

(옆면)

(앞면)

1819017-1

법
제
나
노
유
황
을

함
유
한

친
환
경

미
네
랄

생
육
증
강
보
조
제

2020

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
농식품연구성과후속지원사업 2020년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003259-01

법제나노유황을 함유한 친환경 미네랄 생육증강보조제

2020. 09. 04

주관연구기관 / 파이프앤시그니처

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “법제나노유황을 함유한 친환경 미네랄 생육증강보조제”(개발기간 : 2019. 05. 10.
~ 2020. 05. 09.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 09. 04.

주관연구기관명 : 파이프앤시그니처
위탁기관명 : ㈜노터스

박 인 선
정 인 성



주관연구책임자 : 박 인 선
위탁기관책임자 : 김 영 지

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	819017-1	해당 단계 연구기간	2019. 05. 10 ~ 2020. 05. 09	단계구분	1차년도 / 1차년도
연구사업명	단위사업	농림축산식품연구개발사업			
	사업명	농식품연구성과후속지원사업			
연구과제명	대과제명	(해당 없음)			
	세부과제명	법제나노유황을 함유한 친환경 미네랄 생육증강보조제			
연구책임자	박인선	해당단계 참여연구원 수	총: 8 명 내부: 1 명 외부: 7 명	해당단계 연구개발비	정부: 69,000천원 민간: 천원 계: 69,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 8 명 내부: 1 명 외부: 7 명	총 연구개발비	정부: 69,000천원 민간: 천원 계: 69,000천원
연구기관명 및 소속부서명	파이버앤시그니처			참여기업명:	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (주)노터스			연구책임자: 김영지	

※ 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	
								생명정 보	생물자 원	정보	실물
등록·기탁 번호	2	1	3								

<대표성과>

○ 특허출원

- 출원번호: 10-2020-0060821
- 출원인: 박인선 외 1명
- 발명자: 박인선
- 발명의 국문명칭: 법제나노유황 함유 생육증강보조제의 제조방법 및 법제나노유황 함유 생육증강보조제를 이용한 가축 사육 방법

○ 해외논문 출원

1. 논문명: Dietary inclusion of mineral detoxified nano sulfur dispersion on growth performance, fecal score, fecal microbial, gas emission, blood profile, nutrient digestibility, meat quality in finishing pigs
 - 학회지: Journal of Applied Animal Research
 - Manuscript NO: JAAR-20200227
 - Status: Under Review
 - 저자: 단국대학교 김인호 교수 , 파이프앤시그니처 박인선
2. 논문명: Effect of mineral detoxified nano sulfur dispersion supplementation through drinking water in growth performance, nutrient digestibility, meat quality, excreta microbiota, excreta gas emission and blood profiles in broilers
 - 학회지: Poultry Science
 - Manuscript NO: PSJ-D-20-00194
 - Status: Under Review
 - 저자: 단국대학교 김인호 교수 , 파이프앤시그니처 박인선

〈 요약 문 〉

연구의 목적 및 내용	<p>본 연구는 축산동물의 면역력, 육질 및 생산성의 개선능이 우수한 친환경 사료첨가제로 개발하려는 법제나노 유헩수를 마우스, 육계, 비육돈에 투여하여 안전성 및 유효성을 확인하기위하여 실시하였다.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 마우스: 총 25마리의 마우스에 법제나노 유헩수를 농도별로 단회 경구 투여하여 안전성을 확인하였다. - 육계: 총 800마리의 육계를 400마리씩 일반음수와 법제나노 유헩수로 나누어 35일간 급여하며 안전성 및 유효성을 확인하였다. - 비육돈: 총 160마리의 비육돈을 80마리씩 일반음수와 법제나노 유헩수로 나누어 70일간 급여하며 안전성 및 유효성을 확인하였다. 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> - 마우스: 법제나노 원액 투여군에서도 순조로운 체중증가를 보였으며 모든 동물에서 특이사항 없이 안전한 물질임을 확인하였다. - 육계: 사료섭취량의 향상을 통한 증체량의 개선, 장 내 미생물 유익균의 증가, 유해균의 감소로 인한 미생물 균총의 정상화, 또한 육내 수분 보존 능력을 향상시켜 생산성이 향상되었다. - 비육돈: 법제나노 유헩수를 투여한 군에서 체중이 더 증가하였고, 혈액 내 지방 및 콜레스테롤이 더 적었으며 육질의 수분유지 능력이 투여하지 않은 군에 비해 더 높았다. 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	결론적으로 건강 및 생산성의 개선을 통한 출하일령의 단축 및 개선된 품질의 육계 및 비육돈의 생산을 가능케함으로써 향후 농가의 소득 향상 및 축산업에 발전에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.				
국문핵심어 (5개 이내)	법제유헩	친환경	나노수용성기술	사료첨가제	항생제
영문핵심어 (5개 이내)					

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	
2. 연구수행 내용 및 결과	
2-1. 마우스를 이용한 법제나노유황수의 안전성시험	
2-2. 법제나노 유황수의 급여가 육계의 생산성에 미치는 영향	
2-3. 법제나노 유황수의 급여가 비육돈의 생산성에 미치는 영향	
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	
3-1. 연구개발 목표	
3-2. 목표 달성여부	
4. 연구결과의 활용 계획 등	
4-1. 사업화계획 및 매출실적	
4-2. 국내 및 해외 시장조사 결과	
4-3. 연구개발 결과의 활용방안	
4-4. 기대성과 및 파급효과	
붙임. 참고 문헌	

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

면역력 개선능 및 육질 개선능, 생산량 개선능이 우수한 친환경 사료첨가제 (법제나노 유황수)의 개발

1-2. 연구개발의 필요성

(1) 연구개발 대상 (법제나노유황수)의 중요성

- 국내 사료첨가제 시장은 전체적으로 성장하는 추세이나 국내에서 유통되는 사료첨가제 대부분은 수입제품들이 시장에서 우위를 보이고 있으며, 2018년의 경우 수입량이 수출량의 7배를 상회할 정도로 수입 의존도가 큰 상황이다. 수입사료첨가제가 국산 대비 국내에서 경쟁력을 확보하고 있는 이유는, 비슷한 수준의 품질을 보유하고 있으나 가격은 저렴하기 때문인 것으로 파악된다. 그럼에도 국산 사료첨가제들이 지속적으로 판매가 이루어지고 일부 제품의 해외 수출이 발생하는 이유는 기업이 자체적으로 보유한 핵심 특허 기반의 고품질 사료첨가제를 제품화함으로써 수입 사료첨가제와 비교 시 차별화된 경쟁우위를 확보했기 때문으로 보여진다.
- 2014년에서 2019년까지 국내 사료첨가제 기술현황을 살펴본 결과, 국내 사료첨가제 특허수(등록, 공개, 출원 포함)는 2017년 이래 감소하고 있다. 이 중 2015년에서 2019년까지 실제 유통을 사용한 사료첨가제 등록 특허는 12건으로, 여기에는 식이유황을 포함하여 유황을 사용한 식물재배, 비료 제조 방법, 가축용 사료첨가제가 모두 포함되어 있다. 식이유황의 경우 단가 및 효율에 있어 본 실험물질인 광물성 법제유황보다 경쟁력이 낮으며, 현재 등록된 법제유황 사용 특허 중 본 실험물질처럼 법제된 광물성 유황을 나노 크기로 잘라 액상화하여 수용력을 높인 케이스는 없으므로 본 실험물질의 경쟁력과 시장성은 밝다고 판단된다.
- 본 실험물질 또한 자체적으로 보유한 핵심특허 기반의 고품질 사료첨가제로 사료되는 바, 본 주관연구책임자는 본 제품의 효능과 안전성을 입증한데 이어, 제품의 표준화를 추가로 구현하여, 국가고시품목 지정 단계에 필요한 절차를 밟아 본 제품의 대한민국을 대표하는 친환경 고품질 사료첨가제로서의 위치를 공고히 하고자 한다. 또한, 국가고시품목으로서 B2B 거래를 활성화함과 동시에, 홈페이지 및 전자상거래물을 개설하여 B2C 시장에도 진입할 계획이다.
- 해외의 경우 성장세가 가파른 중국과 인도네시아를 중심으로 살펴보았는데, 중국의 경우 ‘에이전트’의 역할이 지대하고, 인도네시아의 경우는 현지 대리점을 통한 직접 판매가 높은 것으로 판단되었다. 본 제품이 상품으로서의 더 표준화된 공신력을 갖게 되는 경우, 해외 박람회 참석이나 KOTRA 지원 등을 통해 해외 수출 판로 개척을 시도해볼 수 있다.

(2) 연구개발 대상(법제나노 유황수) 기술 소개

1) 기술

독성이 강한 광물성 유황(S)의 독을 없애고 제독 또는 법제한 나노 크기의 유황분말에 식물성 영양성분을 첨가하여 액상의 법제나노유황 함유 미네랄 생육증강보조제로 제조하는 기술보유



-인간의 몸을 구성하고 있는 8번째 생체원소

수소(H), 산소(O), 질소(N), 유황(S), 나트륨(Na) 등을 포함한 14종이 있는데 이 원소들은 인체를 구성하는 총 원수소 중 99.98%를 차지하고 있는 주체적인 원소

-필수 영양소인 유황

유황은 영양적 가치가 높고 정상적인 음식요소로써 인체에서 여러 가지 기능을 한다. 즉 생존 과정을 보호하고 유지시키는 많은 효소의 합성에 필수적임

-극히 안전한 법제유황 (물과 비슷한 성질 - 산소족)

완전 제독한 유황으로 사람에게도 극히 안전하며 필요한 만큼의 양이 흡수되고 남은 것은 피부, 소변으로 배출되어 피부 미용 효과가 매우 크다.



2) 법제나노 유황수 특징점

가) 환경적 측면:

- 친환경 가축 사료 보조제
- 웰빙 농산물 생산 및 토양 산성화 예방

3) 기능 및 특징점:

- 농축산물 생산성 증진 (성장 촉진, 폐사율 감소 등)
- 농축산물 향미 증진 (육질개선, 성분변화 등)
- 농축산물 질병 저항력 증진 (면역력 강화, 멸균작용 및 항산화 효과 등)

4) 법제나노 유황수 사업화를 위한 선행 연구수행 내용

법제유황사료첨가제 대조군 테스트

돼지	실험군	닭
극립축산과학원	평가기관	한국식품연구원(콜레스테롤 수치 분석) 농업기술실용화재단(황 함유량 분석)
일반란 대비 향미 우수 및 불포화지방산 함유량 증가 확인	평가 결과	일반란 대비 콜레스테롤 수치 감소 확인 일반란 대비 황함유량 증가
	성적서	

5) 법제나노 유헩수 연구개발 기대효과

농축산 분야에 사용은 물론 천연화장품, 비누, 웰빙식품 및 친환경 유기농농산물, 유기농 특수작물, 단미사료나 비료 및 산업용 천연염료로 판매. 또한 이를 통한 지역의 6차 산업화 가능

가) 축산분야: 특허된 법제 기술로 독을 제거시킨 유헩을 원료로 혼합 보조사료 개발, 판매. 항생제 사용을 억제시키고 폐사율이 줄어들어, 사료효율 증대로 생산성을 높이며 상품성을 개선시켜 농가 소득에 증대

나) 농업분야: 법제유헩을 키토산, 칼슘 액에 분사시키는 방법으로 친환경 유기농 농자재 개발. 병충해 방지 및 생리를 활성화시켜 작물의 자생력을 증대

1-3. 연구개발 범위

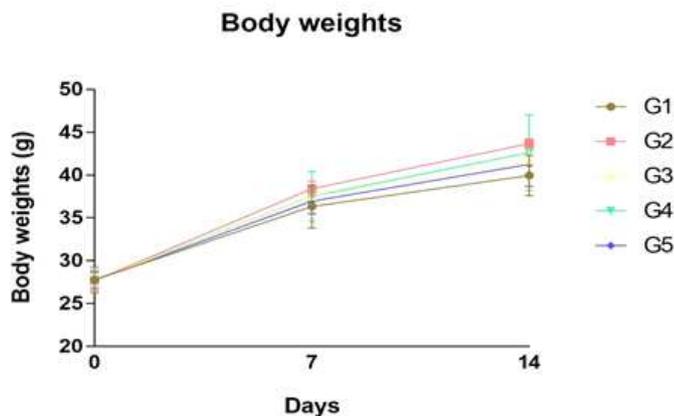
- (1) 제품 생체 검증을 통한 무독성, 영향성에 대한 신뢰도있는 데이터베이스 구축
- (2) 제품의 동물실험(육계, 비육돈)을 통한 유효성 (육질개선, 생산량증가, 면역력증가) 확인

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 마우스를 이용한 법제나노 유헩수의 안전성시험

(1) 시험 요약문

본 시험은 시험물질인 법제나노 유헩수를 원액 (1 x), 10 x, 100 x, 500 x, 1000 x로 멸균용 주사용수에 희석하여 마우스에 투여하여 14일 간 체중 및 생존율을 관찰하기 위하여 실시하였다. 시험물질 투여 이후 순조로운 체중 증가율을 나타내었고 사망개체는 관찰되지 않았다.



<법제나노 유헩화합수 투여 마우스 체중변화율>

따라서 시험물질로 사용한 법제나노 유헩수는 마우스를 이용한 본 시험계에서 동물에 영향을 끼치지 않는 무해한 물질로 사료된다.

(2) 시험물질

- 명칭: 법제나노유황수
- 유효성분: 법제나노 유황
- 입수일: 2020년 01월 06일
- 입수량: 500 mL
- 외관 및 성상: 옅은 노랑색의 현탁액
- 보관조건: 차광기밀용기, 실온 (1 ~ 30℃) 보관
- 공급원: 파이프앤시그니처

(3) 재료 및 방법

(가) 시험계

- 종 및 계통: 특정병원체 부재 (SPF) ICR 마우스
- 생산자 및 공급원: (주)코아텍 (경기도 평택시 진위면 진위로 181-21)

(나) 시험계의 선택 이유

본 시험에 사용하는 마우스는 각종 약효 및 독성시험에 널리 사용되고 있고, 풍부한 시험 기초자료가 축적되어 있으며, 이러한 자료를 이용하여 시험결과의 해석 및 평가가 용이하기 때문에 선택하였다.

(다) 입수일: 2020 년 02 월 20 일

(라) 입수시 성별, 주령 및 동물수: 수컷 5 주령, 30 마리

(마) 검역 및 순화기간

입수 후 7 일 (순화기간 중 일반증상을 관찰하여 건강상태를 확인하고 건강한 동물을 시험에 사용하였다).

(바) 사용 동물수: 수컷 25 마리

(사) 식별

동물은 순화기간 (청색), 투여 및 관찰기간 (붉은색) 동안 미부표식법을 사용하여 식별하였다. 사육상자에는 색으로 구별되는 개체식별카드를 부착하였고, 사육실 입구에는 동물실 사용기록지를 부착하였다.

(아) 사육환경

- 환경조건

본 시험은 온도 23 ± 3 °C, 상대습도 55 ± 15 %, 환기횟수 10 ~ 20 회/hr, 조명시간 12 시간 (오전 8 시 점등 ~ 오후 8 시 소등) 및 조도 150 ~ 300 Lux로 설정한 주식회사 노티스 설치류 사육구역 1 호실에서 실시하였다.

- 사육환경 모니터링

사육기간 중 동물실의 온/습도, 환기횟수 및 조도 등의 환경조건은 정기적으로 측정하였다. 환경측정 결과 시험의 결과에 나쁜 영향을 끼칠만한 이상은 관찰되지 않았다.

- 사료, 물 및 깔개

사료는 (주)카길에그리푸리나에서 생산하는 실험동물용 사료를 드림바이오 (서울특별시 광진구 광나루로 507)로부터 공급받아 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 물은 정수된 물을 폴리카보네이트제 음수병을 이용하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 깔개는 나무깔개를 (주)코아텍 (경기도 평택시 진위면 진위로 181-21)로부터 공급받아 사용하였다.

- 사육상자 및 사육밀도

순화, 투여 및 채혈 기간 동안 설치류용 폴리카보네이트 사육상자 (W 235 x L 380 x H 175 mm)에서 5 마리/사육상자 이하로 사육하였다.

- 사육관리: 사육상자, 깔개 및 물병은 주 1 회 이상 교환하였다.

- 군분리

순화기간 중 건강하다고 판정된 동물들의 체중을 측정하고 순위화한 체중에 따라 각 군의 평균체중이 최대한

균일하게 분포하도록 무작위법으로 분배하였다.

- 동물실험윤리규정의 준수

본 시험은 주식회사 노터스의 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시하였다 (KNOTUS IACUC 20-KE-066).

(자) 시험군의 구성 및 투여량 설정

- 시험군의 구성

군	성 별	동물수 (마리)	동물번호	시험물질 희석비율 (x)	투여액량 (mL/kg)	투여경로
G1	M	5	1-5	1,000	10	PO
G2	M	5	6-10	500	10	PO
G3	M	5	11-15	100	10	PO
G4	M	5	16-20	10	10	PO
G5	M	5	21-25	1	10	PO

- 투여량의 설정: 의뢰자의 요구를 반영하여 설정하였다.

- 투여 동물수 설정

시험결과의 통계분석을 용이하게 하기 위하여 군당 5수의 동물수를 설정하였으며 시험의뢰자와 협의하였다.

(카) 투여시험물질의 조제

법제나노 유헥수 원액 (1 x) 1 mL을 멸균 주사용수 9 mL 에 혼합하여 10 x 희석액을 만든 후 동일하게 10배 계단 희석하여 100 x 희석액을 만들었다. 이를 5배 및 10배 희석하여 500 x 그리고 1000 x로 희석 조제하였다.

(타) 투여

- 투여경로 및 선택이유: 의뢰자의 요구를 반영하여 경구투여를 선택하였다.

- 투여횟수 및 투여기간: 단회 투여하였다.

- 투여액량 산출: 가장 최근에 측정된 체중을 근거로 10 mL/kg으로 설정하였다.

- 투여방법

동물을 경배부 피부 고정법으로 고정하고, 경구투여용 존테를 이용하여 위 내에 직접 투여하였으며, 시험물질 투여 후 4시간째에 사료 급여를 실시하였다.

(4) 결과

(가) 일반증상

일반증상 관찰 결과, 전 실험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았으며, 시험물질 투여와 관련된 이상 증상은 관찰되지 않았다.

(나) 체중

시험물질 투여 전 및 투여 이후 7 일 간격으로 개체별 체중을 측정하였는데 아래에 나타난 바와 같이 투여 이후 순조로운 체중증가율을 보였다.

Table 1. 법제나노 유황수 투여 이후 마우스 체중변화 (n=5)

군 (희석배율)	동물번호	BODY WEIGHTS (g)		
		D0 (투여 전)	D7	D14
G1 (1000 x)	1	27.2	36.8	41.1
	2	29.7	40.3	43.2
	3	27.2	33.6	38.5
	4	25.9	35.1	37.1
	5	28.9	36.0	39.8
	Mean±SD	27.8±1.5	36.3±2.5	40.0±2.4
G2 (500 x)	6	27.1	38.9	44.0
	7	29.1	39.3	43.4
	8	28.6	38.5	42.9
	9	26.3	37.0	43.9
	10	27.3	38.5	44.2
	Mean±SD	27.7±1.2	38.4±0.9	43.7±0.5
G3 (100 x)	11	28.5	39.1	44.4
	12	27.6	36.2	39.8
	13	29.2	36.9	38.7
	14	27.0	37.9	43.8
	15	26.4	37.4	41.8
	Mean±SD	27.7±1.2	37.5±1.1	41.7±2.5
G4 (10 x)	16	27.9	33.9	38.3
	17	29.3	40.5	47.0
	18	28.5	40.2	47.7
	19	26.4	37.7	40.9
	20	26.9	35.4	39.4
	Mean±SD	27.8±1.2	37.5±2.9	42.6±4.4
G5 (1 x)	21	26.8	34.5	38.7
	22	28.0	37.5	42.4
	23	28.9	37.5	40.3
	24	28.1	38.5	45.2
	25	26.9	36.8	39.8
	Mean±SD	27.7±0.9	37.0±1.5	41.3±2.6

(다) 생존율 결과

시험물질을 원액 (1 x), 10 x, 100 x, 500 x, 1000 x로 멸균용 주사용수에 희석하여 마우스에 경구 투여하였으며 투여 이후 14일 간 생존율을 관찰하였다. 관찰결과 사망 마우스는 관찰되지 않았다.

Table 2. 법제나노 유황수 투여 이후 마우스 생존율 변화 (n=5)

군 (희석배율)	생존율 (사망수/전체수)					생존율 (%)
	D1	D2	D3	D7	D14	
G1 (1000 x)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	100
G2 (500 x)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	100
G3 (100 x)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	100
G4 (10 x)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	100
G5 (1 x)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	100

(5) 결론 및 고찰

본 시험은 법제나노 유황수를 원액 (1 x), 10 x, 100 x, 500 x, 1000 x로 멸균용 주사용수에 희석하여 마우스에 경구 투여하였으며 투여 이후 14일 간 체중 및 생존율을 관찰하였다. 관찰결과 체중은 순조롭게 증가하였으며 관찰기간 동안

사망마우스는 없었다.

따라서 시험물질로 사용한 법제나노 유황수는 마우스를 이용한 본 시험계에서 동물에 영향을 끼치지 않는 무해한 물질로 사료된다.

2-2. 법제나노 유황수의 급여가 육계의 생산성에 미치는 영향

(1) 연구목적

본 연구는 “법제나노 유황수의 급여가 육계의 생산성, 육질특성 및 장기무게, 장 내 미생물, 분 내 유해가스, 혈액특성 및 영양소 소화율에 미치는 영향”을 알아보고자 실시하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 시험동물 및 시험설계

본 시험은 1 일령 ROSS 308 800수 공시하였고, 시험 개시 체중은 41.9 ± 0.8 g으로 사양시험은 총 35일간 실시하였다. 시험설계는 1) CON, Basal diet; 2) TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion (1000:1 비율 음수투여) 로 2처리, 처리당 20반복, 반복 당 18수씩 완전 임의 배치하였다.

(나) 시험사료와 사양관리

사양시험은 세종시에 위치한 단국대학교 연구농장에서 실시하였으며, 시험사료는 NRC (1994) 요구량에 따라 배합한 옥수수-대두박 위주의 사료를 급여하였다. ROSS 308 병아리를 3단 케이지에서 사육하였으며, 처리구별 위치를 조절하였고, 사료와 물은 자유롭게 급여토록 하였다.

(다) 조사항목 및 방법

① 생산성

증체량은 시험 개시, 7일, 21일 및 종료 시 (35일)에 처리구별로 체중을 측정하였다. 사료섭취량은 체중 측정시 사료급여량에서 잔량을 제하여 계산하였고, 사료요구율은 사료섭취량을 증체량으로 나누어 산출하였다. 폐사율은 각 처리구별로 $100 - (\text{종료 수수}/\text{개시 수수} * 100)$ 으로 계산하였다.

② 육질특성 및 장기무게

시험 종료 시 (35일) 처리구별 임의로 10수씩 선별하여 경추탈골 방법으로 도살한 다음 가슴 육, 간, F낭, 복강지방, 비장 및 근위의 무게를 측정하여 생체중에 대한 비율로 계산하였다. pH는 pH meter (Testo 205, Testo, Germany)를 사용하여 측정하였으며, 육색은 색차계 (Model CR-410, Minolta Co., Japan)를 이용하여 각 가슴 육 샘플 1개당 2회 반복하여 측정하였다. 이 때 표준 색 판은 $L^*=89.2$, $a^*=0.921$, $b^*=0.783$ 으로 하였다. 보수력(water holding capacity)은 Hofmann 등(1982)의 방법으로 전체면적과 육의 면적의 비율을 기록하여 측정하였으며, 가열 감량(Cooking loss)은 각 샘플 당 4g의 시료를 polyethylene bag에 넣어 30분간 heat-treated로 가열하여 처리한 후 측정하였다. 가열 감량은 (가열 전 무게 - 가열 후 무게)/가열 전 무게 x 100으로 계산되었다 (Cho et al., 2013). 저장 감량 (Drip loss)은 각 샘플 당 시료를 2 cm 두께의 일정한 모양으로 정형한 후 polyethylene bag에 넣어 4°C 냉장실에서 7일간 보관하면서 1일, 3일, 5일 및 7일 후 발생하는 감량을 측정하였다.

③ 장 내 미생물

장 내 미생물은 시험 종료 시 (35일)에 각 처리구에서 10수씩 임의적으로 선택해 장 내 미생물군총을 측정하였다. Lactobacillus, E. coli 및 Salmonella는 맹장 속의 분을 채취한 후 4°C 에 냉장보관 한 후, 멸균된 생리식염수에 현탁 하여 균질화 시킨 다음 10-3에서 10-7까지 계단 희석하여 생균 수 측정용 시료로 사용하였다. 실험처리에 의한 장 내의 Lactobacillus 및 E. coli의 균수를 측정하기 위해 Lactobacillus에는 MRS agar (Difco, USA), E. coli에는 MacConkey agar (Difco, USA) 및 Salmonella에는 SS agar (Difco, USA)를 사용하였고, 37°C 에서 38시간 배양 후 균 수를 측정하였다.

④ 분 내 악취물질

분 내 악취물질은 시험 종료 시 (35일)에 각 처리구에서 동일한 시간 동안 배설된 분을 채취한 후, 신선한 분 300g을 취하여 2,600mL의 밀봉된 플라스틱 용기에 넣고 실온에서 7일간 발효 및 보관한 후 NH₃, H₂S, Methylmercaptan, CO₂ 및 Acetic acid은 복합가스 측정기 (MultiRAE Lite model PGM-6208, RAE, USA)를 사용하여 측정하였다.

⑤ 혈액 특성

혈액 특성은 시험 종료 시 (35일)에 처리구별 10수를 임의로 선발하여 혈액을 채취 및 분석하였다. 분석은 (주)노터스에 의뢰하여 분석을 진행하였다.

⑥ 영양소 소화율

영양소 소화율은 종료 시 (35일) 7일 전 산화크롬 (Cr₂O₃)을 표시물로서 사료 내 0.5 % 첨가하여 7일간 급여 후 분을 채취하였다. 채취한 분은 60°C 의 건조기에서 72시간 건조시킨 후 Willey mill로 분쇄하여 분석에 이용하였다. 사료의 일반성분과 표시물로 혼합된 Cr은 AOAC (2000)의 방법에 준하여 분석하였다.

(라) 통계처리

모든 자료는 SAS (2013)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리하여 평균간의 유의성을 검정하였다.

(3) 시험결과

(가) 생산성

법제나노 유황수의 급여가 육계의 생산성에 미치는 영향은 Table 1에 나타내었다. 1-7일차 및 7-21일차 섭취량에 있어 TRT1 처리구가 CON 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (P < 0.05).

(나) 육질특성 및 장기무게

법제나노 유황수의 급여가 육계의 육질특성 및 장기무게에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) 가슴육의 Redness (a*)에 있어 TRT1 처리구가 CON 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 (P < 0.05), 시험 종료 후 7일차 저장감량에 있어 CON 처리구가 TRT1 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (P < 0.05).

(다) 장내 미생물

법제나노 유황수의 급여가 육계의 장 내 미생물에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) Lactobacillus 수에 있어 TRT1 처리구가 CON 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 (P < 0.05), E. coli 수에 있어 CON 처리구가 TRT1 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (P < 0.05).

(라) 분내 악취물질

법제나노 유황수의 급여가 육계의 분 내 악취물질에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) 분 내 NH₃, H₂S, Methylmercaptan, CO₂ 및 Acetic acid 수치에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P > 0.05).

(마) 혈액 특성

법제나노 유황수의 급여가 육계의 혈액특성에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) 혈액 내 SOD, Glucose, Calcium, Total cholesterol, HDL/C, LDL/C 및 Triglyceride 수치에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(사) 영양소 소화율

법제나노 유황수의 급여가 육계의 영양소 소화율에 미치는 영향은 Table 6에 나타내었다. 시험종료 시 (35일) 건물, 질소 및 에너지 소화율에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(4) 결론 및 고찰

본 연구에서는 법제나노 유황수를 음수투여 하였을 경우, 총 시험 기간 35일 동안 육계의 생산성, 육질특성 및 장기무게, 장 내 미생물, 분 내 유해가스, 혈액특성 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 알아보고자 유황을 첨가하지 않은 대조구와 0.001% 법제나노 유황수를 음수 투여한 처리구로 실험을 진행하였다.

첫 번째, 생산성 내 섭취량 항목에 있어 1-7일차 및 7-21일차에서 법제나노 유황수를 음수 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 증가한 결과를 나타내었다. 또한 증체량에 있어 법제나노 유황수를 음수 투여한 처리구가 대조구에 비해 수치적으로 증가하는 경향이 나타난 것을 확인 할 수 있었다.

두 번째, 육질특성 및 장기무게에 있어 육질의 적색 정도를 나타내는 Redness(a*) 항목에서 법제나노 유황수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났고, 7일차 저장감량에 있어 법제나노 유황수를 음수투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 낮게 나타나는 결과를 나타내었다.

세 번째, 장 내 미생물에 있어 Lactobacillus 수에 있어 법제나노 유황수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났고, E. coli 수에 있어 법제나노 유황수를 음수 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 낮게 나타나는 결과를 알 수 있었다.

네 번째, 분내 유해가스, 혈액 특성 및 영양소 소화율에 있어서는 법제나노 유황수를 투여한 처리구와 대조구 사이의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

위 결과로 미루어 보았을 때 육계에게 법제나노 유황수를 음수 투여하는 것은 육계의 사료섭취량의 향상을 통한 증체량의 개선, 장 내 미생물내 유익균의 증가 및 유해균의 감소로 인한 미생물 균총의 정상화를 통해 육계 생산성의 향상으로 이어지며, 또한 육내 수분 보존 능력을 향상시켜 결론적으로 생산성의 개선을 통한 출하일령의 단축 및 개선된 품질의 축산물의 생산을 가능케 함으로써 향후 농가의 소득 향상 및 축산업에 발전에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

Table 1. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on growth performance in broilers¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
d 1 to 7			
BWG, g	125	132	4
FI, g	153 ^b	169 ^a	5
FCR	1.224	1.289	0.023
d 7 to 21			
BWG, g	650	655	6
FI, g	968 ^b	998 ^a	9
FCR	1.493	1.525	0.018
d 21 to 35			
BWG, g	956	986	15
FI, g	1,808	1,811	16
FCR	1.898	1.840	0.023
Overall			
BWG, g	1730	1772	18
FI, g	2,929	2,977	21
FCR	1.694	1.680	0.012
Mortality	3.89	3.06	-

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

Table 2. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on organ weight and meat quality in broilers¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
pH value	7.77	7.82	0.03
Breast muscle color			
Lightness (L*)	59.18	59.31	0.64
Redness (a*)	11.44 ^b	12.67 ^a	0.27
Yellowness (b*)	11.89	12.01	0.43
WHC, %	44.89	44.01	3.75
Cooking loss	18.57	18.27	1.67
Drip loss, %			
d 1	4.61	4.57	0.10
d 3	7.73	7.52	0.19
d 5	10.24	10.26	0.16
d 7	15.06 ^a	14.59 ^b	0.08
Relative organ weight, %			
Breast muscle	19.23	18.92	0.71
Liver	2.89	2.64	0.11
Bursa of Fabricius	0.14	0.14	0.01
Abdominal fat	2.95	2.83	0.43
Spleen	0.14	0.13	0.01
Gizzard	1.78	1.79	0.11

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

Table 3. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on microbial in broilers¹

Items, log ₁₀ cfu/g	CON	TRT1	SEM ²
D 35			
<i>Lactobacillus</i>	7.22 ^b	7.55 ^a	0.07
<i>E. coil</i>	5.51 ^a	5.29 ^b	0.06
<i>Salmonella</i>	2.98	2.79	0.20

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.²Standard error of means.^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).**Table 4.** The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on gas emission in broilers¹

Items, ppm	CON	TRT1	SEM ²
D 35			
NH ₃	11.9	12.0	0.9
H ₂ S	2.6	2.8	0.4
Methyl mercaptans	2.2	1.2	0.5
CO ₂	960	720	111
Acetic acid	0.4	0.5	0.1

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.²Standard error of means.**Table 5.** The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on blood profile in broilers¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
D 35			
SOD, %	75.1	71.4	1.8
GPx, units/ml			
GSSG, U/mg protein			
Glucose, mg/dL	208.9	212.9	5.7
Calcium, mg/dL	9.3	9.6	0.3
Total cholesterol, mg/dL	108.4	119.0	4.2
HDL/C, mg/dL	73.1	75.7	2.5
LDL/C, mg/dL	20.6	25.7	2.5
Triglyceride, mg/dL	38.4	38.3	4.2

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.²Standard error of means.**Table 6.** The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on nutrient digestibility in broilers¹

Items, %	CON	TRT1	SEM ²
D 35			
Dry matter	71.37	72.85	0.74
Nitrogen	69.60	70.88	0.71
Energy	71.00	72.47	0.79

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% Detoxified nano sulfur dispersion.²Standard error of means.

2-3. 법제나노 유황수의 급여가 비육돈의 생산성에 미치는 영향

(1) 연구목적

본 연구는 “법제나노 유황수의 급여가 비육돈의 생산성, 분변지수, 분 내 미생물, 분 내 유해가스, 혈액특성, 육질특성 및 영양소 소화율에 미치는 영향”을 알아보기 위하여 실시하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 시험동물 및 시험설계

3원교잡종 [(Landrace × Yorkshire) × Duroc] 비육돈 160두를 공시하였고, 시험 개시 시 체중은 54.90 ± 5.10 kg이었으며, 사양시험은 70일 동안 실시하였다. 시험설계는 1) CON, Basal diet 2) TRT1, Basal diet + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion로 2처리, 처리당 16반복, 반복 당 5두씩 완전임의 배치하였다.

(나) 시험사료와 사양관리

사양시험은 세종특별시 전의에 위치한 단국대학교 시험농장에서 실시하였다. 시험사료는 NRC (2012) 요구량에 따라 배합한 옥수수-대두박 위주로 자유 채식토록 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 조절하였다.

(다) 조사항목 및 방법

① 생산성

일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료효율은 시험개시, 5주차 및 종료 시 (10주) 각 개체 별로 체중을 측정하였다. 일당사료섭취량은 체중측정 시 사료급여량에서 잔량을 제하여 계산하였고, 사료효율은 일당증체량을 일당사료섭취량으로 나누어 산출하였다.

② 분변지수

분변지수는 시험 개시, 5주차 및 종료 시 (10주)에 측정하였으며, 다음과 같은 지수로 수치화 하여 일주일 단위로 평균을 내어 산출하였다. (Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.)

③ 분내 미생물

분내 미생물은 시험 5주차 및 종료 시 (10주)에 항문 마사지법으로 분을 채취한 뒤, 실험 시까지 4°C에서 냉장보관 하였으며, 이후 멸균된 생리식염수에 현탁하여 균질화 시킨 다음 103에서 107까지 단계 희석하여 생 균 수 측정용 시료로 사용하였다. 실험처리에 의한 돈 분 내의 Lactobacillus와 E. coli의 균 수를 측정하기 위해 Lactobacillus에는 MRS agar (Difco, USA), E. coli에는 MacConkey agar (Difco, USA)를 사용하였고, 37°C에서 38시간 배양 후 균수를 측정하였다.

④ 분내 악취물질

분내 악취물질은 시험 5주차 및 종료 시 (10주)에 각 처리구에서 동일한 시간 동안 배설된 분을 채취한 후, 신선한 분 300g을 취하여 2,600mL의 밀봉된 플라스틱 용기에 넣고 실온에서 7일간 발효 및 보관한 후 암모니아, 황화수소, 메틸머캅탄, 이산화탄소 및 아세트산은 복합가스 측정기 (MultiRAE Lite model PGM-6208, RAE, USA)를 사용하여 측정하였다.

⑤ 혈액특성

혈액 채취는 시험 5주차 및 종료 시 (10주)에 처리구별 10두를 임의로 선발하여 혈액을 채취하여 분석하였다. 분석은 쥘노터스에서 실시하였다.

⑥ 육질특성

육질 분석에 사용된 돈육은 도축 후 4℃ 냉장고에 24시간 저장 후 반도체 등심 부위 (M.longissimusdorsi)를 분할 정형하여 분석에 이용하였다. 육색은 Chromameter (Model CR-410, Minolta Co., Japan)를 사용하여 각 sample 당 8회 반복하여 측정후 평균값을 산출하였다. 이때 표준색판은 L* (lightness)=89.2, a* (redness)=0.921, b* (yellowness)=0.783으로 하였다. 보수력은 Hofmann 등 (1982)의 방법으로 측정하여 planimeter (X-plan, Ushikata 360dII, Japan)로 면적을 구하고 육의 표면적을 수분의 면적으로 나눈 값으로 표시하였다. 육의 pH 값은 도살 후 모든 시료를 pH meter (Istek, Model 77p)를 사용하여 측정하였다. 등심단면적은 등심의 단면적을 OHP 필름을 이용하여 등심의 둘레를 측정하였고, 구적기 (MT-10S, MT precision, Japan)를 이용하여 면적을 측정하였다. 가열감량 (cooking loss)은 시료를 일정한 모양으로 정형하여 무게를 측정후, polyethylene bag에 넣고 항온수조 (75℃)에서 30 분간 가열하고 상온에서 30분간 방냉시킨 후 시료의 무게를 측정하였다. 관능적 평가는 근내지방도에 의한 등급기준 및 육색기준에 의해 신선육의 육색 (color: 1-5), 근내지방도(marbling: 1-5), 경도 (firmness: 1-5)를 조사하였다. 저장 감량 (drip loss)은 시료를 2cm 두께의 일정한 모양으로 정형한 후 polyethylene bag에 넣어 4℃ 냉장실에서 7일간 보관하면서 1일, 3일, 5일 및 7일 후 발생하는 감량을 측정하였다.

⑦ 영양소 소화율

영양소 소화율은 시험 5주차 및 종료 시 (10주)에 산화크롬 (Cr2O3)을 표시물로서 0.5% 첨가하여 7일간 급여 후 항문 마사지법으로 분을 채취하였다. 채취한 분은 60℃의 건조기에서 72시간 건조시킨 후 Willey mill로 분쇄하여 분석에 이용하였다. 사료의 일반성분과 표시물로 혼합된 Cr은 AOAC (2000)의 방법에 준하여 분석하였다.

(라) 통계처리

모든 자료는 SAS (2013)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리하여 평균간의 유의성을 검정하였다.

(3) 시험결과

(가) 생산성

법제나노 유헩수의 음수 급여가 비육돈의 생산성이 미치는 영향은 Table 1에 나타내었다. 시험 개시, 5주차 및 종료 시 (10주) 체중, 일당증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(나) 분변지수

법제나노 유헩수의 음수 급여가 비육돈의 분변지수에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 시험 개시, 5주차 및 종료 시 (10주) 분변지수에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(다) 분내 미생물

법제나노 유헩수의 음수 급여가 비육돈의 분 내 미생물에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. 시험 5주차 및 종료 시 (10주) 분 내 Lactobacillus 및 E. coli 수에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(라) 분내 유해가스

법제나노 유헩수의 음수급여가 비육돈의 분 내 유해가스에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 시험 5주차 및 종료 시

(10주) 분 내 NH₃, H₂S, Methylmercaptan, CO₂ 및 Acetic acid의 수치에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(마) 혈액특성

법제나노 유헥수의 음수 급여가 비육돈의 혈액특성에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다. 5주차 혈액 내 Glucose, Calcium, Total cholesterol 및 HDL/C 수치에 있어 TRT1 처리구가 CON 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 ($P < 0.05$), 혈액 내 Triglyceride 수치에 있어 CON 처리구가 TRT1 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ($P < 0.05$).

(바) 육질특성

법제나노 유헥수의 음수 급여가 비육돈의 육질특성에 미치는 영향은 Table 6에 나타내었다. 종료 시 (10주) 등심의 pH 수치에 있어 TRT1 처리구가 CON 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ($P < 0.05$). 그러나 Meat color, Sensory evaluation, Cooking loss, Drip loss, LMA 및 WHC 에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(사) 영양소 소화율

법제나노 유헥수의 음수 급여가 비육돈의 영양소 소화율에 미치는 영향은 Table 7에 나타내었다. 시험 5주차 및 종료 시 (10주) 건물, 질소 및 에너지 소화율에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

(4) 결론 및 고찰

본 연구에서는 법제나노 유헥수를 투여 하였을 경우 총 시험기간 10주 동안 비육돈의 생산성, 분번지수, 분 내 미생물, 분 내 유해가스, 혈액특성, 육질특성 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 알아보기로 대조구와 대조구에 0.001%의 법제나노 유헥수를 투여하여 연구를 진행하였다.

첫 번째, 생산성 내 체중, 증체량, 일당섭취량 및 사료 효율에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 체중 및 증체량에 있어 법제나노 유헥수를 투여한 처리구가 수치적으로 증가하는 경향을 보여주는 것을 알 수 있었다.

두 번째, 분번지수, 분 내 미생물, 분 내 유해가스 및 영양소 소화율에 있어서는 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

세 번째, 혈액 특성에 있어 5주차 혈액 내 Glucose, Calcium, Total cholesterol, HDL/C 및 Triglyceride 수치에 있어 법제나노 유헥수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타난 것을 알 수 있었다.

네 번째, 육질특성에 있어 육질의 pH수치가 법제나노 유헥수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타난 것을 알 수 있었고, 가열감량 및 저장감량에 있어 법제나노 유헥수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 수치적으로 낮게 나타났으며 보수력에 있어 법제나노 유헥수를 투여한 처리구가 대조구에 비해 수치적으로 높게 나타나는 경향을 보였다.

위 결과로 미루어 보았을 때 비육돈에게 법제나노 유헥수를 투여하는 것은 대조구에 비하여 생산성이 향상되는 결과를 얻을 수 있어 사육비 절감에 도움이 될 수 있을 것으로 판단되며, 혈액 내 지방 및 콜레스테롤 조성 과 육질의 수분 유지 능력 향상에 긍정적인 영향을 끼치는 것으로 보아 향후 양돈 농가 소득 증대 및 소비자에게 안전하고 향상된 품질의 축산물을 제공 할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 1. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on growth performance finishing pigs¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
Body weight, kg			
Initial	54.89	54.90	0.01
Week 5	80.71	81.17	0.31
Week 10	109.82	111.15	0.71
Week 5			
ADG, g	738	744	10
ADFI, g	2224	2218	11
G/F	0.332	0.335	0.003
Week 10			
ADG, g	832	842	15
ADFI, g	2797	2805	20
G/F	0.297	0.300	0.003
Overall			
ADG, g	785	793	11
ADFI, g	2511	2511	15
G/F	0.312	0.315	0.003

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

Table 2. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on fecal score finishing pigs¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
Fecal score ³			
Initial	3.20	3.21	0.03
Week 5	3.14	3.13	0.05
Week 10	3.11	3.10	0.06

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

³Fecal score = 1 hard, dry pellet; 2 firm, formed stool; 3 soft, moist stool that retains shape; 4 soft, unformed stool that assumes shape of container; 5 watery liquid that can be poured.

Table 3. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on microbial finishing pigs¹

Items, log ₁₀ cfu/g	CON	TRT1	SEM ²
Week 5			
<i>Lactobacillus</i>	7.64	7.67	0.06
<i>E.coli</i>	5.46	5.43	0.09
Week 10			
<i>Lactobacillus</i>	7.69	7.76	0.07
<i>E.coli</i>	5.60	5.66	0.05

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

Table 4. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on gas emission in finishing pigs¹

Items, ppm	CON	TRT1	SEM ²
Week 5			
NH ₃	1.5	1.6	0.7
H ₂ S	4.5	3.3	1.1
Methyl mercaptan	11.0	10.8	0.9
CO ₂	2125	2150	260
Acetic acid	3.4	3.6	1.5
Week 10			
NH ₃	2.2	1.9	0.7
H ₂ S	5.3	5.8	0.8
Methyl mercaptan	12.8	12.4	0.5
CO ₂	2175	2275	504
Acetic acid	3.2	3.3	1.0

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

Table 5. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on blood profile in finishing pigs¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
Week 5			
SOD, %	63.8	61.8	2.00
GPx, units/ml			
GSSG, U/mg protein			
Glucose, mg/dL	71.6 ^b	95.6 ^a	2.84
Calcium, mg/dL	8.9 ^b	9.9 ^a	0.28
Total cholesterol, mg/dL	71.6 ^b	89.7 ^a	4.21
HDL/C, mg/dL	28.4 ^b	39.4 ^a	1.21
LDL/C, mg/dL	38.6	46.2	2.62
Triglyceride, mg/dL	55.2 ^a	25.7 ^b	7.43
Week 10			
SOD, %	58.0	59.0	2.72
GPx, units/ml			
GSSG, U/mg protein			
Glucose, mg/dL	91.3	84.8	2.57
Calcium, mg/dL	9.4	9.5	0.22
Total cholesterol, mg/dL	89.5	80.9	4.10
HDL/C, mg/dL	35.6	32.1	1.67
LDL/C, mg/dL	45.7	40.2	2.47
Triglyceride, mg/dL	68.5	64.9	7.65

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

Table 6. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on meat quality in finishing pigs¹

Items	CON	TRT1	SEM ²
Meat color			
L*	57.01	55.85	1.14
a*	14.50	15.23	0.29
b*	7.77	7.83	0.30
Sensory evaluation			
Color	3.69	3.64	0.06
Marbling	2.80	2.77	0.04
Firmness	2.91	2.97	0.07
Cooking loss, %	24.50	21.99	0.78
Drip loss, %			
d1	3.38	2.75	0.52
d3	5.44	5.06	0.63
d5	10.90	10.00	0.33
d7	21.07	20.12	0.33
pH	7.15 ^b	7.44 ^a	0.74
Longissimus muscle area, cm ²	64.66	66.66	1.25
Water holding capacity, %	50.47	54.72	1.35

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P<0.05).

Table 7. The effect of detoxified nano sulfur dispersion supplementation on nutrient digestibility in finishing pigs¹

Items, %	CON	TRT1	SEM ²
Week 5			
Dry matter	70.38	71.22	1.34
Nitrogen	68.64	68.93	1.12
Energy	69.30	69.18	1.19
Week 10			
Dry matter	67.01	68.19	1.07
Nitrogen	65.13	66.17	1.72
Energy	66.79	67.04	1.46

¹Abbreviation: CON, Basal diet; TRT1, CON + 0.001% detoxified nano sulfur dispersion.

²Standard error of means.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 연구개발 목표

(1) 최종목표

선행 연구를 통해 특허 출원 중인 제조방식에 대한 대량 양산 기술개발 및 제품 생체 검증 (유효성, 무독성), 이를 활용한 농·축산업에의 응용 연구개발

(2) 세부목표

- 법제유형을 적용하여 농축산 분야의 경쟁력 제고
- 자연친화적 생육보조제와 살충항균제의 생산과 개발
- 주요 기능에 대한 기술적, 학문적 검토와 제품 생체 검증을 통한 데이터베이스 축적
- 마케팅을 통한 국내 시장 선점 및 해외 시장조사를 통한 수출방안 검토

(3) 연차별 개발목표 및 내용

<1차년도 정성적 연구개발 목표>

- 1) 국내외 시장조사 및 학문적 검토 통한 시장 확대/선점 방안 마련
- 2) 제품 생체 검증을 통한 무독성, 영향성에 대한 신뢰도 있는 데이터베이스 구축
- 3) 제품의 동물실험(육계, 비육돈)을 통한 유효성 (육질개선, 생산량증가, 면역력증가) 확인

<1차년도 정량적 연구개발 목표>

- 1) 특허출원 1건
- 2) SCI급 해외 논문 출원 1건

3-2. 목표 달성여부

(1) 주관연구기관 (예비창업자 박인선 / 현재 창업완료_파이브앤시그니처)

- 1) Asia-Pacific 사료첨가제 시장 동향조사
- 2) 특허출원: 달성율 100% (출원명세서 참조)
 - a. 출원번호: 10-2020-0060821
 - b. 출원인: 박인선 외 1명
 - c. 발명자: 박인선
 - d. 발명의 국문명칭: 법제나노유황 함유 생육증강보조제의 제조방법 및 법제나노유황 함유 생육증강보조제를 이용한 가축 사육 방법

(2) 주관연구기관 (파이브앤시그니처) & 위탁연구기관 (주식회사 노트스)

- 1) 동물실험을 통한 법제나노 유황수의 무독성 안전성 확인시험: 법제나노 유황수 안전성시험 보고서 참조
- 2) 동물실험을 통한 법제나노 유황수의 유효성 확인시험:
 - 법제나노 유황수의 급여가 육계의 생산성에 미치는 영향 참조)
 - 법제나노 유황수의 급여가 비육돈의 생산성에 미치는 영향 참조)
- 3) 논문출원: 달성율 100% (해외 유명 저널지 논문 출원 2건)
 - 가. 논문명: Dietary inclusion of mineral detoxified nano sulfur dispersion on growth performance, fecal score, fecal microbial, gas emission, blood profile, nutrient digestibility, meat quality in finishing pigs
 - 학회지: Journal of Applied Animal Research
 - Manuscript NO: JAAR-20200227
 - Status: Under Review
 - 저자: 단국대학교 김인호 교수, 파이브앤시그니처 박인선
 - 나. 논문명: Effect of mineral detoxified nano sulfur dispersion supplementation through drinking water in growth performance, nutrient digestibility, meat quality, excreta microbiota, excreta gas emission and blood profiles in broilers
 - 학회지: Poultry Science
 - Manuscript NO: PSJ-D-20-00194
 - Status: Under Review
 - 저자: 단국대학교 김인호 교수, 파이브앤시그니처 박인선

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 사업화계획 및 매출실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간 (3년)	※ 현재까지의 성과 - 제품 안전성 검증(실험 데이터베이스 확보) - 제품에 대한 공신력 확보 (국제논문출원, 특허출원) - 제품의 시장성 확인 (국내 및 해외 시장조사 완료) ※ 향후 계획 - 현재까지의 연구실적 체계적 정리 및 홍보물 제작 - 제품 자동화 및 표준화 위한 추가 연구 실행 - 제품 자동화 및 표준화 위한 공간 및 설비 마련 - 정부고시품목 등록 추진 - 제품 해외 수출 추진 (시제품 발송, 거래처 확보, 공동 실험) - 제품의 추가 성능 확인 : 동물감염병 예방에 본 제품이 미치는 영향 : 식물로의 제품 확장 사용 가능성 확인			
	소요예산 (200백만원)	※ 1차 지원금: 6,900만원 (안전성 검증, 효능 확인) ※ 2차 필요예산: 130백만원 - 홍보물 제작, 제품 패키지 개발: 10백만원 - 최적의 배합 비율 도출 위한 추가실험: 35백만원 - 공장부지 확보 및 자동화 시스템 구축: 50백만원 - 동물 및 식물 면역력 증진 효과 실험: 35백만원			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		0.14억원	10억	50억	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내			
국외					
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수출				

4-2. 국내 및 해외 시장조사 결과

- 국내 사료첨가제 시장은 크게 배합사료를 만들어온 중견기업과 신규 기술을 도입한 중소기업, 총 110여개가 경쟁하고 있는 것으로 보이며 온라인 대비 오프라인에서 주로 경쟁하고 있고, 온라인의 경우 조달청 ‘나라장터’를 통해 판매/유통되고 있고, 오프라인에서는 축산농가를 대상으로 농협/축협을 통한 간접판매, 제조사들의 직영/대리점을 통한 직접판매가 전개되고 있다.

- 국내 사료첨가제 시장은 전체적으로 성장하는 추세이나 국내에서 유통되는 사료첨가제 대부분은 수입제품들이 시장에서 우위를 보이고 있으며, 2018년의 경우 수입량이 수출량의 7배를 상회할 정도로 수입 의존도가 큰 상황이다. 수입사료첨가제가 국산 대비 국내에서 경쟁력을 확보하고 있는 이유는, 비슷한 수준의 품질을 보유하고 있으나 가격은 저렴하기 때문인 것으로 파악된다. 그럼에도 국산 사료첨가제들이 지속적으로 판매가 이루어지고 일부 제품의 해외 수출이 발생하는 이유는 기업이 자체적으로 보유한 핵심 특허 기반의 고품질 사료첨가제를 제품화함으로써 수입 사료첨가제와 비교 시 차별화된 경쟁우위를 확보했기 때문으로 보여진다.

- 2014년에서 2019년까지 국내 사료첨가제 기술현황을 살펴본 결과, 국내 사료첨가제 특허수(등록, 공개, 출원 포함)는 2017년 이래 감소하고 있다. 이 중 2015년에서 2019년까지 실제 유통을 사용한 사료첨가제 등록 특허는 12건으로, 여기에는 식이유통을 포함하여 유통을 사용한 식물재배, 비료 제조 방법, 가축용 사료첨가제가 모두 포함되어 있다. 식이유통의 경우 단가 및 효율에 있어 본 실험물질인 광물성 법제유통보다 경쟁력이 낮으며, 현재 등록된 법제유통 사용 특허 중 본 실험물질처럼 법제된 광물성 유통을 나노 크기로 잘라 액상화하여 수용력을 높인 케이스는 없으므로 본 실험물질의 경쟁력과 시장성은 밝다고 판단된다.

- 본 실험물질 또한 자체적으로 보유한 핵심특허 기반의 고품질 사료첨가제로 사료되는 바, 본 주관연구책임자는 본 제품의 효능과 안전성을 입증한데 이어, 제품의 표준화를 추가로 구현하여, 국가고시품목 지정 단계에 필요한 절차를 밟아 본 제품의 대한민국을 대표하는 친환경 고품질 사료첨가제로서의 위치를 공고히 하고자 한다. 또한, 국가고시품목으로서 B2B 거래를 활성화함과 동시에, 홈페이지 및 전자상거래몰을 개설하여 B2C 시장에도 진입할 계획이다.

- 해외의 경우 성장세가 가파른 중국과 인도네시아를 중심으로 살펴보았는데, 중국의 경우 ‘에이전트’의 역할이 지대하고, 인도네시아의 경우는 현지 대리점을 통한 직접 판매가 높은 것으로 판단되었다. 본 제품이 상품으로서의 더 표준화된 공신력을 갖게 되는 경우, 해외 박람회 참석이나 KOTRA 지원 등을 통해 해외 수출 판로 개척을 시도해볼 수 있다.

4-3. 연구개발 결과의 활용방안

(1) 시제품 출시 (제품명: 소, 돼지, 닭의 생육증강을 위한 보조제)

- 주기능: 소, 돼지, 닭의 생육기간(출하기간)단축, 면역력강화, 우유 달걀 등의 신선도증강 및 유효성분증강
- 성능: 출하일수 단축으로 인한 비용절감(농가수익증대), 항염증 항박테리아 성분으로 면역강화와 병균의 2차감염 예방, 우유의 항산화물질 증강, 달걀의 껍질강화, 노른자 강화, 돼지고기 기름의 불포화지방산화, 돼지고기의 향미 증진, 항산화물질 증강

(2) 홍보물 제작

- 홈페이지 및 브로슈어 제작, 언론홍보

(3) 제품 표준화

- 공장 부지 마련 및 자동화 시스템 구축
- 제품 성분 분석 시스템 구축 (제품 랜덤 추출하여 성분 분석, 제품 구성 물질 검증)

(4) 추가 연구

- 닭, 돼지, 소의 생산성을 극대화할 수 있는 최적의 음수 비율 확인
-> 생육증강 보조제 동물 급여 매뉴얼 마련
- 법제나노유통수의 항균 기능 확인 실험 (동물의 면역력 증진에 미치는 영향 분석)

(5) 비즈니스 확장 계획: 식물용 제품 개발

- 제품명(案): 곡류, 채소류, 과실류 전반의 생육증강, 병충해 예방 및 치료제
- 주기능: 식물 생장속도 증가, 토양 산성화 예방, 유해 곰팡이 및 병충해 예방
- 성능: 유효성분 증강, 항산화물질 함유량 증강

4-4. 기대성과 및 파급효과

(1) 기대성과

- 제조업 창업에 따른 고용창출 효과
- 우수한 품질의 제품을 저렴한 가격으로 농축산 시장 공급
 - ※ 농축산 외 타 분야 활용을 통한 지역 경제 활성화 이바지 가능
- 정부 규제품인 항생제를 대체할 수 있는 친환경 제품 출시

(2) 향후계획

- 현재까지의 연구실적 체계적 정리 및 홍보물 제작
- 제품 자동화 및 표준화 위한 추가 연구 실행
- 제품 자동화 및 표준화 위한 공간 및 설비 마련
- 정부고시품목 등록 추진
- 제품 해외 수출 추진 (시제품 발송, 거래처 확보, 공동 실험)
- 제품의 추가 성능 확인
 - : 동물감염병 예방에 본 제품이 미치는 영향
 - : 식물로의 제품 확장 사용 가능성 확인

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 법제나노유황을 함유한 친환경 미네랄 생육증강보조제				
	(영문) Mineral additive with mineral detoxified nano particle sulphur				
주관연구기관	파이브앤시그니처	주 관 연 구 책 임 자	(소속) 대표		
참 여 기 업			(성명) 박인선		
총연구개발비 (69,000천원)	계	69,000천원	총 연구 기간	2020. 05. ~ 2020. 05. .(1년)	
	정부출연 연구개발비	69,000천원	총 참 연 구 원 수	총 인원	8
	기업부담금			내부인원	1
	연구기관부담금			외부인원	7

○ 연구개발 목표 및 성과

대한민국 특허등록이 완료된 ‘광물제독 미립자 유황 사료첨가제(제10-1997773호)를 기반으로 식물성 미네랄을 첨가하고 법제유황을 수나노 시켜 체내 흡수력과 영양성분을 개선시킨 ’법제나노유황수(법제나노유황을 함유한 친환경 미네랄 생육증강보조제)’의 안전성 및 면역력개선능 및 육질 개선능, 생산량 개선능에 대한 검증

○ 연구내용 및 결과

- 가. 마우스를 활용한 법제나노유황수의 안전성 실험: 수컷 마우스 25마리에 법제나노유황수를 원액(1x), 10x, 100x, 1000x로 경구투여하고 14일간 관찰한 결과 모두 순조로운 체중증가를 보였고 사망개체 발견되지 않음
- 나. 비육돈 160두에 법제나노유황수를 음수 투여하여 대조구와 비교한 결과, 시험구의 체중 및 혈액 내 포도당, 칼슘, 고지중지단백콜레스테롤 수치가 높게 나왔으며, 육질특성조사에서는 등심 PH 수치와 보수력은 높게, 가열감량 및 저장감량은 낮게 나타남
- 다. 육계 800수에 법제나노유황수를 음수 투여하여 대조구와 비교한 결과, 시험구의 증체량이 증가했고, 장 내 미생물 중 유익균인 락토바실러스수는 증가했으며 유해균 대장균수는 감소함. 또한, 육질특성조사에서 가슴육의 REDNESS가 높게 나타났고 저장감량은 낮게 나타남

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 가. 특허출원 (출원번호: 10-2020-0060821 / 출원인: 박인선 외 1명)
 - 특허명: 법제나노유황 함유 생육증강보조제의 제조방법 및 법제나노유황 함유 생육증강보조제를 이용한 가축 사육 방법
- 나. 해외논문 출원
 - 법제나노유황수가 비육돈 생산성에 미치는 영향 (학회지: Journal of Applied Animal Research)
 - 법제나노유황수가 육계 생산성에 미치는 영향 (학회지: Poultry Science)

자체평가의견서

1. 과제현황

	과제번호		819017-1		
사업구분	농림축산식품연구개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농식품연구성과후속지원사업				주관
총괄과제				총괄책임자	
과제명	생육증강보조제 법제나노유황수 개발			과제유형	기초
연구기관	파이브앤시그니처			연구책임자	박인선
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2019.05~2020.05	69,000		69,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
계					
참여기업					
상대국			상대국연구기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

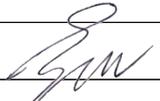
2. 평가일 : 2020. 7. 31.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
파이브앤시그니처	대표	박인선

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확약	박인선	
----	-----	---

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

안전성 검증을 위해 마우스에 경구 투여 실험한 결과 원액을 투여한 실험구에서도 사망개체가 발견되지 않음. 또한 생산성 증대 효과 검증을 위해 대한민국에서 가장 소비율이 높은 돼지와 닭에 실험을 진행한 결과, 돼지에서는 혈액특성과 육질특성, 닭에서는 장 내 미생물균총 정상화 및 육질특성에서 우수한 결과를 보임

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

유행은 체내에 꼭 있어야 하는 필수원소이나 섭취하기 쉽지 않음. 광물성 유행의 특성 때문에 식물성 유행을 사용하는 경우가 많은데 이는 효과면에서 떨어지며 가격경쟁력이 없음. 본 연구는 광물성유행에서 독을 제거하여 이를 베이스로 개발된 제품으로, 원액 섭취 시에도 사망개체가 나오지 않을 정도로 안전하고, 축산농가의 생산성 향상에 도움을 주며 향상된 품질의 축산물 제공에 기여함이 입증됨

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

육계, 비육돈을 대상으로 한 실험을 완료하였으므로, 여기서 그치지 않고 산란계, 소 등 다양한 축산업계에서 활용 가능할 것으로 생각되며, 향후 농업에서의 효과도 기대해볼 수 있음

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

과제수행 기간 동안 총 3종의 동물실험, 총 1종의 문헌연구를 완료함. 이를 토대로 1건의 특허출원을 완료하고, 해외논문 출원 2건을 완료함

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지식소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

해외논문의 경우 아직 검토 단계에 있으며, 등록 확정 시 연구결과는 더욱 의미있게 활용될 것으로 보임.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
특허출원 1건	60	100	특허출원 완료
해외논문출원 1건	40	100	해외논문 2건 출원 완료
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

예비창업자로 본 과제를 시작한 이래, 창업을 완료하였고 여성기업으로 인증됨. 개발된 제품은 현재 계란유통회사를 통해 산란계 농장 두 곳에 납품되고 있으며, 기존 연구결과와 추가 연구결과를 종합하여 홈페이지 개설, 언론홍보 등의 영업을 실시하고 정부고시제품으로 등록할 경우 B2B, B2C 시장에서 빠르게 성장할 것으로 기대됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 과제는 1년짜리 과제였으므로 종료되었지만, 유향의 항균기능은 예로부터 널리 알려져 왔고, 금번 실험에서도 돼지 및 닭의 건강증진에 도움이 되는 것으로 판단되는 만큼, 본 제품이 인공 항생제 대체제로서 사육환경을 개선시키고 가축의 면역력을 높이는 데 기여한다는 것을 추가로 입증한다면, 대한민국 농축산 경쟁력 향상에 크게 기여할 것으로 사료됨

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

--

2. 연구기관 자체의 검토결과

--

연구기간내 달성실적	1										2							
달성율(%)	100										100							

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	독성이 강한 광물성 유황(S)의 독을 없애고 제독 또는 법제한 나노 크기의 유황분말에 식물성 영양성분을 첨가하여 액상의 법제나노유황 함유 미네랄 생육증강보조제로 제조하는 기술
②	친환경 미네랄 생육증강보조제 법제나노유황수를 활용한 가축사육 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술복제	외국기술소화흡수	외국기술개산개발	특허출원	산업체이전(상품화)	현장으로결	정책자료	기타
①의 기술		0				0	0			
②의 기술		0				0				
③의 기술										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	자동화 시스템 구축으로 제품 표준화, 제품 패키지 개발 및 홍보물 제작
②의 기술	최적의 배합비율 도출 위한 추가 실험 진행, 동물 및 식물 면역력 증진 효과 실험

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권		기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타(타연구활용등)	
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출		투자유치	논문				학술발표	정책활용		홍보전시
												SCI	비SCI						
단위	건	건	1건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	1건	명				
가중치																			
최종목표																			
연구기간내																			

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