

최종연구보고서

잣송이를 이용한 축사환경개선제 및 사료첨가제
개발에 관한 연구

Study on development of environmental improver and feed
additive by pine cone by-products

연구기관 : 강원대학교

참여기관 : 화 천 군

참여기업 : (주)한국 푸드시스템

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “젓송이를 이용한 축사환경개선제 및 사료첨가제 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006년 5 월 25 일

주관연구기관명 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 고 용 균

연 구 원 : 신 종 서

연 구 원 : 김 창 혁

연 구 원 : 홍 병 주

연 구 원 : 박 재 인

연 구 원 : 라 창 식

참 여 기 관 : 화 천 군

참 여 기 업 : (주)한국푸드시스템

요 약 문

I. 제 목

젓송이를 이용한 축사환경개선제 및 사료첨가제 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

본 연구개발의 목적은 젓송이 유래 생리활성 사료첨가물 및 천연환경개선제의 개발 및 양산체계를 확립하는데 있다. 이를 위한 구체적인 목적으로는 다음과 같다. 즉, 생리활성 물질의 추출 및 기능성 성분의 특성 파악과 미생물학적 반응성 및 항균성에 대한 효능 평가 등의 연구를 통한 천연생리활성 농축제품 과, 둘째 가공공정 구멍과 기 확보된 균주를 이용한 생물학적 처리조건 및 처리산물의 환경개선 효능 분석 등의 연구를 통한 천연환경개선제 개발과 생산된 시제품을 육계 및 돼지에 적용 시험하여 혈액, 근육 및 난황의 콜레스테롤을 포함한 지방대사물질을 분석하고 질병억제, 악취제거 및 성장효과를 파악하여 합성항생물질 대체물질로서 최종적으로 제품을 제형 및 제품화하여 항생물질 무잔류 축산물을 생산 하는데 목적이 있다. 또한 이들 제제에 의한 축사환경개선 및 청정축산물의 안정적인 생산기반을 구축하여 농민 소득증대향상을 도모한다는 점에서 연구개발의 중요성이 강조된다.

III. 연구개발 수행 내용 및 결과

1. 연구수행 내용

가. 젓송이로부터 생리활성 유효성분 추출 및 생물·화학적 효능평가

- 1) 잣송이 유래 생리활성 물질의 효과적 추출방법 확립 및 물성분석
 - ① 가열추출법에 의한 생리활성 물질의 추출
 - ② 유기용매를 이용한 생리활성 물질의 추출
 - ③ 유효 추출법으로 추출한 물질의 생리활성 성분 평가
- 2) 생리활성물질의 항균 및 항생제 대체효과 구명
 - ① 잣송이 유래 생리활성 추출물의 in vitro 및 inhibition zones test에 의한 항균효과 평가
 - ② In Vivo test에 의한 생리활성 물질의 효능평가
- 3) 생리활성 물질의 첨가수준에 따른 축산물의 영양 생리적 기능 평가
 - ① 알코올 추출 생리활성물질의 첨가가 육계의 육성성적, 소화율 및 근육내 콜레스테롤 함량에 미치는 영향 평가
 - ② 알코올 추출 생리활성물질에 의한 돈육 생산 및 육질평가
- 4) 생리활성 물질의 경제적 추출방법 확립 및 농축 제형화
 - ① 생리활성 추출물의 농축 공정 개발
 - ② 성형기를 이용한 농축물의 제형화 공정 개발

나. 생리활성 추출물의 가축에 대한 영양 생리적 기능 평가

- 1) 잣송이 유래 생리활성 추출물의 첨가가 육계의 육성성적, 소화율 및 기능성 발현에 관한 연구
 - ①공시축으로 육계를 선정하여 생리활성물질을 처리하여 생산성 분석
 - ②장내 미생물 성장 및 Villi의 형태적 관찰, 콜레스테롤, 지방산 등 육질조사
- 2) 잣송이 유래 생리활성 추출물의 첨가가 육성비육돈의 육성성적, 영양소 이용율 및 육질에 미치는 영향 평가
 - ① 공시축으로 육성돈을 선정하여 생리활성물질을 처리하여 생산성 분석시험재료
 - ② 도체분석 및 고기의 화학성분 분석
- 3) 생리활성 물질의 제형화가 육계의 생산성, 근육과 혈액의 콜레스테롤 함량 및 분 중 악취 제어에 미치는 영향
 - ①시험축으로 육계를 대상으로 생산성분석 및 콜레스테롤 함량 및 분중 암모니아 분석
- 4) 생리활성 물질의 제형화가가 육성비육돈의 육성성적, 및 육질에 미치는 영향 평가

- ① 시험측으로 육성돈을 대상으로 생산성 분석, 도체성적 및 콜레스테롤함량 분석

다. 천연 환경개선제재 개발 시험

1) 잣송이 처리 및 가공방법 개발

- ① 물리적/화학적 전처리 방법 도출
- ② 전 처리된 잣송이 물질의 처리·가공방법 개발
- ③ 기확보된 균주를 이용한 잣송이 물질의 생물학적 처리 조건 구명
- ④ 잣송이의 환경개선제제화를 위한 공정라인 도출

2) 추출 부산물의 처리 및 가공 공정 개발

- ① 생리활성물질 추출 부산물의 물리적 처리조건 파악
- ② 추출부산물의 생물학적 처리공정 개발

3) 환경개선제 제품의 검증 시험

4) 추출 생리 활성액에 의한 환경개선 효과 분석

- ① 추출 생리 활성액의 환경개선 효과 구명

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 잣송이 유래 생리활성제 개발

잣송이 부산물로부터 생리활성물질을 얻기 위해 SDE, Ethanol, Methanol, n-Hexane, Ethanol(7)+n-Hexane(3)을 이용한 추출법을 사용하여 추출 수율과 성분, 항균력을 측정 한 결과 추출수율은 Ethanol(7)+Hexane(3)추출물이 14.16%로 가장 높았고, Ethanol추출물이 9.23%, Methanol 추출물이 4.84%, Hexane 0.82%, SDE추출법으로 추출한 것이 0.4%순으로 나타났다.

각 추출방법으로 추출한 추출물의 성분은 SDE 추출법으로 추출한 물질의 성분은 monoterpenoid가 5종류, sesquiterpenoid가 9종류 그리고 diterpenoid가 4종류로 총 18종류의 terpenoid 성분이 확인되었다. Ethanol로 추출한 물질 중 terpenoid 성분은 monoterpenoid가 1

종류, sesquiterpenoid가 3종류 그리고 diterpenoid가 5종류로 총 9종류의 terpenoid 성분이 확인되었다. Methanol로 추출한 물질 중 terpenoid 성분은 monoterpenoid가 1종류, sesquiterpenoid가 3종류 그리고 diterpenoid가 5종류로 총 9종류의 terpenoid 성분이 확인되었다. n-Hexane으로 추출한 물질 중 terpenoid 성분은 monoterpenoid가 1종류, sesquiterpenoid가 6종류 그리고 diterpenoid가 6종류로 총 13종류의 terpenoid 성분이 확인되었다. Ethanol(7) + n-Hexane(3)으로 추출한 물질 중 terpenoid 성분은 monoterpenoid가 4종류, sesquiterpenoid가 1종류 그리고 diterpenoid가 6종류로 총 11종류의 terpenoid 성분이 확인 되었다.

갯송이 추출물의 항균성을 측정하기 위해 실시한 Inhibition zone test 결과 Gram negative bacteria인 *Eschericia Coli*, *Salmonella typhimurium*에서는 효과가 없었으나 Gram positive bacteria인 *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*에서는 항균력을 확인할 수 있었다.

갯송이 부산물을 용매 추출한 추출물의 첨가가 항균성과 소화기관에 미치는 영향을 구명하고자 Semi-Broiler를 이용하여 In vivo 실험을 실시하였다. 증체량은 대조구에 비해 에탄올 추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산혼합용액 추출물을 급여한 처리구가 무겁게 나타났고, 사료효율 역시 대조구에 비해 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물을 급여한 처리구 효율이 높게 나타났다. 근위의 무게와 맹장의 무게와 소자의 무게는 대조구에 비해 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물을 급여한 처리구가 가볍게 나타났다. 소장 무게 역시 대조구에 비해 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물을 급여한 처리구가 가볍게 나타났다. Villi의 높이는 대조구에 비해 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물을 급여한 처리구가 높게 나타났다. 장내미생물 실험에서는 별다른 차이를 볼 수 없었다. 육계사료 내 생리활성 추출물의 첨가 급여가 육계의 성장능력과 혈청 및 고기의 콜레스테롤 함량, 지질산화에 미치는 영향을 조사한 결과 혈청, 가슴살 및 다리살의 콜레스테롤 함량이 낮아졌으며, 지질산화(TBARS와 POV값)는 억제되는 것으로 나타났다.

나. 갯송이 부산물을 이용한 천연환경개선제 개발

갯송이부산물을 이용하여 가축 급여용 및 분뇨처리용 천연 환경개선제를 개발하고 그 효과를 규명하고자 수행되었다. 천연환경개선제 개발을 위해 실험실에서 자체 분리 동정한 *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 3종의 미생물이 이용되었으며 실험을 통해 당밀과 탈지강을 활용하는 생산 공정을 확립하였다. 천연환경개선제 생산을 위해서는 갯송이부산물에 탈지강 10% 및 당밀 8%를 혼합하고 3종의 미생물을 첨가한 후 48시간동안 배양하는

것이 효율적인 것으로 나타났다. 돼지분뇨에 제조된 환경개선제를 혼합하여 퇴비화 시키면서 악취발생 감소효과를 분석한 결과 천연 환경개선제 처리로 암모니아 가스, H₂S 및 Mercaptan 등의 악취가스의 발생량이 감소하였으며 부숙화 과정 중 분해가 촉진되어 완숙도를 높이는 것으로 나타났다. 환경개선제를 혼합한 처리에서 부숙후 산소요구율이 낮아 제조된 환경개선제의 사용으로 퇴비의 품질이 증진되는 것으로 나타났으며 최종 퇴비의 품질은 비료공정규격의 그린 1급 퇴비 보다는 품질이 높은 것으로 나타났다. 또한 가축생산성에 대한 측면에서 제조된 천연환경개선제의 급여로 육계의 증체량 및 사료효율 개선 효과를 얻을 수 있었다.

다. 잣송이 부산물의 가공처리, 생리활성제 및 환경개선제의 동물평가 시험

환경 친화형 활성물질인 잣송이 부산물 및 이들 제제를 가공처리시 가축의 생산성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 1차로 잣송이 부산물의 첨가수준별 영향에 대하여 브로일러 및 육성돈을 공시동물로 사양시험을 실시하였고, 2차로 잣송이 부산물의 성형의 효과를 파악하기 위하여 익스트루전 가공처리 방법 및 효과를 분석하였으며, 3차로 처리된 생리활성물질, 발효물질, 가공제제를 이용하여 브로일러 및 육성돈의 생산성에 미치는 영향을 분석하였다. 먼저 1차 시험의 결과 잣송이 부산물의 첨가수준은 브로일러 및 육성돈에게 시험한 결과 잣송이 부산물 2% 수준 첨가시의 사료효율의 개선효과가 나타났으며, 혈액 중의 콜레스테롤 함량도 잣송이 부산물 첨가에 의하여 저하되는 결과를 얻었다. 2차 시험의 압출성형 시험에서는 잣송이 부산물의 70% 수준까지 첨가하여 익스트루전 압출성형 가능성을 확인하였으며, 이때의 압출성형 조건 즉, 배럴온도, 스크류 배열 및 스크류 속도 등에 의한 가공방법을 분석하였으며, 본 시험의 결과 70% 수준에서도 수분용해도 지수가 높게 나타나 기존 분말 상태보다 2-4배 정도 용해도가 높은 것으로 나타났다. 3차 시험에서는 가공 처리하여 생산된 사료첨가제 및 환경개선제를 브로일러 및 육성돈에게 급여하여 육성성적 및 체조성에 미치는 영향을 분석하였으며, 사료효율은 잣송이 부산물을 가공 처리시 향상되는 결과를 얻었으며, 특히 익스트루전 가공처리시 사료효율이 높게 나타났다. 이는 생리활성추출물 및 발효미생물체의 첨가수준이 너무 낮은 것에 기인하여 익스트루전 가공처리구가 높게 나타난 것으로 사료되어 이들 제제에 대한 적정 첨가수준에 관한 시험이 필요하다. 또한 잣송이 가공처리물의 급여는 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시키는 것으로 나타났다.

2. 활용에 대한 건의 사항

가. 갯송이 유래 생리활성 제제의 활용분야

- 1) 가축의 질병치료 및 예방목적으로 사용되는 항생물질은 축산물내 잔류가 됨으로서 안정적인 축산물의 생산은 물론 가축의 면역체계에 장애를 초래하기 때문에 청정 축산물의 생산에 활용한다. 즉, 가금, 양돈 및 축우 사료용 기존항생제 대체용 첨가제로서 활용이 가능하다.
- 2) 또한 청정 축산물의 생산은 축산물의 브랜드화 내지는 고급화를 통하여 갯송이 활성물질이 함유된 기능성 고기, 계란을 통한 고부가 가치의 축산물 생산을 유도한다.
- 3) 갯송이 부산물의 활용을 위한 재료의 가공 및 발효처리 시설의 농가 보급이 선행되면 활용도가 클 것으로 기대된다.

나. 천연환경개선제의 활용분야

- 1) 가축사육에 있어서 가장 시급히 해결해야 할 과제는 축사내 환경개선이다. 천연 갯송이를 이용한 환경개선제를 활용하여 축사내 암모니아 가스는 물론 악취의 발생을 감소시켜 사육환경을 쾌적하게 한다.
- 2) 양돈단지 등에 배양기술을 접목함으로써 축사환경 개선, 양축가의 건강유지 및 지역사회 민원발생을 해결하는데 과학적 근거자료로 활용할 수가 있다.

다. 사료첨가제의 활용분야

가축의 질병 예방 및 사료효율 향상 목적으로 사용되는 항생물질의 대체용 사료첨가제로서의 활용이 가능하다. 대량 가공처리 공장 등 시스템이 구축되면 자가배합은 물론 배합사료 공장에서 사료배합 과정에 첨가하여 활용할 수가 있다. 특히 갯송이 급여 기능성 축산물 생산을 위한 첨가사료로서 활용도가 클 것으로 기대된다.

SUMMARY

Part 1. Development of activated feed additives of pine cone by-products

To obtain a physiological active substance from pine cone by-products, extraction methods using SDE, ethanol, methanol, n-Hexane and ethanol(7)+n-hexane(3) were applied, and the recovery percentage of extracted substance, composition and antibiosis were measured. The recovery percentage of extracts was highest when ethanol(7)+n-hexane(3) was used as extraction solvent, showing 14.16%, and the percentages for ethanol, methanol, Hexane and SDE was 9.23%, 4.84%, 0.82% and 0.4%, respectively.

With regard to extracts composition, 5 types of monoterpenoid, 9 types of sesquiterpenoid and 4 types of diterpenoid (total 18 terpenoids) was found when SDE was applied. With ethanol extraction, total 9 types of terpenoid was found, showing 1 type of monoterpenoid, 3 types of sesquiterpenoid and 5 types of diterpenoid. With methanol, the found types of terpenoid were exactly same as in ethanol extraction. When extracted with n-Hexane, total 13 types of terpenoid were found and they were composed with 1 monoterpenoid, 6 sesquiterpenoid and 6 diterpenoid. With ethanol(7)+n-hexane(3) extraction, total 11 types of terpenoid were found, having 4 monoterpenoid, 1 sesquiterpenoid and 6 diterpenoid. According to inhibition tests results, which was conducted to identify antibiosis of extracts, antibiosis against Gram (+) bacteria such as *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* was observed. However, no antibiosis was detected against Gram (-) bacteria.

An in vivo experiment using semi-broiler was conducted to know the feeding effects of extracts on digestion organs and antibiosis. Body weight gain and gain/feed were higher in ethanol extract and ethanol+hexane extractgroups than in control. The weights of gizzard, cecum and small intestine were lighter in ethanol and ethanol+hexane extractgroups than in control also. The length of villi also was longer in ethanol and ethanol+hexane extractgroups. However, no difference was found in

antibiosis. Cholesterol levels in blood serum, chest meat and leg were lowered with the supplementation of extracts, and also oxidation of lipid (TBARS and POV values) was held down.

Part 2. Development of environmental improver for livestock by pine cone by-products

This study was conducted to develop a natural environment improver using pine cone by-product and to evaluate its effectiveness by feeding it to animal and mixing with manure for composting. Three species of microorganisms isolated and identified in laboratory, alcaligenes, lactobacillus and pasturella, were used for the development of environment improver, and a bio-process utilizing molasses and defatted rice bran was established. 48 hours incubation after addition of 10% defatted rice bran and 8% molasses to pine corn by-product with three bacteria was very efficient for the production of natural environment improver. During composting of swine manure mixed with manufactured environment improver, generation of malodor gases such as ammonia, H₂S and mercaptan was reduced and biodegradation rate of materials was accelerated. When the invented environment improver was applied, the quality of compost was enhanced, showing the lowest oxygen uptake rate (OUR) among treatments. The quality of final compost was superior to the Green First Class Compost referred in Standard of By-product Fertilizer. Also, Feeding the environment improver enhanced the weight gain and gain/feed in broiler.

Part 3. Animal bio-evaluation study for activated feed additives and environmentally improving feed additives.

1. Effect of supplemental levels of pine cone meal on body performance and carcass composition in broiler chicks.

This study was carried out to determine the effect of feeding pine cone meal(PCM) supplementation on body weight gain, feed intake, feed efficiency and carcass composition. A total 400 broiler chicks were assigned to 5 treatments. Each treatment had 20 chicks with 4 replications. The supplementation levels of PCM were 1, 2, 3% respectively. The results obtained summarized as follows: the body weight gain(BWG) of chicks fed different levels of PCM were slightly improved compare with control. but not significantly different among treatments. Also, Feed intake of chicks fed PCM was slightly increased compare with control. Feed efficiency of chick fed PCM was slightly improved compare with control. Especially, the treatment with 2% of PCM improved higher feed efficiency among the other treatment. There was no different in carcass composition and carcass grade among the treatments. The concentration of blood cholesterol of chicks were fed PCM was slightly decreased compare with control.

2. Effect of supplemental levels of pine cone meal on growth performance of pig

This study was conducted to determine the effects of dietary pine cone meal(PCM) on pig performance, carcass characteristics and blood cholesterol. A feeding trial was conducted with a total 48 growing pigs of an average 34kg body weight. Each treatment had 4 pigs with 3 replications. Pigs during experimental periods were fed 1, 2 and 3% concentration of PCM respectively. The body weight gain of pigs fed different levels of PCM were similar that of control. Feed intake significantly($p=0.03$) y decreased for pigs fed PCM in overall periods. Feed efficiency was slightly improved for pigs fed PCM overall periods when compare to the control, but not significantly different among treatments. The feed efficiency of PCM 2% treatment increased by 15% more than control, but also not significantly different among treatments.

There was no significantly different in carcass weight, fat thickness and carcass grade. In blood, average cholesterol concentration(mg/100ml) were significnatly($p=0.005$) decreased for pigs fed PCM.

3. Effect of extrusion of pine cone meal on physical characteristics and water solubility index

This study was carried out to determine the extrusion processing of pine cone meal on physical characteristics and water solubility index. This experiment was conducted by using co rotating intermeshing type twin screw extruder I and II. In 1st trial, the temperature of barrel were 130°C and 160°C respectively and the screw speed (rpm) was 300. The supplementation levels of pine cone meal (PCM) were 30, 50 and 70%. In 2nd trial, the temperature of barrel were 100, 130 and 160°C and the screw speed (rpm) were 200, 300 and 400 rpm respectively. The supplementation level of PCM was 70%. In 1st trial, the bulk density of PCM was increased by extrusion. Also the bulk density of PCM tended to increase by the temperature of barrel. The water solubility index (WSI) also were greatly influenced by extrusion. WSI showed highest in the treatment of 130°C of barrel and 30% of PCM.

In 2nd trial, the bulk density of PCM was decreased when the temperature of barrel and screw speed increased. The WSI showed increased when the temperature of barrel and screw speed decreased.

4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on body performance in broiler chicks

This study was carried out to compare the effect of dietary pine cone meal (PCM), extruded pine cone meal (EPCM), activated pine cone meal (APCM) and fermented pine cone meal on body weight gain, feed intake, and feed efficiency of broiler chicks. A feeding trial was conducted with a total 400 broiler chicks. Each treatment had 20 chicks with 4 replications. The supplementation levels of each treatment in the experimental diets were 2%, 2.8%, 0.01% and 2% for PCM, EPCM, APCM and FPCM respectively. The body gain of chicks fed additives significantly increased compare with that of control. Especially, the treatment with extruded PCM produced higher body gain than other treatments. Average feed intake of chicks was not significantly different among treatments. Feed efficiency of chick fed feed additives significantly ($p=0.03$) improved compare with control and the highest in the EPCM treatment. In blood, average cholesterol concentration (mg/100ml) slightly decreased compare with control. In feces, average ammonia concentration (ppm) was not

significantly influenced by additives.

5. Effect of various processing treatment of pine cone meal on body performance in growing pigs

This study was carried out to compare the effect of dietary pine cone meal(PCM), extruded pine cone meal(EPCM) , activated pine cone meal(APCM) and fermented pine cone meal on pig performance, carcass characteristics and blood cholesterols. A feeding trial was conducted with a total 48 growing pigs of an average 34kg body weight. Each treatment had 4 pigs with 3 replications. The supplementation levels of each treatment in the experimental diets were 2%, 2.8% and 0.01% for PCM, EPCM and APCM respectively. The body gain of chicks fed additives significantly($p=0.003$) increased compare with that of control. Feed intake of pigs fed additives were similar that of control. Feed intake significantly($p=0.03$) y decreased for pigs fed PCM in overall periods. Feed efficiency was significantly($p=0.029$) improved for pigs fed additives when compare to the control.

Especially, the treatment with EPCM was increased by 6% more than control(2.47 vs 2.33). The feed efficiency of PCM 2% treatment increased by 15% more than control, but also not significantly different among treatments. There was no significantly different in carcass weight, fat thickness and carcass grade. In blood, average cholesterol concentration(mg/100ml) were slightly decreased for pigs fed additives.

CONTENTS

Presentation	1
Summary	8
Contents	13
Chapter 1. Introduction	20
1.1. Objects and necessity	20
1.2.. Extent of research	21
Chapter 2. Technical present condition	22
2.1. Domestic	22
2.2. Foreign	22
Chapter 3. Development of bio activities from pine nut cone by-products	22
3.1. Extraction and estimation of bio-activities from pine nut cone by-products	22
3.1.1. Introduction	22
3.1.2. Material and methods	22
3.1.3. Results and discussion	25
3.2. Antibiotics effect of bio-activities by in vitro and in vivo trial	33
3.2.1. Introduction	33
3.2.2. Antibiotic effect of bio-activities in in vitro test	33
3.2.2.1. In vitro test	33
3.2.2.2. Results and discussion	34
3.2.3. Antibiotic effect of bio-activities in in vivo test	38
3.2.3.1. Material and Methods	38
3.2.3.2. Result and discussion	40

3.3. Substitution effect of antibiotics for bio-activities from pine nut cone -----	49
3.3.1 Effect of supplemented extracts from pine nut cone in organic feed on growth performance, internal organs and cecum microflora in broiler -----	49
3.3.1.1. Introduction-----	49
3.3.1.2. Material and Method -----	50
3.3.1.3. Results and discussion-----	53
3.3.2. Effect of the various extracts type on growth performance, TBARS, POV, cholesterol and microflora-----	57
3.3.2.1. Introduction-----	57
3.3.2.2. Material and Method-----	57
3.3.2.3. Result and Discussion-----	59
 Chapter 4. Development of environmental improver for livestock	
by pine cone by-products -----	64
4.1. Development of environmental improver for additives using pine cone by-products-----	64
4.1.1. Introduction -----	64
4.1.2. Material and Method -----	65
4.1.3. Result and Discussion -----	67
4.2. Development of environmental improver for compost using pine cone by-products -----	78
4.2.1. Introduction -----	78
4.2.2. Material and Method -----	79
4.2.3. Result and Discussion -----	83
4.3. Effect of environmental improver from pine cone by products on broiler performance -----	100
4.3.1 Introduction-----	100

4.3.2. Material and Method-----	101
4.3.1 Result and Discussion -----	105

**Chapter 5. Animal bio-evaluation study for environmental improver and
bio activities of pine cone by-products -----110**

5.1. Effect of supplemental levels of pine cone meal on body performance and carcass composition in broiler chicks -----	110
5.1.1. Introduction -----	110
5.1.2. Material and methods -----	110
5.1.3. Results and discussion-----	113
5.2. Effect of supplemental levels of pine cone meal on growth performance and meat quality in pigs -----	117
5.2.1. Introduction -----	117
5.2.2. Material and methods -----	117
5.2.3. Results and discussion-----	119
5.3. Effect of extrusion of pine cone meal on physical characteristics and water solubility index -----	124
5.3.1. Introduction -----	124
5.3.2. Material and methods -----	124
5.3.3. Results and discussion-----	130
5.4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on body performance in broiler chicks -----	135
5.4.1. Introduction -----	135
5.4.2. Material and methods -----	135
5.4.3. Results and discussion-----	138
5.5. Effect of various processing treatment of pine cone meal on body	

performance in growing pigs -----	142
5.5.1. Introduction -----	142
5.5.2. Material and methods -----	142
5.5.3. Results and discussion -----	145
Chapter 6. Attainment of project's goal -----	150
6.1. Attainment -----	150
6.2. Contribution -----	152
Chapter 7. Application plan -----	154
Chapter 8. Reference -----	156

목 차

제출문	-----1
요약문	-----2
Summary	-----8
Contents	-----13
제 1 장 연구개발과제의 개요	-----20
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성	-----20
제 2 절 연구개발 내용 및 범위	-----21
제 2 장 국내외 기술개발 현황	-----22
1. 국내현황	-----22
2. 국외현황	-----22
제 3 장 잣송이 유래 생리활성제 개발	-----23
제 1 절 잣송이 유래 생리활성유효성분의 추출방법 개발 및 성분분석	-----23
1. 서론	-----23
2. 공시재료 추출 및 분석방법	-----23
3. 결과 및 고찰	-----26
제 2 절 잣송이 추출 생리활성 물질의 in vitro 및 in vivo 항균효과구명	-----34
1. 서론	-----34
2. 잣송이로부터 추출한 생리활성물질의 in vitro 항균효과	-----34
가. 잣송이 추출물의 in vitro 항균능력 검사	-----34
나. 결과 및 고찰	-----35
3. 잣송이로부터 추출한 생리활성 물질이 Semi-Broiler의 성장, 소화기관 및 장내 미생물상에 미치는 영향	-----39
가. 실험재료 및 방법	-----39
나. 결과 및 고찰	-----41

제 3 절	젓송이 추출물의 항생제 대체 효과에 대한 연구	50
1.	유기사료에 젓송이 추출물의 첨가급여가 브로일러의 사양성적, 장기변화 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향	49
가.	서론	49
나.	실험재료 및 방법	50
다.	결과 및 고찰	54
2.	젓송이 추출물의 급여방법의 차이가 브로일러의 육성성적, 저장성, 콜레스테롤 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향	58
가.	서론	58
나.	실험재료 및 방법	58
다.	결과 및 고찰	60
제 4 장	젓송이 부산물을 이용한 천연환경 개선제 개발	65
제 1 절	젓송이 부산물을 이용한 개선제 개발시험	65
1.	서론	65
2.	재료 및 방법	66
3.	결과 및 고찰	68
제 2 절	젓송이 부산물을 이용한 축사용 퇴비사용 환경개선제 개발 시험	79
1.	서론	79
2.	재료 및 방법	80
3.	결과 및 고찰	84
제 3 절	젓송이 부산물을 이용한 급여용 환경개선제 생산 및 급여 시험	101
1.	서론	101
2.	재료 및 방법	102
3.	결과 및 고찰	106
제 5 장	젓송이 부산물의 가공처리, 생리활성제 및 천연환경 개선제의 동물평가 시험	111
제 1 절	젓송이 부산물의 급여가 브로일러의 생산성에 미치는 영향	111
1.	서론	111

2. 재료 및 방법	-----	111
3. 결과 및 고찰	-----	114
제 2 절	젓송이 부산물의 급여가 육성돈의 생산성에 미치는 영향	-----118
1. 서론	-----	118
2. 재료 및 방법	-----	118
3. 결과 및 고찰	-----	120
제 3 절	젓송이 부산물의 익스트루전 가공처리에 대한 물리적 특성 및 용해도 분석	-----125
1. 서론	-----	125
2. 재료 및 방법	-----	126
3. 결과 및 고찰	-----	131
제 4 절	젓송이 부산물의 익스트루전 가공, 생리활성제 및 발효처리가 브로일러 의 육성성적에 미치는 영향	-----136
1. 서론	-----	136
2. 재료 및 방법	-----	136
3. 결과 및 고찰	-----	139
제 5 절	젓송이 부산물의 익스트루전 가공 및 생리활성제가 육성돈의 생산성에 미치는 영향	-----143
1. 서론	-----	143
2. 재료 및 방법	-----	143
3. 결과 및 고찰	-----	146
제 6 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	-----151
1. 목표달성도	-----	151
2. 관련분야에의 기여도	-----	153
제 7 장	연구개발 결과의 활용계획	-----155
제 8 장	참고문헌	-----156

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구개발의 목적은 잣송이 유래 생리활성 사료첨가물 및 천연환경개선제의 개발 및 양산체계를 확립하는데 있다. 이를 위한 구체적인 목적으로는 다음과 같다. 즉, 생리활성 물질의 추출 및 기능성 성분의 특성 파악과 미생물학적 반응성 및 항균성에 대한 효능 평가 등의 연구를 통한 천연생리활성 농축제품 과, 둘째 가공공정 구멍과 기 확보된 균주를 이용한 생물학적 처리조건 및 처리산물의 환경개선 효능 분석 등의 연구를 통한 천연환경개선제 개발과 생산된 시제품을 육계 및 돼지에 적용 시험하여 혈액, 근육 및 난황의 콜레스테롤을 포함한 지방대사물질을 분석하고 질병억제, 약취제거 및 성장효과를 파악하여 합성항생물질 대체물질로서 최종적으로 제품을 제형 및 제품화하여 항생물질 무잔류 축산물을 생산 하는데 목적이 있다.

경제성장과 먹거리의 다양화로 인한 소비자들의 식문화에 대한 의식구조가 양적 충족에서 질적 충족으로 변화되었고, 현대 축산업은 집약화 및 대규모화되면서 생산성 향상위주의 단순경영 체계에서 인체에 대한 건강기능성 및 유해물로부터의 안정성까지 복합적인 기능을 요구하는 시대로 변모하고 있다. 축산물의 주요기능은 인간의 생명활동에 필요한 영양소의 균형된 공급과 맛, 질감 및 향을 통한 미각적 만족을 들 수 있는데, 최근에는 건강관련 기능의 향상을 위한 축산물의 역할과 이를 충족시킬 축산물의 개발에 관심이 증대되고 있을 만큼 인간의 생명활동에 축산물의 기여도는 매우 높아지고 있다. 기능성 축산물의 생산은 소비자의 욕구뿐만 아니라 생산농가에게는 규모화와 조직화를 통한 일반 축산물과의 차별화를 통하여 고부가가치 산업, 지속가능한 산업으로 육성할 수 있으며, 지역 브랜드화로 지역 농민의 경제적 이익을 도모할 수 있다. 이처럼 기능성식품의 수요가 세계적으로 급증하면서 기존의 우리 식단에 자주 오르는 식품소재 중에서 건강 기능성에 관점을 두어 효과를 체계적으로 평가하고 또한 새로운 건강 기능성을 가지는 소재를 발굴하려는 시도가 급증하고 있다.

제 2 절. 연구개발 내용 및 범위

1. 잣송이 유래 생리활성제 개발

- 가. 잣송이 유래 생리활성 유효성분의 추출방법 개발 및 성분분석
- 나. 잣송이 추출 생리활성 물질의 in vitro 및 in vivo 항균 효과 구명
- 다. 잣송이 추출물의 항생제 대체 효과에 대한 연구

2. 잣송이 부산물을 이용한 천연환경개선제 개발

- 가. 잣송이 부산물을 이용한 급여용 환경 개선제 개발 시험
- 나. 잣송이 부산물을 이용한 축사용 퇴비사용 환경 개선제 개발 시험
- 다. 급여용 환경개선제 생산 및 급여 시험

3. 잣송이 부산물의 가공처리, 생리활성제 및 환경개선제의 동물평가 시험

- 가. 잣송이 부산물의 급여가 브로일러의 생산성에 미치는 영향
- 나. 잣송이 부산물의 급여가 육성돈의 생산성에 미치는 영향
- 다. 잣송이 부산물의 익스트루전 가공처리에 대한 물리적 특성 및 용해도 분석
- 라. 잣송이 부산물의 익스트루전 가공, 생리활성물질 추출 및 발효처리가 브로일러의 육성성적에 미치는 영향
- 마. 잣송이 부산물의 익스트루전 가공 및 생리활성 물질 추출이 육성돈의 생산성에 미치는 영향

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내현황

본 연구에서와 같이 잣송이 부산물을 이용한 천연 생리활성물질의 추출, 미생물 발효공정 및 익스트루전 가공을 통한 사료첨가제 및 천연환경개선제의 생산과 이들 제제를 급여하여 축산물의 생산에 미치는 영향에 대한 연구는 국내에서는 전혀 시도된 바 없다. 특히 본 연구를 통하여 잣송이 부산물에 함유된 다양한 생리활성 물질의 유효한 추출방법을 구명하였으며, 미생물 발효공법에 의하여 환경친화형 미생물제제의 개발 및 축사용 분뇨처리 시스템을 구축하였다. 또한 고 섬유소원인 잣송이 부산물을 이용한 압출성형 가공방법의 가능성 및 효과도 확인하였다. 따라서 본 연구에서 개발된 이들 제제의 활용도를 제고시키면 축사환경의 개선, 청정축산물의 생산 및 기능성 축산물의 생산이 가능하여 양축농가의 생산의욕 고취는 물론 지역 경제에 커다란 공헌이 될 것으로 사료 된다.

2. 국외현황

일본에서는 소나무 잎 분말을 차 또는 가루를 내어 건강식품으로 판매하고 있으나, 본 연구와 같이 식용이 불가능한 잣송이 부산물을 이용한 특정물질의 추출, 발효, 가공하여 이들 산물에 대하여 기능을 종합적으로 평가한 예는 현재까지는 없는 실정이다.

제 3 장 잣송이 유래 생리활성제 개발

제 1 절 잣송이 유래 생리활성 유효성분의 추출방법 개발 및 성분 분석

1. 서 론

경제성장과 더불어 국민들의 건강에 대한 관심이 고조되는 반면, 다양한 경쟁시대에 스트레스로 인한 간장의 피로는 점차 더해가고 있어 간장 질환의 위험도는 점차 높아져 가고 있다. 식생활패턴 또한 육류위주로 변해가며 인스턴트식품의 섭취로 인한 트랜스 지방의 섭취 증가는 간에 지방을 축적함으로써 지방간을 유발할 수 있는 주요 원인으로 대두되고 있다. 현대사회의 고령화 및 식생활의 서구화로 인한 고지혈증, 비만, 당뇨, 관절염, 골다공증, 암, 간장 질환 및 성인병환자의 급증에 따른 경제적, 사회적 손실을 감안할 때, 본 연구에서 추구하는 천연생리활성물질에 대한 연구는 국민의 건강과 복지를 증진하는 측면에서 절실히 요구된다. 본 장에서는 잣송이로부터 생리활성물질을 추출함에 있어서 여러 가지 방법과 성분을 조사하고자 한다.

2. 공시 재료 추출 및 분석 방법

가. 공시재료

본 시험에서 사용된 재료는 강원도 및 경기북부 지역에서 자생하는 잣나무로부터 잣송이를 가을에 채취하여 잣 알맹이를 빼고 난 잣송이 부산물로 잣송이(3×3 cm)를 작게 절단한 후 열풍건조기(60℃)로 24시간 건조하였으며, 이때 건조 감량은 약 10%이었다. 건조한 시료는 분쇄기(Willey mill)를 이용하여 미세하게 분쇄하여 시료로 이용하였다.

나. 유효 생리활성 성분의 효율적인 추출방법 탐색

1) 수증기 증류에 의한 유효 생리활성 성분 추출

Fig. 1에 제시한 바와 같이 유효 생리활성 성분을 추출하기 위하여 수증기증류추출 장치(SDE)를 사용하였으며, 둥근 플라스크 안에 용매로 2% NaOH수용액 700ml에 분쇄한 잣송

이겉질 250g을 넣고 열원 장비로 2KW 용량의 전기 heating mantle을 사용하여 100℃±5℃를 유지하면서 정유성분이 휘발되어 나오지 않을 때까지 4시간 동안 정유성분을 추출하였다. 최종적으로 추출된 생리활성 성분은 추출 종료로부터 약 1시간 정도 냉각시킨 후 황산나트륨을 넣어 24시간 탈수시킨 다음 essential oil 성분만을 분리시킨 다음 스크류 시약 병에 밀폐하여 생리활성 성분 분석 시까지 냉장 보관하였다.



SDE 추출장치



SDE 추출 장치에 의한 정유성분사진

Fig. 1 SDE apparatus used for the extraction of the essential oil from the by-product of pine-nut cone

2) 유기용매에 의한 유효 생리활성 성분의 추출

분쇄한 시료는 ethanol, methanol, n-Hexane 및 n-Hexane + ethanol(3:7) 용매를 이용하여 추출하였다. 4 종류의 유기용매는 비이커에 1000ml 씩 넣어 시료를 각각 310g(wet base)을 넣고 24시간 침지한 후 용매 추출물을 얻었다. 이 추출물은 Whatman NO. 2 filter paper를 사용하여 감압여과한 후 얻어진 여액을 유기용매 분리형 cooling aspirator(EYELA,

Japan)가 장치된 vacuum evaporator(EYELA, Japan)를 사용하여 40℃에서 농축하여 각 용매에 대한 유효 생리활성 농축물을 얻었다. 이때 추출 압력은 ethanol 용매 150hpa, methanol 용매 250hpa, hexane 용매 300hpa 및 hexane + ethanol 용매는 처음 300hpa의 조건에서 hexane을 수거한 후 150hpa에서 나머지 ethanol을 수거하였다. Fig. 2에는 유기 용매에 추출된 생리활성 정유성분을 분리하기 위하여 감압을 수행하는 과정이다.



에탄올, 메탄올, 에탄올+헥산
추출물 농축 과정



헥산 추출물 농축 과정

Fig. 2 Apparatus used for the extraction of the essential oil from the by-product of pine-nut cone

다. 유효 생리활성 성분의 수율 측정

생리활성 유효성분의 수율 수율을 구하기 위하여 정확한 시료의 양을 측정 후 동일한 시간, 온도, 용매의 양 등 모든 조건을 동일하게 하고, 추출한 생리활성 정유성분은 유기용매를 최대한 제거하여 아래의 공식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Yield of essential oil(\%)} = \text{Volume of essential oil(ml)} / \text{Dry sample(g)} \times 100$$

라. GC-MS를 이용한 유효 생리활성 성분 분석

각 추출법으로 얻어진 생리활성 성분은 GC(8000 top series, CE instrument, U.S.A)를 사용하였고, carrier gas로는 헬륨을 사용하였다. 이에 연결시킨 MS는 Micromass (Autospec 365 series, U.K.)를 사용하였으며, 각 성분의 확인은 GC-MS에 내장된 표준물질에 의하여 확인 정량하였으며, 상세한 조건은 Table 2와 3과 같다.

Table 2. Operating condition of GC

Instrument	CE instrument, 8000 top series
Column	DB-1701(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Injection temp.	200°C
Oven temp.	- 유기용매 추출물 : 80°C(2min)-10°C/min-220°C(5min)-3°C/min-260°C(5min) - SDE 추출물 : 80°C(2min)-5°C/min-220°C(5min)-3°C/min-260°C(5min)
	Split ratio = 1 : 30
	Injection volume : 유기용매 추출물 : 1.0 μl 정유성분 : 0.5 μl
Column flow	1.5 ml/min, He
Chart speed	5 min

Table 3. Operating condition of MS

MS(Autospec 365 series, Micromass, U.K.)
Ion source : EI, 70eV
Ion source temp : 250°C
Trap Current : 500 μA
Scan range : 50-500 m/z
Resolution : 3,000

3. 결과 및 고찰

가. 유효 생리활성 성분의 추출 수율에 추출방법에 따른 영향

각 추출 방법에 따른 추출 수율을 구한 결과 table 4와 Fig 3과 같다. 먼저 SDE 추출법에 의한 추출물의 수율은 NaOH 용액 700ml에 시료 250g을 넣고 생리활성 성분을 추출한 결과 추출물이 1ml 채취되었다 이를 아래와 같이 수율 구하는 공식에 의하여 수율을 구한 결과 0.4%의 수율을 얻을 수 있었다. 다음으로 ethanol 용액을 용매로 추출하였을 경우에는 용매를 완전히 제거하지 않았을 경우에는 10.32%의 추출 수율을 보였으나, 용매를 완전히 제거하면 9.23%로 약 11% 감소하였다. 한편 methanol을 유기용매로 하여 추출하였을 경우에는 유기용매를 완전히 제거하지 않았을 때에는 6.45%이었으나, 유기용매를 완전히 제거하면 4.84%로 약 25% 정도의 methanol이 함유되어 있음을 확인하였다. 이와 같이 methanol을 유기용매로 이용하여 추출하였을 경우에는 methanol의 생체 중독증을 감안한다면 유기용매를 완전히 제거하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다. 다음으로는 hexane을 유기용매로 하여 추출하였을 경우에는 매우 적은 양이 추출되었다. Hexane을 완전히 제거하지 않을 경우 추출 수율은 1.08%이었으나, hexane을 완전히 제거하였을 경우에는 0.82%로 Hexane 추출물에는 24.01%의 유기용매가 함유되어 있는 것을 확인하였다. Ethanol과 hexane을 7:3으로 혼합한 유기용매로 추출하였을 때의 추출수율은 유기용매를 완전히 제거하지 않았을 경우에는 16.13%가 추출되었으나, 유기용매를 완전히 제거하면 14.16%로 약 12.2%의 유기용매가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다. 결과적으로 5 가지 추출방법으로 추출하였을 때 추출수율을 고려한다면 ethanol과 hexane 혼합용매로 추출하는 것이 바람직 한 것으로 생각된다.

Table 4. Effects of various method on the yield of essential oil extracts

추출방법	추출 수율(%)	
	용매 미완전 제거시	용매 완전 제거시
SDE 추출법	-	0.4
Ethanol 추출	10.32	9.23
Methanol 추출	6.45	4.84
Hexane 추출	1.08	0.82
Ethanol + Hexane 추출	16.13	14.16

① 유기용매 침지 사진



② 여과후 여액



③ 정유성분 및 유기용매 농축액



Fig. 3 Effects of various method on the yield of essential oil extracts from pine-nut cone

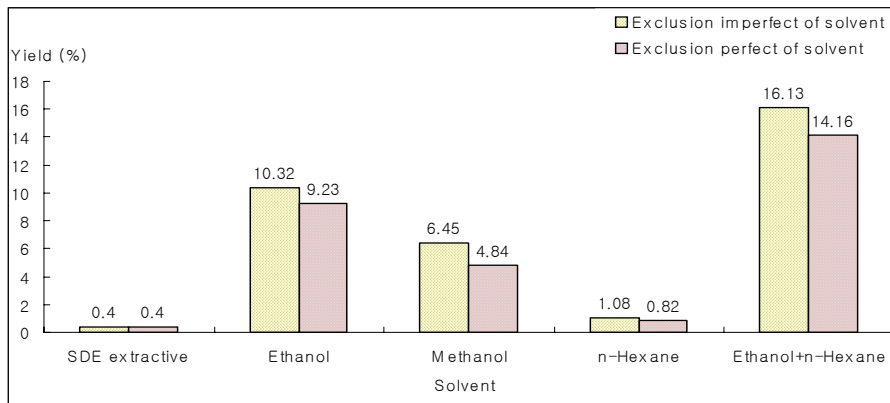


Fig. 4 Effects of various method or on the yield of essential oil extracts from by-product of pine nut cone

나. 생리활성 정유성분의 추출 수율에 추출방법에 따른 GC-MS 성분 비교

Fig. 4에는 SDE 추출법으로 추출한 생리활성 정유 성분을 GC-MS로 분석하였을 때 나타나는 각 성분들을 나타내고 있다. 이들 성분들을 검토한 결과 Table 4에 제시한 monoterpene, sesquiterpene, alcohol, aldehyde 등 여러 가지 생리활성 물질이 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 즉 SDE 추출 방법으로 추출하였을 때에는 생리활성 정유성분이 40여 가지가 검출되었으며, 이중 함량이 높은 성분들을 정리해 놓은 것이 Table 5에 제시한 성분들이다.

Ethanol을 유기용매로 하여 잣송이로부터 추출한 생리활성 정유성분의 GC-MS로 분석한 결과는 Fig. 5와 Table 6과 같다. Ethanol 추출물의 정유 성분은 SDE 추출법에 의하여 추출한 성분에 비하여 양적으로나 검출 항목들에 있어서 매우 낮은 경향이 있다. Methanol을 유기용매로 하여 추출한 추출물의 생리활성 정유성분의 GC-MS 분석 결과는 Fig. 6과 Table 7과 같이 ethanol 분석 결과와 거의 비슷한 피크와 성분이 검출되었다. 한편 hexane을 유기용매로 하여 추출한 추출물의 생리활성 정유성분의 GC-MS 분석 결과는 Fig. 7과 Table 8과 같다.Hexane 추출물의 성분은 다른 어떤 방법으로 추출한 결과에 비하여 많은 종류의 terpenoids가 검출되었으며, 그 피크도 가장 높게 나타났다. 이상의 분석결과로 미루어 보았을 때 SDE 추출법과 Hexane 용매 추출법이 가장 많은 생리활성 정유성분이 검출되었으나, 가축사료용으로 이용하기에는 너무도 적은 양으로 추출되기 때문에 양적인 면

을 고려한다면 혼합용매를 이용하는 것이 바람직 할 것으로 여겨진다.

잣송이 부산물로부터 SDE 추출법으로 추출한 생리활성 성분을 GC-MS로 분석한 결과는 Table 5와 같다. 주요 성분은 monoterpene, sesquiterpene 및 diterpene 화합물 등 여러 가지 생리활성 물질이 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었으며, 특히 monoterpene인 α -pinene(10.58%)과 D-Limonene(9.84%)이 가장 많이 함유되었으며 이외에도 β -pinene(5.86%) 등이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 특히 monoterpene α -pinene 성분은 수목에서 주로 검출되는 대표적인 좋은 냄새뿐만 아니라 약리효과가 있어 중요하다고 할 수 있다(손 등, 1990). Sesquiterpene은 Copaene(3.98%)과 Isolongfolene(9.10%) 등이 함유되어 있으며 diterpene은 Manoyl oxide(2.87%)과 Phenanthrene(2.83%) 등이 함유되어 있는 것으로 나타났다. SDE 추출법으로 추출할 경우 소나무의 솔방울(황 등, 1995)에는 23종류의 terpenoid 성분이 함유되어 있는 것에 비해 잣송이 추출물의 경우 이보다 적은 18종의 terpenoid 성분이 분석되었으며 함유되어 있는 성분과 양에 있어서도 차이를 보였다.

Ethanol을 용매로 하여 잣송이 부산물로부터 추출한 생리활성 추출물을 GC-MS로 분석한 결과는 Table 6과 같다. Ethanol 추출물은 SDE 추출법에 의한 추출물에 비하여 수득율은 높았으나 함유된 물질은 적은 경향을 보였으며 diterpene인 1-Phenanthrene-carboxaldehyde(3.77%)와 1-Phenanthrenemethanol(4.09%)가 가장 많이 함유되었으며 이외에도 monoterpene은 1종, sesquiterpene은 3종이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

Methanol 용매로 추출한 추출물을 GC-MS로 분석한 결과는 Table 7과 같으며, 이것은 Ethanol 추출물의 분석결과와 비슷하게 경향을 나타내었다.

또한 n-Hexane을 용매로하여 추출한 생리활성 추출물을 GC-MS로 분석한 결과는 Table 8과 같다. n-Hexane 추출물의 성분은 다른 유기용매로 추출한 추출물에 비하여 많은 종류의 terpenoid 화합물이 함유되었다. Diterpene인 1-Phenanthrenecarboxaldehyde(8.04%)와 1-Phenanthrenecarboxylic acid(7.00%)가 가장 많이 함유되었으며 이외에도 monoterpene이 1종, sesquiterpene은 6종이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

마지막으로 Ethanol과 n-Hexane의 혼합용매로 추출한 생리활성 정유성분의 GC-MS 분석 결과는 Table 9이며 sesquiterpene인 1,4-Methanoazulene(7.61%)과 diterpene인 1-Phenanthrene-carboxaldehyde(7.62%)가 가장 많이 검출되었으며 이외에도 monoterpene이 4종, diteterpene이 5종이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

이상의 분석결과로 미루어 보아 SDE 추출법과 n-Hexane 용매 추출법이 생리활성물질인 terpenoid 성분을 18종류와 13종류로 가장 많이 함유하고 있는 것을 알 수 있었다. 그러나

너무도 적은 양이 추출되기 때문에 양적인면을 고려한다면 Ethanol과 n-Hexane의 혼합용매를 이용하여 추출하는 것이 바람직할 것으로 여겨진다.

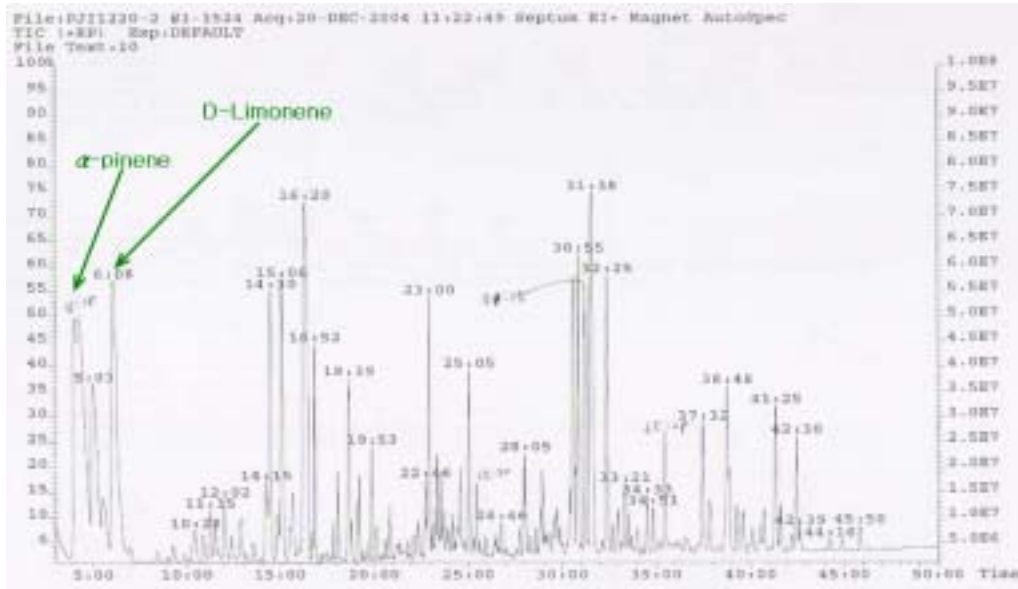


Fig. 4 Total ion chromatogram of volatile compounds in SDE extract from by-product of pine nut cone

Table 5. Comparative chemical compositions of volatile compounds in SDE extract from by-product of pine nut cone

Peak no.	RT (min)	Name	MF	Peak Area (%)
1	4:18	α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	10.58
2	5:03	β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	5.86
3	6:08	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	9.84
4	11:15	Verbenol	C ₁₀ H ₁₆ O	0.67
5	12:02	Endo-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.76
6	14:30	α -Longipinene	C ₁₅ H ₂₄	3.21
7	15:06	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	3.98
8	16:20	Isolongfolene	C ₁₅ H ₂₄	9.10
9	16:52	Trans-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	1.45
10	18:39	α -Muuroloene	C ₁₅ H ₂₄	2.02
11	19:14	Delta-Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	0.80
12	19:53	Naphthalene	C ₁₅ H ₂₂	0.88
13	23:00	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	3.08
14	25:30	Caryophylla	C ₁₅ H ₂₄ O	0.87
15	30:55	Manoyl oxide	C ₂₀ H ₃₄ O	2.87
16	32:25	Phenanthrene	C ₂₀ H ₃₀	2.83
17	41:25	1-Phenanthrenecarboxaldehyde	C ₂₀ H ₂₈ O	1.63
18	42:30	1-Phenanthrenecarboxylic acid	C ₂₀ H ₂₈ O	1.25

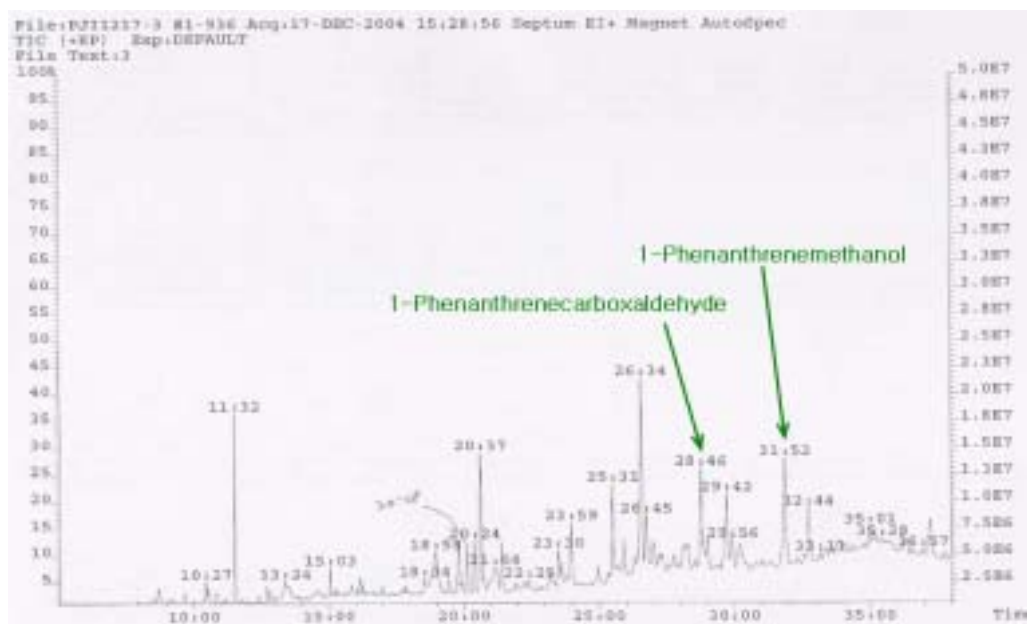


Fig. 5 Total ion chromatogram of volatile compounds in ethanol extract from by-product of pine nut cone

Table 6. Comparative chemical compositions of volatile compounds in ethanol extract from by-product of pine nut cone

Peak no.	RT (min)	Name	MF	Peak Area (%)
1	10:27	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one	C ₁₀ H ₁₄ O	0.85
2	11:32	1,4-Methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	3.15
3	15:03	Caryophyllene Oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0.59
4	18:58	1-Phenanthrenemethanol	C ₂₀ H ₃₀ O	3.45
5	20:08	1H-Naphtho[2,1-b]pyran	C ₁₅ H ₃₄ O	1.03
6	23:59	8,12.Xi.-Epoxyabd-14-En-13.Xi.-Ol Unidentified, Stereoisomer B	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	2.42
7	28:46	1-Phenanthrenecarboxaldehyde	C ₂₀ H ₂₈ O	3.77
8	29:42	1-Phenanthrenecarboxylic Acid	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	2.87
9	31:52	1-Phenanthrenemethanol	C ₂₀ H ₃₀ O	4.09

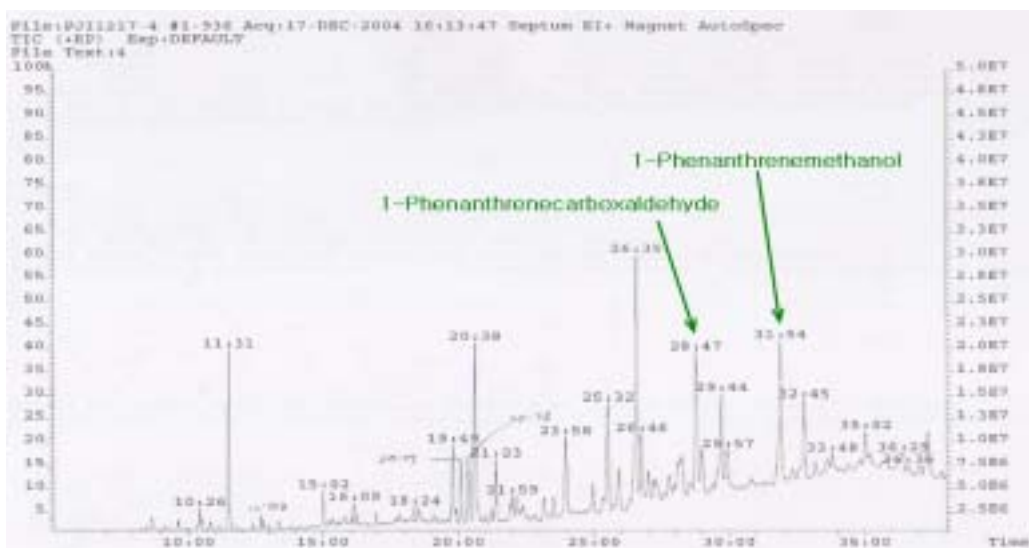


Fig. 6 Total ion chromatogram of volatile compounds in methanol extract from by-product of pine nut cone

Table 7. Comparative chemical compositions of volatile compounds in methanol extract from by-product of pine nut cone

Peak no.	RT (min)	Name	MF	Peak Area(%)
1	10:26	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one	C ₁₀ H ₁₄ O	1.00
2	11:31	1,4-Methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	3.51
3	12:43	Naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	0.81
4	15:02	Caryophyllene Oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	1.09
5	20:07	Manoyl oxide	C ₂₀ H ₃₄ O	1.49
6	23:58	8,12.Xi.-Epoxyabd-14-en-13.Xi.-Ol Unidentified, Stereoisomer	C ₂₀ H ₂₈ O	3.43
7	28:47	1-Phenanthrenecarboxaldehyde	C ₂₀ H ₂₈ O	6.40
8	29:44	1-Phenanthrenecarboxylic Acid	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	5.77
9	31:54	1-Phenanthrenemethanol	C ₂₀ H ₃₀ O	6.69

제 2 절 잣송이 추출 생리활성 물질의 in vitro 및 in vivo 항균 효과 구명

1. 서론

최근 들어 세계적으로 식중독을 일으키고 있는 병원성 식중독 세균(*Listeria M.*과 *salmonella T.*)은 축산물의 저장에도 중요한 문제점으로 지적되고 있다. 즉, 육류, 유제품, 달걀 등 단백질 식품과 각종 가공식품에 오염되어 사람과 동물에게 유산, 패혈증 또는 화농성 뇌막염 등 Listeriosis를 일으키는 치명적인 병원성 세균으로 알려져 있다. 현재 이러한 유해미생물의 증식을 억제시키는 항균제로 주로 인공 합성재료가 이용되고 있으나, 안정성에 문제가 제기되기도 하며, 특히 요즈음과 같은 well-being 시대에는 합성제품에 대한 좋은 인식을 갖고 있지 못하다. 따라서 소비자들은 건강과 관련하여 인공합성 제품에 대하여 기피하고 안전성에 문제가 없는 천연 향생물질을 선호하기 때문에 천연 향미생물제의 개발이 요구되고 있다. 특히 침엽수류는 송진과 소나무의 송진과 같은 물질을 분비하는데 이 물질에는 α-ionion, β-pinene, campane, terpenoid와 같은 essential oil류나 ercetin, kaempferol 등의 flavonoid류 등을 함유하고 있다. 이들 essential oil 류는 현재 많은 식물로부터 추출하여 이용하고자 하고 있으며, 개중에는 이미 상품화되고 있는 것도 있다. 따라서 본 연구에서와 같이 부산물로 버려지는 잣송이로부터 이들 essential oil류를 추출하여 향생제 대체물질로 이용할 수만 있다면 경제적으로 매우 부가가치가 높다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 방법으로 추출한 잣송이 추출물의 항균효과를 시험하기 위하여 inhibition zone test로 그 기능성을 검증하고자 하였다.

2. 잣송이로부터 추출한 생리활성 물질의 In vitro 항균효과

가. 잣송이 추출물의 in vitro 항균능력 검사

in vitro 상에서 잣송이 추출물의 항균능력을 검사하기 위하여 병원성 미생물과 유산균에 대한 성장실험을 실시하였다. 미생물 성장실험은 121℃에서 15분간 멸균한 0.1% peptone 용액에 농도가 각각 1,000 ppm/mL, 3,000 ppm/mL, 5,000 ppm/mL, 10,000 ppm/mL이 되도록 잣송이 추출물을 첨가한 후, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella*

enteritidis, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*을 접종하여 병원성 미생물은 37°C에서 24시간 배양하여 tryptic soy agar 평판배지에 각각 0.1mL씩 도말하여 총균수를 측정하였으며, 유산균은 37°C에서 48시간 배양하여 MRS agar 평판배지에 각각 0.1mL씩 도말하여 총균수를 측정하였다. 실험에 사용한 미생물은 병원성 미생물로서 *Escherichia coli* O157:H7 ki 91039, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Lactobacillus bulgaricus* LB-12와 *Lactobacillus casei* 01을 사용하였다.

나. 결과 및 고찰

병원성 미생물에 대한 잣송이 부산물 추출물의 항균활성을 paper disc법으로 관찰한 결과 Fig. 9~13까지 각 추출 방법 및 추출 용매에 따른 inhibition zone test 시험에서 보는 바와 같이 SDE 추출법에 의해 추출된 essential oil은 Gram negative 및 positive bacteria에 대해서 억제 환이 생기지 않았다. 다음은 유기용매 추출법으로 추출한 ethanol, methanol, Hexane 및 ethano+hexane으로 추출한 추출물은 Gram negative bacteria인 *Escherichia Coli*과 *Salmonella typhimurium*에서는 억제환이 생성되지 않았으나, Gram positive bacteria인 *Listeria monocytogenes*와 *Staphylococcus aureus*에서는 뚜렷한 성장 저해환을 관찰할 수 있어 잣송이 추출물은 부패 병원성 균주에 대해 항균 효과가 있음을 나타냈다. 이는 천연물 추출물 첨가에 따른 병원성 부패 미생물이 항균효과가 있다고 보고한 이 등 (1998)의 결과와 유사하였으며, 천연 물질을 이용한 식품보존료 등으로의 이용가능성을 알 수 있었다. 또한 유기사료 자원의 부패를 예방하기 위한 사료첨가제로서의 가능성도 예상할 수 있었으나, 이들 추출물이 유기사료의 첨가제로 이용할 수 있을 지에 대한 검토는 반드시 이루어져야 하리라 생각한다. 뿐만 아니라 본 시험에서와 같이 부패균에 대한 항균효과가 확실하다면 항생제 대응으로서는 가치가 적을 수 있으나, 음수에도 적용할 가치가 있을 것으로 추측할 수 있다.

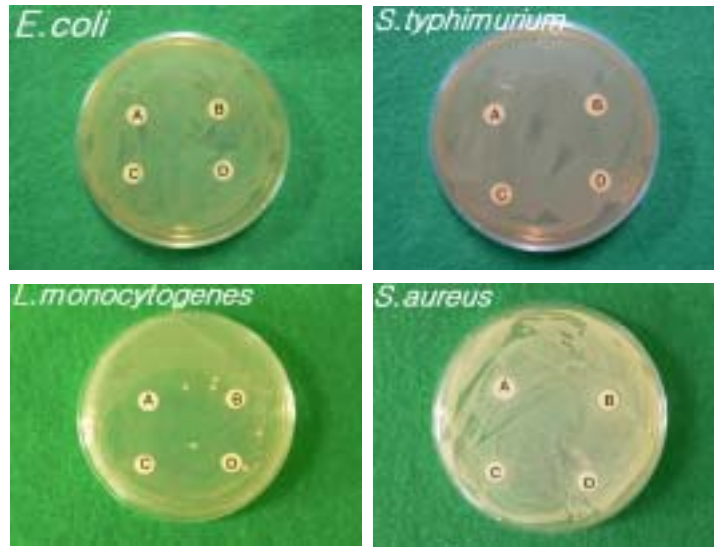


Fig. 9 Photographs of inhibition zones produced by SDE extracts from by-product of pine nut cone against *E.coli* and *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* (in vitro)

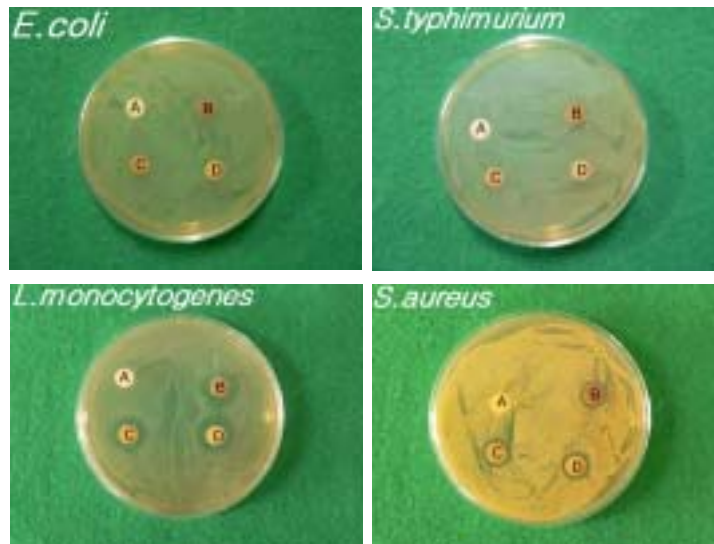


Fig. 10 Photographs of inhibition zones produced by Ethanol extracts from by-product of pine nut cone against *E.coli* and *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* (in vitro)

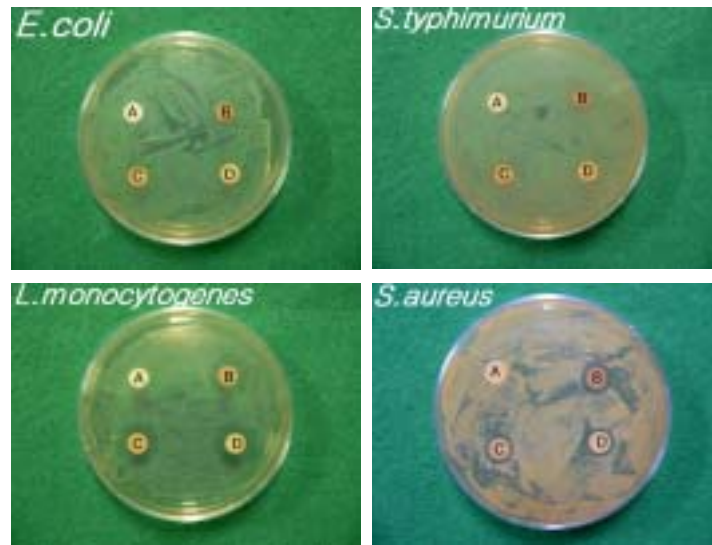


Fig. 11 Photographs of inhibition zones produced by Methanol extracts from by-product of pine nut cone against *E.coli* and *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* (in vitro)

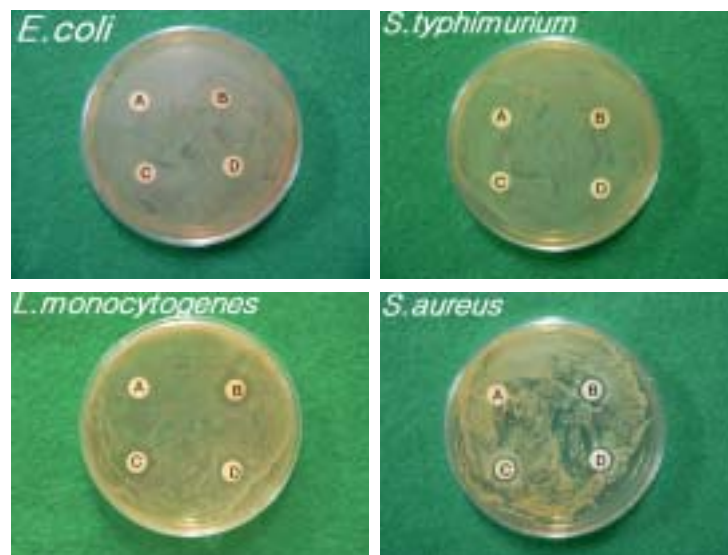


Fig. 12 Photographs of inhibition zones produced by Hexane extracts from by-product of pine nut cone against *E.coli* and *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* (in vitro)

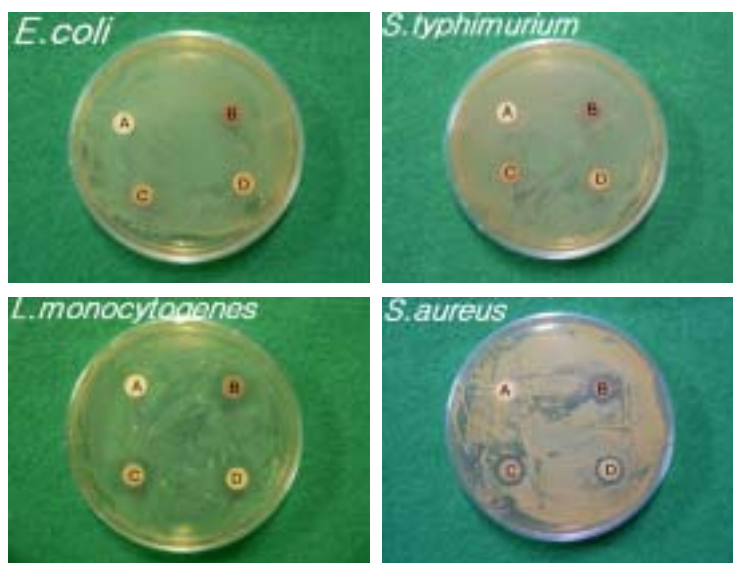


Fig. 13 Photographs of inhibition zones produced by Ethanol(7)+Hexane(3) extract from by-product of pine nut cone against *E.coli* and *S.typhimurium*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* (in vitro)

Table 10. Growth inhibiting activities of SDE, Ethanol, Methanol, n-Hexane and Ethanol(7) + n-Hexane(3) extracts of pine nut cone for microorganisms

	Clear zone diameter (mm)				
	SDE	Ethanol	Methanol	Hexane	Ethanol(7)+Hexane(3)
Gram negative bacteria					
<i>Eschericia Coli</i>	- ¹⁾	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-	-
Gram positive bacteria					
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	++	++	++	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+

1)Size of clear zone (-;>8mm, +;8-12mm, ++;12-16mm)

3. 잣송이로부터 추출한 생리활성 물질이 Semi-Broiler의 성장, 소화기관 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향

가. 실험재료 및 방법

1) 실험기간 및 실험장소

사양실험은 2005년 5월 10일부터 5월 25일까지 16일간 춘천시 장춘면 광관리 소재의 육계 사육장에서 실시하였다.

2) 실험동물

공시동물은 경기도 안산시 소재 부화장에서 공급받은 semi-Broiler 총 20수(4처리 5반복)를 공시하였다.

3) 실험사료 및 시험설계

본 실험에 사용된 기초사료의 조성은 Table 1과 같고 이 사료를 대조구로 하였으며, 본 실험에서 사용된 재료는 강원도 및 경기 북부 지역에서 자생하는 잣나무로부터 잣송이를 가늘게 채취하여 잣 알맹이를 빼고 난 잣송이 부산물을 작게 절단한 후 열풍건조기로 건조하였으며, 건조한 시료는 분쇄기를 이용하여 미세하게 분쇄한 시료로 이용하였다.

Table 1. Chemical composition of basal diet

Nutrient Chemical Composition	%
Crude protein	20.00
Crude fat	7.33
Crude ash	5.01
Ca	0.80
P	0.67
ME(kcal/kg)	3,100

시험사료에 첨가한 잣송이 추출물은 ethanol 추출물과 ethanol과 hexane 혼합 추출물을 각각 1000ppm 첨가하여 시험에 이용하였다. 시험 처리구는 Table 1과 같은 조성이 되도록 OEM 주문 배합하였으며, 전, 후기 구분 없이 단백질함량 20%, 대사에너지 3,200kcal/kg으로 배합하여 시험사료로 이용하였다. 기타 필요한 영양소는 NRC 사양표준(1994) 수준에 적합하도록 맞추어 주었다. 시험 계획은 항생제를 첨가한 대조구(C), 항생제를 첨가하지 않은 T1 구, 항생제 대체 ethanol추출물 1000ppm 첨가한 T2구, 항생제 대신에 ethanol+hexane 추출물 1000ppm을 첨가한 T3구로하여 시험에 이용하였다. 시험기간 동안 사료와 음수는 자유 급여하였다.

4) 조사항목 및 조사방법

가) 체중 및 증체량

체중은 실험개시 시와 16일까지 매 5일마다 일정시간에 총 4회 측정하였다. 체중을 측정하기 4 시간 전에 사료 통에서 사료를 제거하여 잔량을 측정하고 4시간 후에 체중을 측정하였다.

나) 사료섭취량과 사료효율

사료섭취량은 체중측정과 같이 측정하였으며, 총 급여량에서 잔량을 공제하여 구하였다. 사료효율은 사료섭취량을 증체량으로 나누어 계산하였다.

다)근위, 맹장, 소장 무게 및 소장 길이

장기의 중량을 측정하기 위하여 사양실험 10일과 16일에 각 처리 당 평균체중에 가까운 개체를 3수씩 선발하여 소장, 근위, 맹장의 무게와 길이를 측정하여 체중 1000g 당 단위로 표시하였다.

라)소장 Villi 길이

사양실험 10일과 16일에 소장을 적출하여 0.2M PBS(Phosphate Buffer Solution, pH 7.4)으로 희석한 10% formalin으로 고정하고 Microtome(Clinicut 60 Cryostat, Bright Co. Ltd., England)으로 10 μ m 두께로 -40 $^{\circ}$ C에서 절편하였다. 절편은 HE염색(Hematoxylin Eosin stain)후 Micrometer를 광학현미경에 장착하여 소장 villi의 길이를 측정하였다.

마)장내 미생물 검사

맹장 내 미생물을 분석하기 위해 사양실험 3주령에 맹장을 적출하여 맹장 내용물을 각각 1g씩 채취하여 0.9% NaCl 용액 99ml에 homogenizer로 60초간 균질 시키고 그 현탁액을 0.1% peptone G(Pancreatic digest of Gelatin)용액 9ml에 연속 희석시켰다. 9ml에 희석할 때는 vortex mixer로 20초간 처리하였다.

총균수, 총유산균, E.coli, Salmonella typhimurium을 희석 배양하여 균수를 측정하였고, 사용한 배지와 배양조건은 Table 2와 같다.

유산균 배양시 MRS agar에 NaN₃ 0.02%를 첨가하였다.Salmonella typhimurim는 Selenite cystein broth에 배양 시키고, 배양액을 Salmonella shigella agar에 희석접종하여 최확수법(MPN ; Most probable number)으로 확인하였다.

바)통계분석

처리구간 평균성적에 대한 유의차는 SAS(Statistical Analysis System, 1995)의 GLM(General Linear Model)방법을 통해 이루어졌으며, Duncan's new multiple range test를 이용하여 유의성 분석을 실시하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 체중 및 증체량

Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 체중에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 개시 체중은 각 처리구가 거의 일정한 수준에서 시작하였으며 실험개시 5일과 10일 후의 체중은 각 처리구별 차이가 없었으나 10일령에는 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물 처리구가 대조구에 비해 가볍게 나타났으며, 항생제를 첨가하지 않는 T1구는 대조구와 다른 처리구들에 비해 무겁게 나타났다. 16일령에서는 대조구에 비해 모든 처리구의 체중이 무겁게 나타났다. Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 증체량, 사료섭취량, 사료효율에 미치는 영향은 Table3과 같다.

증체량은 실험개시부터 16일령까지의 총 증체량으로써 대조구에 비해 항생제를 첨가하지 않은 처리구가 무겁게 나타났고, 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액 추출물 처리구가 가벼운 증체량을 나타냈다.

Table 2. Effects of extracts supplements of pine nut cone on body weight in semi-broilers

ITEM	Treatments			
	C	T1	T2	T3
Initial (g)	327.0 ^a	335.6 ^a	326.4 ^a	322.0 ^a
5 days (g)	432.8 ^{ab}	451.8 ^a	406.4 ^b	402.0 ^b
10 days (g)	578.6 ^b	625.4 ^a	552.4 ^c	544.4 ^d
16 days (g)	650	763	725	750

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract

사료섭취량은 항생제를 첨가하지 않는 처리구가 대조구에 비해 많이 나타났고, 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구가 다른 처리구에 비해 적게 나타났고 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구가 가장 적은 사료 섭취량을 나타냈다. 사료효율 면에서는 대조구에 비해 모든 처리구들이 낮게 나타나 사료효율이 높게 나타났다. 그 중에서도 항생제를 첨가하지 않은 처리구와 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구의 사료효율이 높게 나타났다.

Table 3. Effects of extracts supplements of pine nut cone on weight gain, feed intake, feed/gain in semi-broilers

ITEM	Treatments			
	C	T1	T2	T3
Weight Gain (g)	251.6 ^b	289.8 ^a	226.0 ^c	222.4 ^d
Feed intake (g)	712.6 ^b	733.8 ^a	585.4 ^c	563.6 ^d
Feed gain	2.83 ^a	2.53 ^c	2.59 ^b	2.53 ^c

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract

에탄올 추출물 사료를 섭취한 semi-broiler 처리구와 에탄올과 헥산 추출물이 혼합 사료를 섭취한 semi-broiler의 증체량이나 섭취량이 대조구에 비해 떨어지는 이유는 잣 추출물의 함에 semi-broiler들이 적응이 덜 되어 이로 인해 성장이 떨어졌기 때문에 장기무게도 떨어졌다고 유추할 수 있다. 따라서 가금 사료에 추출물을 첨가제로 이용하기 위해서는 최소 2주 이상의 적응기간이 필요할 것으로 판단된다.

2) 근위의 무게

Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 근위무게에 미치는 영향은 Table 4와 같다.

Table 4. Effects of extracts supplements of pine nut cone on gizzard weight in semi-broilers

ITEM	Gizzard weight(g/kg)			
	C	T1	T2	T3
10 days	37.97±4.98	30.81±6.31	35.61±5.88	36.11±7.64
16 days	42.46±0.22	32.11±2.78	30.69±0.49	26.67±2.83

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract.

근위의 무게는 10일령에서 대조구에 비해 모든 처리구가 가볍게 나타났고, 16일령에서도 모든 처리구가 가볍게 나타났는데 그 중에서도 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구가 월등히 가볍게 나타났다.

3) 맹장의 무게

Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 맹장의 무게에 미치는 영향은 Table 5와 같다.

Table 5. Effects of extracts supplements of pine nut cone on cecal weight in semi-broilers

ITEM	Cecal weight(g/kg)			
	C	T1	T2	T3
10 days	8.58±1.83	7.42±1.74	9.40±0.54	8.49±0.97
16 days	7.31±1.63	9.50±3.24	6.90±1.95	6.33±0.47

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract.

4) 소장 길이 및 무게

Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 소장의 길이에 미치는 영향은 Table 6과 같다. 맹장의 무게는 처리구들간의 차이가 보이지 않고, 10일령에서는 에탄올추출물을 급여한 처리구가 대조구에 비해 무겁게 나타났고 항생제를 첨가하지 않는 처리구와 에탄올과 hexan 혼합용액추출물 처리구가 대조구에 비해 가볍게 나타났다. 16일령에서는 모든 처리구가 대조구에 비해 가볍게 나타났다.

Son et al. (2001) and Son (2003)은 닭의 맹장 내 혐기성 균수와 맹장과의 관계조사에서 맹장 내 총 혐기성 균수가 많으면 많을수록 맹장의 길이가 길어지는 유의성이 인정되는 등의 상관관계를 보고하였다. 또한, 맹장의 길이와 맹장 내 혐기성 미생물 수간에도 상관관계가 인정되어 맹장의 길이가 길수록 혐기성 미생물의 수가 증가하였다고 보고하였다.

사료 내 항생제 첨가에 의한 성장 촉진 기작은 육계사료에 항생제를 소량 첨가하여 급여한 결과 증체량, 사료섭취량, 사료효율이 개선되었다.(bird, 1969) 항생제, 생균제 및 효모제 첨가가 육계의 성장과 육질에 미치는 영향을 비교 하였을 때 항생제의 첨가가 타 처리구에 비해 증체량에서 높은 경향이 나타났다.(박, 2000)

소장의 길이는 10일령 대조구에 비해 항생제를 첨가하지 않은 처리구와 에탄올과 hexan 혼합용액추출물 처리구가 짧게 나타나고, 16일령에는 항생제를 첨가하지 않은 처리구는 대조구에 비해 길게 나타났고 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 hexan 혼합용액추출물 처리구는 짧게 나타났다.

Semi-broiler의 사료 내 잣송이 추출물 첨가가 소장의 무게에 미치는 영향은 Table 7과 같다. Table 7에서 나타난바와 같이 에탄올추출물을 급여한 처리구가 짧게 나왔기 때문에

Table 6. Effects of extracts supplements of pine nut cone on length of small intestine in semi-broilers

ITEM	Length of small intestine(cm)			
	C	T1	T2	T3
10 days	128.67±6.43 ^a	124.67±12.00 ^a	116.33±11.93 ^a	116.33±9.22 ^a
16 days	121.00±12.73	120.75±15.91	119.50±3.54	95.75±16.62

C : Control
 T1 : No antibiotics
 T2 : The extract of ethanol
 T3 : The extract of ethanol+hexane an extract.

10령과 16일령의 소장의 무게는 대조구에 비해 모든 처리구가 가볍게 나타났다. 소장은 축종을 불구하고 단백질, 지방, 탄수화물 등의 소화가 일어나며 소화된 모든 영양소가 흡수되는 주된 부위이다. 소장은 duodenum(십이지장), jejunum(공장), 그리고 ileum(회장)으로 나누어지는데, 가금의 소장부위는 다른 동물과 구별된다. 가금의 Duodenum은 근위에서 시작되어 하나의 커다란 loop를 이루고 있으며, pancreas(췌장)가 이 loop 사이에 연결되어 있다. Jejunum은 upper Ileum이라고 불리기도 하며 난황주머니(yolk sac)가 연결되어 있는 Meckel's diverticulum까지를, Ileum(회장)은 여기서부터 맹장 분리부 직전까지를 칭한다. 소장 길이는 어리고 급격히 자라는 동물에 있어서 성장을 측정하는 척도가 된다. Dror 등 (1977)은 부화 후 2주간 병아리의 선위-근위조직과 소장길이의 증가는 병아리의 생체중과 아주 밀접한 연관이 있다고 보고하였다. 또한 Stutz 등(1983)은 사료 내 항생제인 bacitracin을 각각 11, 55 ppm 첨가하였을 때 소장길이와 소장무게가 줄어들었다고 보고하였다.

Table 7. Effects of extracts supplements of pine nut cone on weight of small intestine in semi-broilers

ITEM	Weight of small intestine(g/kg)			
	C	T1	T2	T3
10 days	54.64±9.34	39.77±6.33	43.38±3.99	51.20±4.35
16 days	59.62±2.72	46.20±4.17	40.69±4.88	29.00±1.41

C : Control
 T1 : No antibiotics
 T2 : The extract of ethanol
 T3 : The extract of ethanol+hexane an extract.

5) 소장 Villi 길이 및 형태

Table 8. Effects of extracts supplements of pine nut cone on villi height in semi-broilers

ITEM	Villi height(μm)			
	C	T1	T2	T3
10 days	156.17 \pm 36.73 ^b	148.33 \pm 25.22 ^b	156.67 \pm 13.89 ^b	183.83 \pm 16.24 ^a
16 days	129.75 \pm 18.27	178.00 \pm 32.61	138.00 \pm 4.22	143.25 \pm 19.11

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract

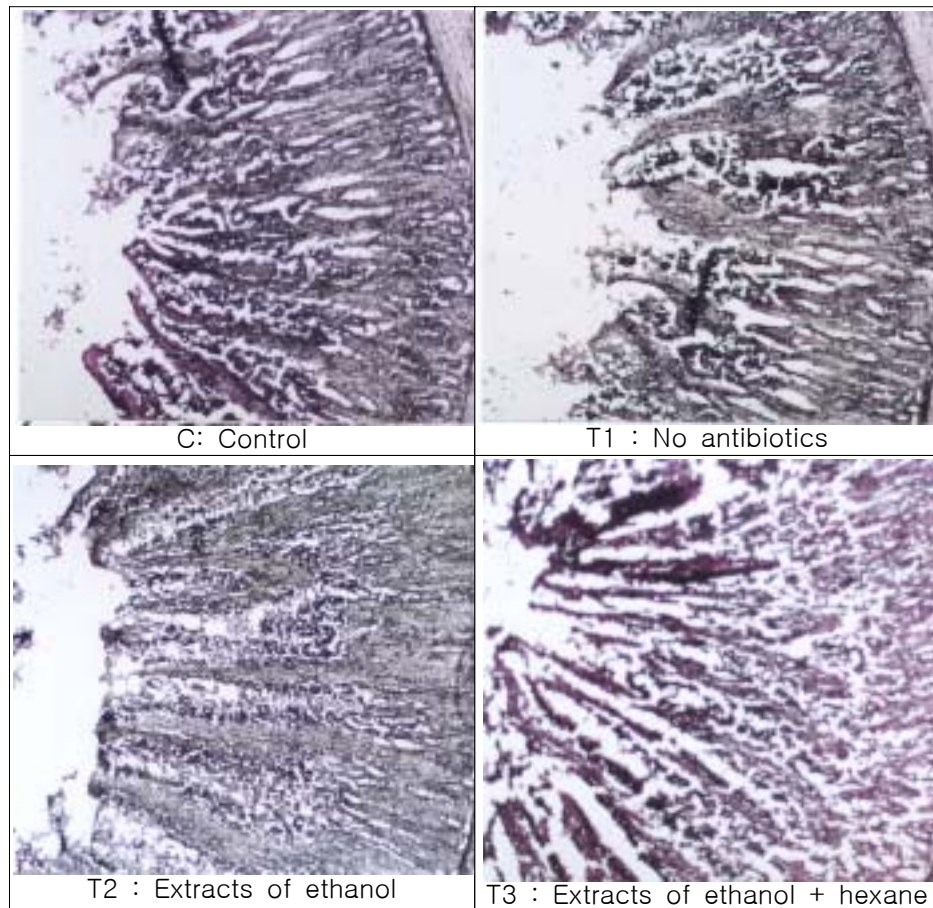


Figure 1. Regressive Staining of intestinal villi prepared from semi-broilers at 10 days of age.

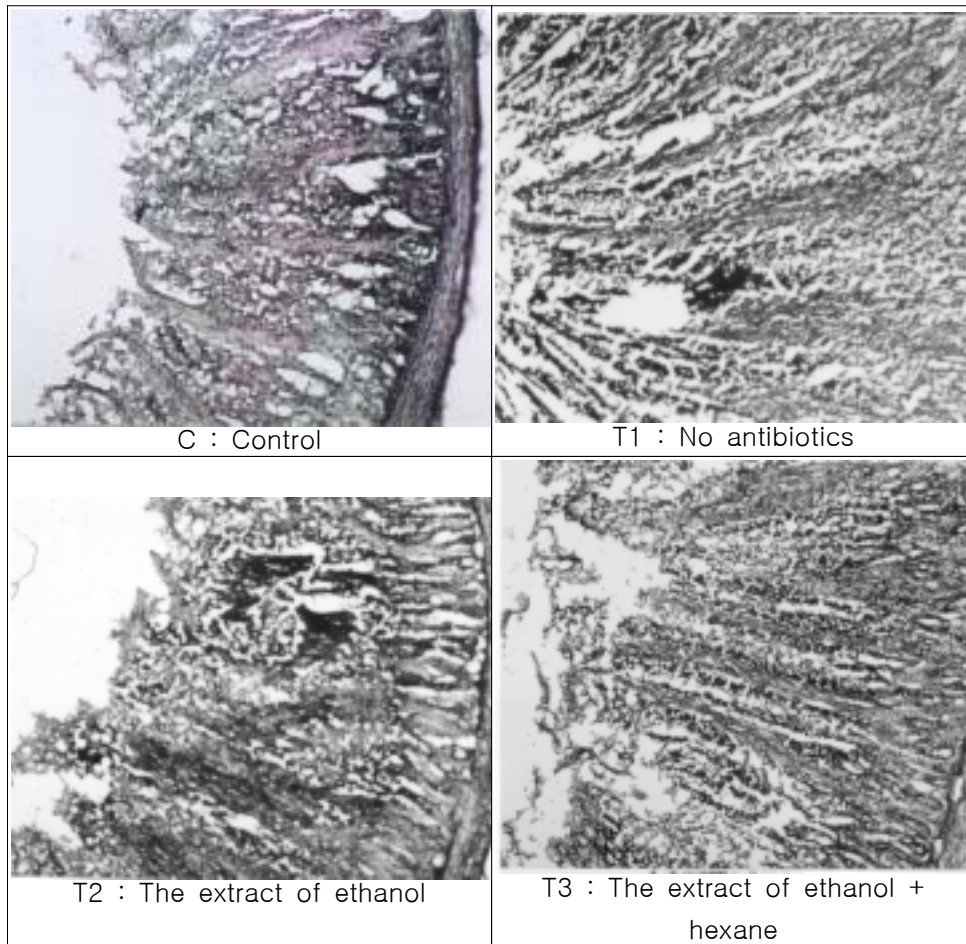


Figure 2. Regressive Staining of intestinal villi prepared from semi-broilers at 16 days of age

갯송이 추출물 첨가가 semi-broiler의 소화기관에 미치는 영향을 구명하기 위한 villi height는 대조구에 비해 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구가 길게 나타났다. villi height는 10일령 대조구에 비해 항생제를 첨가하지 않는 처리구가 짧게 나타났지만 에탄올 추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구는 길게 나타났다. 16일령 villi height는 모든 처리구가 대조구에 비해 길게 나타났다. 본 시험의 조건하에서 3주간 사료를 섭취한 후 소장의 회장부분의 villi 부분에 대한 염색법에 의한 광학현미경적 관찰 (Figure 1, Figure 2) 결과이다.

Kim 등(2001)은 다시마 alginate를 rat에 투여하였을 때 소장용모의 미세구조는 주름이 많

고 표면적이 넓은 잎사귀 모양이며 돌림주름 및 배상세포가 현저히 발달되었다고 하였고, Spring(1996)은 육계의 경우 villi height와 crypt의 깊이의 변화가 장관의 유지에 더욱 효율적일지는 아직 미지수라고 보고하였다. villi height의 증가는 영양소의 표면 흡수 증력의 증가(Spring, 1997)를 의미하고, 또한 소화 효소의 활력과 영양소 흡수가 개선된다고 한다 (Keelman 등, 1985).

6) 장내 미생물 검사

총균수(total bacterial count, TBC), 유산균수(lactic acid bacterial count, LAB), 대장균수(coliform bacterial count, VRBA) 및 살모넬라수(salmonella bacterial count)를 측정된 결과는 Table 9와 같다. 측정결과 총균수의 경우, 10일령 대조구에 비해 전 처리구에서 낮은 수치를 나타내었다. 유산균수도 대조구에 비해 전 처리구에 비해 낮은 수치를 나타내었다. 대장균수는 항생제를 첨가하지 않는 처리구와 에탄올추출물을 급여한 처리구가 높은 수치를 나타내고 에탄올과 헥산 혼합용액추출물 처리구는 낮은 수치를 나타내었다. 살모넬라균은 전 처리구가 대조구에 비해 높은 수치를 나타내었다.

16일령 총균수의 경우 대조구에 비해 전 처리구에서 높은 수치를 나타내었고, 유산균수는 대조구에 비해 전 처리구가 낮은 수치를 나타내었다. 대장균수는 대조구에 비해 항생제를

Table 9. Bacterial count on feed additives treatment groups (log No. cfu/ml)

ITEM	Treatments				
	C	T1	T2	T3	
10 days	TBC	8.59±0.06 ^a	8.46±0.26 ^a	7.94±0.25 ^a	8.26±0.39 ^a
	MRS	7.16±0.25 ^b	7.49±0.17 ^a	7.27±0.20 ^b	7.52±0.23 ^a
	VRBA	7.12±0.33 ^a	7.28±0.39 ^a	7.29±0.20 ^a	7.03±0.28 ^a
	SC	2.69±0.29 ^a	3.58±0.38 ^a	3.43±0.52 ^a	2.95±0.35 ^a
16 days	TBC	8.90±0.19 ^a	8.86±0.06 ^a	7.79±0.15 ^b	8.77±0.18 ^a
	MRS	8.11±0.28 ^a	7.49±0.14 ^b	7.39±0.21 ^b	8.08±0.05 ^a
	VRBA	7.39±0.14 ^{ab}	7.18±0.20 ^b	7.87±0.91 ^{ab}	7.99±0.10 ^a
	SC	2.69±0.41 ^a	3.09±0.30 ^a	3.61±0.61 ^a	2.45±1.20 ^a

C : Control

T1 : No antibiotics

T2 : The extract of ethanol

T3 : The extract of ethanol+hexane an extract

첨가하지 않는 처리구가 낮은 수치를 나타내었고, 에탄올추출물을 급여한 처리구와 에탄올과 핵산 혼합용액추출물 처리구는 대조구에 비해 높은 수치를 보였다.

살모넬라 수는 대조구에 비해 항생제를 첨가하지 않는 처리구와 에탄올추출물을 급여한 처리구가 높은 수치를 나타내었고 에탄올과 핵산 혼합용액추출물 처리구는 대조구에 비해 낮은 수치를 나타내었다. 하지만 그 차이가 특이적인 균총의 변화를 의미할 정도의 유의적인 차이가 관찰되어지지 않아 장내미생물 실험에서는 별다른 차이를 볼 수 없었다.

제 3 절. 잣송이 추출물의 항생제 대체 효과에 대한 연구

1. 유기사료에 잣송이 추출물의 첨가급여가 브로일러의 사양성적, 장기변화 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향

가. 서 론

전 세계적으로 생태파괴 및 환경오염에 대한 우려가 증대하면서 농업의 지속, 생태 환경의 건강한 유지 문제가 절박한 현안으로 등장하게 되었다. 따라서 이에 대한 대책으로 친환경 농업(親環境農業, Environmentally-Friendly Agriculture)이 관심의 초점이 되고 있다. 친환경 농업이란 원론적으로 자연, 생태, 토양, 수계에 오염을 유발하지 않고 오히려 이들의 유지 복원에 도움이 되는 농업행위를 의미한다. 이러한 친환경 농업을 영위하기 위해서는 축산의 역할과 기능이 필수적일 뿐 아니라 또한 막중하다.

한편 소비자의 측면에서는 친환경 농업이 식품의 안전성 및 건강성과 직결되어 있어 관심의 대상이 되고 있다. 이는 특히 안전하고 건강하지 못한 식품으로부터 유래 되는 질병이나 건강이상, 생명 이상의 문제가 최근 빈번해지면서 세계적으로 심각한 관심사가 되었다. 따라서 친환경농업의 개념에다 생태 다양성 복원 및 식품 안전·건강성 복원의 개념을 보다 강화하여 등장한 농업이 유기농업(有機農業, Organic Agriculture)이다. 따라서 소비자의 측면에서 유기농식품이란 개념이 보다 친숙하게 등장하게 되었고 특히 축산 선도국을 중심으로 유기 축산(有機畜産, Organic Animal Farming) 및 유기 축산물에 대한 관심도 급증하게 되었다. 결과적으로 유기 축산이란 근본적으로 친환경 축산의 범주에 속하지만 소비자의 관점에서 보다 강화된 의미를 갖게 되었고 식품이라는 측면에서 유기 축산물이 세계적인 통칭으로 자리 매김 되었다.

친환경 유기 축산이 축산 부문에서 차지하는 비중은 생산량 측면에서나 생산액 규모에서나 아직은 미약한 수준이다. 그러나 친환경 유기축산이 갖는 상징적 의미와 그 영향력은 매우 클 뿐 아니라 전 세계로 확산되고 있다. 특히 최근 발생한 유럽의 광우병 파동, 다이옥신 오염 돈육, 전 세계적으로 제기되는 항생제 남용문제, 축산행위에 의한 수계 및 환경오염문제에 대한 해결 대안으로서, 친환경적으로 생산되면서 안전한 축산물을 공급할 수 있는 유기축산에 대한 상대적 관심이 더욱 고조되고 있다. 우리나라도 이러한 추세에 맞추

어 이제 유기축산이 대동하고 있다.

친환경 유기 축산을 효율적으로 접목하기 위해서는 이에 필요한 기반과 소요기술이 우선 개발 정착되어야 한다. 특히 우리나라와 같이 유기 축산의 여건이 열악하고 자원이 제한되어 있는 경우, 한국형 유기 축산을 시행하기 위한 독창적인 기술의 확립이 무엇보다도 시급하다.

따라서 본 연구에서는 실제로 농가에서 유통되고 있는 유기사료를 이용하여 잣송이 추출물 유래 terpenoid 성분이 항생제 대체 물질로 가능한가에 대하여 검토하고자 본 시험을 실시하였다.

나. 실험재료 및 방법

1) 시험기간 및 장소

사양실험은 2005년 8월 1일부터 9월 3일까지 5주간 육계사육농장에서 실시하였다.

2) 시험동물 및 사료

공시동물은 갓 부화한 Abar Acre Broiler 총 200수(5처리 4반복)를 공시하여 평사에서 사육하였으며, 물과 사료는 자유 급여하였다. 본 시험에 사용된 전기와 후기 시험사료의 조성은 Table 1과 같다. 본 사료를 negative control(-C)로 하였으며, 기초사료에 항생제 첨가한 사료를 positive control로 하였다. 또한 시험구로는 T1은 잣송이 분말 3.0% 첨가구, T2는 잣송이 추출물 0.05% 첨가구, T3는 잣송이 추출물 0.1% 첨가구로 하였다. 본 시험에 사용된 잣송이 분말과 잣송이 추출용 분말은 강원도 북부 지역에서 자생하는 잣나무로부터 잣송이를 가을에 채취하여 잣 알맹이를 빼고 난 잣송이 부산물을 작게 절단한 후 열풍 건조기로 건조하였으며, 건조한 시료는 분쇄기를 이용하여 미세하게 분쇄한 것을 시험에 이용하였다.

3) 조사항목 및 조사방법

가) 체중 및 증체량

Table 1. Formula of the experimental diet

Ingredient	Amount(%)	
	Starter	Finisher
Organic Corn	47.0	54.5
Organic Soybean meal	47.4	36.9
Soy Oil	0.8	3.8
Limestone	0.9	1.3
TCP	0.9	0.6
Salt	0.3	0.3
Vit.-Min. premix.	2.7	2.6
Total	100	100

체중은 실험개시부터 종료 시까지 매 주마다 동일한 시간에 측정하였으며, 체중 측정 3시간 전에 전 처리구 모두 사료를 제거하여 절식을 유도하였다.

나) 사료섭취량과 사료효율

사료섭취량은 체중 측정시 급여량과 잔량을 측정하였으며, 섭취량은 총 급여량에서 잔량을 공제하여 구하였다. 사료효율은 사료섭취량을 증체량으로 나누어 계산하였다.

다) 근위, 맹장, 소장 무게 및 소장 길이

장기의 중량을 측정하기 위하여 사양실험 종료 시 각 처리 당 평균체중에 가까운 개체를 3수씩 선발하여 소장무게, 소장길이, 근위, 맹장, 비장, F낭 및 간장의 무게와 길이를 측정하여 체중 1000g 당 단위로 표시하였다.

라) 소장 Villi 길이

시험이 종료된 후 소장을 적출하여 0.2M PBS(Phosphate Buffer Solution, pH 7.4)으로 희석한 10% formalin으로 고정하고 Microtome(Clinicut 60 Cryostat, Bright Co. Ltd., England)으로 10 μ m 두께로 -40 $^{\circ}$ C에서 절편하였다. 절편은 HE염색(Hematoxylin Eosin stain)후 Micrometer를 광학현미경에 장착하여 소장 villi의 길이를 측정하였다.

마) 장내 미생물 검사

맹장 내 미생물을 분석하기 위해 사양실험 종료 시 맹장을 적출하여 맹장 내용물을 각각 1g씩 채취하여 0.9% NaCl 용액 99ml에 homogenizer로 60초간 균질 시키고 그 현탁액을 0.1% peptone G(Pancreatic digest of Gelatin)용액 9ml에 연속 희석시켰다. 9ml에 희석할 때는 vortex mixer로 20초간 처리하였다. 총 균수, 총 유산균, E.coli, Salmonella typhimurium을 희석 배양하여 균수를 측정하였고, 사용한 배지와 배양조건은 전과 동일하게 실시하였다.

유산균 배양시 MRS agar에 Na₂S₂O₃ 0.02%를 첨가하였다. Salmonella typhimurim 는 Selenite cystein broth 에 배양 시키고, 배양액을 Salmonella shigella agar에 획선 접종하여 최확수법(MPN ; Most probable number)으로 확인하였다.

바) 혈청 분리 및 혈청 IgG 분석

실험이 종료된 후 각 실험구 당 3수씩 선발한 공시동물은 ether로 마취시켜 심장채혈을 실시하였다. 혈액은 IgG를 측정하기 위하여 microfuge tube에 담아 37°C에서 한 시간 동안 incubation시킨 후 4°C에서 3000rpm에서 15분간 원심분리 하여 microfuge tube에 분주한 후 ELISA를 통하여 분석하였다. 96-well flat bottom immuno plate(Maxisorp, NUNC)에 primary antibody로서 각 plate에 goat anti-chicken IgB를 10 μ g/ml씩 분주하여 4°C에서 24 시간 incubation하였다. 다음날 PBS tween solution으로 3회 세척한 후 Blicking solution으로 각 plate에 350 μ l씩 분주한 다음 37°C에서 45분간 incubation시켰다. 혈청 100 μ l에 purified chicken IgG를 분주하여 37°C에서 1시간 incubation한 후 다시 PBS tween solution으로 3회 세척하였다. 그 후 secondary antibody인 Goat anti-chicken IgG-HRP conjugate(dilluted 1/40,000 in PBS)를 100 μ l분주하여 37°C에서 1시간 incubation하고 3회의 PBS tween solution으로 세척한 후에 TMB solusion(3,3',5,5"-tetramethylbenzidine tablets)으로 30분간 충분히 발색이 이루어지도록 유도한 후에 2mol H₂SO₄ 100 μ l로 반응을 정지시킨 후에 여러 번에 걸쳐 450nm의 wavelength로 ELISA reader(Microplate autoreader)를 이용하여 OD가를 측정하였다.

사) 통계분석

처리구간 평균성적에 대한 유의차는 SAS(Statistical Analysis System, 1995)의 GLM(General Linear Model)방법을 통해 이루어졌으며, Duncan's new multiple range test를 이용하여 유의성 분석을 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

유기사료로 5주간의 사양시험을 수행한 결과 사양성적은 Table 2와 같다. 유기 축산을 위해서는 무엇보다도 사료문제를 해결하여야만 한다. 즉 사료의 원료와 항생제, 또한 사료의 부패문제 등에 대해서 해결해야만 한다. 다음으로 환경과 복지 문제를 해결하는 것이 순서일 것으로 생각한다. 따라서 본 시험에서는 유기사료를 이용하여 브로일러를 사육하였고, 항생제 대체제로 잣송이 유래 생리활성 물질의 효능을 평가하고자 하였다. 그 결과 증체량은 유기사료에 항생제를 첨가하지 않은 -C 구에 비하여 항생제를 첨가한 +C 구나 생리활성 추출물을 첨가한 T2 구와 T3 구는 비슷하거나 높게 나왔으나, 잣송이 분말을 첨가한 T1구는 유의적인 차이는 없었으나 낮게 나타났다. 사료섭취량은 전 구 모두 비슷한 수준이었으며, 사료효율은 항생제 첨가구가 가장 좋은 반면 잣송이 분말을 첨가한 T1구가 가장 효율이 좋지 않았다. 폐사율도 항생제 첨가구가 가장 좋은 반면 잣송이 분말 첨가구가 가장 좋지 않았다. 이와 같은 사양성적으로만 미루어 보았을 때 잣송이로부터 추출한 생리활성 물질이 항생제 대체용으로 충분한 가치가 있는 것으로 나타났으나, 보다 많은 검증이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

소장의 무게와 소장의 길이는 사료의 통과속도와 매우 밀접한 관련을 갖고 있다. 즉 소장의 길이가 길면 사료 통과 속도가 지연되면서 소화될 수 있는 확률이 높아지는 반면에 통과속도 지연으로 인하여 소화 장애가 올 수 있는 확률도 높을 수 있다. 소장 무게는 항생제 첨가구가 가장 좋았던 반면 생리활성 추출물을 첨가한 구에서는 낮은 경향을 보였다. 반면에 소장 길이는 -C 구가 가장 긴 반면에 항생제를 첨가한 +C 구가 가장 짧은 것으로 나타났다. 즉 이와 같은 결과는 항생제 처리가 소장의 무게는 높이고 소장의 길이를 짧게 하여 장을 튼튼하게 해 주는 효과를 가져왔다고 볼 수 있다. 근위는 사료의 영양적인 질과는 관계가 없지만 섭취한 사료가 조악한 질이 나쁜 사료, 즉 딱딱하거나 질긴 사료가 함유되어 있을 경우 근위의 운동량을 증가시킴으로서 근위의 중량이 늘어난다(김 등, 2001).

근위 중량은 무항생제구인 -C 구가 가장 낮은 반면에 생리활성 천연물을 0.05% 첨가한 T2 구가 가장 높게 나타났으며, 잣송이 분말 첨가구인 T1 구가 그 뒤를 이었으나, 일정한 경향을 얻을 수는 없었다. 맹장 무게는 +C 구가 다른 처리구에 비하여 높았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 T2와 T3 구의 생리활성 첨가구가 낮은 경향이 있었다는 것은 잣송이 추출 생리활성 물질이 맹장 내 환경을 바꾸었을 가능성은 충분하다. F낭은 가금에서 여러 가지 질병과 관련이 있는 초기 림프계의 한 기관으로 바이러스 감염에 대하

Table 2 Effects of supplemented extracts of pine nut cone on growth performance in broiler chicks

	-C	+C	T1	T2	T3
IBW(g)	38.12±0.39	39.05±0.59	38.92±0.76	38.67±0.67	39.03±0.86
3wks B.W(g)	385.1±46.1	437.4±16.8	373.3±38.1	445.8±53.1	429.5±48.2
5wks B.W(g)	1061.5±69.8	1143.9±80.6	926.7±75.9	1095.7±82.0	1143.7±112.8
Gain	1023.4±69.8	1104.8±80.6	887.8±75.9	1057.1±82.0	1104.7±112.8
FI	2230.2±189.1	2201.1±227.3	2165.0±236.4	2273.3±42.7	2248.2±37.1
F/G	2.19±0.23	2.02±0.34	2.44±0.11	2.16±0.14	2.05±0.21
mortality (head)	6	5	8	6	6

Table 2 Effects of supplemented extracts of pine nut cone on organic changes in broiler chicks

	-C	+C	T1	T2	T3
소장무게(g)	60.1±11.7	62.9±9.5	57.1±5.6	54.9±10.9	53.6±3.1
소장길이(cm)	169.0±18.5	151.2±9.8	178.5±20.1	158.8±8.5	163.7±14.3
근위무게(g)	33.3±4.6	35.6±2.2	38.3±4.4	40.6±3.4	35.2±9.2
맹장무게(g)	11.9±3.8	12.8±7.0	10.2±2.5	10.4±2.7	9.6±1.1
F낭무게(g)	1.41±0.33	2.23±0.98	2.42±0.31	1.83±0.44	1.86±0.84
비장무게(g)	1.29±0.49	2.46±0.28	2.15±0.41	2.19±0.56	2.32±0.69
간무게(g)	30.7±1.4	39.0±5.0	33.3±2.7	29.9±1.6	34.9±5.2
Villi height(cm)	467.8±85.8	387.3±77.1	414.1±36.2	424.2±63.1	404.1±20.2

여 민감한 부분으로 면역기능과 밀접한 관련을 갖고 있는 기관이다. F낭의 무게는 -C 구가 가장 낮은 반면에 +C 구가 가장 높게 나타나, 항생제의 첨가가 F낭의 크기를 높였다고 볼 수 있으며, 따라서 F낭에 대한 잦은 추출 생리활성 물질은 번 시험의 결과만으로는 이와 같은 효과를 기대하기 어려울 것으로 판단된다. 비장도 마찬가지로 면역 과 관계가

깊은 기관으로 무항생제구인 -C 구에 비하여 모든 처리구가 높았던 점은 특이할 사항이다. 간의 중량은 -C 구와 T2 구가 가장 낮은 반면 +C 구가 가장 높았다. 일반적으로 Villi는 영양소 흡수율이 왕성한 어린 병아리일 때에는 길이가 짧고 두께가 두껍다. 한편 성장이 되면서 villi는 길이도 길어지고 굵기는 가늘어지는 경향이 있다. 즉 성장이 둔화되고 영양소 흡수력이 다소 떨어지는 성장 완료기에는 villi의 길이와 굵기가 어린 병아리 시기와는 달라진다는 것을 의미한다. 이는 villi의 길이가 짧고 굵기가 굵거나 길이와 굵기가 굵어진다는 것은 그만큼 villi의 기능 중에 하나인 영양소를 흡수할 수 있는 면적이 그만큼 넓다는 것을 의미한다. 따라서 본 시험에서 항생제와 생리활성 추출물을 첨가하여 급여한 구가 -V 구의 그것 보다 짧다는 것은 villi를 자극하여 영양소 흡수율을 높이기 위하여 길이가 길어지지 않았다고 판단할 수 있다. 이는 앞으로 보여 줄 영양소 소화율과 깊은 관련이 있을 것이다.

Table 3 Effect of supplemented extracts of pine nut cone on cecum microflora in broiler chicks

	-C	+C	T1	T2	T3
Total Bacteria Count	9.81±0.08 ^a	9.39±0.14 ^{ab}	9.47±0.43 ^{ab}	8.88±0.73 ^b	9.13±0.36 ^b
Lactic Acid Bacteria	8.82±0.60 ^a	8.16±0.20 ^{ab}	8.25±0.30 ^{ab}	8.15±0.32 ^{ab}	7.74±0.23 ^b
E. coli	9.09±0.33	8.87±0.32	8.90±0.14	8.17±0.94	8.52±0.23
Cl. perfringens	7.23±0.67	7.16±0.15	7.32±0.52	6.21±0.53	7.32±0.69

Table 3은 유기사료 급여시 항생제 또는 잣송이 추출 생리활성 첨가제를 첨가 급여한 5주후의 맹장 내 미생물 성상을 나타낸 것이다. 총 바이러스는 항생제를 첨가하지 않은 -C 구가 가장 높은 반면에 잣송이 추출 생리활성 물질을 첨가한 T2 및 T3 구의 그것은 유의적으로 낮았다. 또한 유효균으로 알려진 유산균도 -C구가 가장 높았던 반면에 T2와 T3 구는 낮았으며, E. Coli와 Cl균도 비슷한 현상을 보였다. 이와 같은 결과로부터 본 생리활성 추출물은 유익균과 유해균에 모두 negative적 작용을 하기 때문에 이와 같은 결과가 나온 것이라 판단된다. 즉 생리활성 추출물의 항균효과는 우수하지만 유산균에 대하여도 좋

지 않은 영향을 준다는 점에서 좀 더 많은 시험이 필요할 것으로 판단된다.

영양소 소화율에 대한 결과는 Table 4와 같다. DM 소화율은 항생제를 첨가한 =C 구가 가장 우수한 반면 생리활성 추출물을 1.0% 첨가한 T3구가 가장 나빴다. 에너지 이용율에 있어서는 -C 구와 T3 구가 유의적으로 낮았으며, 단백질 이용율도 -C 구와 T3구가 유의적으로 좋지 않은 결과를 보였다. 한편 Ca와 P의 이용성은 각 처리 간 유의적인 차이가 없이 비슷한 경향을 보였다. 따라서 본 시험의 결과로만 미루어 보았을 때 잣송이 추출물이 영양소 이용율에 항생제 첨가 급여만큼의 효과는 없었지만 최소한 항생제를 대체할 수 있을 만큼의 효과는 얻을 수 있는 것으로 보인다.

Table 5는 유기사료를 급여한 브로일러의 면역기능에 잣송이 추출 생리활성 물질의 효능을 검토하기 위하여 실시하였다. 항생제를 첨가하지 않은 -C 구의 IgG 농도는 3.94mg/ml이었으나 항생제 첨가구의 IgG 농도는 5.30mg/ml로 항생제 첨가로 인하여 면역성을 증강시키는 효과가 있었다. 그러나 잣송이 분만을 사료에 첨가 급여하였을 경우에는 오히려 면역 기능이 감소되는 것으로 나타났다. 한편 본 연구의 추출물인 생리활성 물질을 첨가 급여하였을 경우 생리활성 추출물의 첨가수준이 높아질수록 IgG 농도도 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 면역성에 관한 시험에서 보면 잣송이 추출 생리활성 추출물이 항생제 대체용으로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

전체적으로 유기사료를 이용하기 위해서는 항생제를 사용할 수 없기 때문에 항생제를 대체할 면역증강용 물질이 필요하다고 생각되며, 본 연구에서 검토되어온 잣송이 추출 생리활성 물질을 항생제 대체용으로 사용할 수도 있다고 판단된다.

Table 4 Effect of supplemented extracts of pine nut cone on nutrient digestibility in broiler chicks

	-C	+C	T1	T2	T3
DM(%)	73.28±1.2 ^{bc}	76.13±0.9 ^a	75.70±0.9 ^{ab}	75.75±1.5 ^{ab}	72.38±0.7 ^c
Energy(%)	73.38±4.3 ^b	75.53±1.5 ^a	75.93±2.3 ^a	75.53±0.9 ^a	72.45±1.9 ^b
CP(%)	79.88±1.2 ^c	83.35±1.4 ^a	83.73±2.1 ^a	82.40±1.5 ^{ab}	81.55±1.2 ^b
E.E.(%)	59.53±1.5 ^d	66.85±1.5 ^c	78.53±1.4 ^a	78.08±1.4 ^{ab}	76.28±1.5 ^b
Ca(%)	62.54±1.0	66.86±0.8	65.78±1.6	67.54±1.0	64.86±1.2
P(%)	63.42±1.6	64.15±1.2	63.56±1.3	62.43±0.9	63.28±1.6

Table 5 Effect of supplemented extracts of pine nut cone on IgG in broiler chicks(1/125,000 희석)

-C (mg/ml)	+C (mg/ml)	T1 (mg/ml)	T2 (mg/ml)	T3 (mg/ml)
3.94	5.30	2.50	4.49	5.04

2. 잣송이 추출물의 급여방법의 차이가 브로일러의 육성성적, 저장성, 콜레스테롤 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향

가. 서론

일반적으로 침엽수류의 정유(Essential Oil)성분은 식물의 2차 대사물질로서 다양한 생리활성을 가지고 있다. 이들 정유 성분은 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시키고(1), 정유를 흡입하였을 때 진정효과도 있다고 보고되고 있다(2). 또한 이들 정유 성분은 항균, 살충효과 및 성장조절 작용을 갖고 있기 때문에 광범위하게 이용될 수 있다(3). 본 실험은 생리활성 추출물의 첨가급여가 육계의 성장능력과 혈청 및 고기의 콜레스테롤 함량, 지질산화에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시하였다.

나. 재료 및 방법

1) 시험설계 및 사양관리

본 시험은 잣송이 추출물의 첨가 효과를 관찰하기 위하여 브로일러에 전, 후기 구분 없이 사료 단백질 수준을 20%로 하고 대사에너지 수준을 3,100 kcal/kg로 하였다(Table 1). 사료의 잣송이 추출물 함량은 500 ppm으로 하였다.

시험에 있어서 처리구는 대조구(C), 잣송이 추출물 500ppm 첨가구(T1), 잣송이 추출물을 illite에 흡착하여 추출물이 500ppm이 되도록 첨가한 구(T2), 잣송이 분말 2.5% 첨가구(T3)로 나누어 총 4처리 4반복 반복 당 16수씩 총 256수의 브로일러를 이용하여 5주간 육계농장을 계사 1동을 임대하여 평사에서 사양시험을 수행하였다. 시험사료는 가루형태로

자유채식토록 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 음수토록 하였다. 체중 및 사료 섭취량은 매주 측정하여 증체량, 사료 섭취량 및 사료효율을 계산하였다.

2) 조사항목 및 조사방법

가) 증체량, 사료 섭취량 및 사료 요구율

시험동물은 시험기간 동안 한 반복 당 철제망으로 칸막이(3 m × 2.5 m)를 한 하우스 평사에 수용하여 물과 사료를 자유섭취토록 하였으며, 사료 섭취량은 사료 급여량에서 잔량을 제하여 구하였고, 사료 요구율은 시험 기간 중의 사료 섭취량을 총 증체량으로 나누어 구하였다. 체중은 매주 측정 4 시간 절식시킨 후 측정하여 주별 증체량을 구하였다.

나) 근위, 맹장, 소장 무게 및 소장 길이

장기의 중량을 측정하기 위하여 사양실험 종료 시 각 처리 당 평균체중에 가까운 개체를 3수씩 선발하여 소장무게, 소장길이, 근위, 맹장, 비장, F낭 및 간장의 무게와 길이를 측정하여 체중 1000g 당 단위로 표시하였다.

다) 혈액의 cholesterol 분석

혈액의 채취는 시험 종료시에 심장 채혈법에 의해 각 5ml씩 채취하여 원심 분리하였다. 원심 분리된 혈청은 분석하기 전까지 -10℃의 냉장고에 보관하여 콜레스테롤 분석에 사용하였으며, 혈액의 콜레스테롤 분석은 혈청자동분석기(Impact 400, USA)를 이용하여 분석하였다.

라) 지방산패도

TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance)는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 방법을 약간 수정하여 다음과 같이 실시하였다. 시험관에 세절육을 0.4 g 정량하여 항산화제 용액(propylene glycol + warm tween + BHT + BHA) 2~3방울, TBA 용액 3 mL, TCA-HCl 17 mL를 넣고 vertex에서 2~3초간 혼합하였다. 시험관의 마개를 닫고 100℃ 이상의 물에서 30분간 가열한 후 냉각하였다. 마개를 열어 5 mL의 반응액을 새 시험관에 옮기고 여기에 chloroform 2 mL를 넣은 다음 3000 rpm에서 15분간 원심 분리시켜 상등액을 532 nm에서 측정하였다. 과산화물가(Peroxide value; POV)는 Shantha와 Decker(1994)의 방법에

준하여 실시하였다. 이때 닭고기의 저장은 폴리에틸렌 포장지에 합기 포장하여 시료로 이용하였다.

마) 장내 미생물 검사

맹장 내 미생물을 분석하기 위해 사양실험 종료 시 맹장을 적출하여 맹장 내용물을 각각 1g씩 채취하여 0.9% NaCl 용액 99ml에 homogenizer로 60초간 균질 시키고 그 현탁액을 0.1% peptone G(Pancreatic digest of Gelatin)용액 9ml에 연속 희석시켰다. 9ml에 희석할 때는 vortex mixer로 20초간 처리하였다. 총균수, 총유산균, E.coli, Salmonella typhimurium을 희석 배양하여 균수를 측정하였고, 사용한 배지와 배양조건은 전과 동일하게 실시하였다.

유산균 배양시 MRS agar에 NaN₃ 0.02%를 첨가하였다. Salmonella typhimurim는 Selenite cystein broth에 배양 시키고, 배양액을 Salmonella shigella agar에 획선접종하여 최확수법(MPN ; Most probable number)으로 확인하였다.

바) 통계처리

본 시험에서 얻어진 자료의 통계처리는 SAS Package Program (1995)에 의하여 분산분석을 실시하였으며, 처리평균간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법을 이용하여 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

갯송이 추출물의 가공형태가 사양성적에 미치는 영향으로 검토한 결과는 Table 1에 제시한 바와 같다. 사양시험 결과 증체량은 대조구에 비하여 처리구가 높은 경향은 있었지만 유의적인 차이는 없었으며, 사료섭취량은도 처리구에서 비교적 높게 나타났다. 사료효율은 갯송이 분말 첨가구가 다른 시험구에 비하여 높게 나타났는데 이는 갯송이 분말 첨가로 인하여 부피가 높아졌고, 따라서 장의 기능이 개선됨으로서 영양소 이용성이 높아졌을 가능성을 제기할 수 있다.

Table 1 Effects of supplemented extracts of pine nut cone on growth performance in broiler chicks

	Treatment				SEM ¹
	C	T1	T2	T3	
Wt. Gain (g)	1471.33	1552.28	1549.28	1570.45	98.83
Feed intake (g)	2773.18	2493.66	2513.18	2499.79	126.27
Feed/gain	1.62	1.61	1.62	1.59	0.05

^{ab} Values with different superscript are differ significantly (p<0.05)

¹Standard error of means

Table 2에는 잣송이부산물물의 가공형태에 따른 브로일러 혈청 및 가슴살과 다리살의 콜레스테롤 함량을 검토한 결과이다. 혈청 콜레스테롤 함량은 잣송이 추출물을 첨가한 T1과 T2구가 대조구와 잣송이 분말을 첨가한 T3구에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다. 가슴살

Table 2 Effects of extracts supplements of pine nut cone on the cholesterol content of serum and meat of broilers

	Treatment				SEM ¹
	C	T1	T2	T3	
Serum(ml/dL)	208.55 ^a	195.79 ^b	196.29 ^b	208.39 ^a	7.40
Breast(mg/100g)	44.21 ^a	35.94 ^b	37.99 ^{ab}	42.54 ^{ab}	5.72
Thigh(mg/100g)	80.72	71.95	70.23	82.70	12.69

^{ab} Values with different superscript are differ significantly (p<0.05). ¹Standard error of means

의 콜레스테롤 농도는 잣송이 추출물 500ppm 첨가한 T1구가 T2구나 대조구에 비하여 낮은 경향을 보였으며, T3에 비하여는 유의적으로 낮게 나타났다. 다리살의 콜레스테롤 함량은 T1과 T2구가 대조구와 T3구에 비하여 낮은 경향은 있었으나, 통계적 유의차이는 없는

것으로 나타났다. 이와 같은 결과로부터 기존에 논의되어 오던 terpene류의 콜레스테롤 저감에 대한 효과가 본 연구에서도 입증되었다.

Table 3 Effects of extracts supplements of pine nut cone on lipid oxidation of broiler meat.

		Treatment				SEM ¹
		C	T1	T2	T3	
TBARS	Breast	0.61	0.48	0.39	0.71	0.36
	Thigh	0.67	0.64	0.63	0.75	0.14
POV	Breast	0.016 ^c	0.032 ^a	0.021 ^{bc}	0.023 ^b	0.005
	Thigh	0.023 ^b	0.036 ^a	0.025 ^b	0.016 ^c	0.006

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substance. POV : Peroxide value

^{abc} Values with different superscript are differ significantly (p<0.05). ¹Standard error of means

육류의 저장성 지표는 일반적으로 TBARS와 POV를 측정하여 판단한다. 브로일러 사료에 잣송이 추출 생리활성 물질의 첨가에 따른 TBARS과 POV를 분석한 결과는 Table 3과 같다, 가슴살에 대한 TBARS값은 대조구와 잣송이 2.5% 첨가구(T3)에 비해 T1과 T2구가 낮은 경향을 보였으나, 다리살의 TBARS 값은 처리간 차이가 나타나지 않았다. 가슴살에 대한 POV값은 T1구가 대조구나 T3에 비하여 유의적인 차이는 보였지만(P<0.05), 다리살의 POV는 T1이 가장 높은 반면 대조구와 T2구가 낮았고, T3가 다른 모든 처리구에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다. 따라서 본 연구 결과로부터 잣송이 추출물은 지방산패를 억제함으로써 육질 보존력을 높일 수 있는 항산화력을 갖고 있다고 판단되었다.

Table 4에는 잣송이 추출물의 급여에 따른 3주령과 5주령 브로일러의 맹장 내 미생물 성상을 조사한 결과를 나타내었다. 3주차 브로일러 맹장의 총 박테리아는 대조구에 비하여 처리구에서 낮은 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 대장균수도 동일하게 대조구가 높은 경향을 보였으나, 유산균은 대조구와 T3구에 비하여 높은 경향을 보여, 3주차에 잣송이 추출물은 장내 미생물 환경을 개선할 수 있는 효능을 작고 있다고 판단할 수 있었다. 반면에 5주령 브로일러 맹장내 미생물 성상을 조사한 결과는 총 미생물 수는 T1이 가장 높은 반면 다른 처리구는 대조구와 비슷한 경향을 보였다. 뿐만 아니라

대장균도 대조구에 비하여 처리구(T1, T2 및 T3)가 유의적으로 높았으나, 유산균수는 처리간 차이가 나타나지 않았다.

Table 4 Effect of supplemented extracts of pine nut cone on cecum microflora in broiler chicks

		Treatment				SEM ¹
		C	T1	T2	T3	
3weeks	TBC	9.05	8.68	8.91	8.69	0.40
	CBC	8.23	7.81	7.86	7.68	0.68
	LAB	7.97	8.26	8.25	7.69	0.50
5weeks	TBC	8.77 ^b	9.09 ^a	8.66 ^b	8.51 ^b	0.13
	CBC	7.50 ^b	8.37 ^a	8.09 ^a	8.24 ^a	0.22
	LAB	7.87	7.67	7.97	8.05	0.39

TBC : Total Bacterial Count. CBC : Coliform Bacterial Count. LAB : Lactic acid Bacterial Count.
¹Standard error of means. ^{abc} Values with different superscript are differ significantly (p<0.05)

육계 전, 후기 장기무게를 측정 한 결과는 Table 5와 6과 같다. 3주령 브로일러의 소장 무게는 T3구가 다른 처리구에 비하여 높았으나, 유의적인 차이는 없었다. 맹장 무게에 있어서는 대조구가 다른 처리구(T1, T2 및 T3)에 비하여 높은 경향은 있었으나 유의적인 차이는 없었다. 근위 무게는 처리간 일정한 차이를 보이지 않았으나, 면역 기능과 관련 있는 비장은 대조구와 T2구가 유의적으로 높은 반면에 T3구가 낮게 나타났다. F낭은 대조구에 비하여 처리구(T1, T2 및 T3)가 높은 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. 결과적으로 본 연구의 결과로 미루어 잣송이 추출물이나 잣송이 분말이 브로일러 초기의 장기 중량에 일정한 영향은 없는 것으로 판단된다. 한편 6주령 브로일러에 대한 장기 중량은 3주령의 그것과 다른 양상을 보였다. 소장무게는 대조구가 다른 처리구(T1, T2 및 T3)에 비하여 높았으나, 통계적 유의차는 없는 것으로 나타났다. 맹장과 근위 무게는 처리간 일정한 경향이 나타나지 않았다. 비장 무게는 대조구와 T2 구에 비하여 T1 및 T3구가 높게 나타났으나, 통계적 유의차는 인정되지 않았다. 따라서 본 시험의 결과로 미루어 생리활성

물질이 장기 중량에 미치는 영향은 매우 적다고 판단되며, 오히려 장기중량은 사료에 기인된다고 사료된다.

이상에서와 같이 육계 전, 후기사료에 잣송이 추출물의 첨가효과는 사양성적이나 장기중량 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향은 미소하다고 판단되며, 오히려 근육과 혈액의 콜레스테롤이나 지방산화 억제에 대한 효과가 높은 점으로 미루어 잣송이 추출물의 생리활성 기능은 지방 대사를 제어하는 효능을 있다고 판단된다.

Table 5 Effects of supplemented extracts of pine nut cone on organic changes in broiler chicks(3weeks)

	Treatment(% of body weight)				SEM ¹
	C	T1	T2	T3	
Small intestine	4.05	4.08	4.70	3.83	0.51
Cecum	0.74	0.64	0.63	0.59	0.12
Gizzard	3.20	2.82	3.20	2.68	0.55
Spleen	0.10 ^a	0.08 ^{ab}	0.10 ^a	0.07 ^b	0.01
Bursa of fabricius	0.18	0.25	0.20	0.23	0.05

^{ab} Values with different superscript are differ significantly (p<0.05). ¹Standard error of means

Table 6 Effects of supplemented extracts of pine nut cone on organic changes in broiler chicks(5weeks)

	Treatment(% of body weight)				SEM ¹
	C	T1	T2	T3	
Small intestine	4.05	3.88	3.64	3.59	0.73
Cecum	0.51	0.60	0.59	0.69	0.12
Gizzard	1.56	1.99	1.81	1.64	0.29
Spleen	0.16	0.20	0.15	0.21	0.05
Bursa of fabricius	0.11	0.12	0.14	0.14	0.04

¹Standard error of means

제 4 장 잣송이 부산물을 이용한 천연환경 개선제 개발

제 1 절 잣송이 부산물을 이용한 환경 개선제 개발 시험

1. 서론

국내에서 산업부산물의 생산량은 산업의 발달로 매년 증가하는 추세이며, 이런 산업부산물을 자연에 방치하였을 경우 환경오염원으로 잔류하게 된다. 현재 국내에서 생산되는 잣은 알갱이를 수확한 후, 그 잔류물은 상당량 자연에 방치되고 있는 실정이다. 그러나 이러한 환경오염원으로 방치될 수 있는 부산물을 자원화 함으로서 경제적인 이득과 더불어 환경 개선에 도움을 줄 수 있을 것이다.

지금까지 알려진 잣나무에 대한 가치는 영양물질이외에 terpenoid계 성분, phenol계 성분, 탄닌 및 알칼로이드 성분에 의한 항균, 살충 및 타감 작용을 하는 약리작용에 관한 것들이다. 또한 잣나무의 화학성분은 피부자극제, 소염제, 소독제, 완화제 및 보향제로 이용되고 있다. 그 중 terpenoids는 이소프렌으로 구성되어 있는 성분으로 항생, 항암, 혈압강하, 진정효과 및 호르몬분비를 촉진한다. 또한 terpinolene과 borneol은 담즙 분비를 촉진하여 콜레스테롤을 분해함으로서 체내의 콜레스테롤 수치를 낮추는 작용을 가지고 있어 뇌졸중, 고혈압 및 동맥경화증에 효과적인 것으로 알려져 있다. 그리고 α -pinene은 식물계에서 가장 많은 terpenoids로서 생장이 가장 활발할 때 분비되는 생체활성물질인데, 이것은 방충 및 항균의 작용을 한다. 이 밖에도 β -pinene은 술잎류에 가장 특징적인 성분으로 미생물 억제작용을 지니고 있는 것으로 보고되고 있어 잣송이 부산물의 사료적 가치는 매우 높을 것으로 판단된다. 그러나 잣 알갱이를 수확하고 남은 잣송이 부산물의 효과적인 재활용 방법과 이용방법에 대한 연구가 전무한 실정이며, 잣송이부산물을 이용한 환경개선제재의 개발 및 이용에 관한 연구는 미흡한 상태이다.

이와 같이 잣 알갱이를 생산한 잣송이에는 가축의 사료원으로 이용할 수 있는 생리활성 물질들이 다량 함유되어 있기 때문에 적절한 물리적 및 생물학적 처리공정을 개발하면 부가가치가 높은 가축 급여용 환경개선제의 개발을 모색할 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 실험은 잣송이 부산물을 이용하여 물리적 및 생물학적 처리공정을 이용하여 급여용 환경개선제를 개발하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 잣송이 부산물

본 시험에 사용한 잣송이 부산물은 화천군에 소재한 잣나무에서 잣을 생산하고 난 잣송이 부산물을 구입하여 실시하였다.

나. 잣송이 부산물 전처리

잣송이 부산물은 사료분쇄기(RETSCH SM2000, Switch)로 분쇄한 후 사료 분별기를 이용하여 송이 알갱이, 톱밥크기(5-6mm), 3-4mm 크기 및 분말로 분리하여 준비하였다.

다. 균주선택

실험실에서 분리한 균주 중 *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella*을 선택하여 잣송이 부산물에 대한 실험을 실시하였다.

라. 미생물 배양 조건 및 조사항목

1) 배양: 미생물 무접종구, *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 접종구

2) 당밀 3% 첨가 배양 : 미생물 무접종구, *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 접종구

- *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 배양

- 1) 및 2)의 미생물 무접종구에서 자체 균종의 배양성 파악

- 시료채취: 0, 12, 24, 48, 96, 120, 144시간

- 배양온도 : 30℃

- 실험구 처리: ① 대조구: 잣 부산물에 미생물 및 당밀 무처리구

② 당밀처리구: 잣 부산물에 당밀 3% 처리

③ 미생물 처리구:

잣 부산물에 *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 처리

④ 미생물 및 당밀처리구(미당처리구):

잣 부산물에 당밀 3%와 *Alcaligenes*, *Lactobacillus*

및 *Pasturella*를 처리

- 조사항목: 미생물균수, Total nitrogen, Total carbon

마. 탈지강 첨가에 따른 미생물수 파악

 작송이에 탈지강을 10 및 20% 첨가하여 균주의 성장 특성 파악

Table 1-1. Experimental design for defatted rice bran trial

	작(g)	당밀(g)	탈지강(g)	미생물배양물 (ml)	Total(g)
I	300	-	-	300	600
II	300	3	-	300	603
III	300	15	-	300	615
IV	300	30	-	300	630
V	300	60	-	300	660
VI	300	-	60	300	660
VII	300	30	30	300	660

I: 작+미생물, II: 작+당밀(1%)+미생물, III: 작+당밀(5%)+미생물, IV: 작+당밀(10%)+미생물,
V: 작+당밀(20%)+미생물, VI: 작+탈지강(20%)+미생물, VII: 작+당밀(10%)+탈지강(10%)

바. 적정 당밀첨가 수준 파악

- 당밀 0, 1, 2, 4, 8, 10 및 20% 첨가
- 0 와 48시간 배양 후 총 미생물 수 조사
- 일반성분 분석

사. 분석방법

1) 미생물분석방법

미생물 균수의 조사방법은 pour plate 법을 이용하였으며 모든 배양은 30℃에서 수행하였고 24시간에서 48시간 동안 배양한 후 colony를 계수하였다.

2) 일반성분 분석

시료의 일반성분 분석방법은 A.O.A.C(1990)에 준하였으며, Neutral Detergent Fiber(NDF) 및 Acid Detergent Fiber(ADF)의 분석은 Goering과 Van Soest(1970) 방법에 의하여 분석하였다.

3) Total Nitrogen(TN)

TN은 Dumas 법의 원리를 사용하는 Rapid N III(Elemental Anlysensystem GmbH)을 이용하여 분석하였다.

4) Total Carbon(TC)

TC는 Standard Method(1985)의 방법을 이용하였으며, 시료를 100℃ 건조기에서 24시간동안 건조한 후 건조시료를 회화로에서 600℃에서 3시간 회화한 후 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 잣송이 크기 선택 실험

환경개선제를 활용하기 위한 잣송이 크기 선택실험은 송이 자체 알갱이, 톱밥크기 (5-6mm), 3-4mm 크기 및 분말 잣송이로 제조하였는데 각각 크기에 따른 시료에서 잣향 및 휘발성지방산(Volatile Fatty Acid: VFA's) 농도에 대한 차이점을 발견할 수 없었다. 따라서 본 실험에서는 미생물 접종실험과 사양실험을 위하여 잣송이를 3-4mm 크기로 분쇄하여 사용하기로 결정하였다.

나. 미생물 선택

본 실험에 이용한 미생물은 *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 으로서 본 연구실에서 자체 분리 동정하여 이용하였다.

다. 최적 공정도출 시험

표 2, 3 및 4는 잣송이 부산물에 당밀과 미생물을 접종하여 배양시의 그 변화 특성을 분석한 것이다.

배양시간에 따른 TC의 변화를 볼때 대조구, 당밀처리구, 미생물처리구 및 미당처리구는 배양시간이 증가함에 따라 TC함량이 높아지는 결과를 보였다. 그러나 건물량으로 전환한 배양시간에 따른 TC함량은 대조구, 당밀처리구, 미생물 처리구 및 미당처리구간에 차이가 없는 결과를 보여 당밀 및 미생물 처리에 따른 배양시간별 TC함량에는 영향이 없는 것으로 나타났다.

Table 1- 2. Change of total carbon(TC) during incubation (%)

Time(hr.)	Control	당밀처리구	미생물 처리구	미당처리구
0	36.45	34.30	37.40	36.04
12	36.48	37.03	37.41	37.31
24	39.40	42.91	37.97	37.69
48	40.78	42.63	39.86	41.02
96	41.00	43.19	39.58	42.92
120	45.21	52.10	44.22	45.20
144	42.42	49.85	46.72	42.48

Table 1-3. Change of TC during incubation (Dry matter)

Time(hr.)	Control	당밀처리구	미생물 처리구	미당처리구
0	95.59	94.82	95.09	94.74
12	95.05	94.64	94.98	94.86
24	94.92	94.86	95.15	94.96
48	94.98	94.89	95.01	94.80
96	94.71	95.73	95.16	94.89
120	94.44	94.25	95.52	94.79
144	85.75	94.40	94.79	94.62

Table 1-4. Change of moisture content during incubation

Time(hr.)	Control	당밀처리구	미생물처리구	미당처리구
0	61.86	63.83	63.36	61.96
12	61.62	60.87	60.61	60.67
24	58.49	54.77	60.10	60.31
48	57.06	55.08	58.05	56.73
96	56.71	54.88	58.40	54.77
120	52.13	44.72	53.71	52.31
144	50.54	47.19	50.71	55.11

배양시간에 따른 잣송이 부산물의 수분함량의 변화는 대조구는 61.86%에서 50.54%, 당밀 처리구는 63.83%에서 47.19%, 미생물 처리구는 63.36%에서 50.71% 그리고 미당 처리구는 61.96%에서 55.11%로 배양시간이 경과함에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 그리고 미당 처리구는 대조구, 당밀 처리구 및 미생물 처리구에 보다 배양시간에 따른 수분함량의 감소량이 다른 처리구들에 비해 적은 결과를 보였다.

라. 당밀과 탈지장 이용시의 미생물 성장 특이성 파악

표 5와 그림 1은 배양시 잣송이에 존재하는 자체 미생물의 성장 특성과 접종 미생물의 배양 양상을 분석하기 위해 수행된 조건과 결과로서 배양중 자체 미생물의 성장은 크지 않은 것으로 나타났으며 당밀을 첨가하지 않는 경우에는 전혀 자체 미생물의 성장이 없는 것으로 나타났다. 미생물을 접종하여 배양하는 경우에는 배양중 활발한 성장이 일어남을 알 수 있었으며 당밀을 첨가한 경우에 보다 접종 미생물의 성장율이 높음에 따라 당밀 첨가가 접종 미생물의 성장에 영향을 미치는 인자임을 알 수 있었다.

표 1-5. Conditions for molasses effect experiment

	I	II	III	IV	V
잣 송이(g)	500	500	500	500	500(평균)
증류수(ml)	500	500	**	**	**
미생물(ml)	**	**	500	500	500
당 밀(g)	**	21		21	21

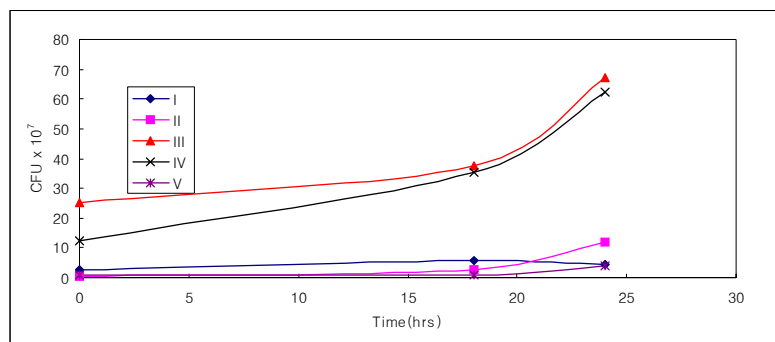


Figure 1-1. Microbes patterns during incubation

또한 당밀과 탈지강을 첨가하여 배양하면서 48시간 동안의 접종 미생물의 배양특성을 파악한 결과 I 구부터 V 구까지는 배양시간에 따라 미생물 군수의 변화가 커다란 차이가 없었으나(표 6과 그림 2), VI구와 VII구는 배양시간에 따라 미생물 군수의 변화가 현저하였음을 알 수 있었다. 아울러 VII구는 VI구보다 미생물 군수를 효과적으로 증가시키는 결과를 보여(그림 3) 탈지강 첨가가 positive한 영향을 미치는 것으로 파악되었다.

Table 1-6. Change of CFU×10⁷/g

	I	II	III	IV	V	VI	VII
0	4.9	9.5	4.97	4.1	3.8	27.3	35.4
24	9.0	24.8	16.1	9.1	2.3	63.4	54.3
48	14.1	33.4	42.2	8.0	75.4	64.2	72.7

I: 잣+미생물, II: 잣+당밀(1%)+미생물, III: 잣+당밀(5%)+미생물, IV: 잣+당밀(10%)+미생물, V: 잣+당밀(20%)+미생물, VI: 잣+탈지강(20%)+미생물, VII: 잣+당밀(10%)+탈지강(10%)

그림 2은 당밀첨가 수준에 따른 미생물 군수 변화를 나타낸 것이다. 당밀을 5% 및 10% 첨가하여 배양하면 전체 배양시간동안 미생물 군수의 변화는 적었지만, 당밀 20%첨가구인 V 구는 25시간 경까지는 변화하지 않다가 그 후 시간에 급격하게 증가하는 것으로 나타났다. 그림 3은 탈지강을 첨가한 후 배양시간에 따른 미생물 군수의 변화를 조사한 것으로서 탈지강과 당밀을 혼합하여 처리한 VII구가 탈지강만 첨가하여 배양한 VI구보다 일정하게 증가하는 결과로 나타났다. 그림 2와 3의 결과에서 보듯이 탈지강을 부형재로 함께 첨가하여 배양하는 것이 탈지강을 첨가하지 않고 미생물만으로 배양하는 것 보다 효과적인 결과를 보이고 있다.

따라서 잣송이 분쇄물질에서 안정적인 미생물 증가를 위해서는 탈지강과 당밀을 혼합하여 배양하는 것이 긍정적인 것으로 판단된다. 더욱이 탈지강의 첨가는 급여용 환경개선제로 사용시 긍정적인 효과를 가져다 줄 것으로 기대된다.

표 7은 당밀, 탈지강 및 미생물을 처리하여 배양시간에 따른 TC함량 변화에 대한 결과가

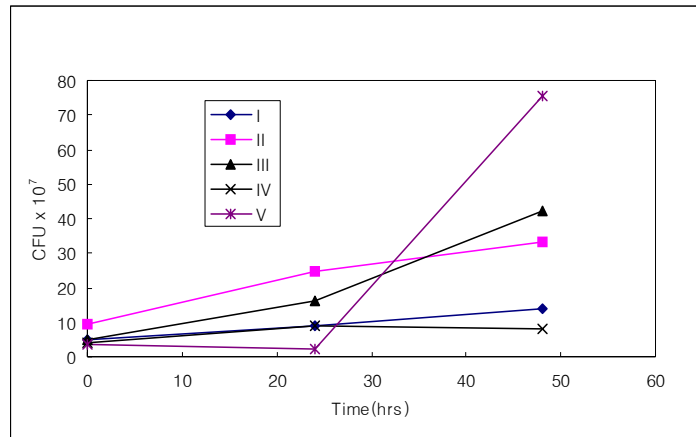


Figure 1-2. Effect of molasses level on CFU×10⁷/g

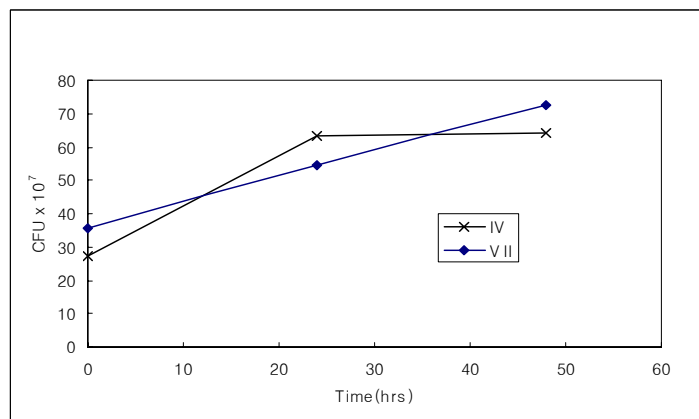


Figure 1-3. Effect of defatted rice bran on CFU×10⁷/g

Table 1-7. Change of TC (%)

	I	II	III	IV	V	VI	VII
0	46.5	50.0	47.5	49.8	48.6	55.8	49.0
24	50.1	46.2	47.7	47.8	47.0	50.2	48.0
48	56.6	50.8	55.1	48.1	49.8	51.1	46.6
72	56.3	49.1	49.3	48.0	49.1	52.1	49.0

다. 처리 I구부터 처리 VII구까지 배양시간에 따른 TC함량의 변화는 거의 없는 결과로 나타났다. 그러나 처리 I구에서 다소 TC함량이 배양시간에 따라 증가하는 것으로 나타났다.

표 8은 수분함량의 변화를 나타낸 결과로서 I구 및 III구 에서에서 수분함량이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 VI구에서는 수분함량이 다소 증가하는 결과를 보였으며, 그 외 II구, IV구, V구 및 VII구에서는 일정한 경향을 보이지 않는 것으로 나타났다.

표 9는 탈지강, 당밀 및 미생물 처리시의 배양시간에 따른 TN변화를 나타낸 결과이다. 배양 0시간에서 배양 72시간까지 TN함량의 범위는 I구에서 0.418%에서 0.581%, II구에서 0.514%에서 0.532%, III구에서 0.494%에서 0.630%, IV구에서 0.483%에서 0.540%, V구에서 0.508%에서 0.572%, VI구에서 0.821%에서 1.167% 및 VII구에서 0.487%에서 0.543%로 나타나 처리구간에 변화폭이 적은 것으로 나타났다. 따라서 당밀, 미생물 및 탈지강을 잣송이 부산물에 혼합하여 처리하여도 TN의 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 이상의 결과에서 잣송이 부산물에 당밀, 미생물, 탈지강 처리는 TC, TN 및 수분함량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 미생물 균수에서는 탈지강 10%과 당밀 10%을 혼합

Table 1-8. Change of moisture content (%)

	I	II	III	IV	V	VI	VII
0	51.0	47.3	49.8	46.9	48.4	40.9	47.4
24	47.2	51.2	49.6	49.3	50.0	46.3	48.5
48	40.7	46.3	41.7	49.0	46.7	45.6	50.0
72	41.1	47.3	47.7	49.0	47.5	44.4	47.4

Table 1-9. Change of TN

	I	II	III	IV	V	VI	VII
0	0.418	0.532	0.519	0.512	0.508	0.848	0.495
24	0.501	0.514	0.494	0.509	0.520	0.821	0.487
48	0.581	0.522	0.630	0.483	0.572	0.885	0.543
72	0.559	0.526	0.524	0.540	0.565	1.167	0.524

하여 처리한 구에서 현저하게 미생물 군수를 향상시키는 결과로 나타났다. 따라서 잣송이 부산물에 탈지강 10%과 당밀 10%를 혼합하여 처리하는 것이 환경개선제의 개발에 효과적인 방법으로 판단되었다.

마. 적정 당밀첨가량 파악

표 10은 잣송이 부산물에 탈지강 10%을 처리한 시료의 당밀 첨가 수준별 화학성분을 조사하여 적정 당밀첨가수준을 검토하고자 실시한 실험의 결과를 나타낸 것이다.

배양 48시간까지 수분함량은 당밀 첨가수준이 증가함에 따라 다소 감소하는 경향을 보였다. 그러나 그림 4에서 보듯이 수분함량의 변화를 보면 당밀 0, 2, 8, 10 및 20% 첨가구에

Table 1-10. Chemical composition of molasses for 48h

Molasses content(%)		Moisture	Ash	Crude protein	Crude fat	NDF	ADF
0	0h	57.17	3.89	5.76	4.37	30.53	25.59
	48h	54.32	4.07	4.02	4.42	32.49	27.45
1	0h	54.65	3.39	5.89	4.91	34.08	27.99
	48h	50.88	3.61	4.11	4.65	35.41	29.03
2	0h	54.64	3.37	4.03	4.73	32.86	27.21
	48h	52.79	3.42	3.91	4.87	33.01	27.79
4	0h	49.07	3.68	4.35	4.62	37.84	31.82
	48h	50.62	3.78	3.93	5.77	36.78	30.97
8	0h	55.92	2.97	3.85	4.08	30.33	27.69
	48h	52.87	3.46	4.04	5.04	35.33	29.61
10	0h	54.88	3.73	4.16	4.53	31.12	26.64
	48h	53.69	4.08	3.79	5.48	33.04	28.67
20	0h	54.87	3.39	4.09	4.04	29.79	24.84
	48h	53.69	3.54	4.02	4.67	32.88	29.04

NDF: Neutral detergent fiber

ADF: Acid detergent fiber

서는 일정하게 감소하였으나 당밀 4% 첨가구에서 유일하게 다소 수분 함량이 증가하는 결과를 보였다.

회분 함량은 모든 당밀첨가구가 배양 0시간에 비해 배양 48시간에는 다소 증가하는 것으로 나타났으며(표 10), 특히 당밀 8% 첨가구는 배양 0시간보다 배양 48시간에 약 16.5%

증가하는 결과를 보여 다른 당밀첨가구보다 회분함량이 높은 것으로 나타났다(그림 5), 단백질 함량은 당밀 0, 2, 4, 10 및 20%에서는 감소하는 결과를 보였으나 당밀 8% 첨가하는 구에서는 배양 0시간에 3.85%에서 배양 48시간에 4.04%로 약간 5% 정도 증가하는 결과를 보였다(그림 6) .

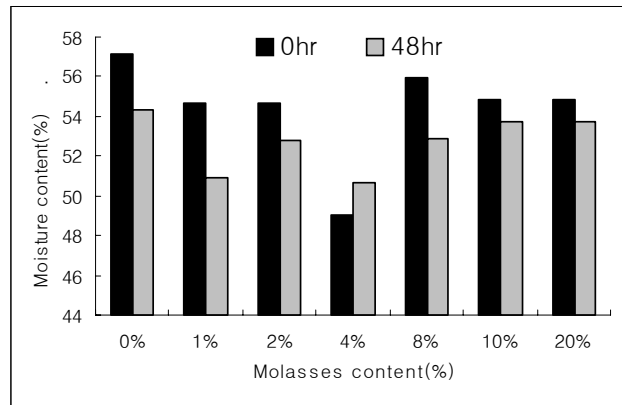


Figure 1-4. Effect of molasses on moisture content

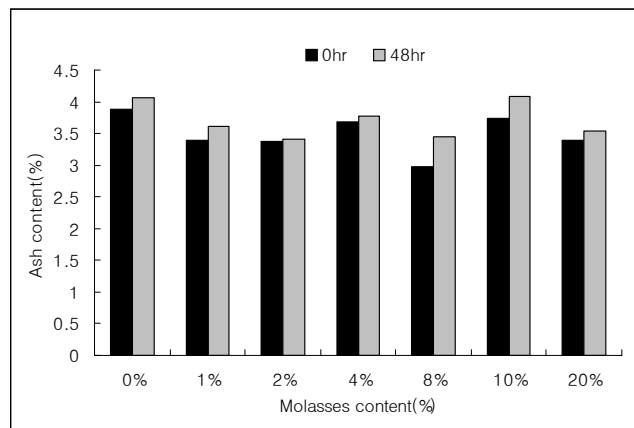


Figure 1-5. Effect of molasses on ash content

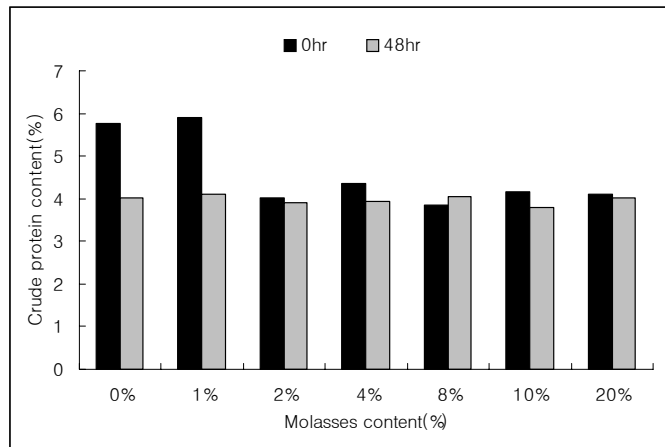


Figure 1-6. Effect of molasses on crude protein content

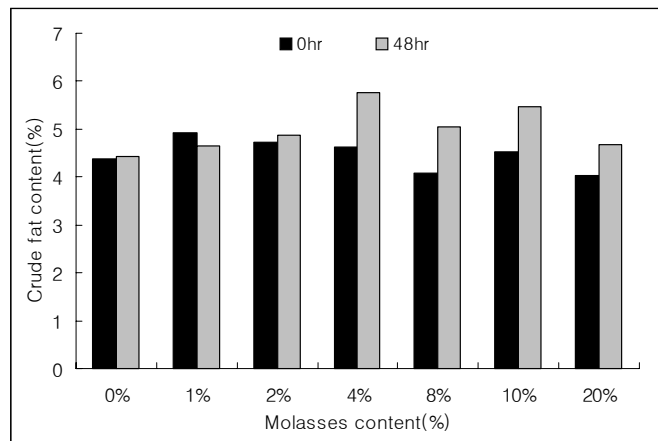


Figure 1-7. Effect of molasses on Crude Fat content

지방함량은 당밀 0, 1 및 2% 첨가구에서는 유사하였으나 당밀 4, 8, 10 및 20% 첨가구에서 다소 증가하는 결과(그림 7)를 보였다.

한편 당밀 0, 1, 2, 4, 8, 10 및 20% 첨가에 따른 NDF의 함량은 배양 0시간에 각각 30.53, 34.08, 32.86, 37.84, 30.33, 31.12 및 29.79%이며, 배양 48시간에 32.49, 35.41, 33.01, 36.78, 35.33, 33.04 및 32.88%(표10)로 0에서 4%까지는 유사한 결과를 보였으나 8%부터 20%까지

는 다소 증가하는 것으로 나타났다(그림 8). 특히 당밀 8% 첨가구에서의 NDF의 함량은 배양 0시간보다 배양 48시간이후까지 약 16.5% 정도 증가하는 것으로 나타나다 다른 당밀 첨가구보다 향상되는 결과를 보였다.

배양 0시간 및 배양 48시간의 ADF의 함량은 당밀 0% 첨가구에서 25.59 및 27.45%, 당밀 1% 첨가구에서 27.99 및 29.03%, 당밀 2% 첨가구에서 27.21 및 27.79%, 당밀 4% 첨가구에서 31.82 및 30.97%, 당밀 8% 첨가구에서 27.69 및 29.61%, 당밀 10% 첨가구에서 26.64 및 28.67 그리고 당밀 20% 첨가구에서 24.84 및 29.04%로 나타나 당밀 4% 첨가구에서만 감소하였고 그 외 모든 처리구에서 증가하는 것으로 나타났다(그림 9).

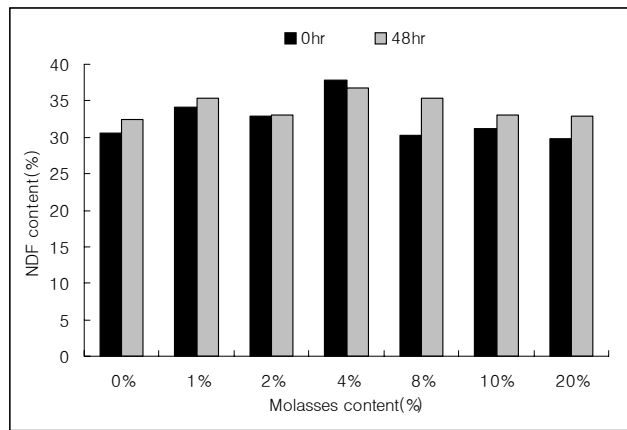


Figure 1-8. Effect of molasses on NDF content

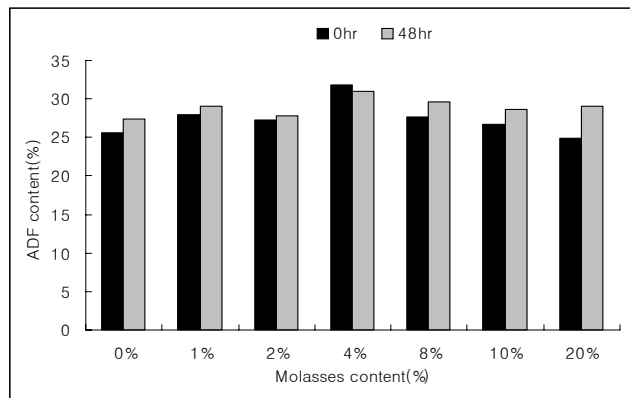


Figure 1-9. Effect of molasses on ADF content

Table 1-11. Effect of molasses level on CFU/mL

	0%	1%	2%	4%	8%	10%	20%
0h	1.8	2.1	1.4	2.1	2.3	1.6	1.5
48h	1.2	8.5	8.6	8.4	7.3	6.9	1

0h : $\times 10^5$, 48h : $\times 10^8$

표 11은 잣송이 부산물에 탈지강 10%를 처리한 후 당밀 첨가수준에 미생물 군수의 변화를 나타낸 결과이다. 미생물 군수는 당밀 0% 및 20% 첨가구에서는 배양 0시간에 비해 배양 48시간에 감소하는 결과를 보였으나, 당밀 1, 2, 4, 8 및 10% 첨가구에서는 증가하는 것으로 나타으며, 처리구간에는 미생물 군수의 차이가 크지 않는 결과를 보였다.

이상의 결과에서 잣송이 부산물에 탈지강 10%를 처리한 후 당밀 1%에서 10%까지 첨가하는 처리구에서 미생물 군수가 증가하였으며, 회분은 당밀 첨가에 따라 모든 처리구에서 증가하는 경향을 보였으나 특히 당밀 8% 첨가구가 다른 처리구보다 높게 증가하였다. 또한 단백질 함량은 0, 1, 2, 4, 10 및 20% 당밀 첨가구에서는 감소하였으나 당밀 8%에서 다소 증가하는 결과를 보였다. 그리고 지방함량은 당밀 4, 8, 10 및 20%에서 다소 증가하였는데 당밀 4% 첨가구가 가장 높은 결과를 보였다. 한편 NDF 함량은 당밀 8% 첨가구가 다른 당밀 첨가구보다 개선되는 결과를 보였으며, ADF 함량은 당밀 4% 첨가구에서만 감소하는 결과로 나타났다.

따라서 본 실험의 결과로부터 잣송이 부산물에 탈지강 10%를 혼합한 환경개선제 시료의 당밀 첨가수준은 4%와 8%가 적정할 것으로 판단되며, 특히 당밀 8% 첨가구가 가장 우수한 결과를 얻었다.

제 2 절 잣송이 부산물을 이용한 축사용 퇴비사용 환경 개선제 개발 시험

1. 서론

각종 산업에서 발생하는 유기성 및 무기성 폐기물을 처리하지 않고 자연계로 배출하면, 토양 및 수질에 문제를 일으켜 생태계가 파괴된다. 그 뿐만 아니라 최근에는 이러한 폐기물에 의하여 악취, 지하수 오염 및 해충 등에 의한 피해사례가 증가하고 있다. 여러 산업 중에서도 특히, 축산업은 악취발생 및 지하수 오염 등의 환경을 오염시키는 주원인으로 인식되어 있다.

국내 축산업은 70년대 이후 대규모화 되면서 양적으로 질적으로 급속히 발전하였으나, 오염물질의 대량생산으로 많은 문제점을 안고 있다. 특히 축산분뇨는 공기오염, 지하수 오염 및 퇴비로 인한 질병 유발 등의 환경문제를 일으키고, 악취로 인한 민원문제가 대두되어 지속적인 축산발전에 큰 걸림돌이 되고 있다. 게다가 가축분뇨에서 발생하는 각종 악취는 다양한 해충 및 유해미생물의 서식을 유발시켜 가축의 건강유지 및 성장을 저해시키며, 주요 악취성분인 황화수소 가스나 암모니아 및 유기성 가스는 가축에게 치명적인 영향이 있기 때문에 만성적인 질병 발생의 원인이 되고 있다.

한편, 잣나무는 terpenoid계 성분, phenol계 성분, 타닌 및 알칼로이드 성분이 들어 있기 때문에 피부자극제, 소염제, 소독제, 완화제 및 보향제로 이용되고 있다. 특히, terpenoids는 휘발성향기물질이면서 불포화 탄화수소로서, 항균 및 살충효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 또한 α -pinene은 식물이 성장할 때 분비되는 물질로서 방충 및 항균 등에 효과가 있고, β -pinene은 미생물 작용을 억제하는 성분으로서 잣나무에서 추출할 수 있다.

국내는 물론 일본 등에서의 축산 현실은 향후 가축분뇨로부터 발생하는 악취의 제어 없이는 지속적인 축산산업 유지 및 환경친화적 축산을 실현할 수 없다. 그렇기 때문에, 축산분뇨로부터 발생하는 해충, 유해미생물 및 분뇨로부터 발생하는 질병 등을 제어하여야만 축산업을 유지·발전시킬 수 있다. 하지만, 현재까지 이에 대한 연구가 미약한 실정이다.

최근, 악취 억제, 유해 미생물 사멸 및 질병제어를 위해 다양한 환경개선제가 생산되어 상용되고 있지만 그 효율성이 전혀 검증되지 않은 상태로 축산 농가에 사용되고 있다. 그리고 국내외에서 상용되고 있는 비급여 환경제제의 대부분은 화학합성물질 및 광물질제제로

서 장기간 사용 시 가축에게 악영향을 미치거나, 경우에 따라서는 생물학적 분뇨처리에도 악영향을 미쳐 분뇨처리에 어려움을 겪을 수도 있다.

이러한 측면에서 여러 병원성 미생물에 대한 항균 효과를 지니고 있으며 다양한 휘발성 지방산 및 여러 기능성 물질을 함유하고 있는 잣송이 부산물을 이용한 축사용 환경개선제의 개발은 축산업 발전을 위해서 경제적으로나 실용적으로 매우 필요할 것으로 판단된다.

또한 대부분의 환경개선제제는 가축의 주변이나 가축이 사육되는 공간에 직접적으로 이용되기 때문에 가축이나 인체에 유해한 화학합성물질로 만들어진 환경개선제를 이용하는 것보다 가축과 인체에 유익한 천연물질로 구성된 환경개선제를 개발할 필요성이 있다.

따라서 본 실험은 잣송이 부산물을 이용하여 질병 및 악취를 제어에 효과적인 천연 환경개선제를 개발하여 그 효과를 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 환경개선제 제조

- 잣송이 부산물 자체 미생물 수를 파악
- 잣송이 부산물에 당밀수와 미생물 3종을 혼합한후 48시간 배양하여 환경 개선제 배양물 생산

표 2-1. 환경개선제 제조 방법

성 분	함량
잣송이 부산물	4kg
당밀수	0.5% 당밀수 1 liter
무기영양소 cocktail	1 liter (실험실제조)
미생물 3종	각각 1 liter
배양혼합물 수분	60%

- 1) 당밀수 제조: 물에 당밀 0.5%를 혼합하여 당밀수를 제조한 후 여기에 무기영양소 cocktail을 제조하여 당밀수와 동일한 비율로 혼합하여 멸균 처리를 하여 제조한다.
- 2) 무기영양소 Cocktail 제조: 증류수 1리터에 Phosphate Buffer, Magnesium sulfate, Ferric chloride, Calcium chloride를 혼합한 후 멸균하여 제조한다.

나. 환경개선제를 이용한 악취강도 저감효과 및 퇴비화에 미치는 영향 파악

1) 시험구 처리

- 처리1구(Treatment 1: T1) ; 톱밥 100%
- 처리2구(Treatment 2: T2) : 잣송이 부산물 100%
- 처리 3구(Treatment 3: T3) : 잣송이 부산물 40% + 환경개선제 20%
- 처리 4구(Treatment 4: T4) : 톱밥 80% + 환경개선제 20%
- 처리 5구(Treatment 5: T5) : 잣송이 부산물 40% + 톱밥 40%
+ 환경개선제 20%

2) 시험 처리방법

각각의 처리구에 돈분뇨를 이용하여 초기 수분 함량을 65%로 조절하였으며, Composting을 하면서 악취강도, 퇴비화 특징 및 최종물의 성분 성상을 분석하였다.

3) 환경 개선제 개발 시험공정 모식도 (그림2-1)

4) 운전방법

- Composting 중 발생한 열의 손실을 최소화하기 위하여 10cm 두께의 스티로폼을 이용
- 5분 간격으로 반응기에 온도를 모니터링
- 공기공급을 위해 aerator 라인을 설비
- 용해성 가스 및 악취 측정을 위해 0.1N H₂SO₄ flask를 통해 발생한 가스가 배출되도록 설비

5) 조사항목:

(가) Composting 에 따른 온도 변화

(나) Gas 발생량: Mercaptan, H₂S, NH₃, TOC, IC, TC

(다) Composting 처리 전후의 퇴비성상 :

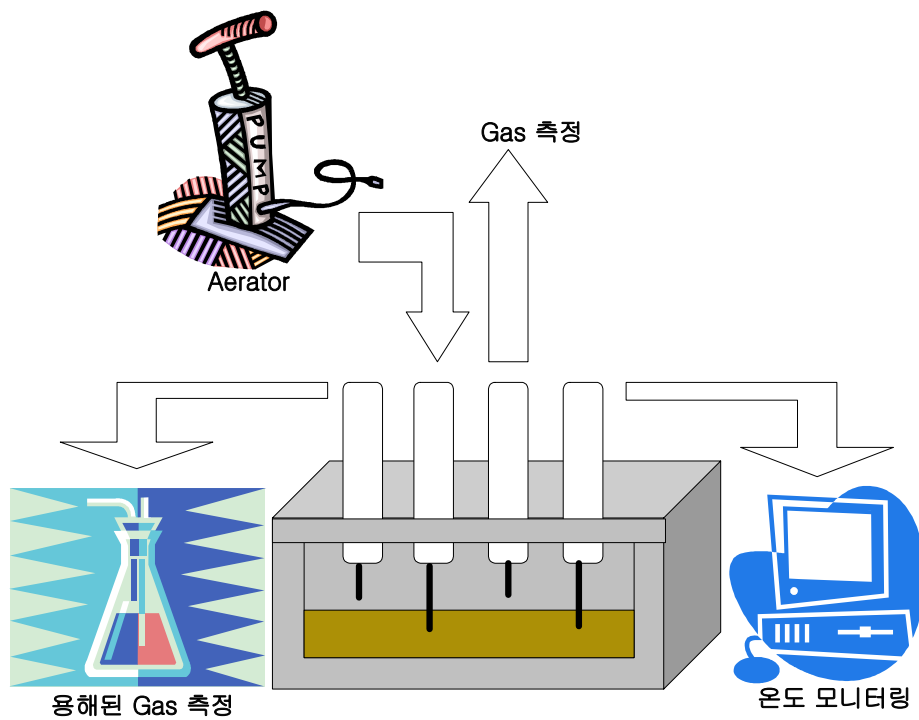
pH, Density, OUR, TS, TVS, TP, OP, TN, NH₄, NO₄

(라) 퇴비의 품질 평가: 유기물, C/Nl

6) 분석방법

(1) 미생물 균수 측정

미생물 균수의 조사방법은 Pour Plate법을 이용하여 30℃에서 수행하였으며 48시간 동안 배양한 후 colony를 계수하였다.



(2) 일반성분 분석

시료의 일반성분 분석방법은 A.O.A.C(1990)에 준하였으며, Neutral Detergent Fiber(NDF) 및 Acid Detergent Fiber(ADF)의 분석은 Goering과 Van Soest(1970) 방법에 의하여 분석하였다.

(3) Total Nitrogen(TN)

TN은 Dumas 법의 원리를 사용하는 Rapid NIII(Elemental Anlysensystem GmbH) 이용하여 분석하였다.

(4) Total Carbon(TC)과 Total Volatile Solid(TVS)

TC는 Standard Method(1985)의 방법을 이용하였으며, 시료를 100℃ 건조기에서 24시간동안 건조한 후 건조시료를 회화로에서 600℃에서 3시간 회화한 후 분석하였다.

(5) Total Solid(TS)

Standard Method의 방법을 이용하여 105℃에서 시료를 24시간 건조하여 분석하였다.

(6) Total Organic Carbon(TOCs)

TOCs 측정 시료와 증류수를 혼합하여 교반한 후 여과하여 TOC-5000A(Shimadz, Japan)을 이용하여 고온 연소법으로 측정하였다.

(7) $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_x\text{-N}$, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, T-P

채취한 샘플을 증류수와 희석하여 자동수질분석기 Quikchem 8000(Lachat)을 이용하여 측정하였다.

(8) pH 및 Electric Conductivity(EC)

샘플을 pH buffer 7.0에 1:5의 비율로 희석한 후 30분간 중탕하여 pH meter(71P, Ist 다)과 EC meter(Orion 1230)을 이용하여 각각 측정하였다.

(9) NH_3 , H_2SO_4 , Mercaptan(Mer)

H_2SO_4 와 Mer.는 Gastek 가스 검지관을 이용하여 분석하였으며 NH_3 와 유기가스는 H_2SO_4 에 용해된 것을 자동수질분석기와 TOC 측정기를 이용하여 분석하였다.

(10) Oxygen Uptake Rate(OUR)

300ml BOD 샘플병에 시료 200mg을 넣은 후 DO meter(YSI, model 58)를 이용하여 측정하였다.

(11) 온도측정기록

TLOG 자동 온도기록계를 이용하여 기록하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 잣 환경개선제 제조

분뇨용 환경 개선제를 개발하기 위하여 잣송이 부산물과 탈지강에 접종하여 배양한 각각의 미생물과 균수는 표 2-1에서 보는 바와 같다.

환경개선제 개발에 이용한 미생물들은 실험 1에서 선택하여 배양에 사용한 *Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella* 를 냉동실에 보관한 것을 이용하였으며, 잣송이 부산물에 당밀수와 무기영양소 cocktail를 혼합하였으며 여기에 2.05×10^5 의 *Alcaligenes*, 2.05×10^6 의 *Pasturella* , 2.5×10^4 의 *Lactobacillus* 를 혼합하여 제조하였다. 표 2-2는 잣송이 부산물에 3종의 미생물을 혼합하여 제조한 환경개선제의 배양전후의 미생물 균수에 대한 결과를 나타낸 것이다.

표 2-2. 환경개선제 개발을 위해 접종한 미생물 균수.

미생물	미생물 균수(CFU/mL)
<i>Alcaligenes</i>	2.05×10^5
<i>Pasturella</i>	2.05×10^6
<i>Lactobacillus</i>	2.5×10^4

CFU: Colony Form Unit

표 2-3. *Alcaligenes*, *Pasturella*, *Lactobacillus* 를 혼합하여 제조한 환경개선제의 배양전후의 미생물 균수

Time	환경개선제(CFU/g)
0 hour	6.42×10^6
48 hour	3.08×10^7

Alcaligenes, Pasturella, Lactobacillus 를 잣송이 부산물에 동일한 양을 혼합하여 30℃에서 48시간 배양한 결과 환경개선제내 미생물 군수는 0시간일때 6.42×10^6 이었고 48시간일때 3.08×10^7 이었다. 이와 같이 3종의 미생물을 잣부산물에 접종하여 배양하고 축사 및 퇴비사용 환경개선제를 개발하였다.

나. 돼지분뇨 및 환경개선제의 특성

표2-4는 분뇨용 환경개선제 개발시험에 이용한 돼지분뇨 및 제조된 환경개선제의 이화학성 특성을 나타낸 것이다. 돼지분뇨의 pH, Density, Electric Conductivity(EC), Moisture(수분), Total Solid(TS), Total Volatile Solid(TVS), Organic Matter(OM), Total Nitrogen(TN), Total Carbon(TC)/TN, Organic Phosphate(OP), NO_x-N 및 NH₄-N는 각각 6.83, 940.0kg/m³, 12.6mS/cm, 76.3%, 238.1g/kg, 140.0g/kg, 252.0g/kg, 12.64g/kg 11.1,

표 2-4. 돼지 분뇨의 성상 및 특성

항 목	돼지분뇨	환경개선제
pH(1:5(W/V))	6.83	6.74
Density(kg/m ³)	940.0	400.0
OUR(mg/L/h)	-	-
EC(mS/cm)	12.6	7.78
Moisture(%)	76.3	55.8
TS(g/kg)	238.1	441.8
TVS(g/kg)	140.0	31.2
OM(g/kg)	252.0	56.1
TN(g/kg)	12.64	1.34
TC/TN(ratio)	11.1	23.3
OP(g/kg)	0.61	3.44
NO _x -N(g/kg)	0.0001	0.0020
NH ₄ -N(g/kg)	1.66	0.00

0.61g/kg, 0.0001g/kg 및 1.66g/kg의 특성을 가지고 있었다.

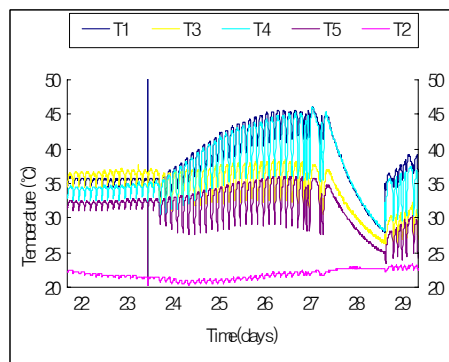
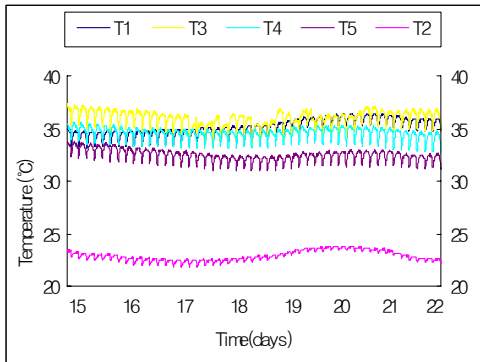
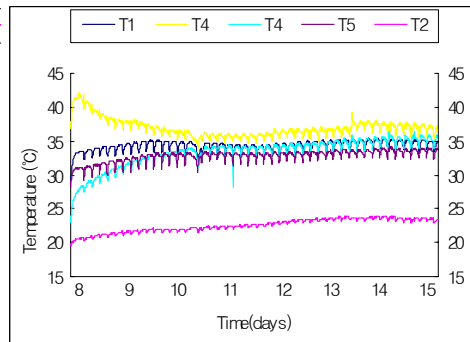
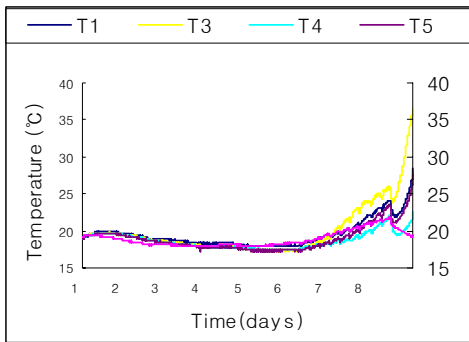
한편 환경개선제는 각각 6.74의 pH, 400.0kg/m³의 Density, 7.78mS/cm의 EC, 55.8%의 Moisture, 238.1g/kg의 TS, 31.2g/kg의 TVS, 56.1g/kg의 OM, 1.34g/kg의 TN, 23.3의 TC/TN, 3.44의g/kg OP, 0.0020g/kg의 NO_x-N 및 0.00g/kg의 NH₄-N의 성장 및 특성을 지니고 있었다.

다. 퇴비화 영향 분석

그림 2-2는 톱밥 100% 처리구(T1), 잣송이부산물 처리구(T2), 잣송이부산물 40%+톱밥 60% 처리구(T3), 톱밥 80%+환경개선제 20% 처리구(T4) 및 잣송이부산물 40%+톱밥 40% 처리구+환경개선제 20%(T5)의 퇴비화 기간 중 온도 변화를 나타낸 그림이다.

분뇨의 퇴비화 과정에서 온도의 변화는 퇴비 숙성에 매우 중요한 요인이다. 즉 퇴비화 과정에서 온도의 조절은 퇴비숙성을 위한 퇴비내 미생물의 생육환경을 최적의 상태로 조성하며, 유해한 세균(병원균)을 사멸효과도 얻을 수 있는 제어방법이다. 일반적으로 최적의 퇴비화는 50에서 55℃에서 일어나며, 70℃ 이상이 되면 영양소의 손실이나 유효한 미생물의 감소로 퇴비화가 억제된다. 퇴비의 온도는 초기 퇴비화 과정에서 호기성 미생물의 생물학적 발열반응 및 유기물의 산화과정에 의해 발생한다. 이러한 호기적 미생물들의 연속적인 활동을 위해서는 산소 공급이 필요하며, 산소의 공급량에 따라 퇴비의 품질에 중요한 영향을 미치게 된다. 본 실험의 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 활용한 퇴비화 공정에서 산소의 공급은 aerator를 이용하여 분당 2L의 산소를 4일부터 4시간 간격으로 20분씩 공급하였다. 그 결과 산소공급 3일(8일)부터 호기성 미생물들이 활성화되면서 온도가 상승하는 것으로 나타났다. 퇴비화 과정 초기에 T3의 온도는 36℃로 다른 처리구들보다 높았으며, 퇴비화 과정 중기(9일부터 22일까지)부터 T1, T3, T4의 온도는 약 35℃의 내외의 온도를 유지하는 결과를 보이고 있으며, T2 및 T5보다 높은 온도를 유지하는 것으로 나타났다. 이와 같이 수분조절제로 톱밥 양을 많이 사용하는 T1, T3, T4에서보다 잣송이부산물을 수분조절제로 사용하는 T2 및 T5 처리구에서 높은 결과는 톱밥이 잣송이부산물보다 미생물 에 의해 쉽게 분해될 수 있기 때문으로 판단된다. 퇴비화 중기를 지나면서 25일경부터 초기 aeration의 시간과 간격을 4시간에서 2시간 간격으로, 20분에서 1시간으로 산소를 공급량을 늘려주면서 T1 및 T4의 온도곡선이 T2, T3 및 T5의 온도곡선보다 현저히 상승하는 것으로 나타났다. 이는 T1과 T4는 산소의 공급량 부족으로 호기적 미생물들의 활성화되지 못

하다가 산소의 공급량의 증가로 호기적 미생물의 활성이 증가함에 따라 온도가 상승하였기 때문에 사료된다. 한편 잣송이부산물을 수분조절제로 사용하는 T2 및 T5는 퇴비화 기간 동안 일정한 온도를 유지하는 것으로 나타났으며, 특히 T2는 퇴비화 초기부터 일정한 상온을 유지하는 것으로 볼 때 퇴비화가 이루어 지지 않은 것으로 판단된다. 이와 같이 잣송이부산물은 퇴비의 수분조절제로 부적합한 것으로 판단된다. 따라서 본 실험의 결과로 볼 때 돼지분뇨의 퇴비화 과정의 수분조절제는 톱밥 또는 톱밥과 환경개선제를 혼합하였을



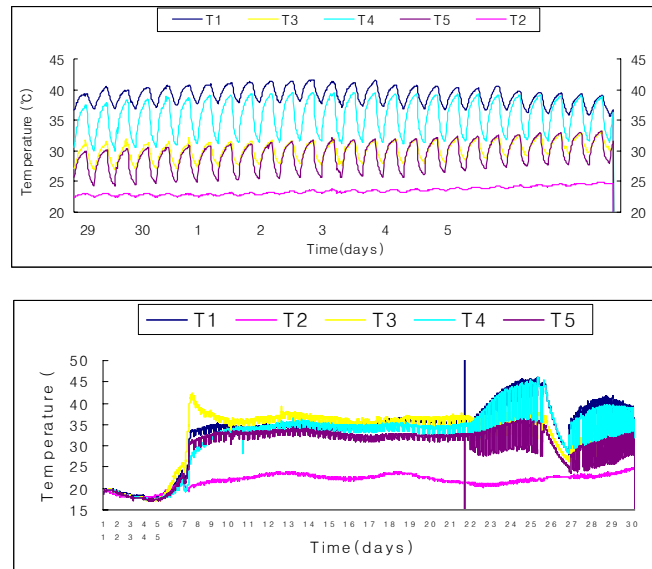


그림 2-2. Temperature changes during composting

때 가장 최적의 조건이 된 다 것을 알 수 있었다. 실험 중 대체로 얻어진 낮은 온도는 시 험퇴비시설 용량이 매우적어 발생한 열량의 상당량이 외부로 소실되었기 때문이다.

퇴비 중에 H_2S 는 무산소처리 24 시간 경에 T1, T2, T3, T4 및 T5구 모두 최고로 발생하 였으며, 48 시간 경에 T1구는 다소 감소하고, T3, T4 및 T5구는 24시간경과 비슷한 수 준으로 발행하는 결과를 보였다. 반면에 T2구에서는 48시간 경에는 발생하지 않는 것으로 나타났다. 한편 Mercaptan은 T1, T3, T4 및 T5구에서 24시간 경까지 현저히 증가하다가 48시간 경까지 일정하게 유지하는 결과를 보였다.

라. 처리별 가스 발생량

그림 2-3은 T1, T2, T3, T4 및 T5의 퇴비화 기간중 48시간동안 H_2S 및 Mercaptan의 발 생정도를 나타낸 것이다.

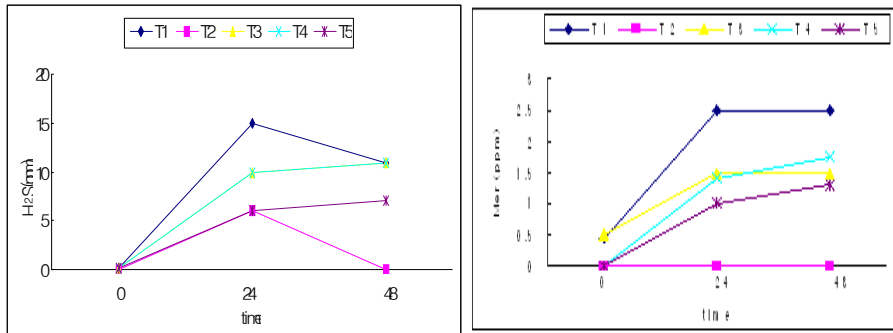


그림 2-3. 퇴비화 기간중 악취발생량

H₂S 및 Mercaptan의 발생량은 톱밥을 100% 사용하는 T1구가 T2, T3, T4 및 T5구보다 현저하게 높은 결과를 보였으며, 잣송이 부산물을 100% 사용하는 T2구의 H₂S 및 Mercaptan은 T1, T3, T4 및 T5구보다 현저하게 감소하거나 발생하지 않는 결과를 보였다. T2구에서의 낮은 H₂S 및 mercaptan의 발생은 혐기적 조건하에서 퇴비화가 전혀 진행되지 못하였기 때문으로 분석되었다. 따라서 수분조절제로 잣송이 부산물을 전량 사용함에 따라 퇴비화가 진행되지 않은 T2구를 제외하고 판단할 때 환경개선제를 처리한 T4 및 T5구의 H₂S 및 Mercaptan은 톱밥만 사용하는 T1구보다 낮은 발생량을 보였다. 그림 2-4는 퇴비화 기간 중의 NH₃ 발생량을 분석한 것이다. 30일 이상 진행된 퇴비화 과정에서 암모니아 가스의 발생은 잣 부산물이나 환경개선제를 사용한 처리구에서 낮게 발생하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 제조된 환경개선제의 효과를 나타내는 것이라 할 수 있다. 그림 2-5는 퇴비화기간동안 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 pH와 NH₃ 농도간의 상관관계를 나타낸 것이다.

pH와 NH₃의 상관을 살펴볼 때 T1에서 0.96, T2에서 0.98, T3에서 0.97, T4에서 0.98 및 T5에서 0.84로 pH와 NH₃간에 고도의 상관관계를 가지고 있는 것으로 나타나 0.1N H₂SO₄ 용액의 pH만을 측정함으로써 용해된 암모니아 가스량을 간접적으로 알 수 있는 것으로 나타나 pH의 모니터를 통한 가스발생량 모니터링이 가능한 것으로 나타났다.

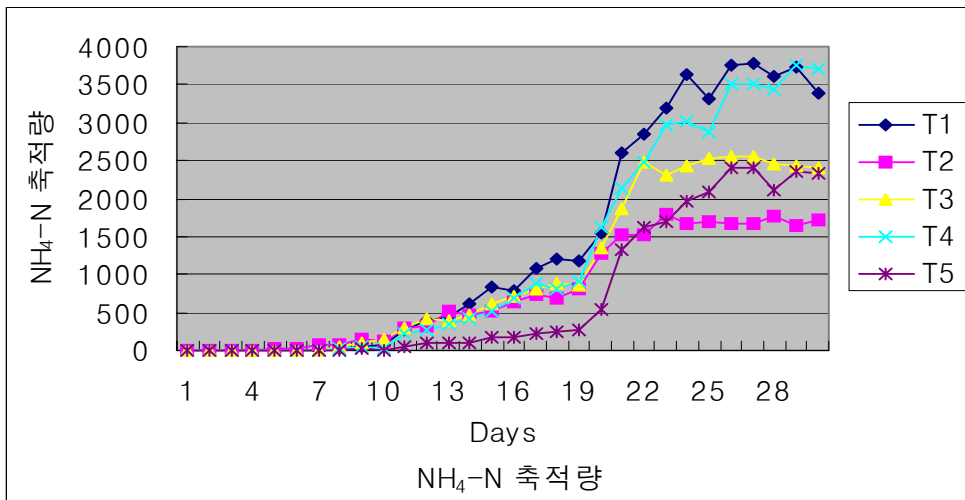
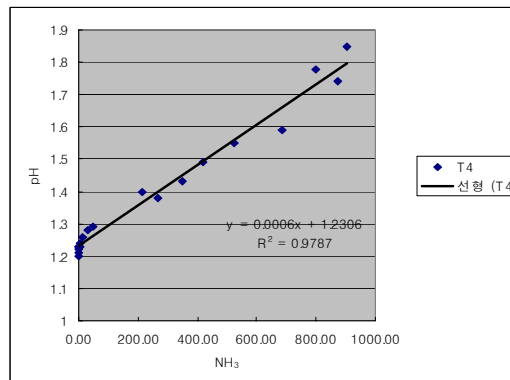
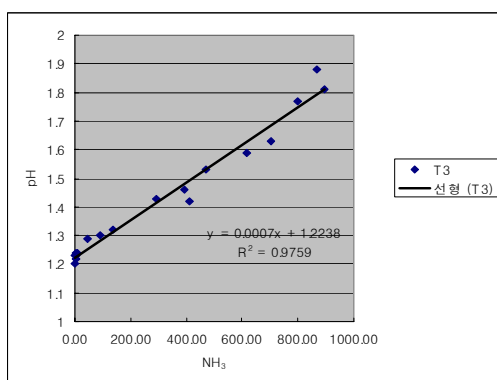
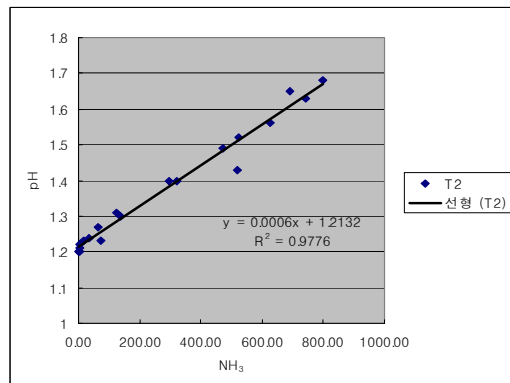
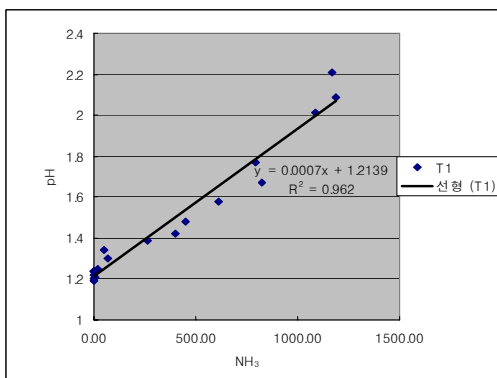


그림 2-4. NH₃ production during composting



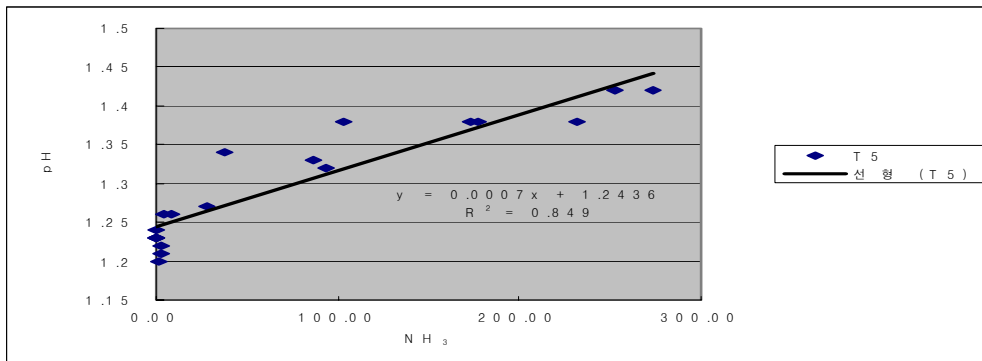


Figure 2-5. Relation between NH₃ and pH

마. 퇴비화전 및 퇴비화후의 이화학적 특성 비교

1) pH

그림 2-6은 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 pH의 변화를 나타낸 것이다.

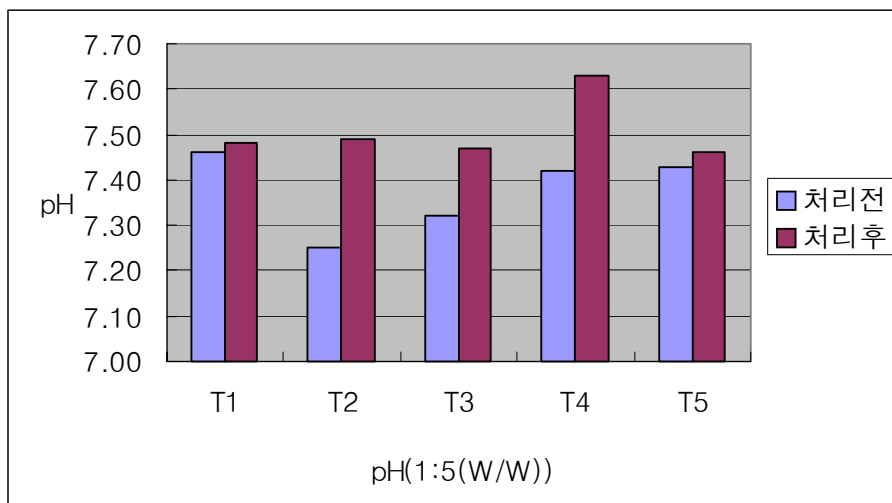


Figure 2-6. Changes of pH

퇴비화에 있어 적절한 pH범위는 일반적으로 6.5~8.5이며, 퇴비화 초기에 유기산의 생성에 의해 pH가 떨어졌다가 퇴비화의 진행함에 따라 단백질의 분해에 의해 암모니아 가스의 생성으로 pH가 상승하지만, 부숙 후기에는 NO₃-N의 증가로 pH가 중성부근으로 안정화된다. 또한 퇴비화에서 pH는 퇴비화 효율을 결정하는 중요한 인자로 pH 5이하로 낮아지면 퇴비화가 진행되지 않고 pH 12이상일 경우는 퇴비화가 불가능한 것으로 알려져 있다.

본 실험에서 퇴비전의 pH보다 퇴비화후의 pH가 T1, T2, T3, T4 및 T5구에서 모두 상승하는 결과를 보였다. 이는 일반적으로 퇴비의 부숙 초기 단계에서 유기산이 방출되면서 pH는 감소하지만, 호기성 조건이 안정화 되면서 미생물의 발육에 의해 유기태질소의 암모니아화가 촉진되어 pH가 상승하는 이론과 동일한 결과를 보였다.

2) Density

퇴비화에 따른 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 용적밀도(그림 2-7)는 퇴비화전과 퇴비화후의 차이가 유사한 결과를 보였다.

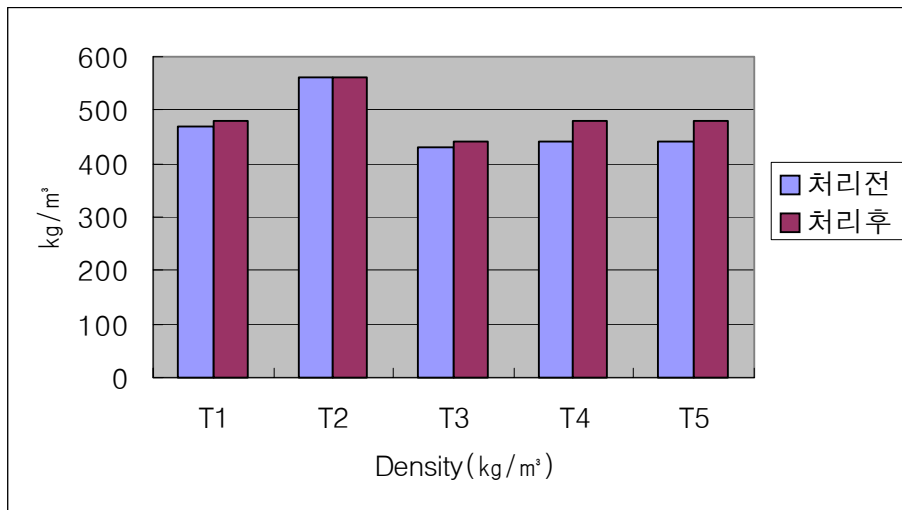


Figure 2-7. Changes of density

퇴비화전의 밀도는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 470, 560, 430, 440 및 440kg/m³였으며, 퇴비화후의 밀도는 T1에서 480kg/m³ T2에서 560kg/m³ T3에서 440kg/m³, T4에서 480kg/m³ 및 T5에서 480kg/m³의 결과를 보였다.

퇴비화 밀도는 단위부피당 퇴비의 질량을 측정하기 위해 사용되는 부피밀도로 퇴비화가 진행함에 따라 밀도는 변화하게 된다.

실험에서 퇴비전의 T2의 밀도가 T1, T3, T4 및 T5구의 밀도보다 높았던 것은 수분조절제로 입자도가 톱밥보다 상대적으로 작은 잣송이부산물을 사용하였기 때문으로 판단된다. 일반적으로 퇴비화가 진행되면서 밀도는 변화하는데, 퇴비화후의 각각 처리구의 밀도는 T2구를 제외하고 모두 다소 증가하는 것으로 나타났다. 이것은 T2는 수분이 증가하거나 감소하지 않은 것으로 보아 퇴비 진행이 잘 이루어 지지 않았음을 추측할 수 있으며, T1, T3, T4 및 T5구는 부숙 초기의 밀도 보다 다소 증가하는 결과로 나타났다. 반면에 T2구는 퇴비화전이나 퇴비화후에 밀도의 변화가 없는 것으로 나타났다. 따라서 T1, T3, T4 및 T5구는 퇴비화가 진행되고 있음을 알 수 있었고, 퇴비화 제어 공정이 밀폐된 조건에서 퇴비화 되었기 때문에 수분이 증발되지 않아 중량에 큰 변화는 없었으나 퇴비화가 진행됨에 따라 전체 용량이 감소하였기 때문에 밀도가 변한 것으로 추측되어 진다. 특히 톱밥에 환경개선제를 이용하거나 톱밥과 잣송이부산물을 혼합한 것보다 톱밥이나 잣송이부산물에 환경개선제를 혼합한 것이 밀도변화가 큰 것으로 나타나 환경개선제 사용으로 분해가 촉진됨을 확인할 수 있었다.

3) 수분

톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 퇴비화 전 · 후 수분함량을 나타낸 것이다(그림 2-8).

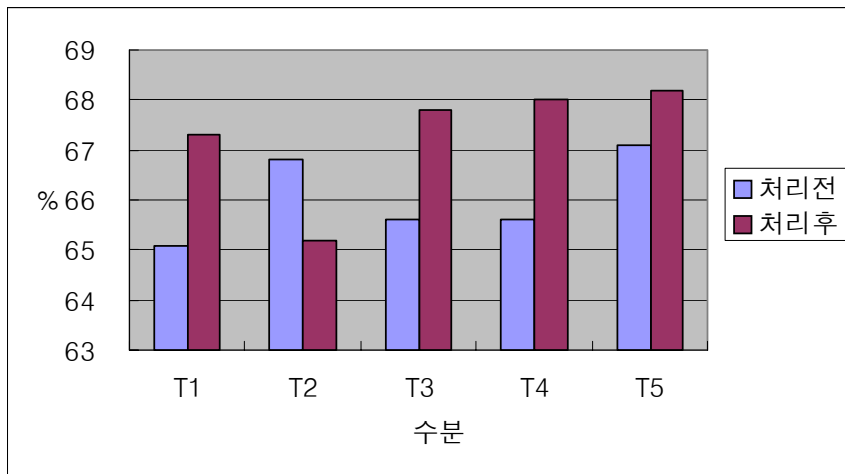


Figure 2-8. Changes of moisture

퇴비화 전 수분함량은 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 65.1, 66.8, 65.6, 65.6 및 67.1% 였으며, 퇴비화 후 수분함량은 T1에서 67.3% T2에서 65.2% T3에서 67.8%, T4에서 68.0% 및 T5에서 68.2% 의 결과로 나타났다.

수분함량은 부숙화 속도를 좌우하는 요인으로 퇴비화 과정중 수분이 과다할 경우 공극이 적어 호기적인 상태가 아닌 혐기적 상태에서 유해물질이 생성될 수 있고, 반대로 수분이 부족 할 경우에는 퇴비화 초기에 미생물의 활성이 저해될 수 있으며, 수분 증발에 의한 열의 손실이 낮아 과도한 온도 상승의 원인이 될 수 있다. 일반적으로 퇴비화 초기에 55~65%정도가 적당하며, 열의 발생에 의해 수분이 증발하며 지속적으로 감소하게 된다.

실험에서 각각의 실험구는 수분조절제로 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 이용하여 수분함량을 65%로 조절하였다. 퇴비 내 수분 발생은 퇴비가 부숙 되면서 발생하며, 퇴비의 부숙시 발생하는 열에 의해 수분이 감소하게 된다. 그러나 본 실험은 퇴비화 이후가 퇴비화 이전보다 퇴비 내 수분량이 높은 결과를 보이고 있다. 이는 퇴비화 제어 공정이 밀폐된 용기에서 진행되어서 수분의 증발이 이루어 지지 않고 수분이 퇴비내에 잔량되어 수분의 증가가 나타난 것으로 판단된다. 그러나 이런 수분의 발생은 퇴비의 부숙이 진행되면서 발생하기 때문에 T1, T3 및 T4구에서 수분함량이 증가된 것은 퇴비의 부숙이 활발히 진행된 것으로 추측할 수 있다. 그 중 환경개선제를 첨가한 T4구에서 수분 함량이 현저하게(약 22%)증가한 것으로 보아 처리구들 중에 가장 부숙도가 우수할 것으로 판단된다.

4) OUR

그림 2-8은 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 퇴비화 기간 중 OUR에 영향을 미치는 효과를 나타낸 것이다.

퇴비화후의 OUR은 T1에서 85.7mg/L/h T2에서 180.0mg/L/h T3에서 68.6mg/L/h T4에서 77.1 mg/L/h 및 T5에서 60.0mg/L/h 의 결과로 나타났다.

OUR은 퇴비의 생물학적 산소 소모율을 나타내는 수치로서 퇴비의 부숙 정도를 추측할 수 있는 기준이 되는 지표이다. 또한 OUR 농도의 수치가 낮을수록 고온의 온도조건에서 부숙된 퇴비인지를 가늠할 수 있는 척도된다. 퇴비는 부숙 될수록 퇴비의 온도는 고온으로 상승하게 되어 고온에 약한 병원성 미생물 및 유해 미생물을 사멸시킬 수 있게 된다. 본 실험에서 퇴비화후 OUR의 농도는 T2구(180mg/L/h)가 T1, T3, T4 및 T5보다 현저하게 높은 결과를 보였다. 이와같은 T2구의 OUR 농도는 여전히 많은 수의 미생물들이 생존해 있고 부숙 되지 않은 퇴비임을 단적으로 나타낸 것이다. 한편 T1, T3, T4 및 T5구의

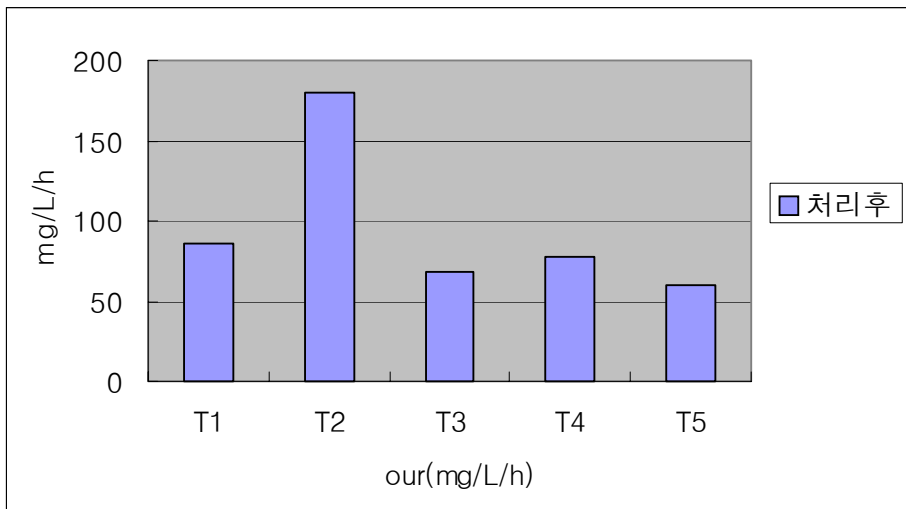


Figure 2-8. OUR changes

OUR의 농도는 각각 85.7, 68.6, 77.2 및 60.0mg/L/h으로 낮은 OUR수치를 나타내고 있어 부숙이 진행되어 퇴비의 품질이 T2구의 보다 우수한 퇴비임을 알 수 있다. 특히 환경개선제를 혼합한 처리에서 OUR의 농도가 낮은 결과를 보여 제조된 환경개선제의 사용은 퇴비의 품질 및 부숙도를 향상시킬 수 있는 것으로 판단되었다.

5) TS, TVS 및 OM

그림 2-9는 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 total solid, total volatile solid, 및 organic matter를 나타낸 것이다.

퇴비화전의 TS는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 349.3, 331.5, 343.8, 344.2 및 328.8g/kg 였으며, 퇴비화 후 TS는 T1에서 327.0g/kg, T2에서 348.4g/kg, T3에서 321.9g/kg, T4에서 319.8g/kg 및 T5에서 318.2g/kg의 결과를 보였다. 퇴비화전의 TVS는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 313.1, 282.5, 304.7, 308.9 및 287.8g/kg 였으며, 퇴비화 후 TVS는 T1에서 276.3g/kg, T2에서 278.0g/kg, T3에서 262.5g/kg, T4에서 275.9 g/kg 및 T5에서 252.4g/kg의 결과로 나타났다. 퇴비화전의 OM은 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 563.6, 508.4, 548.4, 556.1 및 518.1g/kg 였으며, 퇴비화 후의 OM은 T1에서 497.3g/kg, T2에서 500.4g/kg, T3에서 472.4g/kg, T4에서 496.7g/kg 및 T5에서 454.2g/kg 이었다.

TS는 퇴비의 고형물의 농도를 나타내는 수치로서 고형물의 농도는 수분함량과 반비례한다. T1, T3, T4 및 T5구의 TS 함량은 퇴비화전에 비해 퇴비화후에 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 반면에 T2구의 TS 농도는 퇴비화전보다 퇴비화후에 증가하는 결과를 보였

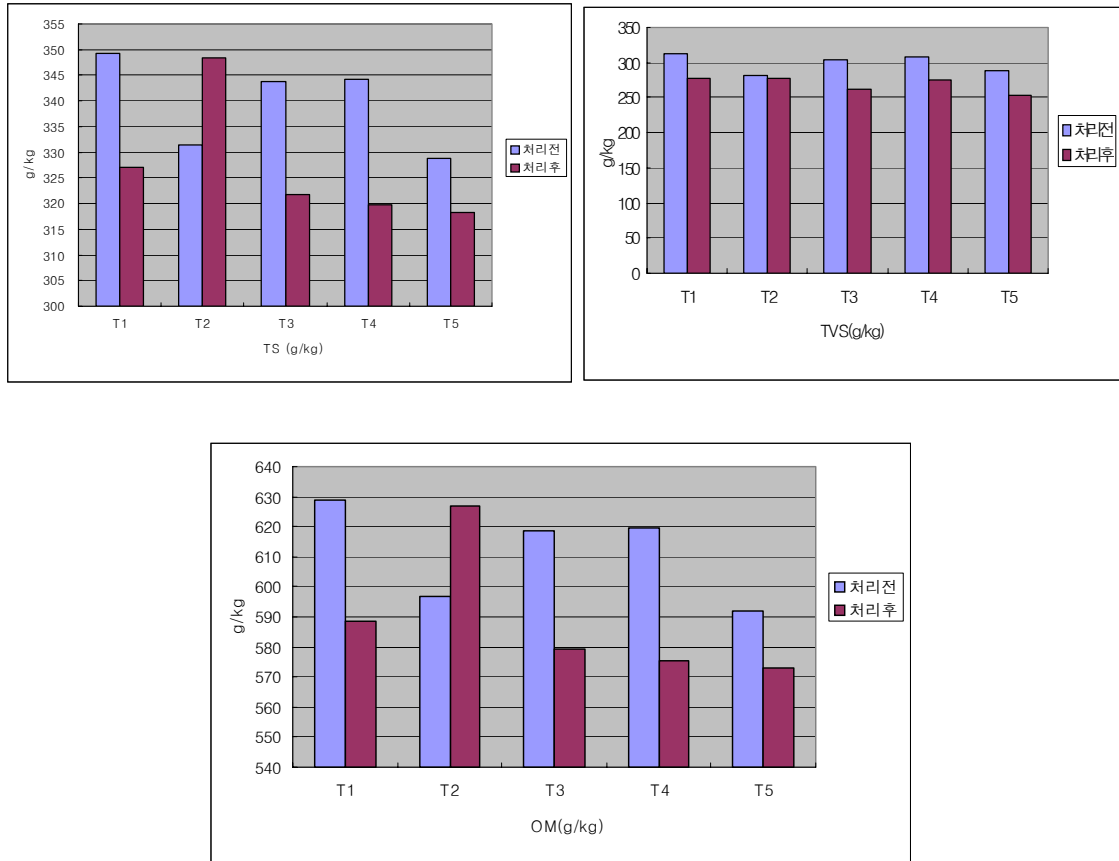


Figure 2-9. Changes of TS, TVS and OM

다. T1, T3, T4, T5에서의 TS의 감소는 미생물에 의해 고형물중의 유기물들이 활발하게 분해되었기 때문으로 판단된다. 그리고 TVS의 농도는 수분을 증발시킨 고형물을 600℃의 회화로에 3시간 동안 태워 날아간 유기물의 농도를 나타내는 것으로 총유기탄소의 농도를 나타낸다. 본 실험에서 TVS 함량은 T1, T2, T3, T4 및 T5구 모두 퇴비화전에 비해 퇴비화후에서 일정하게 감소하는 것으로 나타났다. 한편, OM은 총유기탄소량에 1.8배하여 총유기물의 양을 말하는 것이다. T1, T3, T4 및 T5구의 OM함량은 퇴비화전에 비해 퇴비화후

에는 현저하게 감소한 결과로 나타났지만, T2의 OM함량은 오히려 퇴비화전에 비해 퇴비화 후에 증가하는 결과를 보였다. 퇴비내 유기물(OM)은 퇴비화가 진행되면서 미생물들에 의해 분해되어 OM의 농도가 낮아지지만 T2구에서는 오히려 증가하는 결과를 초래하였다. 이는 T2의 경우 퇴비화 처리기간 동안 퇴비화가 진행되지 않았기 때문이다. 특히 환경개선제를 혼합하여 처리한 T4구에서 OM 농도가 낮아지는 결과를 보여 환경조절제를 수분 조절제인 톱밥과 잣송이 부산물 등에 활용하면 유기물 분해에 도움을 줄 것으로 기대된다.

6) OP

그림 2-10은 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 OP의 변화를 나타낸 것이다.

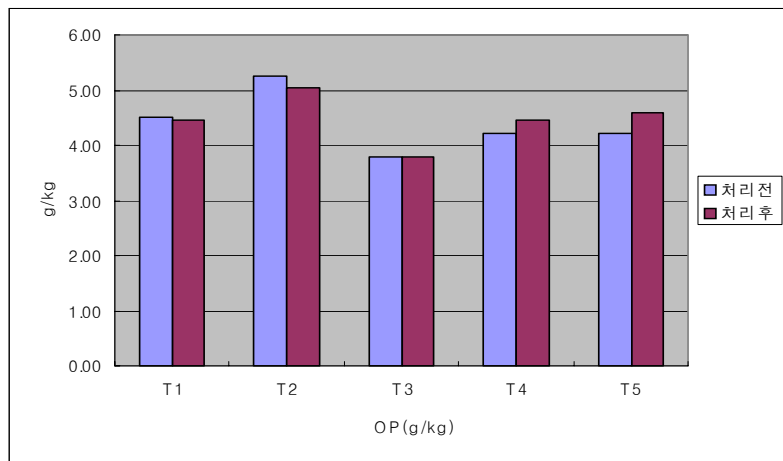


Figure 2-10. OP changes

퇴비화전의 OP는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 4.50, 5.24, 3.80, 4.22 및 4.22g/kg 였으며, 퇴비화 후 OP는 T1에서 4.44g/kg, T2에서 5.03g/kg, T3에서 3.78g/kg, T4에서 4.45g/kg 및 T5에서 4.59g/kg로 나타났다.

T1 및 T2구의 OP 농도는 퇴비화 전보다 퇴비화 후에 감소하는 것으로 나타났으나 환경개선제를 처리한 T4 및 T5구에서는 증가하는 결과를 보였다. 그리고 T3구의 OP 농도는 퇴비화전과 퇴비화후가 동일한 성적으로 나타났다.

7) TN과 TC/TN

그림 2-11은 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 TN 및 TC/TN를 나타낸 것이다.

퇴비화전의 TN 농도는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 8.27, 9.97, 8.27, 9.97 및 8.98 g/kg 였으며, 퇴비화 후 TN농도는 T1에서 8.18g/kg, T2에서 9.35g/kg, T3에서 8.02g/kg, T4에서 10.13g/kg 및 T5에서 9.38g/kg로 나타났다. 퇴비화전의 TC/TN 비율은 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 37.9, 28.3, 36.8, 31.0 및 32.1 였으며, 퇴비화 후 TC/TN 비율은 T1에서 33.8, T2에서 29.7, T3에서 32.7, T4에서 27.2 및 T5에서 26.9로 나타났다.

퇴비화에 의해 일반적으로 TC는 감소하는 경향을 보이는 반면에 TN은 퇴비화 조건에 따

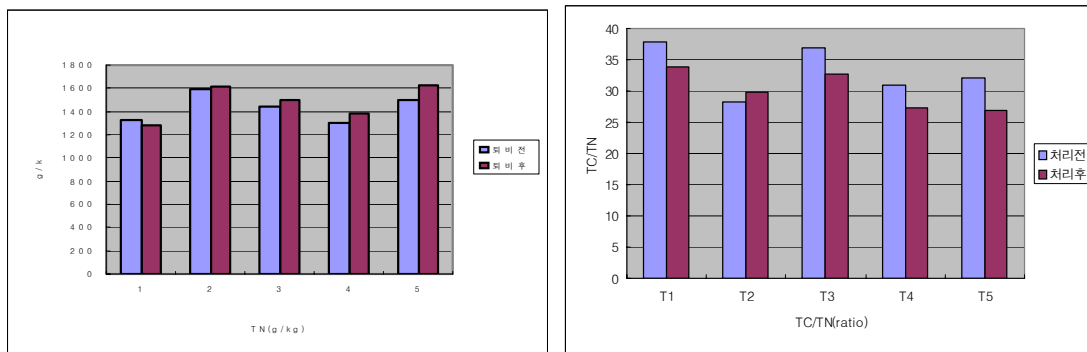


Figure 2-11. Changes of TN and TC/TN

라 증가 또는 감소하는데 이는 혼합물질의 특성에 따라 매우 달라진다. 본 실험에서 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 TN농도는 퇴비화전에 비해 퇴비화후에 T1구를 제외하고 다소 증가하는 결과를 보였다. 이는 톱밥만 처리하는 T1구를 제외하고 모든 처리구에서 TN의 농도가 높은 경향을 보였다. 반면에 T1구에서만 TN농도가 퇴비화전보다 퇴비화후에서 감소하는 것으로 나타났다.

탄소와 질소는 퇴비화를 진행시키기 위한 중요한 인자로서 탄소는 미생물의 에너지원으로, 질소는 미생물의 생육에 필요한 영양원으로서 사용되며, 부숙된 퇴비의 적정 TC/TN비율은 25 정도로 알려져 있다. TC/TN비율이 높으면 질소 결핍현상으로 퇴비화가 느려지고, TC/TN비율이 낮으면 유기성 질소가 암모니아 가스로 배출되어 악취발생 위험이 있다.

TC/TN비율은 T1, T2, T3, T4 및 T5구에서 퇴비화 전에 비해 퇴비화 후에서 감소하는 것으로 나타났으며, 반면에 T2구는 퇴비화전에 비해 퇴비화후가 높을 결과로 나타났다. 이와같이 TC/TN 비율의 감소는 퇴비화 부숙기간 중 유기물 소모량보다 질소 소모량이 더 크기 때문이다. TC/TN 비율의 변화는 퇴비화 공정, 퇴비 원료의 유기물 및 질소의 함량과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 환경개선제를 혼합한 처리구에서도 TC/TN 비율이 감소하는 결과를 얻었으며, 잣송이부산물만 처리하는 처리구는 퇴비화가 진행되지 않아 TC/TN 비율이 높아지는 것으로 나타났다.

8) NH₄-N 및 NO_x-N

그림 2-12는 톱밥, 잣송이부산물 및 환경개선제를 처리한 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 NH₄-N 및 NO_x-N 농도를 나타낸 것이다.

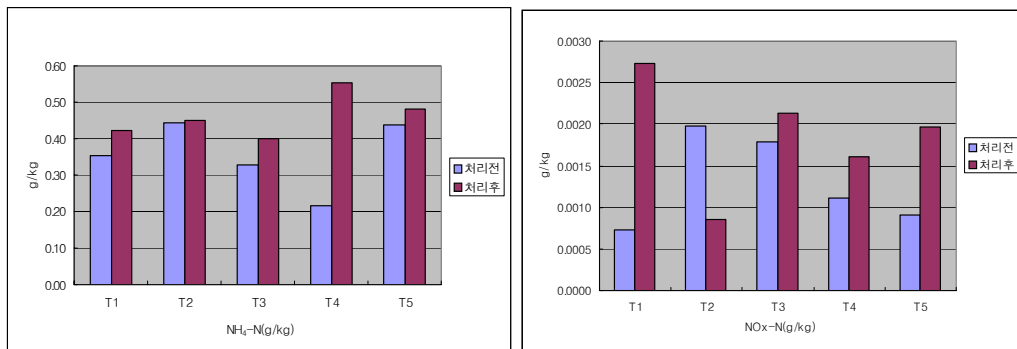


Figure 2-12. Changes of NH₄-N and NO_x-N

퇴비화전의 NH₄-N농도는T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 0.35, 0.44, 0.33, 0.22 및 0.44g/kg였으며, 퇴비화 후 NH₄-N농도는 T1에서 0.42g/kg, T2에서 0.45g/kg, T3에서 0.40g/kg, T4에서 0.55g/kg 및 T5에서 0.48g/kg로 나타났다. 퇴비화전의 NO_x-N 농도는 T1, T2, T3, T4 및 T5에서 각각 0.0007, 0.0020, 0.0018, 0.0011 및 0.0009g/kg 였으며, 퇴비화 후 NO_x-N 농도는 T1에서 0.0027g/kg, T2에서 0.0009g/kg, T3에서 0.0021g/kg, T4에서 0.0016g/kg 및 T5에서 0.0020g/kg로 나타났다.

일반적으로 퇴비화 초기에 발생한 NH₄-N은 질산화 작용에 의해 NO₃-N로 전환되거나 암노니아 가스로 휘산되는 것이 특징이다. 본 실험에서 NH₄-N 농도는 T1, T2, T3, T4 및

T5구에서 퇴비화전에 비해 퇴비화후에 증가하는 결과로 나타났으며, 특히 환경개선제를 첨가한 T4구에서 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 농도가 다른 처리구보다 현저하게 높은 결과를 보였다. 반면에 T2구에서 $\text{NH}_4\text{-N}$ 농도가 다른 처리구들보다 가장 낮은 것으로 나타났다.

T1, T3, T4 및 T5구의 $\text{NO}_x\text{-N}$ 농도는 퇴비화후에 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 T1구에서 현저하게 증가하는 결과를 보였다. 반면에 T2구의 $\text{NO}_x\text{-N}$ 농도는 오히려 퇴비화전이 퇴비화후보다 높은 것으로 나타났다. 이러한 T4에서의 결과는 유기태 질소의 활발한 분해로 인해 NH_4 가 생성되었기 때문으로 판단된다.

바. 퇴비의 품질 평가

그림 2-13은 그린 1급 퇴비, 일반퇴비 및 본 연구에서 환경개선제를 이용하여 제조한 퇴비의 OM 및 C/N비율에 대한 것을 나타낸 것이다.

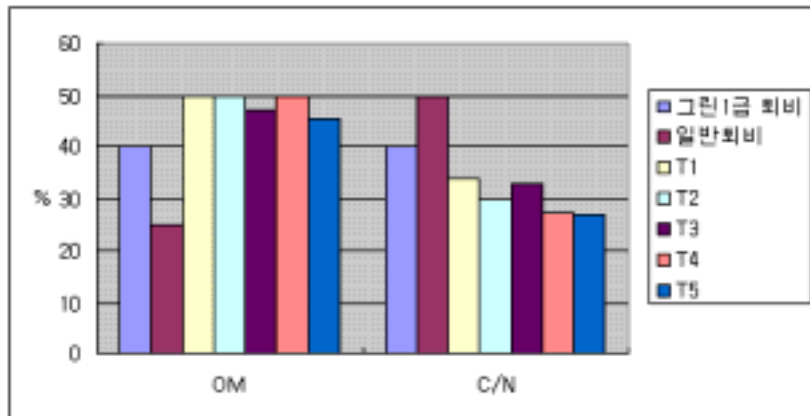


그림 2-13 그린 1급 퇴비와 환경개선제이용 퇴비의 품질비교

유기물의 함량은 그린 1급 퇴비, 일반퇴비, T1, T2, T3, T4 및 T5가 각각 40, 25, 49.7, 50.0, 47.2, 49.9 및 45.2%로서 그린 1급 퇴비보다도 T1, T2, T3, T4 및 T5구의 유기물 함량이 높은 것으로 나타났다. 한편 C/N은 그린 1급 퇴비에서 40%, 일반퇴비에서 50%, T1에서 33.8%, T2에서 29.7%, T3에서 32.7%, T4에서 27.2% 그리고 T5에서 26.9%로 나타나 그린 1급 퇴비보다도 T1, T2, T3, T4 및 T5구가 C/N비율이 낮아 부숙이 진행되지 않은 T2를 제외하곤 모두 비료공정규격의 그린 1급 퇴비보다도 품질이 우수한 것으로 나타났으며 특히 환경개선제를 첨가한 T4와 T5의 품질이 좋은 것으로 나타났다.

제 3절 잣송이 부산물을 이용한 급여용 환경개선제 생산 및 급여 시험

1. 서론

현대 축산업은 집약화 및 대규모화되면서 생산성 위주의 단순경영 체계에서 인체에 대한 건강기능성 및 유해물로부터의 안정성까지 복합적인 기능을 요구하는 시대로 변모하고 있다. 식생활에서도 양적인 것보다는 질적으로 우수하고 안전성이 확보된 축산물을 선호하고 있어서, 이에 대한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다. 국내에서 잣송이 부산물은 연간 상당량이 생산되는데, 그 대부분을 강원도에서 생산되고 있다. 그러나 잣 알갱이를 수확하고 남은 잣송이 부산물의 효과적인 재활용 방법과 이용방법에 대한 연구가 전무한 실정이며, 잣을 생산하고 난 상당량의 잣송이 부산물의 처분이 매우 어려운 상황이며, 이에 대한 처리방안이 모색되어야 한다. 아직까지 국내외적으로 기능성 물질이 함유된 축산물 생산과 관련된 연구가 미흡하지만 국내에서 기능성 축산물 생산에 관한 연구에 관심이 고조되고 있어 잣송이 부산물을 이용한 환경개선 가축 급여용 사료 개발은 필요한 과제이다. 현재 국내의 양돈 산업에서 암모니아 가스 등은 돼지의 호흡기 질병을 유발하여 돼지의 폐사율을 높이고 양돈농가의 소득을 감소시키는 원인과 악취로 인한 민원의 소지를 제공하고 있는 실정이다.

한편, 잣송이 부산물은 여러 가지 유용물질 이외에 단백질 함량은 3.1%는 낮지만 지방 함량은 13.1%로 높으며, 에너지 함량도 6,104kcal/kg으로 높은 것으로 분석되었다. 특히 지방산 함량에 있어서는 포화지방산이 1.5%인 반면에 단일불포화 지방산이 24%로 높았으며, 그중에서도 ω -6지방산이 51%이고 ω -3지방산이 24%로 매우 높아서, 가축 급여용으로 활용하여도 그 사료가치가 충분할 것으로 판단된다. 이러한 측면에서 잣송이 부산물을 가축의 사료로 이용할 수 있는 기술개발은 그 효과를 검토할 필요성이 있다. 따라서 본 실험은 실험1 과 2를 통해 얻은 결과를 토대로 가축에게 환경개선제를 급여하였을 때 가축의 생산성 및 분뇨의 성상에 미치는 효과를 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 환경 개선제 시험 사료 제조

실험1의 결과에 의거 잣송이 부산물에 탈지강 10%와 당밀 8%를 혼합하여 3종의 미생물을 접종하고 30℃에서 48시간동안 혐기적으로 처리하여 환경개선제 시험사료를 생산하였다.

나. 환경개선제 대량생산

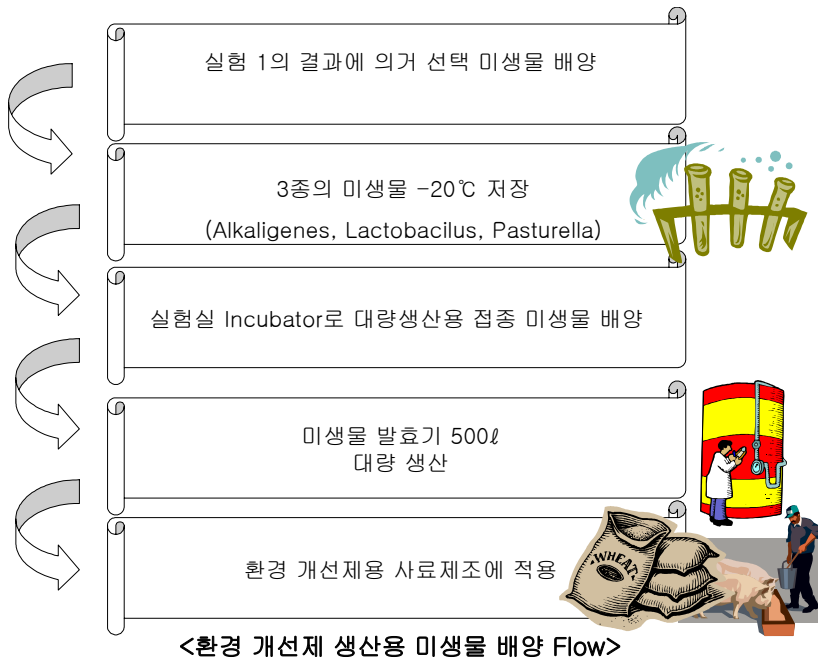
급여용 환경개선제 제조를 위해 3종(*Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella*)의 미생물을 미생물 발효기를 이용하여 대량생산하였다. 미생물 생산 배지로는 3% 당밀수와 무기영양소 cocktail 혼합물이 이용되었다. 대량배양된 미생물을 잣 부산물에 접종하여 2차 배양하고 환경개선제를 대량 생산하였다.

다. 시험구 처리

- 1) 대조구: 시중에 유통하는 배합사료를 급여하는 처리구
- 2) 잣송이 부산물 급여구(잣송이 처리구): 배합사료에 잣송이 부산물을 2% 혼합하여 급여하는 처리구
- 3) 환경개선제 급여구(환경개선제 처리구): 배합사료에 제조한 잣-환경개선제 2%을 혼합하여 급여하는 처리구

라. 사양관리

- 1) 브로일러: 약 42일 동안 부속 동물사육장에서 브로일러를 가지고 사양시험을 수행하였다. 시험에 사용한 브로일러 병아리는 부화장에서 건강한 병아리를 선발하여 공시하였으며 각 처리구당 3반복, 9개구로 나누고 구당 20수씩 배치하였다. 공시사료 단백질 함량을 20% 수준, 대사에너지 함량을 3000kcal/kg 수준으로 배합하였다. 사양시험은 시험개시 7일간 예비적응 기간을 주고 그 후 본 시험을 6주간 평사에서 실시하였다. 시험사료는 무제한 급여하였고, 물은 자유음수 하도록 하였다.
- 2) 돼지: 본 시험은 44일(예비적응 기간 14일 본 시험 30일)동안 부속목장에서 실시하였다. 시험축은 25kg에서 30kg의 건강한 돼지 27두를 분양받아 3처리 3반복으로 나누어 구당 3두씩 배치하였고 현재 최종결과 도출 중에 있다.



마. 조사항목:

1) 미생물 균수 측정

미생물 균수의 조사방법은 Pour Plate 법을 이용하여 48시간 동안 배양한 후 colony를 계수하였다.

2) 일반성분 분석

시료의 일반성분 분석방법은 A.O.A.C.(1990)에 준하였으며, Neutral Detergent Fiber(NDF) 및 Acid Detergent Fiber(ADF)의 분석은 Goering과 Van Soest(1970) 방법에 의하여 분석하였다. 시험사료의 일반성분 분석결과는 표 3-1과 같다.

표 3-1. 시험사료의 화학성분(가금)

항 목 (%)	대조구	잣송이 처리구	잣-환경개선제 처리구
수 분	8.67	8.30	9.81
조단백질	19.87	18.05	18.45
조 회 분	6.66	8.91	5.38
조 지 방	3.58	4.36	3.67
NDF	30.19	29.23	33.40
ADF	5.08	5.68	4.97

표 3-2. 시험사료의 화학성분(돼지)

항목	배합사료(대조구)	잣송이부산물	환경개선제	잣송이처리구	잣- 환경개선제 처리구
건물량	87.46	88.41	56.43	87.24	86.26
조단백질	18.96	3.92	18.20	18.06	18.78
조지방	7.75	15.13	12.25	7.07	9.76
조회분	5.72	7.35	11.69	6.31	6.62
NDF	26.04	67.58	69.19	24.74	21.03
ADF	6.39	59.88	59.22	6.77	6.28

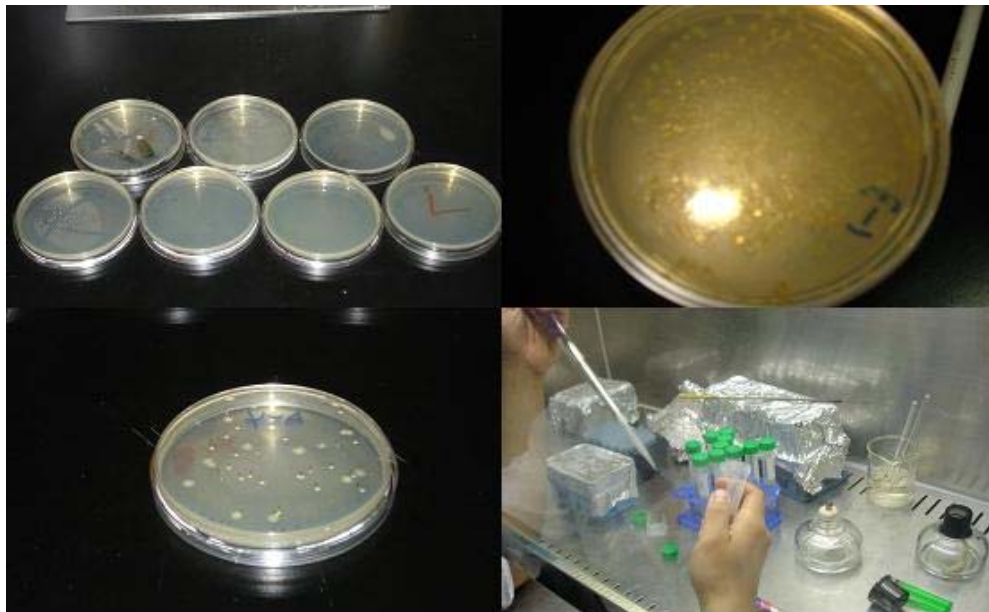


사진 1. 환경개선제에 이용한 미생물의 균수 측정과정



사진 2. 전종용 미생물을 이용하여 환경개선제용 미생물을 대량생산하는 과정



사진 3. 돼지용 환경개선제 생산과정



사진 4. 환경개선제용 급여하는 사양실험

3) pH 및 EC

샘플을 pH buffer 7.0에 1:5의 비율로 희석한 후 30분간 중탕하여 측정하였다.

4) O-P, NH₄-N, NO_x-N

채취한 샘플을 증류수에 희석 혹은 중탕하여 Quikchem 8000(Lachat)을 이용하여 측정하였다.

5) 사료섭취량: 매주 1회(7일마다) 일정시간에 잔사를 평량하여 계산하였다.

6) 증체량: 시험 개시시부터 매주 1회 일정시간에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시 체중에서 개시시 체중을 감하여 계산하였다.

7) 사료효율: 시험기간 동안 체중 증가에 따른 사료 섭취량의 비율로 구하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 환경개선제용 미생물 생산과 시험사료 제조

실험 1에서 잣송이 부산물을 이용하여 급여용 환경 개선제를 개발하기 위해 미생물을 선택하고 당밀적정혼합농도 및 부형제(탈지강) 첨가비율 등을 검토하여 적합한 가축 급여용 환경개선제 제조공정을 제시하였다. 이런 결과를 토대로 가축 급여용 환경개선제를 생산하였으며 사용된 3종의 미생물 균수는 표 3-3에서 보는 바와 같다.

표 3-3. 환경개선제 제조에 이용한 미생물들의 균수(48h)

미생물 종류	미생물 균수(CFU/mL)
<i>Alcaligenes</i>	7×10^7
<i>Lactobacillus</i>	9.8×10^6
<i>Pasturella</i>	2×10^7

각각의 환경개선제의 미생물 균수의 결과는 *Alcaligenes* 는 7×10^7 , *Lactobacillus* 는 9.8×10^6 그리고 *Pasturella* 는 2×10^7 이었으며, 이를 이용하여 급여용 환경 개선제 사료를 제조하였다.

표 3-4은 30℃에서 48시간 동안 배양한 시험사료들의 미생물 균수에 대한 결과이다.

잣송이부산물의 미생물 균수는 2×10^6 이었으며, 3종(*Alcaligenes*, *Lactobacillus* 및 *Pasturella*)의 미생물 혼합하여 배양한 환경개선제는 2×10^7 이었다.

나. 계분의 일반성분

잣송이와 환경개선제를 급여한 브러일러의 계분의 일반화학 성분을 나타내었다(표 3-5). 계분의 수분함량은 대조구, 잣송이 처리구 및 환경개선제 처리구에서 각각 74.19, 77.84 및 74.91%로 대조구 보다 잣송이 처리구에서 높았으나, 대조구 및 환경개선제 처리구는 유사한 결과를 보였다.

계분의 단백질 함량은 대조구 41.34%, 잣송이 처리구 37.50% 및 환경개선제 처리구 43.92%로 대조구의 계분 단백질 함량에 비해 잣송이처리구의 계분 단백질 함량이 약 9.3% 감소하였으며, 환경개선제처리구의 계분 단백질 함량은 대조구의 계분 단백질 함량에 비해

표 3-4. 시험사료의 미생물 균수

시험사료	미생물 균수(CFU/mL)
жат송이부산물	2×10^6
환경개선제	2×10^7

표 3-5. 환경개선제를 급여하는 계분의 일반화학생분(%)

항 목	대조구	жат송이처리구	환경개선제처리구
수 분	74.19	77.84	74.91
조단백질	41.34	37.50	43.92
조회분	11.11	11.50	14.08
조지방	2.40	3.61	2.10
NDF	31.76	34.91	35.31
ADF	13.52	19.85	14.93

NDF: Neutral Detergent Fiber ADF: Acid Detergent Fiber

약 6% 높은 것으로 나타났다. 조회분 함량은 대조구가 11.11 %이고, жат송이처리구가 11.50%이고, 환경개선제처리구가 14.08%로 환경개선제처리구가 대조구 및 жат송이처리구보다 높은 성적을 보였다. 조지방 함량은 대조구, жат송이처리구 및 환경개선제 처리구에서 각각 2.40, 3.60 및 2.10%로 жат송이처리구가 대조구 및 환경개선제처리구보다 높은 것으로 나타났다. 한편 계분의 NDF 및 ADF 함량은 대조구에서 각각 31.76 및 13.52%이었고, жат송이 처리구에서 34.91 및 19.85% 이었고 환경개선제 처리구에서 35.31% 및 14.93%의 결과로 나타났다. 대조구, жат송이 처리구 및 환경개선제 처리구에서 계분의 NDF 함량은 처리간에 유사하였으며, ADF 함량은 жат송이처리구가 대조구 및 환경개선제처리구보다 다소 높은 결과를 보였다.

다. 계분의 특성

표 3-6는 브로일러(육계) 병아리에 잣송이부산물 및 환경개선제를 급여한 후 분을 수집하여 분석한 계분의 특성이다.

표 3-6. 환경개선제를 급여한 계분의 특성

항 목	대조구	잣송이 처리구	환경개선제 처리구
pH (1:5(W/V))	8.3	8.0	8.1
EC (1:5)(mS/cm)	23.4	21.4	21.6
O-P(g/L)	9.1	9.5	9.2
NH ₄ -N(g/L)	10.1	9.4	9.6
NO _x -N(g/L)	0.0040	0.0015	0.0010

EC: Electric Conductivity O-P: Organic Phosphate

계분의 pH는 대조구, 잣송이 처리구 및 환경개선제 처리구에서 각각 8.3, 8.0 및 8.1로 처리간에 유사한 결과를 보였으며, 전기전도도(EC)는 대조구에서 23.4mS/cm, 잣송이 처리구에서 21.4mS/cm 및 환경개선제 처리구에서 21.6mS/cm로 대조구가 잣송이 처리구 및 환경개선제처리구보다 다소 높은 결과를 보였다. 또한 O-P 함량은 대조구, 잣송이 처리구 및 환경개선제 처리구에서 각각 9.1, 9.5 및 9.2g/L으로 대조구, 잣송이 처리구 및 환경개선제 처리구간에 차이가 없는 결과를 보였다.

계분의 NH₄-N 및 NO_x-N 농도는 대조구에서 10.1과 0.0040g/L, 잣송이 처리구에서 9.4g/L 과 0.0015 및 환경개선제 처리구에서 9.6g/L과 0.0010으로서 잣송이 처리구 및 환경개선제처리구보다 대조구에서 높은 경향으로 나타났다.

라. 육성능력(증체량, 사료섭취량, 사료효율)

잣송이 부산물 및 환경개선제 급여가 브로일러(육계)의 증체량, 사료섭취량 및 사료효율 미치는 효과에 대한 결과는 표 3-6에서 보는 바와 같다.

표 3-7. 환경개선제 처리가 증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 미치는 효과

	대조구	젓송이 처리구	환경개선제 처리구
증체량(g)	2,208	2,219	2,305
사료섭취량(g)	4,292	4,243	4,378
사료효율	1.94	1.91	1.90

사료효율: 사료섭취량/증체량

젓송이부산물 및 환경개선제 급여에 따른 증체량은 대조구에서 2,208g, 젓송이 처리구에서 2,219g 및 환경개선제 처리구에서 2,305g으로 환경개선제처리구가 대조구 및 젓송이 처리구에 비해 다소 우수한 결과로 나타났다. 또한 사료섭취량은 대조구, 젓송이 처리구 및 환경개선제 처리구에서 각각 4,292, 4,243 및 4,378g으로 대조구 및 젓송이처리구보다 환경개선제 처리구에서 높은 경향을 보였다. 한편 대조구, 젓송이 처리구 및 환경개선제처리구가의 사료효율은 각각 1.94, 1.91 및 1.90으로 젓송이 처리구 및 환경개선제 처리구가 대조구보다 다소 개선되는 결과를 보였다. 이와 같이 젓송이처리구와 환경개선제 처리구는 대조구에 비해 증체량, 사료섭취량 및 사료효율에서 현저하게 개선되는 성적을 보이지 않았지만 육성능력이 다소 향상되는 경향을 보이고 있다. 특히 환경개선제 처리구는 젓송이처리구보다 우수한 결과로 나타났다. 따라서 브로일러(육계)에 젓송이부산물과 환경개선제를 처리하면 증체량을 향상시키고 사료섭취량을 높여 줄 수 있을 것으로 기대된다.

제 5 장 잣송이 부산물의 가공처리, 생리활성제 및 천연환경 개선제에 의한 동물평가 시험

제 1 절 잣송이 부산물의 급여가 브로일러의 생산성에 미치는 영향

1. 서 론

가축의 생산성 향상을 위하여 사용되는 사료첨가제는 항생물질, 효소제, 효모제 및 생균제 등을 들 수 있으며 그중 항생물질이 가장 먼저 실용화되었다. 그러나 항생물질을 계속 사용하게 되면 내성균이 증가하여 항생물질의 첨가효과가 떨어질 뿐만 아니라 축산물 내에 잔류하게 되어(Smith, 1962; Smith, 1975) 이를 섭취한 사람에게도 해롭기 때문에 항생물질 대체용으로 각종 활성제가 사료첨가제로 널리 사용되고 있는 실정이다.

활성물질로서는 효소제, 효모제 및 생균제 등이 있으며 활성제는 장내 세균총의 변화를 유도하여 유해세균의 감소, 발육억제와 각종 독성물질의 합성을 방지하는 등 가축의 성장과 사료효율에 개선효과가 있다(Alder와 Damassa, 1980; Barrow, 1992). 최근에는 이들 물질이외에 축사내 환경오염에 대한 관심이 높아지면서 가축의 생산성 개선제로서 생리활성제 등 환경친화형 사료첨가제에 대한 사용이 급증하고 있다. 축사환경을 개선하여 생산성향상을 위해서 유카추출물 등의 활성제를 첨가하는 방법 등도 적용되고 있다. 유카추출물의 급여는 분에서 발생하는 암모니아 및 유독가스 발생을 억제하여 축사환경개선을 시켜 생산성이 향상된다고 보고하고 있다(Goodall 과 Matsushine, 1978; Russell, 1984; Johnston 등, 1981; Rowland와 Plyler, 1976; Cromwell 등,1985) 이와 같이 항생물질이 아닌 비항생제적인 물질 즉 활성제 등의 사용효과가 검증되어 그 사용량은 점차 늘어나고 있으며 이들 제제에 대한 관심도 높아 가고 있는 실정이다.

2. 재료 및 방법

가. 시험기간

본 시험은 2004년 10월 11일부터 2005년 11월 27일 까지 6주간에 걸쳐 강원대학교 동물자원과학대학 부속 동물사육장에서 브로일러 사양시험을 실시하였으며, 도체분석 및 혈액분석은 본 대학 사료 자원학 및 공동연구실에서 분석을 실시하였다.

나. 공시동물

병아리 육성시험에 사용된 브로일러는 경기도 오산소재 강남부화장에서 부화된 로스를 공시축으로 건강한 병아리 400수를 선발하여 배치하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의 배치법에 의하여 5처리 4반복으로 20개구를 설치하여 구당 20수씩 총 400수를 배치하였다. 공시사료는 단백질 함량을 20% 수준으로, 대사에너지 함량을 3000 kcal/kg 수준으로 배합하였으며, 시험구는 대조구, 항생제 첨가구(100ppm)와 잣송이 부산물 분말 1, 2 및 3% 수준첨가구로 배치하였다. 구체적인 배합상황을 보면 Table 1 과 같다.

라. 사양시험

브로일러의 사양시험은 본 대학 부속 동물사육장에서 실시하였으며, 시험개시 1주간은 예비적응 기간을 두고 그 후 본 시험을 6주간 평사에서 사육하였다. 시험사료의 급여는 무제한으로 급여하였고, 물도 자유섭취토록 하였다. 기타 사양관리는 본 대학 관행법에 의하여 실시하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료섭취량

사료섭취량은 매주 1회 일정시간에 잔사를 평량하여 구하였으며, 사료의 허실량은 가급적 정확도 기하여 측정하였다.

2) 증체량

시험 개시시 부터 매주 1회 일정시간에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시 체중에서 개시시 체중을 감하여 증체량을 구하였다.

Table 1. Feed formula of experimental diets

Treatments	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	E ⁵⁾
Ingredients					
Corn, ground	47.13	47.13	47.13	47.13	47.13
Wheat	8.40	8.40	8.40	8.40	8.40
Wheat bran	4.025	3.975	2.975	1.990	1.100
Soybean meal	27.6	27.6	27.6	27.6	27.6
Rape seed meal	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
Corn gluten meal	1.15	1.15	1.20	1.475	1.645
Lupin seed meal	2.80	2.80	2.80	2.80	2.80
Yellow grease	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10
Limestone	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98
Dicalcium phosphate	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
HC ℓ -Lysin, 98%	0.118	0.118	0.118	0.118	0.118
D ℓ -Methionine,50%	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198
Vitamin mixture	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290
Mineral mixture	0.319	0.319	0.319	0.319	0.319
Antibiotic		0.05			
Pine cone meal			1.0	2.0	3.0
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100
Chemical composition					
Crude protein, %	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Metabolizable energy, kcal/kg	3000	2999	3001	3002	3002
Calcium, %	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Phosphorus, %	0.61	0.61	0.60	0.59	0.58

A=Control. B=Antibiotic 100ppm. C=Pine cone meal 1%. D=Pine cone meal 2%. E=Pine cone meal 3%.

3) 사료요구율

사료요구율은 시험기간 동안 체중증가에 소요된 사료섭취량의 비율로 구하였다.

4) Abdominal fat pad 및 도체분석

사양시험 종료와 동시에 각 시험구에서 임의로 각각 4수씩 선발하여 도살하여 털을 제거하고 내장을 제거하는 동시에 좌골내의 근위, 장, 총 배설강 및 복부근육 주위에 둘러 쌓여있는 지방을 취하여 Abdominal fat pad를 측정하였으며, 체단백질, 체지방분석은 A.O.A.C.(1990) 방법에 의하여 분석하였다.

5) 혈액의 분석

혈액중의 콜레스테롤 함량은 공시축에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 공시시료를 조제하였으며 그 후 -40°C 의 냉동고에 보관하였다. 콜레스테롤 함량은 (주)아산제약의 분석 kit를 이용하여 분석하였다.

6) 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 Minitab 통계프로그램(Minitab, 2005)의 One way ANOVA (analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

본시험은 잣송이 부산물 분말의 첨가 효과를 규명하기 위하여 브로일러를 공시동물로 하여 사양시험을 실시하였으며, 이들 사료를 전기(1-3주), 후기(4-6주) 및 전 시험기간(1-6주)으로 구분 사양 시험한 결과를 보면 Table 2, 3 및 4와 같다.

먼저 Table 2의 육성전기 3주간 성적을 보면, 증체량에 있어서는 대조구인 A구의 859g 에 비하여 항생제 첨가구인 B구 및 PCM(pine cone meal) 1% 첨가구가 다소 높게 나타났으나, 대체로 증체량은 859~900g의 범위로서 유의차는 없었다. 사료섭취량은 1,440~1,532g의 범위로서 유의차는 없었고 처리구간에 있어서도 특별한 사료섭취 경향을 발견할 수 없었다. 사료효율은 대조구의 1.72에 비하여 항생제 첨가구인 B구가 다소 향상되었고, PCM 첨가구는 비슷한 섭취경향을 보였다.

한편, 후기(4-6주)의 사양성적을 Table 3에서 보면 체중은 1,646g~1,748의 범위로서 유의차가 없었으나, 항생제 첨가구(B구)와 PCM 2% 첨가구(D구)가 약간 높은 증체를 보였다. 또한 사료섭취량은 사료첨가제 첨가구가 공히 대조구의 3,502g 에 비하여 많은 섭취를 보였으나 유의차는 없었다. 또한 PCM 처리구간에 있어서도 특별한 섭취 경향을 발견할 수 없었다. 그러나 사료효율은 증체량이 다소 높았던 D구(PCM 2%)가 사료를 적게 섭취하여 가장 낮은 2.05를 보여 기타 시험구와 차이가 나타났으나 ($P<0.05$) PCM 처리 수준 간에 있어서는 일정한 경향이 나타나지 않았다. 6주간의 전체성적을 Table 4에서 보면 대조구의 증체량 2,505g 을 기준으로 볼 때 항생제 첨가구

가 다소 높은 2,648g 을 보였고, PCM 3% 첨가구(E구)를 제외한 C 및 D구는 각각 2,579g 및 2,582g 으로 나타나 다소 높은 증체성적을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 사료섭취량은 대조구의 4,976g 에 비하여 잣송이 부산물 첨가구가 5,008~5,200g 의 범위로 나타나 다소 많은 섭취를 보였다. 그러나 PCM 2% 첨가구(D구)는 대조구와 비슷한 섭취량을 보였으며, PCM 처리수준에 따른 특별한 섭취경향을 발견할 수 없었다. 사료요구율은 1.94~2.02의 범위로 나타나 대조구의 1.99에 비하여, PCM 2% 처리구가 1.94로 나타나 3% 향상된 결과이나 전 시험구간의 유의차는 나타나지 않았다. 본 시험의 결과 사료 효율적 측면을 고려할 때 PCM 2% 첨가구가 가장 적정수준이라고 판단된다.

Table 2. Effect of pine cone meal(PCM) on growth performance of broiler chicks in starter periods(1~3 Weeks)

Treatment	Body gain (g)	Feed intake (g)	Feed/Gain
A ¹⁾	859 ± 12	1,473 ± 26	1.72 ± 0.01
B ²⁾	900 ± 9	1,502 ± 31	1.67 ± 0.02
C ³⁾	876 ± 32	1,532 ± 31	1.75 ± 0.07
D ⁴⁾	841 ± 27	1,440 ± 30	1.71 ± 0.03
E ⁵⁾	838 ± 21	1,484 ± 17	1.78 ± 0.04

¹⁾A=Control. ²⁾B=Antibiotics 100ppm. ³⁾C=PCM 1%. ⁴⁾D=PCM 2%. ⁵⁾E=PCM 3%. Mean ± SE.

Table 3. Effect of pine cone meal(PCM) on growth performance of broiler chicks in finisher periods(4~6 Weeks)

Treatment	Body gain (g)	Feed intake (g)	Feed/Gain*
A ¹⁾	1,646 ± 24	3,502 ± 52	2.13 ^a ± 0.03
B ²⁾	1,748 ± 27	3,698 ± 57	2.12 ^a ± 0.01
C ³⁾	1,694 ± 17	3,600 ± 38	2.13 ^a ± 0.02
D ⁴⁾	1,741 ± 23	3,567 ± 43	2.05 ^b ± 0.02
E ⁵⁾	1,703 ± 27	3,651 ± 50	2.14 ^a ± 0.01

¹⁾A=Control ²⁾B=Antibiotics 100ppm. ³⁾C=PCM 1%. ⁴⁾D=PCM 2% ⁵⁾D=PCM 3%. Mean ± SE * ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.05).

Table 4. Effect of pine cone meal on growth performance of broiler chicks

Treatment	Body gain* (g)	Feed intake* (g)	Feed/Gain
A ¹⁾	2,505 ± 19	4,976 ^b ± 38	1.99 ± 0.02
B ²⁾	2,648 ± 31	5,200 ^a ± 68	1.96 ± 0.01
C ³⁾	2,570 ± 46	5,131 ^a ± 27	2.00 ± 0.03
D ⁴⁾	2,582 ± 36	5,008 ^b ± 52	1.94 ± 0.02
E ⁵⁾	2,541 ± 34	5,135 ^a ± 64	2.02 ± 0.01

¹⁾A=Control ²⁾B=Antibiotics 100ppm. ³⁾C=PCM 1%. ⁴⁾D=PCM 2% ⁵⁾D=PCM 3%.
 Mean ± SE * ^a ^b means in the same column with different superscripts differ(p<.05).

나. 도체성분 및 혈중 콜레스테롤 함량

잣송이 부산물 분말(Pine cone meal; PCM)을 급여할 때 브로일러의 체성분에 미치는 영향을 분석하기 위해서 시험 종료시에 도체하여 수분, 조단백질, 조지방 함량, 복부 지방함량 및 혈중 콜레스테롤 함량에 대하여 분석을 실시한 결과를 보면 Table 5 및 6과 같다. 체단백질 함량은 시험구 공히 23.4 ~ 24.5%으로 나타나 차이가 없었고, 체지방 함량도 2.44~2.28%의 범위로 나타나 처리에 따른 차이는 나타나지 않았다. 내장내 축적지방함량을 나타낸 복부지방 함량은 체중에 대한 비율로서 1.84~2.22%의 범위로서 대조구의 복부지방 2.16에 비하여 PCM 2 % 의 2.00 및, 3% 첨가구의 1.84로서 다소 낮게 나타나는 경향을 보였다. 혈중 콜레스테롤함량(mg/dl)은 대조구의 162 에 비하여 잣송이 부산물 첨가구의 131~140으로 나타나 잣송이 부산물 첨가에 의하여 감소하는 것으로 나타났다.

Table. 5. Effect of pine cone meal(PCM) on carcass composition of broiler chicks

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾		E ⁵⁾		P Value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Carcass protein, %	24.3	0.70	24.5	0.26	23.4	0.63	23.5	0.47	23.8	0.22	0.452
Carcass fat, %	2.28	0.14	2.26	0.16	2.44	0.13	2.45	0.14	2.28	0.12	0.739
Abdominal fat pad, % of body weight	2.16	0.07	2.05	0.05	2.22	0.66	2.00	0.06	1.84	0.04	0.192

¹⁾A=Control. ²⁾B=Antibiotics 100ppm. ³⁾C=PCM 1%. ⁴⁾D=PCM 2% ⁵⁾E=PCM 3%. Mean ± SE.

Table 6. Effect of pine cone meal(PCM) on blood cholesterol content in broiler chicks

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾		E ⁵⁾		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Blood cholesterol, mg/dl	162 ^a	7.5	140 ^b	8.4	131 ^b	6.4	140 ^b	3.2	140 ^b	5.4	0.042

¹⁾A=Control ²⁾B=Antibiotics 100ppm. ³⁾C=PCM 1%. ⁴⁾D=PCM 2% ⁵⁾D=PCM 3%. Mean ± SE
* ^a ^b means in the same row with different superscripts differ(p<.05).

제 2 절 잣송이 부산물의 급여가 육성돈의 생산성에 미치는 영향

1. 서론

잣나무에서 생산되는 잎과 송이는 약리적 가치가 매우 높아 뇌졸중과 고혈압 등에 효과적이며, 체내에 유익한 HDL 콜레스테롤이 증가되어 동맥경화증을 치료할 수 있다고 전해지고 있다. 일본에서는 항산화제로서의 효과가 입증되고 있다. 잣나무 진에는 Terpenoid계, phenol계 성분, 탄닌 및 알칼로이드 성분이 함유되어 있으며(이 등, 2002; 홍 등, 2002), 이들 성분이 약리작용을 갖고 있다. 특히 terpenoid는 항균, 살충 및 타감작용, 혈압강하, 항암, 항생, 홀론 분비촉진 작용이 있는 것으로 보고되고 있으며(임 등 2001; 양 등 2002), 이외에 tepinolene과 boreneol 성분은 담즙분비를 촉진하여 콜레스테롤치를 낮추는 작용을 한다 (김 등, 1986). 이와 같이 잣송이에는 다량의 생리활성 물질이 함유되어있기 때문에 이들을 적당히 가공하면 사료첨가제로서 활용가치가 높다고 할 수 있다. 따라서 본 연구는 잣송이 부산물을 물리적으로 가공하여 급여할 때 육성돈의 육성성적에 미치는 영향을 분석하기 위하여 사양시험을 실시하였다

2. 재료 및 방법

가. 시험기간

본 시험은 2004년 10월 30일부터 2005년 1월 29일 까지 13주간에 걸쳐 강원대학교 동물자원과학대학 부속 동물사육장에서 육성돈 사양시험을 실시하였으며, 도체분석 및 혈액분석은 본 대학 사료 자원학 및 공동연구실에서 분석을 실시하였다.

나. 공시동물

공시동물은 평균체중이 34kg 내외의 12주령 3원교잡종(Landrace x Yorkshire x Duroc) 거세돈을 공시하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의 배치법에 의하여 4처리 3반복으로 12 개구를 설치하여 구당 4수씩 총 48두를 배치하였다. 공시사료는 육성기와 비육기로 구분하여 급여하였으며 육성기 사료의 조단백질

함량은 20.8%, 대사에너지 함량은 3,230 kcal/kg 로, 비육기 사료의 조단백질 함량은 18.3%, 대사에너지 함량은 3,259Kcal/kg 수준으로 배합하였으며, 시험구는 항생제 첨가구를 대조구로 하여 잣송이 부산물 분말 첨가수준을 1%, 2 % 및 3% 수준으로 처리하였다. 구체적인 배합상황을 보면 Table 1과 같다.

Table 1. Feed formula of experimental diets

Ingredients	Grower				Finisher			
	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	A	B	C	D
Corn	33.7	34.0	34.0	34.3	37.8	37.8	37.8	37.8
Wheat	12.0	12.0	12.0	12.0	14	14	14	14
Wheat bran	5.3	3.8	2.5	0.9	4.8	3.7	2.4	1.2
Corn gluten feed					1.1	1.0	1.0	1.0
Coconut meal	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Corn gluten meal	0	0.3	0.6	0.9	0	0.3	0.6	0.8
Lupin seed meal	3.0	3.0	3.0	3.0	5	5	5	5
Soybean meal	30.77	30.77	30.77	30.77	21.099	21.099	21.099	21.099
Rape seed meal	2.0	2.0	2.0	2.0	2.5	2.5	2.5	2.5
Yellow Grease	4.90	4.9	4.9	4.9	4.7	4.7	4.7	4.7
Molasses	4.0	4.0	4.0	4.0	4.5	4.5	4.5	4.5
Limestone	1.31	1.31	1.31	1.31	1.07	1.07	1.07	1.07
DCP	0.88	0.88	0.88	0.88	0.46	0.46	0.46	0.46
Salt	0.32	0.32	0.32	0.32	0.37	0.37	0.37	0.37
HCl-Lysin	0.148	0.148	0.148	0.148	0.128	0.128	0.128	0.128
dl-Methionine	0.05	0.05	0.05	0.05	0.023	0.023	0.023	0.023
Vitamin mixture	0.24	0.24	0.24	0.24	0.13	0.13	0.13	0.13
Mineral mixture	0.282	0.282	0.282	0.282	0.22	0.22	0.22	0.22
Antibiotics	0.1				0.1			
Pine cone meal	0	1	2	3	0	1	2	3
Total	100	100	100	100	100	100	100	100
Chemical Composition								
Crude protein(%)	20.86	20.86	20.89	20.90	18.28	18.30	18.32	18.29
Calcium(%)	0.81	0.81	0.81	0.81	0.62	0.62	0.62	0.62
Phosphorus(%)	0.59	0.58	0.57	0.56	0.48	0.47	0.46	0.45
ME(Kcal/Kg)	3233	3233	3231	3231	3261	3259	3257	3255

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 1%. ³⁾C= Pine cone meal 2%. ⁴⁾D= Pine cone meal 3%.

라. 사양관리

공시동물은 돈사 내에서 사육하였으며, 1주간 시험사료와 돈사 내 환경에 익숙토록 한 후, 본 시험을 실시하였다. 본 시험 기간 동안 사료와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다. 기타

사양 관리는 본 대학 관행법에 준하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료섭취량 및 증체량

시험기간 동안 개시시 및 종료시에 오전 10시에 개체별로 체중을 측정하였으며 시험 종료시 체중에서 시험 개시시 체중을 감하여 총 증체량을 구하였다. 사료 섭취량은 1주 간격으로 급여량과 잔여량을 조사하였으며, 사료의 허실량은 정확도를 기하여 측정하였다.

2) 사료요구율

사료 효율은 전 시험기간 동안 체중 증가에 소요된 사료 섭취량의 비율로 구하였다.

3) 일반성분 및 도체분석

도체분석은 시험 종료시 각 처리별로 5두씩 20두를 선발하여 도체중, 등지방두께, 도체율을 측정하였다. 도체율의 측정은 돼지를 도살하여 내장, 발목, 머리, 혈액 및 털을 제거한 도체중을 생체중과의 백분율로 구하였다. 일반성분은 A.O.A.C(1990)의 방법에 의하여 실시하였다.

4) 혈액의 분석

혈액중의 콜레스테롤 함량은 공시축에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 공시시료를 조제하였으며 그 후 -40℃의 냉동고에 보관하였다. 콜레스테롤 함량은 (주) 아산제약의 분석 kit를 이용하여 분석하였다.

5) 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 Minitab 통계프로그램(Minitab, 2005)의 One way ANOVA (analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

젓송이 분말의 급여가 육성돈의 증체, 사료섭취량 및 사료요구율에 미치는 영향에 대하여 시험 개시일로부터 육성기(12~17주령, 35일간), 비육기(17~24주령, 56일간)로 구분하여 사양 시험을 실시한 결과를 보면 Table 2, 3 및 4 와 같다. 먼저, 육성기 동안의 성적을 Table 2 에서 보면 일당 증체량은 대조구(항생제 0.1% 첨가구)의 0.88kg에 비하여 PCM 첨가구는 0.80~0.85kg의 범위로서 다소 낮았으나 대조구와 비슷한 성적을 보여 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

사료섭취량은 대조구의 2.26에 비하여 적은 섭취 경향을 보여PCM 1%첨가구의 2.07, PCM 2%첨가구의 1.94로 나타나 유의적인 차이가 나타났다($P<0.01$) 그러나 PCM 3% 첨가구는 오히려 섭취량이 증가하는 경향을 보였다.

사료요구율은 대조구의 2.56에 비하여 PCM 2% 첨가구가 5% 향상된 2.43을 보였으나 처리구간 유의차는 나타나지 않았다. 비육기(17~24주령)의 성적을 Table 3에서 보면 일당 증체량은 대조구의 1.0 kg에 비하여 PCM 첨가구의 1.01~1.07 kg의 범위로 다소 높게 나타났다으나 유의차는 없었다.

사료섭취량은 육성기와 같은 경향을 보여 대조구의 3.19kg 에 비하여 PCM 첨가에 의하여 섭취량이 감소하는 경향을 보였다. 특히 PCM 2% 첨가구가 유의적으로($P<0.05$) 가장 낮은 2.85kg을 섭취하였다. 사료 요구율은 대조구의 3.21에 비하여 PCM 첨가구가 공히 낮은 3.10~2.73의 범위로 나타나 사료효율이 향상되었으나 유의적인 차이는 없었다. 특히 PCM 2% 첨가구는 대조구에 비하여 17%의 사료효율 개선효과가 나타났다.

한편, 육성기와 비육기를 합한 전체 육성성적을 Table 4에서 보면 대조구의 증체량 0.95kg 을 기준으로 볼 때 PCM 처리구의 0.93~0.96의 범위로 나타나 PCM 1% 및 2% 첨가구는 대조구의 성적과 비슷하였고, PCM 3% 첨가구는 다소 낮았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 사료섭취량은 육성기와 비육기의 성적과 같은 경향으로 나타나 대조구의 2.78kg 에 비하여 PCM 첨가구 공히 섭취량이 떨어지는 경향이였다. 특히 PCM 2% 첨가구가 처리구중에서 가장 낮은 2.44kg을 섭취하여 유의적으로($P<0.01$) 가장 낮게 나타났다. 사료요구율은 동일한 증체량에 사료를 적게 섭취한 PCM 처리구가 다소 좋은 결과로서 대조구의 2.93에 비하여 2.93-2.58의 범위였다. 특히 PCM 2% 첨가구의 사료요구율은 2.58로 나타나 시험구 중에서 가장 좋은 사료효율을 보여 대조구에 비하여 15% 향상된 성적을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 돼지 사양시험에서도 젓송이 분말 2% 첨가구가 사료 효율적 측면을 고려할 때 최적 첨가수준이라고 사료된다.

Table 2. Effect of pine cone mea(PCM) on pig performance in growing period.

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Initial body weight, kg	34.1	2.22	35.3	2.26	33.3	2.80	35.4	1.67
Final body weight, kg	67.7	2.51	66.0	0.41	64.5	4.16	67.5	2.08
Average daily gain, kg	0.88	0.04	0.81	0.12	0.80	0.02	0.85	0.13
Daily Feed intake*, kg	2.26 ^a	0.04	2.07 ^{ab}	0.06	1.94 ^{ab}	0.08	2.29 ^a	0.04
Feed/Gain	2.56	0.04	2.58	0.12	2.43	0.02	2.80	0.13

¹⁾A=Control ²⁾B=PCM 1%. ³⁾C=PCM 2% ⁴⁾D=PCM 3%. Mean ± SE
* ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.01).

Table 3. Effect of pine cone meal(PCM) on pig performance in finishing period.

Item	A		B		C		D	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Initial body weight, kg	67.7	2.51	66.0	0.41	64.5	4.16	67.6	2.08
Final body weight, kg	114.7	1.93	116.5	3.10	113.7	2.79	114.8	3.30
Average daily gain, kg	1.00	0.11	1.07	0.11	1.05	0.06	1.01	0.15
Daily Feed intake*, kg	3.19 ^a	0.01	3.19 ^a	0.02	2.85 ^b	0.06	3.06 ^a	0.03
Feed/Gain	3.21	0.04	3.02	0.12	2.73	0.02	3.10	0.13

¹⁾A=Control ²⁾B=PCM 1%. ³⁾C=PCM 2% ⁴⁾D=PCM 3%. Mean ± SE.
* ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.01).

Table 4. Effect of pine cone meal(PCM) on pig performance in overall period.

Item	A		B		C		D	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Initial body weight, kg	34.1	2.22	35.3	2.26	33.3	2.80	35.4	1.67
Final body weight, kg	114.7	1.93	116.5	3.10	113.7	2.79	114.8	3.30
Average daily gain, kg	0.95	0.04	0.96	0.06	0.95	0.01	0.93	0.05
Daily Feed intake*, kg	2.78 ^a	0.02	2.69 ^a	0.02	2.44 ^b	0.04	2.72 ^a	0.03
Feed/Gain	2.93	0.04	2.83	0.12	2.58	0.02	2.93	0.13

¹A=Control ²B=PCM 1%. ³C=PCM 2% ⁴D=PCM 3%. Mean ± SE
^a ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.01).

나. 도체성분 및 혈중 콜레스테롤

한편, 도체분석을 위해 처리별로 각각 5두씩 20두를 선발하여 잣송이 부산물 분말(Pine cone meal;PCM)의 첨가가 도체등급에 미치는 영향을 분석한 결과를 보면 Table 5와 같다. 도체중은 대조구의 88.9kg에 비하여 PCM 처리구의 83.6~89.3의 범위로 나타나 대조구와 비슷하게 나타났고, 등지방 두께도 18.3~18.9의 범위로 비슷하게 나타났다. 결과적으로 도체등급에서도 대조구와 PCM 1% 처리구가 공히 3.43, PCM 3% 처리구의 3.29 및 PCM 2% 처리구의 3.71로 나타나 차이가 없이 비슷한 성적을 보였다. 도체성분 분석에서도 비슷한 경향을 보이거니와 체단백질 함량은 처리구 공히 21.2-22.0 % 범위로 비슷한 함량을 보였다. 그러나 체지방함량은 대조구의 6.98% 에 비하여 PCM 처리구가 5.82~6.51% 으로서 체지방함량 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이와 같은 결과로 볼 때 본 시험에서 사용한 PCM의 처리는 돼지 도체특성에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

한편, 혈중 콜레스테롤함량(mg/dl)을 Table 6에서 보면 대조구의 91.4 에 비하여 잣송이 부산물 첨가구가 공히 유의적으로 낮은 값을 보였으며 PCM 1% 첨가구의 82.9, PCM 2% 첨가구의 82.5 및 PCM 3% 첨가구의 82.1의 순으로 낮게 나타났다. 따라서 잣송이 부산물을 급여함으로서 혈중 콜레스테롤치가 낮아지는 결과를 얻었다.

Table 5. Effect of pine cone meal(PCM) on carcass characteristics of pigs

Item	A		B		C		D		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Live weight, kg	117.8	6.30	113.4	2.57	112.9	4.06	118.2	1.67	
Carcass weight, kg	88.9	4.75	85.6	1.95	83.6	2.45	89.3	4.26	
Fat thickness, mm	18.6	0.97	18.3	0.71	18.4	2.22	18.9	1.08	0.986
Carcass protein,%	21.2	0.53	21.8	0.29	22.0	0.34	21.8	0.34	0.502
Carcass fat, %	6.98	0.97	6.51	0.38	5.82	0.28	6.49	0.56	0.306
Carcass grade*	3.43	0.48	3.43	0.48	3.71	0.42	3.29	0.42	0.923

¹)A=Control ²)B=PCM 1%. ³)C=PCM 2% ⁴)D=PCM 3%. Mean \pm SE

* A grade= 5 point. B grade= 4 point. C grade= 3 point. D grade= 2 point

Table 6. Effect of pine cone meal on blood cholesterol content in pig

Item	A		B		C		D		P Value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Blood cholesterol, mg/100 ml	91.4 ^a	2.0	82.9 ^b	2.2	82.5 ^b	1.8	82.1 ^b	2.0	0.005

¹)A=Control ²)B=PCM 1%. ³)C=PCM 2% ⁴)D=PCM 3%. Mean \pm SE

* ^a ^b means in the same column with different superscripts differ($p < .01$).

제 3 절 잣송이 부산물의 익스트루전 가공처리에 대한 물리적 특성 및 용해도 분석

1. 서론

잣나무에서 생산되는 잎과 송이는 약리적 가치가 매우 높아 뇌졸중과 중풍, 류머티즘, 천식, 소화불량, 고혈압 등에 효과적이며, 체내 유익한 HDL 콜레스테롤이 증가되어 동맥경화증을 치료할 수 있다고 전해지고 있다. 잣나무 진에는 terpenoid계, phenol계 성분, 탄닌 및 알카로이드 성분이 함유되어 있으며(이 등, 2002; 홍 등, 2002) 특히 terpenoid는 항균, 살충 및 타감작용, 혈압강하, 항암, 항생, 홀론 분비촉진 작용이 있는 것으로 보고되고 있으며(임 등 양 등, 2002) tepinolene과 boreneol 성분은 담즙분비를 촉진하여 콜레스테롤치를 낮추는 작용을 한다(김 등 1986). 이와 같이 잣송이에 다량의 생리활성물질이 함유 되어 있기 때문에 이들을 적당한 가공에 의하여 건강보조식품이나 사료첨가제로서 활용할 수가 있다. 잣송이를 가공하는 경우 세포벽의 구성물질들이 서로 조밀한 결합구조를 갖고 있어 생체 상태에서는 소화흡수가 용이하지 않기 때문에 열처리과정을 통하여 이들의 결합력을 약화시켜서 활용하는 경우가 많다. 그러나 단순 열처리는 세포벽의 조직을 일부 이완할 수 있으나 단단한 결합구조를 효율적으로 제어하기 어렵다(김 등 2003; 김 등 2005). 따라서 강한 세포벽 결합조직을 효율적으로 조절할 수 있는 공정의 개발이 필요하다.

압출성형은 단시간 고온처리에 의한 가열효과 뿐만 아니라 고압 및 강한 전단력에 의하여 혼합, 절단, 파쇄, 가압, 성형, 팽화, 건조, 살균등의 각종 공정을 동시에 수행할 수 있어 각종 식품 및 사료제조에 활발히 사용되고 있다(류기형 2003; 이철호, 1995). 특히 이중압출성형기는 강력한 이송능력과 혼합능력을 이룰 수 있고, 바렐 외부 가열장치를 이용한 온도 조절이 용이하며 다용성, 고생산성, 비용절감, 특수성형, 품질향상 등의 이점을 얻을 수 있어 식품원료의 가공조리에 이용할 수 있는 장점이 있다. 또한 영양적인 균형, 기능성, 관능적 특성에 있어서 우수하고 생산단가도 낮은 편이며 고온, 고압, 고전단력에 의해 세포벽 파괴에 의하여 다양한 수용성 식이섬유의 양을 증가 시킬 수 있다(김 등 2005). 압출성형 공정시 공정변수(온도, 제품함수율, 다이면적 등)는 제품의 성질을 좌우하는 중요한 요인이 된다. 그러나 물질의 유변물성을 정확히 파악하지 않고서는 가공 공정에 필요한 변수 값을 이룰 수 없어 우수한 제품을 생산하기 어려우며 각각의 압출조건에 따른 유변물성의 변형과 흐름에 관한 성질을 알아야 한다.

본 실험에서는 동방향 완전 맞물림형 이축 압출성형기(Co-rotating intermeshing type twin-screw Extruder)를 사용하여 공정변수(스크류 회전속도, 바렐 온도)에 따른 반응변수(압력, 생산량, SME, 밀도, WSI)의 변화량을 측정하여 잣송이 부산물의 압출성형 공정가능성 및 최적 성형조건을 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 압출성형기

본 시험 사용된 압출성형기는 동방향 완전 맞물림형 이축 압출성형기 (Co-rotating intermeshing type twin-screw Extruder, Hankook E.M. Ltd., Korea)를 사용하였으며(그림 1 및 사진 1) 압출성형기의 구조는 원료투입구, screw, barrel 및 die plate로 구성되어 있다. 1차 시험에 사용된 압출성형기(이축압출성형기 I형)는 L/D의 비가 20:1이고, screw 직경이 30mm, Barrel이 5개의 section으로 구성되어 있으며, 2차 시험에 사용된 압출성형기(이축압출성형기 II형)는 L/D의 비가 24:1이고, screw 직경이 47mm, Barrel이 5개의 section으로 구성되어 있다. 각 압출 성형기는 배럴 2번에서 5번 section 까지 전기로 가열하며 각 바렐 마다 온도를 조절할 수 있도록 되어있다. 원료의 투입은 용적식 투입장치인 single-screw feeder를 사용하였다. 사용한 다 이의 지름은 1차 시험에서는 2mm이고, 2차 시험에서는 4mm이며 L/D비(Land length/Diameter)는 공히 7:1인 원형 타입을 사용하였다..

나. 시험재료 및 방법

1) 1차 압출성형 가공시험

1차 시험에서는 이축 압출성형기 I 형을 사용하여 가공시험을 실시하였으며, 가공 시험에 사용된 재료는 잣송이 부산물 분말을 사용하였으며, 잣송이 부산물 분말 침가 수준을 30%, 50% 및 70% 수준으로 설정하였으며, 1차로 미분쇄 처리하여 수분의 가수는 함수율 25% 비율로 조절하여 혼합기에 투입하여 혼합하였다(사진2). 구체적인 배합상황은 Table11과 같다. 압출성형조건은 스크류 회전속도를 300 rpm, 바렐온도를 100℃ 및 130℃로 설정하여 압출성형을 실시하였다.



Picture 1. Extruder type I and II

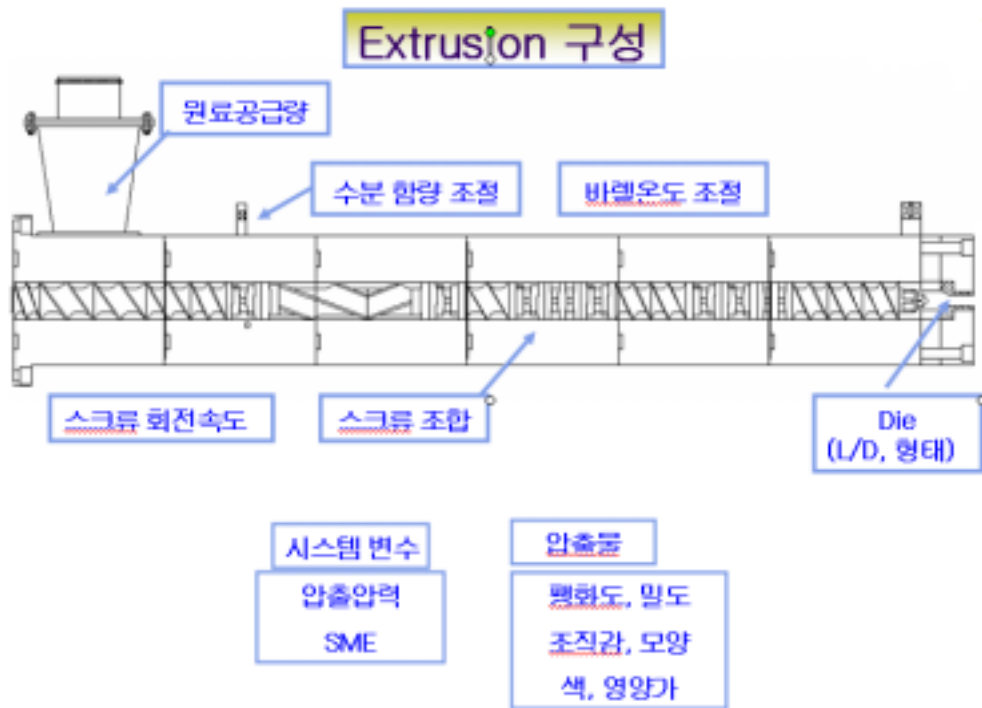


Fig 1. Structure of extrusion system

Table 1. Formula of the experimental feeds

Treatments	PCM ¹⁾ 30%	PCM 50%	PCM 70%
Ingredients			
Pine cone meal	30	50	70
Yellow corn, ground	24	17	10
Wheat, ground	23	16	10
Wheat flour	23	16	10
Total	100	100	100
Chemical composition			
Moisture, %	12.31	12.52	12.70
Crude fiber, %	10.51	15.22	19.92

¹⁾PCM=Pine cone meal



Picture 2. Pine cone meal and mixing

2) 2차 압출성형 가공시험.

2차 압출성형 가공시험에서는 이축 압출성형기 II형을 사용하였으며, 가공원료는 잣송이 부산물 분말 70% , 옥수수 10%, 소맥 10%, 밀가루 10% 수준으로 설정하였으며, 수분의 가수는 함수율 25% 비율로 조절하여 배합하여 사용하였으며, 스크류 회전속도를 200, 300 및 400 rpm으로, 바렐 온도를 100, 130℃ 및 160℃로 설정하였다. 실험에 사용한 스크류는 conveying element 66mm, 55mm, 44mm, 33mm, kneading element 30°, 45°, 60°, 90°, forward, mixing element이고, barrel 3번부터 kneading element와 mixing element를 혼합 연결한 스크류 조합형태로 실험을 행하였으며 구체적인 스크류 배열 위치는 Fig. 2 와 같다.

Barrel No.	1	2	3	4	5	6
1	-	100	100	100	100	100
2	-	100	100	130	130	120
3	-	100	160	160	145	130

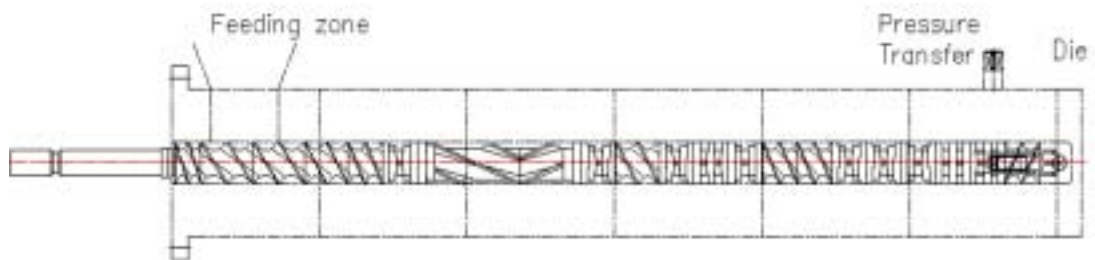


Fig 2. Layout of extruder showing temperature profile in each of the barrels.

다. 조사항목 및 방법

1) 압출압력 측정

압출압력에 대한 자료는 LCD display panel에 자동으로 표시되며, 5초단위로 측정 하여 평균값을 계산하였다.

2) 비기계적 에너지 투입량 측정

비기계적 에너지 투입량(specific mechanical energy, SME)은 원료가 투입되어 압출 성형기를 통과할 때, 원료의 단위 질량당 소비된 전기에너지(electrical energy)로 나타내었다. 즉 원료 투입시의 전력(electrical power)에서 모터 공회전시의 전력을 감하면 실제 원료에 투입된 전력이 된다. 비기계적 에너지 투입량의 계산식은 다음과 같다.

$$\text{비기계적 에너지 투입량 (W}\cdot\text{h/kg)} = \frac{\text{원료투입시의 전력(W)} - \text{공회전시의 전력(W)}}{\text{생산량(kg/h)}}$$

3) 밀도 측정

밀도는 Park 등(1993)의 방법에 의하여 압출 성형된 시료 5개를 1cm으로 절단하여 105℃에서 1시간 동안 건조한 후 무게를 측정하고, 건조된 시료의 부피를 측정(압출물의 지름 및 길이는 전자식 버니어 캘리퍼스로 측정)하여 평균값으로 밀도를 계산하였다.

4) 수분용해지수(water solubility index; WSI) 측정

수분용해지수(water solubility index : WSI)는 Anderson(1969)의 방법에 의하여 시료 1g에 물 30 ml를 가하여 상온에서 30분 동안 교반한 후 5000rpm에서 15분간 원심 분리하였다. 이 때 상등액을 분리한 후 삼각 플라스크에 넣어 105℃에서 24시간 동안 건조하여 고형분 함량을 측정 후 WSI를 다음 식으로 결정하였다.

$$WSI = \frac{\text{건조시킨 상등액의 무게(g)}}{\text{시료의 무게(g)}} \times 100$$

3. 결과 및 고찰

젓송이 부산물 분말의 압출 성형가공에 의한 물리적 특성, 용해도 및 제형화의 가능성을 규명하기 위하여 1, 2차에 걸쳐서 압출성형 가공시험을 실시하였다(Fig 3). 본 시험에서는 젓송이 부산물 분말의 첨가수준을 1차 가공시험에서는 30%, 50% 및 70%의 3개 수준으로 하여 익스트루전 가공시 바렐 온도를 130℃ 및 160℃, 스크류 회전속도를 300rpm의 조건으로, 2차 가공시험에서는 젓송이 부산물 분말을 70% 수준으로 처리하여 압출성형기의 바렐 온도를 100, 130 및 160℃, 스크류 회전속도를 200, 300 및 400rpm의 조건에서 압

출성형 공정시 압출물의 밀도, 팽창율 SME 등의 물리적 특성 및 수분용해도지수(WSI)에 미치는 영향을 분석한 결과를 보면 Table 2 및 3과 같다.

먼저 Table 2 의 1차 가공실험의 결과를 보면 잣송이 부산물의 첨가수준별 압출물의 밀도는 가공처리에 의하여 증가하는 경향을 보여 무처리 대조구의 밀도 0.40 ~ 0.48 인데 반하여 가공처리 압출물의 밀도는 0.63~0.72로 증가하였으며, 처리온도에 의한 차이도 나타났다. 즉 잣송이 부산물 30%, 50% 및 70% 의 첨가 수준별 밀도에서 보면 처리온도가 높을수록 밀도가 유의적으로 높게 나타나고 있음을 알 수 있다.

압출물의 팽창율은 1.07~1.31의 범위로서 나타났으며, 잣송이 부산물 첨가수준이 증가 할수록 처리온도가 높아질수록 팽창율이 낮게 나타났다. 수분용해지수는 잣송이 부산물 30% 첨가구의 2.54 ~2.56배, 50% 첨가구의 2.77~3.13배 및 70% 첨가구의 4.03~4.23 배 높게 나타나 익스트루전 처리에 의하여 용해도가 크게 향상되는 결과를 보였다. 특히 70% 첨가구의 용해도 증가율이 가장 높게 나타나 본 시험의 결과로 미루어 볼 때 잣송이 부산물을 최대 70% 수준까지 사용하여 압출성형이 가능한 것으로 판단되었다. 한편, 1차 시험 결과에 의하여 잣송이 부산물 첨가수준을 70% 수준으로 설정하여 . 2차 가공 시험을 실시하였다. 2차 가공시험에서는 잣송이 부산물의 성형화 가공 제품 생산을 위한 기초실험으로서 압출성형기의 바렐온도의 변화 (100℃, 130℃, 160℃) 와 스크류 회전속도 변화 (200rpm, 300rpm, 400rpm)를 달리한 조건에서 압출성형 시 압출압력, 압출물, 밀도, SME 및 WSI에 미치는 영향을 분석하기 위하여 실시하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. Table 3 에서 보는 바와 같이 압출압력과(bar) 100℃에서 평균 17.1, 130℃에서 평균 15.2 및 160℃ 의 평균 13.1로 나타나 처리온도가 증가함에 따라 감소하였으며, SME도 100℃에서 평균 113.4, 130℃에서 평균 65.3 및 160℃ 65.5로 나타나 온도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으나 130℃와 160℃에서는 차이가 나타나지 않고 비슷한 SME를 보였다. 압출물의 밀도는 100℃의 평균 0.87, 130℃의 평균 0.87 및 160℃의 0.84로 나타나 온도가 증가할수록 밀도는 감소하였고, 동일 온도에서는 스크류 회전속도가 높을수록 대체로 밀도가 감소하는 경향을 보였다. 팽창율은 0.733~0.77의 범위로서 처리온도가 높을수록 다소 팽창율이 높아지는 경향을 보였다. 수분용해도지수(WSI)는 바렐 온도 100℃의 평균 3.49, 130℃의 평균 4.73 및 160℃ 의 평균 7.30으로 나타나 처리온도가 높아짐에 따라 WSI 가 현저하게 증가하는 결과를 보였다. 특히 바렐 온도 160℃, 스크류 회전속도가 400rpm인 조건에서의 WSI는 최대값을 보였다. 본 시험의 결과 압출성형가공물은 온도와 스크류 속도가 증가함에 따라 바렐 내부 재료의 점도가 낮아져 유동성이 향상되어 압력

및 비기계적 에너지 값이 감소하였으며, 호화, 팽화도의 증가에 따라 압출물의 부피가 증가하여 밀도가 감소되었고, WSI가 증가하는 경향을 보였다. 따라서 압출성형 가공처리를 함으로서 잣송이 부산물 압출물의 WSI가 증가되어 생체내의 이용 효율이 증가시켜 활용도가 높을 것으로 사료된다. 앞으로 WSI 및 이용효율을 증가시킬 수 있는 스크류 배열과 함수율, 배합비 등에 대한 더 구체적인 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다..

Table 2. Effect of pine cone meal addition on physical characteristics and water solubility index

Pine cone meal %	Process variables	Bulk density		Expansion		Water soluble index		
		(g/cm ³)		rate		(%)		
	Temperature °C	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	RV
30	Untreated	0.48 ^c	0.001	-	-	5.42 ^b	0.112	100
	130	0.58 ^b	0.011	1.31	0.027	13.75 ^a	0.233	254
	160	0.65 ^a	0.016	1.24	0.009	14.13 ^a	0.250	261
	P value	0.0001				0.0001		
50	Untreated	0.48 ^c	0.001	-	-	4.32 ^c	0.061	100
	130	0.58 ^b	0.011	1.16	0.023	11.98 ^b	0.272	277
	160	0.65 ^a	0.016	1.07	0.010	13.54 ^a	0.278	313
	P value	0.0001				0.0001		
70	Untreated	0.48 ^b	0.001	-	-	2.38 ^b	0.630	100
	130	0.58 ^a	0.011	1.10	0.005	10.13 ^a	0.367	425
	160	0.65 ^a	0.016	1.11	0.009	9.60 ^a	0.067	403
	P value	0.0001				0.0001		

* abc means in the same column with different superscripts differ(p<.01).



Fig 3. Various products of pine cone meal by extrusion

Table 3. Effect of various variables for extrusion on physical characteristics and water solubility index of pine cone meal

No	Process variables		Extrudates Pressure (bar)	SME (w x h/ kg)	Bulk density (g/cm ³)		Expansion rate		Water solubility index (%)		
	(°C)	Screw speed (rpm)			Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	RV
1	100	200	23.2	103.4	1.03 ^a	0.026	0.71 ^c	0.009	3.10 ^c	0.112	100
2	100	300	16.5	83.6	0.98 ^{ab}	0.022	0.73 ^{bc}	0.007	3.41 ^c	0.154	110
3	100	400	11.6	63.4	0.91 ^{bc}	0.017	0.76 ^{ab}	0.006	3.97 ^c	0.125	128
.....											
4	130	200	20.7	87.2	0.86 ^{cd}	0.016	0.78 ^a	0.002	3.22 ^c	0.315	104
5	130	300	15.0	60.9	0.89 ^{bcd}	0.025	0.76 ^{ab}	0.010	3.57 ^c	0.327	115
6	130	400	10.1	47.8	0.87 ^{cd}	0.028	0.76 ^{ab}	0.004	7.42 ^{ab}	0.263	239
.....											
7	160	200	19.0	91.4	0.81 ^{cd}	0.043	0.80 ^a	0.019	6.75 ^b	0.215	218
8	160	300	12.2	61.5	0.80 ^d	0.022	0.79 ^a	0.005	7.47 ^{ab}	0.069	240
9	160	400	8.0	43.7	0.91 ^{bc}	0.018	0.74 ^{bc}	0.011	7.69 ^a	0.032	248
.....											
P value					0.0001		0.0001		0.0001		

* ^{abcd} means in the same column with different superscripts differ(p<.01).

제 4 절 잣송이 부산물의 추출, 발효 및 가공처리가 브로일러의 육성성적에 미치는 영향

1. 서론

가축의 생산성 향상과 축사내 환경개선을 위해서 환경친화형 활성물질 등의 사용량이 급증하고 있다. 이중에서 전혀 사료자원으로 활용되지 않은 천연활성물질인 잣송이를 활용할 때 가축의 생산성 향상은 물론 축산물의 품질이 향상되는 것으로 알려지고 있다. 그러나 잣송이 부산물을 단순 분쇄하여 사용하는 경우 보다는 이들을 적절히 가공처리를 함으로써 유효성분 함량 증가, 유해 미생물 제어 및 기호성 증대효과가 나타나 이용성이 향상될 것으로 기대된다. 따라서 환경친화형 활성물질인 잣송이 부산물의 효율적인 이용을 위해 유효성분의 추출, 미생물 발효 공정을 통한 발효산물 및 익스트루전 압출 가공처리를 하여 생산된 제제를 브로일러용 사료첨가제로 급여할 때, 브로일러의 생산성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 사양시험을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험기간

본 시험은 2005년 10월 15일부터 2005년 11월 26일 까지 6주간에 걸쳐 강원대학교 동물자원과학대학 부속 동물사육장에서 브로일러 사양시험을 실시하였으며, 도체분석 및 혈액분석은 본 대학 사료 자원학 및 공동연구실에서 분석을 실시하였다.

나. 공시동물

병아리 육성시험에 사용된 브로일러는 경기도 오산소재 강남부화장에서 부화된 로스를 공시축으로 건강한 병아리 300수를 선발하여 공시동물로 사용하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의 배치법에 의하여 5처리 3반복으로 15개구를 설치하여 구당 20수씩 총 300수를 배치하였다. 공시사료는 단백질 함량을 20% 수준으로, 대사에너지 함량을 3000 kcal/kg 수

준으로 배합하였으며, 첨가사료는 잣송이 부산물을 물리, 화학 및 생물학적 방법으로 가공 처리한 사료를 사용하여 시험구를 배치하였다. 시험구는 잣송이 부산물 분말 처리구(pine cone meal; PCM), 잣송이 부산물 익스트루전 가공 처리구(extruded pine cone meal; EPCM), 잣송이 부산물 활성물질 추출물 처리구(activated pine cone meal:APCM) 및 잣송이 부산물 미생물 배양 처리구 (fermented pine cone meal; FPCM)로 하였다. 각 처리구의 첨가수준은 PCM구는 2.0% 수준, EPCM구는 2.8%, APCM 구는 0.01% 및 FPCM구의 2.0% 수준으로 첨가하였다. 구체적인 배합 상황을 보면 Table 1과 같다..

Table 1. Feed formula of experimental diets

Treatments	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	E ⁵⁾
Corn, ground	48.71	46.99	46.55	48.71	47.00
Wheat	17.00	16.42	16.25	17.00	16.40
Corn gluten meal	5.0	5.8	5.93	5.0	5.80
Lupin seed meal	2.50	2.42	2.40	2.50	2.41
Soybean meal	19.30	18.64	18.40	19.30	18.65
Rape seed meal	2.00	1.93	1.91	2.00	1.93
Yellow grease	2.10	2.44	2.40	2.10	2.44
Salt	0.20	0.19	0.19	0.20	0.19
HC ℓ -Lysin, 98%	0.31	0.304	0.304	0.315	0.304
D ℓ -Methionine,50%	0.19	0.185	0.183	0.190	0.185
Limestone	0.90	0.87	0.863	0.90	0.871
Dicalcium phosphate	1.18	1.201	1.21	1.165	1.21
Vitamin mixture	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Mineral mixture	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
Pine cone meal		2.0			
Extruded PCM			2.8		
Activated PCM				0.01	
Fermented PCM					2.0
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100
Chemical composition					
Crude protein, %	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Metabolizable energy, kcal/kg	3000	2999	3001	3002	3002
Calcium, %	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Phosphorus, %	0.61	0.61	0.60	0.59	0.58

¹⁾A= Control ²⁾B=Pine cone meal 2% ³⁾C= Extruded pine cone meal 2.8%

⁴⁾D= Activated pine cone meal 0.01% ⁵⁾E= Fermented Pine cone meal 2%

라. 사양시험

브로일러의 사양시험은 본 대학 부속 동물사육장에서 2005년 10월 15일 부터 11월 26일 까지 6주간 실시하였으며, 시험개시 1주간은 예비적응 기간을 두고, 그 후 본 시험을 6주간 평사에서 사육하였다. 시험사료의 급여는 무제한으로 급여하였고, 물도 자유섭취토록 하였다. 기타 사양관리는 본 대학 관행법에 의하여 실시하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료섭취량

사료섭취량은 매주 1회 일정시간에 잔사를 평량하여 구하였으며, 사료의 허실량은 가급적 정확도 기하여 측정하였다.

2) 증체량

시험개시시 부터 매주 1회 일정시간에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시

체중에서 개시시 체중을 감하여 증체량을 구하였다.

3) 사료요구율

사료요구율은 시험기간 동안 체중증가에 소요된 사료섭취량의 비율로 구하였다.

4) 성분 분석

일반성분 분석은 A.O.A.C.(1990)의 방법에 의하여 분석하였으며, 혈액중의 콜레스테롤 함량은 공시축에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 공시시료를 조제하였으며, 그 후 -40°C 의 냉동고에 보관하였다. 콜레스테롤 함량은 (주) 아산제약의 분석 kit를 이용하여 분석하였다.

5) 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 Minitab 통계프로그램(Minitab, 2005)의 One way ANOVA (analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

본 시험은 잣송이 부산물 분말의 추출, 발효 및 익스트루전 가공 처리시 효과를 규명하기 위하여 브로일러를 공시동물로 하여 사양시험을 실시하였으며, 이들 사료를 전기(1~3주), 후기(4~6주) 및 전 시험기간(1~6주)으로 구분 사양 시험한 결과를 보면 Table 2, 3, 4와 같다. 우선 Table 2의 육성전기 3주간 성적을 보면, 증체량에 있어서는 대조구인 A구의 758g 에 비하여 잣송이 부산물 활성물질 추출물 급여구(activated pine cone meal; ACPM)인 D구와 잣송이 부산물 미생물 배양 처리구(fermented pine cone meal; FPCM)인 E구의 증체량이 각각 780g 및 807g 으로서 유의적으로($P=0.043$) 으로 높게 나타났으나, 잣송이 부산물 분말처리구인 B구와 잣송이 부산물 익스트루전 가공처리구인 C구의 증체량은 비슷하게 나타나 차이가 없었다. 사료섭취량은 1,192~1,265g의 범위로서 유의차는 없었으나, EPCM구가 가장 적은 섭취를 보였고, 기타 처리구는 비슷하게 섭취한 것으로 나타났다.

사료효율은 대조구에 비하여 잣송이 부산물 처리구가 공히 낮게 나타나 사료효율이 향상된 것으로 나타났다. 즉 대조구의 1.67에 비하여 잣송이 부산물 처리구의 1.61~1.56으로 나타나 사료효율이 향상되었으며, 특히 C구(EPCM구)와 D구(APCM구)의 1.56으로서 유의적으로($p=0.035$) 향상된 결과를 보였다.

한편, 후기(4~6주)의 사양성적을 Table 4에서 보면 체중은 1,436g~1,564g의 범위로서 유의차가 없었으나, D구(APCM 구)와 E구(FPCM 구)가 대조구에 비하여 5~7% 높은 증체를 보였다. 사료섭취량은 대조구에 비하여 B구(PCM 구)는 비슷한 섭취량을 보였고, D구(APCM 구)와 E구(FPCM 구)는 다소 많은 사료섭취량을 보였으나, C 구(EPCM 구)는 유의적으로 적은 사료섭취량을 보였다. 따라서 사료효율은 증체량이 비슷하였지만 사료를 적게 섭취한 C구가 2.02로서 대조구의 2.09에 비하여 유의적으로($p=0.045$) 향상된 결과를 보였다. 그 이외에 잣송이 부산물 가공 처리구도 대조구에 비하여 향상된 사료효율을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다.

한편, 6주간의 전체성적을 Table 4에서 보면 대조구의 증체량 2,208g을 기준으로 볼 때, B구와 C구는 각각 2,219g 및 2,194g 으로 나타나 비슷한 증체량을 보였으며, D구와 E구는 2,372g 및 2,305g으로 나타나 유의적($p=0.013$)으로 높은 증체량을 보였다. 사료섭취량은 처리구간 유의차가 나타나($p=0.030$) 대조구의 4,292g 에 비하여 D및 E 구는 다소 많은 섭취량을 보였으며, C구는 가장 적은 섭취량을 보였다. 특히 C구는 대조구에 비하여 5% 정도

Table 2. Effect of various processing treatment of pine cone meal on growth performance of broiler chicks in starter periods(1~3 Weeks)

Treatment	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed/Gain
A ¹⁾	758 ^b ± 3	1265 ± 12	1.67 ^a ± 0.01
B ²⁾	760 ^b ± 5	1212 ± 7	1.60 ^b ± 0.02
C ³⁾	759 ^b ± 7	1192 ± 25	1.57 ^b ± 0.02
D ⁴⁾	807 ^a ± 17	1262 ± 23	1.56 ^b ± 0.01
E ⁵⁾	780 ^b ± 15	1255 ± 21	1.61 ^{ab} ± 0.03
P value	0.043	0.070	0.035

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴⁾D= Extracted pine cone meal 0.01%. ⁵⁾E= Fermented pine cone meal 2.0%

Mean ± SE * ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.05).

Table 4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on growth performance of broiler chicks in starter periods(4~6 Weeks)

Treatment	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed/Gain
A ¹⁾	1,450 ± 40	3,027 ^{ab} ± 77	2.09 ^a ± 0.01
B ²⁾	1,460 ± 26	3,031 ^{ab} ± 50	2.08 ^a ± 0.02
C ³⁾	1,436 ± 33	2,906 ^b ± 63	2.02 ^b ± 0.02
D ⁴⁾	1,564 ± 30	3,196 ^a ± 43	2.04 ^{ab} ± 0.01
E ⁵⁾	1,525 ± 23	3,123 ^a ± 53	2.05 ^{ab} ± 0.03
P value	0.064	0.049	0.045

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴⁾D= Extracted pine cone meal 0.01%. ⁵⁾E= Fermented pine cone meal 2.0%

Mean ± SE * ^{ab} means in the same column with different superscripts differ(p<.05).

Table 4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on growth performance of broiler chicks

Treatment	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed/Gain
A ¹⁾	2,208 ^{bc} ± 42	4,292 ^{ab} ± 81	1.94 ^a ± 0.01
B ²⁾	2,219 ^{bc} ± 21	4,243 ^{ab} ± 57	1.91 ^{ab} ± 0.01
C ³⁾	2,194 ^c ± 34	4,098 ^b ± 83	1.87 ^b ± 0.01
D ⁴⁾	2,372 ^a ± 41	4,457 ^a ± 63	1.88 ^b ± 0.01
E ⁵⁾	2,305 ^{ab} ± 11	4,378 ^a ± 43	1.90 ^{ab} ± 0.01
P value	0.013	0.030	0.003

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴⁾D= Extracted pine cone meal 0.01%. ⁵⁾E= Fermented pine cone meal 2.0%

Mean ± SE * ^{ab} means in the same column with different superscripts differ.

적게 사료를 섭취한 것으로 나타났다.

사료효율은 대조구의 1.94에 비하여 잣송이 부산물 처리구가 1.88~1.91의 범위로 나타나, 1.5~3% 수준 향상된 결과를 보였다. 즉 대조구에 비하여 잣송이 가공 처리구가 공히 사료효율이 향상된 결과를 보였으며, 본 시험의 경우 익스트루전 가공처리를 한 C구가 가장 낮게 나타나 사료효율이 가장 좋게 나타났다.

나. 혈중 콜레스테롤 함량

잣송이 부산물 분말(Pine cone meal; PCM)을 추출, 발효 및 익스트루전 가공 처리를 할 때, 브로일러의 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향에 대하여 분석을 한 결과를 보면 Table 5 와 같다. 혈중 콜레스테롤함량(mg/dl)은 대조구에 비하여 잣송이 부산물 가공처리구가 공히 낮아지는 경향을 보여 대조구의 119 에 비하여 첨가구의 111~114으로 나타나 잣송이 부산물 첨가에 의하여 콜레스테롤 함량이 다소 감소하는 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

나. 분중 암모니아 함량

잣송이 부산물의 추출, 발효 및 익스트루전 가공처리가 브로일러의 분중 암모니아 함량 발생에 미치는 영향을 분석하기 위하여 시험기간 중 3회에 걸쳐 처리구별 분을 수집하여 분중 암모니아 가스함량을 분석한 결과를 보면 Table 6과 같다. Table 6에서 보는 바와 같이 분중 평균 암모니아 함량은(ppm)은 대조구의 63.0에 비하여 잣송이 부산물 가공처리구가 57.7 ~ 56으로 나타나 다소 낮은 값을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않아 잣송이 부산물의 가공처리에 의하여 분중 암모니아 함량은 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 그러나 암모니아 함량의 측정상 가스를 측정하는 것으로 측정시의 오차 발생 가능성이 크기 때문에 이 점에 대해서는 수회의 반복실험이 수행되어 검증할 때 그 효과를 분명히 할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 5. Effect of various processing treatment of pine cone meal on blood cholesterol content in broiler chicks

Item	A		B		C		D		E		P Value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Blood cholesterol, mg/dl	119	3.7	111	2.2	113	4.5	114	6.5	122	1.6	0.301

¹A= Control. ²B= Pine cone meal 2%. ³C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴D= Extracted pine cone meal 0.01%. ⁵E= Fermented pine cone meal 2.0%. Mean ± SE

Table 6. Effect of various processing treatment of pine cone meal on ammonia concentration in feces in broiler chicks

Item	A		B		C		D		E		P Value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Ammonia, ppm	63.0	9.8	57.3	8.4	56.0	6.4	58.3	7.2	57.7	7.8	0.976

¹A= Control. ²B= Pine cone meal 2%. ³C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴D= Extracted pine cone meal 0.01%. ⁵E= Fermented pine cone meal 2.0%. Mean ± SE

제 5 절 잣송이 부산물의 추출, 발효 및 가공처리가 육성돈의 육성성적에 미치는 영향

1. 서론

잣나무에서 생산되는 잎과 송이는 약리적 가치가 높고, 항산화제로서의 기능이 있는 것으로 알려지고 있다. 잣나무 진에는 terpenoid계, phenol계 성분, 탄닌 및 알칼로이드 성분이 함유되어 약리작용을 하며(이 등, 2002; 홍 등, 2002), 특히 terpenoid는 항균, 살충 및 타감작용, 혈압강하, 항암, 항생, 홀론 분비촉진 작용이 있는 것으로 보고되고 있다(임 등, 2001; 양 등 2002). 이외에 tepinolene과 boreneol 성분은 담즙분비를 촉진하여 콜레스테롤치를 낮추는 작용을 한다(김 등, 1986). 이와 같이 잣송이에는 다량의 생리활성물질이 함유되어있기 때문에 이들을 사료첨가제로 활용할 때 증체량 및 사료효율을 개선시킬 뿐만 아니라 육질의 풍미를 개선시키는 것으로 나타났다.

그러나 잣송이 부산물을 단순 분쇄하여 사용하는 경우 보다는 이들을 적절히 가공처리를 함으로서 유효성분 함량 증가, 유해 미생물 제어 및 기호성 증대효과가 나타나 이용성이 향상될 것으로 기대된다. 따라서 환경친화형 활성물질인 잣송이 부산물의 효율적인 이용을 위해 유효성분의 추출, 미생물 발효 공정을 통한 발효산물 및 엑스트루전 압출 가공처리를 하여 생산된 제제를 육성돈용 사료첨가제로 급여할 때, 브로일러의 생산성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 사양시험을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험기간

본 시험은 2005년 11월 25일부터 2006년 2월 17일 까지 12주간에 걸쳐 강원대학교 동물자원과학대학 부속 동물사육장에서 육성돈 사양시험을 실시하였으며, 도체분석 및 혈액분석은 본 대학 사료 자원학 및 공동연구실에서 분석을 실시하였다.

나. 공시동물

공시동물은 평균체중이 34kg 내외의 13주령 3원교잡종(Landrace x Yorkshire x Duroc) 거세돈을 공시하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의배치법에 의하여 4처리 3반복으로 12 개구를 설치하여 구당 4수씩 총 48두를 배치하였다. 공시사료는 육성기와 비육기로 구분하여 급여하였으며, 육성기 사료의 조단백질 함량은 20.8%, 대사에너지 함량은 3,230kcal/kg 로, 비육기 사료의 조단백질 함량은 18.3%, 대사에너지 함량은 3,259Kcal/kg 수준으로 배합하였다. 시험사료는 잣송이 부산물을 물리, 화학 및 생물학적 방법으로 가공 처리한 재료를 사용하여 시험구를 배치하였다. 시험구는 잣송이 부산물 분말 급여구(pine cone meal; PCM), 잣송이 부산물 익스트루전 가공 처리 사료 급여구(extruded pine cone meal; EPCM), 잣송이 부산물 활성물질 추출물 급여구(Activated pine cone meal; APCM) 및 잣송이 부산물 미생물 배양처리 사료 급여구(fermented pine cone meal; FPCM)로 하였다. 각 처리구의 첨가수준은 B구(PCM구)는 2.0% 수준, C구(EPCM구)는 2.8%, 및 D구(APCM 구)는 0.01% 수준으로 첨가하였다. 구체적인 배합상황을 보면 Table 1과 같다.

라. 사양관리

공시동물은 돈사 내에서 사육하였으며, 1주간 시험사료와 돈사 내 환경에 익숙토록 한 후, 본 시험을 실시하였다. 본 시험 기간 동안 사료와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다. 기타 사양 관리는 본 대학 관행법에 준하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료섭취량 및 증체량

시험기간 동안 개시시 및 종료시에 오전 10시에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시 체중에서 시험 개시시 체중을 감하여 총 증체량을 구하였다. 사료 섭취량은 1주 간격으로 급여량과 잔여량을 조사하였으며, 사료의 허실량은 정확도를 기하여 측정하였다.

2) 사료요구율

사료 효율은 전 시험기간 동안 체중 증가에 소요된 사료 섭취량의 비율로 구하였다.

Table 1. Feed formula of experimental diets

Ingredients	Grower				Finisher			
	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	A	B	C	D
Corn	34.8	34.46	33.03	34.75	43.5	42.60	33.03	34.75
Wheat	15.0	14.47	14.16	14.94	14.96	12.36	14.16	14.94
Wheat bran	1.0	0.97	0.95	1.09				
Grain screen pellet					2.0	2.25	2.47	2.62
Corn gluten meal		1.1	1.51			1.0	1.38	
Lupin seed meal	3	2.89	2.84	3	4.0	3.83	3.71	4.0
Soybean meal	31.48	30.34	29.94	31.49	21.80	19.66	18.60	21.97
Rape seed meal	1.0	0.96	0.95	1.0	2.0	1.91	2.0	2.0
Yellow Grease	3.7	4.0	4.09	3.7	3.40	3.59	3.74	3.62
Mollasses	4.0	3.85	3.81	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Cake meal	3.0	2.89	2.86	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Limestone	1.26	1.22	1.20	1.26	1.04	1.04	1.04	1.04
DCP	0.9	0.98	1.00	0.9	0.49	0.49	0.51	0.45
Salt	0.29	0.29	0.29	0.29	0.35	0.35	0.35	0.35
HCl-Lysin	0.15	0.15	0.15	0.15	0.135	0.135	0.135	0.135
dl-Methionine	0.045	0.045	0.045	0.045	0.02	0.02	0.02	0.02
Vitamin mixture	0.15	0.15	0.15	0.15	0.130	0.130	0.130	0.130
Mineral mixture	0.225	0.225	0.225	0.225	0.175	0.175	0.175	0.175
Pine cone meal		2				2		
Extruded PCM ⁵⁾			2.8				2.8	
Activated PCM				0.01				0.01
Total	100	100	100	100	100	100	100	100
Chemical Composition								
Crude protein(%)	20.88	20.88	20.88	20.88	17.88	17.87	17.87	17.87
Calcium(%)	0.79	0.79	0.79	0.79	0.60	0.61	0.63	0.60
Phosphorus(%)	0.58	0.58	0.58	0.58	0.46	0.45	0.45	0.45
ME(Kcal/Kg)	3210	3208	3206	3209	3234	3232	3237	3237

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded Pine cone meal 2.8%.

⁴⁾D= Extracted pine cone meal 0.01%. Mean ± SE

3) 도체분석 및 일반성분 분석

도체분석은 시험 종료시 각 처리구별로 5두씩 20두를 선발하여 도체중, 등지방두께, 도체

율을 측정하였다. 도체율의 측정은 돼지를 도살하여 내장, 발목, 머리, 혈액 및 털을 제거한 도체중을 생체중과의 백분율로 구하였다. 일반성분 분석은 A.O.A.C.(1990)의 방법에 의하여 실시하였다.

4) 혈액의 분석

혈액중의 콜레스테롤 함량은 공시축에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 공시시료를 조제하였으며 그 후 -40°C 의 냉동고에 보관하였다. 콜레스테롤 함량은 (주) 아산제약의 분석 kit를 이용하여 분석하였다.

5) 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 Minitab 통계프로그램(Minitab, 2005)의 One way ANOVA (analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

젓송이 부산물을 가공 처리하여 육성돈에게 급여할 때 육성성적에 미치는 영향을 분석하기 위하여 육성기(13-16주)와 비육기(17주-24주)로 구분하여 사양시험을 실시한 결과를 보면 Table 2, 3 및 4와 같다. 먼저 육성기 동안의 성적을 Table 2에서 보면 일당 증체량은 대조구의 0.96kg에 비하여 젓송이 부산물 가공처리구는 0.99~1.04 kg의 범위로서 다소 높은 증체를 보였으며,, 특히 익스트루전 가공처리구(C구)가 가장 높은 1.04kg의 증체를 보였으나 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

사료섭취량은 대조구의 2.17에 비하여 젓송이 부산물 처리구가 공히 2.15~2.12kg 범위로서 다소 적은 섭취를 보였으며, C구가 가장 적은 2.12kg을 섭취한 결과로 나타났으나 처리구간의 유의차는 나타나지 않았다.

사료요구율은 대조구의 2.26에 비하여 젓송이 부산물 처리구가 유의적으로 낮게 나타났으며, B구 및 D구는 2.16로서 4 % 정도 향상된 결과이고, C구의 사료요구율은 2.04로서 10% 향상된 결과이며 처리구에서 가장 좋은 사료효율을 보였다($p=0.043$).

비육기(17~24주령)의 성적을 Table 3 에서 보면, 일당 증체량은 육성기와 같이 대조구의

0.95kg에 비하여 잣송이 부산물 가공 처리구가 0.98~1.02kg의 범위로 나타나 유의적으로 ($p=0.036$) 증가하는 경향을 보였다. 사료섭취량은 대조구의 2.45kg 에 비하여 D구가 2.39kg으로서 가장 적은 섭취량을 보였고, B구의 2.52kg, C구의 2.49kg는 대조구에 비하여 다소 많은 사료섭취를 보였다.

사료요구율은 대조구의 2.58에 비하여 잣송이 부산물 가공 처리구가 공히 2.45~2.49로 나타나 다소 향상된 결과이나 유의적인 차이는 없었다.

한편, 육성기와 비육기를 합한 전체 육성성적을 Table 4에서 보면, 대조구의 증체량 0.95kg을 기준으로 볼 때, 잣송이 부산물 가공 처리구의 0.98~1.01 kg의 범위로 나타나 증체량이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 사료섭취량은 대조구의 2.36kg 에 비하여 2.31~2.39kg으로 나타나 전 시험구 공히 비슷한 사료섭취를 보여 잣송이 부산물 가공처리에 따른 사료섭취량에는 차이가 없음을 알 수 있다.

사료요구율은 동일한 사료섭취량에 증체량이 다소 많았던 잣송이 부산물 가공 처리구가 공히 높은 사료효율을 보였는데 즉, 대조구의 2.47에 비하여 B구는 2.36, D구는 2.35 및 C구의 2.33으로서 각각 사료효율이 4.5%, 4.8% 및 5.6% 향상된 결과를 보였다. 본 시험의 결과 잣송이 부산물을 익스트루전으로 가공 처리한 C구의 사료효율이 가장 높게 나타났다.

Table 2. Effect of various processing treatment of pine cone meal on pig performance in growing period.

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Initial body weight, kg	34.5	0.49	34.1	0.64	35.9	0.32	34.3	0.24	
Final body weight, kg	61.4	1.40	61.7	0.99	65.0	0.36	62.2	1.53	
Average daily gain, kg	0.96	0.03	0.99	0.01	1.04	0.01	0.99	0.02	0.065
Daily Feed intake*, kg	2.17	0.01	2.14	0.01	2.12	0.01	2.15	0.02	0.078
Feed/Gain	2.26 ^a	0.07	2.16 ^{ab}	0.04	2.04 ^b	0.03	2.16 ^{ab}	0.02	0.043

¹⁾A= Control

²⁾B= Pine cone meal 2%

³⁾C= Extruded pine cone meal 2.8%

⁴⁾D= Activated pine cone meal 0.1% Mean ± SE

Table 3. Effect of various processing treatment of pine cone meal on pig performance in finishing period.

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Initial body weight, kg	61.4	1.40	61.7	0.99	65.0	0.36	62.2	1.53	
Final body weight, kg	113.7	0.20	117.9	0.34	120.0	1.33	115.9	0.71	
Average daily gain*, kg	0.95 ^b	0.03	1.02 ^a	0.01	1.00 ^a	0.01	0.98 ^{ab}	0.01	0.036
Daily Feed intake*, kg	2.45 ^{ab}	0.02	2.52 ^a	0.02	2.49 ^a	0.03	2.39 ^b	0.04	0.048
Feed/Gain	2.58	0.05	2.46	0.04	2.49	0.03	2.45	0.07	0.268

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded pine cone meal 2.8%. ⁴⁾D= Activated pine cone meal 0.01% Mean ± SE. * ^{a,b} means in the same column with different superscripts differ.

Table 4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on pig performance in overall period.

Item	A ¹⁾		B ²⁾		C ³⁾		D ⁴⁾		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Initial body weight, kg	34.5	0.50	34.1	0.64	35.9	0.32	34.3	0.24	
Final body weight, kg	113.7	0.20	117.9	0.34	120.0	1.33	115.9	0.71	
Average daily gain*, kg	0.95 ^b	0.01	1.01 ^a	0.01	1.01 ^a	0.01	0.98 ^{ab}	0.01	0.003
Daily Feed intake*, kg	2.36	0.01	2.39	0.02	2.36	0.01	2.31	0.03	0.097
Feed/Gain	2.47 ^a	0.01	2.36 ^b	0.03	2.33 ^b	0.02	2.35 ^b	0.04	0.029

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded pine cone meal 2.8%. ⁴⁾D= Activated pine cone meal 0.01% Mean ± SE. * ^{a,b} means in the same column with different superscripts differ.

Table. 4. Effect of various processing treatment of pine cone meal on carcass characteristics of pigs

Item	A		B		C		D		P value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Live weight, kg	117.3	3.85	117.8	3.71	118.3	2.47	111.3	2.98	
Carcass weight, kg	92.0	3.02	92.4	2.91	92.8	1.94	87.3	2.33	
Carcass %	78.4	0.00	78.4	0.01	78.4	0.01	78.4	0.01	
Fat thickness, mm	24.9	2.99	24.1	1.46	24.2	0.56	22.5	1.26	0.807
Carcass grade*	3.50	0.29	3.75	0.14	3.97	0.17	4.17	0.17	0.183

¹A= Control. ²B= Pine cone meal 2%. ³C= Extruded pine cone meal 2.8%. ⁴D= Activated pine cone meal 0.01%. Mean ± SE* A grade=5 point. B grade=4 point. C grade=3 point. D grade=2 point

나. 도체성분 및 혈중 콜레스테롤

жат송이 부산물의 가공 처리하여 육성돈에게 급여하여 도체분석에 미치는 영향을 분석하기 위하여 각 처리구별로 각각 5두씩 20두를 선발하여 도체등급에 미치는 영향을 분석한 결과를 보면 Table 5와 같다. 도체중은 대조구의 92.0kg에 비하여 жат송이 부산물 처리구의 87.3~92.8의 범위로 나타나 대조구와 비슷하게 나타나 도체율은 공히 78.4% 차이가 없었다. 등지방 두께도 대조구의 24.9mm에 비하여 22.5~24.2mm 의 범위로 비슷하게 나타났다. 도체등급은 대조구의 3.50에 비하여 жат송이 부산물 가공 처리구가 다소 높은 3.75~4.17로 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 본 시험의 경우 D구가 4.17로 가장 좋은 도체등급을 보였다.

한편, 혈중 콜레스테롤함량(mg/dl)을 Table 5에서 보면 대조구의 79.8 에 비하여 жат송이 부산물 가공처리구도 73.3~81.9의 범위를 보여, жат송이 분말 처리구와 익스트루전 가공처리구가 낮아지는 경향을 보였으나, 추출 처리구는 다소 높게 나타났다. 전체적으로 볼 때 처리구간의 유의적인 (p=0.153)차이는 나타나지 않았다.

Table 5. Effect of various processing treatment of pine cone meal on blood cholesterol content in pig

Item	A		B		C		D		P Value
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
Blood cholesterol, mg/100 ml	79.8	1.2	74.9	1.7	73.3	2.3	81.9	3.2	0.153

¹⁾A= Control. ²⁾B= Pine cone meal 2%. ³⁾C= Extruded pine cone meal 2.8%.

⁴⁾D= Activated pine cone meal 0.01%. Mean ± SE

제 6 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

가. 잣송이 유래 생리활성제 개발

본 연구의 최종 목표는 잣송이 유래 생리활성 사료첨가물 및 천연환경개선제의 개발하여 지역 브랜드로서 정착시킬 수 있는 대안을 제시하고자 실시하였다. 따라서 본 연구팀은 본 연구과제의 연구 목적을 달성하기 위하여 3개의 세부과제로 나누어 서로 유기적인 협조하에 단계별 연구를 수행하였다. 제 1 세부과제에서는 잣송이 유래 생리활성 사료첨가물 개발하고 그것을 이용할 수 있는 제품을 개발하는 것이 주 목적이었다. 따라서 제 1차년도에는 잣송이 부산물로부터 생리활성 물질을 추출하고자 추출방법의 선별과 추출수율 및 추출방법에 따른 추출물의 성분을 파악하였으며, 본 연구과제에서 검토하고자 한 추출물의 기능성 성분의 특성 파악하고자 미생물학적 반응성 및 항균성에 대한 효능 평가를 실시하여 항균력을 입증하였다. 그러나 본 추출물을 추출하여 사료 첨가제로 이용하기 위해서는 추출 효율이 높고 추출용매가 구하기 쉽고 값이 싸야하지만 본 과제에서 검토한 바에 의하면 추출비용이 100ml 추출하기 위해서는 유기용매 사용량이 너무 많아 적절한 방법이 될 수 없다는 판단을 하였으며, 따라서 본 추출물을 이용한 제형화는 적합한 시도가 되지 않는다는 결론에 도달하였다. 따라서 2차 년도에는 추출물을 이용한 기능성 성분의 입증에 초점을 맞추어 검토하고자 하였다. 이에 semi-broiler를 이용한 장내 villi 성장 및 맹장내 미생물 성장 등을 조사하여 in vivo 항균력을 입증하였으며, 동시에 브로일러에 대한 콜레스테롤 및 지방산화 억제를 유도하여 고기의 품질을 향상시킬 수 있는 것에 대하여 입증하였다. 또한 유기사료에 항생제 대체효과를 검토하여 항생제 대체제로서의 가능성도 본 연구의 결과에 의해 가능성을 타진할 수 있었다.

나. 잣송이 부산물을 이용한 천연환경 개선제 개발

본 연구의 최종목표는 잣송이부산물을 이용하여 분뇨처리용 및 가축 급여용 천연환경개선제(환경개선제)을 개발하는데 있다. 잣송이부산물 환경개선제를 개발하기 위해 본 연구는

세 개 분야로 나누어 실험을 실시하였다. 실험 1에서는 잣송이 부산물을 이용한 환경개선제 생산 기술을 개발하여 분뇨처리용 및 가축급여용으로 활용할 수 있는 제품을 생산하는데 목적을 가지고 있다. 실험 2는 잣송이부산물을 이용하여 분뇨처리용 천연환경개선제를 개발하고 이를 실제적으로 돼지분뇨에 적용하여 그 효과를 규명하고자 실시하였다. 실험 3은 잣송이부산물을 이용한 환경개선제의 가축 급여용에 대한 임상실험을 실시하여 그 효과를 검토하고자 실시하였다.

실험 1에서는 잣송이 부산물 처리에 적합한 환경개선제를 개발하고자 입자도 선택, 미생물 배양조건 및 보조 부산물 첨가수준 등을 검토하여 생물학적 처리방법으로 환경개선제 생산기술을 개발하였다. 천연환경개선 생산을 위한 처리방법은 잣송이부산물에 탈지장 10% 및 당밀8%를 혼합하고 3종의 미생물을 첨가하여 48시간 동안 배양하여 생산하는 것이 우수한 것으로 나타났다. 실험 2에서는 생물학적 처리방법을 이용하여 개발한 환경개선제의 분뇨처리 효과를 규명하기 위해 톱밥 및 잣송이부산물에 돼지분뇨와 환경개선제를 처리하여 환경개선제의 효과를 검토하였다. 그 결과 돼지분뇨에 개발한 환경개선제를 혼합하여 퇴비화를 하면 암모니아, H₂S 및 Mercaptan 등의 악취 가스의 발생이 감소되고, 부숙과정 중 분해를 촉진하여 완속도를 촉진하였다. 또한 환경개선제는 퇴비의 부숙후 산소요구율을 낮추어 퇴비의 품질을 증진시키는 것으로 파악되었다. 최종적으로 환경개선제를 혼합한 퇴비의 품질은 지료공정규격의 그린 1급 퇴비보다도 우수한 것으로 밝혀졌다. 실험 3에서는 육계에 잣송이부산물 및 환경개선제를 급여하여 육성능력에 대한 효과를 규명하였다. 그 결과 환경개선제를 급여한 육계의 증체량 및 사료효율이 개선되었으며, 사료섭취량도 향상되는 결과를 얻었다.

이상에서 환경개선제는 육계의 육성능력, 돼지분뇨의 악취감소, 퇴비의 완속도 및 퇴비품질 등에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서 환경개선제는 가축의 급여용 및 분뇨처리용으로 활용도가 높을 것으로 기대된다.

다. 생리활성 및 환경개선제 효능검증

본 연구의 목표는 잣송이 부산물을 이용하여 제조된 생리활성제, 환경개선제 및 가공처리물을 원료로 가축을 대상으로 이용효율을 구명하는데 있다. 이를 위해 본 연구는 1) 잣송이 부산물의 급여수준별 이용효율을 분석하였고 2) 잣송이 부산물의 익스트루전(물리적가공) 성형 가능성과 적정 제조방법을 분석하였으며, 3) 잣송이 부산물의 가공처리물(생리활성제, 환경개선제 및 익스트루전 압출물)의 이용효율을 구명하고자 브로일러 및 육성비

육돈을 공시동물로 하여 육성성적에 미치는 영향을 분석하였다. 잣송이 부산물 수준별 성적에서는 잣송이부산물 2% 첨가가 가축의 육성성적 및 사료 효율면에서 향상되는 결과를 얻었다. 잣송이 부산물의 익스트루전 성형시험에서는 잣송이 부산물을 70% 수준까지 혼합하여 성형기술을 개발하였으며, 또한 처리온도 160℃ 에서의 수분용해도 지수가 크게 향상된 결과를 얻어 성형조건을 구명하였다. 또한 가공 처리물에 대한 사양시험 결과 첨가수준을 다양하게 설정하지 않아서 정확하게 이들 가공물질에 대한 평가는 할 수 없었으나 본 시험의 결과 대체적으로 잣송이 부산물을 가공 처리함으로써 육성성적 및 사료효율이 향상된 결과를 얻었다. 특히 익스트루전 가공처리구가 육성성적이 향상된 결과를 보였다. 또한 혈중 콜레스테롤이 낮아지고, 분 중 암모니아 함량도 감소되어 이들 가공물질을 사용함으로써 축사환경개선은 물론 고품질 축산물의 생산이 가능할 것으로 판단된다.

2. 관련분야에의 기여도

잣송이 부산물을 이용한 생리활성물질의 추출, 환경개선제의 개발 및 이들 제제에 대한 효능 검증시험이 완료됨으로서, 친환경적이고 청정 축산물을 생산하고자 하는 양축농가에 대한 축사환경 개선 및 고품질 축산물 생산을 위한 실무방법을 제공할 수 있으며, 이들 결과는 학계, 산업계 및 농가의 사료생산 및 축산분뇨 분야의 기술발전에 기여할 수 있는 학문적 기초를 제공할 수가 있다. 또한 항생물질에 의존하고 있는 축산생산 시스템의 획기적인 전환을 가져올 것으로 기대되므로 양축농가의 안정적인 축산물 생산과 소득증대에 대한 기여도는 클 것으로 사료된다. 관련 분야에 대한 기여도를 구체적으로 보면 다음과 같다.

- 1) 잣송이 부산물을 축산업에 이용함으로써 그 동안 방치되었던 잣송이 부산물의 사료자원 및 분뇨 처리원에 활용할 수 있는 이용방안을 마련하는 계기가 되었다.
- 2) 학계에 부산물 이용에 대한 관심도를 높이고, 농, 임산 부산물을 과학적이고 체계적으로 자원화 할 수 있는 기술개발에 대한 기초자료를 제공하게 될 것이다.
- 3) 본 연구를 통해 개발된 고기능성의 잣송이 유래 생리활성 추출물의 이용은 축산업에서 생리활성 추출물을 이용할 수 있는 새로운 개념의 축산업으로 발전할 수 있으며 이는 국민 건강에 일익을 담당할 수 있을 것으로 판단된다.
- 4) 축산 환경에 문제가 되는 악취발생을 억제하여 축산인과 민원인간에 악취에 대한 문제

를 감소하거나 해결할 수 있는 계기가 되어 축산발전을 도모할 수 있을 것이다.

- 5) 축사내 환경을 개선하는 효과로 가축의 사육성적의 개선과 병원성 미생물 등에 의해 발생하는 질병을 억제함으로써 가축의 폐사율이 감소하여 생산효율을 향상시켜 농가 소득 증대에 기여할 것으로 판단된다.
- 6) 잣송이 부산물에 존재하는 기능성 생리활성 물질을 이용함으로써 부산물로부터 기능성을 응용한다는 점에서 농업분야에서 첨단기술 개발의 기폭제로 작용할 수 있을 것으로 기대한다.
- 7) 본 생리활성 추출물이 항균성, 지방대사 조절 능력 및 항생제 대체효과가 입증됨으로서 well-being 현상에 입각한 소비자들의 축산물에 대한 인식을 바꿈으로서 기능성 브랜드로서의 효과를 창출할 수 있을 뿐만 아니라 지역 축산농가와 유통업계에 활력을 줄 수 있을 것이라 확신한다. 잣송이 유래 생리활성 추출물의 기능 및 시장성을 감안한다면 여기서 쌓인 know-how의 경제적인 기여도는 실로 엄청날 것으로 기대되며, 이로부터 파생 되는 고부가가치 생물 산업은 지역경제에도 상당한 역할을 담당할 것으로 판단된다.

제 7 장 연구개발결과의 활용계획

잣송이부산물을 이용한 사료첨가제 및 환경개선제의 개발로 인하여 양축농가에 직접 접목할 수 있는 자료를 확보하였으며, 이들 제제를 활용함으로써 축사환경개선, 가축질병예방, 사육성적 증진 및 청정 축산물의 생산에 응용할 수가 있다. 활용방안을 보면 다음과 같다.

1) 잣송이 가공에 관한 기술은 양축농가 및 영농조합 단위로 생산시스템을 구축하고, 행정기관 주도의 축산 기술지도 사업을 실시하여 개별 축산농가에게 적합한 생산방법을 선정하여, 교육, 지도하여 이들 제제의 사용량을 증대시킴으로서 활용도를 제고할 수 있다.

2) 현재 본 연구개발 결과는 참여기업의 협조에 의하여 실용화 단계에 있으나, 농가 보급형 위주로 기술을 개발하였기 때문에 실질적으로 참여기업에 이윤은 없는 것으로 나타났다. 단 본 과제의 기술개발로 인하여 지역 양돈 농가들은 참여기업으로부터 일반적인 돈가에 비하여 안정적으로 계약함으로써 년중 안정정인 농장을 경영할 수 있는 계기가 되었고, 또한 참여 기관인 화천군은 앞으로도 본 과제로서 개발된 브랜드 양돈을 화천군 양축농가에게 보급하여 지역 특화 브랜드로 계속 육성할 의지를 갖고 있다. 따라서 본 과제 개발로 인하여 참여기관의 경제적인 효과는 적었으나 지역농민과 지역 브랜드의 개발이라는 명분을 얻을 수 있었고, 참여기업은 기업 나름대로 항상 안정적인 브랜드 돈육을 공급받아 유통할 수 있다는 장점을 얻은 것이 무엇보다도 큰 수확이라고 판단된다.

3) 또한 본 과제 연구팀은 과제 결과의 지속적인 홍보를 위하여 노력할 것이고, 참여기관인 화천군 농림기술센터, 참여업체와 지속적으로 유기적인 관계를 유지하면서, 양축농가에게는 친환경 축산업의 권장, 활용을 유도하면서, 본 연구 결과물, 브랜드 돈육인 “자시라 포크”의 육성에 지속적으로 협조할 것이다.

제 8 장 참고문헌

1. 잣송이 유래 생리활성제 개발

AAFCO. 1969. Official publication of the Association of American Feed Control Officials incorporated.

Baricevic, D., Milevoj, L., and Borstnik, J. B. 2001. Insecticidal effect of oregano *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* Inter. J. Horticult. Sci. 7: 84-88.

Bird, H. R. 1969. Biological basis for the use of antibiotics in poultry feeds. Proc. Symp. NAS Washington DC. USA.

Caccioni, D. R., Guizzardi, L. M., Biondi, D. M. Renda, A., and Ruberto, G. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. Inter. J. Food Microbiol. 43:73-79.

Chantraine, J., Laurent M, D., Ballivian, C., Saavedra, G., Ibanez, R., and Vilaseca, L. A. 1998. Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phytother. Res.* 12:350-354.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L., and Vlietinck, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 79:213-220.

Greger, H., Zdero, C. and Bohlmann, F. (1986) Eudesmanolides and other terpenes from *Artemisia* species. *Phytochemistry* 25, 891-897

Hassanzadeh, M. K., Rahimizadeh, M., Bazzaz, B. S. F., Emarmi, S. A., and Assili, J. 2001. Chemical and antimicrobial studies of *Platycladus orientalis* essential oils. *Pharm. Biol.* 39:388-390.

Kameoka, H. and Miyazawa, M. (1980) The constituents of the essential oil from medicinal plants. *Koryo* 128, 1-20.

Keelman, M., Walker, K., and Thomson, A. B. R. 1985. Intestinal morphology, marker enzymes and lipid content of brush border membranes from rabbit jejunum and

ileum; Effect of aging. *Mech. Ageing Dev.* 31:49-68.

Kensuke Nabata, Jun Yonekubo and Motoo Miyake. (1986) Analysis of volatile constituents of european and Japanese oaks. *Mokuzai Gakkaishi* 32(11):921-927

Kim SK, Lee SC, Kang DK, Chung SH and Lee SP (1998) Essential oil content and composition of aromatic constituents in some medicinal plant. *Korean J. Plant Res.* 11, 279-282.

Kim, Y. Y. and Cho, Y. J. 2001. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition : 5. Effects of depolymerized alginate on body weight, organ, pancreatic and small intestinal composition, and small intestinal microvilli structure in rats. *J. Korean fish. Soc.* 34: 21-26.

Lee KW, Anton C. Beynen, Lee BD (2003) Effects of dietary essential oils on growth performance and cholesterol metabolism in chickens. *한국가금학회 제20차 정기총회 및 학술발표회*, p. 53-64.

Mirov, N. T. and P. M. Iloff. Jr. (1955) Composition of gum turpentines of pines. X X III.. A report on three Mediterranean species: *Pinus pinea*(cultivated in California), *P. halepensis*(from Israel) and *P. brutia*(from Cyprus). *American Pharmaceutical Association J. Sci. Ed.* 43:387-381

Mitsuyoshi Yatagai. (1984) Terpenes emitted from tree. *Mokuzai Gakkaishi* 30(2):190-194

Na, K. J., Kang, H. Y., Oh, J. H., Choi, I. G., Yun, Y. W., and Jeung, E. B.1998. The sedative effect of stress by essential oils purified from softwood. *Kor. J. Lab. Anim. Sci.*14:93-96.

Ohloff, G. and Giersch, W. (1980) Stereochemistry activity relationships in olfaction, Odorants containing a oroton donor / proton acceptor unit. *Hev. Chim. Acta.* 63(8):76

SAS. 1995. SAS user's Guide ; Statistics. Statistical Analysis System. Inst. Inc., Cary, NC.

spring, P. 1996. Effects of mannanoligosaccharide on different cecal parameters and on cecal concentration of enteric pathogens in poultry. Diss. ETH no.11897. ETH Zurich, Switzerland.

- spring, P. 1997. understanding the development of the avian gastrointestinal microflora : An essential key for developing competitive products. Institute anim. Sci. nutri. Bio. ETH Zurich, Switzerland.
- Stutz M. W. and Metrokotsas. M. J. 1972. Urease activity in the digestive tract of the chick and metabolism of urea. *Poult. Sci.* 51:1876(Abstract).
- Stutz, M. W. S. L. Johnson and F. R. Judith. 1983. Effects of diet, bacitracin, and body weight restrictions on the intestine of broiler chicks. *Poultry Sci.* 62:1626-1632.
- Sudria, C., Pinol, M. T., Palazon, J., Cusido, R. M., Vila, R., Morales, C., Bonfill, M., and Canigueral, S. 1999. Influence of plant growth regulators on the growth and essential oil content of cultured *Lavandula dentata* plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 58:177-184.
- Sugawara, Y., Hara, C., Tamura, K., Fujii, T., Nakamura, K., Masujima, T., and Aoki, T. 1998. Sedative effect on humans of inhalation of essential oil of linalool : Sensory evaluation and physiological measurements using optically active. *Anal. Chim. Acta.* 365:293-299.
- Takayuki Asada, Hiriyuki Kuroda and Kazuo Sumiya. (1988) Quantitative variation of monoterpenes in the foliage of *Thujopsis dolabrata* var. *hondai*. *Mokuzai Gakkaishi* 34(5):443-450
- Veze, M. and G. Dupont. (1922) Les constituants de la gemme de pin dalep. *Chimie et Industrie* 8:318-319
- 김용란. 안병기. 강창원. 김문수. 1999. 생균제(MS102)의 사료 내 첨가가 육계 성적과 혈중 콜레스테롤, 소장길이 및 장내균총에 미치는 영향. 건국대학교 축산대학 석사학위논문.
- 나기정, 강하영, 오종환, 최인규, 윤영원, 정의배 (1998) 침엽수종으로부터 분리된 정유의 스트레스 완화효과. *한국실험동물학회지* 14(1) : 93-96
- 나기정, 강하영, 윤신근, 정의배 (1999) 침엽수정유의 생물학적 효능. *한국실험동물학회지* 15(1) : 79-81
- 박성진, 유성오. 2000. 항상제, 생균제 및 호모제첨가가 육계의 성장과 육질에 미치는 영향. *한국가금학회지* p.203.

손정옥, 황병호 (1990) 主要 針葉樹 精油의 테르페노이드成分 分析(季節別 테르페노이드成分의 比較). 임산에너지, 제10권2호, p. 84-96.

손정옥, 황병호 (1990) 主要 針葉樹 精油의 테르페노이드成分 分析(樹種別 테르페노이드成分의 比較). 임산에너지, 제10권2호, p. 97-106.

이성숙, 강하영, 최인규 (2002) 수목 정유의 생리활성화에 관한 연구 (1) - 침엽수 잎 정유의 항균활성 - 목재공학, 제30권1호, p. 48-55.

이신호, 임용숙. (1998) 오미자(*Schizandra chinensis*)의 병원성 미생물에 대한 항균효과. 한국식품영양과학회지, 27, 239-243

최무영, 최은정, 이은, 임태진, 차배천, 박희준 (1997) 솔잎 추출물의 항균성 검색. 한국미생물생명공학회지, 제25권3호, p. 293-297.

황병호, 조국난, 권형일, 송정민 (1995) 海松의 솔잎과 솔방울의 Terpene 成分 分析. 임산에너지, 제15권1호, p. 23-26.

2. 잣송이 부산물을 이용한 천연환경 개선제 개발

Falcon, M., A.E. Corominas, M.L. Perez and F. Perestelo. Aerobic bacterial populations and environmental factors involved in the composting of agricultural and forest wastes of the canary islands. *Biological wastes*. 20:89-99. (1987).

John Gadd., Grant R. The spectre of pollution from animal excreta with special reference to pogg, *Biotechnology in the feed industry*, Nottingham University pp. 93-115 (1998)

Louhelainen, K., Kangas, J., Veijanen, A. and Viilos, P. 2001. Effect of In Situ Composting on Reducing Offensive Odors and Volatile Organic Compounds in Swineries. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 62(2): 159-167

Maccala, T. M., J. R. Patterson, and C. Leu-Hing, 1977, Properties of agricultural and municipal waste, *American Society of agronomy*, Ins. 9-43.

O. Hassoneh, A. Jamrah, K. Qaisi "Sludge stabilization by comsting: a jordanian case study" , *Bioprocess Engineering* 20, pp. 413-421 (1999).

Olesen. J, E. and Sommer. S G. 1993. Modeling effects of wind speed and surface cover on ammonia volatilization from stored pig slurry. *Atmospheric Environment*. 27:2567-2574.

경상대학교 농화학과. 순천대학교 농화학과. 경남농업기술원. 1999. 정치더미식(Static plles system) 퇴비화조를 이용한 하수슬러지 및 축분의 퇴비화과정중 이화학적 특성. 한국 환경과학회지 제8권(제4호), 509-514, 1999.

서울대학교 농생명공학부, 연세대학교 산업보건 연구소. 축분 퇴비화시스템 운용방식에 따른 실내 대기오염 평가. 동물자원지 : 46(2) 283-294, 2004.

9. 신시내티 대학교 환경보건학과. 서울대학교 농생명공학부. 한국방송통신대학교. 연세대학교 의과대학 산업보건연구소. 축분 퇴비화 과정 중 퇴비 부숙도를 고려한 암모니아 발생량 산정. 한국동물자원과학회지 48(1) 123-130. 2006.

축산기술연구소. 충남대학교 환경공학과. 축분 퇴비화과정 중 특성변화와 축분퇴비 이용 효과. 폐기물자원화, 제9권, 제1호, 2001 pp. 56-64

충남대학교 농학학과, 세미나스코리아. 2002. 고품질의 돈분 퇴비를 위한 합리적인 퇴비화 조건 개발. 폐기물자원화, 제10권, 제4호, 2002 pp. 112-117

충남대학교 농과대학 농화학과. 로타리 교반식 퇴비화에 의한 왕겨축분퇴비의 이화학적 변화. pp. 26-38, 1998.

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과 한국과학재단. 2003. 복합세라믹 담체를 이용한 돈분 퇴비화 연구. 폐기물자원화, 11권, 제2호, 2003 pp. 110-116

3.갓송이 부산물의 추출, 발효 및 가공처리에 의한 동물평가 시험

Alder, H. E. and Damassa, A. J. 1980. Effect of ingested Lactobacilli on Salmonella infantis and Escherichia coli and on intestinal flora, pasted vents and chick growth. Avian Disease 24:868.

Anderson. R. A., H. F. Conway, V. F. Pfeifer and E. L. Griffin Jr. 1969. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. Cereal Science. Today. 14:4-12

A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington. D.C.

Barrow, P. A. 1992. Probiotics for chickens. In R. Fuller(Ed). Probiotics: The Scientific basis. Chapman & Hall, London.

Cromwell, G. L., T. S. Stahly and H. J. Monegue. 1985. Efficacy of sarsaponin ponin for weaning and growing-finishing swine housed at two animal

- densities. *J. Anim. Sci.* 61(Suppl. 1):111.
- Goodall, S. R. and J. K. Matsushima. 1978. Sarsaponin in beef cattle rations. Pages 9-10 in *Beef nutrition research. Gen. Ser. 979. Colorado State Univ. Exp. Sta.*
- Johnston, N. L., C. L. Quarles, D.J. Fagerberg and D.D. Caveny. 1981. Evaluation of yucca saponin on broiler performance and ammonia suppression. *Poultry Sci.* 60:2289.
- Minitab. 2005. Minitab release 1.4. Minitab Inc. Korea
- Park, J. K.S. Rhee, B.K. Kim and K.C. Rhee. 1993. Effect of extrusion parameters on the quality of buckwheat flour mixes. *Cereal Chemistry.* 75:338-345
- Rowland, L. O. and J. E. Plyler. 1976. Yucca schidigera extract effect on egg production and house ammonia levels. *Poultry Sci.* 55:2086(abstract).
- Russel, J. B. 1984. The effect of sarsaponin on ammonia levels in rodent cages. *District & Convention Amer. Assoc. Lab. Anim. Sci.(abstr.)*
- Smith, H. W. 1975. Persistence of tetracycline resistance in pig *E.coli* *Nature:*258:628.
- Smith, H. W., 1962. The effects of the use of antibiotics on the emergence of antibiotic resistant disease producing organism in animals. *Antibiotics in Agriculture. Proceedings of the University of Nottingham. Ninth Easter Schools in Agriculture Science. Butterworth. London. p 374.*
- 김동은, 성재모, 김태웅, 심태흠, 양승기, 강위수. 2003. “동방향 이축 압출 성형기를 이용한 붉은자루 동충하초 가공 연구.”
- 김동은, 성재모, 강위수. 2005. “이축 압출 성형기를 이용한 붉은자루 동충하초의 압출 성형.”
- 김용갑, 정규능, Hirosh Ishi, Shigeru Muraki, 1986. 잣의 기성분에 관한 연구 *한국식품과학회지*, 18(2), 105-109.
- 김용훈, 이지훈, 최진수. 2002.“이축 압출 성형기를 이용한 붉은자루 동충하초 압출성형 기술개발.”
- 류기형, 2003. 압출성형공정을 이용한 식물성 단백질 조직화, 공주대학교 식품공학과 자료집

- 류기형, 2003. 압출성형의 원리와 압출성형기, 공정변수에 따른 원료의 변화, 공주대학교 식품공학과 자료집
- 이석원, 이철, 2000. 잣 구성 성분의 유화 및 유동 특성, 한국식품과학회지, 2(5), 1093-1101.
- 이재선, 송재모, 송정호, 배찬호, 한상억, 박유현, 허성두. 2002. 잣나무의 수형 조절(VI) - 간벌과 단간이 종자 생육과 종자 특성에 미치는 영향(제1보) 한국임학회지. 91(3) 247-253
- 이철호, 1995. 식품 Extrusion 기술 I, II 유림문화사
- 임용숙, 박경남, 배만중, 이신호, 2001, 병원성 미생물에 대한 소나무 추출물의 항균 효과. K growth. Avian Disease 24:868.
- 양재경, 강범국, 김태홍, 홍성철, 서원택, 최명석, 2002, 침엽수 잎으로부터 효율적인 정유추출법 탐색 및 정유성분 분석, 한국생물공학회지, 17(4) 357-364.
- 홍원택, 고경민, 이재곤, 장희진, 광재진. 2002. 소나무 잎 추출물의 휘발성 성분. Journal of Korea Society of Tobacco Science, 24(1) 53-59.