

< Original Article >

법제유황의 실용적 제조에 따른 물리 화학적 분석 및 독성, 항균 작용에 관한 연구

인동철 · 유도현 · 박 철 · 박진호*

전북대학교 수의과대학

Physiochemical analysis, toxicity test and anti-bacterial effect of practically detoxified sulfur

Dong-Chul In, Do-Hyeon Yu, Chul Park, Jinho Park*

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Received 11 May 2012; revised 21 August 2012; accepted 29 August 2012)

Abstract

Despite of a long history of the sulfur on the disease healing effect, there were limited ways of applying sulfur to animal and human. We have developed the detoxified sulfur (non toxic sulfur) method to make it practical and mass production possible through laboring for many years. This study practiced scanning electron microscope (SEM), Energy dispersive X-ray spectrometer (EDS) and secondary ion mass spectrometry (SIMS) analysis to investigate the physicochemical aspect of detoxified sulfur. We also performed the oral toxicity experiment to mice, and anti-bacterial test of the detoxified sulfur. Based on the SEM, EDS and SIMS results, the united particles in the mass form with the similar component intensity with the raw sulfur were observed, and hydrogen sulfide ion (HS-) component which is regarded as a toxic matter, was decreased after detoxification. Indeed, toxicity test on the mice (10 males, 10 females) showed no clinical, histopathological changes with the 5 times amount (2,500 mg/kg) of the actual doses. However, the male-mice showed decreased in body weight by 23.6%, 24.3% in the 7th, 14th day, respectively, after detoxified sulfur. Moreover, the female-mice administered the detoxified sulfur showed decreased in body weight by 28.7% ($P < 0.05$) than that in the control group on the 14th day. The result of antibacterial test on the detoxified sulfur showed antibacterial effect (27%) to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. It is shown that detoxified sulfur can be used as feed additive and has an affect on the farm performance.

Key words : Sulfur, Detoxification, Physicochemical component, Toxicity test, Antibacterial test

서 론

유황(S)은 질병 치유의 오랜 역사를 가지고 있는 광물질 유황의 근원이 되는 물질로서, 인체와 동물의 생체원소인 수소(H), 산소(O), 질소(N), 나트륨(Na) 등 14종의 원소 중 8번째로 많은 비율을 차지하고 있는 생체필수 영양소이다. 현재까지 잘 알려진 유황에 대

한 효능으로는 통증 완화 및 염증 제거 작용, 항산화 작용과 세균, 바이러스, 박테리아, 곰팡이와 같은 병원체에 대한 멸균작용 등이 보고되어 있다. 특히, 항진균작용과 각질용해 작용은 피부병 치료에 매우 적합해 일반적으로 피부병 치료제로 자주 이용된다 (Guadagnini, 1953; Libenson 등, 1953; Grimble과 Grimble, 1998; Gupta와 Nicol, 2004). 따라서 미국을 비롯한 여러 나라의 대체의학 병원에서는 유황을 항암제, 염증치료 및 통증 완화제, 류마티스, 피부경화 치료

*Corresponding author: Jinho Park, Tel. +82-63-270-2557,
Fax. +82-63-270-3780, E-mail. jpark@jbnu.ac.kr

제 등으로 다양하게 사용하고 있다.

한편, 국내 산업동물 생산에서 가장 큰 문제점 중에 하나는 면역력이 저하되고 있다는 사실이다. 이러한 문제점의 주요 원인은 집약적인 대규모 생산방식, 고밀도 사육, 약제의 과다사용, 사료원료의 화학 처리제 사용 증가, 그리고 가공 사료의 증가 등이 있다. 산업동물에서 질병을 예방하지 못하거나 질병에 대한 저항성이 낮아지면 축산 농가나 산업체에서는 생산성이 낮아져 경제적 손실을 입게 된다. 따라서 축산 농가나 산업체에서 질병에 대한 저항성을 높이기 위해 항생제 혹은 백신 요법 등 다양한 노력이 시도되고 있으나, 그 효과는 미미한 실정이다. 그 여파로 국내 축산업은 생산성 저하 및 소규모 축산농가의 몰락 등 많은 문제점을 가져왔다. 즉, 산업동물의 증체를 향상, 폐사율 감소 및 치료비용 감소 등과 같은 문제를 해결하여 직접적인 축산 농가 및 산업체의 생산성 증대에 도움을 주기 위해서는 대체 항생제나 면역증강제 또는 기능성 첨가제 및 대사 촉진제 등의 개발이 국내 축산업 영역에서 필수적으로 요구되는 사항이다.

이러한 상황으로 볼 때, 유향의 사료 첨가는 국내 축산업의 생산성 향상과 양질의 육질 공급에 큰 도움이 될 것으로 생각한다. 그러나 광물질의 유향은 열독성이 강해 법제과정이 선행되지 않고서는 동물이나 사람이 복용할 수 없다. 따라서 광물질 유향을 오리에 먹여서 법제시킨 후, 이 법제된 유향을 사람이 먹는 방법이 전해지고 있다. 이에 선진국에서는 소나무에서 추출한 식물성 유기유향을 적용하고 있으나, 그 생산 단가가 높기 때문에 실용화되지 못하고 있으며, “유향의 법제”와 관련되어 보고되고 있는 가공 기술 또한, 그 법제 과정이 워낙 까다롭고 난점이 많아 실용화하기가 매우 어려운 현실이다. 즉, 현재까지 보고된 법제유향의 제조 방법은 그 한계가 있어 상업적으로 적용하기 위한 대량생산이 불가능한 것이 문제점이었다.

따라서 본 연구진은 법제유향의 실용적 생산기술 확립 및 이를 활용한 농·축산업에의 응용 연구개발을 위해 법제유향의 실용적 제조에 대한 가능성 여부와, 이러한 법제유향의 다양한 효능을 농·축산물에 적용하여 그 실용성을 파악하고자 이번 연구를 수행하였다. 이러한 목적으로 유향을 법제하여 독성을 약화시킨 후, 이화학적 분석, 독성 실험 그리고 항균실험을 수행하였다. 추가로 실제 계사내에 법제 유향을 투여하여 그 효과를 비교하였다.

재료 및 방법

광물성 유향의 법제 방법

먼저 활력수(알칼리 환원수)의 제조를 위하여 증류수에 미약전류와 원적외선을 24~48시간 조사하였다. 그리고 제조된 활력수에 광물성 유향(생-유향)을 혼합하여 잘 교반한 뒤 48~72시간 동안 숙성시켰다. 숙성 과정 중에 맥반석을 혼재하여 맥반석에서 방사되는 원적외선을 조사시켜서 생유향의 숙성을 진행하였다. 다시 숙성된 유향을 회수하여 건조기에 넣고 60~80°C의 온도에서 열풍건조방식으로 건조시킨다. 건조된 혼합물을 다시 상기의 방법으로 재차 혼합, 숙성 및 건조를 시킨 후 얻어진 혼합물 덩어리를 분쇄기로 곱게 분쇄하여 최종산물인 법제유향을 얻었다.

이화학적 분석

SEM 및 EDS 분석: 법제유향과 법제가 안된 생유향 분말의 입자 크기 및 모양을 관찰하기 위하여 주사전자 현미경(SEM; Scanning Electron Microscope)을 이용하였고, 법제유향 분말의 정성 및 정량분석을 위해 에너지 분산형 X선 분석법(EDS; Energy Dispersive X-ray Spectrometer)을 이용하여 성분 분석을 하였다.

SIMS 분석: 법제유향과 생유향 분말의 화학적 성분과 표면구조를 얻기 위해 이차이온 질량분석기(SIMS; Secondary Ion Mass Spectrometry)를 이용하여 분석하였다.

독성 시험

실험물질: 상기의 방법으로 제조된 법제유향 2.5 g을 Corn Oil 10 ml에 혼합하여 실험동물에 투여할 실험물질로 사용하였다. 이 농도는 가축에서의 실제 사용량(0.5 g/kg B.W)의 5배에 해당되는 용량이다.

실험동물: 이번 실험에는 5주령의 ICR 마우스 수컷 10마리와 암컷 10마리가 제공(오리엔트바이오)되었다. 수컷 마우스의 체중은 27.59~29.34 g이었고, 암컷의 체중은 19.78~22.85 g이었다. 실험동물에게 급여된 사료는 방사선(2.0 Mrad)으로 멸균된 실험동물용 쥐-사료(퓨리나코리아)를 급여하였고, 음수는 자외선으로 살균된 음용수를 자유섭취 시켰다.

실험물질의 투여: 실험물질을 투여하기 4시간 전부

터 사료공급을 중단하였고 음수만 공급하였다. 실험 물질의 투여는 마우스 경구투여용 주사기를 이용하여 위내에 1회 강제로 투여하였다. 대조군은 멸균증류수를 투여하였다.

시험항목: 전체 실험동물에 대하여 매일 1회 이상 임상증상을 관찰하였다. 단, 투여 당일에는 투여 후 4시간까지는 매시간 임상증상을 관찰하였다. 임상증상의 관찰은 투여 후 14일째까지 실시하였다. 그리고 체중의 측정은 입식 시 실험물질 투여 직전 그리고 투여 개시 후 7일과 14일째(시험 종료일)에 측정하였다. 또한, 실험물질의 투여 후 14일째(시험 종료일)에 모든 실험동물의 외관검사를 한 다음 부검을 하여 모든 장기에 대한 이상 유무를 관찰하였다.

항균 시험

필터 멸균시킨 액상 법제유황 및 액체 증균 배지에 항생제(vancomycin, methicillin, penicillin, ampicillin, amoxicillin)를 각각 일정비율로 혼합하여 항균시험용 액상배지를 만들었다. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)와 *Staphylococcus (S.) aureus*를 접종하여, 4시간 후 spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 증가된 세균의 증식을 판정하였다. 그리고 배지에 첨가된 항생제 및 유황의 농도에 따른 세균의 항균 능력을 대조군(세균)과 비교하여 판정하였다.

육계에 대한 투여 시험

실험동물: 이번 시험에 제공된 공시동물은 Broiler로, 품종은 미국산 Cobb종으로 총 41,000수(대조군 20,500수 및 시험군 20,500수)의 닭이 제공되었다. 그리고 본 실험동물의 사육은 전북 부안소재 농장에서 사육되었다.

공시제품: 이번 시험에 제공된 제품은 특허제법으로 제조된 법제유황이 50% 함유된 사료첨가제이며, 이 제품을 사료 1톤당 1 kg의 비율로 혼합하여 입추 때부터 출하 때까지 4주간 투여하였다. 대조군은 법제유황 무-첨가 사료를 급여하였다.

시험항목: 전체 사육기간인 입추부터 출하 때까지 평균중체량, 총폐사수, 사료 요구량 등을 점검하여 기록하였다. 또한, 투여기간 동안 법제유황으로 인한 임상 증상 발현 여부도 관찰하였다. 시험 항목별로 매주 단위로 측정하여 기록하였다.

계사 내 암모니아 가스 감소 효과 시험

실험동물: 이번 시험에 제공된 공시동물은 Broiler(품종: Cobb)로 총 30,000수의 닭(대조군 15,000수 및 시험군 15,000수)이 제공되었다. 그리고 본 실험동물의 사육은 전북 임실소재의 (주)하림 위탁사육농장에서 수행하였다.

공시제품: 이번 시험에 제공된 공시제품은 법제유황이 50% 첨가된 제품으로, 시험군에 입추 때부터 출하 때까지 사료 1톤당 본 제품 1 kg의 비율로 혼합하여 지속적으로 급여하였다. 대조군은 법제유황이 무-첨가된 사료를 급여하였다.

시험항목: 계사 내 분변에서 발생하는 암모니아 가스(NH³⁺)를 측정하기 위해 Z-800XP 가스 측정기(QRAE II, RAE system)를 사용 하였다. 가스 측정은 바닥에서 10 cm 높이에서 1주 간격으로 날짜별 및 시간별로 측정하여 기록하였다.

닭고기 품질에 대한 법제유황 급여 효과 시험

실험동물: 이번 시험에 제공된 공시동물은 Cobb종의 Broiler로 시험군 및 대조군 각각 15,000수씩 총 30,000수의 닭이 제공되었다. 그리고 본 실험동물의 사육은 전북 임실군에 있는 육계농장에서 실시하였다.

공시제품: 이번 시험에 사용된 제품은 법제유황이 50% 첨가된 사료첨가제(제품명 : 애니셀)로, 본 제품을 사료 1톤당 1 kg의 비율로 혼합하여 시험동물에 급여하였다. 급여기간은 입추 때부터 출하 때까지 꾸준히 급여하였다. 대조군은 법제유황 무-첨가 사료를 급여하였다.

시험항목: 출하 직전에 시험동물을 안락사시켜 육계의 가슴근육 시료를 채취하였다. 그리고 이에 대한 화학적 특성, 지방산 조성 및 아미노산 조성에 대해 정밀 분석을 하였다. 시료 채취는 법제유황을 급여한 시험군과 무-투여 대조군으로부터 무작위로 각각 3마리의 닭을 추출하여 가슴근육을 채취하였다.

통계 처리

얻어진 결과에 대한 통계분석은 SAS통계 프로그램을 이용하여 Student t-test와 General Linear Model 후 Duncan 사후검증 방법으로 처리하였고, 평균 간의 유의성을 검정하였다.

결 과

법제유황의 실용적 제조

이번 연구에서 개발한 생-유황의 법제방법은 그 과정이 복잡하지 않고 시간도 많이 소요되지 않기 때문에 산업화를 위한 대량 생산이 가능한 것이 장점이다. 개발된 법제유황의 주된 법제과정은 자체 개발한 활력수(미약파장과 원적외선을 조사해서 만든 알칼리수)로 유황을 숙성시키는 것이 특징이며, 숙성과정 중에 원적외선을 한번 더 방출시켜 유황을 법제(제독)하는 것이 특징이다. 상기의 방법으로 법제된 유황을 동물에게 적용 시 어떠한 부작용도 나타나지 않았다.

이화학적 분석 결과

SEM 및 EDS 분석: 특허제법으로 법제한 유황과 법제가 안 된 일반(생)유황에 대한 SEM에서 관찰한 결과, 생유황의 입자들은 분산된 반면에 법제유황의 입자들이 덩어리로 뭉쳐져 있는 모습을 볼 수 있었다. EDS 분석에서는 일반 유황과 법제유황의 EDS peak 가 둘 다 2.3 keV에서 나타나는 비슷한 양상을 보였다(Fig. 1).

성분의 분석: 일반 유황의 S 성분은 weight가 71.62% atomic이 46.76%이었으며, 법제유황의 S 성분은 weight가 70.87% atomic이 45.64%이었다. 한편, 일반

유황의 C 성분은 weight가 4.57% atomic이 7.97%이었으며, 법제유황의 C 성분은 weight가 5.40% atomic이 9.28%이었다. 이러한 결과로 보아 S 성분은 법제유황에서 다소 감소되는 경향을 보였고 C 성분은 법제유황이 약간 증가된 양상을 보였다(Table 1).

SIMS 분석: SIMS 분석에서 일반 (생)유황에 대한 S 성분의 intensity는 1.3×10^4 이었고 HS- 성분의 농도는 6.0×10^3 이었다. 법제유황에 대한 S 성분의 intensity는 7.0×10^3 이었고 HS- 성분의 농도는 3.0×10^3 이었다(Fig. 2). 일반 유황에 비해 법제유황의 S 성분의 intensity는 46.15% 감소되었고, HS- 성분의 intensity도 50% 감소되었다. 이러한 결과를 통하여 독성물질인 HS- 농도가 유의성 있게 감소되었음을 알 수 있었다.

독성시험 결과

사망률 및 임상증상: 시험 동안 법제유황 투여군(G2) 및 대조군(G1)의 모든 동물에서 사망한 예는 볼 수 없었다. 그리고 임상증상도 시험군 및 대조군 모두에

Table 1. Analysis of ingredient of raw and detoxified sulfur

Element	Weight%		Atomic%	
	Raw-sulfur	Detoxified sulfur	Raw-sulfur	Detoxified sulfur
Boron (B)	23.35	23.61	45.22	45.10
Carbon (C)	4.57	5.40	7.97	9.28
Sulfur (S)	71.62	70.87	46.76	45.64
Iron (Fe)	-0.09	0.10	-0.03	0.04
Lanthanum (La)	0.54	0.40	0.08	0.06
Total	100.0	100.0		

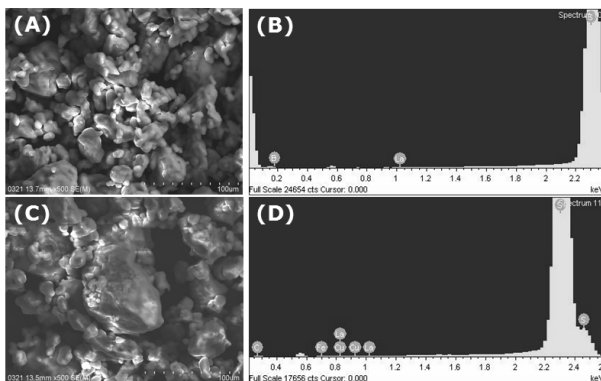


Fig. 1. Scanning Electron Microscope (SEM) (A, C) and EDS (Energy Dispersive X-ray Spectrometer) analysis of the raw (A, B) and detoxified sulfur (C, D). SEM showed that the particles of the raw sulfur was scattered, while ones of the detoxified sulfur were massed. EDS analysis was appeared that EDS peaks of raw and detoxified sulfur were both similar aspect in the 2.3 keV.

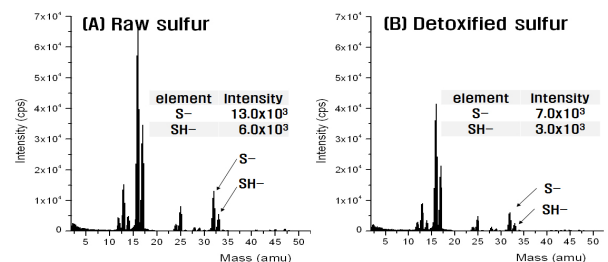


Fig. 2. SIMS analysis of raw (A) and detoxified sulfur (B). S component of raw sulfur was 13×10^3 in intensity and HS- component was 6.0×10^3 in intensity in the SIMS analysis, whereas S component of detoxified sulfur was 7.0×10^3 in intensity and HS- component was 3.0×10^3 in intensity. S component decreased by 46.15% more than that of raw sulfur in intensity and HS- component decreased by 50% in intensity. This study showed that HS- component, a toxic matter, had the significant decrement in intensity from this results.

서 이상 소견을 보인 동물은 관찰되지 않았다.

체중의 변화: 시험군(G2)과 대조군(G1)의 모든 동물의 체중 변화를 일주일 간격으로 점검하여 기록하였다. 그 결과, 대조군의 수컷은 시험 개시 직전의 체중은 28.43±0.82 g이었고, 7일 후에 체중이 33.34±0.75 g으로 4.91 g이 증가되었으며, 14일 후에는 체중이 37.14±1.01 g으로 8.71 g이 증가되었다. 반면에 시험군의 수컷은 시험 개시 직전의 체중은 28.12±0.52 g이었고, 법제유황 투여 7일 후에는 체중이 31.87±0.94 g으로 3.75 g이 증가되었으며, 투여 14일 후에는 체중이 34.71±0.82 g으로 6.59 g밖에 증가되지 않았다. 즉 법제유황을 투여한 시험군의 수컷에서 투여 후 7일째와 14일째에 대조군과 비교 시, 증체량이 유의성 있게 감소하였다($P < 0.05$). 대조군의 암컷의 평균 체중은 시험 7일 후에는 2.68 g이 증가되었고, 14일 후에는 5.43 g이 증가되었다. 반면에 시험군 암컷의 평균 체중은 법제유황 투여 7일 후에는 2.17 g이 증가되었으며, 투여 14일 후에는 3.87 g밖에 증가되지 않았다. 법제유황을 투여한 시험군의 암컷에서 투여 후 14일째에 대조군과 비교 시, 증체량이 유의성 있게 감소하였다($P < 0.05$) (Table 2).

부검 시 육안 소견: 시험 종료일에 법제유황 투여군(G2)과 대조군(G1)의 모든 동물을 안락사시켜 부검을 실시하였다. 주요 장기에 대한 육안적 관찰 결과 투여 동물과 대조 동물 모두에서 부검시 특이할 만한 육안 소견이 관찰되지 않았다.

LD₅₀치: 상기의 얻어진 결과를 보면, 법제유황의 투여량인 체중 kg 당 2,500 mg의 용량을 투여했을 때 시험동물이 사망하거나 장기의 손상이 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 미루어 보아 법제유황에 대한 LD₅₀치는 암수 모두 2,500 mg/kg 이상임을 알 수 있었다.

항균시험 결과

S. aureus 및 *E. coli*에 대한 여러 항생제와 법제유

황의 항균시험 결과, 법제유황이 함유된 배지에서 그람-양성균인 *S. aureus*의 성장을 억제하는 항균효과(27%)를 보였다(Table 3). 그러나 그람-음성균인 *E. coli*에 대해서는 법제유황의 항균효과가 미약하게 나타났다.

닭에 대한 투여시험 결과

전체 실험기간동안 체중의 변화를 살펴보면, 실험 시작 시, 대조군과 투여군의 1수당 평균 체중이 각각 185 g 및 179 g으로 대조군의 체중이 약간 높게 출발하였다. 그러나 실험 종료일인 출하 시에는 1수당 평균 체중이 대조군은 1,058 g이었고, 투여군은 1,084 g으로 오히려 투여군의 체중이 더 높았다. 출하 때까지 수당 평균 증체량은 대조군은 873 g이었고, 투여군은 905 g이었다. 즉, 법제유황 투여로 인한 체중감소가 나타나지 않았고, 투여군에서 오히려 1수당 32 g (3.6% 증가)이 더 증체되었다. 또한, 전체 투여기간동안 폐사율을 살펴보면, 대조군의 총폐사율은 1.74%이었고 투여군의 총폐사율은 1.54%이었다. 두 군간의 유의성은 없었으나, 대조군에서 총폐사율이 약간 높았다. 주별 폐사율도 투여 후 2 주째만 제외하고 대체로 대조군에서 폐사율이 높았다(Table 4).

사료 요구율(Feed conversion)은 대조군에서 1.75이었고, 투여군은 1.57로 투여군의 사료 요구율이 더 양호하였다. 육성률은 대조군이 98.25%이었고, 투여군은 98.45%이었던 바, 모든 그룹이 육용계의 평균 육성률인 97%보다 높았다. 또한, 법제유황 투여에 의한 육성률 저하는 관찰되지 않았고, 육계를 사육하는 기간 동안 일체의 항생제는 투여하지 않았다.

계사 내 암모니아 가스 감소 효과

30,000 수의 육계(품종: Cobb)에 법제유황이 함유 제품을 사료에 혼합하여 입추 때부터 출하 때까지 급여한 후, 계사내 암모니아 가스(NH³) 농도의 변화를

Table 2. Change of the body weights (g) in the mice administered detoxified sulfur

Group	Dose (mg/kg)	Sex (head)	0 day	7 days	14 days
G1	0	Male (5)	28.43±0.82	33.34±0.75	37.14±1.01
		Female (5)	21.14±0.57	23.82±1.46	26.57±1.28
G2	2,500	Male (5)	28.12±0.52	31.87±0.94*	34.71±0.82*
		Femal (5)	21.26±1.14	23.43±0.95	25.13±1.05*

*Significantly different from values of control group at $P < 0.05$.

Table 3. Comparison of the OD value of bacterium in the media with detoxified sulfur or antibiotics

	OD value	Media control	Detoxified sulfur	Antibiotics +bacteria	Bacteria	Detoxified sulfur+ bacteria
<i>S. aureus</i>	0.000		0.016	0.044	0.241	0.177
<i>E. coli</i>	0.000		0.007	0.012	0.617	0.591

Table 4. Change of body weights in broiler administered raw and detoxified sulfur

Group	Heads	Before weight	After weight	Weight-gain
Control	20,500	185 g	1,058 g	873 g
Treated	20,500	179 g	1,084 g	905 g

1주 간격으로 측정한 결과, 투여 후 7일째 새벽에 시간대별로 암모니아(NH_3) 농도를 측정한 결과 대조군은 시간이 경과될수록 암모니아 농도가 계속 상승한 후 측정 후 19시간째에 최고치인 16.5 ppm에 이르렀다가 그 후에 감소된 후 27시간째 이후부터는 14 ppm 수준에서 유지된 반면에 투여군의 암모니아 농도는 측정 후 19시간째에 최고치인 13.5 ppm에 도달된 후 그 후부터 감소하여 24시간째부터는 12 ppm 이하로 유지되었다. 두 번째 측정에서는 대조군의 암모니아(NH_3) 농도가 측정 후 1시간째부터 상승하기 시작하여 상승(4.5 ppm)과 하락(3.2 ppm)을 반복한 후, 측정 33시간째에 최고치인 6 ppm에 이른 후 35시간째까지 그 농도가 유지된 후 하락하였다. 반면에 투여군은 측정 1시간 후부터 완만하게 상승(2.7 ppm)한 후 측정 23시간째에 그 농도가 하락(1.8 ppm)을 보인 후 측정 33시간째에 최고치인 3.8 ppm에 이른 후 곧바로 하락하였다(Fig. 3).

첫 번째 측정에서는 최저농도에서 대조군과 투여군의 암모니아 농도 차이가 16.6%이었고, 최고농도에서 대조군과 투여군의 암모니아 농도 차이가 22.2%로 의미 있는 차이를 보였다. 그리고 두 번째 측정에서도 최저농도에서 대조군과 투여군의 암모니아 농도 차이가 77.7%이었고, 최고농도에서 대조군과 투여군의 암모니아 농도 차이는 57.8%로 역시 의미 있는 차이의 경향을 보였다. 전체 실험기간동안 법제유황 투여에 의한 이상 소견은 관찰되지 않았고, 이번 실험에서도 육계를 사육하는 기간 동안 일체의 항생제는 투여하지 않았다.

닭고기 품질에 대한 법제유황 급여 효과

육용계에게 특허제법으로 법제한 유황을 30일간 투여한 후, 투여군과 대조군의 닭 가슴살에 대한 화학적 특성, 지방산 조성, 아미노산 조성에 대해 정밀 분석을 시행하였다. 먼저 근육내 무기물(S) 함량을 분석한 결과, 법제유황 투여군의 S 성분의 평균 농도가 0.234%, 대조군의 S 성분의 평균 농도가 0.228%로 투여군에서 약간 높은 경향을 보였으나 유의성은 없었

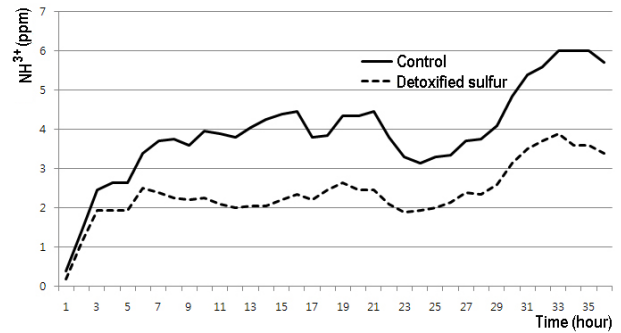


Fig. 3. Flow of ammonia gas (NH_3) concentration of control and administered detoxified sulfur group. The result of the second measurement of ammonia gas concentration revealed detoxified sulfur administration to the broiler chicken produced less ammonia gas than control group.

다. 포화지방산의 일종인 eicosanoic acid가 대조군(0.605%)에 비해 투여군(0.55%)에서 현저하게 감소되었는데, 이것은 eicosanoic acid 성분 중 몸에 나쁜 arachidonic acid의 농도가 대조군(0.276%)에 비해 투여군(0.196%)에서 유의성있게 감소하였기 때문이다 ($P < 0.05$). 염증과 통증유발 물질인 PG-2 (prostaglandin-2)의 원료물질이 arachidonic acid인 것을 감안하면 유황의 통증억제 효과와 관련이 있는 것으로 보인다. 또 다른 특징은 심장병과 당뇨에 좋은 vaccenic acid가 대조군에서는 검출되지 않았으나, 법제유황 투여군에서 미량(0.09% 및 0.08%)이지만 검출되었다(Table 5). 또한, 아미노산 조성을 분석한 결과, threonine, serine, glutamic acid, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine이 증가되는 경향을 나타내었다(Table 6).

고 찰

유황은 질병 치료에 대한 오랜 역사를 갖고 있으며 (Fortina 등, 2005), 허준의 동의보감이나 중국고전문헌에도 유황은 만병을 물리친다는 ‘천하의 명약’으로 알려져 있다(허, 1991). 그러나 유황은 독이 있어 사람이나 동물이 이를 직접 섭취하기 위해서는 반드시 법제하여야 한다. 법제는 한방용어로 자연에서 채취한 원-생약을 복용 약으로 사용할 수 있도록 처리하는 과정을 말한다. 자연에서 채취한 광물이나 식물 등의 원-생약은 독성이 있을 수도 있고, 바로 사용하기에 적당치 않거나 약성이 약하여 별도의 과정으로 약효를 높일 필요가 있다. 따라서 이러한 원-생약의 가공과정을 법제라 말하며 원-생약마다 법제 방법은

Table 5. Analysis of fatty acids in *Pectoralis thoracica* of fowl administered raw and detoxified sulfur

Fatty acids	Control group	Experimental group
Myristic acid (C14:0)	0.98±0.03	0.91±0.04
Palmitic acid (C16:0)	26.6±0.64	27.5±0.70
Palmitoleic acid (C16:1n7)	6.97±0.59	7.45±0.47
Stearic acid (C18:0)	6.64±0.28	6.42±0.38
Oleic acid (C18:1n9)	45.0±0.90	45.2±0.23
Vaccenic acid (C18:1n7)	0.00±0.00	0.06±0.05
Linoleic acid (C18:2n6)	12.10±1.10	11.00±0.86
γ-Linoleic acid (C18:3n6)	0.12±0.02	0.11±0.02
Linolenic acid (C18:3n3)	0.71±0.06	0.65±0.03
Eicosanoic acid (C20:1n9)	0.61±0.01	0.55±0.03
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.28±0.09	0.20±0.08
Total (%)	100.0	100.0
Saturated fatty acid (%)	34.24±0.51	34.80±0.43
Unsaturated fatty acid (%)	65.76±0.51	65.20±0.43
-Mono (%)	52.85±0.83	53.24±0.58
-Poly (%)	13.00±1.52	11.96±0.95

Data are expressed as the mean±SD.

확연히 다르다.

유황을 법제하기 위한 시도는 과거부터 여러 차례 있어 왔다. 그러나 과거부터 구전으로 전해져오는 방법은 법제과정이 10여 단계를 거쳐야하는 바 실용적으로 대량으로 생산하여 산업에 적용하기에 어려움이 많은 것이 문제이다. 그리고 과거부터 알려진 방법인 오리에게 먹여서 법제하는 방법은 알려진 사실과는 많이 다르다. 실제로 오리에게 비-법제(일반) 유황을 급여하면 오리가 제대로 성장하지 못하고 전반적으로 시름시름 앓다가 약 40% 정도가 폐사하게 된다. 또한, 성장이 매우 늦고 간과 심장이 1.5배 이상 커지는 부작용이 있는 것을 아는 사람은 많지 않다. 이번 연구에서는 실용적이면서 대량으로 생산할 수 있는 광물성 유황 법제방법을 개발하기 위하여 수년간의 연구를 거쳐 광물성 유황에 대한 법제방법을 개발하게 되었다. 이 법제방법은 과정이 복잡하지 않고 대량생산이 가능한 것이 특징으로, 특허(특허등록번호: 제10-0874404호)도 취득하였고 가축용 사료첨가제로 만들어 시판 중이다.

특허방법으로 법제된 유황이 일반(비-법제) 유황과 이화학적으로 어떤 차이가 있는 지 알아보기 위하여 그 성분의 분석실험을 하였다. 원소의 형태 및 구성요소를 알아보기 위해 일반적으로 실시하는 방법인 SEM, EDS 및 SIMS 분석을 실시하였다. SEM 분석에서 일반(비-법제) 유황의 입자들이 덜 뭉쳐있고 분산된 반면에, 법제유황의 입자들은 뭉쳐져 있는 경향을

Table 6. Analysis of amino acids in *Pectoralis thoracica* of fowl administered raw and detoxified sulfur

Amino acids	Control group	Experimental group
Cystine (%)	0.27±0.00	0.26±0.01
Methionine (%)	0.54±0.01	0.52±0.01
Aspartic acid (%)	2.13±0.04	2.15±0.00
Threonine (%)	1.05±0.02	1.07±0.00
Serine (%)	0.88±0.02	0.91±0.01
Glutamic acid (%)	3.38±0.06	3.45±0.03
Glycine (%)	0.98±0.03	0.98±0.01
Alanine (%)	1.43±0.03	1.39±0.05
Valine (%)	1.05±0.03	1.03±0.01
Iso-leucine (%)	1.02±0.02	1.01±0.01
Leucine (%)	1.94±0.03	1.96±0.02
Tyrosine (%)	0.73±0.03	0.76±0.01
Phenylalanine (%)	1.04±0.06	1.10±0.16
Lysine (%)	2.16±0.10	2.10±0.03
Histidine (%)	0.86±0.07	0.87±0.02
Arginine (%)	1.40±0.02	1.41±0.04
Proline (%)	0.84±0.04	0.85±0.02

Data are expressed as the mean±SD.

보였다. EDS 분석 결과를 보면, EDS 피크는 모두 비슷한 양상을 보였으나, 성분분석에서는 S 원소의 weight가 다소 감소를 보였고, C 원소의 weight는 법제유황에서 약간 증가되는 경향을 보였다. 이들 결과를 보면 일반 유황과 법제유황은 성분상으로 유사함을 알 수 있다. 그러나 SIMS 분석 결과를 보면 법제유황에서 독성물질인 HS- 성분이 50%로 많이 감소된 것으로 보아 법제(제독)가 제대로 이뤄진 것으로 생각된다.

확실하게 제독이 되었는지를 다시 검증하기 위해 mouse에 대한 경구독성실험을 수행하였다. 필드에서 실제로 적용하고 있는 법제유황 투여량의 5배 용량으로 mouse에 경구투여한 결과, 실험동물이 폐사하거나 장기 손상이 일어난 예는 볼 수 없었다. 즉, 특허 등록된 방법으로 법제한 유황이 무독한 황이라는 것이 입증되었다. 체중의 변화를 관찰한 결과, 시험말기에 법제유황을 투여한 수컷의 평균 증체량이 대조군에 비해 유의성 있게 적었고($P < 0.05$), 암컷에서도 법제유황을 투여한 군의 평균 증체량이 대조군에 비해 유의성 있게 적었던 바($P < 0.05$), 이번 물질은 향후에 인체에 대한 독성실험을 거친 후 다이어트 원료로도 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

법제유황에 대한 독성실험에서 LD50치(rat, oral)가 2,500 mg/kg B.W 이상으로 확인되었다(Table 3~6). 통상적으로 안전물질의 기준을 경구 투여 시 2,000 mg/kg

으로 정해져 상기 용량으로만 시험하였기에 LD50에 대한 최고농도까지의 실험을 더 진행하지 못한 아쉬움은 있다. 일반 유향에 대한 MSDS (Material Safety Data Sheet) 자료(www.hess.com/EHS/msds/6192Sulfur.pdf)에 의하면, 유향(Sulfur)의 LD50치는 175 mg/kg인 바, 법제 유향이 무려 13배 안전성이 높은 것으로 확인되어 가축에게 안전하게 급여할 수 있는 것은 의미가 크다 할 수 있겠다.

유향에 대한 항균, 항-곰팡이작용은 널리 알려져 있는 바, 습진 등의 각종 세균성 및 곰팡이성 피부병에 자주 사용되어 왔다. 법제유향도 일반(비-법제) 유향과 동일한 항균효과를 알아보기 위해 *in vitro* 항균 시험을 실시하였다. 그 결과 그람-양성균이면서 피부 화농균인 *S. aureus*에 대해서 항균효과를 보였다. Weld와 Gunther (1947)가 일반 유향으로 항균시험을 하였을 때에도 *S. aureus*에 대해 항균효과가 있음을 보고하였는바, 법제유향도 이와 유사한 효과를 보였음을 알 수 있었다. 반면에 그람-음성균인 *E. coli*에 대해서는 약간의 항균효과를 보였으나 추후의 실험을 통해 법제유향의 농도를 높이면 그람-음성균에 대해서도 항균효과가 있을 것으로 생각된다.

법제된 유향이 항생제 대체 목적으로 닭에게 급여 시, 어떠한 부작용도 없이 출하 때까지 질병도 없이 잘 성장하는 지 알아보기 위해 사양시험을 실시하였다. 육용계에게 입추 때부터 출하 때까지 법제유향을 투여하였을 때 어떠한 이상 소견도 나타나지 않았고, 무-투여 대조군보다 유의성은 없으나 3.6% 더 증체되었다. 그리고 자연 폐사율도 대조군이 오히려 더 높았다. Park 등(2003)에 의하면 유기유향을 육용계에 급여한 실험 결과 유기유향 급여에 의한 유의성 있는 증체가 없었다고 보고하였다. 법제유향은 약간의 증체효과가 있었으나 유의성이 없었는바, 유기유향과 비슷한 결과를 보였다. 법제유향 투여에 의한 육성률 저하도 없었고 항생제 투여 없이도 잘 사육되었는바 육용계에서 법제유향이 항생제 대체제의 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

Blake와 Hess (2001)는 계사 내 깔짚에 광물성 유향을 살포하여 계사 내 암모니아 가스를 감소시킨 사례가 있었는데, 이 점을 착안하여 이번 실험은 법제된 유향을 육용계에 경구 투여하여 배설된 계분에서 암모니아 가스의 농도를 감소시키는지 확인하는 시험을 하였다. 이번 실험에서도 앞의 사례 못지않게 계사 내 암모니아 가스 농도가 유의성 있게 감소됨이 확인되었다. 즉 법제유향을 닭에게 경구 투여 시, 분

변냄새 없는 쾌적한 축사환경을 만들 수 있음이 확인되었고, 분변 냄새 없는 친환경 가축사육이 가능한 우수한 제품임이 확인되었다.

또한, 법제유향이 닭고기의 품질향상에 기여하는 지 알아보기 위해 닭에게 법제유향을 경구투여한 후 닭 가슴살(흉근)을 취하여 화학적 특성, 지방산 조성 및 아미노산 조성을 정밀분석 하였다. 닭고기내 S 성분의 농도가 무-투여 대조군에 비해 투여군에서 약간 높았는바, 이 등(2009)이 돼지에게 식이유향(MSM; Methyl Sulfonyl Methane)을 급여했을 때에도 근육내 무기물 S 성분의 농도가 대조군에 비해서 투여군에서 높았다고 보고한 것과 유사한 결과를 얻었다. 포화지방산 중 eicosanoic acid가 대조군(0.605%)에 비해 투여군(0.55%)에서 현저하게 감소되었음을 확인할 수 있었다. Eicosanoic acid 성분의 감소는 이 성분의 하나인 arachidonic acid 농도의 감소에 의한 것으로 생각된다. 또한, 심장병과 당뇨 예방에 좋은 vaccenic acid가 대조군에서는 검출되지 않았으나 법제유향 투여군에서 미량(0.09% 및 0.08%)이지만 검출됨이 확인되었다. 투여군에서 arachidonic acid 성분의 감소와 vaccenic acid의 검출은 법제유향이 몸에 좋은 well-being 닭고기 생산에 활용될 수 있음을 보여준다고 할 수 있겠다.

결 론

이번 연구를 통해 실용적이고 대량 생산이 가능한 법제유향(무독-황)을 개발하였다(특허등록번호: 제10-0874404호). 법제유향의 이화학적 분석 및 동물 실험 결과, 법제유향은 생 유향에 비해 이화학적 성상이 매우 유사하나 실제 투여량의 5배에도 동물 독성은 발견되지 않았다. 이후, 실제 닭에게 투여한 결과 항균효과와 더불어 계사 내 암모니아 발생이 줄어들었다. 또한, 육용계에게 법제유향을 사료에 첨가하여 투여 한 후, 육계의 흉근을 정밀 분석을 실시한 결과, 지방산 성분 분석에서 eicosanoic acid와 eicosanoic 성분중 하나인 몸에 나쁜 arachidonic acid가 투여군에서 현저하게 감소되었다. 또한, 아미노산 분석에서는 투여군에서 threonine, serine, glutamic acid, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine이 증가되는 경향을 보였다. 이러한 결과로 미루어 보아 법제유향을 사료에 첨가할 경우, 축산 농가 환경 개선 및 소득 향상에 매우 유익한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 허 준. 1991. 동의보감. pp. 1219. 학력개발사, 서울.
- Blake JP, Hess JB. 2001. Sodium bisulfate (PLT) as a litter treatment. Alabama Cooperative Extension System (Alabama A&M University and Auburn University). ANR-1208. <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-1208/ANR-1208.pdf>.
- Fortina R, Barbera S, Lussiana C, Mimosi A, Tassone S, Rossi A, Zanardi E. 2005. Performances and meat quality of two Italian pig breeds fed diets for commercial hybrids. *Meat Sci* 71: 713-718.
- Grimble RF, Grimble GK. 1998. Immunonutrition: role of sulfur amino acids, related amino acids, and polyamines. *Nutrition* 14: 605-610.
- Guadagnini G. 1953. Sulfur therapy in chronic articular diseases. *Reumatismo* 5: 233-235.
- Gupta AK, Nicol K. 2004. The use of sulfur in dermatology. *J Drugs Dermatol* 3: 427-431.
- Lee JI, Min HK, Lee JW, Jeong JD, Ha YJ, Kwack SC, Park JS. 2009. Changes in the quality of loin from pigs supplemented with dietary methyl sulfonyl methane during cold storage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 29: 229-237.
- Libenson L, Hadley FP, McIlroy AP, Wetzel VM, Mellon RR. 1953. Antibacterial effect of elemental sulfur. *J Infect Dis* 93: 28-35.
- Park JH, Ryu MS, Lee YE, Song GS, Ryu KS. 2003. A comparison of fattening performance, physico-chemical properties of breast meat, vaccine titers in cross bred meat type hybrid chicks fed sulfur. *Korean J Poult Sci* 30: 211-217.
- Weld JT, Gunther A. 1947. The antibacterial properties of sulfur. *J Exp Med* 85: 531-542.