

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2015년 7월 2일 (02.07.2015)



(10) 국제공개번호
WO 2015/099313 A1

- (51) 국제특허분류:
G06F 19/00 (2011.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2014/011900
- (22) 국제출원일: 2014년 12월 5일 (05.12.2014)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2013-0165995 2013년 12월 27일 (27.12.2013) KR
- (71) 출원인: 대한민국(농촌진흥청장) (REPUBLIC OF KOREA(MANAGEMENT : RURAL DEVELOPMENT ADMINISTRATION)) [KR/KR]; 441-707 경기도 수원시 권선구 수인로 126 (서둔동, 농촌진흥청), Gyeonggi-do (KR). 씨제이제일제당 (주) (CJ CHEILJEDANG CORPORATION) [KR/KR]; 100-400 서울시 중구 동호로 330 (쌍림동), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 오영균 (OH, Young Kyoon); 443-400 경기도 수원시 영통구 영통로 90 번길 4-22, 101 동 204 호 (망포동, 삼성라츠아파트), Gyeonggi-do (KR). 김경훈

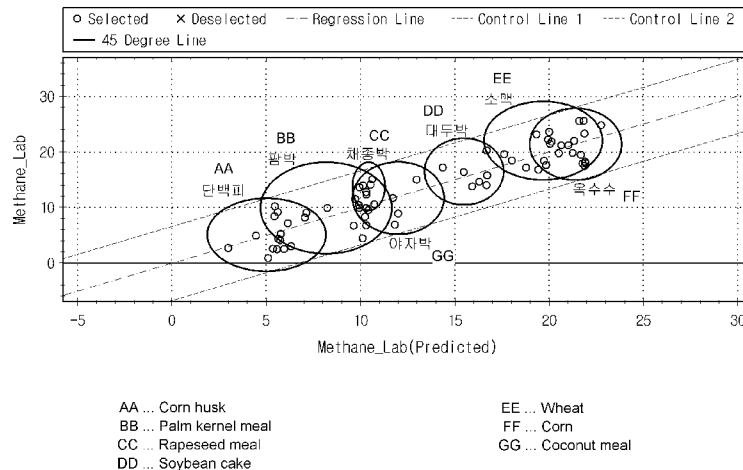
(KIM, Kyoung Hoon); 442-152 경기도 수원시 팔달구 화산로 6 번길 33 (화서동), Gyeonggi-do (KR). 백열창 (BACK, Youl Chang); 440-827 경기도 수원시 장안구 율전로 64 번길 69, 2 동 402 호 (율전동, 청도아파트), Gyeonggi-do (KR). 지석우 (CHEE, Seok Woo); 135-795 서울시 강남구 역삼로 306, 106 동 905 호 (역삼2동, 삼성개나리래미안아파트), Seoul (KR). 양시용 (YANG, Si Yong); 406-776 인천시 연수구 원인재로 88 대우삼환아파트 109 동 1407 호, Incheon (KR). 박민아 (PARK, Min Ah); 406-816 인천시 연수구 새말로 134, 103 동 1109 호 (연수동, 세경아파트), Incheon (KR). 박철원 (KWAK, Chul Won); 420-779 경기도 부천시 원미구 중동로 108, 111 동 1801 호 (중동, 팰리스카운티아파트), Gyeonggi-do (KR). 이승헌 (LEE, Seung Heon); 403-765 인천시 부평구 안남로 272 205 동 1106 호, Incheon (KR).

- (74) 대리인: 특허법인 이지 (EZ INTERNATIONAL PATENT & TRADEMARK LAW OFFICE); 153-803 서울시 금천구 가산디지털1로 205 KCC 웰츠밸리 302~303 호, (가산동), Seoul (KR).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR ANALYZING METHANE GENERATION AMOUNT OF FEED RAW MATERIAL USING NEAR-INFRARED SYSTEM

(54) 발명의 명칭: 근적외선 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법



(57) Abstract: The present invention relates to a method for analyzing the amount of methane generated from a feed raw material using a near-infrared system. More specifically, the present invention relates to a method for analyzing and predicting the methane generation amount and the methane index by applying the methane generation amount measurement value of a feed raw material using a rumen-form continuous culture system to a near-infrared system. The limitations of animal experimentations can be overcome and the burden of required time and cost is small by using the method for analyzing the methane generation amount of a feed raw material using a near-infrared system according to the present invention, and the methane generation amount and the methane index can be accurately and objectively analyzed and predicted by introducing a continuous culture system similar to a digestion system of an actual lumen animal. In addition, the methane generation amount and the methane index with respect to the feed raw material can be analyzed through the near-infrared spectrum in early stage by using only feed samples, and thus the present invention can be utilized to develop an eco-friendly feed which reduces the methane generation amount while maintaining the digestion rate of the lumen animals and the decomposition rate of the feed.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2015/099313 A1



(81) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 근적외선시스템을 이용하여 사료원료에서 발생하는 메탄 발생량을 분석하는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 반추위 모형 연속배양 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 측정값을 근적외선시스템에 적용하여 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측하는 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법을 이용함으로써 동물 생체실험의 한계를 극복할 수 있고, 소요되는 시간 및 비용의 부담이 적으며, 실제 반추위 동물의 소화 시스템과 유사한 연속배양 시스템을 도입함으로써 정확하고 객관성있는 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측할 수 있다. 또한, 본 발명을 이용하여 사료 원료에 대한 메탄 발생량 및 메탄지수를 사료 시료만을 가지고 근적외선 스펙트럼을 통해 조기에 분석할 수 있으므로, 반추위 동물의 소화율 및 사료의 분해율을 유지함과 동시에 메탄 발생량을 저감시키는 친환경 사료를 개발하는데 활용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 근적외선 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 근적외선시스템을 이용하여 사료원료에서 발생하는 메탄 발생량을 분석하는 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 반추위 모형 연속배양 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 측정값을 근적외선시스템에 적용하여 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측하는 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 소의 반추위에는 수많은 미생물들이 생활하면서, 소가 섭취한 사료를 소 대신 분해하며, 소는 그 분해 과정에서 나오는 산물들을 다시 이용하는 매우 특이한 방식으로 진화해왔다. 이 과정에서 유기물이 분해되면 수소와 이산화탄소도 발생하는데, 수소가 반추위에 축적이 되면 미생물의 대사활동을 방해하는 문제가 발생하여 반추위 건강이 악화된다. 따라서, 수소를 반추위 밖으로 배출하는 방법으로 메탄생성균이 수소와 이산화탄소를 이용해 메탄을 생성하게 된다. 즉, 메탄이 만들어지는 것은 소의 반추위내 미생물 생태계를 건강하게 유지하는 중요한 방법 중 하나이다.
- [4] 현재 세계적으로 많은 연구자들의 노력에 의해 소의 반추위에서 메탄이 생성되는 기작이 밝혀짐에 따라 소를 포함한 다양한 반추위 동물들로부터 발생하는 메탄을 줄일 수 있는 메탄저감제 연구가 많이 수행되고 있다. 다만, 주요 방법으로 지방산, 항생제, 또는 화학적 합성제 등이 이용되었고, 이들 물질들이 배양병을 이용하는 실험에서는 메탄 발생량을 줄이는 효과가 있음을 확인하였지만, 소화율 감소, 항생제 사용금지, 또는 독성 잔류 등의 문제로 인해 아직 실용화할 수 있는 정도로 성숙한 기술은 없는 실정이다.
- [5] 종래 사료원료별 메탄 발생량을 측정하는 방법으로는 배양법을 이용한 방법이 주로 사용되었다. 상기의 배양법 이용법은 사료 원료 시료에 미생물을 24시간 배양하여 실제 발생하는 메탄 발생량을 측정하는 방법이므로, 시간 및 비용이 많이 소요된다는 단점이 있다. 종래 근적외선 분광 분석법은 주로 사료의 성분을 분석하기 위해 사용된 예가 있으나, 사료의 성분만 가지고는 소의 반추위에서 발생하는 메탄을 효과적으로 감소시킴과 동시에 사료의 분해율을 유지하는 소위 "그린사료" 개발에 직접적인 해결책을 제공해주지 못하고 있다.
- [6] 근적외선 분광 분석법에 대하여 살펴보면 하기와 같다.
- [7] 근적외선은 가시광선 영역과 인접하고 있는 적외선의 일부로서 통상 780~2,500nm 범위의 전자파를 말한다. 근적외선 분광은 분자(molecule)에 의해 흡수되는 근적외광선(또는 에너지)에 관해 연구하는 것으로서 전자파와 물질

사이의 상호작용에 관한 분자 분광의 한 분야이다. 일반적으로 적외선 및 근적외선은 분자의 진동을 여기시키며, 근적외선 및 적외선을 흡수한 분자는 진동 쌍극자(vibrating dipoles)처럼 특정한 주파수와 진폭으로 진동한다. 이 때 분자진동을 일으키는 에너지와 빛의 에너지가 일치하게 되면 분자는 빛을 흡수하게 되고, 새로운 에너지 준위가 높은 상태로 천이하면서 진동 주파수는 변화되지 않으나 진폭이 커진다. 그러나, 분자진동을 일으키는 에너지와 빛의 에너지가 일치하지 않으면 빛은 반사되어 버린다.

- [8] 일반적으로 유기물을 구성하고 있는 분자의 관능기(O-H, C-H, N-H, S-H기 등)는 적외선 영역에서 고유의 흡광 밴드(기준 진동밴드)를 가지고 있다. 즉, 적외선을 흡수하는 물질은 O-H, C-H, N-H, S-H기로 구성된 성분을 함유하고 있다. 이러한 특성을 이용하여 어떤 유기물에 적외선을 조사하고 적외선이 흡수(또는 반사)되는 정도를 측정함으로써 그 유기물에 함유된 성분을 측정할 수 있다. 그러나, 적외선을 유기물에 조사하면 흡광성이 너무 강하여 정량이 곤란하므로 근적외선 영역의 파장을 주로 이용하게 된다.
- [9] 일반적으로 근적외선 파장영역에서는 적외선 파장영역에서 유도되는 기준흡수파장에 비하여 배음(overtone)흡수 또는 결합(combination)흡수 파장을 나타내는데, 배음 흡수는 대략적으로 기준 흡수 주파수보다 2 배 또는 3 배(기준흡수 파장보다 1/2 배 또는 1/3 배)가 되는 주파수(또는 파장)에서 일어난다. 예를 들면, C-H stretch의 기준흡수가 3,380nm의 적외선 영역에서 발생한다고 하면, 제1배음은 1,690nm, 제2배음은 1,126nm의 근적외선 영역에서 일어난다.
- [10] 유기물을 구성하고 있는 단백질이나 전분 등과 같은 다원자 관능기의 경우에는 흡수가 더욱 복잡해지는데 기준 흡수 밴드의 수는 구성원자의 수를 n 개라고 하면 $3n - 6$ 개로 올라가고, 따라서 배음 흡수도 보다 복잡하게 된다. 또한, 2 개 이상의 흡수가 동시에 발생하면, 결합 흡수가 근적외역에 발생한다. 이와 같이 기준흡수 밴드에 대한 배음 흡수 및 결합 흡수에 의해 근적외역에서 물질 특유의 흡수스펙트럼이 나타난다. 예를 들어, C-H 스트레치의 기준흡수 파장이 2,960 nm, C-H 밴드의 기준흡수 파장이 6,849 nm의 적외선 영역에서 발생한다면 결합흡수 파장은 2,262 nm의 근적외선 영역에서 나타난다. 따라서, 유기물에 근적외선을 조사하고 각 주파수에서 흡수되는 에너지의 양을 정량화하면, 그 성분함량을 계량 화학(chemometric)적인 방법으로 측정하는 것이 가능하다.
- [11] 본 발명의 종래 기술로는 한국초지조사료학회지 제24권 제1호(2004. 3) pp. 81-90 1013-9354 KCI가 있다.

[12]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [13] 이와 같은 기술적 배경하에서, 본 발명자들은 예의 노력한 결과,

근적외선시스템을 이용하여 사료원료에서 발생하는 메탄 발생량을 분석하는 방법을 개발하기에 이르렀다.

- [14] 결국, 본 발명은 종래의 문제점을 개선하기 위한 것으로서, 반추동물에서 사료 원료의 소화율 및 영양적 가치를 평가하기 위한 지표로서 이용할 수 있는 메탄지수를 도출하기 위하여, 반추위 모형 연속배양 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 측정값을 근적외선시스템에 적용하여 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측하는 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

[15]

과제 해결 수단

- [16] 상기와 같은 기술적 과제를 해결하기 위해,
- [17] 본 발명의 일 측면에 따르면, (a) 반추위 동물로부터 채취한 위액, 완충액, 및 반추위 미생물 배양액으로 구성된 연속배양 발효조에 사료 원료를 투입하고 메탄 발생량을 측정하는 단계; (b) 사료 원료에 근적외선을 조사하여 근적외선 스펙트럼을 얻는 단계; (c) 상기 (a) 단계에서 측정된 메탄 발생량 및 상기 (b) 단계에서 얻어진 근적외선 스펙트럼을 이용하여 메탄 발생 예측식을 생성하는 단계; (d) 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식을 데이터베이스화하는 단계; 및 (e) 임의의 사료 원료에 대한 근적외선 스펙트럼에 상기 메탄 발생 예측식을 적용하여 메탄 발생량을 예측하는 단계;를 포함하는 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법이 제공될 수 있다.
- [18] 일 실시예에 있어서, 상기 사료 원료는 소맥, 옥수수, 대두박, 야자박, 채종박 및 껍박으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [19] 일 실시예에 있어서, 상기 조사되는 근적외선은 $0.80 \sim 2.50 \mu\text{m}$ 의 파장일 수 있다.
- [20] 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 단계에서 근적외선 스펙트럼을 얻은 다음, 미분법 또는 다분산 보정(Multiplicative scatter correction)에 따른 수학적 전처리 단계를 더 포함할 수 있다.
- [21] 일 실시예에 있어서, 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식은 별도의 임의의 사료 원료를 이용하여 상기 연속배양 발효조에서 측정된 메탄발생량에 대한 표준예측오차, 표준예측보정오차 및 상관계수를 이용하여 검증하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[22]

발명의 효과

- [23] 본 발명에 따른 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법을 이용함으로써 동물 생체실험의 한계를 극복할 수 있고, 소요되는 시간 및 비용의 부담이 적으며, 실제 반추위 동물의 소화 시스템과 유사한 연속배양 시스템을 도입함으로써 정확하고 객관성있는 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측할 수 있다.

- [24] 또한, 본 발명을 이용하여 사료 원료에 대한 메탄 발생량 및 메탄지수를 사료 시료만을 가지고 근적외선 스펙트럼을 통해 조기에 분석할 수 있으므로, 반추위 동물의 소화율 및 사료의 분해율을 유지함과 동시에 메탄 발생량을 저감시키는 친환경 사료를 개발하는데 활용될 수 있다.

[25]

도면의 간단한 설명

- [26] 도 1은 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 pH 값을 나타낸 것이다.
- [27] 도 2는 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 총 가스 발생량을 나타낸 것이다.
- [28] 도 3은 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 메탄가스 발생량을 나타낸 것이다.
- [29] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 메탄 발생 예측식을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량의 예측 결과를 나타낸 것이다.

[30]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [31] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[32]

- [33] 본 발명의 일 측면에 따르면, (a) 반추위 동물로부터 채취한 위액, 완충액, 및 반추위 미생물 배양액으로 구성된 연속배양 발효조에 사료 원료를 투입하고 메탄 발생량을 측정하는 단계; (b) 사료 원료에 근적외선을 조사하여 근적외선 스펙트럼을 얻는 단계; (c) 상기 (a) 단계에서 측정된 메탄 발생량 및 상기 (b) 단계에서 얻어진 근적외선 스펙트럼을 이용하여 메탄 발생 예측식을 생성하는 단계; (d) 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식을 데이터베이스화하는 단계; 및 (e) 임의의 사료 원료에 대한 근적외선 스펙트럼에 상기 메탄 발생 예측식을 적용하여 메탄 발생량을 예측하는 단계;를 포함하는 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법이 제공될 수 있다.

- [34] 근적외선 스펙트럼은 여러 개의 성분의 흡수 스펙트럼이 겹쳐져서 복잡한 형상을 나타낸다. 이와 같이 서로 겹쳐진 스펙트럼에서 흡수밴드를 분리하여 성분별 스펙트럼을 정확하게 찾아내기 위하여 가장 일반적으로 사용되고 있는 방법이 미분이다. 통상적으로 1차 또는 2차 미분이 가장 많이 사용되며, 3차 또는 4차 미분도 사용될 수 있으나 over-fitting의 원인이 될 수 있다.

- [35] 1차 미분에서는 $(B_{avg}-A_{avg})$ 과 $(C_{avg}-B_{avg})$ 를 계산하여 전체스펙트럼의 이동평균(moving average)을 구하고 각 구획의 기울기를 계산한다. 2차 미분에서는 $(C_{avg}-B_{avg}) - (B_{avg}-A_{avg})$ 를 계산하여 전체 스펙트럼의 이동평균을 구하고 각 구획의 기울기를 계산한다. 2차 미분에서는 원스펙트럼의 흡수 피크가 음(-)의 피크로 되어 나타난다. 미분 처리에 의해 원래 스펙트럼의 피크가

나누어지면서 서로 겹쳐진 흡수 피크를 분리하는 것이 가능해진다. 따라서, 미분처리를 하게 되면 스펙트럼의 특성 추출이 용이해지고, 원 스펙트럼에서 고려해야 하는 기울기를 제거할 수 있다. 같은 시료에서 입자 크기의 상이로 인하여 스펙트럼의 기준선(baseline)이 상이해지는 것을 2차 미분에 의해 상쇄시킬 수 있다.

[36] 다음으로, 다변량 분석 방법에 관하여 살펴본다. 근적외 스펙트럼은 적외역의 기준 흡수의 배음 및 결합 흡수가 합성되어 나타나므로 단순 물질에서는 스펙트럼형상이 그다지 복잡하지 않지만, 실제의 곡물 등에서는 성분마다 흡수 스펙트럼이 결합되어 상당히 복잡한 형상을 나타낸다.

[37] 근적외 분광법에서는 이 복잡한 스펙트럼을 다변량 분석하여 수분, 단백질 등의 성분, 또는 전분의 호화특성, 가공 적정등의 매개변수(parameter) 등을 예측하기 위해서 캘리브레이션(calibration)모델을 작성한다. 다변량 분석에는 중회귀분석, 판별분석, 정준상관분석, 주성분분석, 원자분석, 클러스터분석 등 많은 방법이 있지만, 주로 사용되는 것은 다음의 3가지(중회귀분석, 주성분회귀분석, PLS회귀분석)이다.

[38] 먼저, 중회귀분석(MLR ; Multiple Linear Regression)은 현재 가장 넓게 이용되고 있는 다변량 분석법으로서 스펙트럼 중에서 여러 개의 파장을 선택하여 다음과 같이 예측모델을 작성한다.

[39]

[40] 수학적 식 1

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + \text{-----} + a_mX_m + e_i$$

[41] 여기서, Y_i : 성분값; a_0 : 정수항; a_i : 회귀계수; X_i : 각 파장에 대한 흡광도($\log(1/R)$), 2차 미분값 등; e_i : 잔차

[42] a_0 및 a_i 는 최소제곱법에 의해 구한다. 회귀에 포함되는 파장수(m)와 시료수(n)는 $n = m+1$ 만 만족하면 어떠한 데이터가 있더라도 중상관계수 r은 1.0이 된다. 따라서, 가능한 적은 파장으로 정도가 높은 예측모델을 작성하기 위해서는 n을 충분히 크게 해야 한다. 또, 서로 높은 상관을 가지는 설명변수가 회귀식 중에 포함되면 예측 정도가 현저하게 저하되는 다중공선성의 문제가 발생한다. 따라서, 보다 적은 설명변수에 의해 정도가 높은 예측 모델을 작성하기 위하여 다음과 같은 여러 가지의 변수 선택법이 개발되어 있다.

[43] 총변수법: 모든 설명변수를 조합하여 분석하고, 가장 높은 회귀계수를 얻을 수 있는 조합을 선택한다.

[44] 변수증가법: 목적변수와 가장 높은 상관계수를 나타내는 설명변수 한 개를 선택하고, 여기에 다음의 변수를 조합시키는 작업을 반복하면서 가장 높은 회귀변수를 나타내는 설명변수를 선택한다.

[45] 변수감소법: 전체 설명변수를 사용하여 중회귀식을 작성한 다음, 회귀계수를 낮게 하는 정도가 가장 적은 설명 변수들을 제거해 나간다.

- [46] 변수증가법 : 설명변수를 하나씩 증가시키면서 회귀식을 구하고, 회귀계수를 높이는 데 도움이 되지 않으면 중회귀식으로부터 제외시킨다.
- [47] 변수지정법 : 경험적으로 중요성이 명확한 변수를 선택하여 중회귀분석에 사용한다.
- [48] 다음으로, 주성분 회귀분석(PCR ; Principal Component Regression)은 중회귀 분석이 가지는 고유의 결점, 즉, 시료수(n)가 많아야 하는 것, 다중공선성의 문제를 해결하기 위해 개발된 방법으로서, 본래의 변수(x)에서 추출한 주성분(z)을 설명변수로 사용하여 중회귀식을 구하는 것이다. 주성분회귀분석의 예측모델은 다음과 같이 작성한다. 회귀계수를 구하는 방법은 중회귀분석과 같다.
- [49]
- [50] 수학적식 2
- $$Y_i = a_0 + a_1 Z_1 + a_2 Z_2 + \text{-----} + a_q Z_q + e_i$$
- [51] 여기서, Y_i : 성분값; a_0 : 정수항; a_q : 회귀계수; Z_q : q번째 주성분; e_i : 잔차
- [52] 주성분은 원래의 설명변수와 비교할 때 다음과 같은 특징을 가진다. 즉, 원래의 설명변수 보다 개수가 훨씬 적은 주성분에 정보를 집약할 수 있으므로 회귀분석에 필요한 시료수를 대폭적으로 줄일 수 있다. 또한, 주성분은 서로 직교하여 상호 상관성이 없으므로 다중공선성의 우려가 없다. 그리고, 고유값이 크거나 작을수록 관계없이 커다란 주성분에 각각 정보와 잡음을 집약하고 있기 때문에 주성분수를 늘이더라도 오버피팅(overfitting)의 위험성이 적고, 안정된 예측모델을 얻을 수 있다.
- [53] 한편, PLS(Partial Least Square)회귀분석에서는 통상의 회귀분석에서 오차를 설명변수마다 가정하는 것과 달리 설명변수와 목적변수의 양 변수에 모두 오차를 가정한다. PLS회귀분석에서는 주성분회귀분석과 마찬가지로, 잠재적인 인자를 추출해서 설명변수로 하는데, 추출할 때에 설명변수와 목적변수를 함께 이용하는 것이 주성분분석과의 차이점이다. PLS법에서는 변수가 가지고 있는 전체 정보를 이용해서 회귀식을 산출하기 때문에 주성분회귀분석 보다 높은 예측정도를 얻을 수 있다. 또 주성분 분석과 마찬가지로 다중공선성과 시료수 및 변수의 문제를 동시에 해결이 가능하다는 이점이 있다.
- [54]
- [55] 일 실시예에 있어서, 상기 사료 원료는 소맥, 옥수수, 대두박, 대두피, 야자박, 채종박 및 꾀박으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [56] 일 실시예에 있어서, 상기 조사되는 근적외선은 0.80 ~ 2.50 μm 의 파장일 수 있다.
- [57] 일 실시예에 있어서, 상기 (b) 단계에서 근적외선 스펙트럼을 얻은 다음, 미분법 또는 다분산 보정(Multiplicative scatter correction)에 따른 수학적 전처리 단계를 더 포함할 수 있다.

- [58] 일반적으로 근적외선 스펙트럼은 재현성이 우수하나, 시료의 종류, 상태, 및 측정 조건 등에 따라 바탕선 변화 등의 약간의 변화를 수반할 수 있으므로 일 실시예에 있어서, 미분법 또는 다분산 보정에 따른 수학적 전처리 단계를 더 포함함으로써 검량 결과를 향상시킬 수 있다.
- [59] 다분산 보정은 개개의 스펙트럼을 시료의 이상적 스펙트럼(ideal spectrum)으로 선형화하여 산란효과를 제거하는 방법이다. 표준 정규화는 다분산 보정과 달리 이상적 스펙트럼을 이용하지 않고 전체 스펙트럼에 대한 흡광도의 표준편차를 각 스펙트럼에 대해 정규화하여 스펙트럼의 산란을 제거한다. 각 모델의 개발 과정에는 다분산 보정 및 표준 정규화를 적용한 전처리 스펙트럼과 전처리를 실시하지 않은 스펙트럼이 각각 이용되었다.
- [60]
- [61] 일 실시예에 있어서, 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식은 별도의 임의의 사료 원료를 이용하여 상기 연속배양 발효조에서 측정된 메탄발생량에 대한 표준예측오차, 표준예측보정오차 및 상관계수를 이용하여 검증하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [62] 상기 단계는 선발된 메탄 예측 발생식의 예측 능력을 평가하기 위한 것으로서 메탄 예측 발생식(NIRs 검량식)에 사용되지 않는 독립적인 사료 원료 또는 미지의 사료 원료를 이용하여 생성된 예측식의 예측 정확성을 평가하는 것으로서, 메탄발생량에 대한 표준예측오차, 표준예측보정오차 및 상관계수를 이용할 수 있으며, 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.
- [63]
- 발명의 실시를 위한 형태**
- [64]
- [65] 실험 방법
- [66]
- [67] **1. 반추위 모형 연속배양시스템(Rumen simulation continuous culture system)의 구축**
- [68] (1) 배양액 : 채취한 위액을 8겹의 가제로 거른 후 유리솜으로 걸렀다. 걸러진 위액은 이산화탄소(CO₂)가스로 유지(bubbling)하면서 혐기상태를 유지하였다. 미리 제조한 버퍼를 이산화탄소 가스로 유지 하면서 위액과 혼합하였다(위액 250mL, 버퍼 600mL).
- [69] (2) 기질 : 발효조에 10 g의 기질을 투입하였다.
- [70] (3) 완충액통 : 혐기상태를 유지하면서 완충액통에 완충액을 투입하였다. 이산화탄소 가스를 충전시킨 테들러백(Tedlar bag)을 버퍼통과 연결하고, 버퍼통과 연결된 튜브는 발효조 뚜껑 중 버퍼 투입구와 연결하였다.
- [71] (4) 가스 포집 주머니 : 가스 포집 주머니와 연결된 튜브를 발효조 뚜껑 중 가스 포집구와 연결(연결 튜브는 가스용 튜브를 사용)하였다.

- [72] (5) pH 및 온도 전극 : 전극이 배양액에 충분히 닿을 정도로 넣었다. 이 때, 교반봉에 닿지 않도록 주의하여야 한다.
- [73] (6) 사료투입관 : 발효조 뚜껑 중 사료 투입구에 사료투입관을 배양액에 충분히 잠길 정도로 삽입하였다.
- [74] (7) 발효조의 뚜껑을 발효조와 연결하고 진공용 구리스와 테프론 테이프를 이용하여 험기상태를 유지하였다. 이어서 발효조 뚜껑 중 가스 포집구를 통해 발효조 내부에 이산화탄소 가스를 약 10분간 투입하였다(발효조 내부를 험기상태로 변화, 이산화탄소 가스는 배양이 시작되기 전까지 계속 흘려보냈다). 모든 기기의 연결부위는 진공용 구리스와 테프론 테이프로 봉합하였으며, 연동펌프를 작동 시키고, 발효조 내부로 완충액을 투입하였다(1000 ~ 1200 ml/일).
- [75] (8) 험기상태의 배양액을 사료투입구를 통해 오버플로우될 때 까지 발효조로 투입하였으며, 이산화탄소 가스 투입을 중지하고, 모든 입구를 막았다. 순환수조와 발효조를 연결하고 온도를 설정하였다(37 ~ 40 °C).
- [76] (9) 교반봉의 rpm을 10 ~ 20 rpm으로 설정하고, 배양을 시작하였다. 반추위 적응기간 7일, 1번째 샘플 적응기간 7일 후 각 모션별 시료 3일간의 메탄발생 측정값의 평균으로 메탄발생량을 측정하였다. 메탄발생값을 측정하기 위한 주요 사료 원료로서 대두박, 소맥, 채종박, 야자박, 단백피, 팜박 및 옥수수가 사용되었다.

[77]

[78] **2. 근적외선 시스템(NIRs)을 이용한 메탄 발생 예측식의 생성**

[79] (1) NIRs DB 확보

[80] 검량식 작성과 검정을 위하여 각 샘플의 반추위 모형 연속배양시스템의 메탄발생량 측정법과 NIRs 스펙트럼 분석법을 병행하였으며, 분석 대상 샘플의 수는 총 55개였다. 근적외선 측정장치로부터 출력되는 스펙트럼 데이터는 하기와 같이 실시간으로 컴퓨터에 입력되어 데이터베이스화되었다.

[81]

- [82] ① 사료 원료 분석 샘플에 대한 각각의 근적외선 스펙트럼을 측정한다.
- [83] ② 측정된 스펙트럼에 각각의 사료 원료의 메탄발생량의 결과값을 입력한다.
- [84] ③ 상기 ① 및 ② 단계 완료 후 생성된 Cal 파일을 추출하여 NIRs DB를 준비한다.
- [85] 근적외선 분광분석을 하기 위한 장비는 FOSS XDS Model이 사용되었다(모델명: FOSS XDS NIRs instrument, Scan range(측정 범위): 400~2500nm, Resolution(분해능): 0.5nm, Detector type: Si & Pb detector, 측정 방식: 반석 측정 방식, 운영 S/W: ISIScan, Calibration S/W: WinISI)

[86]

[87] (2) NIRs 검량식(메탄 발생 예측식) 생성

[88] 상기 확보된 NIRs DB로부터 메탄발생량 분석결과와 NIRs 스펙트럼간의 수학적 통계알고리즘을 이용한 검량식을 하기와 같이 생성하였다.

[89]

[90] ① 상기 확보된 NIRs DB의 스펙트럼을 검량식 생성을 위하여 1차 미분된 스펙트럼을 사용하였고 검량식 생성시 스펙트럼은 400 ~ 2500 nm 전 영역의 스펙트럼을 활용하였다.

[91] ② 상기 ① 단계의 전처리된 스펙트럼을 이용하여 PCA(Principal Component Analysis) 알고리즘을 적용하여 그룹을 형성하여 pca file을 생성하여 그룹의 이상치 판별 도구로 활용하였다

[92] ③ 상기 ① 단계의 전처리된 스펙트럼과 사료 원료의 분석결과는 PLS(Partial Least Squares) regression 알고리즘을 적용하여 NIR 검량식(eqa 파일)을 생성하였다.

[93]

[94] (3) NIRs 검량식(메탄 발생 예측식) 검증

[95] NIRs 검량식(메탄 발생 예측식)을 검증하기 위하여, 미지의 사료 원료 시료를 이용한 분석 결과를 토대로 표준예측오차, 표준예측보정오차 및 상관계수를 통해 NIRs 검량식(메탄 발생 예측식)의 타당성을 하기와 같이 검증하였다.

[96]

[97] ① 상기 생성된 검량식(eqa 파일)의 RSQ(R-square), 표준검량오차 SEC(Standard Error of calibration)를 이용하여 검량식의 적용 정도를 파악하였다.

[98] ② 일반적인 호환정도($RSQ > 0.7$)가 확인된 검량식은 SEC를 확인하여 현 분석치의 허용 가능 정도(허용 오차 기준)를 확인 후 적합 정도를 파악하여 활용가능 수준의 경우 미지의 사료 원료를 이용 하여 실제 적용 시의 오차를 검증한다.

[99] ③ 미지의 사료 원료에 대해 검증하여, 상기 실험 설계의 수준에서 적용 가능한 표준 예측 보정 오차(SEPc: Standard Error of Prediction corrected)를 보일 경우 기 검량식을 활용가능한 것으로 판정하여 향후 메탄발생량의 사료 원료 실험을 대체하여 NIRs 예측치(Predicted value)를 활용한다.

[100]

[101] 실험 결과

[102]

[103] 1. 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 pH 값

[104] 도 1에 나타난 바와 같이, 연속배양장치를 이용하여 사료원료별 pH 수준을 측정하였을 때 사료 원료별 pH 값의 평균은, 대두박 > 소맥 > 채종박 > 야자박 > 단백질 > 옥수수 = 팜박의 순서로 측정되었다. 옥수수에서 가장 높은 표준편차를 보였고, 대두박, 소맥, 채종박, 단백질, 팜박이 모선별 변이가 적었다.

[105]

[106] 2. 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 총 가스 발생량

[107] 도 2에 나타난 바와 같이, 연속배양장치를 이용한 사료 원료별 총 가스발생량은 단백질 > 채종박 > 옥수수 > 소맥 > 야자박 > 대두박 > 팜박의 순서로 나타났다.

채종박과 야자박에서 높은 표준편차를 보였고, 대두박에서 가장 모선별 변이가 적었다. 총 가스 발생량을 통해 연속배양장치 중 발효조에서 원료사료의 발효 양상을 추정할 수 있다.

[108]

[109] **3. 반추위 모형 연속배양시스템에서 측정한 주요 사료 원료별 메탄 가스 발생량**

[110] 도 3에 나타난 바와 같이, 연속배양장치를 이용한 사료 원료별 메탄가스 발생량은 소맥 > 옥수수 > 대두박 > 채종박 > 야자박 > 팜박 > 단백피의 순서로 나타났다. 팜박에서 높은 표준편차를 보였고, 대두박에서 가장 모선별 변이가 적었다. 전체적인 메탄가스 발생량의 경향은 총 가스발생량과 비슷한 경향을 보였지만, 대두박과 단백피의 메탄가스 발생량은 총 가스발생량과 반대의 경향을 나타내었다.

[111]

[112] **4. NIRs 검량식(메탄 발생 예측식)을 이용한 메탄 발생량 예측 결과**

[113] 표 1 및 도 4에 나타난 바와 같이, 반추위 모형 연속배양 시스템에서 측정한 각 사료 원료별 메탄 발생량을 근적외선 시스템에 접목시켜 메탄 발생 예측식을 생성하였으며, 상기 예측식을 이용하여 사료 원료별 메탄 발생량을 예측한 결과, 상관계수는 0.842로써 통계적으로 유의한 정도로 적용 가능한 수준의 결과를 얻을 수 있었다.

[114]

[115] 표 1

[Table 1]

근적외선 시스템을 이용한 메탄 발생량 예측 결과	
검증샘플수(개)	69
평균	13.576
표준예측오차	2.664
표준예측보정오차	4.563
표준편차	6.154
상관계수	0.842

[116]

[117] 따라서, 상기에 언급한 바와 같이, 본 발명에 따른 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법을 이용함으로써 동물 생체실험의 한계를 극복할 수 있고, 소요되는 시간 및 비용의 부담이 적으며, 실제 반추위 동물의 소화 시스템과 유사한 연속배양 시스템을 도입함으로써 정확하고 객관성있는 메탄 발생량 및 메탄지수를 분석 및 예측할 수 있다. 또한, 본 발명을 이용하여 사료 원료에 대한 메탄 발생량 및 메탄지수를 사료 시료만을 가지고 근적외선

스펙트럼을 통해 조기에 분석할 수 있으므로, 반추위 동물의 소화율 및 사료의 분해율을 유지함과 동시에 메탄 발생량을 저감시키는 친환경 사료를 개발하는데 활용될 수 있다.

[118]

[119] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[120]

산업상 이용가능성

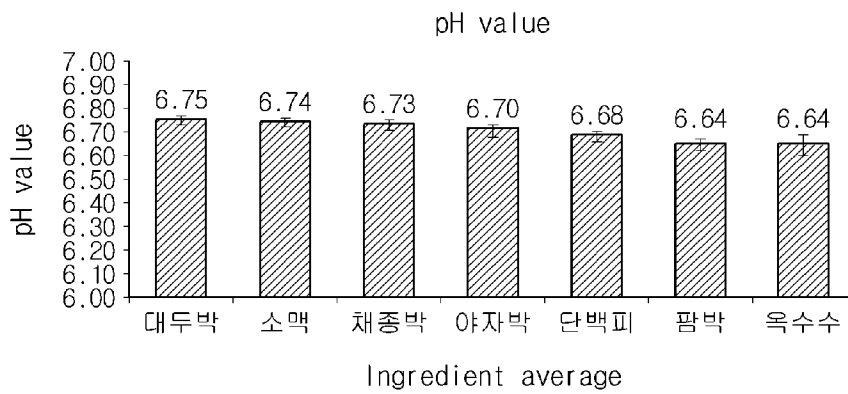
[121] 본 발명에 의한 근적외선 시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법은 반추위 동물의 소화율 및 사료의 분해율을 유지함과 동시에 메탄 발생량을 저감시키는 친환경 사료를 개발하는데 활용될 수 있다.

[122]

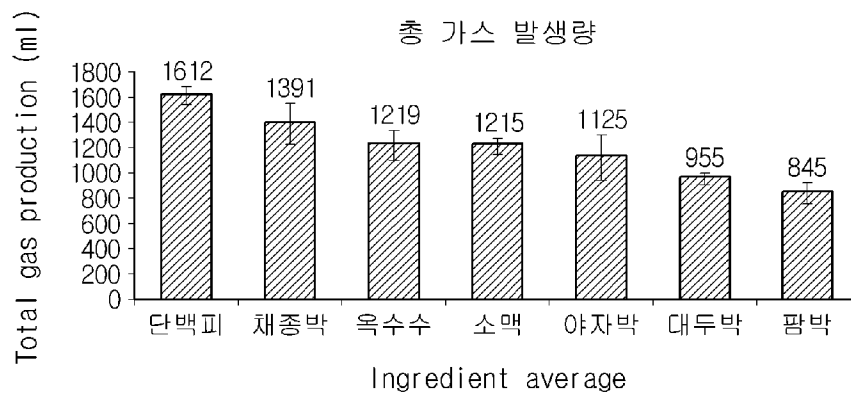
청구범위

- [청구항 1] (a) 반추위 동물로부터 채취한 위액, 완충액, 및 반추위 미생물 배양액으로 구성된 연속배양 발효조에 사료 원료를 투입하고 메탄 발생량을 측정하는 단계;
 (b) 사료 원료에 근적외선을 조사하여 근적외선 스펙트럼을 얻는 단계;
 (c) 상기 (a) 단계에서 측정된 메탄 발생량 및 상기 (b) 단계에서 얻어진 근적외선 스펙트럼을 이용하여 메탄 발생 예측식을 생성하는 단계;
 (d) 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식을 데이터베이스화하는 단계; 및
 (e) 임의의 사료 원료에 대한 근적외선 스펙트럼에 상기 메탄 발생 예측식을 적용하여 메탄 발생량을 예측하는 단계;를 포함하는 근적외선시스템을 이용한 사료 원료의 메탄 발생량 분석 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 조사되는 근적외선은 $0.80 \sim 2.50 \mu\text{m}$ 의 파장인 것인 메탄 발생량 분석 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
 상기 (b) 단계에서 근적외선 스펙트럼을 얻은 다음, 미분법 또는 다분산 보정(Multiplicative scatter correction)에 따른 수학적 전처리 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 메탄 발생량 분석 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 상기 (c) 단계에서 생성된 메탄 발생 예측식은 별도의 임의의 사료 원료를 이용하여 상기 연속배양 발효조에서 측정된 메탄발생량에 대한 표준예측오차, 표준예측보정오차 및 상관계수를 이용하여 검증하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 메탄 발생량 분석 방법.

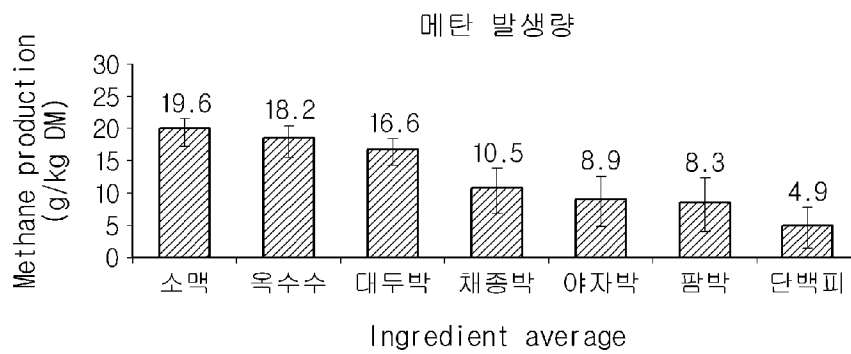
[Fig. 1]



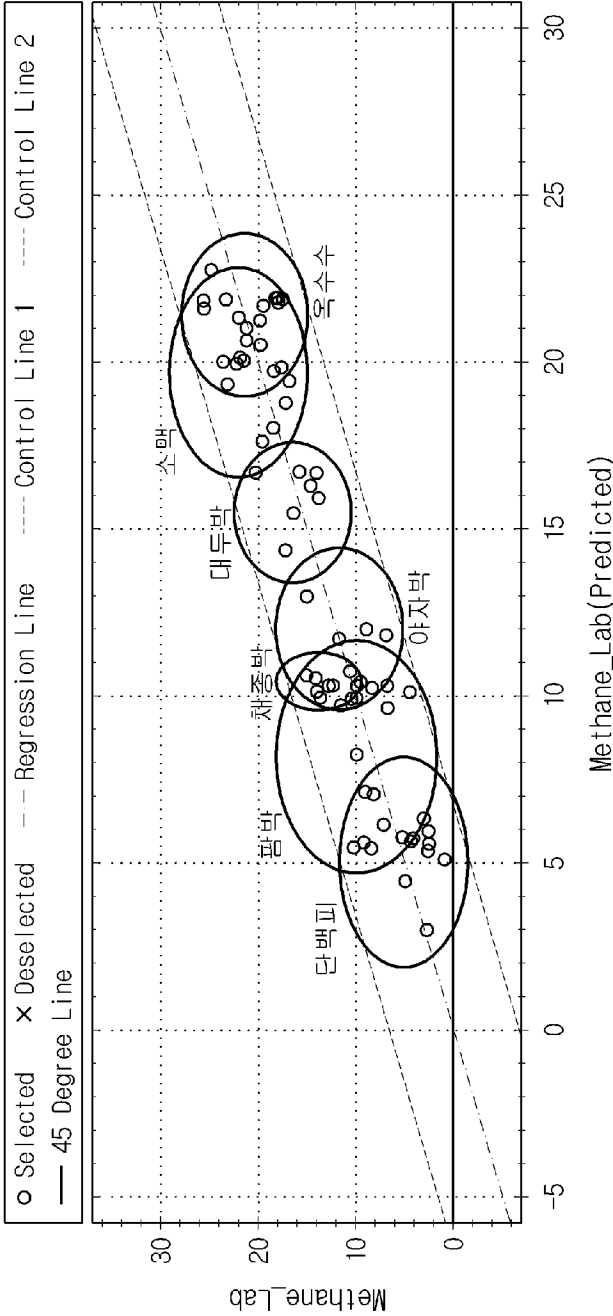
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2014/011900**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G06F 19/00(2011.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G06F 19/00; A01K 29/00; G01N 33/497

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: feed, near infrared ray, rumination, livestock, cow, methane, prediction, estimation

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RAGHAVENDRA BHATTA et al., "Measurement of Methane Production from Ruminants", Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, August 2007, Vol. 20, No. 5, pages 1305-1318 See pages 1306, 1312.	1-4
A	IDA M.L.D.STORM et al., "Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants", Animals, 2002, No. 2, pages 160-183 See pages 166-167.	1-4
A	TRAN HIEP et al., "Prediction and evaluation of methane emission of growing cattle diets in Vietnam based on fecal near infrared reflectance spectroscopy", In: International Conference on Live stock production, climate change and resource depletion. Pakse, Laos: MEKARN, November 2010 See part of Materials and methods.	1-4
A	US 2011-0192213 A1 (ZIMMERMAN PATRICK R. et al.) 11 August 2011 See claim 1, paragraphs [0017]-[0055], figure 8.	1-4



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 FEBRUARY 2015 (27.02.2015)

Date of mailing of the international search report

02 MARCH 2015 (02.03.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2014/011900

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2011-0192213 A1	11/08/2011	AU 2011-239541 A1	08/11/2012
		AU 2011-239541 B2	28/08/2014
		CA 2796450 A1	20/10/2011
		EP 2558855 A2	20/02/2013
		EP 2558855 B1	08/10/2014
		EP 2653031 A1	23/10/2013
		NZ 602979 A	30/05/2014
		US 8307785 B2	13/11/2012
		WO 2011-130538 A2	20/10/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G06F 19/00(2011.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G06F 19/00; A01K 29/00; G01N 33/497

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 사료, 근적외선, 반추, 가축, 소, 메탄, 예측, 추정

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	RAGHAVENDRA BHATTA et el, `Measurement of Methane Production from Ruminants`, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, August 2007, Vol. 20, No. 5, pages 1305-1318 페이지 1306, 1312 참조.	1-4
A	IDA M.L.D.STORM et el, `Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants`, Animals, 2002, No. 2, pages 160-183 페이지 166-167 참조.	1-4
A	TRAN HIEP et el, `Prediction and evaluation of methane emission of growing cattle diets in Vietnam based on fecal near infrared reflectance spectroscopy`, In: International Conference on Live stock production, climate change and resource depletion. Pakse, Laos: MEKARN, November 2010 Materials and methods 부분 참조.	1-4
A	US 2011-0192213 A1 (ZIMMERMAN PATRICK R. 외 1명) 2011.08.11 청구항 1, 단락 [0017]-[0055], 도면 8 참조.	1-4

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2015년 02월 27일 (27.02.2015)

국제조사보고서 발송일

2015년 03월 02일 (02.03.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청

(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,

4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 ++82 42 472 3473

심사관

박재용

전화번호 +82-42-481-5652



국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

US 2011-0192213 A1

2011/08/11

AU 2011-239541 A1

2012/11/08

AU 2011-239541 B2

2014/08/28

CA 2796450 A1

2011/10/20

EP 2558855 A2

2013/02/20

EP 2558855 B1

2014/10/08

EP 2653031 A1

2013/10/23

NZ 602979 A

2014/05/30

US 8307785 B2

2012/11/13

WO 2011-130538 A2

2011/10/20