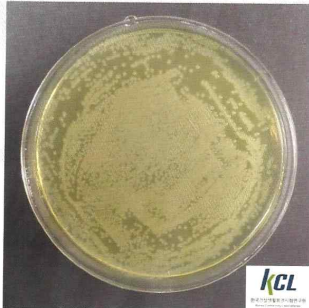
총 5페이지 중 3페이지

양식QP-20-01-06(5)



시험성적서

성적서번호 : CT18-107634



<사진 3. 녹농균 - BLANK (24 h)>



<사진 4. 녹농균 - 일지아니(10배희석액) (24 h)>

총 5페이지 중 4페이지

양식QP-20-01-06(5)



시험성적서

성적서번호 : CT18-107634



<사진 5. 폐렴균 - BLANK (24 h)>

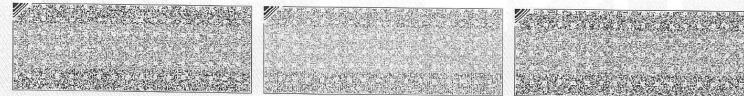


<사진 6. 폐렴균 - 일지아니(10배희석액) (24 h)>

----- 이 하 여 백 -----

총 5페이지 중 5페이지

양식QP-20-01-06(5)





시험성적서

- 성적서번호 : CT18-107633
- 의뢰자
 - 업체명 : (주)과농
 - 주소 : 경기도 포천시 자작로 155 경기대진테크노파크 303호
- 시험기간 : 2018년 10월 11일 ~ 2018년 11월 19일
- 시험성적서의 용도 : 품질관리
- 시료명 : 얼지아니(4배희석액)
- 시험방법
 - (1) KCL-FIR-1002:2018

확인	작성자명	이정민	이재민	기술책임자명	배상복	<i>Sangbok</i>
비교 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명에 한정된 결과로서 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않습니다. 2. 이 성적서는 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다. 3. 이 성적서의 진위여부는 홈페이지(www.kcl.re.kr)에서 확인 가능합니다.						

2018년 11월 19일

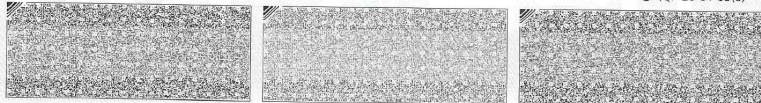
한국건설생활환경시험연구원



군포시험실 : 15845 경기도 군포시 공단로 149 1' VALLEY군포 805호 (031)389-9100
 결과문의 : 그린소재평가센터 ☎ (031)389-9186

총 5페이지 중 1페이지

양식QP-20-01-05(6)



성적서번호 : CT18-107633

시험성적서

7. 시험결과

시험 항목	시험방법	시험 결과			시험환경
		초기농도 (CFU/mL)	24시간 후 농도 (CFU/mL)	세균감소율 (%)	
평균시험 : 대장균	BLANK	3.8×10^4	7.3×10^5	-	(37.0 ± 0.2) °C
	얼지아니 (4배희석액)	3.8×10^4	< 10	99.9	
평균시험 : 녹농균	BLANK	2.4×10^4	5.0×10^5	-	
	얼지아니 (4배희석액)	2.4×10^4	< 10	99.9	
평균시험 : 폐렴균	BLANK	2.6×10^4	7.9×10^5	-	
	얼지아니 (4배희석액)	2.6×10^4	< 10	99.9	

* CFU : Colony Forming Unit

* 점종균 세균농도(CFU/mL) : 대장균 : 3.8×10^6 , 녹농균 : 2.4×10^6 , 폐렴균 : 2.6×10^6

* 사용균주 : *Escherichia coli* ATCC 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442
Klebsiella pneumoniae ATCC 4352

* 시료 : 맥상원액

총 5페이지 중 2페이지

양식QP-20-01-06(5)



시험성적서

성적서번호 : CT18-107633



<사진 1. 대장균 - BLANK (24 h)>



<사진 2. 대장균 - 열지아니(4배희석액) (24 h)>

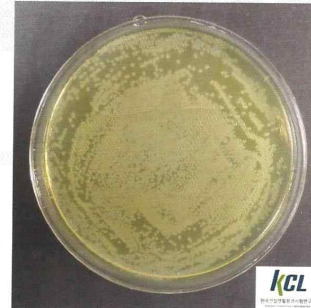
총 5페이지 중 3페이지

양식QP-20-01-06(5)



시험성적서

성적서번호 : CT18-107633



<사진 3. 녹농균 - BLANK (24 h)>



<사진 4. 녹농균 - 열지아니(4배희석액) (24 h)>

총 5페이지 중 4페이지

양식QP-20-01-06(5)

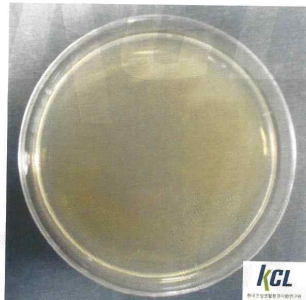


시험성적서

성적서번호 : CT18-107633



<사진 5. 페렴균 - BLANK (24 h)>



<사진 6. 페렴균 - 얼지아니(4배희석액) (24 h)>

----- 이 하 여 백 -----

총 5페이지 중 5페이지

양식QP-20-01-06(5)



TEST REPORT

우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동)

TEL (031)853-8072 FAX (031)853-8075

성적서번호 : TAK-2018-157778

접 수 일 자 : 2018년 10월 17일

대 표 자 : 채원석

시험완료일자 : 2018년 11월 06일

업 체 명 : 농업회사법인 (주)과농

주 소 : 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대진테크노파크 303호)

시 료 명 : 부동소독액(얼지아니) 농도별 6종

시험 결과

시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
어는점	℃	20 %	-11.4	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	40 %	-20.6	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	55 %	-38.2	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	75 %	-42.5	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	80 %	-42.8	KS M 1071-1 : 2017
어는점	℃	100 %	Chart 참조(**)	KS M 1071-1 : 2017

* 측정장비 : DSC(Differential Scanning Calorimeter)

** 시료의 측정구간(제공된 데이터 참조)에서 발열반응 피크가 확인되지 않음

- 용 도 : 품질관리용

- 비 고 : 1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로써 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않으며, 성적서의 진위확인용 홈페이지(www.ktr.or.kr) 또는 QR code로 확인 가능합니다.
 2. 이 성적서는 홍보, 선전, 광고 및 소송용 등으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.
 3. 이 성적서는 원본(재발행 포함)만 유효하며, 사본 및 전자 인쇄본/파일본은 결과지 참고용입니다.

Park Jae-hyun

작성자 : 박재현

Tel : 02-2092-3700

You Book

기술책임자 : 유석

Tel : 1577-0091(ARS ①-④)

2018년 11월 06일

KTR 한국화학융합시험연구원



위변조 확인용 QR code

Page : 1 of 1

검사 성적서

자가검사번호 : F-B01B-H00360001-A180

1 / 4

1. 의뢰자

접수번호 CHA-2018-002935	접수일 2018년 10월 30일	용도 신규
기업명 농업회사법인 (주)과농	사업자등록번호 127-86-25275	성명(대표자) 채원석
전화번호 031-539-1844	팩스번호 031-532-7714	전자메일 sciagro@naver.com
주소 경기도 포천시 자작로 155, 3층(자작동, 경기대진테크노파크 303호)		

2. 검사대상품목

품명 살생물제품(소독제)	품목분류번호(HS) -	모델명 얼지아니
생산업체명 농업회사법인 (주)과농	생산국명 대한민국	수입회사명(수입품에 한함) -
중량/용량/매수 1.000 mL	안전 · 표시기준상의 모델 구분 기타(신발, 장화바닥 소독용), 액체형	

3. 검사기간: 2018년 10월 30일 ~ 2018년 11월 13일

4. 검사방법: 위해우려제품 지정 및 안전 · 표시기준(환경부 고시 제2018-12호(2018.01.22.))

5. 환경조건: 온도: (22 ± 3) °C, 습도 (50 ± 20) % R.H.

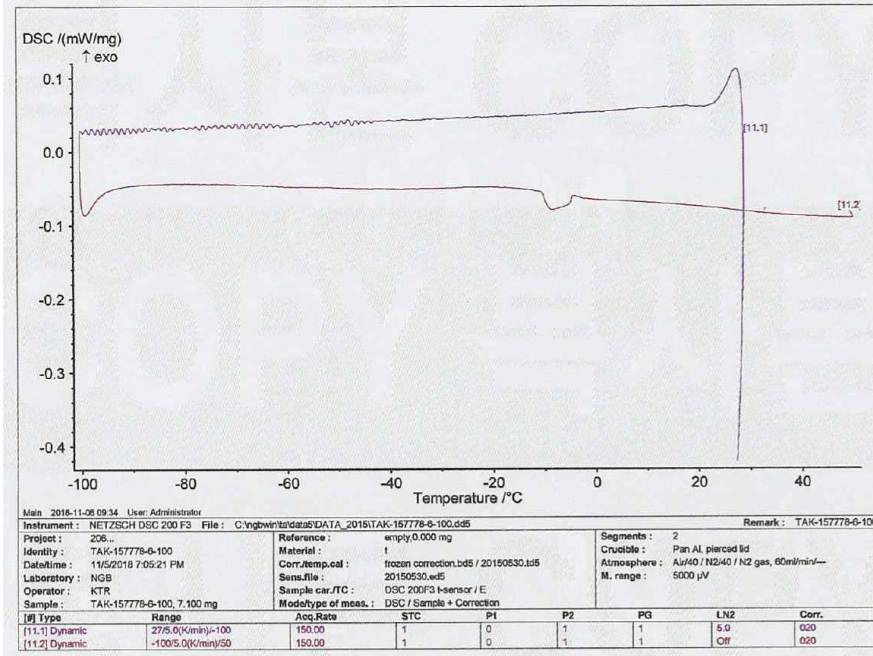
6. 검사결과: 합격(용기강도 시험:합격)

7. 유효기간: 2018년 11월 13일 ~ 2021년 11월 12일(최초발급일: 2018년 11월 13일)

8. 시료사진: 불임 참조

확인	작성자 성명 : 안유진 <i>An Yujin</i>	기술책임자 성명 : 박정우 <i>Park Jungwoo</i>
----	---------------------------------	---------------------------------------

- 비고
1. 이 성적서는 의뢰자가 제시한 시료에 한하여 「위해우려제품 지정 및 안전 · 표시기준」에서 지정한 시험법에 따라 검사된 결과입니다.
 2. 이 성적서는 전체 제품에 대한 품질 및 성능을 보증하지 않습니다.
 3. 이 성적서는 위해우려제품 안전기준 준수 여부 확인을 위한 용도 이외의 사용을 금합니다.



2018년 11월 13일

KTR 한국화학융합시험연구원



위변조 확인용 QR code

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE

자가검사번호 : F-B01B-H00360001-A180

2 / 4

붙임1. 검사결과(1)

1.1 유해성분의 기준

연번	검사항목	단위	판정기준	검사결과	합부판정
1	폼알데하이드	mg/kg	100 이하	불검출	합격
2	아세트알데하이드	mg/kg	90 이하	불검출	합격
3	클로로포름	mg/kg	30 이하	불검출	합격
4	벤젠	mg/kg	60 이하	불검출	합격

자가검사번호 : F-B01B-H00360001-A180

3 / 4

붙임1. 검사결과(2)

1.2 겉모양

#	검사기준	합부판정
	이물질의 혼입 및 기타 오염이 없어야 한다.	합격
	외관은 깨끗하여야 하며 날카로운 부위 등 위험부위가 없어야 한다.	합격
	구조는 안전상 결점이 없어야 하고, 내용물이 새지 않아야 한다.	합격
	(에어로졸 제품에만 해당) 고압가스 안전관리법에 따른 적합한 용기를 사용하여야 하며, 분사 후 흐름현상이 없어야 한다.	해당없음
	접착제는 용기로부터 용출되지 아니하여야 한다.	해당없음
	습기제거제는 용기, 가드 및 겉봉지에 흠, 파손이 없고, 흡습제 등 내용물의 누설이 없어야 한다.	해당없음

1.3 용기 강도 및 누수

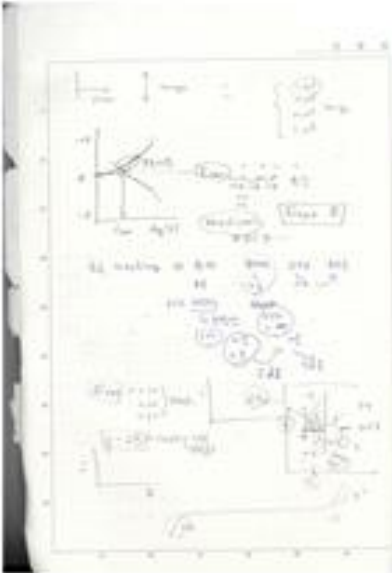
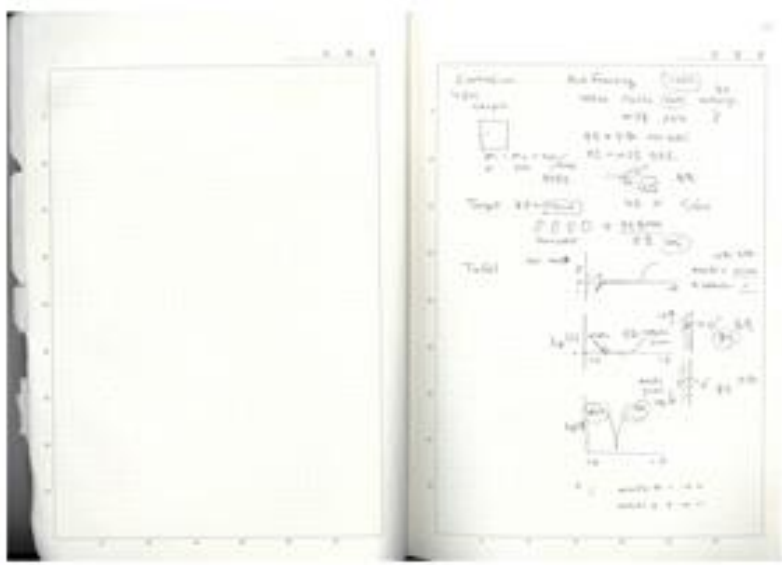
#	검사기준	합부판정
	「위해우려제품 지정 및 안전·표시기준」에 따른 용기 강도시험을 했을 때 이상이 없어야 한다.	합격
	「위해우려제품 지정 및 안전·표시기준」에 따른 용기 누수시험을 했을 때 이상이 없어야 한다.	합격

1.4 총량/용량/매수

#	검사기준	표시사항	검사결과	합부판정
	「정량표시상품의 정량 검사기준」에 따른 시험을 했을 때 이상이 없어야 한다.	1 000 mL	992 mL	합격

붙임2. 시료사진
겉모양 및 표시사항





Handwritten notes on a page with a grid border. The text is mostly illegible but appears to be a list or set of instructions.

Handwritten notes on a page with a grid border. The text is mostly illegible but appears to be a list or set of instructions.

Handwritten notes on a page with a grid border. The text is mostly illegible but appears to be a list or set of instructions.

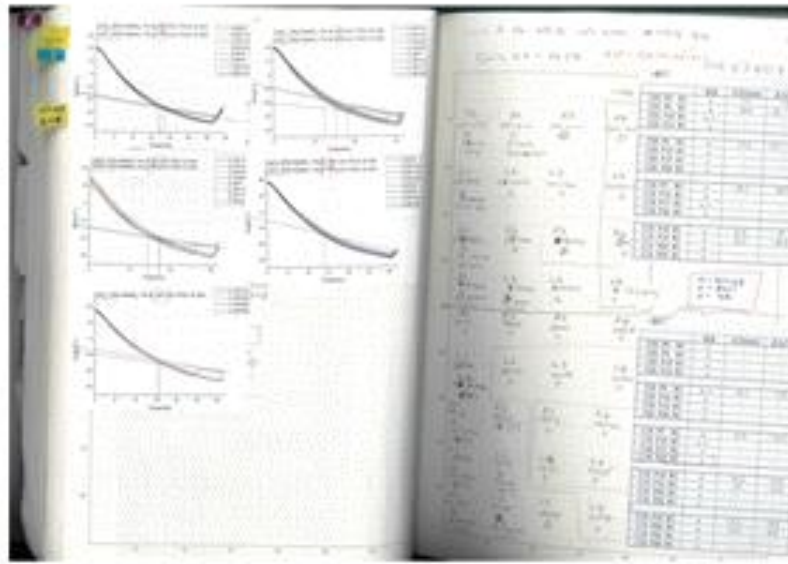
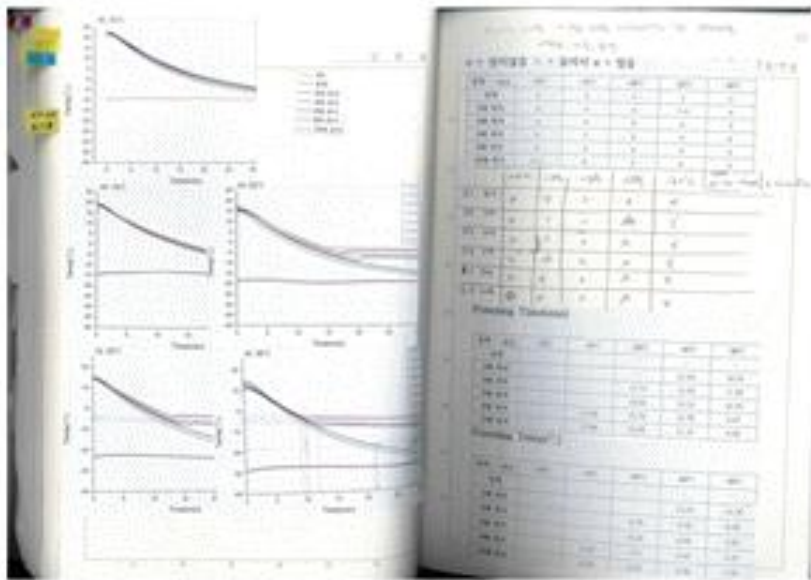


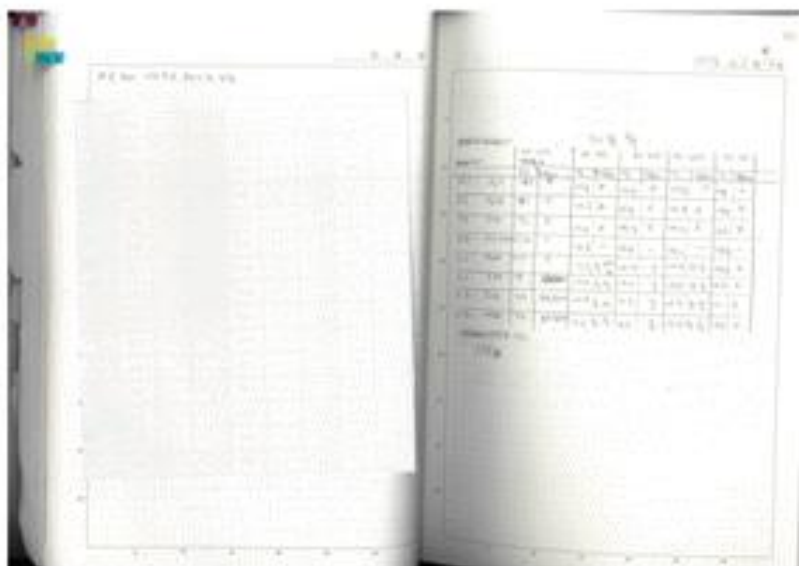
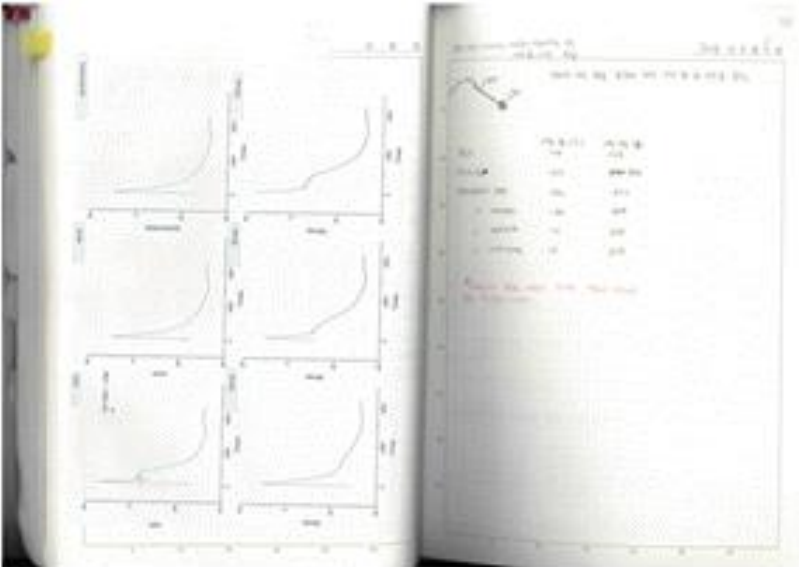
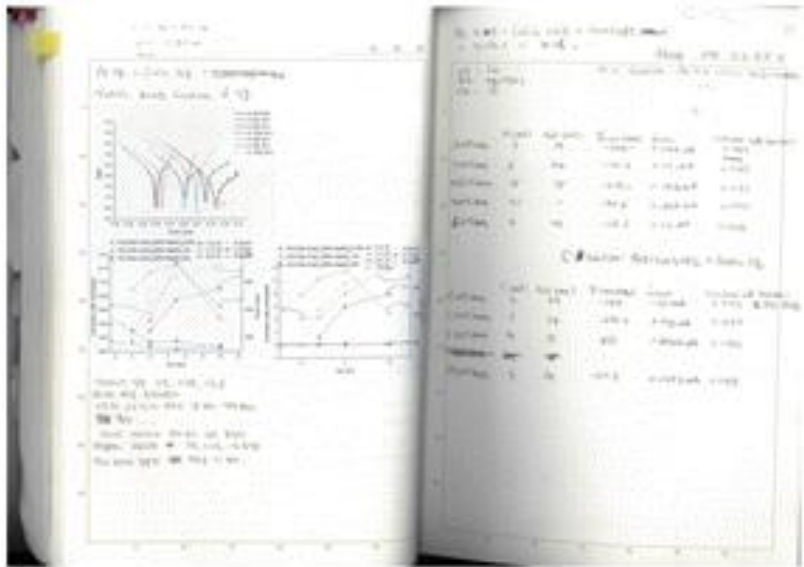
Handwritten notes on a grid background. The left page features a diagram of a rectangular structure with internal lines and labels. The right page contains several paragraphs of text, some of which are enclosed in boxes. The handwriting is in a cursive style.

Handwritten notes on a grid background. The left page includes a diagram of a rectangular structure with internal lines and labels. The right page contains several paragraphs of text, some of which are enclosed in boxes. The handwriting is in a cursive style.

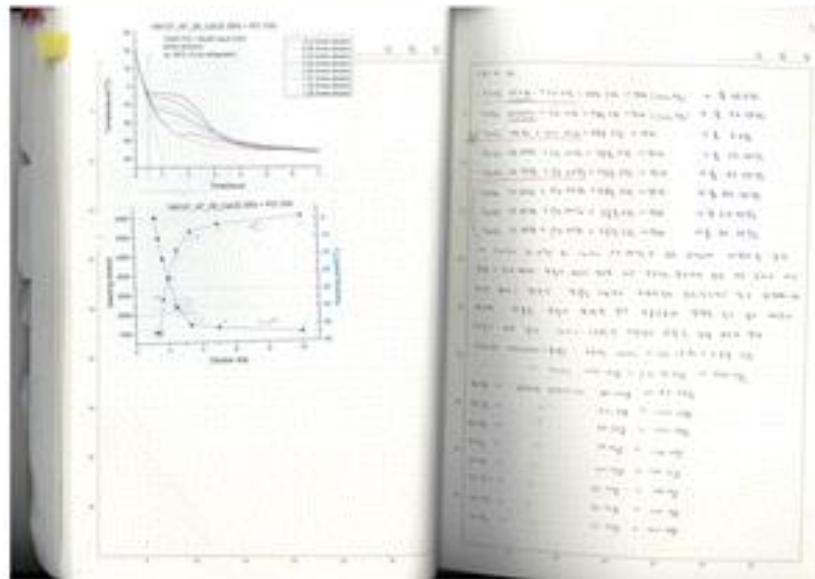
Handwritten notes on a grid background. The left page features a diagram of a rectangular structure with internal lines and labels. The right page contains several paragraphs of text, some of which are enclosed in boxes. The handwriting is in a cursive style.

Handwritten notes on a grid background. The left page includes a diagram of a rectangular structure with internal lines and labels. The right page contains several paragraphs of text, some of which are enclosed in boxes. The handwriting is in a cursive style.

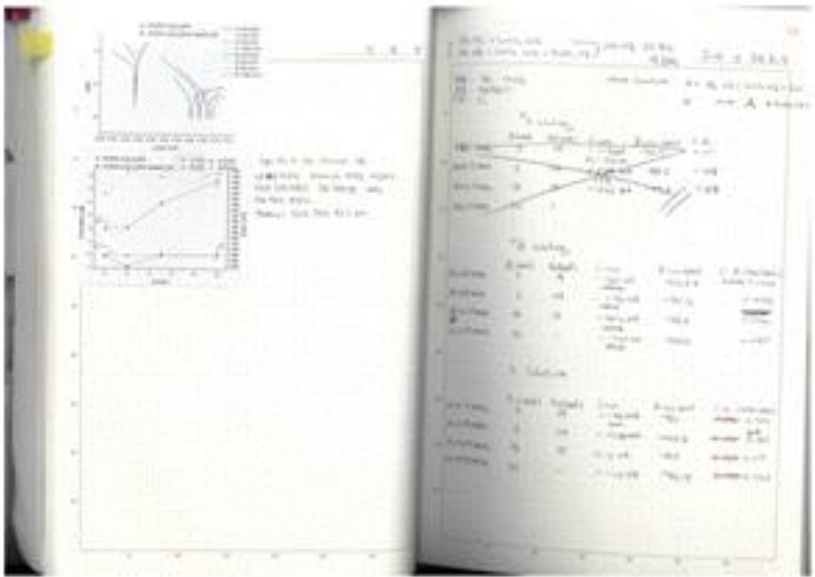


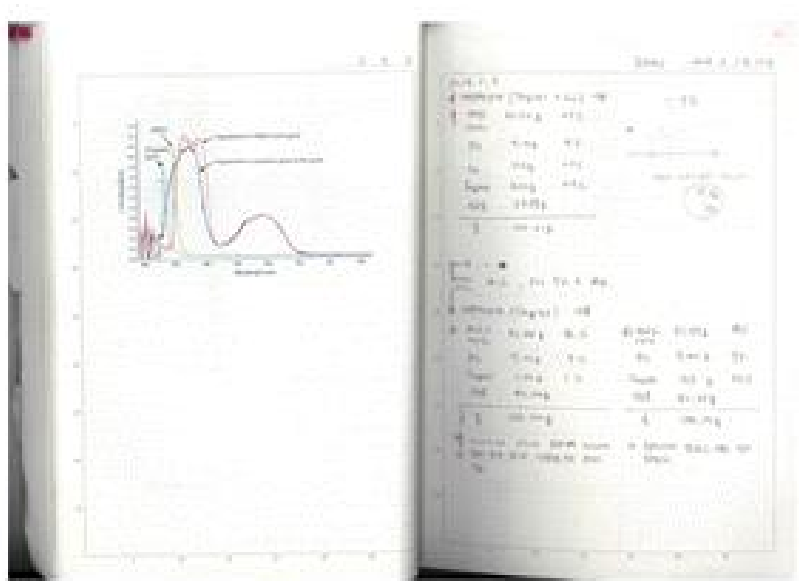
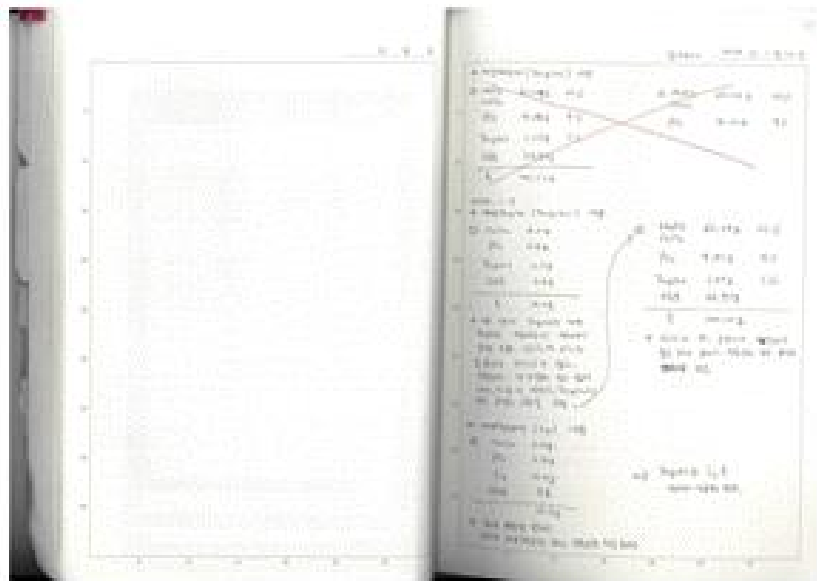
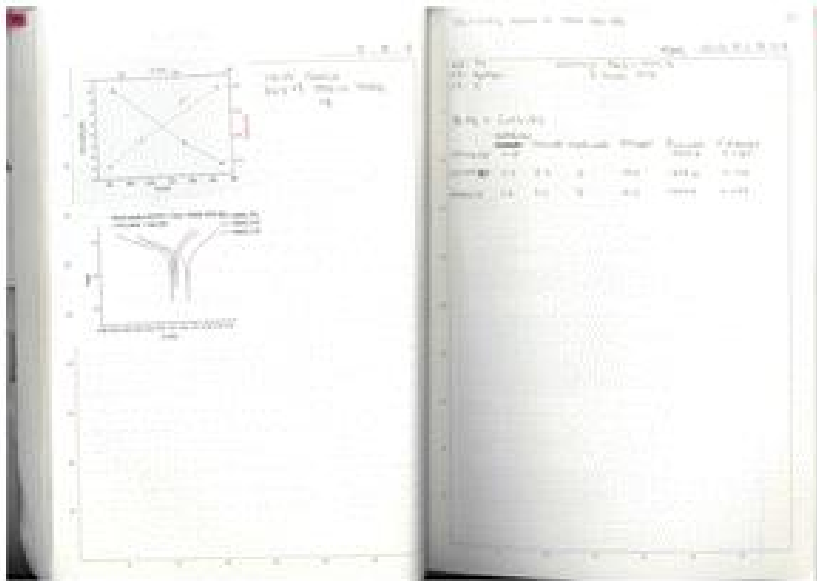


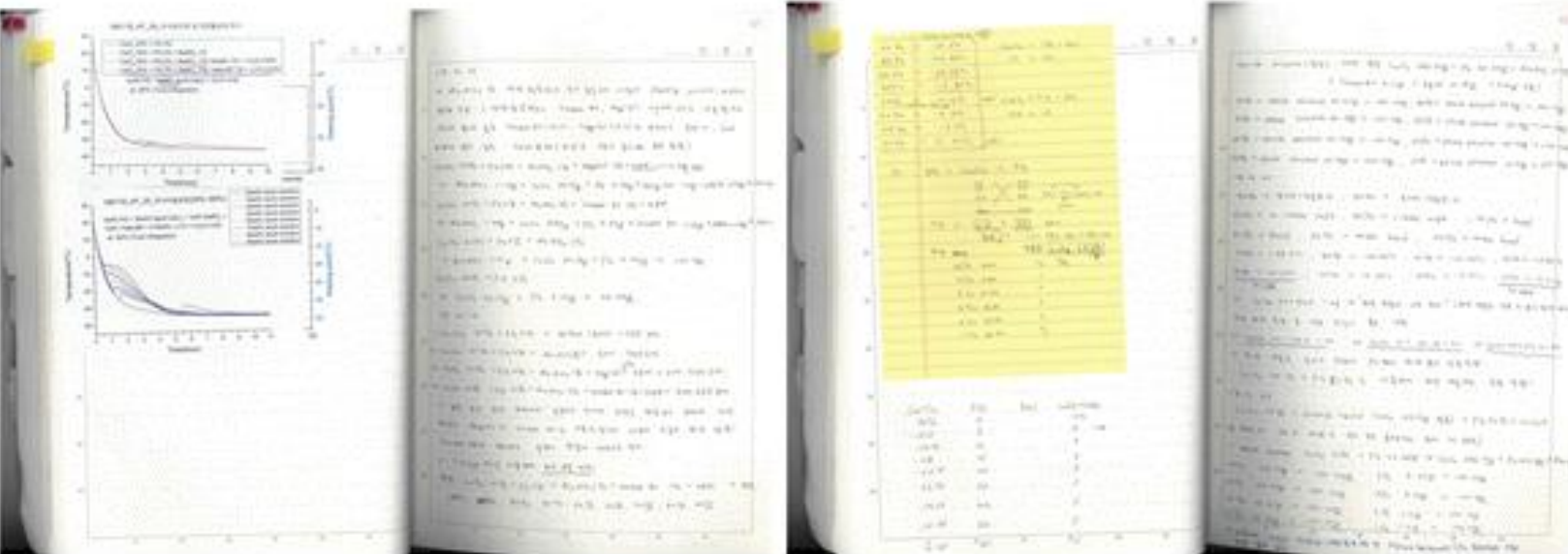
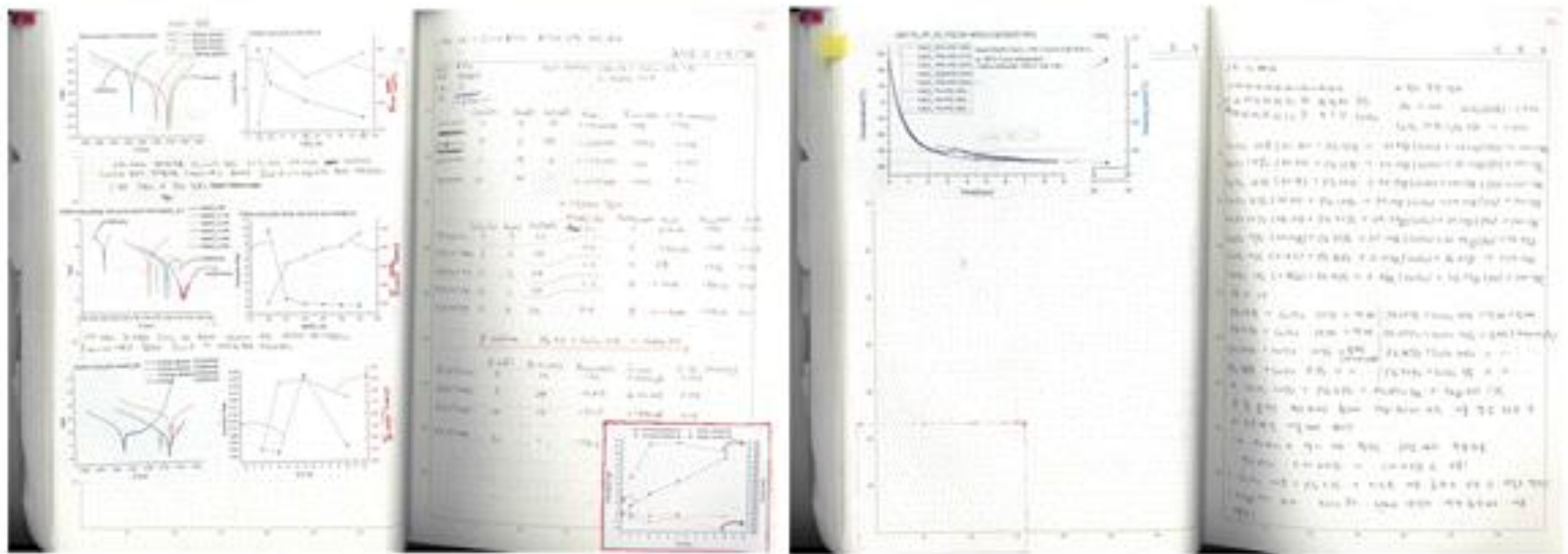
Handwritten text on the left page of the top notebook, including a title and several paragraphs of notes.

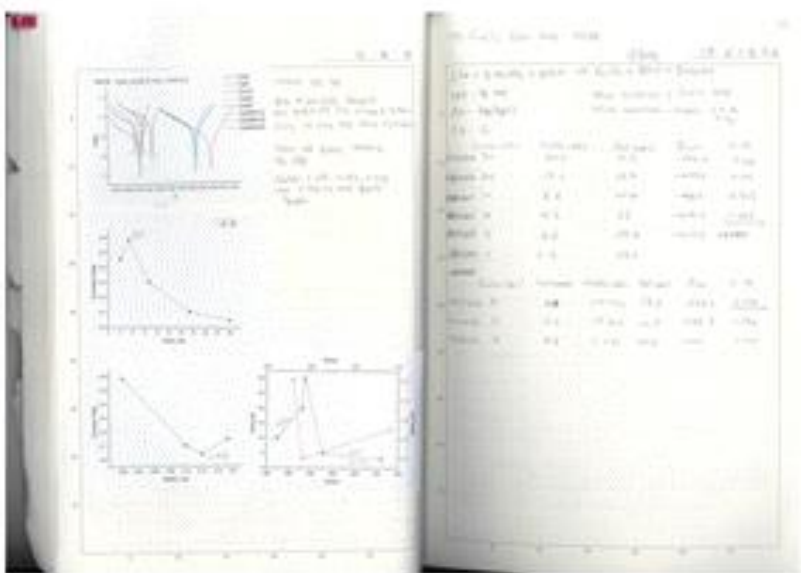
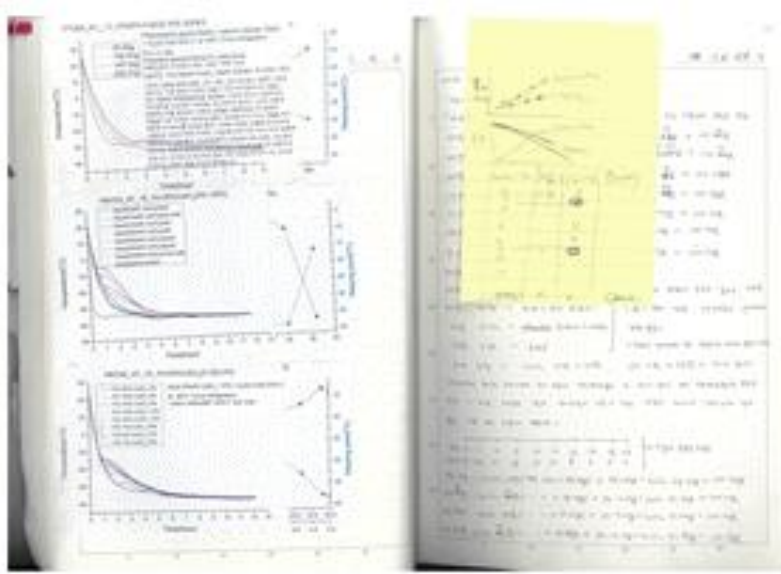


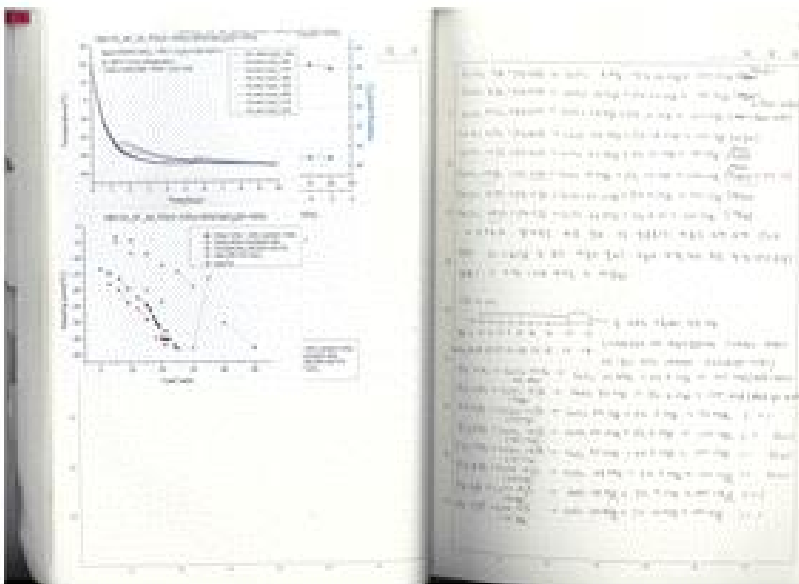
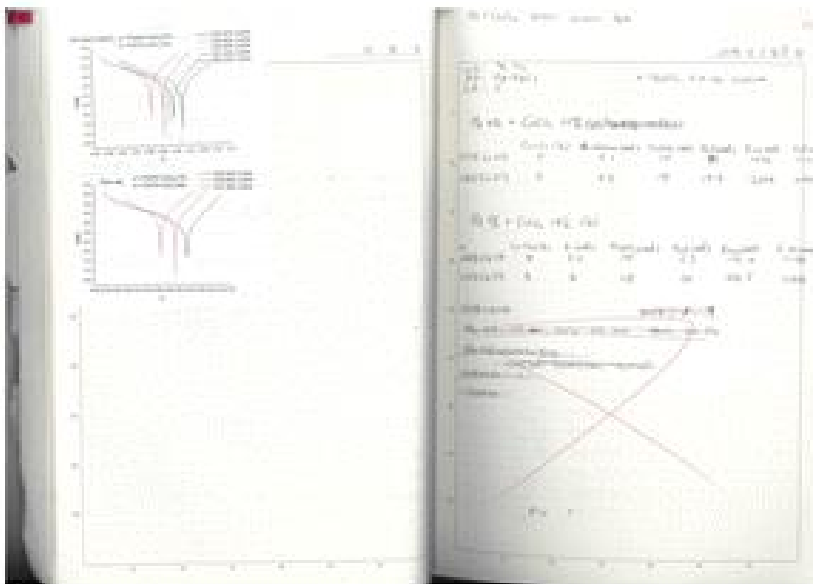
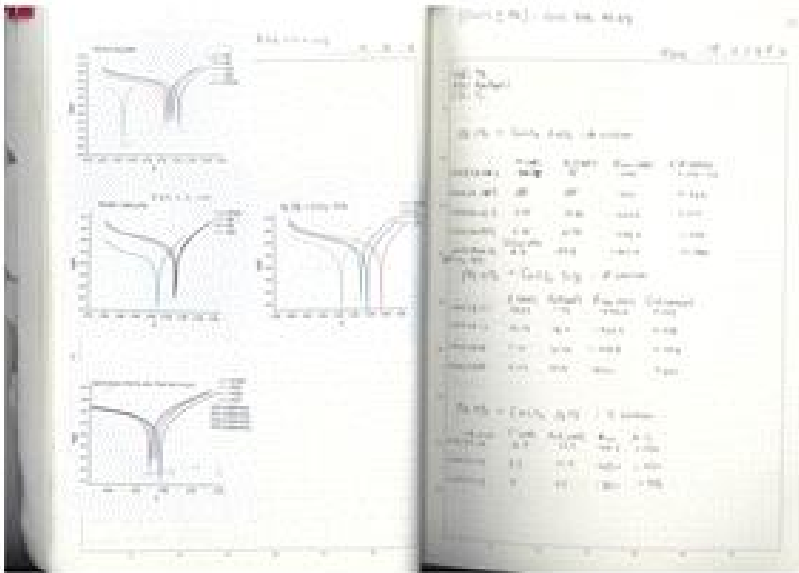
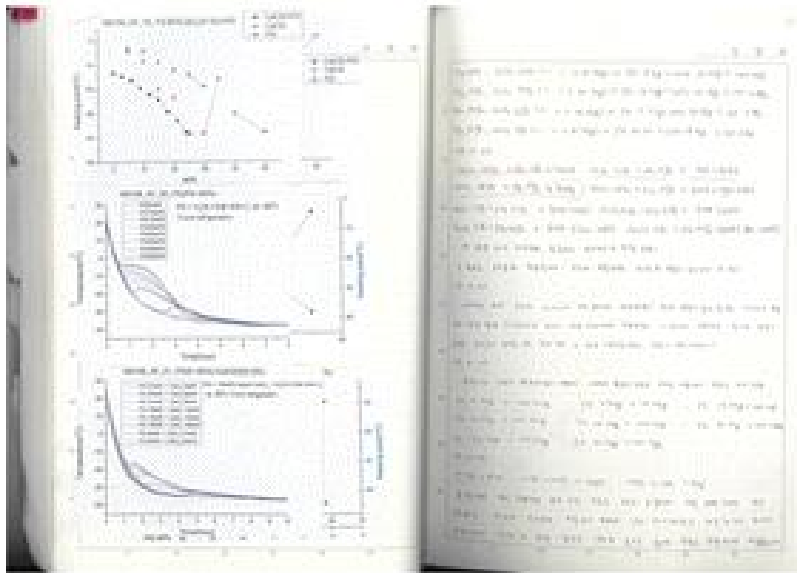
Handwritten text on the left page of the bottom notebook, including a title and several paragraphs of notes.

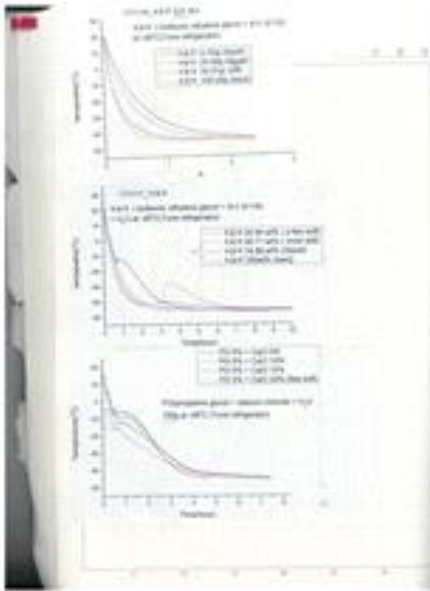




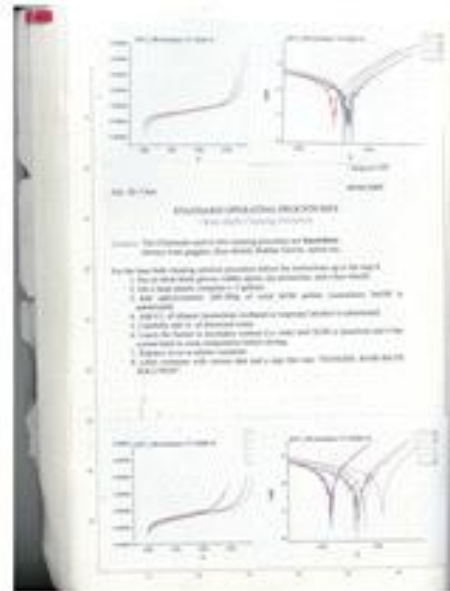






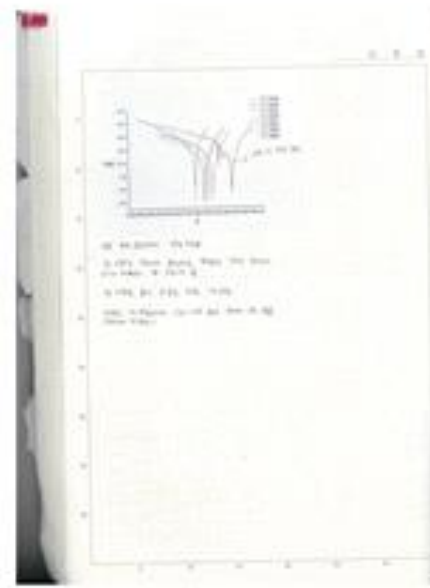


Handwritten notes and a small graph. The notes discuss the effect of temperature on the rate of reaction, mentioning that the rate increases with temperature. A small graph shows a curve that levels off over time.



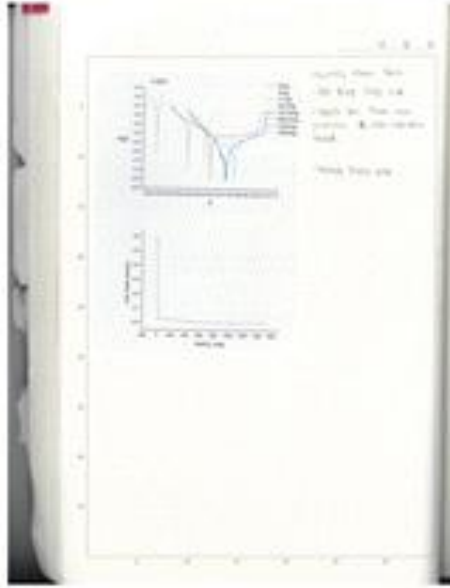
Handwritten notes and a table. The table has 5 columns and 10 rows, containing numerical data.

Temp (°C)	Time (s)	Rate	Conc	Other
20	10	0.1	1	
20	20	0.2	2	
20	30	0.3	3	
20	40	0.4	4	
20	50	0.5	5	
20	60	0.6	6	
20	70	0.7	7	
20	80	0.8	8	
20	90	0.9	9	
20	100	1.0	10	



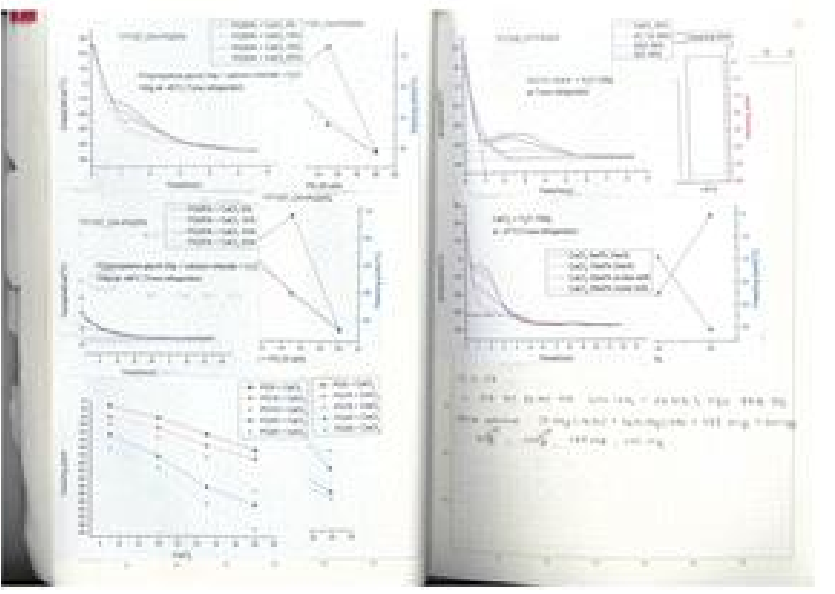
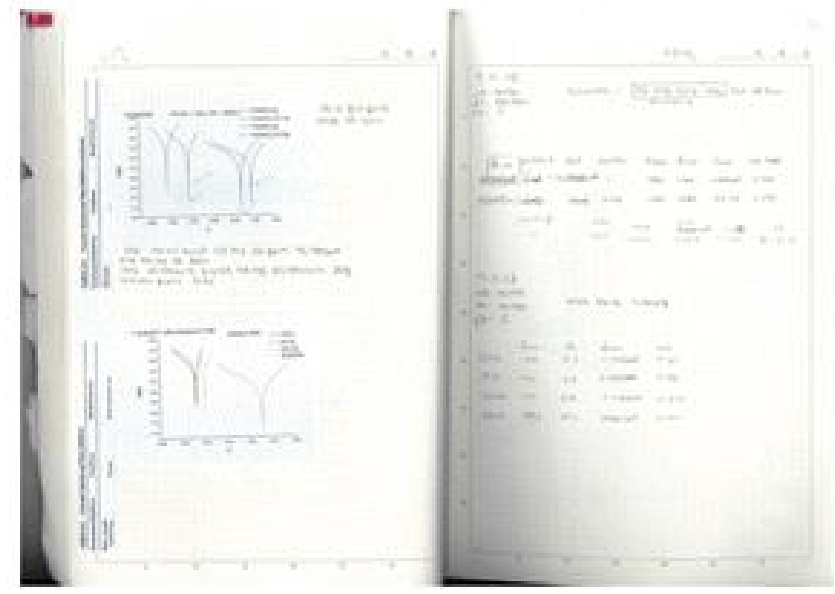
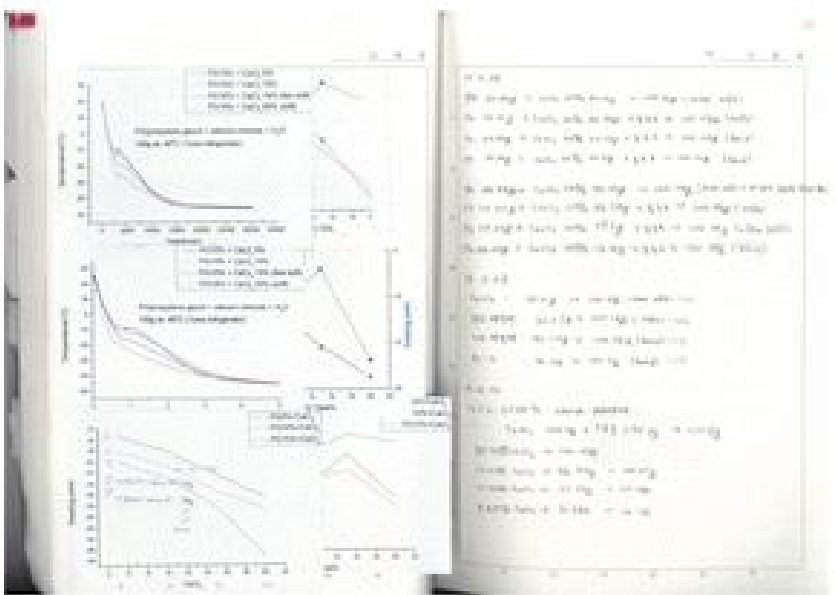
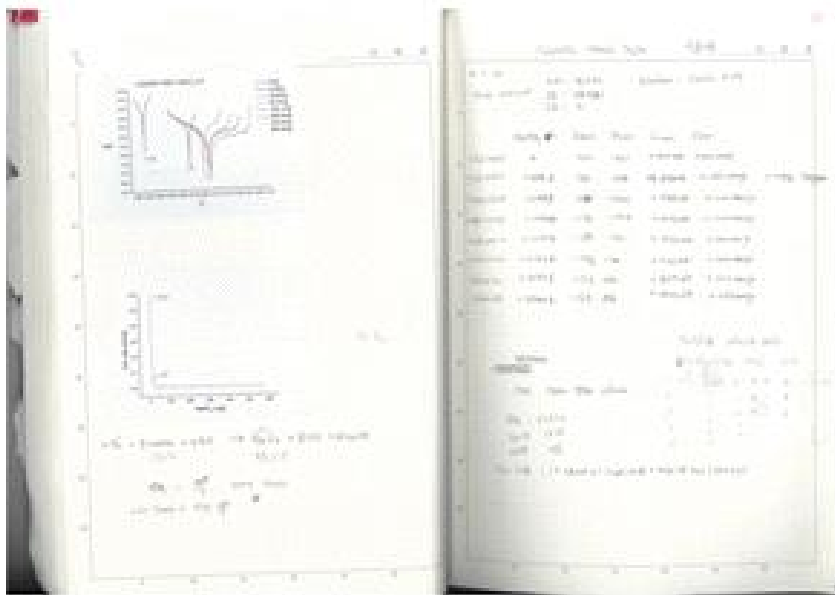
Handwritten notes and a table. The table has 5 columns and 10 rows, containing numerical data.

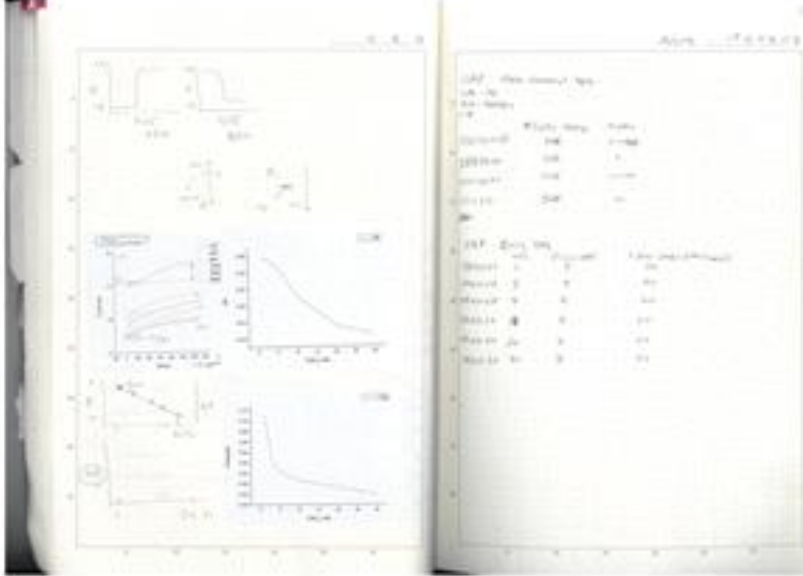
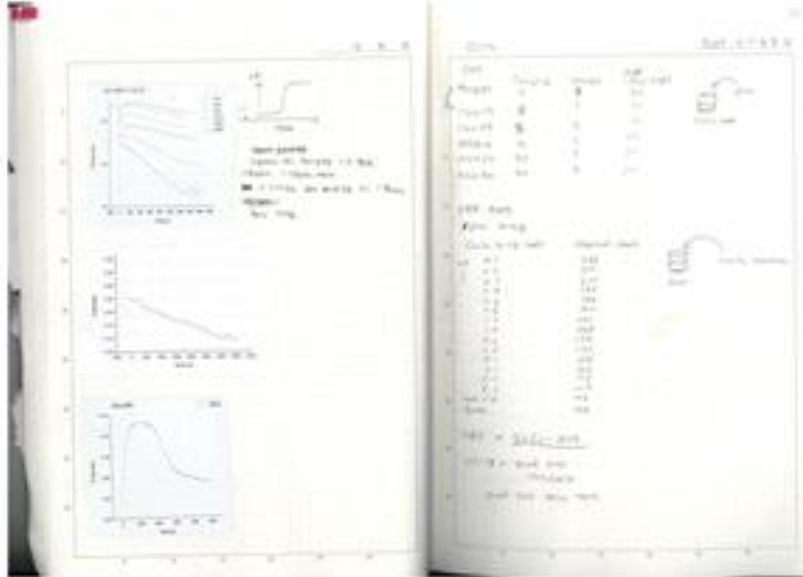
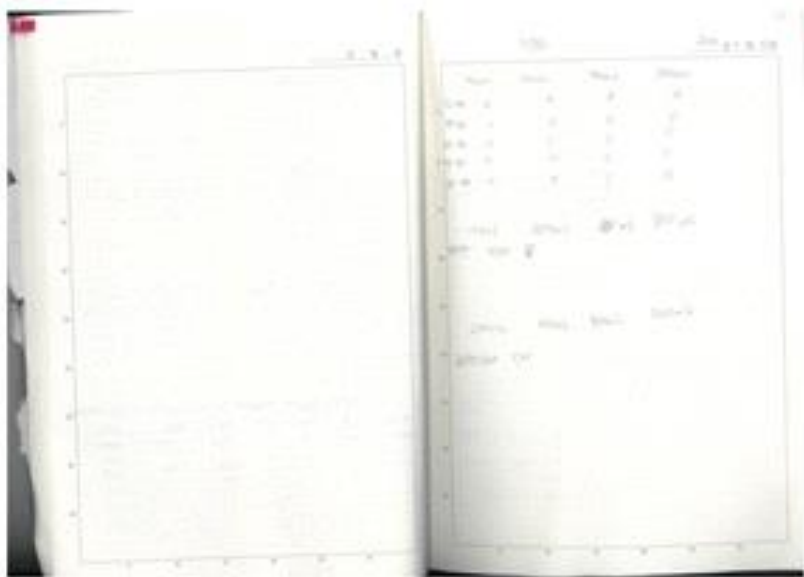
Temp (°C)	Time (s)	Rate	Conc	Other
20	10	0.1	1	
20	20	0.2	2	
20	30	0.3	3	
20	40	0.4	4	
20	50	0.5	5	
20	60	0.6	6	
20	70	0.7	7	
20	80	0.8	8	
20	90	0.9	9	
20	100	1.0	10	

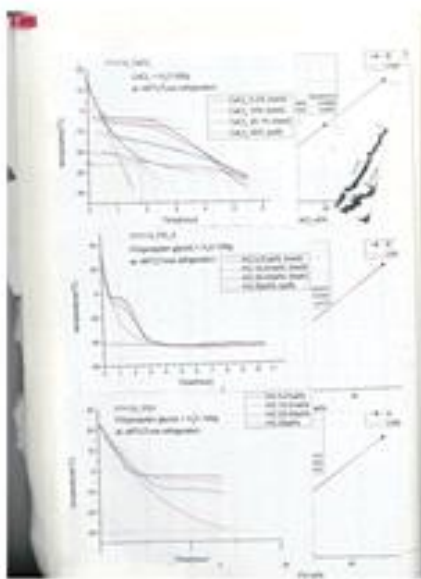


Handwritten notes and a table. The table has 5 columns and 10 rows, containing numerical data.

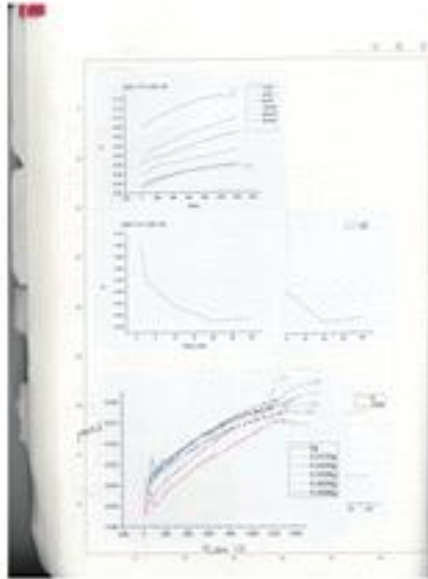
Temp (°C)	Time (s)	Rate	Conc	Other
20	10	0.1	1	
20	20	0.2	2	
20	30	0.3	3	
20	40	0.4	4	
20	50	0.5	5	
20	60	0.6	6	
20	70	0.7	7	
20	80	0.8	8	
20	90	0.9	9	
20	100	1.0	10	



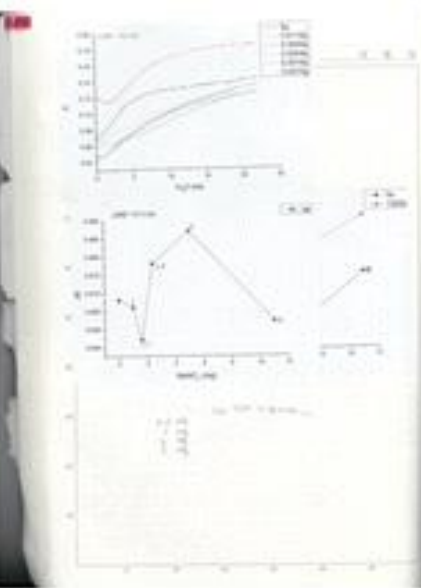




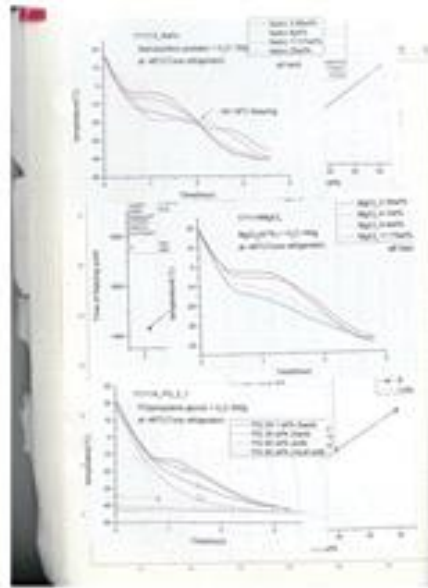
Handwritten notes and a table on the right page of the top-left notebook. The notes discuss the relationship between concentration and reaction rate, mentioning that rate is directly proportional to concentration. A table lists experimental data for different concentrations.



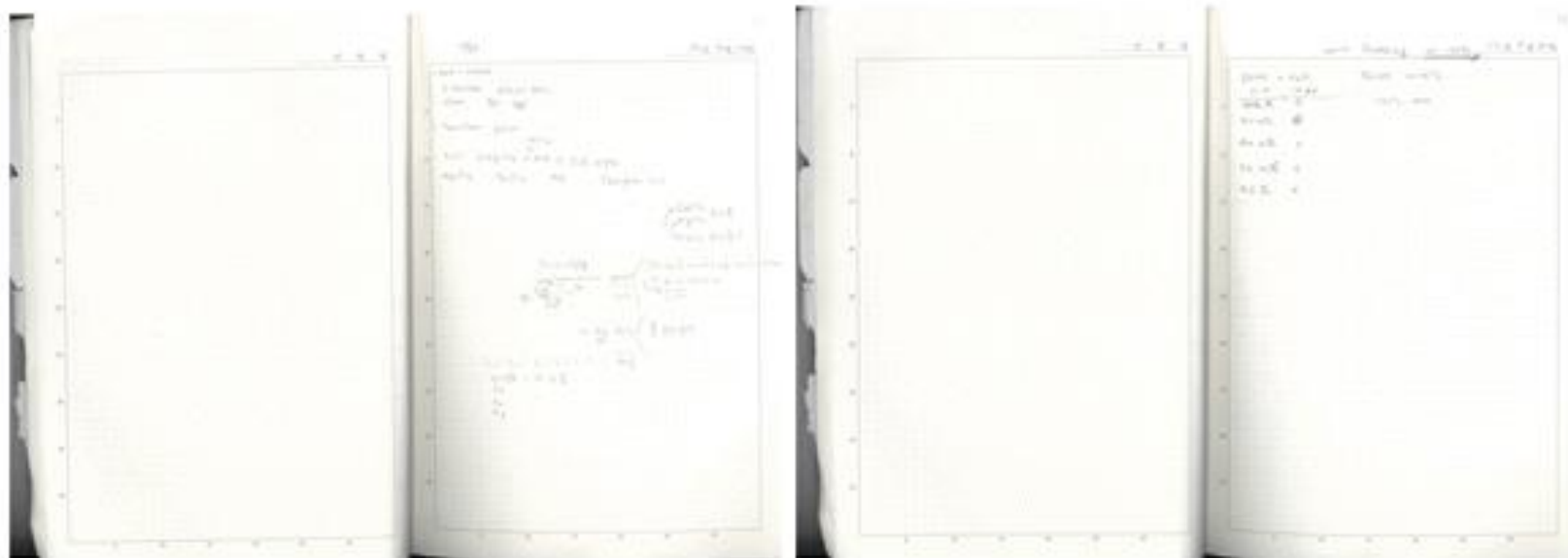
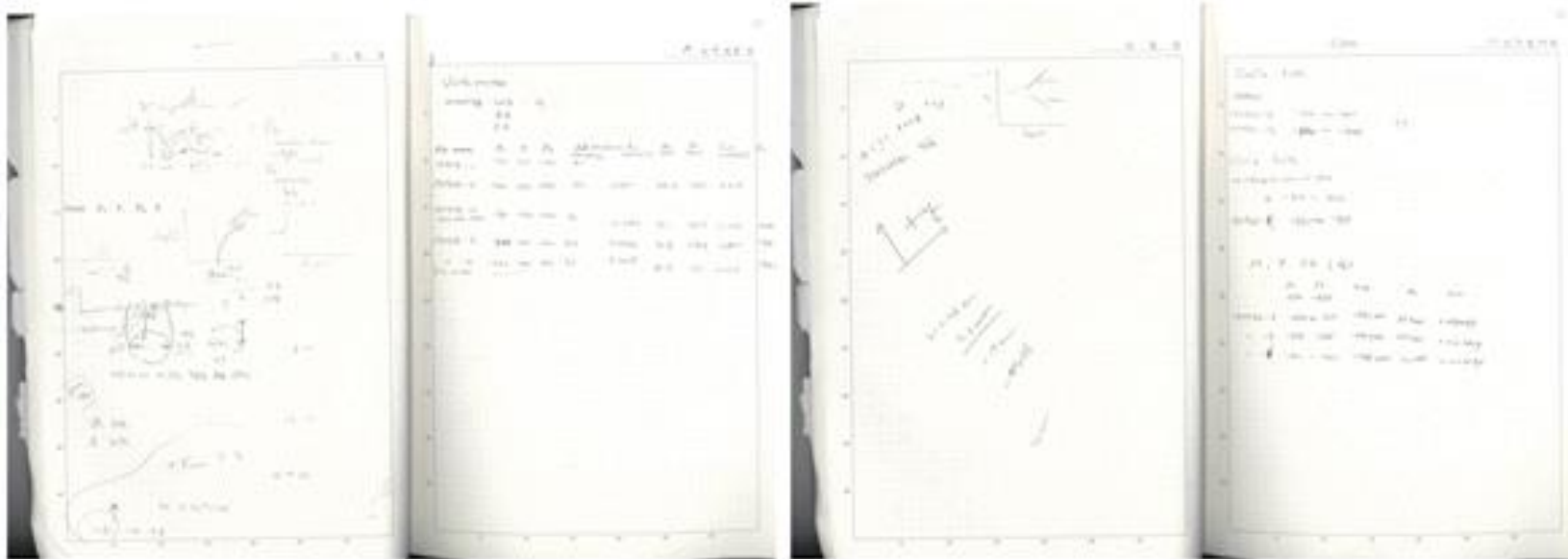
Handwritten notes and a table on the right page of the top-right notebook. The notes discuss the Arrhenius equation and the effect of temperature on the rate constant. A table lists experimental data for different temperatures.

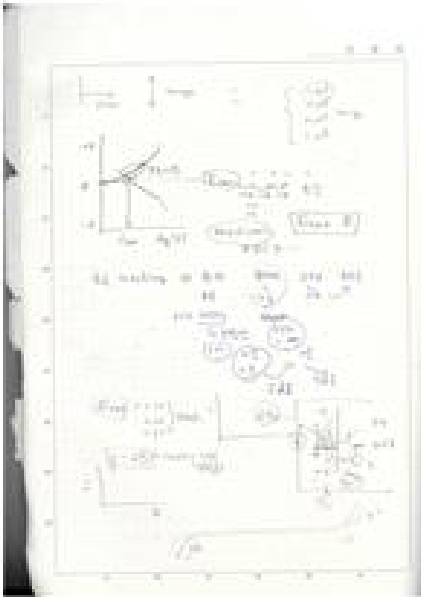
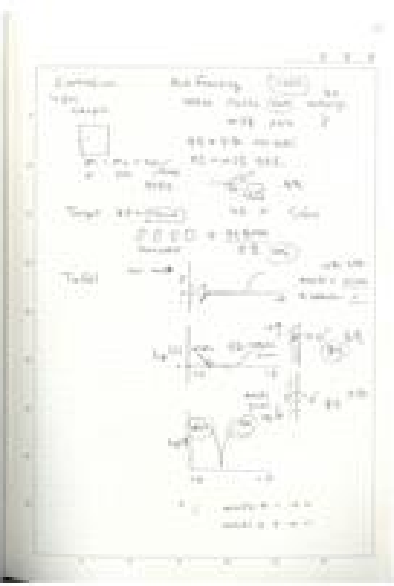


Handwritten notes and a table on the right page of the bottom-left notebook. The notes discuss the determination of reaction order using the method of initial rates. A table lists experimental data for different concentrations.



Handwritten notes and a table on the right page of the bottom-right notebook. The notes discuss the determination of reaction order using the method of initial rates. A table lists experimental data for different concentrations.





101

102




103

104



105

106

Waktu	Tempo	Kecepatan	Kelembaban	Kelembaban	Kelembaban
08.00	100	100	100	100	100
09.00	100	100	100	100	100
10.00	100	100	100	100	100
11.00	100	100	100	100	100
12.00	100	100	100	100	100

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

Waktu	Tempo	Kecepatan	Kelembaban
08.00	100	100	100
09.00	100	100	100
10.00	100	100	100
11.00	100	100	100
12.00	100	100	100

122

123

124

125

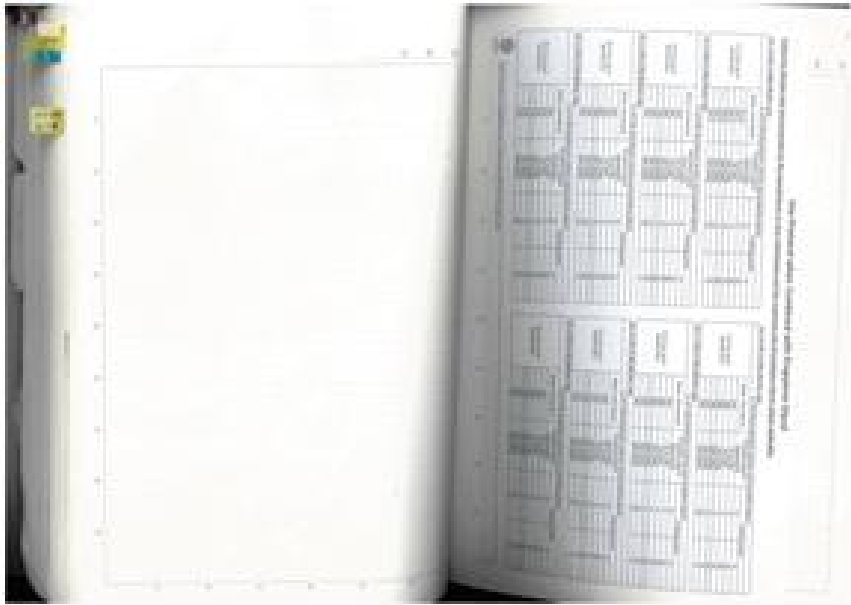
126

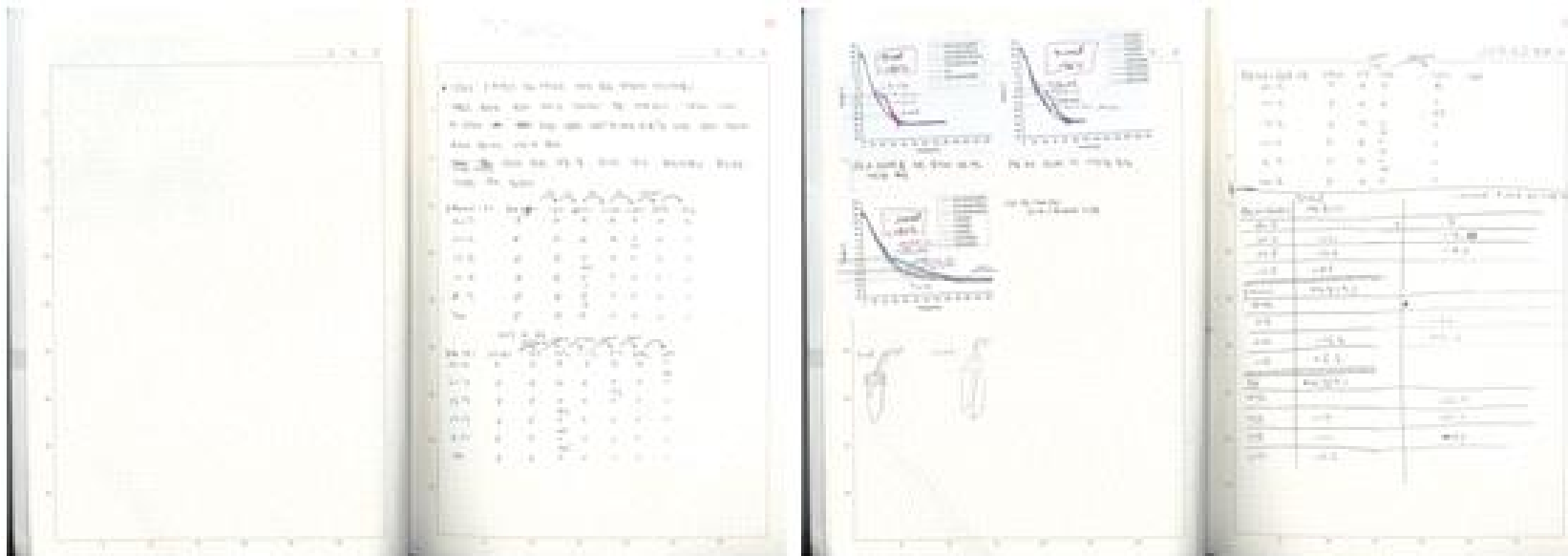
127

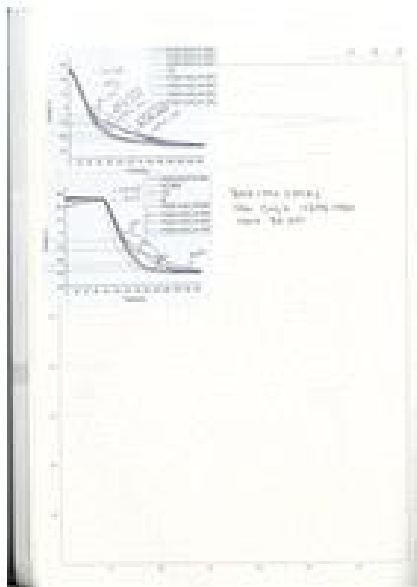
128

129

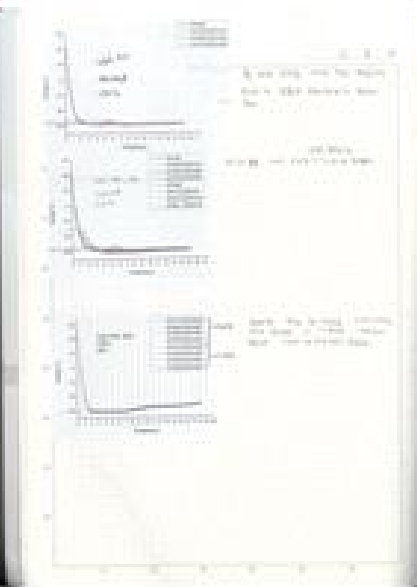
130



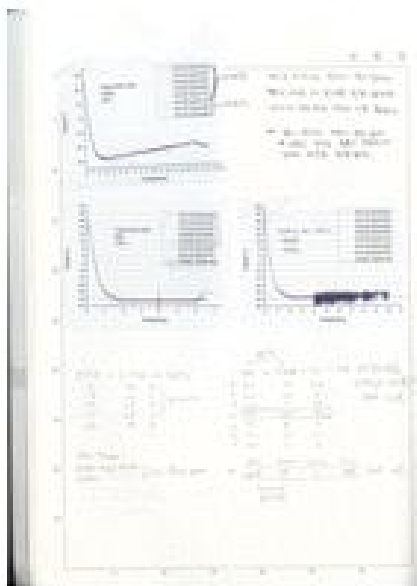




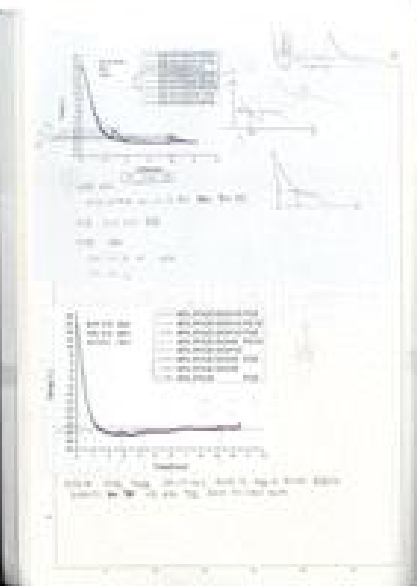
Time	Temperature	Pressure	Volume
0	0	0	0
10	10	10	10
20	20	20	20
30	30	30	30
40	40	40	40
50	50	50	50
60	60	60	60
70	70	70	70
80	80	80	80
90	90	90	90
100	100	100	100



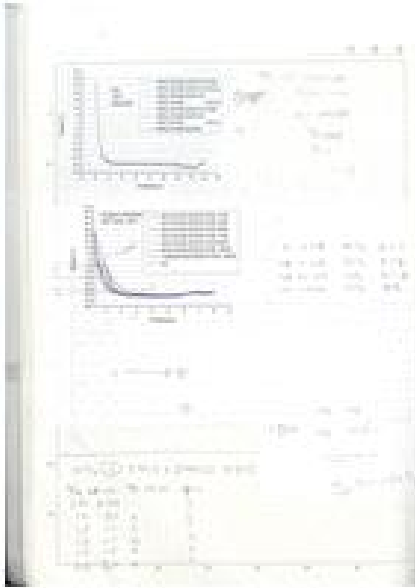
Time	Temperature	Pressure	Volume
0	0	0	0
10	10	10	10
20	20	20	20
30	30	30	30
40	40	40	40
50	50	50	50
60	60	60	60
70	70	70	70
80	80	80	80
90	90	90	90
100	100	100	100



Time	Temperature	Pressure	Volume
0	0	0	0
10	10	10	10
20	20	20	20
30	30	30	30
40	40	40	40
50	50	50	50
60	60	60	60
70	70	70	70
80	80	80	80
90	90	90	90
100	100	100	100



Time	Temperature	Pressure	Volume
0	0	0	0
10	10	10	10
20	20	20	20
30	30	30	30
40	40	40	40
50	50	50	50
60	60	60	60
70	70	70	70
80	80	80	80
90	90	90	90
100	100	100	100



Time	Temp	Pressure	Flow
0	20	100	0
10	25	110	10
20	30	120	20
30	35	130	30
40	40	140	40
50	45	150	50
60	50	160	60
70	55	170	70
80	60	180	80
90	65	190	90
100	70	200	100

Handwritten notes and diagrams to the right of the table, including a small sketch of a cylinder or pipe.



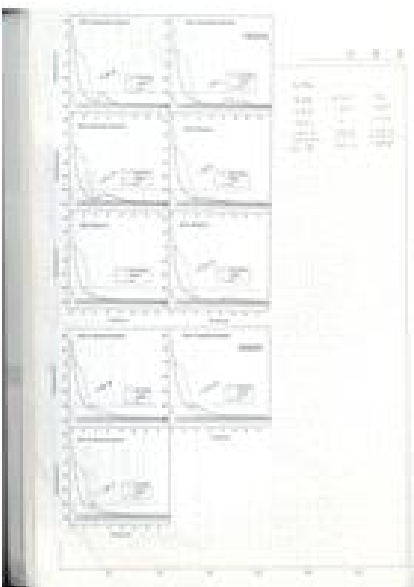
Time	Temp	Pressure	Flow
0	20	100	0
10	25	110	10
20	30	120	20
30	35	130	30
40	40	140	40
50	45	150	50
60	50	160	60
70	55	170	70
80	60	180	80
90	65	190	90
100	70	200	100

Handwritten notes and diagrams to the right of the table, including a small sketch of a cylinder or pipe.



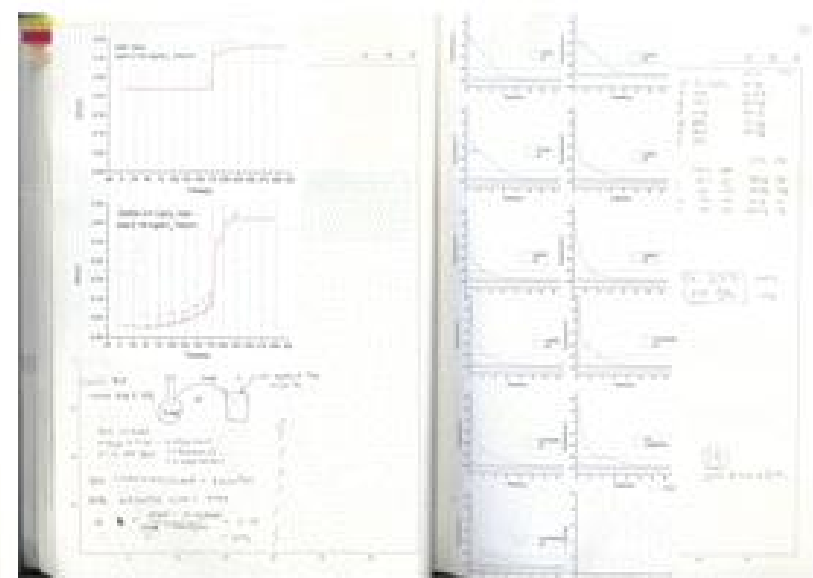
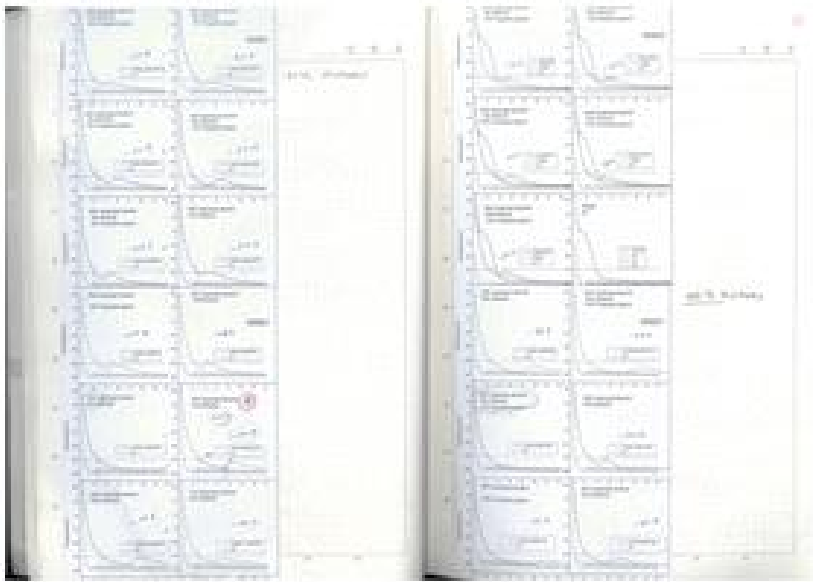
Time	Temp	Pressure	Flow
0	20	100	0
10	25	110	10
20	30	120	20
30	35	130	30
40	40	140	40
50	45	150	50
60	50	160	60
70	55	170	70
80	60	180	80
90	65	190	90
100	70	200	100

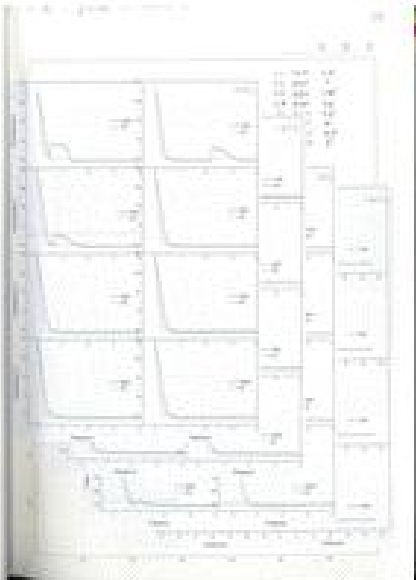
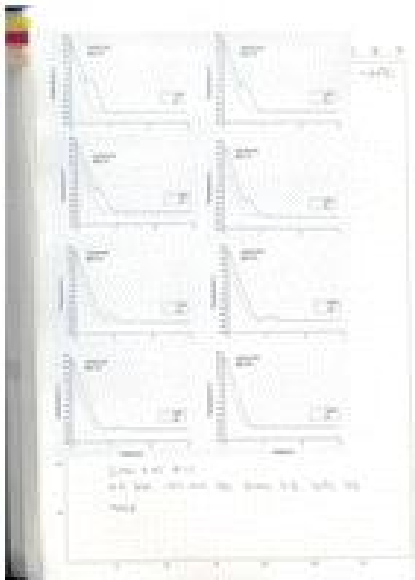
Handwritten notes and diagrams to the right of the table, including a small sketch of a cylinder or pipe.

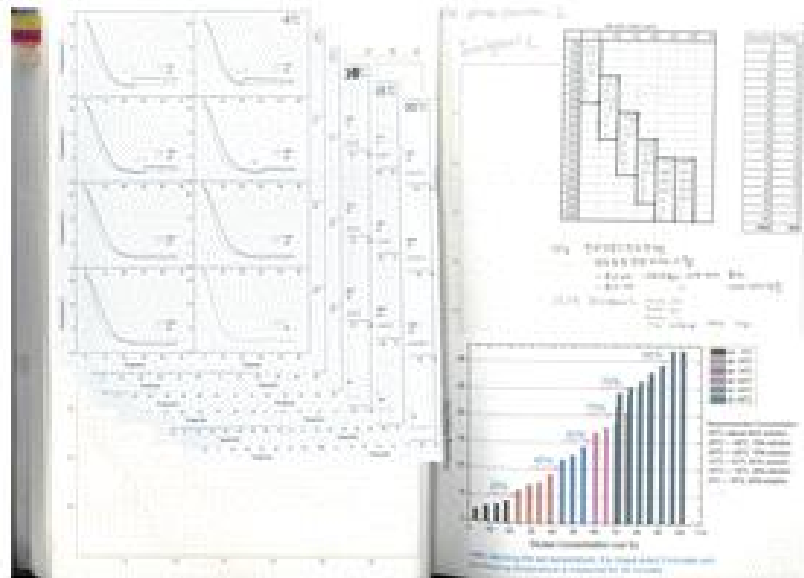
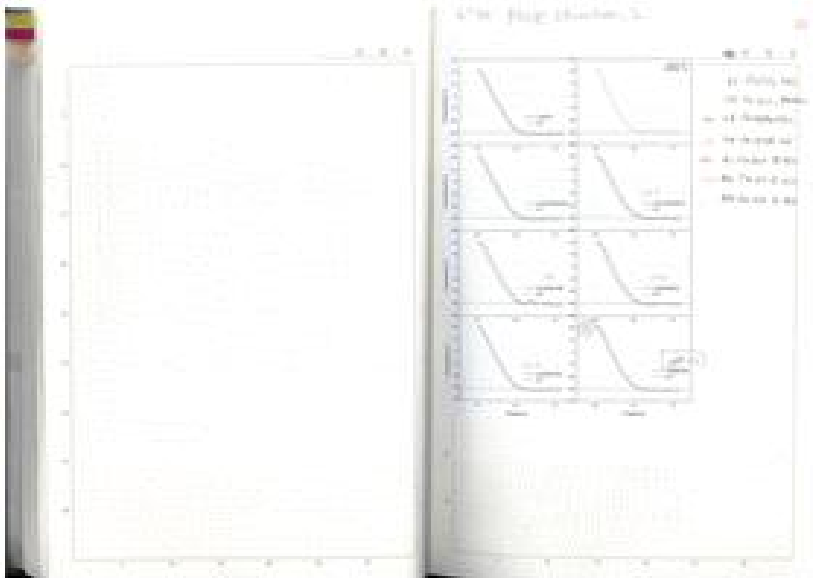
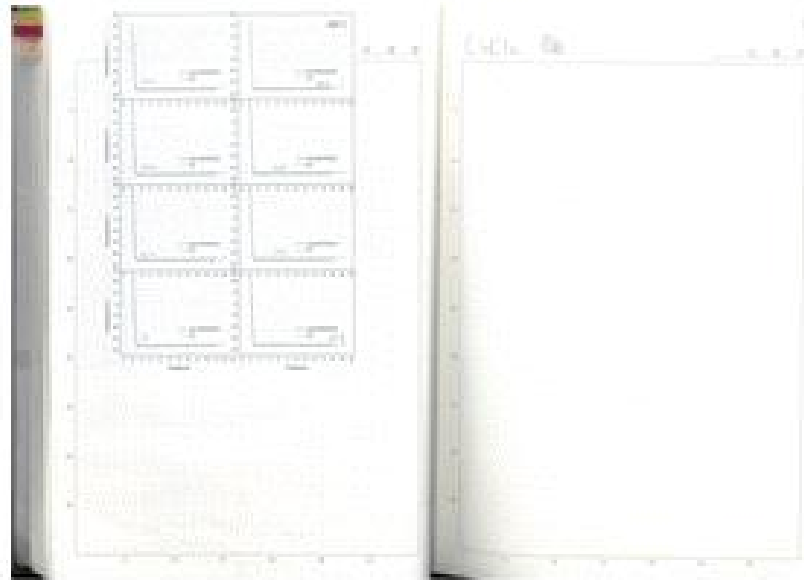
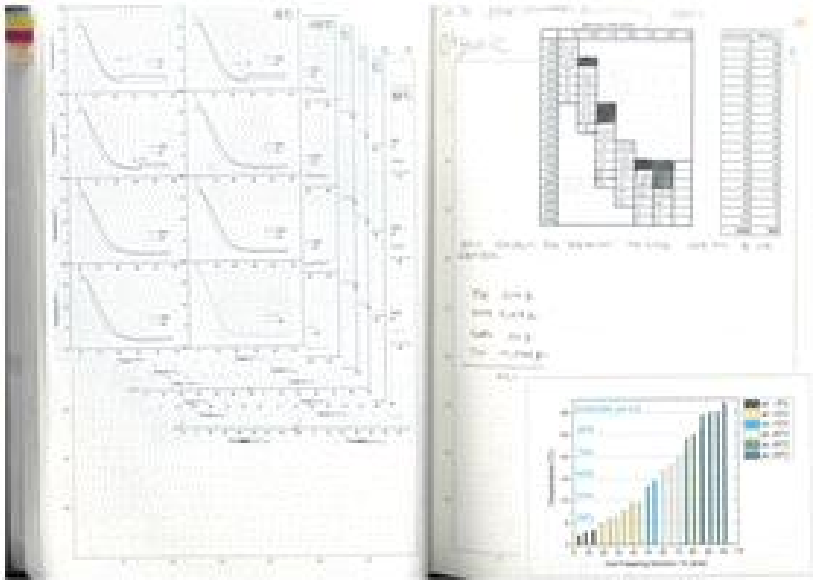


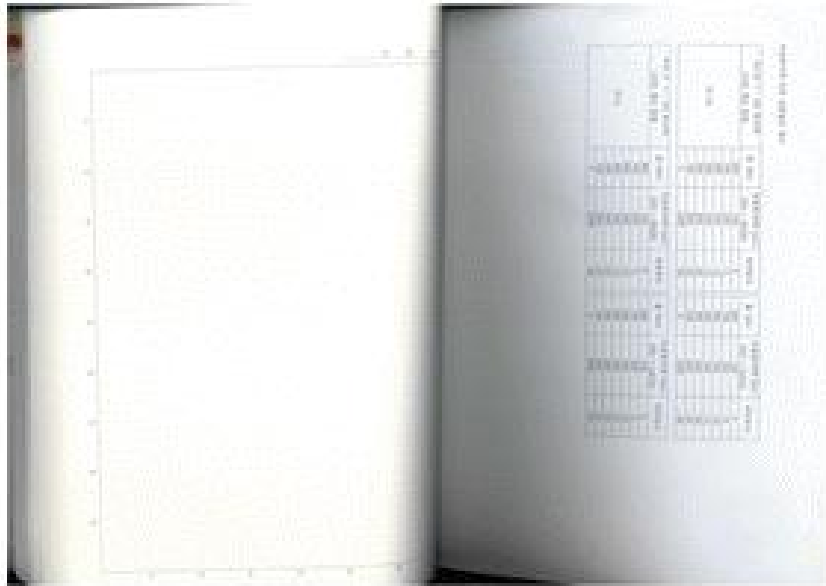
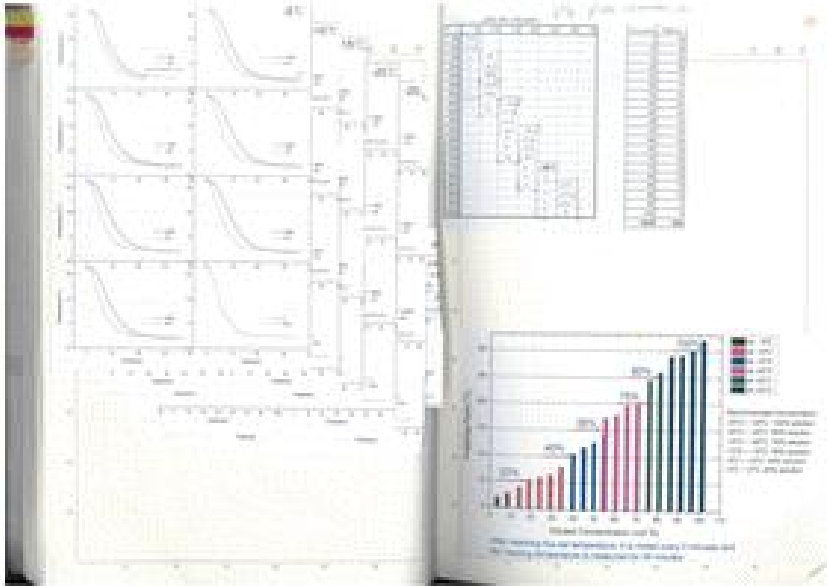
Time	Temp	Pressure	Flow
0	20	100	0
10	25	110	10
20	30	120	20
30	35	130	30
40	40	140	40
50	45	150	50
60	50	160	60
70	55	170	70
80	60	180	80
90	65	190	90
100	70	200	100

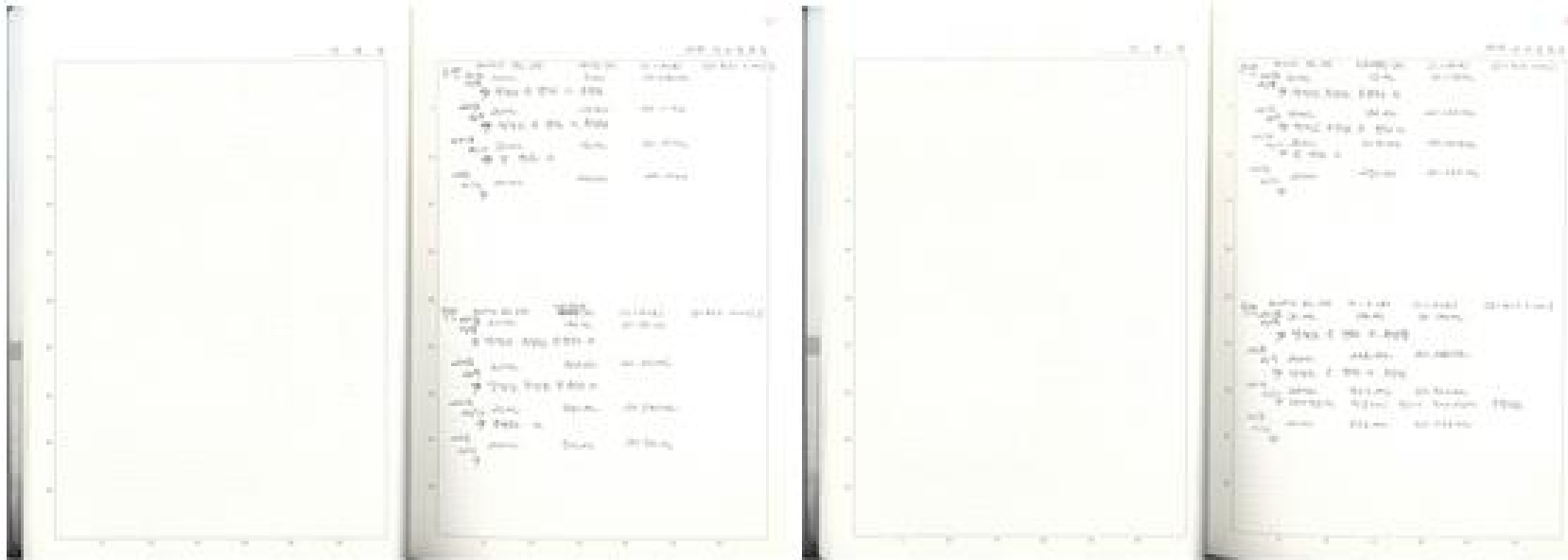
Handwritten notes and diagrams to the right of the table, including a small sketch of a cylinder or pipe.













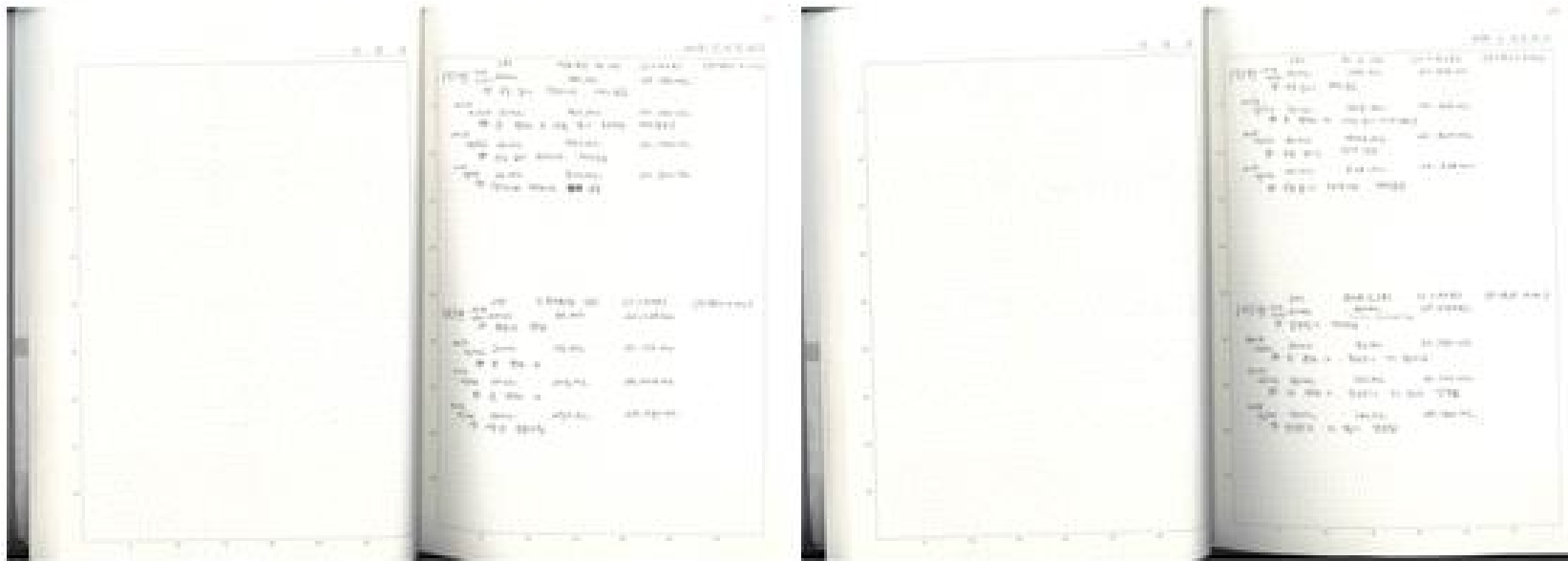
Handwritten notes on a page with a grid. The text is in a non-Latin script, possibly Hindi or Urdu. It includes several lines of text and a small diagram or table at the bottom.

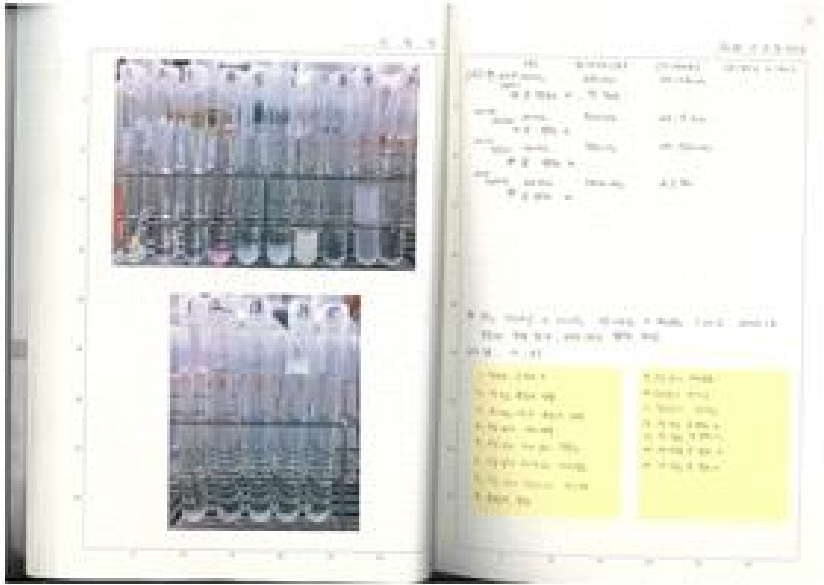
Handwritten notes on a page with a grid. The text is in a non-Latin script. It includes several lines of text and a small diagram or table at the bottom.

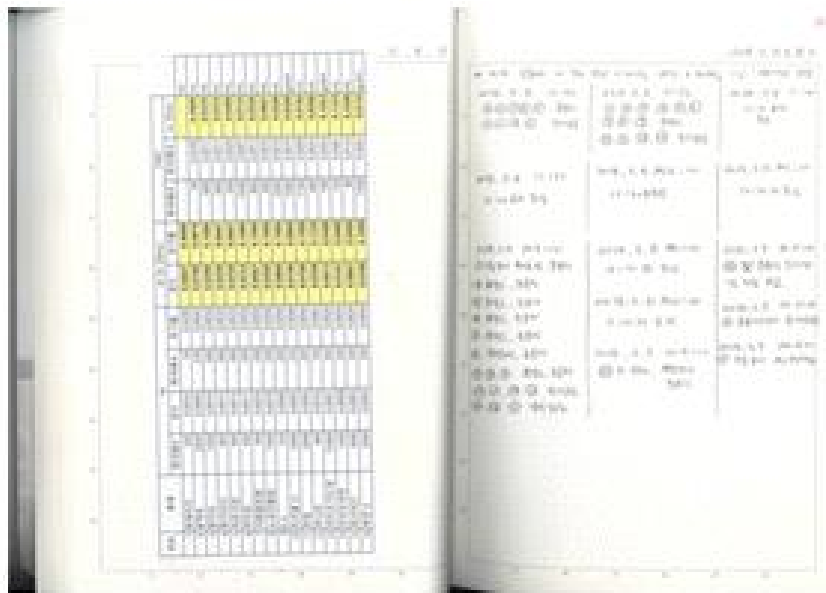
Handwritten notes on a page with a grid. The left side features a large grid with handwritten entries. The right side contains text in a non-Latin script, including a small table and a diagram.

Handwritten notes on a page with a grid. The left side features a large grid with handwritten entries. The right side contains text in a non-Latin script, including a small table and a diagram.

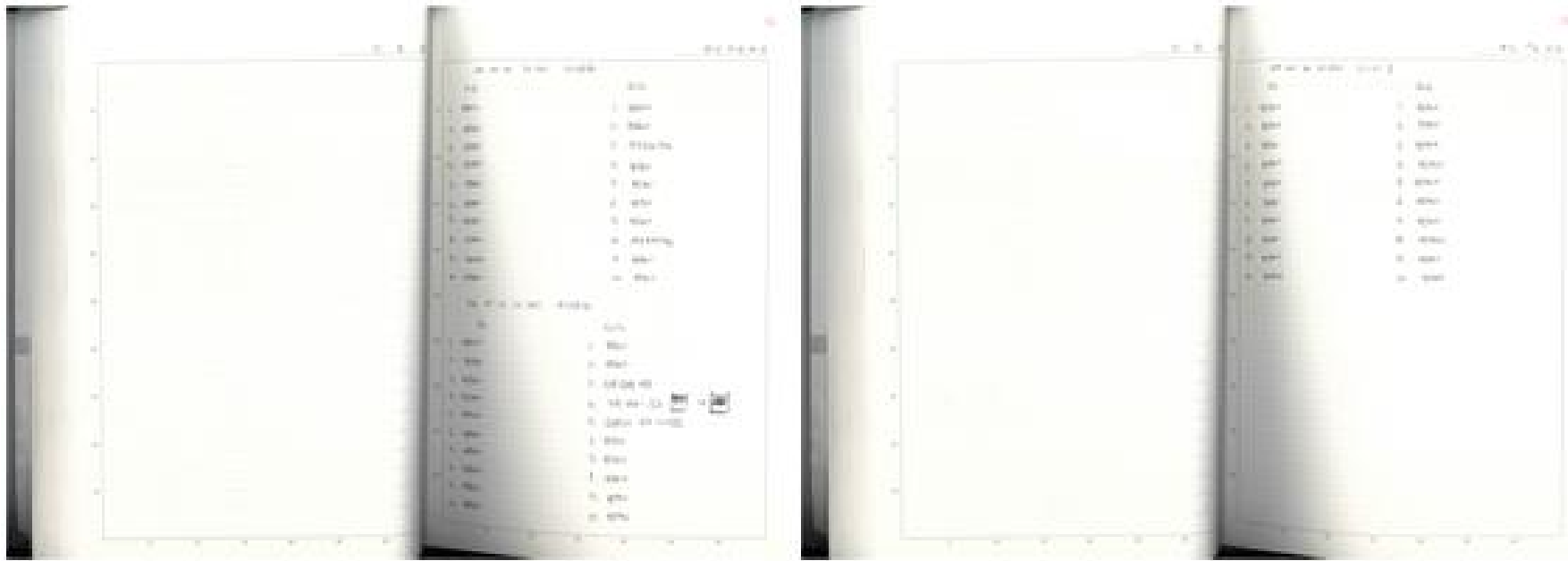












주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술 개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.