

(옆면)

(앞면)

RS-2023
-821035
-3

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
기술사업화지원사업 2023년도 최종보고서

단
위
가
축
용
과

다
목
적
복
합
생
균
제
를
활
용
한

2024

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

발간등록번호

11-1543000-004697-01

단위가축용 사료첨가제의 상용화

2024.07.29.

주관연구기관 / 건국대학교 산학협력단
공동연구기관 / (주) 하농

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제의 상용화”(개발기간 : 2021.04.01. ~ 2023.12.31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2024. 07. 29.

주관연구기관명 : 건국대학교 산학협력단 (대표자) 이흥구 (인)
공동연구기관명 : (주) 하농 (대표자) 최주철 (인)

주관연구책임자 : 김수기
공동연구책임자 : 최주철 (인)



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

사업명	기술사업화지원사업	총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)	-				
내역사업명 (해당 시 작성)	[공공기술 사업화촉진] 축산	연구개발과제번호	821035-3				
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB0606 동물 사료/조사료	40%	LB0507 농업자원 활용	40%	3순위 소분류 코드명	20%
	농림식품 과학기술분류	AB0201 동물 영양·사양	40%	CA0105 기능성 소재	40%	3순위 소분류 코드명	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	-						
연구개발과제명	난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제의 상용화						
전체 연구개발기간	2021. 04. 01 - 2023. 12. 31(2년 9개월)						
총 연구개발비	총 990,000천원 (정부지원연구개발비: 742,500천원, 기관부담연구개발비 : 247,500천원, 지방자치단체: - 천원, 그 외 지원금: - 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[V] 개발[] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]	기술성숙도 (해당 시 기재)			착수시점 기준() 종료시점 목표()		
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	폐자원 난각분말, 오미자박, 당밀과 복합생균제를 활용한 친환경 신소재 사료첨가제의 개발 및 단위가축용 기능성 사료첨가제로의 상용화					
	전체 내용	<ul style="list-style-type: none"> • 난각분말에서의 유용 생균 후보 분리 - 난각분말 복합사료첨가제 제조를 위한 유용 미생물의 분리 및 동정 • 유용 생균 후보 균주의 in vitro 효능 검증 - 난각분말에서 분리한 미생물의 항균 등 생리활성 검증 - 사료첨가제 제조에 첨가할 유용 미생물 선정 • 난각분말에 흡착한 복합생균제의 제조 및 유용 생균의 생존성 평가 - 난각분말에서의 생균제 생존성 평가 - 생균제의 단계별 접종 방법 확립 • 난각분말, 발효오미자박 및 당밀의 혼합비율 결정 및 시제품 제작 - 난각분말, 오미자박 및 당밀의 최적 혼합비율 결정 - 난각분말의 입자도에 따른 생균제의 생존성 조사 - 확립된 제조 공정을 통한 시제품 대량생산 - 시제품의 안정성 평가 (생균수, 수분함량, 보존성 등) • 가금 (육계, 산란계) 실험 및 효과 검증 - 가금의 생산성, 축산물 품질 및 체내 이용 안정성 등 평가 - 최적의 가금용 사료첨가제 첨가량 제시 - 육계 농가 현장 실증실험 (2개 농장, 3회 반복/농장) - 산란계 농가 현장 실증실험 (3개 농장 5주 현장 실증실험) • 양돈(이유자돈, 육성돈) 실험 및 효과 검증 - 돼지의 생산성, 축산물 품질 및 체내 이용 안정성 등 평가 - 최적의 양돈용 사료첨가제 첨가량 제시 - 이유자돈, 비육돈 농가 현장 실증실험 (2개 농장) • 단위가축용 사료첨가제의 상용화 - 제조기술 및 시제품의 기능성에 대한 홍보(국내외 저명 학술지 논문 게재, 특허출원 및 등록, 전문잡지, 전시회 참가) - 국내 농가, 관련 산업 종사자 교육 실시 - 축산 농가, 사료 업체로의 홍보 및 보급 					

연구개발 목표 및 내용	1단계 (1, 2차년도)	목표	난각분말을 활용한 복합 사료첨가제의 개발 및 가금 (육계, 산란계) 첨가 효과 검증
		내용	<ul style="list-style-type: none"> • 사료첨가제 제조를 위한 생균제의 확보 및 기능성 검증 • 난각분말 내 복합 유용 미생물을 적용하기 위한 단계별 접종법 개발 • 난각분말, 오미자박, 당밀 및 생균제의 최적 혼합 비율 및 난각분말 입자도 제시 • 난각분말 복합 사료첨가제의 기능성 분석 • 난각분말을 이용한 사료첨가제 시작품 개발 • 생산된 시제품의 품질 보존성 검증 • 가금(육계, 산란계) 사양실험 및 결과 분석 • 가금(육계, 산란계) 농가에서의 난각분말 복합 사료 첨가제의 효과 실증검증 • 개발된 제품의 홍보
	2단계 (3차년도)	목표	난각분말 복합 사료첨가제의 양돈 (이유자돈, 육성돈) 첨가 효과 검증 및 제품 상용화
		내용	<ul style="list-style-type: none"> • 양돈 (이유자돈) 사양실험 및 결과 발표 • 양돈 (이유자돈, 육성돈) 농가에서의 난각분말 복합 사료첨가제의 효과 실증 검증 • 특허 출원·등록, 기술 홍보 추진 • 난각분말 활용을 통한 기대효과 분석 • 개발된 제품의 홍보

연구개발성과	1. 학술성과 ‘SCI’ 논문		
		저널명 : scientific reports 저자 : Woo-Do Lee, Damini Kothan, Kai-Min Niu, Jeong-Min Lim, Da-Hye Park, Jaeun Ko, Kidong Eom & Soo-Ki Kim 게재일 : 2021.06.24. 논문명 : Superiority of coarse eggshell as a calcium source over limestone, cockle shell, oyster shell, and fine eggshell in old laying hens	
		저널명 : animals 저자 : Moon, S. G., Kothari, D., Lee, W. D., Kim, J. I., Kim, K. I., Kim, Y. G., Ga, G. W., Kim, E. J., Kim, S. K. 게재일 : 2022.06.06 논문명 : Potential Probiotic Acceptable of a Novel Strain of Paenibacillus konkukensis SK3146 and Its Dietary Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota, and Meat Quality in Broilers	
		저널명 : animals 저자 : Lee, W. D., Kothari, D., Moon, S. G., Kim, J. I., Kim, K. I., Kim, Y. G., Ga, G. W., & Kim, S. K. 게재일 : 2022.10.12 논문명 : Evaluation of Non-Fermented and Fermented Chinese Chive Juice as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters of Broilers	

2. 학술발표



학술대회명 : 한국축산학회
 장소 : 온라인
 일시 : 2021. 07. 08
 발표자 : 이우도, 김종일, 김경일, 문승규, 코타리 다미니, 김수기
 발표 제목 : Effects of dietary eggshell powder as a calcium source on growth performance, meat quality, blood parameters, and tibia characteristics in broilers



학술대회명 : 한국 축산학회
 장소 : 온라인
 일시 : 2021. 07. 08
 발표자 : 김경일, 이우도, 김종일, 문승규, 코타리 다미니, 김수기
 발표 제목 : Effect of dietary supplementation of fermented Chinese chives (*Allium tuberosum*) on laying performance, egg quality, egg storage, blood characteristic



학술대회명 : AAAP
 장소 : 제주 ICC 국제컨벤션센터
 일시 : 2022. 08. 23-2022. 08. 26
 발표자 : 김솔희, 문승규, 전상우, 왕연칭, 온정연, 최민경, 김수기
 발표제목 : Supplementation effects of feed additive containing multi-probiotic strains and *Schisandra chinensis* combined with eggshell in broilers



학술대회명 : 한국가금학회
 장소 : 대전 IBS 과학문화센터
 일시 : 2022. 11. 03-2022. 11. 04
 발표자 : 김솔희, 전상우, 최민경, 온정연, 왕연칭, 상일강, 김수기
 발표제목 : Supplementation effects of feed additive containing multi-probiotic strains and *Schisandra chinensis* by-products combined with eggshell in laying hens



학술대회명 : 한국생명과학회
 장소 : 산청세계전통의약항노화엑스포
 일시 : 2023. 10. 05
 발표자 : 조항설, 김솔희, 왕연칭, 상일강, 김수기
 발표제목 : Supplementation effects on bone condition by feed additives composed of eggshell powder and multi-probiotics in laying hens

3. 홍보 성과



농기자재신문 (2021. 09. 08)



라이브팜뉴스 (2021. 08. 31)



축산경제신문 (2021. 08. 27)



한국농촌경제신문 (2021.08.31)



스마트양계 (2021. 09. 01)



제품 홍보 및 실문지 팜플렛

연구개발성과



2021 한국국제 축산박람회 (대구)



2021 난각생균제 홍보영상



2021 난각생균제 제품포장 디자인



월간양계 (2022.10)



월간닭고기 (2022.10)



월간폴트리 (2022.10)



스마트양계 (2022.10)

연구개발성과



한국국제축산박람회 (2022)



스마트 축산 K-FARM 페어 (2022)



한국홀스타인품평회 (2023)



한국국제축산박람회 (2023)



월간양계 (2023. 12)



양돈 밴드 광고 (2023)

4. 특허출원



출원일자 : 2024.02.14.

출원번호 : 10-2024-0020884

출원인 명칭 : 건국대학교 산학협력단

발명의 명칭 : 난각분말, 오미자박 및 생균제를 포함하는 육계용 사료첨가제 조성물



출원일자 : 2024.02.14.

출원번호 : 10-2024-0020805

출원인 명칭 : 건국대학교 산학협력단

발명의 명칭 : 이유자돈사 약취저감, 장내균총 및 골밀도 개선용 난각생균 혼합물 사료첨가제

5. 고용 창출



(주) 하농 (이용현)



(주) 하농 (조향숙)



(주) 하농 (최정운)

연구개발성과

(주) 하농 (전희라) (주) 하농 (박남숙) (주) 하농 (심옥희) (주) 하농 (홍진주)

(주) 하농 (박영란) (주) 하농 (선유화)

연구개발성과 활용 계획 및 기대 효과

- 연구개발결과의 활용계획
 - 폐자원인 난각분말의 재 활용을 통한 자원화 창출
 - 천연물 (난각분말, 오미자박, 생균제, 당밀) 이용 단위가축용 기능성 사료첨가제 개발
 - 복합 사료첨가제 제조를 위한 단계별 미생물 접종법 제시
 - 관련 농가, 산업의 보급을 통한 기술 상용화
 - 단위가축용 기능성 사료첨가제 외 다양한 축종으로의 적용 가능성 제시
 - 경제적 제품개발 공정, 복합생균제 활용 기술을 참여기업에 기술이전
 - 천연물 기능성 사료첨가제 개발 응용 연구에 기술 및 데이터 제공
- 기대 효과
 - 기능성 사료첨가제 제조 기술력 확보, 제조공정 확립
 - 난각분말의 자원화 및 고부가 가치화 달성
 - 신개념 단위가축용 기능성 사료첨가제 개발 및 타 제품 개발으로의 응용 가능
 - 단위가축 외 다양한 축종으로의 적용 가능성 제시
 - 국내 가축용 사료첨가제 개발의 연구역량 향상
 - 수입에 의한 해외 의존도 저감, 제품 수출을 통한 국가 경쟁력 향상
 - 폐기물을 활용함으로써 발생하는 환경 문제, 경제적 손실 해소
 - 국내 사료첨가제에 대한 소비자 인식제고 및 신뢰도 향상

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화학물	신제품	
								생명 정보	생물 자원			정보
	3	2										
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	난각분말		생균제		단위가축		사료첨가제		상용화			
영문핵심어 (5개 이내)	Eggshell powder		Probiotics		Monogastric livestock		Feed additives		Commercialization			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요.....	11
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용.....	15
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도.....	35
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성).....	94
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도.....	95
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획.....	95
별첨 자료.....	96

최종보고서										보안등급 일반[V], 보안[]	
중앙행정기관명		농림축산식품부				사업명		기술사업화지원사업			
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원				사업명 내역사 업명 (해당 시 작성)		[공공기술 사업화촉진] 축산			
공고번호		제 농축2021-41호				총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		-			
						연구개발과제번호		821035-3			
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0606	40	LB0507	40	LB1702	20				
	농림식품과학기술분류	AB0201	40	CA0105	40	PA0102	20				
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문		영문							
연구개발과제명		국문		난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제의 상용화							
		영문		Commercialization of feed additives using egg shell powder and multipurpose probiotic complex							
주관연구개발기관		기관명		주소		사업자등록번호		법인등록번호			
		건국대학교 산학협력단		(우)05029		206-82-07325		240171-0007625			
연구책임자		성명		김수기		직위		교수			
		연락처		직장전화		휴대전화		국가연구자번호			
		전자우편				1011-6063					
연구개발기간		전체		2021. 04. 01 - 2023. 12. 31 (2년 9개월)							
		단계		1단계		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31 (1년 9개월)					
				2단계		2023. 01. 01 - 2023. 12. 31 (1년 0개월)					
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				연구개발 비외 지원금	
		현금		현금		현물		현금		현물	
총계		742,500		9,000		238,500		-		-	
1단계		1년차		202,500		-		67,500		-	
		2년차		270,000		-		90,000		-	
2단계		1년차		270,000		9,000		81,000		-	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편	
		공동연구개발기관		(주) 하농		최번영		이사			
		위탁연구개발기관									
		연구개발기관 외 기관									
연구개발담당자 실무담당자		성명		박정현		직위		대학원생			
		연락처		직장전화		휴대전화					
		전자우편				국가연구자번호					

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024년 2월 28일

연구책임자: 김수기

주관연구개발기관의 장: 건국대학교 산학협력단장 이홍구 (직인)
공동연구개발기관의 장: (주) 하농 대표이사 최주철 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



1. 연구개발과제의 개요

- 항생제는 가축의 생산성 향상을 위하여 오랫동안 사용되어왔으나 잔류의 위험성으로 이를 대체할 수 있는 신규의 단위동물 성장 촉진 효과를 가지는 사료첨가제의 개발이 필요함
- 항생제를 사용하지 않는 유기 혹은 무항생제 축산물에 대한 소비자 수요가 증가하고, 안전 축산물 생산에 대한 관심이 집중되고 있는 실정에서 사료효율개선, 성장촉진, 질병 예방, 고품질축산물 생산 등의 기대로 probiotics+prebiotics+phytogenics를 혼합한 다기능 사료 첨가제에 대한 수요가 농가 현장 및 사료공장에서 급증하고 있으나 개발이 미미함
- 2020년에 ‘난각분말을 포함하는 생균제’ 특허를 주관연구개발기관인 건국대학교에서 공동 연구개발기관인 (주) 하농으로 기술이전을 하였으며, 본 사업을 통하여 상용화하고자 함

1) 폐자원 난각 분말의 활용 필요성

- 국내에서 배출되는 난각은 2016년 기준으로 연 9만 톤에 이르지만, 재활용되는 난각의 양은 매우 적으며 대부분은 폐기물로 분류되어 일반쓰레기로 배출되고 있는 상황임. 국내에 난각 분말을 처리할 수 있는 시설이 있지만 처리비용이 많이 들고 환경적 문제가 발생 되어 다방면으로 피해 및 손실이 발생함 (월간양계, 2016)
- 최근 국내외 식품(난가공) 공장 및 난각칼슘 제조공장에서 폐기되고 있는 자원인 난각칼슘을 활용하기 위해서 많은 연구가 진행되고 있음. 난각의 약 97%는 칼슘 (주로 탄산칼슘)이 차지하고 있고 산업에서 쓰이는 탄산칼슘염보다 열 내성이 뛰어나 대체 의약품 부형제로 사용될 수 있음이 보고됨 (Hunton, 2005; Murakami 등, 2007)
- 난각을 구성하는 calcium carbonate는 석회화 단계에서 난각에 약 5~6g이 석회질 형태로 침착되며(Bar 등, 2009), 난각을 구성하는 주요 미네랄은 Ca^{2+} , P^{-} , Na^{+} , K^{+} , HCO_3^{-} , Mg^{2+} 등이 있으며, 이 성분들은 산란계 및 육계 성장에 요구되는 무기질 영양소 항목에 부합됨

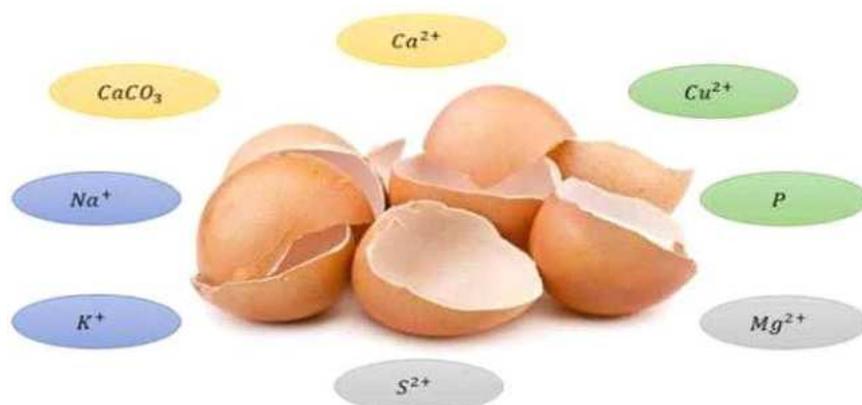


그림. 난각분말 내 함유된 주요 미네랄 성분

표. 백색, 갈색, 난각분말의 화학적 성분 분석

Item	Color	White eggshell powder	Brown eggshell powder
Moisture(%)		0.46	0.20
Protein(%)		3.92	5.04
Ash(%)		94.61	94.28
Fat(%)		0.35	0.08
Calcium(%)		34.12	33.13
Magnesium(%)		0.29	0.36
Phosphorous(%)		0.04	0.07
Potassium(%)		0.03	0.04
Sodium(%)		0.05	0.04
Copper(%)		<1ppm	<1ppm
Iron(ppm)		22ppm	<1ppm
Manganese(ppm)		<1ppm	<1ppm
Zinc(ppm)		<1ppm	<1ppm

출처: (Content of egg shell powder. WIPO International Bureau 2013)

- 가금 사료 내 칼슘공급원으로써 난각분말의 적용은 생균제의 보존성을 상승시키면서 가금의 사료섭취량, 생산성, 생리적 이용에 문제없이 사용 가능하며, 계란품질, 혈액성상, 골격형성 등 체내에 긍정적인 영향을 주는 것으로 보고되었음 (이 등, 2021)
- 따라서 폐자원인 난각분말을 활용한 사료 첨가제 개발은 경제적 손실, 환경오염 방지 등 개선시킬 뿐만 아니라, 나아가 육계, 산란계 외 양돈, 축우 등 가능성 천연 물질로써 난각분말의 고부가가치화 및 수익 창출이 가능함

2) 축산 사료첨가제용 유용미생물 (Probiotics)의 중요성

- 생균제는 ‘생명을 위하여’라는 그리스 말에서 유래했으며 동물의 소화관 내에서 장내 미생물의 균형을 개선시키고 유익한 영향을 주는 살아있는 미생물의 단독 또는 혼합균주를 말함. 현재 주요한 생균제로 사용하고 있는 것은 유산균(LAB), 바실러스(Bacillus) 및 효모(Saccharomyces) 등이 있음 (김, 2017)
- 생균제는 장내세균총의 변화를 유도하고 병원성 대장균을 감소시키며, 항생물질을 생성하고, 병원성 미생물이 소화관 장벽에 부착, 정주하여 집락을 형성하는 것을 방지하여 성장촉진과 사료효율의 개선효과가 있음 (김 등, 2011)
- 생균제로 사용되는 박테리아는 대부분 탄수화물을 에너지원으로 이용하기 때문에 최종 대사산물로 lactic acid를 생산하며, 이러한 박테리아는 유기산, bacteriocin 등의 항균물질을 생산하여 가축의 체내에서 항균작용을 하게 됨 (김, 2007)
- Lactic acid bacteria는 bacteriocin이라는 물질을 분비하며, 이 펩타이드는 유제품의 보존과 발효 시 유해 박테리아의 성장을 방해함. 따라서 산성의 pH를 제외하고도 lactic acid bacteria는 분비하는 단백질을 이용하여 병원성 미생물의 결착과 성장을 방해할 수 있음을 보여줌 (Asa 등, 2006)
- Lactic acid bacteria는 종별로 분비하는 bacteriocin이 다양하며, Lactobacillus의 경우 sakacin, curvacin, plantaricin, acidocin, bavaricin 등을 분비함 (Tengku 등, 2013)

- Lactic acid bacteria가 생산한 유기산은 pH를 낮춰 유기산을 지용성으로 만들고, 병원성균의 세포막을 파괴하여 성장을 방해함. 또한 유기산 중 lactic acid, acetic acid, phenyllactic acid는 항곰팡이 활성과도 관련이 있음 (Sezen 등, 2016)
- 생균제로 사용되는 Bacillus 종은 포자를 형성하며, 포자를 형성하지 않는 유산균 생균제에 비해 많은 장점이 있음. 포자를 형성하는 간균 생균제는 건조 상태로 실온에 보관이 가능하며, 장 내 낮은 pH 환경에서도 살아남을 수 있어 가축의 성장을 쉽게 촉진시킬 수 있음 (Simon M.Cutting, 2011)
- 생균제를 가축에 적용한 사례와 그 효과는 아래와 같음

표. 생균제의 가축 적용 사례 및 효과

가축	생균제	효과	참고문헌
가금	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	육계 사료내 생균제의 첨가는 암모니아태 질소의 발생량을 감소시키는 것으로 사료됨	권 등, 2002
	<i>L. plantarum</i> , <i>B. subtilis</i> 및 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 등 복합생균제	소장 점막세포에서 체액성 면역작용을 증강하고 유익균 증식과 유해균의 억제작용이 나타남. 분종의 유해가스 발생을 억제	김 등, 2020
	<i>L. plantarum</i>	산란계 급여 시, 생산성 및 장내 유익균총 개선, 병원체 증식 억제, 소화율 향상	Alloui 등, 2013; Loh 등, 2014; Yörük 등, 2014
돼지	<i>Bacillus</i> , <i>Saccharomyces</i> , lactic acid bacteria	성장 증진, 소화율 증가, 대장균 수 감소	Hoang 등, 2011
	<i>Lactobacillus reuteri</i> ZJ625, <i>Lactobacillus reuteri</i> VB4, <i>Lactobacillus salivarius</i> ZJ614, <i>Streptococcus salivarius</i> NBRC13956	일일 체중 증가, 성장 성능, 혈액 지수 및 immunoglobulin G 에 유익한 영향	Dlamini 등, 2017
소	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> 혼합	육우의 스트레스 감소, 체중 증가	Alexis 등, 2018
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	분변 내 대장균 O157 감소	Wisener 등, 2015

3) 신소재 복합사료첨가제의 효과

*부형제와 생균제를 복합 사용하였을 때 나타나는 효과와 연구 사례는 아래와 같음

- Alginate, pectin, cellulose nanocrystal을 이용한 부형제를 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC9595 생균제와 혼합하여 생존성을 확인한 결과, 각각의 물질을 따로 이용하였을 때보다 생균제의 생존율이 더 높았을 뿐만 아니라 균의 저장 안정성 또한 개선되는 것으로 확인됨 (Huq 등, 2016)
- 녹차 추출물과 생균제를 혼합하여 *Staphylococcus aureus* 및 *Streptococcus*

*pyogenes*에 대한 항균활성을 측정한 결과 4시간 만에 병원성 미생물의 생존성을 현저히 떨어트렸고, 24시간 후에는 완전히 사멸시킴 (Su 등, 2008)

- 생균제와 plant sugar cane fibre (PSCF)를 혼합하여 쥐에게 급여하였을 때, 질병 예방 등 체내에 유의적으로 긍정적인 효과를 나타내었음 (Shinde 등, 2019). 가금의 경우, 식물 화합물과 혼합된 생균제는 각각의 물질을 단독으로 급여했을 때보다 맹장 내 유산균의 수가 더 높은 것으로 보고됨 (Ren 등, 2019)
- 오미자 무게의 70%로 발생하는 오미자박은 항산화, 항균, 항염증 및 무독화 효소 활성화에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 그 중 schizandrin 등 리그난 (lignan) 및 여러 기능성 물질은 과육보다 부산물에 많이 함유된 것으로 보고되고 있음 (박과 이, 2017). 또한 본 연구진은 오미자박에서 가금 시에 대한 항바이러스 효능이 있음을 발표함 (Lee 등, 2008). 특히, 높은 함량의 페놀 화합물은 항산화 활성, 항암, 항바이러스, 항염증 및 혈관보호 기능이 우수하여 다양한 생리활성을 나타내며, 그람양성균과 그람 음성균에 대하여 우수한 항균활성을 가진다는 사실이 밝혀짐 (Choi 등, 2013)

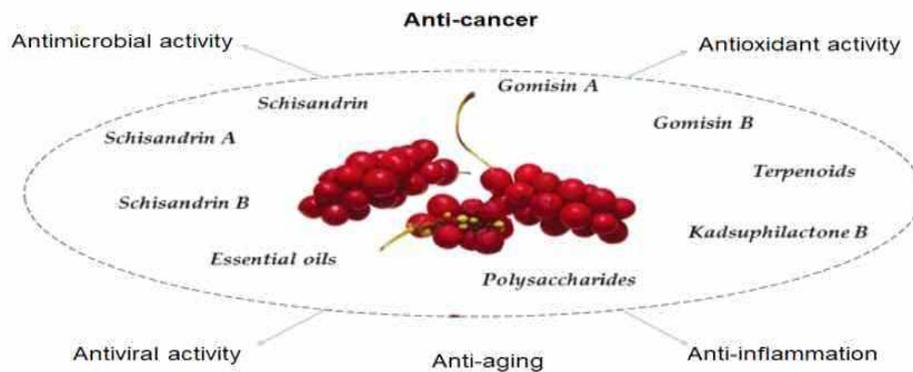


그림. 오미자의 다양한 생리활성

- 최근 가축의 사료첨가제 중 probiotics, prebiotics 및 phyto-genics (식물유래 기능성물질)를 복합으로 사용한 사료첨가제 적용에 관한 논문들이 다양하게 보고되고 있음 (Hazrati 등, 2020; Gadde 등, 2017). 본 연구에서는 난각분말에 phyto-genics로 발효 오미자박을 첨가하고 또한 미생물의 성장과 보존을 증대시키기 위하여 prebiotics로 경제적 원료인 당밀을 첨가하여 이용하고자 함 (Sharma 등, 2016; Sueree 등, 2018)
- 따라서 본 연구에서는 폐자원으로 버려지고 있는 사료자원인 난각분말과 기 확보한 유용미생물을 활용함으로써 천연 신소재 복합 사료첨가제를 개발하고자 함. 또한 개발된 사료첨가제에 대하여 가금, 양돈에 대한 대학 시설에서의 정밀 사양실험 (주관연구개발기관) 및 축산 농가를 통한 현장실증 실험(공동연구개발기관) 을 동시에 수행하여 그 효능을 제시하고자 함. 연구와 동시에 시 작품의 홍보와 농가 보급을 통해 난각분말과 부존자원인 오미자박을 이용한 새로운 사료첨가제를 상용화하여 고부가 가치화하고자 함

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

* 연구개발과제의 단계별 목표

구분 (연도)	수행 기관	연구 목표	수행 내용
1차년도 (2021)	건국 대학교	친환경 신소재 사료첨가제 개발을 위한 원료의 확보방안 및 안전성 검증	국내 난각분말, 오미자박의 수급 경로 파악 및 확보 방안 확립 생산 지역, 전처리 등 첨가 원료의 안전성, 균일성 검증
		사료첨가제 제조를 위한 생균제의 확보 및 기능성 검증	복합 사료첨가제 제조를 위한 유용 복합미생물의 선별 복합 미생물의 생리활성 측정 (항균, 항바이오필름, 항산화, 생존성 등)
		난각분말 등 사료첨가제 재료 내 복합유용미생물의 생존 특성	오미자박, 당밀 등 재료의 영양성분 분석
			난각분말 등의 첨가에 따른 미생물의 생존 특성 검증
		난각분말 및 생리활성물질 재료의 최적 혼합 비율 결정	난각분말과 multibiotics 포함 혼합물에서 미생물 최적 배양 및 보존 조건 확립
			난각분말, 오미자박, 당밀 및 생균제의 첨가 비율 결정
		난각분말 복합 사료첨가제의 제형화 및 보존성 분석	사료첨가제의 고상 제형화 (수분 10%이하) 개발된 제품의 기능성 분석 (생리활성, 생균제의 보존성 등)
	(주) 하농	신규 단위 가축용 사료첨가제 시제품 제작	사료첨가제 대량생산을 위한 제조공정 연구, 확립
			시작품 제작, 농가현장 기호성 조사 및 애로사항 파악으로 제품 보완
			제품 생산 시 단가, 소요 시간 등 경제성 분석
		생산된 시제품의 품질 보존성 검증	보관 온도 및 기간에 따른 제품의 품질 변화 분석
			생산된 제품의 영양학적 분석
			제품의 수분함량 및 생리활성 측정

구분 (연도)	수행 기관	연구 목표	수행 내용
2차년도 (2022)	건국 대학교	가금(육계) 사양실험 및 결과 분석	육계에서의 급이 안전성 검증
			육계의 생산성, 육질 평가, 장내 특성, 혈액성상 분석
			첨가제의 첨가량에 따른 급이 효과 비교분석
			첨가제의 최적 첨가량 확립
	가금(산란계) 사양실험 및 결과 분석	산란계에서의 급이 안전성 검증	
		산란계의 생산성, 난질 평가, 장내 특성, 혈액성상 분석	
		첨가제의 첨가량에 따른 급이 효과 비교분석	
		첨가제의 최적 첨가량 확립	
	(주) 하농	양계 농가에서의 난각 분말 복합 사료첨가제 의 효과 실증 검증	육계 (2개 농장, 3회 반복) 현장 실증실험 (생산성, 생리활성 및 계육분석)
			산란계 (2개 농장, 5주) 현장 실증실험 (생산성, 생리활성 및 난질분석)
난각분말을 이용한 사 료첨가제 시작품 개발		가금의 실험결과에 따른 난각분말 복합 사료첨가제 제 조 및 포장	
개발된 제품의 홍보		가금 농가 및 사료회사로의 홍보, 보급 개발된 제품의 기능성 홍보 (전문잡지, 전시회 참가 등)	
3차년도 (2023)	건국 대학교	양돈 사양실험 및 결 과 발표	이유자돈에서의 급이 안전성 검증
			이유자돈의 성장, 육질평가, 장내 특성, 혈액성상 분석
			첨가제의 첨가량에 따른 급이 효과 비교분석
			첨가제의 최적 첨가량 확립
	특허 출원·등록, 기술 홍보 추진	연구결과를 토대로 특허 출원 및 등록 추진	
		국내외 학술발표 및 논문 게재	
		축산농가 등 기술홍보 교육	
		결과보고서 작성	
	(주) 하농	배합비 보완	- 아미노산 보완을 위해 CJ바이오 기술팀과 미팅을 가 져 BCAA 아미노산을 보완 - 자돈의 위장 내 pH 환경을 고려하여 구연산을 첨가
		필드테스트 진행	이유자돈(금산 영진한돈농장), 포유모돈(안성 해돈), 육 성비육돈(파주 형제농장) 필드테스트를 진행함
		개발된 제품의 홍보	- 양돈농가로 시제품 홍보 및 샘플 보급 - 전문잡지 및 박람회 홍보 진행
		개발제품 매출발생	2023 연간 122,965천원 발생
기술인증 획득		농림식품신기술인증(NET) 획득	

* 연구수행 내용

<1차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 친환경 신소재 사료첨가제 개발을 위한 원료의 확보방안 및 안전성 검증

- 본 연구에서는 난각분말과 오미자박을 혼합한 친환경 신소재 사료첨가제를 개발하고자 함
- 각 첨가 원료에 따른 수급 경로와 안전성 검증은 아래와 같음

* 난각분말의 수급방안

- 국내에서 배출되는 난각은 2016년 기준 9만 톤에 이르는 것으로 보고됨 생산되는 난각 중 일부는 식품, 비료 등의 제품으로서 판매하고 있으나 난각 생산량의 60% 이상은 폐기물로 버려지고 있는 실정임
- 국내 최대 난가공 회사에서인 (주)풍림푸드는 매월 약 3,000만개의 계란을 가공하여 약 1,700톤의 난각이 생산되고 있으며 생산 경로는 아래와 같음

계란 -> 세척 -> 할란 -> 껍질 분쇄 -> 탈수 -> 건조(살균) -> 냉각 -> 포장

- 건조과정은 열매체를 이용한 드럼식 건조방법으로 150℃에서 6~7분간 건조
- 최종 생산된 난각분말의 입도는 1~5 mm이며, 이는 가축이 섭취하기에 용이한 크기임
- 본 연구기관에서는 국내 난가공 회사에서 발생하는 난각분말을 수급, 활용하여 항시 제품화가 가능한 경로를 탐색할 예정임

* 난각분말의 안전성 검증

◦ 제조공정의 변화에 따른 제품 품질 평가

- 입도 분석(분포도, 균일성) : 생산된 제품을 반복적으로 확인하여 난각분말의 균일성을 점검하고 이를 통해 각 용도에 맞는 난각칼슘 제품을 생산
- 수분함량 분석 : 수분함량은 수율과 보존성에 영향을 미치며 오븐을 이용하여 최종 산물을 건조하여 수분함량을 측정
- 영양성분 분석 : 건조(살균)시 가열하는 온도에 따라 생산되는 제품의 영양소 성분을 비교하여 가장 적합한 가열 온도를 측정

◦ 생산공정에 따른 원료의 안정성 평가

- 제조 공정(온도, 시간 등)을 달리하여 생산한 모든 제품을 대상으로 안정성 평가를 실시
- 미생물 평가 : 평판 배지법을 통한 총 균수를 평가하고 균들을 동정하여 병원성균(대장균, 살모넬라 등) 및 일반 세균의 검출 여부 확인

- 미생물 검사는 Mackonkey, NA, MRS, LB, YM(Difco, USA) 평판배지로 표준
한천배양법을 사용하며 샘플 당 3반복을 실시함
- 시료 1g을 saline buffer(0.8% w/v NaCl) 용액 9ml에 넣은 후 균질화 과정을
거쳐 순차적으로 희석시킴. 그 후 각각의 배지에 100 μ l을 분주하여 도말한 후
MRS 배지와 LB 배지, Mackonkey 배지, NA 배지는 37 $^{\circ}$ C, YM 배지는 30 $^{\circ}$ C
항온배양기에서 48시간 동안 배양함. 배양 후 유효 colony 수를 측정하여
CFU/g으로 계산 및 log 값으로 환산하여 시료 내 생균수를 확인함
- 유해성분분석 : 사람 및 가축에서의 이용시 알레르기, 중금속 등 유해 요소들
을 분석하고 사료첨가제 등 기준에 명시되어있는 적정 수준에 적합한 제품을
생산
- 확립된 공정에서의 생산성, 경제성 평가
 - 제품의 생산 공정 중 위해요소 확인 : 생산된 제품의 관리, 제조 및 유통의
과정에서 위생상 문제가 될 수 있는 생물학적·화학적·물리적 위해요소 분석
 - 난각칼슘 생산에 들어간 총 비용을 생산된 제품의 무게 당(kg)으로 나누어 계
산하며 제조 공정시 소요되는 시간 등 가장 효율적인 제조공정을 확립
- 오미자박의 안전성 검증
 - 오미자 생산지의 오미자 가공 기업으로부터 발생하는 오미자와 오미자박의 수
급 경로 및 원료확보 방안 확립
 - 다양한 공정에서 부산물로 생산되는 오미자박의 일반성분 분석 : 수분, 조단
백질, 조지방, 조섬유, 조회분 등에 대한 AOAC 방법을 통한 분석 실시
 - 오미자, 오미자박 내 잔존 미생물, 중금속, 독성물질, 유해성분 등 조사
- 시작품 제작 및 생산 공정 확립
 - 부형제로서의 안정화 방법 확립
 - 부형제 이용 고상으로 제형화
 - 사업화를 위한 제형공정 수립 후 시작품 제작
 - 제품의 경제성 검토 및 유통기한 연구
 - 사료첨가제 생산을 위한 후속 처리공정 개발
 - 대량생산을 위한 최적화(scale up)
 - 각 생산 공정별 경제성 평가 및 최적의 생산 방안 확립

나. 난각분말 및 오미자박에서 기 분리한 유용균의 후보균주 선발

- Lactobacillus spp. Bacillus spp., yeast 등 다수 기 확보 (동정 완료 및 논문
발표함)
- 항균성, 항바이오필름, 소화효소, 항산화활성, 상호길항성 등 종합평가로 선발
- 항균활성 (Antibacterial activity)
 - 단위 가축에게 질병을 유발하는 병원성 균주들에 대한 유용 생균 후보 균주의
항균활성은 Agar well diffusion assay 방법으로 평가함

- 항균활성 평가에 사용된 병원성 균주는 가금 및 돼지에 질병을 유발할 수 있는 *Escherichia coli* SK1059, *Salmonella gallinarum* SK1062, *Listeria monocytogens* SK728 및 *Streptococcus suis* SK893을 사용하며, 각각의 병원균들은 LB 배지에서 18~24시간 동안 배양한 후에 사용함
 - 유용 생균 후보 균주를 18~24시간 배양 후 원심분리하여 상등액을 분리하고 pasteur tube 뒷면으로 직경 6mm의 hole을 만들어 상등액 100ul을 분주 후 18~24시간 배양함. 배양 후 나타나는 Clear zone의 크기에 따라 유용 생균 후보 균주의 항균활성 능력을 확인
 - 후보균주들의 상호 길항성 조사
- 바이오필름 형성 억제능 (Anti-biofilm) 검증
 - 바이오필름 형성 억제 실험은 crystal violet assay를 통하여 측정하며, 액체 배지에 배양한 병원성 균주를 microplate에 추출물과 함께 첨가한 후 일정 시간 동안 배양함
 - 멸균 증류수로 microplate를 3회 rinsing하고 methanol을 첨가해 15분 동안 부착된 biofilm을 고정시키며, 위 과정을 3회 반복함
 - 이후 crystal violet 시약을 이용해 염색하며 멸균 증류수로 3회 rinsing, 그 후 DMSO (Dimethylsulfoxide)를 첨가 후 흡광도를 측정함
 - 항산화활성 (Antibacterial activity)
 - 여러 가지 라디칼 (DPPH, Alkyl, Hydroxyl) 소거활성을 통한 균주의 항산화 활성 평가
 - FRAP, ABTS assay를 이용한 균주의 총 항산화력 평가
 - TBA, FTC assay를 이용한 균주의 지질과산화 억제 평가
 - 소화효소활성 (Digestive enzyme activity)
 - (1) Amylase: 1% soluble starch agar 배지에 멸균 pasteur pipette의 뒷부분을 이용하여 지름 6mm의 구멍을 만들어 amylase 활성을 확인함. 배양된 미생물의 상등액을 채취하여 배지 구멍에 각각 100 μ l 주입하였으며, 이후 0.2% gram iodine solution로 염색하여 주변에 나타난 clear zone을 확인함
 - (2) Cellulase: 1% CMC (carboxymethyl cellulose) 배지에 멸균 pasteur pipette의 뒷부분을 이용하여 지름 6mm의 구멍을 만들어 cellulase 활성을 확인함. 배양된 미생물의 상등액을 채취하여 배지 구멍에 각각 100 μ l 주입하였으며, 이후 0.2% gram iodine solution로 염색하여 주변에 나타난 clear zone을 확인함
 - (3) Protease: 1% skim milk를 첨가한 agar 배지에 멸균 pasteur pipette의 뒷부분을 이용하여 지름 6mm의 구멍을 만들어 protease 활성을 확인함. 배양된 미생물의 상등액을 채취하여 배지 구멍에 각각 100 μ l 주입하였으며, 이후 나타난 clear zone을 확인함
 - (4) Xylanase: 1% xylan을 첨가한 agar 배지에 멸균 pasteur pipette의 뒷부분을 이용하

여 지름 6mm의 구멍을 만들어 xylanase 활성을 확인함. 배양된 미생물의 상등액을 채취하여 배지 구멍에 각각 100 μ l 주입하였으며, 이후 0.2% gram iodine solution로 염색하여 주변에 나타난 clear zone을 확인함

- (5) Lipase: 1% spirit blue agar 배지에서 멸균 pasteur pipette의 뒷부분을 이용하여 지름 6mm의 구멍을 만들어 lipase 활성을 확인함. 배양된 미생물의 상등액을 채취하여 배지 구멍에 각각 100 μ l 주입하였으며, 이후 나타난 clear zone을 확인함

다. 난각 분말에 흡착한 복합생균제의 제조 및 유용 생균의 생존성 평가

- 유용 균주를 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 각각의 최적 배지인 MRS, LB, YM 배지에서 액상배양한 후 배양액을 50ml씩 원심 분리 (5,000xg, 10분, 4 $^{\circ}$ C) 하여 멸균 증류수로 3회 세척함
- Cell pellet을 9ml 멸균 증류수에 용해하고 21g의 난각분말 carrier와 혼합하여 수분함량이 10% 미만이 되도록 건조시킴
- 유용 생균의 생존성 평가는 총 4주간 보관 중 4 $^{\circ}$ C, 실온, 30 $^{\circ}$ C에서 주차별 CFU/g를 측정하여 결정함

라. 최적 난각분말 입자도 결정 및 발효오미자박, 당밀 첨가에 따른 성장특성 조사

- 난각분말의 입자도가 <1mm, 1~3mm, 3~5mm> 가 되도록 제조하여 영양성분 및 미네랄 함량을 조사하며, 조단백질, 지방, 조회분, 칼슘 및 인 함량에 대한 분석을 통해 최적의 난각분말 입자도를 결정함
- 또한, 발효오미자박, 당밀 첨가 및 미첨가에 따른 미생물 성장 특성을 조사하며, 부형제 조건을 발효오미자박과 당밀, 발효오미자박과 당밀 및 난각분말 혼합물로 하여 pH, 내열성 및 CFU/g 등을 분석함

마. 난각분말과 발효오미자박, 당밀의 혼합비율 결정 및 시제품 제작

- 경제성을 고려하여 최적의 입자도를 가진 난각분말과 발효오미자박, 당밀의 최적 혼합비율을 결정 후 시제품을 제작하여 추후 2~3차년도 가금 및 돼지 사양실험에 사용함

■ 공동연구개발기관: (주)하농

가. 킥오프(Kick-off) 회의

- 연구 및 개발 진행을 위한 회의 개최
 - 과제의 본격적 수행에 앞서 주관, 공동 연구기관 등이 세부적인 계획 및 자원을 공유하고 팀워크를 형성할 수 있도록 킥오프 회의 개최

나. 신규 가금용 복합생균제 시제품 제작

- 난각분말과 오미자박의 원료 수급방안 확립
 - 난각분말과 오미자박의 수급 경로 및 원료확보 방안 확립
 - 기존 오미자박의 생산량, 처리방법, 처리비용 등 조사 및 제품화 후의 시장성, 경제성
 - 당절임 여과 및 2차 추출 후, 오미자 착즙공정 후, 오미자 추출 공정 등 각 공정별로 생산되는 오미자박의 기존 생산량 현황 파악 후 향후 생산량 예측
 - 난각분말, 오미자박 사료첨가제와 유사한 기존 기능성 소재의 사료첨가제 제품 시장현황 및 경제성 조사
- 시제품 생산량 책정
 - 2차년도에 진행할 건국대학교 실험, 농가실험에 요구되는 시제품의 양을 파악하여 생산량을 책정함
- 원료구매
 - 건국대학교 산학협력단에서 진행한 실험 중 가장 이상적인 결과가 나온 배합비에 맞추어 부형제, 생균 등 원료구매
- 시제품 제작



그림. 시제품 제작 제조공장

다. 생산 공정에 따른 시제품의 안정성 평가

- 온도실험
 - 인큐베이터에서 봄, 여름, 가을, 겨울의 기온을 조성하여 각 시료의 기간에 따른 균수, 색상, 변질 등 변화를 관찰함
- pH실험
 - 강산, 약산, 중성, 약알칼리, 강알칼리에서 균수, 색상 등 변화를 관찰함
- 항생제 반응
 - 항생제와 본 시제품을 함께 섞었을 때 균수의 변화를 관찰함
- 곰팡이 형성

- 본 제품을 여름의 습도와 온도에서 방치시켰을 때, 비닐 포장 없이 지대에 두었을 때, 비닐 포장을 했을 때, 사료에 뿌려서 방치시켰을 때 곰팡이가 형성되는 양상을 관찰함

라. 선행기술조사

◦ 조사기관 의뢰

- 차후 특허출원 및 등록을 위한 선행기술조사를 의뢰함

<2차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 가금(육계) 적용 실험

○ 실험 사료 및 첨가제 준비

- 실험에 사용한 일반 시판 기초사료를 아래 표에 제시하였음. 본 사료는 한국 가금 사양표준(2017)에 따라 설계하였으며, 옥수수과 대두박 위주로 제조함. 육계 전기 사료의 ME는 3,050kcal/kg, 후기는 3,150 kcal/kg으로 설계하였으며, 전기 및 후기사료 모두 첨가제와 잘 혼합되도록 가루 사료 형태로 가공함.
- 사용한 첨가제는 아래 표에 나타난 첨가 비율 중 1차와 2차를 사용하여 실험함.

표. 육계 적용 실험 기초사료 배합비

Item	Starter diet	Grower diet
Ingredient, %		
Corn	50.75	53.51
Wheat	5.00	5.00
SBM (IMP)	34.09	31.33
Tallow	4.99	6.12
L-methionine, 98%	0.32	0.25
Lysine-Syn 24%	0.96	0.24
L-threonine, 98%	0.13	0.03
Limestone	1.59	1.54
MDCP	1.29	1.16
Choline Cl, 50%	0.10	0.07
Salt	0.28	0.28
Vitamin Premix	0.15	0.15
Mineral Premix	0.15	0.15
Phytase	0.02	0.02
NaHCO ₃	0.16	0.16
Chemical composition calculated		
CP, %	21.00	19.00
Crude fiber, %	2.88	2.96
Ca, %	0.90	0.85
Available Phosphorus, %	0.35	0.32
Total Lys, %	1.37	1.10
Total TSAA, %	0.99	0.87
Total Thr, %	0.90	0.74
AMEn, kcal/kg	3,050	3,146

* Vitamin mixtures provided the following nutrients per/kg feed: vitamin A, 13500 IU; vitamin D₃, 3300 IU; vitamin E, 22.5 IU; vitamin K₃, 3 mg; vitamin b₁, 2.25 mg; vitamin B₂, 7.5 mg; vitamin B₆, 4.5 mg; vitamin B₁₂, 0.03 mg; pantothenic acid, 15 mg; niacin, 45 mg; biotin, 0.225 mg; folic acid, 15 mg; antioxidant 66%, 4.5 mg. * Mineral mixtures provided the following nutrients per/kg feed: Fe, 60 mg; Co, 0.075 mg; Cu, 60 mg; Mn, 90 mg; Zn, 75 mg; I, 1.5 mg; Se, 0.15 mg.

표. 첨가제 배합비

기능성 원료	첨가 비율 (%)			
	1차	2차	3차	최종
난각	42	40	40	비공개
오미자박	5	5	5	비공개
<i>Bacillus subtilis</i>	2	2	2	비공개
<i>B. licheniformis</i>	2	2	2	비공개
<i>S. cerevisiae</i>	2	2	2	비공개
SK4279 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4282 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4288 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
현연미네칼	18.4	15.4	9.4	비공개
포도당	4	4	4	비공개
이스트킬처	10	10	10	비공개
당귀	0.1	0.1	0.1	비공개
비오틴	0.1	0.1	0.1	비공개
비타민 A, D ₃ , E	4	4	4	비공개
라이신	5	5	5	비공개
메카오닌	5	5	5	비공개
진세노사이드 원액	0.1	0.1	0.1	비공개
파이타제		5	5	비공개

○ 실험동물 및 디자인

- 총 630수의 육용계 Abor Acres 1일령을 실험동물로 공시함. 처리구당 6반복, 반복당 15수를 입식하였으며. 완전임의 배치하여 진행함
- 처리구는 basal diet: control group(CON), basal diet+Avilamix 0.025%: positive control group 1 (PC1), basal diet+일반시판생균제 0.2%: positive control group 2 (PC2), basal diet+test sample 1 0.2%: T1, basal diet+test sample 1 0.4%: T2, basal diet+test sample 2 0.2%: T3, basal diet+test sample 2 0.4%: T4로 총 7처리구로 설계함
- 개시일로부터 21일령까지는 전기(Starter) 사료를 급여, 이후 실험 종료일인 28일령까지는 후기(Grower) 사료를 각각 급여함
- 분석을 위해 종료 당일 평균체중에 가까운 개체를 반복당 2마리 선택하여 안락사함. 계사 내부 온도는 실험 첫 주에 평균 33℃를 유지하고, 이후 일주일마다 2℃씩 낮춰 실험 종료 시 26℃를 유지시킴. 음수와 사료는 무제한 급이를 실시하였으며, 23시간 점등함

○ 성장 지표 산출

- 체중(BW)과 사료섭취량(FI), 폐사 수수를 매주 측정하였으며, 체중을 측정하기 위해 반복내에 있는 개체들을 한번에 무게를 측정한 후 마리 수로 나누어 평균 체중을 산출함
- 증체량(BWG)은 각 주차에 측정한 체중의 차이 값을 산출하여 나타내었으며 이를 기간으로 나누어 일당 증체량(ADG)를 표시함. 사료요구율(FCR)은 사료 섭취량을 일당증체량으로 나누어 산출함

○ 도계 후 장기 무게 및 부위별 육량 비교

- 도계 후 면역 장기(간, 비장, F낭), 계육(가슴육, 다리육)을 채취하여 4℃에 보관함
- 면역 장기 및 계육의 상대적 중량은 처리구별 도계한 육계의 체중과 채취한

샘플의 무게를 측정하여 생체중 100g당 무게를 비율로 나타냄

- 비장의 경우 혈액 내에 들어온 항원들을 제거하고 후에 항체를 생산할 수 있는 면역 세포를 형성함. 흉선은 병아리 때 기관 좌우 양측에 길게 분포하며, 성계가 되면 최파되어 결체조직과 지방으로 변성됨. 육계의 경우 2개월령 전후로 F낭이 최대성장하여 측정 가능

○ 육질 평가

- 계육의 pH는 가슴육의 1cm 깊이에 pH meter(Hanna Instruments, Nusfalau, Romania)를 넣었을 때, 나타난 수치로 산출하였으며 샘플 당 3회 측정함.
- 가열감량(Cooking loss)은 시료를 채취한 후, polyethylene bag에 넣어 75°C water bath(C-WBE, Chang Shin co., Korea)에서 30분간 가열함. 이후 상온에서 10분간 방냉시켰으며 가열 전, 후의 무게 차이를 백분율로 계산함

* $\text{Cooking loss}(\%) = \frac{\text{Sample weight before cooking} - \text{Sample weight after cooking}}{\text{Sample weight before cooking}} \times 100$

- 가슴육의 육색은 시료의 표면을 색도계 (Chromameter, CR210, minolta, Japan)을 사용하여 명도 (lightness)를 나타내는 L*값, 적색도(redness)를 나타내는 a*값과 황색도(yellowness)를 나타내는 b*값을 측정하며, 이때의 표준 색은 L*값이 97.69, a*값이 -.43, b*값이 +1.98인 calibration plate를 사용함

○ 소화장관의 길이 비교

- 소장 및 맹장의 길이를 측정함. 소장은 십이지장, 공장 및 회장의 3부위로 나누어 측정하였으며, 결과는 총 길이(cm), 생체중 100g 당 길이(cm)로 나타냄
- 공장 및 회장은 Meckel's Diverticulum을 기준으로 구별함

○ 경골(tibia) 분석

- 도계한 개체들로부터 오른쪽 또는 왼쪽 경골을 채취함. 뼈의 너비와 길이를 측정하였으며, 무게는 전자저울을 이용하여 측정함
- 경골 파쇄강도 측정을 위하여 Instron Universal Testing Machine (Model 3342, USA)을 이용하여 3-point bending test를 진행함

○ 장내 미생물 균총 조성 및 균주 동정

- 회장 및 맹장 내 생균수 검사는 MRS, NA, MacConkey, SS (Salmonella shigella) (Difco, USA) 평판배지로 표준한천배양법을 사용하여 측정함. 장관의 내용물 1g과 pH 7.2의 PBS(Phosphate buffered solution) 9ml에 넣은 후 균질화 과정을 거쳐 1차 희석을 하였으며, 십진희석법(Serial dilution)을 통해 적절한 희수로 희석하여 분석하고자 하는 균주에 해당하는 최적배지에 10 μ l을 분주함

○ 소화장관의 용모 및 음와의 형태학적 지표 비교

- 도계한 개체의 공장 및 회장의 가운데 약 2cm를 절단한 후 pH 7.2의 PBS (Phosphate buffered solution)을 이용하여 장내 내용물을 제거하고 10% formalin 용액에 침지하여 보관한후, paraffin film으로 처리하기 위하여 KP&t

(Korea Pathology Technical Center, Cheongju-si, Korea)에 해당 과정을 위탁함. 조직계측학적 분석 (Histomorphometric analysis)를 위한 전처리 과정을 거친 샘플은 microscope (BX43, Olympus, Tokyo, Japan)를 이용하여 각 부위의 사진을 촬영하고 eXcope X3 software (DIXI Science, Daedeok-gu, Daejeon, Republic of Korea)를 이용하여 용모의 높이와 음와의 깊이를 측정하고 음와의 깊이에 대한 용모의 상대적인 길이로 나타냄

- 용모와 음와는 영양의 흡수 표면적을 증가시키기 위한 것으로, 소화장관 중 흡수에 중요한 역할을 하는 공장과 회장을 선택하여 형태학적 지표 비교 분석

○ 혈청 내 생화학 지표 분석

- 안락사 후 심장채혈을 통해 개체 당 약 8ml의 혈액을 채혈함. 채혈한 혈액은 원심분리기(HA-1000-3, 한일사이언스메디칼, 대전광역시 유성구)를 이용하여 1,500rpm으로 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리함
- 분리된 혈청을 전자동 건조생화학분석기 (CHEM 7000i, Japan)를 이용하여 AST (GOT), ALT(GPT), BUN, Creatinine, Glucose, TC (Total cholesterol), LDH, HDL-C, HDL-C (%), LDL+VLDL, Albumin, TP (Total Protein), TG (Triglyceride), Ca 및 P 등 11개의 항목을 분석해 첨가제의 첨가에 따른 체내 영양에 대한 결과를 도출함

○ 통계분석

- 본 연구의 데이터 분석은 Statistical Analysis System 9.4 (SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model을 이용하여 분석하였으며, 완전무작위배치 (Complementary randomized design) 실험법을 이용하여 실험을 설계함
- 일원분산분석 (ANOVA)을 통해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 결정했으며 처리구 간 다중 사후검정은 Tukey's test를 이용하여 비교함. 데이터의 변이는 standard error of mean (SEM)으로 나타냄

나. 가금(산란계) 적용실험

○ 실험 사료 및 첨가제 준비

- 실험에 사용한 일반 시판 기초사료는 아래 표에 제시하였음. 본 사료는 한국 가금 사양표준(2017)에 따라 설계하였으며, CP 15%를 기준으로 생산함. 첨가제와 잘 혼합되도록 가루 사료 형태로 가공함
- 사용한 첨가제는 아래 표에 나타낸 3차 첨가제로, 프로테아제, 파이타제, 자일라나제가 포함된 첨가제를 사용하여 실험을 진행함

표. 산란계 적용실험 기초사료 배합비

Item	
Ingredient, %	
Corn	55.5
DDGS	15.0
SBM	5.5
Wheat gluten	4.0
Rapeseed meal	3.0
Sesame meal	2.0
Animal fat	0.5
Limestone	11.5
Monocalcium phosphate_MCP	0.1
Methionine	0.1
Lysine	0.1
Salt	0.23
Vitamin Premix	0.05
Mineral Premix	0.12
Etc	2.3
Chemical composition calculated	
CP, %	15.00
Crude fiber, %	2.73
Ca, %	4.20
Available Phosphorus, %	0.53
AMEn, kcal/kg	2700

* Vitamin mixtures provided the following nutrients per/kg feed: vitamin A, 13500 IU; vitamin D3, 3300 IU; vitamin E, 22.5 IU; vitamin K3, 3 mg; vitamin b1, 2.25 mg; vitamin B2, 7.5 mg; vitamin B6, 4.5 mg; vitamin B12, 0.03 mg; pantothenic acid, 15 mg; niacin, 45 mg; biotin, 0.225 mg; folic acid, 15 mg; antioxidant 66%, 4.5 mg.

* Mineral mixtures provided the following nutrients per/kg feed: Fe, 60 mg; Co, 0.075 mg; Cu, 60 mg; Mn, 90 mg; Zn, 75 mg; I, 1.5 mg; Se, 0.15 mg.

표. 첨가제 배합비

기능성 원료	첨가 비율 (%)			
	1차	2차	3차	최종
난각	42	40	40	비공개
오미자박	5	5	5	비공개
<i>Bacillus subtilis</i>	2	2	2	비공개
<i>B. licheniformis</i>	2	2	2	비공개
<i>S. cerevisiae</i>	2	2	2	비공개
SK4279 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4282 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4288 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
천연미네랄	18.4	15.4	9.4	비공개
포도당	4	4	4	비공개
이스트킬처	10	10	10	비공개
당귀	0.1	0.1	0.1	비공개
비오틴	0.1	0.1	0.1	비공개
비타민 A, D ₃ , E	4	4	4	비공개
라이신	5	5	5	비공개
메치오닌	5	5	5	비공개
진세노사이드 원액	0.1	0.1	0.1	비공개
파이라제		5	5	비공개

○ 실험동물 및 디자인

- 총 216마리의 70주령 Hy-line Brown 산란계를 공시함. 실험은 4처리구, 9반복, 반복당 6수씩 완전임의 배치하여 실시하였음
- 모든 산란계는 3 tier battery-cage에서 케이지당 2수씩 사육함. (43cm length, 45cm width, and 42cm height)
- 처리구는 basal diet: control group(CON), basal diet+첨가제 0.1%: T1, basal diet+첨가제 0.2%: T2, basal diet+첨가제 0.4%: T3로 구성하여 총 6주간 사양실험을 진행하였으며, 적응기간을 2주간 거친 후 실험사료를 4주동안 급여함
- 점등관리는 자동 점등조절기를 이용하여 16L:8D로 하였으며, 온도는 약 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ 에서 사육함. 사료와 음수는 무제한 급여함

○ 난 생산성

- 실험기간동안 매일 오전 10시에 파손란, 기형란, 정산란의 개수와 정상란의 중량을 기록함
- 산란율(EPR, Egg production rate)(%)은 반복을 기준으로 산란수에 사육수수를 나누어 계산함
- 평균 난중은 당일 집란한 정상란의 총 무게를 산란수로 나눈 평균치를 나타냄
- Egg mass는 산란율에 난중을 곱하여 나타내었으며, 매주 기록한 사료섭취량을 Egg mass로 나누어 FCR을 나타냄

○ 난질 분석

- 매주 처리구당 27개의 계란(반복당 3개)을 수집하여 Haugh unit, 난황색, 난각 강도, 난각 두께, 난중, 난각 중량 및 난백고에 대하여 분석함. 난각 중량을 제외한 난질분석 지표는 automatic egg analyzer (Digital egg tester DET6000, NABEL, Co. Ltd., Japan)를 사용하여 분석하였으며, Haugh unit은 다음공식을 사용하여 계산함

$$100 \times \log (H + 7.57 - 1.7 \times W^{0.37})$$

*H는 난백고(mm)이며, W는 난중(g)을 나타냄

○ 혈청 내 생화학 지표 분석

- 안락사 후 심장채혈을 통해 개체 당 약 8ml의 혈액을 채혈함. 채혈한 혈액은 원심분리기(HA-1000-3, 한일사이언스메디칼, 대전광역시 유성구)를 이용하여 1,500rpm으로 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리함
- 분리된 혈청을 전자동 건조생화학분석기 (CHEM 7000i, Japan)를 이용하여 AST (GOT), ALT(GPT), BUN, Creatinine, Glucose, TC (Total cholesterol), LDH, HDL-C, HDL-C (%), LDL+VLDL, Albumin, TP (Total Protein), TG (Triglyceride), Ca 및 P 등 11개의 항목을 분석해 첨가제의 첨가에 따른 체내 영향에 대한 결과를 도출함

○ 도계 후 장기 무게 비교

- 도계된 개체들로부터 면역 장기(간, 비장)을 채취하여 4℃에 보관함
- 면역 장기의 상대적 중량은 처리구별 도계한 육계의 체중과 채취한 샘플의 무게를 측정하여 생체중 100g당 무게를 비율로 나타냄
- 비장의 경우 혈액 내에 들어온 항원들을 제거하고 후에 항체를 생산할 수 있는 면역 세포를 형성함. 흉선은 병아리 때 기관 좌우 양측에 길게 분포하며, 성계가 되면 최파되어 결체조직과 지방으로 변성됨. F낭은 산란계의 경우 1개월령 전후로 가장 성장하며 그 후로 퇴화한다. 따라서 70주령인 본 산란계에서는 F낭이 퇴화하여 분석이 불가능하였음. 이에 유해 화합물을 해독하는 기능이 있는 간의 무게를 측정함

○ 소화장관의 길이 비교

- 소장 및 맹장의 길이를 측정함. 소장은 십이지장, 공장 및 회장의 3부위로 나누어 측정하였으며, 결과는 생체중 100g당 길이(cm)로 나타냄
- 공장 및 회장은 Meckel's Diverticulum을 기준으로 구별함

○ 경골(tibia) 분석

- 도계한 개체들로부터 왼쪽 경골을 채취함. 뼈의 너비와 길이를 측정하였으며, 무게는 전자저울을 이용하여 측정함. 결골 파쇄강도 측정을 위하여 Instron Universal Testing Machine (Model 3342, USA)을 이용하여 3-point bending test를 진행함
- 경골은 quantitative computed tomography(QCT)을 사용한 bone mineral density(BMD) 측정을 위해 건국대학교 수의과대학(서울, 한국)에 위탁함 Hounsfield unit은 QCT 스캔으로 tibia including neck (mastoid arthrodesis 부분), proximal position의 1/3, distal position의 2/3를 포함한 경골의 각 부분을 측정하여 BMD(mg/cm³) 계산에 사용함

○ 소화장관의 용모 및 음와의 형태학적 지표 비교

- Meckel's diverticulum을 기반으로 도계한 개체의 공장 및 회장의 가운데 약 5cm를 절단한 후 pH 7.2의 PBS (Phosphate buffered solution)을 이용하여 장내 내용물을 제거하고 10% formalin 용액에 침지하여 보관한 후, hematoxylin & eosin staining 전처리를 위하여 KP&t(Korea Pathology Technical Center, Cheongju-si, Korea)에 해당 과정을 위탁함
- 조직계측학적 분석 (Histomorphometric analysis)를 위한 전처리 과정을 거친 샘플은 microscope (BX43, Olympus, Tokyo, Japan)를 이용하여 각 부위의 사진을 촬영하고 eXcope X3 software (DIXI Science, Daedeok-gu, Daejeon, Republic of Korea)를 이용하여 용모의 높이와 음와의 깊이를 측정하고 음와의 깊이에 대한 용모의 상대적인 길이로 나타냄
- 용모와 음와는 영양의 흡수 표면적을 증가시키기 위한 것으로, 소화장관 중 흡수에 중요한 역할을 하는 공장과 회장을 선택하여 형태학적 지표 비교 분석

○ NGS 분석

- 도제한 개체의 맹장내용물을 분리하여 Macrogen(서울, 한국)에 NGS 분석을 의뢰함

○ 통계분석

- 본 연구의 데이터 분석은 Statistical Analysis System 9.4 (SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model을 이용하여 분석하였으며, 완전무작위배치 (Complementary randomized design) 실험법을 이용하여 실험을 설계함
- 일원분산분석 (ANOVA)을 통해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 결정했으며 처리 구간 다중 사후검정은 Tukey's test를 이용하여 비교함. 데이터의 변이는 standard error of mean (SEM)으로 나타냄

■ 공동연구개발기관: (주)하농

가. 육계 농가 현장 실증실험

시험사육 목적 : 난각 추출 특수균주 첨가 사료 첨가제를 육계 사육 과정에서 사료 첨가제로 혼합투여한 후 사육 성적 결과에 따라 제품의 단가 및 사업 경쟁력, 제품 효과 등을 판단할 수 있도록 진단과 분석 자료를 얻고자 함. 필요하면 시험사육을 통해 얻은 각종 자료들을 기준으로 홍보 팜플렛을 제작하는데 활용할 필요성이 있음

1) 유진농장

방법 : 시험사육 농장(태안 유진농장)을 선정하고 동일한 계사 크기의 동일한 병아리가 입추되도록 하여 시험구와 대조구를 선정하여 시험구에는 톤당 4Kg의 시험제품을 6일령부터 출하 때까지 사료에 혼합하여 투여한다
23,000수 입추에 총 사료 50톤 예상되며 톤당 4Kg씩 혼합 시에 200Kg 제품 혼합 투여함

○ 시험사육 목표

- ① 시험구와 대조구의 25일령 암모니아가스 농도 측정 및 비교
- ② 출하 후 육성을 비교분석
- ③ 출하 후 평균중량 비교분석
- ④ 출하 후 사료요구율(FCR) 비교분석(사료섭취량 과 사료효율)
- ⑤ 출하 후 사육일령 비교분석
- ⑥ 출하 후 시험구와 대조구의 생산지수 비교분석
- ⑦ 출하 후 제품의 효과, 장단점, 문제점, 개선책, 적정단가, 사업성 분석
- ⑧ 일령별 시험구와 대조구의 음수량 변화 비교

2) 장수농장

방법: 시험사육 농장(장수농장)을 선정하고 동일한 계사 크기의 동일한 병아리가 입

추되도록하여 시험구와 대조구를 선정하여 시험구에는 톤당 2Kg의 시험제품을 혼합하였으며, 대조구에는 로드셀을 사료톤당 2kg 첨가함 시험사육에 사용된 육계는 삼화원종의 ross308을 사용하였으며, 시험구당 23,000수로 사육수를 구성함. 시험은 2022.08.02.~ 2022.08.17.까지 수행함

3) 화니농장

방법: 시험사육 농장(화니농장)을 선정하고 동일한 계사 크기의 동일한 병아리가 입추되도록 하여 시험구와 대조구를 선정하여 시험구에는 톤당 2Kg의 시험제품을 혼합하였으며, 대조구에는 로드셀을 사료톤당 2kg 첨가함 시험사육에 사용된 육계는 삼화원종의 ross308을 사용하였으며, 시험구당 21,000수로 사육수를 구성함. 시험은 2022.07.07.~ 2022.08.08.까지 수행함

나. 산란계 농가 현장 실증실험

1) 산내들농축

방법: 산란중추인 Hy-line Brown 총 69,000수(동당 23,000수, 총 3동)를 공시하였으며, 처리구는 basal diet: control group(CON), basal diet+test sample 0.1%: T1, basal diet+test sample 0.2%: T2로 구성하여 각 동마다 처리구를 배치함. 시험에는 3차 수정된 첨가제를 사용하였으며, 2022.05.26.에 입추하여 2022.08.17.에 도계함

다. 시제품의 홍보 및 판매처 확보

◦ 지면광고 및 기사 게재

- 월간 폴트리, 월간 닭고기, 월간양계, 축산신문, 농민신문에 제품출시계획 및 샘플 홍보일정 등 광고를 게재함
- 온라인 게시글이 달리도록 광고업체를 선정하여 난각생균제 개발취지와 경과에 대한 광고 및 홍보글이 블로그, 밴드, 인터넷 신문기사, 네이버카페 등 다양한 곳에 노출될 수 있도록 광고 및 홍보비를 집행함

◦ B2B 홍보

- 하림, 동우 등 사료 회사에 컨택하여 차후 사료 품질향상을 위한 첨가제로서 납품을 할 수 있도록 개발 중인 제품을 소개함

◦ 박람회 개최 및 참가

- 축산박람회에 참가하거나 개최하여 사육 농가가 다수 모여있는 지역 거점에 직접적으로 개발제품이 홍보될 수 있도록 오프라인 광고 및 홍보를 진행함

<3차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 양돈(이유자돈) 적용실험

○ 실험 사료 및 첨가제 준비

- 실험에 사용한 일반 시판 기초사료를 아래 표로 제시하였음. 본 사료는 한국가축사양표준-돼지(2017)에 따라 설계되었으며, 기초사료는 우성사료의 시판 사료를 돼지의 성장단계에 맞추어 3종류를 사용함

표. 포유자돈2 사료의 조성

공급처: 우성사료	
제품명: 슈퍼50 First Level 2-C-KG	
성분명	성분량
조지방	6.00% 이상
조섬유	4.00% 이하
조회분	7.00% 이하
칼슘	0.60% 이상
인	0.80% 이하
라이신	1.35% 이상
가소화에너지(DE)	3,700kcal/kg
사용한 원료의 명칭: 곡류, 박류, 유장분말, 어분, 대두농축단백질, 대두유, 분말유지, 보존제, 아미노산제, 향미제, 효소제, 비타민제 합제(A, D ₃), 혼합광물질류 합제(구리, 아연)	

표. 이유돈1 사료의 조성

공급처: 우성사료	
제품명: 슈퍼50 First Level 3-C-KG	
성분명	성분량
조지방	5.00% 이상
조섬유	5.00% 이하
조회분	7.00% 이하
칼슘	0.50% 이상
인	0.70% 이하
라이신	1.20% 이상
가소화에너지(DE)	3,650kcal/kg
사용한 원료의 명칭: 곡류, 박류, 유장분말, 대두유, 인산칼슘, 산미제, 어분, 아미노산제, 분말유지, 보존제, 향미제, 효소제, 규산염제, 비타민제 합제(A, D ₃), 혼합광물질류 합제(아연, 구리)	

표. 이유돈6 사료의 조성

공급처: 우성사료	
제품명: 브이클라스 젓돈-M-KG	
성분명	성분량
조지방	4.00% 이상
조섬유	5.00% 이하
조회분	7.00% 이하
칼슘	0.50% 이상
인	0.70% 이하
라이신	1.00% 이상
가소화에너지(DE)	3,500kcal/kg
사용한 원료의 명칭: 곡류, 강피류, 동물성혼합유지, 식염, 혼합인산칼슘, 산미제, 당밀, 아미노산제, 효소제, 추출제, 석회석분말, 보존제, 염화콜린, 감미제, 울리고당, 비타민제 합제(A, D ₃), 혼합광물질류 합제(철, 구리, 아연)	

- 난각생균복합제의 조성은 하단의 표에 나타냄

표. 난각생균복합제의 조성

순번	기능성 원료	첨가 비율 (%)	구입처 및 제조 방법
1	난각	42.00	풍림푸드
2	<i>Bacillus subtilis</i>	2.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.****
3	<i>Bacillus licheniformis</i>	2.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.
4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.
5	SK4279 배양체*	1.00	보유 중인 균을 R2A Broth, 30°C에서 대량배양하여 첨가
6	SK4282 배양체**	1.00	보유 중인 균을 LB Broth, 30°C에서 대량배양하여 첨가
7	SK4288 배양체***	1.00	보유 중인 균을 MRS Broth, 30°C에서 대량배양하여 첨가
8	과자박	23.50	롯데제과
9	파이타제	5.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.
10	비타민 D ₃	0.50	DSM
11	복합아미노산	10.00	CJ 제일제당
12	복합효소제	5.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.
13	구연산	5.00	Shandong Sukahan Bio-technology Co., Ltd.

**Bacillus licheniformis*: 난각(풍림)에서 분리, 생육조건은 R2A, 30°C, 24H

***Bacillus subtilis*: 난각(풍림)에서 분리, 생육조건은 LB, 30°C, 24H

****Lactobacillus plantarum*: 난각(풍림)에서 분리, 생육조건은 MRS, 30°C, 24H

****중국 직수입을 진행한 업체명

○ 실험 동물 및 디자인

- 총 120두의 3원교잡 이유자돈 {(Landrace*Yorkshire)*Duroc} 20일령을 실험동물로 공시함 처리구 별 3개의 반복구, 반복구 당 10마리의 개체를 무작위로 배치함
- 처리구는 4개 처리구 (대조구, 항생제 처리구, 난각생균복합제 첨가 수준을 달리한 실험구 2개)로 설계함
- 총 8주간 사양실험을 수행하며, 개시일로부터 1-2주차는 포유자돈2 사료, 3-4주차는 이유돈1 사료, 5-8주차는 이유돈6 사료를 기초사료로 하여 사료와 물을 무제한 급여함
- 분석을 위해 종료 당일 평균 체중에 가까운 개체를 반복 당 3마리 선택하여 안락사함

○ 주차별 측정항목

- 주차별 측정항목은 하단의 표에 나타냄

표. 주차별 측정항목

주차	사료섭취량	체중	돈분채취		혈액 채취	폐사율	온습도
			약취 성분	미생물			
0		√					
1	√					√	√
2	√					√	√
3	√					√	√
4	√	√	√	√	√	√	√
5	√					√	√
6	√					√	√
7	√					√	√
8	√	√	√	√	√	√	√

- 증체량 및 사료섭취량
 - 증체량은 실험 개시 후 2주차와 4주차에 각 반복구의 무게를 일괄적으로 측정하며 사료 섭취량을 측정하기 위해 2주마다 사료 급여량과 잔량을 확인함
 - 각 분석 지표를 계산하여 BW (Body weight), ADG (Average daily gain), ADFI (Average daily feed intake), FCR (Feed conversion ratio) 등을 산출하고 각 처리구별 유의차를 분석함

- 혈액 일반성분 분석
 - 시험 4주차와 8주차, 반복구별 무작위로 선발한 2두의 이유자돈의 경정맥에서 채혈하여 항응고제가 처리된 튜브에 보관하여 실험실로 옮긴 후 당일 혈액검사를 의뢰함
 - 일반 혈액검사는 자동혈액 분석기 (Hemacyte™, Oxford Science, Inc., USA)를 이용하여 red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), lymphocytes (LY)를 측정하며, 혈액 내 IgG는 Nephelometry 방법으로 Nephelometer (Behring, Germany) 분석기를 이용하여 분석 의뢰함

- 혈청 내 생화학적 지표 검사
 - 혈청 생화학적 검사는 실험 4주차와 8주차에 각각, 반복구별 무작위로 선발한 이유자돈 2두의 경정맥에서 채혈한 혈액 5ml을 원심분리 (3,000rpm, 4°C, 15분)하여 얻은 혈청을 자동생화학분석기 (HITACHI 747, Japan)를 이용하여 지표들을 직접 분석함

- Colony Forming Unit(CFU)
 - 처리구별 샘플링된 회장 말단의 내용물에서 1g의 양을 채취하여 9ml의 멸균 증류수와 희석한 후 십진희석법 (Serial dilution)을 통해 적절한 횟수로 희석하여 분석하고자 하는 균주에 해당하는 최적배지에 약 10ul를 분주함
 - 각 최적 배지인 MRS (Man-Rogosa-Sharpe), R2A(Reasoner's 2A agar), MacConkey, SS (Salmonella Shigella)배지를 이용하여 24시간 동안 37도에서 배양한 후 나타난 50~100개의 콜로니의 개수를 세어 log CFU/g으로 균총 조성을 나타냄

- 장내균총 조성(NGS)
 - 실험 종료 후 해부 시 처리구당 이유자돈 세 마리의 회장 내용물 약 1g을 채취, 액체 질소로 급속 냉각함
 - 이후 -80°C에서 보관된 샘플에 대해 차세대 염기서열 분석(NGS)을 마크로젠 (Macrogen, 서울)의 일루미나(Illumina) Miseq 플랫폼을 사용해 수행함
 - 알파 다양성 비교를 위해 앰플리콘 서열 변이체(ASVs), Chao1, Shannon, Gini-Simpson 지수를 이용하였으며, 베타 다양성 분석을 위해, 가중 UniFrac 거리 행렬에 기반한 주성분 좌표 분석(PCoA)과 가중치가 없는 짝지어진 그룹 평균(Unweighted Paired Group Mean, UPGMA) 분석이 사용됨

- 분변 악취 분석

- 4주, 8주에 돈방 당 돈분을 2키로 채취하여 약취 분석을 진행함
 - 밀폐용기에 돈분 약 20g을 평평하게 깔아준 뒤 호스를 통해 질소가스를 30분간 주입한 후 5분간 약취수집기에 공기가 담기도록 함. 이 공기를 검지관으로 빨아당겨 H₂S, NH₃ 수치를 측정함. 당일 검지관 측정 값은 0정도로 미미하여 질소를 가뒀던 돈분을 24시간 후숙하여 다음날 다시 같은 방식으로 측정함
- 다리 뼈 CT 촬영
- 실험 종료 후 해부 시 처리구당 이유자돈 세 마리의 경골(tibia)을 채취함
 - Hounsfield Units의 측정을 위한 CT기기로 Canon Medical Systems Corporation의 Aquilion Lighting 160 MODEL TSX-036A를 사용하였고 120 kVp, 150 mA의 세기로 촬영함
 - 이후 골밀도 팬텀을 이용하여 오차를 보정함
- 통계 분석
- 본 연구의 데이터 분석은 Statistical Analysis System 9.4 (SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model을 이용하여 분석하였으며, 완전무작위배치 (Complementary randomized design) 실험법을 이용하여 실험을 설계함
 - 일원분산분석 (ANOVA)을 통해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 결정했으며 처리구 간 다중 사후검정은 Tukey's test를 이용하여 비교함

■ 공동연구개발기관: (주)하농

가. 양돈 농가 현장 실증실험

시험사육 목적 : 난각 추출 특수균주 첨가 사료 첨가제를 돼지 사육 과정에서 사료 첨가제로 혼합 투여한 후 사육 성적 결과에 따라 제품의 단가 및 사업 경쟁력, 제품 효과 등을 판단할 수 있도록 진단과 분석 자료를 얻고자 함.

1) 영진한돈농장(금산)

방법 : 시험사육 농장(영진한돈농장)을 선정하고 동일한 돈사 크기에 이유자돈(28일령)을 입식하여 시험구와 대조구를 선정하여 시험구에는 톤당 2Kg의 시험제품을 28일령부터 60일령까지 32일간 사료에 혼합하여 투여함 이유자돈은 대조구 41두, 시험구 40두로 구성함

○ 시험사육 목표

- 32일 후 시험구와 대조구의 일당증체량 비교

2) 형제농장(파주)

방법: 시험사육 농장(형제농장)을 선정하고 육성돈 및 비육돈에 사료 톤당 1Kg의 시

시험제품을 2023년 09월 26일부터 2024년 02월 06일까지 134일간 사료에 혼합하여 투여하고, 투여 전 농장의 출하일령에 비해 투여 후 농장의 출하일령이 얼마나 단축되는지 관찰함 육성돈 및 비육돈 2,000두 규모임

3) 해돈(안성)

방법: 시험사육 농장(해돈)을 선정하고 포유모돈에 사료 톤당 2Kg의 시험제품을 2023년 09월 01일부터 2023년 12월 20일까지 110일간 사료에 혼합하여 투여하고, 대조구와 시험제품 투여구의 자돈 이유체중을 비교함 포유모돈은 대조구 250두, 시험구 200두로 구성됨

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

<1차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 난각분말, 오미자박에서의 유용미생물 분리 동정 및 발효용 미생물 선별

난각분말에서 분리 확보한 유용미생물 및 그 특성은 아래와 같음

표. 난각분말에서 분리한 미생물 및 그 특성

Stock #	Identification	Query coverage (%)	Identity (%)	Media	Characteristics
SK4279	<i>Bacillus licheniformis</i>	98	99	R2A	Probiotic
SK4280	<i>Bacillus pumilus</i>	96	100	R2A	Probiotic
SK4281	<i>Janibacter</i> sp.	100	99	LB	Pathogen
SK4282	<i>Bacillus subtilis</i>	99	99	LB	Probiotic
SK4285	<i>Dermaococcus</i> sp.	98	99	YM	Deep-sea actinomycetes
SK4288	<i>Lactobacillus plantarum</i>	97	100	MRS	Probiotic
SK4289	<i>Staphylococcus capitis</i>	96	99	YM	Pathogen

- 오미자박 (Omija pomace)에서 자생하는 유용 미생물을 분리하여 발효용 균주를 선별하기 위하여 실시함
- 오미자박과 배양액의 비율을 달리하여 오미자박의 자연발효액 내 미생물의 생균수 측정 및 유용미생물을 확보함

- 오미자박과 배양액의 비율은 표와 같으며 배지의 종류로는 LB, MRS, YM을 이용함
- 제조한 오미자박과 배양액의 혼합물은 30℃에서 3일간 shaking을 함
- 순차적으로 희석한 후 형성된 집락의 수를 카운팅하여 생균수를 측정함

표. 오미자박 자연발효를 위한 배양액 혼합 비율

Pomace of <i>Schisandra chinensis</i> (g)	Culture media (ml)	Total volume (ml)	Media
0.5	9.5	10	LB/MRS/YM
1	9	10	LB/MRS/YM
1.5	8.5	10	LB/MRS/YM
2	8	10	LB/MRS/YM

- 오미자박 자연 발효물을 배지(LB/MRS/YM)에 도말한 후 나타난 우점종 미생물을 선별하였으며 선별된 미생물을 16S rRNA sequencing 방법으로 동정함
- 동정은 27F (forward primer: 5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')를 이용하여 16S rRNA 유전자의 염기서열을 밝힘. NCBI의 BLAST를 이용하여 Gene bank에서 유전자의 유사성을 분석함
- 오미자박 자연 발효액 내 생균수 측정 및 결과는 아래의 그림과 표에 나타냄.
- 서로 다른 농도의 오미자박을 첨가하여 자연발효를 실시한 후 생균수를 측정한 결과, MRS 배양액은 5 log CFU/ml, YM 배양액에서는 6 log CFU/ml 이상 나타냄
- 오미자박의 첨가 농도에 따라서 생균수는 큰 차이를 보이지 않음
- pH의 경우, 혼합한 배양액 및 오미자박의 첨가 농도와 상관없이 pH가 감소하는 결과를 보였으며 이를 통해 높은 농도의 오미자박에서도 우점종에 의해 발효가 진행되는 것으로 판단함

표. 24시간 자연 발효 후 오미자박의 미생물 균수

Unit : log CFU/ml

Contents of omija pomace, %	Media	
	MRS	YM
5	5.27	6.47
10	5.28	6.64
15	5.76	6.66
20	5.49	6.38

표. 24시간 자연 발효 후 오미자박의 pH 변화

Contents of omija pomace, %	Non-fermentation			After fermentation		
	NA	MRS	YM	NA	MRS	YM
5	5.16	5.84	4.57	4.45	5.62	4.20
10	4.64	5.70	4.22	4.02	5.27	3.82
15	4.08	5.38	4.00	3.72	5.03	3.65
20	3.98	5.34	3.79	3.63	4.87	3.47

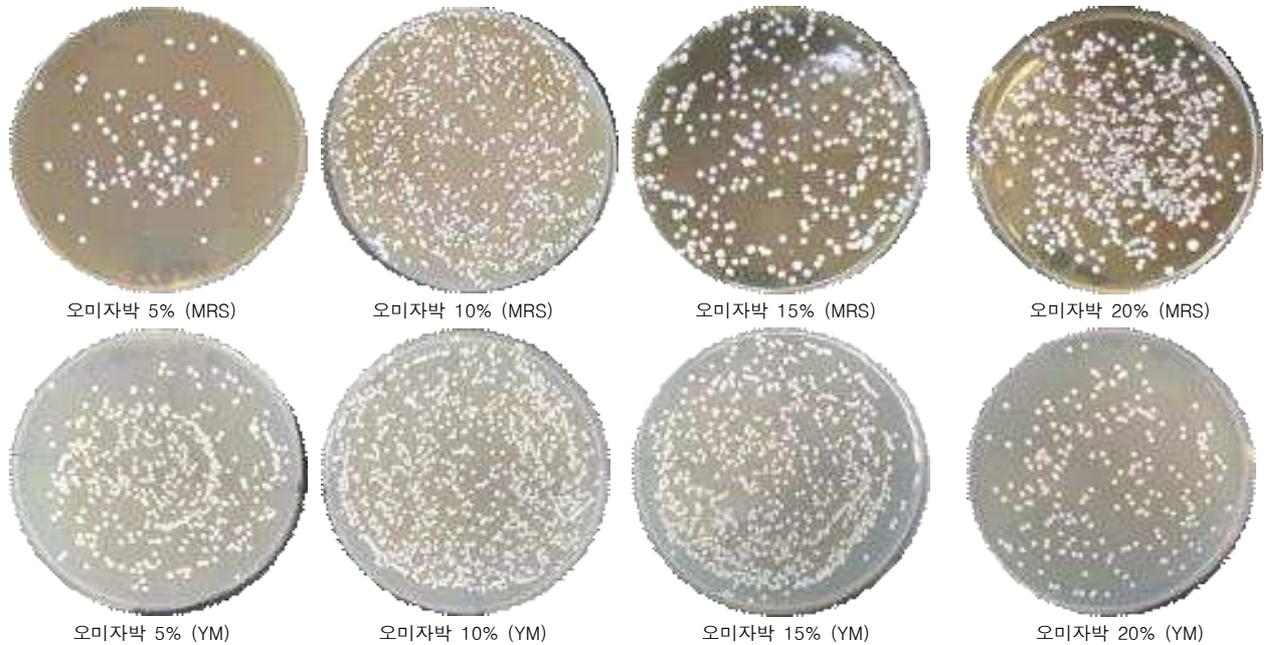


그림. 서로 다른 농도의 오미자박 발효시 나타난 우점균 및 생균수

- 오미자박 발효 미생물 및 난각분말 사료첨가제 후보 생균제를 확보하기 위하여 오미자박 자연 발효액을 도말한 후 나타난 우점종 미생물에 대하여 분리 및 동정하였으며, 그 결과를 아래 표와 그림에 나타냄
- MRS 배양액으로 자연발효시킨 샘플에서는 *Staphylococcus warneri* SK5364, *Hanseniasspora vineae* SK5365, *Weissella confusa* SK5361가 분리됨
- *Staphylococcus warneri*는 그람양성균인 *Staphylococcus*종으로 사람과 동물의 피부에서 발견되는 병원성 균으로 보고됨 (Dong 등, 2017). 피부, 눈 등에서 감염이 발생되어 면역력 저하를 야기하는 광범위한 질병 원인균으로 최근에는 질환이 있는 사람의 간이나 신장에서 분리되었음을 보고함 (Musharrafieh 등, 2014).
- 그러나 오미자박에서 분리한 이 균주도 병원균인지는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료됨
- *Weissella confusa*는 그람양성균으로 heterolactic 발효 경로를 통해 포도당을 발효시켜 젖산과 이산화탄소를 생성함 (Lee 등, 2012). *Weissella confusa*는 김치, 양배추, 사탕수수, 우유 등의 발효를 위해 사용되는 유익균으로 *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *E. coli*와 같은 병원균의 성장을 억제하며 지질 과산화 억제, DPPH, ABTS, 하이드록실 라디칼 소거능 등 항산화 효과를 나타냄 (Shukla와 Goyal, 2011; Lee 등, 2017; Sharma 등, 2018)
- NA 배양액의 경우, *Micrococcus luteus* SK5262, *Bacillus megaterium* SK5362이 분리됨
- *Micrococcus luteus*는 일반적으로 정상 피부 미생물로 알려져 있으며 자연 환경에서 쉽게 발견되는 미생물임 (Willey 등, 2008). Rodriguez-Nava 등 (2020)은 *Micrococcus luteus* 감염으로 인해 심내막염이 발생하는 것을 보고하였으며, 발열 및 혈액수축 이상 등의 증상을 확인함. 또한 이 균은 윤활유(lubricants)나 bioremediation 활성을 가지는 유용균으로도 알려져 있음 (Bodor 등, 2021).
- *Bacillus megaterium*는 자연계에서 흔하게 발견되는 그람 양성균으로 3~45℃까지 생존이 가능하며 페니실린 아실라제, 아밀라제, 프로테아제 등 다양한 효소를 분비함 (Vos 등, 2011; Stancu, 2020). 병원균에 대한 항균력이 있으며 특히 질소 고정 능력이 있어 식물 성장에 도움을 주는 균으로 밝혀짐 (Chinnaswamy 등, 2018)

- YM 배양액에서는 *Hanseniaspora vineae* SK5266, SK5267 및 *Rhodotorula mucilaginosa* SK5360이 분리됨
- *Hanseniaspora vineae*는 최근 *Saccharomyces cerevisiae* 대신으로 포도주 양조에 사용되는 균주로 포도주의 부패를 방지하고 향과 풍미 등 품질을 좋게 하는 것으로 나타남 (Lleixà 등, 2016; Valera 등, 2020)
- *Rhodotorula mucilaginosa*는 외관상 붉은색을 나타내는 효모로 토양과 공기, 음식 등에서 자주 발견되며 기회주의적 병원체로도 보고됨 (Kurtzman, 2011; Wirth와 Goldani, 2012)
- 이후 오미자박, 당밀, 부형제의 혼합에 따른 생균제의 발효 특성을 분석하기 위하여 *Hanseniaspora vineae* SK5267을 사용하였으며, 이 외 공동연구개발기관 (주) 하농의 보유균주인 *Bacillus subtilis* SK5260, SK5349 및 *B. licheniformis* SK5261, SK5350을 적용함

표. 오미자박에서 분리한 미생물

Stock #	Description	Query coverage (%)	Identity (%)	Media	Incubation degree (°C)	Growth ¹⁾
SK5262	<i>Micrococcus luteus</i>	99	100	NA	30	+
SK5264	<i>Staphylococcus warneri</i>	99	100	MRS	30	++
SK5265	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99	99	MRS	30	+++
SK5266	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99	99	YM	30	+++
SK5267	<i>Hanseniaspora vineae</i>	99	99	YM	30	+++
SK5360	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	98	100	YM	30	+
SK5361	<i>Weissella confusa</i>	99	100	MRS	30	++
SK5362	<i>Bacillus megaterium</i>	100	100	NA	30	++

¹⁾+: Normal growth; ++: Fast growth; +++: Very fast growth



Micrococcus luteus SK5262 (NA)



Staphylococcus warneri SK5264 (MRS)



Hanseniaspora vineae SK5265 (MRS)



Hanseniaspora vineae SK5266, SK5267 (YM)

그림. 자연발효한 오미자박 내 우점균

표. 오미자박에서 분리한 미생물의 16S rRNA 염기서열

Stock #	Description	Nucleic Sequence
SK5262	<i>Micrococcus luteus</i>	<p>ACTAGGTGTGGGGACCATTCCACGGTTTCCGCGCCGCGAGCTAACGCATTAAGTGC CCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCC CGCACAAGCGGGCGGAGCATGCGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCA AGGCTTGACATGTTCTCGATCGCCGTAGAGATACGGTTTCCCCTTTGGGGCGGGTT CACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTCGTTCCATGTTGCCAGCACGTAGTGGTGGGGACTCATG GGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGAGGACGACGTCAAATCATCATGC CCCTTATGTCTTGGGCTTACGCATGCTACAATGGCCGGTACAATGGGTTGCGATA CTGTGAGGTGGAGCTAATCCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCCGATTGGGGTCTGCAA CTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCCGTG AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGTCACGAAAGTCGGTAACA CCCGAAGCCGGTGGCCTAACCTTGTGGGGGAGCCGTCGAAGGTGGGACCAGC GATTGGGACTAAGTCGTAC</p> <p>GAGTGCTAGTGTTAGGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCA CTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACC CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAA ATCTTGACATCCTTTGACTGCTCTAGAGATAGAGTCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGT GACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTT GACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCC TTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCTAAACCG CGAGGTCAAGCAAATCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCG ACTACATGAAGCTGGAATCGTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACG TTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGAAG CCGGTGGAGTAACCATTTATGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGGACAAATGATTGGG GTGAAGTCGTA</p>
SK5264	<i>Staphylococcus warneri</i>	<p>TACTGCGGAAGACATTTAAGAAATTTACTGAATTTTTCCGAGCTGCCTGTGTGGCTG CAGACAGAGAGCTAAGCCTGTGCGCCTGCGCTTAATTAGCGCGGCTGCGGGTGGC GTTCTTGCTATTGGCTGTAGTTTGC GCGGTGGTTTTGATTTCACTTCCACTGTGAAG ATTTTTTCATACTTTACTTCTTTGGGCTGCAAGGCCCAAAGTTATAAACACAAACAA CTTTTTTTTTATTACAGACAATCAAAAAATTTCTATTGAAATAAAATATTTTAAACTT TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAAAACGTAGCGAATTGCGGATAA GTAATGTGAATTGCAAATTCCTGTGAATCATTGAATTTTTGAACGCACATTGCGCCC TCTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAAACCCAGT TTTTGGTTGTGAGTGATACTCTGTTACAGGGTTAACTTGAAAATGCTATGCCATTTG GCTGCCCTTCTCTGAGGGGACTGCGCGTCTGTGCAGGATGTAACCAATGTATTTA GGTATTCATACCAACTTTCAATTGTGCGCGTCTTACGCAGTTGTAGTCCACCCAACCT CGGACACACTGGGCTGGCTGGGCCAACAGTATTCATAAAGTTTGACCTCAAATCAG GTAGGAGTACCCGCTGAACCTAAGCATATA</p>
SK5265	<i>Hanseniaspora vineae</i>	<p>TAAGACATTTAAGAAATTTACTGAATTTATTTCCGAAGCTTGCTGTGTGGCTTGCA ACAGAAGAGCTAAGCCTGTGCGCCTGCGCTTAATTAGCGCGGCTGCGGGTGGCGT TCTTGCTATTGGCTGTAGTTTGC GCGGTGGTTTTGATTTCACTTCCACTGTGAAGAT TTTTTCATACTTTACTTCTTTGGGCTGCAAGGCCCAAAGTTATAAACACAAACAACT TTTTTTTTTTATTACAGACAATCAAAAAATTTCTATTGAAATAAAATATTTTAAACTT AACAAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAAAACGTACCGAATTGCGGATAAGTA ATGTGAATTGCAAATTCCTGTGAATCATTGAATTTTTGAACGCACATTGCGCCCTCT GGTATTCAAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAAACCCAGTTTT TGGTTGTGAGTGATACTCTGTTACAGGGTTAACTTGAAAATGCTATGCCATTTGGC TGCCCTTCTCTGAGGGGACTGCGCGTCTGTGCAGGATGTAACCAATGTATTTAGG TATTCATACCAACTTTCAATTGTGCGCGTCTTACGCAGTTGTAGTCCACCCAACCTCG GACACACTGGGCTGGCTGGGCCAACAGTATTCATAAAGTTTGACCTCAAATCAGGT AGGAGTACCCCCGAACCTAAGGCAAACATTTAAGT</p>
SK5266	<i>Hanseniaspora vineae</i>	<p>TAAGACATTTAAGAAATTTACTGAATTTATTTCCGAAGCTTGCTGTGTGGCTTGCA ACAGAAGAGCTAAGCCTGTGCGCCTGCGCTTAATTAGCGCGGCTGCGGGTGGCGT TCTTGCTATTGGCTGTAGTTTGC GCGGTGGTTTTGATTTCACTTCCACTGTGAAGAT TTTTTCATACTTTACTTCTTTGGGCTGCAAGGCCCAAAGTTATAAACACAAACAACT TTTTTTTTTTATTACAGACAATCAAAAAATTTCTATTGAAATAAAATATTTTAAACTT AACAAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAAAACGTACCGAATTGCGGATAAGTA ATGTGAATTGCAAATTCCTGTGAATCATTGAATTTTTGAACGCACATTGCGCCCTCT GGTATTCAAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAAACCCAGTTTT TGGTTGTGAGTGATACTCTGTTACAGGGTTAACTTGAAAATGCTATGCCATTTGGC TGCCCTTCTCTGAGGGGACTGCGCGTCTGTGCAGGATGTAACCAATGTATTTAGG TATTCATACCAACTTTCAATTGTGCGCGTCTTACGCAGTTGTAGTCCACCCAACCTCG GACACACTGGGCTGGCTGGGCCAACAGTATTCATAAAGTTTGACCTCAAATCAGGT AGGAGTACCCCCGAACCTAAGGCAAACATTTAAGT</p>

SK5267	<i>Hanseniaspora vineae</i>	<p>ATTACTGAATTTTCGAGCTGCTTGTGTGGCTGCAGACAGAGAGCTAAGCCTGTGCG CCTGCGCTTAATTGCGCGGCTGCGGGTGGCGTTCTTGCTATTGGCTGTAGTTTGCG CGGTGGTTTTGATTCATTTACACTGTGAAGATTTTTTACTACTTTACTTCTTTGGGC TGCAAGGCCCAAAGGTTATAAACACAAACAACCTTTTTTTTTTATTACAGACAATCAA AAATTTCTATTGAAATAAAATATTTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCG CATCGATGAAAAACGTAGCGAATTGCGATAAGTAATGTGAATTGCAAATTTCTCGTGA ATCATTGAATTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGT TTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAAACCCAGTTTTTGGTTGTGAGTGATACTCTGTTAC AGGGTTAACTTGAAAATGCTATGCCCATTTGGCTGCCCTTCTCTGAGGGGACTGC GCGTCTGTGCAGGATGTAACCAATGTATTTAGGTATTCATACCAACTTTCATTGTGC GCGTCTTACGCAGTTGTAGTCCACCCAACCTCGGACACACTGGGCTGGCTGGGCC AACAGTATTCATAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGAACTTAAGC ATATCATAAAGCGGAAAA</p>
SK5360	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<p>GACTGCGGAGATCATTAGTGAATATAGGACGTCCAACCTTAACTTGGAGTCCGAACT CTCACTTTCTAACCTGTGCACTTGTGGGATAGTAACTCTCGCAAGAGAGCGGAAC TCCTATTCACTTATAAACACAAAGTCTATGAATGTATTAATTTATAACAAAAATAAA CTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA TAAGTAATGTGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGC CTCCATGGTATTCCGTGGAGCATGCCTGTTTGAAGTGTATGAATACTTCAACCCTCC TCTTTCTTAATGATTGAAGAGGTGTTTGGTTTCTGAGCGCTGCTGGCCTTTACGGTC TAGCTCGTTTCGTAATGCATTAGCATCCGCAATCGAATTCGGATTGACTTGGCGTAA TAGACTATTCGCTGAGGAATCTAGTCTTCGGATTAGAGCCGGGTTGGTTAAAGG AAGCTTCTAATCAGAATGTCTACATTTTAAAGATTAGATCTCAAATCAGGTAGGACTAC CCGCTGAACTTAAGCATATCAT</p>
SK5361	<i>Weissella confusa</i>	<p>TGCTAGGTGTTTGAAGGTTTCCGCCCTTAAAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCG CCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAG CGGTGGAGCATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATC CCTTGACAACCTCCAGAGATGGAGTGTCCCTTCGGGGACAAGGTGACAGGTGGTGCAT GGTTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCT TATTACTAGTTGCCAGCATTGAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGG AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG CTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAAGTAACTCTTAAAGTA CGTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCCGAATCGTAGTAAT CGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCGCCGTCAC ACCATGAGAGTTTGTAAACCCAAAGCCGTTGGGGTAACTTCCGGGACCCAGCCGTCT AAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAC</p>
SK5362	<i>Bacillus megaterium</i>	<p>AGTGCTAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGCTGCAGCTAACGCATTAAGCAC TCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCAAGAACCTTACCAG GTCTTGACATCCTCTGACAACCTTAGAGATAGAGCGTTCCCTTCCGGGGACAGAG TGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTGAGTCTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCC CGCAACGAGCGCAACCTTATGCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGG TGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC CTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCAAGACC GCGAGGTCAAGCCAATCCATAAAAACCTTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACT CGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAAT ACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCGTACACCACGAGAGTTTGTAAACCC GAAGTCGGTGGAGTAACCGTAAGGAGCTAGCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTG GGGGTGAAGTCGTA</p>

나. 당침한 오미자박 및 당침하지 않은 오미자박에서의 유용 미생물 생존성 조사

- 오미자박에서 분리한 미생물과 (주) 하농(공동연구개발기관)에서 사용하고자 하는 유용

- 미생물을 대상으로 오미자박을 포함한 혼합물에서의 생존성 및 특성을 조사함
- 후보 유용미생물은 오미자박에서 분리한 *Hanseniaspora vineae* SK5267와 (주) 하농의 보유균주인 *Bacillus subtilis* SK5260과 *B. licheniformis* SK5261을 사용함
 - 단, *Bacillus* sp.의 경우 배양액의 pH를 7.0으로 조정하고 발효를 진행함
 - 오미자박은 (주)문경오미자밸리에서 생산되는 당침한 오미자박과 당침하지 않은 오미자박을 사용하였고 첨가 비율은 5%로 고정함
 - 당밀은 (주) 은진바이오에서, 옥분(옥태말분)은 (주) 하농에서 공급받음
 - 각각의 혼합물 비율은 아래의 표와 같으며 배양 조건은 30℃, 100 rpm에서 1일간 shaking 하였음
 - 순차적으로 희석한 후 형성된 집락의 수를 카운팅하여 생균수를 측정하였고 pH의 변화를 조사하여 발효 특성을 확인하였음

표. 오미자박을 포함한 혼합물의 사용 원료와 비율

Treatment	Ratio
<u>당침 하지 않은 오미자박</u>	
OP	5% Omija + 0% Molasses + 0% Corn bran + 1% Probiotics + 94% Water
OCP	5% Omija + 0% Molasses + 2% Corn bran + 1% Probiotics + 92% Water
OMP	5% Omija + 1% Molasses + 0% Corn bran + 1% Probiotics + 93% Water
OMCP	5% Omija + 1% Molasses + 2% Corn bran + 1% Probiotics + 91% Water
<u>당침한 (sugared) 오미자박</u>	
SOP	5% Sugared omija + 0% Molasses + 0% Corn bran + 1% Probiotics + 94% Water
SOCP	5% Sugared omija + 0% Molasses + 2% Corn bran + 1% Probiotics + 92% Water
SOMP	5% Sugared omija + 1% Molasses + 0% Corn bran + 1% Probiotics + 93% Water
SOMCP	5% Sugared omija + 1% Molasses + 2% Corn bran + 1% Probiotics + 91% Water



당침한 오미자박



당침하지 않은 오미자박

그림. 당침한 오미자박과 당침하지 않은 오미자박

- 생균제로서 사용한 유용미생물은 오미자박에서 분리한 *Hanseniaspora vineae* SK5267과 공동연구개발기관 (주) 하농의 보유 균주인 *B. subtilis* SK5260 및 *B. licheniformis* SK5261로, 각 배양액에 따른 생균제의 유지 및 발효 결과는 아래 표와 그림과 같음
- 배양 결과, 모든 미생물은 각 배양액에서 발효에 의해 pH를 낮추었으며, 생균수 또한 증가하는 것을 확인함
- 하지만 아래 그림과 같이 옥분(corn bran)이 혼합된 배양액에서는 첨가한 바실러스 균들 (*Bacillus subtilis* SK5260, *Bacillus licheniformis* SK5261)과 다른 미생물이 생장하는 것으로 나타났음
- 즉, 옥분이 첨가된 SOCP, SOMCP의 경우 바실러스의 배양액 및 부형제로서 적합하

지 않은 것으로 판단되었으며 이후 난각분말 복합 사료첨가제의 제조 시, 옥분을 제외한 기능성 원료를 사용함

표. 당침한 오미자박을 첨가한 배양액 내 각 유용 미생물의 변화

Item	<i>Hanseniaspora vineae</i> SK5267				<i>Bacillus subtilis</i> SK5260			
	Before fermentation		After fermentation		Before fermentation		After fermentation	
	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml
OP	3.35	5.38	3.27	7.32	6.95	5.75	5.90	7.03
OCP	3.54	5.47	3.45	7.67	7.03	6.01	4.89	8.35
OMP	3.65	5.43	3.42	7.60	6.99	5.85	6.04	7.23
OMCP	3.76	5.38	3.60	7.73	6.96	5.90	4.47	8.63

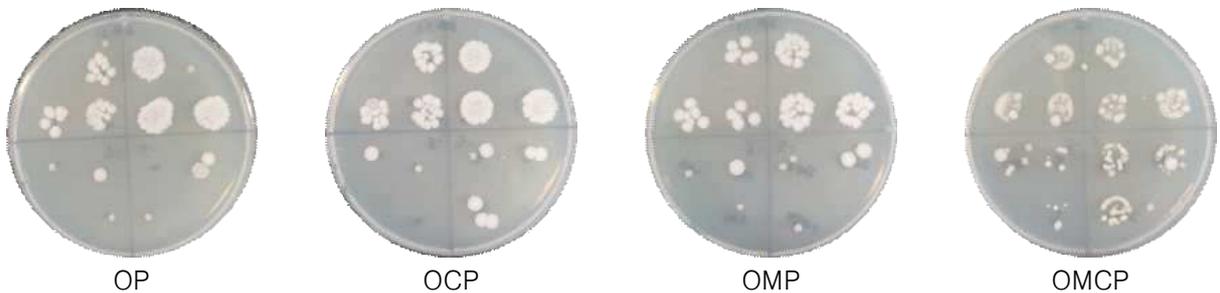
표. 당침하지 않은 오미자박을 첨가한 배양액 내 각 유용 미생물의 변화

Item	<i>Hanseniaspora vineae</i> SK5267				<i>Bacillus subtilis</i> SK5260			
	Before fermentation		After fermentation		Before fermentation		After fermentation	
	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml	pH	CFU/ml
OP	3.10	5.24	3.19	6.90	6.98	5.75	5.79	7.43
OCP	3.21	5.41	3.31	7.29	7.02	5.87	5.96	7.67
OMP	3.29	5.43	3.32	7.34	6.92	5.85	4.40	7.48
OMCP	3.35	5.41	3.39	7.59	7.00	5.94	4.71	7.60

Hanseniaspora vineae SK5267



Bacillus subtilis SK5260



Bacillus licheniformis SK5261

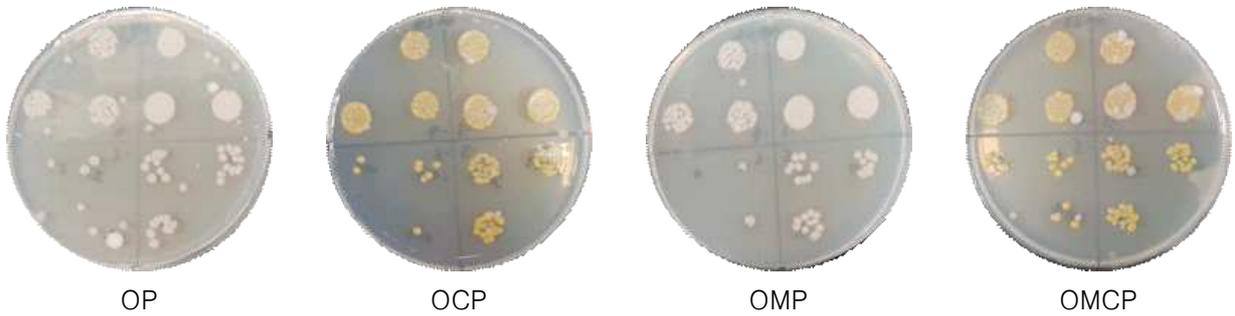


그림. 당침하지 않은 오미자박에서의 미생물 생존성 카운팅

다. 후보 유용 미생물의 효소활성

- 아래 그림과 같이 사료첨가제 제조 시 혼합할 미생물의 amylase, cellulase, protease, xylanase, lipase을 agar plate 방법으로 확인함
- 미생물은 (주) 하농에서 수입하는 바실러스 (*Bacillus subtilis* 2종, *B. licheniformis* 2종) 제품 4개를 비교 분석하였으며, 배양 후 상등액을 채취하여 각 배지에 나타나는 효소 활성 정도를 분석함

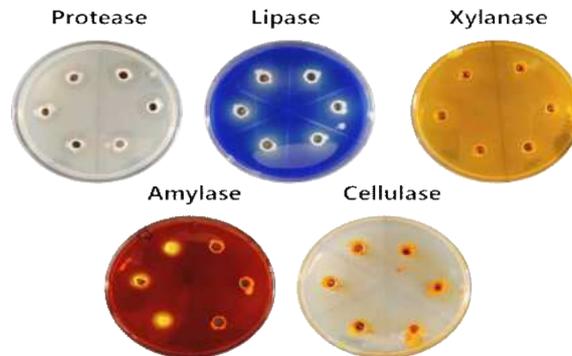


그림. 난각분말 사료첨가제에 활용할 미생물의 효소 활성

- *Bacillus subtilis* SK5260, SK5349 및 *Bacillus licheniformis* SK5261, SK5350의 효소활성을 비교한 결과는 다음 표 및 그림과 같음
- *Bacillus subtilis*의 경우, protease, xylanase 및 cellulase는 두 균주가 비슷한 결과를 나타냄
- 하지만 lipase와 amylase 효소는 *Bacillus subtilis* SK5349가 *Bacillus subtilis* SK5260보다 우수한 것으로 나타남
- *Bacillus licheniformis* 2종을 분석한 결과, protease 효소활성은 모두 비슷한 결과를 나타내었으나, lipase, xylanase, cellulase는 *Bacillus licheniformis* SK5350이 *Bacillus licheniformis* SK5261보다 더 활성이 있는 것으로 밝혀짐. 특히, amylase의 경우 *Bacillus licheniformis* SK5261의 활성은 나타나지 않았으나 *Bacillus licheniformis* SK5350에서는 효소를 분비하는 것으로 나타남
- 최종적으로, 난각분말 복합사료첨가제에 사용할 바실러스 균주는 *Bacillus subtilis* SK5349, *Bacillus licheniformis* SK5350으로 결정함

표. Bacillus종의 효소 활성능

Stock #	Description	Enzymatic activity ¹⁾				
		Protease	Lipase	Xylanase	Amylase	Cellulase
SK5260	<i>B. subtilis</i>	++	++	+++	+	+++
SK5261	<i>B. licheniformis</i>	+++	++	++	-	++
SK5349	<i>B. subtilis</i>	++	+++	+++	++	++
SK5350	<i>B. licheniformis</i>	+++	+++	+++	++	+++

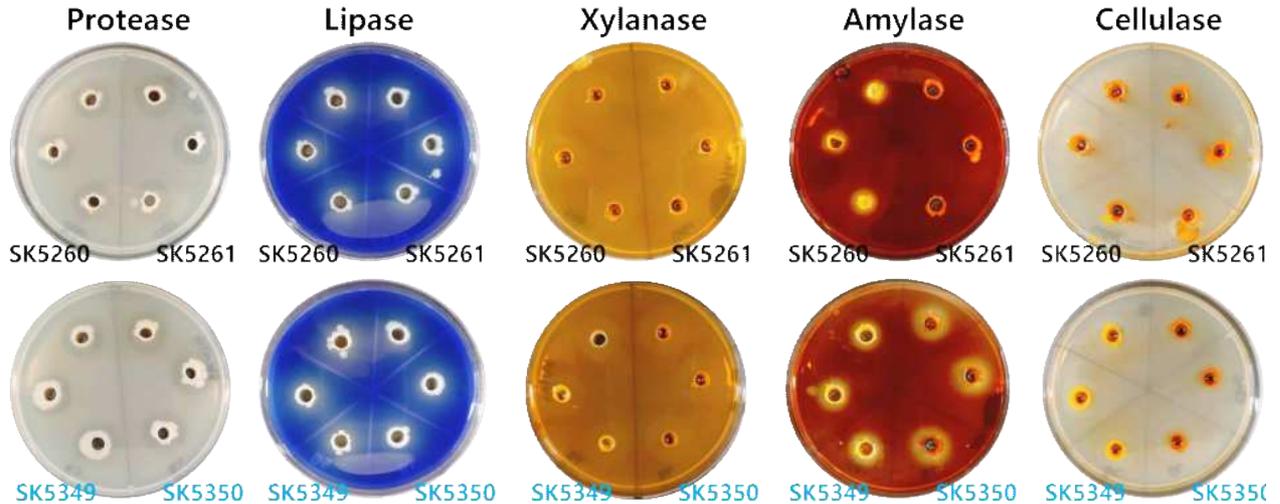


그림. 각 바실러스 균들의 효소활성

라. 오미자박, 난각분말, 당밀 등 후보 원료들의 일반성분 분석

- 난각분말 활용 사료첨가제 시제품 생산을 위하여 사용하고자 하는 혼합 물질들의 일반성분분석을 실시함
- 오미자박은 (주)문경오미자밸리에서 생산하고 있는 당침한 오미자박과 당침하지 않은 오미자박 2종류를 분석하였으며, 난각분말은 난가공류 식품 생산공장인 (주) 품림푸드, 당밀은 (주) 은진바이오에서 공급받은 제품을 분석함
- 조사한 천연물의 가금에 대한 급이 효과와 참고문헌은 아래의 표와 같다.

표. 난각분말 사료첨가제 혼합원료의 종류 및 기능

Item	Function	Reference
난각분말	<ul style="list-style-type: none"> • 가축의 칼슘 공급원으로 훌륭한 자원으로 알려짐 • 가축의 골밀도가 증가되며 체내 문제없이 이용 가능함 • 생균제의 생균수를 유지시키고 생균제 담체로써 이용 가능함 	Gongruttananun, 2011 Lee 등, 2018 Lee 등, 2021
오미자박	<ul style="list-style-type: none"> • 장관 내 질병을 예방시켜줌 • 담즙 배설을 촉진하고 과산화지질 생성을 억제함 • 항바이러스, 항균 등 생리활성 기능을 보유하고 있음 	Matsuzaki 등, 1991 Yao 등, 2008 Lee 등, 2008 Choi 등, 2013
당밀	<ul style="list-style-type: none"> • 프로바이오틱 제제의 개발을 위한 가장 저렴한 기질 • 가축의 사료섭취, 소화 및 생산성에 긍정적 영향을 줌 	Bezabih 등, 2012 Koshchaev 등, 2019 Havekes 등, 2020

- 분석 의뢰기관은 한국단미사료협회, 건국대학교 동물자원연구센터에 의뢰하여 분석하였으며, 각각 원료들의 분석항목은 다음과 같음
- 분석 결과에 따라 사료첨가제 내 안전성, 사용 시 기대효과 등을 조사하였으며, 최종 시제품 생산 시 사용할 원료들을 선정하였음

표. 각 첨가원료의 성분분석 항목

Item	Analysis items
난각분말	수분, 조회분, 칼슘, 인, 납, 카드뮴, 비소, 수은, 불소, 살모넬라, 반추동물유래 단백질혼입
오미자박	수분, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분, NDF, ADF
당밀	수분, 납, 카드뮴, 수은, 아플라톡신, 오크라톡신, 총당, 브릭스계수(당도)

- 각 기능성 원료들의 일반성분 분석 결과와 성적서는 아래의 표와 같음
- 난각분말 분석결과, 칼슘과 인이 각각 28.46%, 0.36%로 나타났으며 중금속 (납, 카드뮴, 비소, 수은)과 살모넬라 및 반추동물유래단백질혼입은 불검출로 나타나 사료첨가제 원료로서 안정성이 있는 것으로 판단되었음
- 당침한 오미자박과 당침하지 않은 오미자박을 분석한 결과에서는 당침 여부에 따라 분석항목 (조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분, ADF, NDF)에 대한 차이를 보였음
- 당밀의 경우 당도를 나타내는 브릭스계수가 79.23 brix로 나타났으며 납, 카드뮴, 수은, 아플라톡신 및 오크라톡신A는 불검출되어 가축사료첨가제 원료로서 사용이 가능한 것으로 판단되었음

표. 첨가원료의 성분분석 결과

Item	Analysis items
난각분말	수분 (0.96%), 조회분 (87.68%), 칼슘 (28.46%), 인 (0.36%), 불소 (9.67 ppm) 납, 카드뮴, 비소, 수은, 살모넬라, 반추동물유래단백질혼입 (불검출)
오미자박	당침 O 수분 (33.7%), 조단백질 (12.61%), 조지방 (19.28%), 조섬유 (15.72%), 조회분 (2.15%), NDF (25.11%), ADF (19.81%)
	당침 X 수분 (26.6%), 조단백질 (5.83%), 조지방 (10.04%), 조섬유 (9.31%), 조회분 (0.95%), NDF (15.62%), ADF (11.26%)
당밀	수분 (23.41%), 총당 (45.16%), 브릭스계수 (79.23 Brix) 납, 카드뮴, 수은, 아플라톡신 (B1, B2, G1, G2), 오크라톡신A (불검출)

표. 사료첨가제 혼합 원료의 일반성분 분석표

		<p>▶ 검체정보</p> <table border="1"> <tr> <td>제조일자</td> <td>2020. 12. 21</td> </tr> <tr> <td>품명</td> <td>당밀 (Gugarcane Molasses)</td> </tr> <tr> <td>거래처명</td> <td>하은진바이오</td> </tr> </table>	제조일자	2020. 12. 21	품명	당밀 (Gugarcane Molasses)	거래처명	하은진바이오																																								
제조일자	2020. 12. 21																																															
품명	당밀 (Gugarcane Molasses)																																															
거래처명	하은진바이오																																															
<p>▶ 분석사항</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>성분</th> <th>단위</th> <th>규격</th> <th>시험결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>수분</td> <td>%</td> <td>25</td> <td>23.41</td> </tr> <tr> <td>총당(TSAI)</td> <td>%</td> <td>45</td> <td>45.16</td> </tr> <tr> <td>브릭스 계수(당도)</td> <td>Brix</td> <td>75</td> <td>79.23</td> </tr> <tr> <td>납(Pb)</td> <td>ppm</td> <td>20</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>카드뮴(Cd)</td> <td>ppm</td> <td>2.5</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>수은(Hg)</td> <td>ppm</td> <td>0.5</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>아몰라톡신 B1</td> <td>ppb</td> <td rowspan="3">50</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>아몰라톡신 B2</td> <td>ppb</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>아몰라톡신 G1</td> <td>ppb</td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>아몰라톡신 G2</td> <td>ppb</td> <td></td> <td>불검출</td> </tr> <tr> <td>오크라톡신(AH/C)</td> <td>ppb</td> <td>250</td> <td>불검출</td> </tr> </tbody> </table>			성분	단위	규격	시험결과	수분	%	25	23.41	총당(TSAI)	%	45	45.16	브릭스 계수(당도)	Brix	75	79.23	납(Pb)	ppm	20	불검출	카드뮴(Cd)	ppm	2.5	불검출	수은(Hg)	ppm	0.5	불검출	아몰라톡신 B1	ppb	50	불검출	아몰라톡신 B2	ppb	불검출	아몰라톡신 G1	ppb	불검출	아몰라톡신 G2	ppb		불검출	오크라톡신(AH/C)	ppb	250	불검출
성분	단위	규격	시험결과																																													
수분	%	25	23.41																																													
총당(TSAI)	%	45	45.16																																													
브릭스 계수(당도)	Brix	75	79.23																																													
납(Pb)	ppm	20	불검출																																													
카드뮴(Cd)	ppm	2.5	불검출																																													
수은(Hg)	ppm	0.5	불검출																																													
아몰라톡신 B1	ppb	50	불검출																																													
아몰라톡신 B2	ppb		불검출																																													
아몰라톡신 G1	ppb		불검출																																													
아몰라톡신 G2	ppb		불검출																																													
오크라톡신(AH/C)	ppb	250	불검출																																													

난각분말 분석결과

당밀 분석결과 - 1

당밀 분석결과 - 2

검사결과서			
무번번호:주호	050201	시험시점:구 농도 1.00	건국대학교 동물자원연구팀
신청번호	021-4501-30008		
분석번호	021-0555		
검수번호	021072704		
무 번	재용		
이 명	당 당자-1		
시험명			
위험성분	중량결과	단위	비고
포당백분	12.87		
포지방	18.52		
포단백	16.53		
포수분	6.53		
MOF	16.76		
MOF	19.99		
<p>본 내장은 개별지가 제공된 시료에 대한 결과이며, 이 시료 결과서는 영도 이하의 영한, 조영, 기타 일체로인하여 사용될 수 없습니다.</p> <p>2021년 8월 6일</p> <p>건국대학교 동물자원연구센터장</p>			

당침한 오미자박

검사결과서			
무번번호:주호	050201	시험시점:구 농도 1.00	건국대학교 동물자원연구팀
신청번호	021-4501-30008		
분석번호	021-0555		
검수번호	021072707		
무 번	재용		
이 명	당 당자-1		
시험명			
위험성분	중량결과	단위	비고
포당백분	6.00		
포지방	9.40		
포단백	9.34		
포수분	2.53		
MOF	9.499		
MOF	10.66		
<p>본 내장은 개별지가 제공된 시료에 대한 결과이며, 이 시료 결과서는 영도 이하의 영한, 조영, 기타 일체로인하여 사용될 수 없습니다.</p> <p>2021년 8월 6일</p> <p>건국대학교 동물자원연구센터장</p>			

당침 안한 오미자박

마. 난각분말 복합사료첨가제의 특성 및 생리활성 조사

공동연구개발기관과 결정한 배합비를 통해 생산된 복합사료첨가제 시제품의 일반영양성분과 함께 상온 보관시 생리활성 특성을 평가함. 2021년 12월 24일에 (주) 하농에서 생산한 시제품인 난각분말 복합사료첨가제의 내용물은 아래 사진과 같음



그림. 난각분말 복합사료첨가제 시제품

바. 난각분말 첨가 시 산란계의 사양효과 실험에 대한 국제논문 발표

칼슘원으로 난각분말이 패각 등과 비교 시 우수함을 증명함

Lee, W. D., Kothari, D., Niu, K. M., Lim, J. M., Park, D. H., Ko, J., ... & Kim, S. K. (2021). Superiority of coarse eggshell as a calcium source over limestone, cockle shell, oyster shell, and fine eggshell in old laying hens. *Scientific reports*, 11(1), 1–10.

scientific reports

OPEN Superiority of coarse eggshell as a calcium source over limestone, cockle shell, oyster shell, and fine eggshell in old laying hens

Woo-Do Lee^{1,2}, Damini Kothari^{1,2}, Kai-Min Niu^{1,2}, Jeong-Min Lim¹, Do-Hye Park¹, Seemin Ko¹, Kidong Eom¹ & Soo-Ki Kim^{1,2*}

Chicken eggshell (ES) waste is a rich source of calcium carbonate (CaCO₃); however, the potential of ES as dietary calcium (Ca) in old laying hens has not been explored. This study compared the effects of feeding limestone, cockle shell, oyster shell, fine ES, and coarse ES as the sole Ca source on production performance, egg quality, blood biochemical constituents, and tibia characteristics in old laying hens. A total of 450 ISA-Brown laying hens at 73 wk of age with similar egg production rate (EP) were randomly assigned to 5 treatment groups (50 hens/group, 8 hens/henhouse) for 7 wk. Dietary treatment groups comprised a corn-soybean meal-based diet containing different Ca sources: (i) limestone (LS; < 2 mm and 2–4 mm mixed in the ratio of 3:7) as control, (ii) cockle shell (CS; 1–4 mm), (iii) oyster shell (OS; 3–54 mm), (iv) ES fine particles (ESF; < 1 mm), and (v) ES coarse particles (ESC; 2–8 mm). Results indicated that dietary inclusion of coarse ES particles significantly increased average egg weight ($P < 0.001$) and daily egg mass ($P < 0.05$), and decreased feed conversion ratio ($P < 0.001$) as compared with the other treatments. However, no significant differences in EP, feed intake, cracked egg proportion, and mortality were observed among the dietary treatments ($P > 0.05$). Notably, the use of ESC led to a lower proportion of cracked eggs than ESC ($P < 0.05$). ESC fed hens produced the heaviest eggs whereas CS fed hens produced the lightest ($P < 0.001$); the particle size of ES also affected the egg weight ($P < 0.05$). The eggs from OS and ESC fed hens showed a greater albumen height in comparison to eggs from CS group ($P < 0.05$), but no significant differences were observed among the LS, OS, ESF, and ESC groups ($P > 0.05$). The yolk color was darker in the eggs of group ESF as compared with other dietary groups ($P < 0.05$). However, no significant effects on Haugh units and shell properties were observed among the treatments ($P > 0.05$). The blood biochemistry results were not affected by the dietary Ca ($P > 0.05$) except for lower levels of high-density lipoprotein percentage (HDL-%) in OS and ESC fed hens ($P < 0.05$). The tibia characteristics including weight, length, width, and breaking strength did not differ among the dietary groups ($P > 0.05$). However, the ESC and OS fed hens showed higher tibia mineral density (BMD) than the other groups ($P < 0.001$). In conclusion, coarse ES as a sole Ca source had beneficial effects on the production performance, egg quality, and tibia BMD in old laying hens.

■ 주관연구개발기관: (주) 하농

가. 후보 기능성 원료들의 일반성분 분석

난각분말 활용 사료첨가제 시제품 생산을 위하여 사용하고자 하는 원료의 혼합 물질들의 일반성분 분석을 실시함. 분석 원료는 (주) 하농에서 보유하고 있는 기능성 제품과 가금에 긍정적인 영향을 주는 천연 물질을 선별함. 조사한 천연물의 가금에 대한 급이 효과와 참고문헌은 아래의 표와 같음

표. 난각분말 사료첨가제 혼합원료의 종류 및 기능

Item	Function	Reference
이스트컬처	<ul style="list-style-type: none"> 가금의 아플라톡신증 중증도 감소 가금의 체중 증가 및 사료 효율 개선 가금의 면역력, Ca 및 P의 소화율, 장 특성 개선 	<p>Stanley 등, 1993</p> <p>Santin 등, 2001</p> <p>Gao 등, 2008</p>
진세노사이드	<ul style="list-style-type: none"> 산란계의 산란율과 난중 향상 가금의 항염증, 항산화 등 생리적 기능 	<p>Jang 등, 2007</p> <p>Bi 등, 2019</p> <p>Song 등, 2021</p>
천연미네랄	<ul style="list-style-type: none"> 가금의 생산성 및 체내 면역력을 향상시킴 가금의 경골 길이, 강도 및 미네랄 함량을 개선시킴 난각 등 계란의 구조적 특성 및 품질 개선 	<p>Abdallah 등, 2009</p> <p>Mishra 등, 2013</p> <p>Stefanello 등, 2014</p> <p>Guz 등, 2019</p>
포도당	<ul style="list-style-type: none"> 고온 환경 하 가금의 생산성 저하를 방지하고 생리학 적 및 면역학적 반응을 유지시킴 가금의 간, 난관 및 비장에서 항산화 능력을 증가시킴 	<p>Takahashi 등, 2002</p> <p>Zhao 등, 2021</p> <p>Kong and Adeola, 2013</p>
비타민	<ul style="list-style-type: none"> 비타민 D₃ 보충으로 계란의 품질이 개선됨 	<p>Mattila et al., 2011</p>

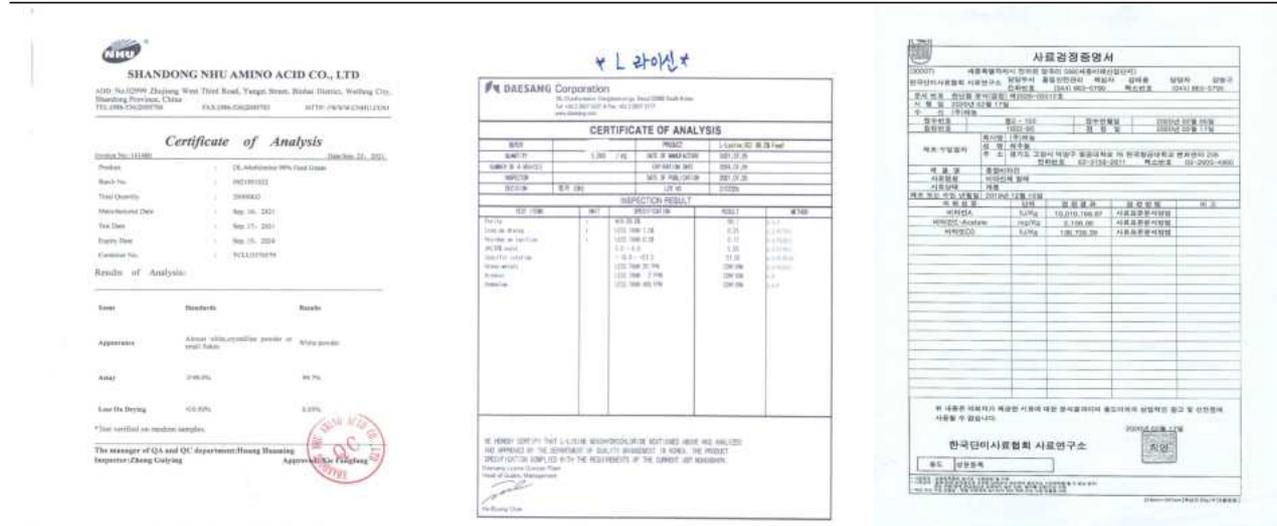
(A, D ₃ , E)	<ul style="list-style-type: none"> • 가축의 생산성 및 사료효율, 영양소 소화율, 면역 반응 및 항산화능 개선 • 도체 특성 개선, 혈청 MDA 농도 감소 	Khan et al., 2011 Kucuk et al., 2003
라이신	<ul style="list-style-type: none"> • 가금의 생산성 향상 • 사료 효율 개선 및 계란의 품질 향상 • 장내 특성 개선 (소장의 점막 등) 	Nasr and Kheiri, 2011 Novak 등, 2004 Franco 등, 2006 Figueiredo 등, 2012
메치오닌	<ul style="list-style-type: none"> • 계육의 품질과 중량을 개선시킴 • 고단백 사료를 먹인 닭과 비슷한 생산성을 보이며 사료효율을 개선시킴. • 계란의 내부 품질 개선 및 난각의 미세구조 증가 	Albrecht 등, 2017 Ahmed와 Abbas, 2011 Hsu 등, 1998 Li 등, 2018

- 분석 의뢰기관은 한국단미사료협회 등 분석기관에 의뢰하여 분석하였음
- 분석 결과에 따라 사료첨가제 내 안전성, 사용 시 기대효과 등을 조사하였으며, 최종 시제품 생산 시 사용할 원료들을 선정하였음
- 이스트컬처 등 기능성 원료들의 일반성분 분석 결과와 성적서는 아래의 표와 같음
- 이스트컬처의 생균수는 *Saccharomyces cerevisiae*가 1.4×10^8 CFU/g으로 나타났으며 살모넬라 및 아플라톡신은 불검출로 나타났음
- 천연미네랄인 라파부러운 제품은 산화알루미늄 15.94%, 이산화규소 73.13%, 염기치환용량 8.36 meq/100g이며, 포도당 제품은 91.14%의 포도당과 8.65%의 수분으로 구성되어 있었음
- 아미노산제인 라이신과 메치오닌은 각각 99.1%, 99.7%의 성분이 함유되어 있었으며 비타민의 경우, 비타민 A 10,010,168.87 IU/kg, 비타민 D₃ 136,738.39 IU/kg, 비타민 E-Acetate 2,156.00 mg/kg로 나타났음
- 각 원료들의 항목에 따른 구체적 수치는 아래와 같음

표. 기능성 원료의 성분분석 결과

Additives	Analysis items
이스트컬처	수분 (9.05%), 조단백질 (26.44%), 조섬유 (7.13%), 조회분 (4.56%), 필수아미노산 (8.52%), 생균수 (1.4×10^8 CFU/g) 아플라톡신, 살모넬라 (불검출)
진세노사이드	진세노사이드 Rg1, Rb1, Rg3의 합 (1.72mg/g)
천연미네랄	수분 (0.68%), 산화알루미늄 (15.94%), 이산화규소 (73.13%), 염기치환용량 (8.36 meq/100g)
포도당	수분 (8.65%), 포도당 (91.14%)
비타민 (A, D ₃ , E)	비타민 A (10,010,168.87 IU/kg), 비타민 D ₃ (136,738.39 IU/kg), 비타민 E-Acetate (2,156.00 mg/kg)
라이신	라이신 (99.1%), 수분 (0.25%),
메치오닌	메치오닌 (99.7%)

표. 사료첨가제 혼합 원료의 일반성분 분석표



메치오닌 분석 결과

라이신 분석 결과

비타민제 분석 결과



천연미네랄 분석 결과

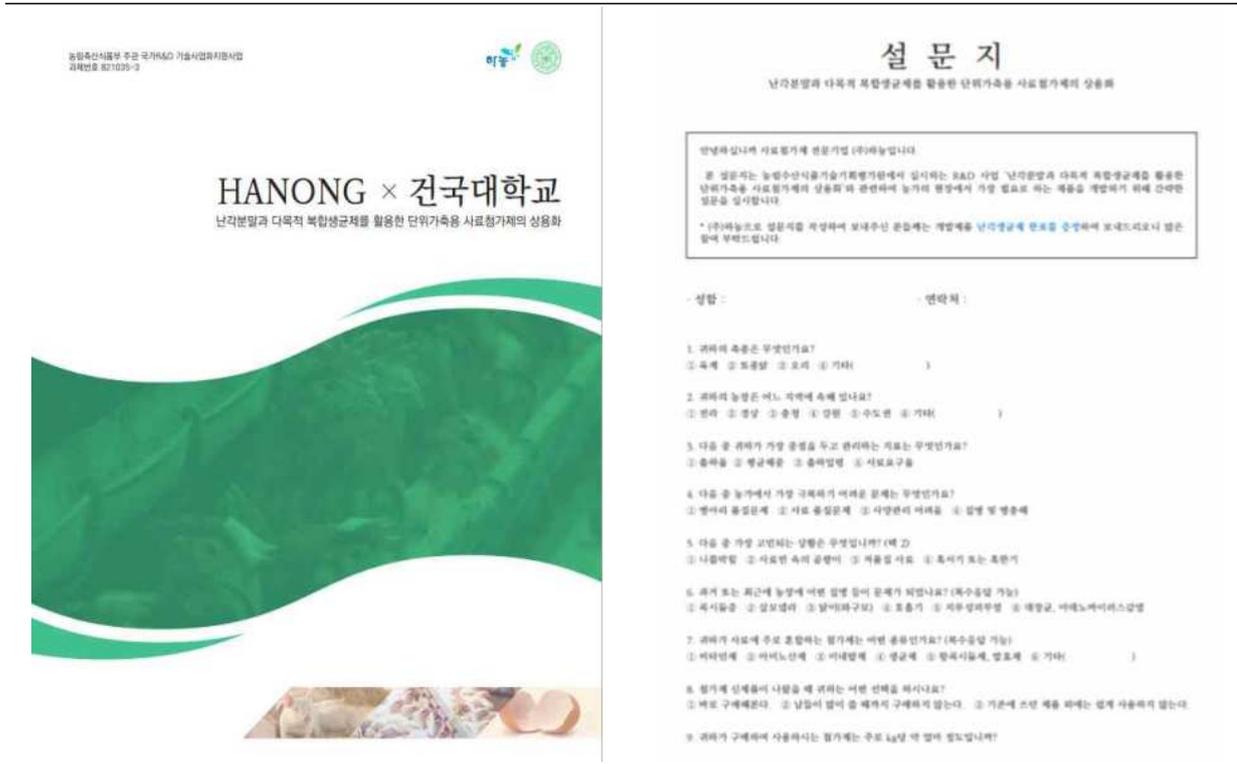
이스트컬처 생균수

포도당 분석 결과

나. 난각분말 복합사료첨가제의 소비자 설문 및 선호도 조사

- 국내 가금 농가에서 선호하는 사료첨가제 효능, 가격, 품질, 첨가원료 등 현장에서 가장 필요로 하는 제품을 개발하기 위하여 설문지와 제품 팸플릿을 제작하였음
- 설문지와 제품 홍보 팸플릿은 주관연구개발기관과 공동연구개발기관이 수차례 회의를 통하여 제작하였으며, 제품 생산 시 필요한 정보를 수집하고 농가현장의 애로사항을 파악하기 위하여 총 21개의 지문을 제시하였음
- 제작된 팸플릿 시안과 설문지는 아래와 같으며, 국내 농가를 무작위 선별하여 조사한 후 수집된 결과와 의견을 정리하였음
- 최종적으로 나타난 결과는 시제품 생산에 참고하였다.

표. 제품 홍보 팸플릿 및 설문지



난각분말 복합생균제 제품 홍보 팸플릿

설문지(일부)

- 설문 결과를 종합한 내용은 다음 표와 같음
- 설문 조사한 농가는 경상도, 충청도, 강원도 등의 가금농장으로 산란계, 백세미, 육계, 오리 순으로 조사되었음
- 중점적으로 관리하는 지표는 사료요구율이었으며 극복하기 어려운 문제도 사료의 품질 문제 (저품질 사료)인 것으로 밝혀졌음
- 최근 농가에서 피해를 야기한 질병은 콕시듐병과 호흡기 질병이었음
- 주로 사용하는 사료첨가제는 생균제와 비타민제 등 2가지 이상의 제품을 사용하는 농가들이 많았으며 kg당 2~4,000원의 제품을 사용하고 있었음
- 가장 보완이 필요하다고 생각하는 성분은 아미노산과 미네랄 성분이었으며 본 연구를 통해 사육성적을 개선시킬 수 있는 제품이 나온다면 구매할 의향이 있는 것으로 조사됨
- 특히, 고려하는 사료첨가제의 적정가격이 2~3,000원/kg인 것을 참고하여 난각분말 복합사료첨가제의 제품 가격을 이 범위 내에 맞추기 위하여 다양한 배합비를 고안하였음
- 결과적으로 난각분말 복합사료첨가제는 가금 사양에 긍정적인 영향을 주는 생균제가 포함된 제품으로, 아미노산과 미네랄 성분 보완 및 사료첨가제의 질병의 억제 검증이 필요한 것으로 판단되었음
- 또한 기능성 외에도 국내 농가에서 선호하는 사료첨가제 적정 가격 범위로 생산하기 위하여 각 원료들의 첨가 비중을 조절하였음

표. 국내 축산농가 대상 난각분말 복합 사료첨가제 선호도 조사 (대상: 국내 농가 20곳)

#	설문 사항
Q1.	귀하의 축종은 무엇인가요?
A1.	① 육계 (7) ② 토종닭 ③ 오리 (1) ④ 기타 (산란계, 백세미, 종계 등 12)
Q2.	귀하의 농장은 어느 지역에 속해 있나요?
A2.	① 전라 (5) ② 경상 (6) ③ 충청 (6) ④ 강원 (1) ⑤ 수도권 (2)
Q3.	다음 중 귀하가 가장 중점을 두고 관리하는 지표는 무엇인가요?
A3.	① 출하율 (2) ② 평균체중 (5) ③ 출하일령 ④ 사료요구율 (13)
Q4.	다음 중 농가에서 가장 극복하기 어려운 문제는 무엇인가요?
A4.	① 병아리 품질문제 (9) ② 사료 품질문제 (7) ③ 사양관리 어려움 (2) ④ 질병 및 병충해 (2)
Q5.	다음 중 가장 고민되는 상황은 무엇입니까(두 가지 선택)?
A5.	① 니플막힘 (5) ② 사료빈 속의 곰팡이 (3) ③ 저품질 사료 (17) ④ 흑서기 또는 흑한기 (10) ⑤ 종란, 품질관리 (1)
Q6.	과거 또는 최근에 농장에 어떤 질병 등이 문제가 되었나요(복수응답 가능)?
A6.	① 콕시듐증 (4) ② 살모넬라 ③ 닭이(와구모) (3) ④ 호흡기 (7) ⑤ 장염 (2) ⑥ 지루성피부염 (3) ⑦ 아데노바이러스감염 (2) ⑧ 기타 (티푸스) (1)
Q7.	귀하가 사료에 주로 혼합하는 첨가제는 어떤 종류인가요(복수응답 가능)?
A7.	① 비타민제 (5) ② 아미노산제 (1) ③ 미네랄제 (2) ④ 생균제 (11) ⑤ 항콕시듐제 (4) ⑥ 기타 (난각 강화제 등 2)
Q8.	첨가제 신제품이 나왔을 때 귀하는 어떤 선택을 하시나요?
A8.	① 바로 구매해 본다 (3) ② 남들이 많이 쓸 때까지 구매하지 않는다 (9) ③ 기존에 쓰던 제품 외에는 쉽게 사용하지 않는다 (7) ④ 타당성이 있으면 쓴다 (1)
Q9.	귀하가 구매하여 사용하시는 첨가제는 주로 kg당 약 얼마 정도입니까?
A9.	① 2,000원 (5) ② 3,000원 (4) ③ 4,000원 (4) ④ 5,000원 (1) ⑤ 기타 (7,000원 등 6)
Q10.	다음 중 사료에서 가장 보완이 필요하다고 생각하는 성분은 무엇입니까?
A10.	① 조단백 (3) ② 아미노산 (7) ③ 비타민 (3) ④ 미네랄 (6) ⑤ 기타 () (1)
Q11.	귀하는 몇 가지의 첨가제를 사용하고 있습니까?
A11.	① 사용하지 않는다 (1) ② 1가지 (3) ③ 2가지 (6) ④ 3가지 (5) ⑤ 4가지 이상 (5)
Q12.	귀하가 사용해본 첨가제 중 가장 효과적이었다고 생각하는 제품은 무엇인가요?
A12.	① 제품명 : 메치오닌, LBC-SC, 알기나제, 엑스소이, 라파부러운, 부러운팜, 생균제 ② 제조사명 : 캐나다산, 고려비엔피, 은진바이오, 유한, 소마 등
Q13.	본 연구를 통해 사육성적을 개선시킬 수 있는 신제품이 나온다면 귀하는 제품을 사용할 용의가 있습니까?
A13.	① 매우 그렇다 (4) ② 그렇다 (8) ③ 보통 (7) ④ 그렇지 않다 (1) ⑤ 전혀 그렇지 않다
Q14.	귀하가 구독하는 월간지는 무엇입니까(복수응답 가능)?
A14.	① 월간폴트리 (5) ② 월간양계 (7) ③ 월간닭고기 (4) ④ 병아리마을 (1) ⑤ 현대양계 (스마트양계) (9) ⑥ 기타 ()
Q15.	1일 혹은 1주에 양계분야 유튜브 몇 번 시청합니까?
A15.	① 1회 (4) ② 1~2번 2회 (8) ③ 4회 (2) ④ 기타 (6)
Q16.	제품정보나 양계업계 정보 얻기 위해 어떤 SNS를 활용하십니까?

- A16. ① 네이버 밴드 (2) ② 네이버 카페 (1) ③ 인스타그램 ④ 카카오톡 (6) ⑤ 기타 () (11)
- Q17. 첨가제의 적정 가격은 kg 얼마로 생각하십니까?
- A17. ① 2,000원 (5) ② 3,000원 (7) ③ 4,000원 (1) ④ 5,000원 (2) ⑤ 기타 () (5)
- Q18. 사육과정에서 첨가제가 도움 된다고 생각하십니까?
- A18. ① 매우 그렇다 (2) ② 그렇다 (16) ③ 아니다 (2) ④ 전혀 아니다
- Q19. 현재 사용 중인 첨가제 비용은 약품비(50/수)에서 몇%(얼마나) 차지하시나요?
- A19. ① 1-10% (3) ② 11-20% (4) ③ 21-30% (2) ④ 31-40% (1) ⑤ 41-50% (2) ⑥ 기타 () (1)
- Q20. 첨가제 사용과 사양컨설팅이 적용되면 더 큰 효과가 있다고 생각하십니까?
- A20. ① 매우 그렇다 (2) ② 그렇다 (18) ③ 아니다 ④ 전혀 아니다
- Q21. 난각분말은 체내 흡수율이 뛰어난 칼슘원으로 알려져 있고, 오미자박은 AI에 대한 항병원성 등 다양한 면역물질을 함유하고 있습니다. 난각과 오미자박을 포함한 생균제가 개발된다면 사용할 의사가 있으십니까?
- A21. ① 매우 그렇다 (2) ② 그렇다 (17) ③ 아니다 (1) ④ 전혀 아니다

다. 난각분말 복합사료첨가제 시제품 생산을 위한 첨가원료의 비율 결정

- 난각분말 복합사료첨가제를 생산하기 위하여 오미자박 첨가 시 생존이 가능한 생균제를 선정하였으며, 원료 혼합 시 안전성에 문제가 되지 않는 원료들을 확인하여 사용하였음
- 또한 설문조사 결과를 통해 농가의 선호도 조사, 애로사항 및 각각 원료의 단가 등을 고려하였으며 최종적으로 난각분말 복합사료첨가제 시제품 생산을 위한 원료의 첨가 비율을 결정하였음
- 난각분말 복합사료첨가제 생산에 사용한 원료는 다음과 같음

표. 난각분말 복합사료첨가제 생산에 사용한 원료명

No .	원료명	No .	원료명	No .	원료명	No .	원료명
1	난각분말	2	오미자박	3	<i>Bacillus subtilis</i>	4	<i>B. licheniformis</i>
5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6	<i>B. licheniformis</i> SK4279 배양체	7	<i>B. subtilis</i> SK4282 배양체	8	<i>Lactobacillus plantarum</i> SK4288 배양체
9	유기태미네랄	10	진세노사이드	11	천연미네랄	12	이스트컬처
13	당귀	14	비오틴	15	비타민A, D3, E	16	비테인
17	라이신	18	메치오닌				

- 원료 중 SK4279 배양체, SK4282 배양체, SK4288 배양체는 주관연구개발기관이 난각분말에서 분리한 미생물로 축산업에서 흔히 사용되는 유익균이며 효소활성과 가축에 기여하는 효과가 우수해 본 제품 생산에 적용하였음
- 경제성과 기능성을 갖춘 시제품 생산을 위하여 주관연구개발기관과 공동연구개발기관이 수정한 배합비는 다음의 표와 같음
- 처음 결정한 배합비는 주요 첨가원료인 난각분말의 비중을 높게 하였으며 제품 내 생균수를 고려해 각 생균제의 첨가 비율을 결정하였음. 비타민제와 아미노산제는 농가의 설문조사 결과를 참고하여 혼합하였으며 그 외 기능성 원료를 비슷한 수준으로 1차 배합비를 설계하였음
- 이후 수정된 2차, 3차 배합비는 기능성 물질을 함유하고 있는 오미자박과 가금의 면역력 및 아플라톡신 중증을 개선시켜 주는 이스트컬처의 비율을 증가시켰으며 이에 따라 난각분말, 천연미네랄, 포도당 등의 비중을 조절하였음
- 최종적으로 설계한 배합비는 생균제가 오미자박에서 생존 및 성장할 수 있는 비율로 결정하였으며, 단가가 매우 비싼 원료들의 첨가 비율을 조절하여 최종 배합비로 산출된 생산비는 3,000원 이하로 나타났다. (* 최종 배합비는 현재 공동연구개발기관에서 생산하고 있는 시제품의 배합비로 생산 공장도 가격과 함께 외부 공개가 어려워 비공개로 기재함)

표. 난각분말 복합사료첨가제 생산 시 각 원료의 첨가 비율 및 배합비

기능성 원료	첨가 비율 (%)			
	1차	2차	3차	최종
난각	50.00	40.00	30.00	비공개
오미자박	0.20	10.20	10.00	비공개
<i>Bacillus subtilis</i>	3.00	3.00	3.00	비공개
<i>B. licheniformis</i>	3.00	3.00	3.00	비공개
<i>S. cerevisiae</i>	3.00	3.00	3.00	비공개
SK4279 배양체	0.40	0.40	0.40	비공개
SK4282 배양체	0.40	0.40	0.40	비공개
SK4288 배양체	0.20	0.20	0.40	비공개
천연미네랄	9.00	9.00	4.00	비공개
포도당	4.00	4.00	0.10	비공개
이스트컬처	10.00	10.00	15.00	비공개
당귀	0.20	0.20	4.00	비공개
비오틴	0.10	0.10	10.00	비공개
비타민 A, D ₃ , E	4.00	4.00	0.10	비공개
비테인	2.50	2.50	0.10	비공개
라이신	5.00	5.00	4.00	비공개
메치오닌	5.00	5.00	2.50	비공개

라. 난각분말 복합사료첨가제 시제품의 안정성 평가

-난각분말 복합사료첨가제 시제품의 사진은 다음과 같음



생산된 시제품 (3t)

시제품 개별 포장사진

시제품의 안전성을 조사하기 위한 분석항목과 방법은 다음과 같음

- 온도실험
 - 인큐베이터에서 봄, 여름, 가을, 겨울의 기온을 조성하여 각 시료의 기간에 따른 균 수, 색상, 변질 등 변화를 관찰함
- pH실험
 - 강산, 약산, 중성, 약알칼리, 강알칼리에서 제품 내 균 수, 색상 등 변화를 관찰함
- 항생제 반응
 - 항생제와 본 시제품을 함께 섞었을 때 균 수의 변화를 관찰함
- 곰팡이 형성
 - 제품을 여름의 습도와 온도에서 방치시켰을 때, 비닐 포장 없이 지대에 두었을 때, 비닐 포장을 했을 때, 사료에 뿌려서 방치시켰을 때 곰팡이가 형성되는 양상을 관찰함

본 분석은 시제품 생산이 12월 24일에 완료됨에 따라 현재 진행 중에 있으며 분석에 따른 결과는 차년도 연차실적에 보고할 예정임

<2차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 가금(육계) 적용실험

1) 결과

○ 성장지표 산출

- 21일령 체중의 경우 유의차가 발생하지 않음. 28일령의 경우 음성대조구에 비하여 phytase가 첨가된 2차 첨가제를 0.2%, 0.4% 급이한 T3, T4 처리구에서 유의적으로 증가함. 이는 결과적으로 T4처리구의 FCR 수치에서도 음성대조구에 비해 유의적으로 향상됨
- 본 연구에서 사용한 전기 및 후기 기초사료의 형태는 첨가제를 잘 혼합하기 위하여 모두 가루사료를 사용하였음. 가루사료는 육계의 초기 성장에 큰 영향을 미치지 않지만 닭의 행동 습관으로 인해 성장 후기에는 사료섭취량에 영향을 미칠 수 있음을 고려해야 함
- 한인규와 민태선(1991)은 육계사료에 복합효소제 첨가시 증체량, 사료섭취량, 사료효율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었다고 보고하였으며, 이는 본 연구결과와도 일치함
- 김 등 (2020)은 *Lactobacillus plantarum*, *B. subtilis*, *S. cerevisiae* 등이 포함되어 있는 시판 복합 생균제를 육계에 35 일간 식이 급여한 결과, 체중 및 증체량을 비롯한 모든 생산성 지표에서 유의적인 변화가 없었다고 보고하였음

표. 난각분말 첨가제 첨가가 육계의 성장지표에 미치는 영향

Item	Treatment							p-value
	C	PC1	PC2	T1	T2	T3	T4	
Day 21	988.69	1005.00	1012.33	1012.33	988.77	1026.84	1024.02	0.204
Day 28	1383.71 ^b	1465.36 ^{ab}	1451.34 ^{ab}	1446.14 ^{ab}	1431.06 ^{ab}	1491.13 ^a	1490.57 ^a	0.012
	BW gain(g/bird)							
Starter phase	949.36	965.67	973.00	973.00	949.44	987.51	984.69	0.204
Grower phase	395.02 ^b	460.36 ^a	439.00 ^{ab}	433.81 ^{ab}	442.29 ^{ab}	464.29 ^a	466.54 ^a	0.021
Total phase	1344.38 ^b	1426.03 ^{ab}	1412.01 ^{ab}	1406.81 ^{ab}	1391.73 ^{ab}	1451.0 ^a	1451.24 ^a	0.012
	ADG(g/day/bird)							
Starter phase	45.21	45.98	46.33	46.33	45.21	47.02	46.89	0.204
Grower phase	56.43 ^b	65.77 ^a	62.71 ^{ab}	64.97 ^{ab}	63.18 ^{ab}	66.32 ^a	66.64 ^a	0.021
Total phase	48.01 ^b	50.93 ^{ab}	50.42 ^{ab}	50.24 ^{ab}	49.70 ^{ab}	51.85 ^a	51.83 ^a	0.012
	ADFI(g/day/bird)							
Starter phase	57.20	57.56	57.80	58.24	58.23	58.75	58.93	0.630
Grower phase	141.62	143.50	129.82	139.01	144.47	143.65	141.20	0.059
Total phase	99.41	100.53	93.81	98.62	101.35	101.20	100.07	0.076
	FCR							
Starter phase	1.27	1.25	1.24	1.26	1.29	1.24	1.25	0.458
Grower phase	2.52 ^a	2.18 ^{ab}	2.07 ^b	2.29 ^{ab}	2.29 ^{ab}	2.17 ^{ab}	2.12 ^b	0.020
Total phase	1.89 ^a	1.72 ^{ab}	1.65 ^b	1.77 ^{ab}	1.79 ^{ab}	1.71 ^{ab}	1.69 ^b	0.010

○ 가슴육질 평가

- 육계 가슴육의 품질에 대한 분석 결과는 표 6에 나타냄. pH, 가열감량 (Cooking loss), 색도의 명도, 적색도, 황색도는 항생제 처리구를 제외한 처리구간의 유의적인 차이가 나타나지 않음 (P>0.05)
- 일반적으로 육색은 축산물의 품질, 저장기간 및 소비자의 기호도를 결정하는 중요한 요인이며 사료 원료의 영향을 받는다는 보고가 있음 (Dugan 등, 1999). 이때 명도는 백색도의 정도를 의미하며 가슴육의 경우 지방이 적고 근육섬유로 이루어진 백색육이며, 다리육은 운동량이 많고 단백질이 조화를 이루는 짙은 색의 근육으로 구성됨
- Chen 등 (2013)은 생균첨가와 고밀도 또는 저밀도 영양소의 사료 공급이 육계에 미치는 영향에 대한 연구에서, 생균제 첨가 유무보다는 사료 에너지원의 포함 정도가 계육의 보수력에 영향을 미치며, 색도 지표에는 어떠한 영향이 없음을 보고하였음. Cramer 등 (2018)은 *B.subtilis*로 이루어진 시판 생균제를 육계에 권장 농도로 첨가하여 급여하였을 때, 명도, 적색도 및 황색도에 유의적인 변화가 없었다고 보고함

표. 난각분말 첨가제 급여에 따른 육계 가슴육의 품질 분석

Item	Treatment							p-value
	C	PC1	PC2	T1	T2	T3	T4	
Meat quality								
L*	56.60	57.31	57.07	57.68	58.97	58.45	57.77	0.1711
a*	2.34	2.35	2.16	2.11	2.57	2.15	2.26	0.9870
b*	5.00 ^b	7.06 ^a	6.44 ^{ab}	6.56 ^{ab}	6.62 ^{ab}	6.27 ^{ab}	6.27 ^{ab}	0.0819
Cooking loss, %	23.90	26.83	25.16	25.38	25.46	24.82	25.13	0.6004
pH	5.69	5.73	5.73	5.68	5.64	5.75	5.67	0.3027

○ 소화장관의 용모 및 음와의 형태학적 지표 비교

- 소화장관의 용모 및 음와의 형태에 미치는 영향은 다음과 같음. 분석 결과, Jejunum 과 관련된 조사항목에 대해서 처리구간 유의적 차이가 발생하지 않음 (P>0.05). 그러나 Ileum의 경우 음성대조구와 항생제 처리구인 PC1 처리구 간에 VH/CD 수치에서 유의차가 발생함
- MA 등 (2008)은 유산균은 장 용모를 증가시키고 장벽이 두꺼워지며 육계에 있어서 장의 성장과 발달을 크게 촉진할 수 있다고 보고하였음

표. 난각분말 첨가제 첨가에 따른 육계 소화장관 길이 비교

Item	Treatment							p-value
	C	PC1	PC2	T1	T2	T3	T4	
Jejunum								
VH, μ m	518.19	826.66	540.94	748.15	760.26	889.43	1029.34	0.3831
CD, μ m	255.59	179.55	245.01	241.32	292.87	318.59	161.02	0.8496
VH/CD	2.11	4.03	3.68	3.50	5.58	4.63	6.29	0.8471
Ileum								
VH, μ m	503.54 ^b	743.72 ^a	601.37 ^{ab}	671.43 ^{ab}	719.40 ^a	745.65 ^a	645.34 ^{ab}	0.0053
CD, μ m	179.35	152.26	179.80	173.53	201.75	206.42	187.52	0.312
VH/CD	2.77 ^b	4.89 ^a	3.34 ^b	4.01 ^{ab}	3.69 ^{ab}	3.65 ^{ab}	3.72 ^{ab}	0.0018

○ 경골(tibia) 분석

- 본 실험에서는 경골 무게를 제외한 경골의 길이, 너비, DM무게, 파쇄강도에는 유의적인 차이를 보이지 않았음
- 경골 무게의 경우 음성대조구와 비교하여 T3처리구에서 무게가 유의적으로 증가함
- Rennie 등(1997)의 연구에 따르면 가금 사료 중 석회석의 50%를 굴껍질로 대체한 처리구가 100% 석회석을 급여한 처리구에 비해 골수골 내에 많은 양의 Ca를 침착시켰다는 결과를 나타냈음. Guinotte 등 (1991)의 연구에서는 입자가 큰 석회석 또는 굴껍질의 공급이 입자가 작은 석회석을 공급할 때보다 경골의 특성이 개선됨을 보고함
- Hurwitz (1965)는 산란계에게 충분한 칼슘을 공급하더라도 뼈에 활용되는 것이 중요하다고 언급하였으며, 칼슘공급원의 용해 속도에 따라 골격의 강도 등 특성이 달라짐을 보고함
- 보다 정확한 분석을 위해서는 경골 내 Ca 및 P 함량에 대한 조사가 추가적으로 필요할 것으로 보임

표. 난각분말 첨가제 첨가가 육계 경골에 미치는 영향

Item	Treatment							p-value
	C	PC1	PC2	T1	T2	T3	T4	
Bone weight, g	5.67 ^b	6.39 ^{ab}	5.51 ^b	6.25 ^{ab}	6.46 ^{ab}	6.88 ^a	6.10 ^{ab}	0.002
Bone DM weight, g	2.92	3.27	5.17	3.26	3.28	3.56	3.50	0.4917
Bone length, mm	793.33	806.67	731.47	815.83	804.17	817.50	800.83	0.3284
Bone breaking strength, kgf	24.56	26.01	21.83	26.67	25.99	26.85	25.35	0.1187

○ 혈청 내 생화학 지표 분석

- 본 실험 결과 T1, T2 처리구는 대조구와 콜레스테롤 수치 차이가 발생하지 않았음
- 그러나 파이타제가 추가로 첨가된 T3 와 T4 처리구의 경우 대조구와 비교하여 콜레스테롤 수치가 높게 나타남
- LIU 등 (2017)은 혈청 내 GOT (AST)와 GPT (ALT)의 활성은 심장과 간 기능을 판단하는 두 가지 중요한 지표라고 보고하였음. DU 등(2017)은 혈청 중의 TP 과 BUN 농도는 동물 체내의 단백질 대사 상황을 반영할 수 있고 혈청 내 BUN 함량이 높아졌다는 것은 체내 단백질 분해 및 대사 작용이 높다는 것을 의미한다고 하였음
- 혈청 내 총 단백질 농도는 신체의 단백질 합성 및 대사 수준을 평가하는 효과적인 지표로 사용할 수 있으며, 총 단백질 농도가 높을수록 체내 단백질 합성효율이 높아져 육계 사료 전환 효율이 향상되었다고 보고하였음

표. 난각분말 첨가제가 육계의 혈청 내 생화학 지표에 미치는 영향

Item	Treatment							p-value
	C	PC1	PC2	T1	T2	T3	T4	
AST, U/L	214.42	248.33	234.00	252.25	235.42	213.83	250.09	0.5756
ALT, U/L	4.08	3.75	3.58	3.33	3.75	3.92	3.72	0.5085
TG, mg/dL	149.42	108.33	122.58	101.58	94.33	121.08	106.27	0.614
TCHO, mg/dL	98.58 ^b	113.92 ^{ab}	109.25 ^{ab}	109.42 ^{ab}	108.25 ^{ab}	121.25 ^a	116.90 ^a	0.0061
Glucose, mg/dL	393.25	366.67	322.75	355.08	348.25	320.50	304.09	0.6347
TP, g/dL	2.53	2.64	2.59	2.67	2.63	2.75	2.65	0.6107
Albumin, g/dL	1.02	1.05	1.01	1.00	0.99	1.09	1.04	0.6993
Creatinine, mg/dL	0.82	0.57	0.58	0.50	0.50	0.70	0.60	0.0738
BUN, mg/dL	2.58	2.32	2.34	2.30	2.20	2.41	2.40	0.1544
Calcium, mg/dL	17.60	17.71	17.85	17.89	17.59	17.61	17.97	0.426

2) 요약

- 파이타제가 들어간 test sample 2를 0.4% 급여한 처리구에서 성장지표를 개선시켰음
- 황색도(yellowness)를 나타내는 b*값과 소화장관의 움모 길이는 음성대조구인 C처리구와 항생제 처리구인 PC1 처리구에서만 유의차가 나타남
- 첨가제를 급여하였을 때 부작용은 발견되지 않았지만 성장지표 외의 분석지표에서는 뚜렷한 개선점을 발견하지 못함
- 본 연구결과의 데이터에 있어서 outlier를 제거 후 다시 분석을 해볼 필요가 있을 것으로 사료됨
- 파이타제가 들어간 test sample 2를 0.4% 급여한 처리구에서 성장지표가 개선된 결과를 바탕으로 앞으로 배합비의 개선이 필요함
- 따라서 효소제를 추가배합하거나 항산화능이 나타나지 않았음을 개선하기 위해 항산화능을 가진 오미자박의 추가배합 혹은 오미자박의 처리방법을 개선할 필요가 있을 것으로 보임

나. 가금(산란계) 적용실험

1) 결과

○ 난 생산성

- 실험 결과 음성대조구에 비하여 첨가제를 0.2% 첨가한 T2 처리구에서 산란율이 유의적으로 증가함
- Sohail (2002)은 상업용으로 개발한 (*B. subtilis* C-3102) Calsporin을 산란 사료 내 첨가 급여 시 난의 생산성, 사료섭취량, 난중 및 체중 변화에 영향을 미치지 않았다고 보고함
- 나재천 등(2003)은 산란계에 생균제의 첨가 급여가 산란율과 난중의 증가 경향을 나타냈지만 통계적 유의성은 인정되지 않는다고 밝힘
- Matti(1988)는 산란계 사료에 복합효소제 첨가시 산란말기에는 산란율 및 사료효율이 개선되었다고 보고함
- 그러나 류연선(1994)은 산란계 사료내 복합효소제의 첨가가 DM이용율 및 사료요구에 영향을 미치지 못한다고 보고함
- Deying 등(2005)의 연구에 따르면 32℃ 환경에서 고온스트레스를 받고 있는 57주령의 산란계에게 오미자를 사료 내 1% 수준으로 첨가 급여 시 산란율이 대조구에 비하여 개선되었다고 보고하였으며, Quan (2011)은 45주령 산란계의 사료 내 발효 오미자박을 0.25%, 0.5% 첨가 급여 시 0.25% 첨가구에서 산란율이 개선되었다고 보고하였음

표. 난각분말 첨가제의 첨가가 산란계의 난 생산성에 미치는 영향

Item	Treatment				SEM	p-value
	C	T1	T2	T3		
Egg production rate, %	86.77 ^b	89.15 ^{ab}	91.01 ^a	88.03 ^{ab}	0.558	0.0431
Average egg weight, g	61.26	62.99	61.05	61.76	0.339	0.1796
Daily egg mass, g/hen/d	53.16	56.16	55.55	54.34	0.430	0.0582

○ 난질 분석

- 첨가제 급여시 Haugh unit 및 난각 두께 등에서 유의차가 발생하지 않음.
- 난황색에서 T2와 T3 처리구 간에 유의차가 발생하였으나. 이는 총 실험기간인 4주간의 난질분석 지표의 평균값으로 정확한 분석을 위해서는 주차별 결과를 추가적으로 통계분석할 필요가 있음
- 나재천 등(2003)의 연구에서는 산란계에 사료 내 복합생균제 (*Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Enterococcus faecalis*, phototrophic bacteria) 첨가 급여시 난각 두께 및 강도에서 효과가 나타나지 않았으며, Haugh unit과 난황색도 개선되지 않았다고 보고함
- Hussein et al.(1993)에 따르면 난황 콜레스테롤의 수준은 난황의 크기가 증가할수록, 난황과 난백의 비율이 커질수록 증가하는 경향이 있다고 보고함

표. 난각분말 첨가제의 첨가가 산란계의 난질에 미치는 영향

Item	Treatment				SEM	p-value
	C	T1	T2	T3		
Haugh unit	87.35	88.44	88.9	87.77	0.453	0.6345
Egg yolk color	8.221 ^{ab}	8.212 ^{ab}	8.05 ^b	8.287 ^a	0.027	0.0117
Eggshell breaking strength, kg/cm ²	4.714	4.603	4.646	4.356	0.002	0.1566
Eggshell thickness, mm	0.435	0.427	0.434	0.422	0.017	0.0769
Eggshell weight, g	5.832	5.992	5.992	5.834	0.031	0.0635
Eggshell weight, % of egg weight	10.29	10.58	10.27	10.45	0.054	0.7123
Albumen height, mm	7.713	7.997	8.001	7.882	0.074	0.4844

○ 면역장기 무게 및 소화장관의 길이 비교

- 실험 결과 면역장기 무게 및 소화장관 길이에 는 차이가 유의적인 차이가 발생하지 않음.
- 그러나 T2 처리구에서 간의 무게가 높은 경향을 나타냈기 때문에 추가 분석 중 혈청 분석 시 GOT 및 GPT 수치 해석에 주의해야할 것으로 보임.
- 비장은 면역체계에서 중요한 림프기관으로 항원 제시와 면역반응의 급속화에 의해서 크기가 증가하여 비장비대증이 유발됨 (김 등, 2014)
- 간의 무게는 스트레스로 인해 급격히 증가하며 이로 인해 간세포의 염증이 유발되고 지방간 등 간질환이 일어나는 것으로 알려져 있음 (Odeleye 등, 1992)
- Abiola 등 (2012)의 보고에 따르면, 육계 사료 원료 및 석회석을 대체하여 부화장에서 나온 난각 등의 부산물을 급이한 결과, 복부지방, 간, 폐, 심장 및 근위에 유의적인 차이 없이 체내에서 흡수하였음을 밝혔으며 이는 본 연구의 결과와 일치함

표. 난각분말 첨가제 첨가에 따른 산란계 면역장기 무게 및 소화장관 길이 비교

Item	Treatment				SEM	p-value
	C	T1	T2	T3		
Relative weight of organs g/100g body weight						
Liver	1.779	1.727	1.877	1.820	0.043	0.2502
Spleen	0.111	0.110	0.140	0.116	0.005	0.3508
Relative intestinal length cm/100g body weight						
Duodenum	1.253	1.281	1.215	1.496	0.051	0.5145
Jejunum	3.015	3.008	3.264	2.713	0.088	0.2412
Ileum	2.664	2.718	2.912	2.620	0.077	0.4084
Cecum	0.655	0.673	0.733	0.684	0.018	0.2670

○ 경골(tibia) 분석

- 실험 결과 산란계 경골 분석지표인 파쇄강도, 무게 등에서 유의차가 발생하지 않음
- 그러나 파쇄강도가 수치상으로 증가하는 경향을 보이기 때문에 골밀도 분석을 추가적으로 진행하고자 함
- Nahashon 등(1996)은 산란기간 동안 Lactobacillus를 첨가 급여 시 질소와 칼슘의 축적률이 증가한다고 보고함
- Phytase 첨가 실험 결과 상대적 경골 중량에는 차이가 전혀 없었으나, 경골 내 회분 함량이 유의하게 증가하였다고 보고함(Viveros 등, 2002)

표. 난각분말 첨가제의 첨가가 산란계 경골에 미치는 영향

Item	Treatment				SEM	p-value
	C	T1	T2	T3		
Bone weight, g	13.908	13.908	14.301	13.369	0.029	0.5246
Bone length, cm	12.278	12.289	12.088	12.213	0.053	0.4315
Bone width, mm	8.761	8.911	8.920	8.874	0.066	0.5241
Bone breaking strength	16.235	17.971	17.550	19.167	0.768	0.7315

■ 주관연구개발기관: (주) 하농

가. 육계 농가 현장 실증실험

1) 유진농장

- 7일령 중량은 시험구가 대조구에 비교해서 10g 성장이 호전되었음. 그러나 6일령부터 첨가제를 투입했으므로 첨가제의 큰 영향은 없을 것으로 판단됨.
- 출하율은 대조구가 시험구보다 0.8% 높았으며 덤 3%를 계산한다면 큰 유의차는 없는 것으로 판단됨
- 출하 총 중량은 시험구가 대조구에 비해 687Kg 성장 호전됨
- 평균 출하중량은 시험구가 대조구에 비해 0.042Kg 높음
- 동별 폐사수는 시험구가 400수로 가장 작았으나 덤 3%의 영향으로 출하율과 다르게 나타났음
- 25일령 암모니아가스 농도 측정 결과 시험구(23ppm)와 대조구(24ppm)의 유의적인 차이는 없는 것으로 판단됨
- 사육일령은 시험구와 대조구 모두 동일했음 (31.2일령)
- 총 생산지수는 347로 계열회사 평균성적 333보다 14 포인트 높게 나타났음
- 동별 사료 구분이 안 된 관계로 정확한 동별 성적 산출은 어려움이 있었음
- 계절적으로 성장이 늦어지는 시기(동절기)여서 관절 및 성장에 대한 첨가제의 효과가 크게 영향을 주지 못했을 것으로 판단됨
- 계열회사의 사료 품질 저하가 문제가 되어 평소 생산지수 400전후로 우수한 농장이 평균 30-40포인트 낮게 나타난 시기였음
- 입추당일부터 첨가제를 투입하지 못하고(농장 선정문제) 6일령부터 투입한 것이 영향이 있었을 것으로 판단됨
- 시험구는 17일령부터, 대조구는 20일령부터 호흡기 증세가 있었으며 주야간 기온차이와 동절기 사육의 환경에 기인한 것으로 예상됨
- 사료빈 로드셀 설치가 안 되어 일일, 동별, 사료 섭취량의 측정이 안 된 사유로 시험구와 대조구의 세부적인 자료 분석에 한계가 있었음
- 가급적 동일품종의 동일계군에 동일한 무게의 병아리가 입식되도록 농장을 선정했으며 첨가제에 대한 효과 등에서 차별화된 결과를 얻기 위해 객관적인 사양관리를 적용했음
- 본 제품의 개발 기대효과로 “난각에서 추출한 특수 균주로 장내 병원균 증식을 억제하여 가축 폐사를 줄이고 면역증강, 소화율 향상” 등의 목표에서는 대체로 제품의 효과를 얻은 것으로 판단됨
- 육계 사육 성적에서 출하율이 99%가 넘고 출하일령 31.2일령에 평균 중량 1.597Kg에 사료요구율 1.473은 매우 높은 사육 성적으로 판단됨
- 사육성적이 낮은 농장(PI 330 이하)일수록 제품에 대한 투여 효과가 높게 나타나므로

농장과 지속적인 홍보가 필요할 것으로 권장됨

- 본 시험사육 에서는 시험구와 대조구의 유의차가 크지 않았으나 시험사육 농장이 전체적으로 사육성적이 높은 농장으로 유의차를 위해서는 세부적인 시험이 추가로 필요할 것으로 판단됨
- 난각 칼슘은 흡수율이 우수하여 닭의 성장이나 증체가 호전될 시기에 특히 육계에 있어서 봄, 가을에 관절이상 계군이 증가할 때 효과를 기대할 수 있을 것으로 예상되며 소화율 향상 등을 통해 사료요구율을 낮추고 증체에 효과가 있어 출하율 단축에 도움이 될 것이므로 이 점을 특히 농장에 홍보할 필요성이 있다고 사료 됨

그림. 유진 농장 현장 실증실험 결과

구분	1동	2동	3동	4동	계
구분	대조군	실험군	용추	용추	1, 2동 동일계군
계사평수	314.6	314.6	314.6	314.6	
사육밀도(수/평)	72.16	72.16	72.47	72.47	
입추일자	2021.12.23				
품종	AA	AA	AA	AA	아바에이커
종계주령	30	30	34	34	
병아리중량(g)	37	37	44	45	
7일령중량(g)	143	153	174	165	
입추수수	22,700	22,700	22,000	22,000	
출하일자	22.01.19	22.01.19	22.01.19	22.01.19	
출하수수	3,100	3,100	6,200	6,200	1차 속기직업
출하일자	22.01.23	22.01.23	22.01.23	22.01.23	
출하수수	19,690	19,510	16,430	16,020	
출하율(%)	100.4%	99.6%	99.3%	101.0%	
출하중량(Kg)	35,204	35,091	37,297	37,053	
평균중량(Kg)	1,545	1,587	1,648	1,610	
일령(일)	31.2	31.2	31.2	31.2	
총사료섭취량					총 214,260kg
사료요구율(FCR)					1.473
생산지수(PI)					347
첫첨가투여일령		6일령			전기사료부터 투여
투여용량	미투여	4Kg/ton	미투여	미투여	
동별폐사수	464	400	574	404	
25일령 NH ₃	24ppm	23ppm	25ppm	20ppm	

2) 장수농장

2022년 08월 17일 기준 개발제품을 넣은 시험구(4동)의 평균체중이 26g 높았음

3) 화니농장

출하시 개발제품을 넣은 시험구(2동)의 평균체중이 20g 높았음

나. 산란계 농가 현장 실증실험

1) 산내들농축

- 시험결과 장이 좋고, 관절질환이 덜하다는 평이 있었음
- 또한 계분의 암모니아가스를 약 70% 감소시켜주는 효과가 있었음

표. 난각분말 복합사료첨가제 생산 시 각 원료의 첨가 비율 및 배합비

기능성 원료	첨가 비율 (%)			
	1차	2차	3차	최종
난각	42	40	40	비공개
오미자박	5	5	5	비공개
<i>Bacillus subtilis</i>	2	2	2	비공개
<i>B. licheniformis</i>	2	2	2	비공개
<i>S. cerevisiae</i>	2	2	2	비공개
SK4279 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4282 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
SK4288 배양체	0.1	0.1	0.1	비공개
천연미네랄	18.4	15.4	9.4	비공개
포도당	4	4	4	비공개
이스트컬처	10	10	10	비공개
당귀	0.1	0.1	0.1	비공개
비오틴	0.1	0.1	0.1	비공개
비타민 A, D ₃ , E	4	4	4	비공개
비테인				비공개
라이신	5	5	5	비공개
메치오닌	5	5	5	비공개
진세노사이드 원액	0.1	0.1	0.1	비공개
파이타제		5	5	비공개
프로테아제			4	비공개
자일라나아제			2	비공개

<3차년도>

■ 주관연구개발기관: 건국대학교

가. 양돈(이유자돈) 적용실험(23.07.01 ~ 23.11.07/파주양돈단지)

○ 증체량, 사료섭취율, 사양성적

- 하단의 표는 0-4주차, 4-8주차, 0-8주차 각각의 처리구 당 BWG(증체량), ADG(일일증체량), ADFI(일일섭취량), FCR(사료요구율)을 나타낸 것임
- 각 값은 평균으로 나타내었으며, 값들끼리의 유의차를 P-value로 나타냄
- 각 처리구 및 값들 사이의 유의차는 없는 것으로 나타남
- 따라서 난각첨가제는 이유자돈의 사양성적에 특별한 악영향을 미치지 않았다고 볼 수 있음

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 성장지표에 미치는 영향

Item	Treatment				p-value
	NC	PC	T1	T2	
Initial body weight, kg	6.73	6.73	6.83	7.10	0.51
0-4th week (28days)					
BWG, kg	9.03	8.70	8.17	7.37	0.47
ADG, kg	0.32	0.31	0.29	0.26	0.42
ADFI, kg	0.41	0.38	0.37	0.31	0.36
FCR	1.28	1.23	1.28	1.19	0.44
4-8th week (28days)					
BWG, kg	13.23	12.07	14.00	15.03	0.18
ADG, kg	0.47	0.43	0.50	0.54	0.18
ADFI, kg	0.74	0.66	0.68	0.69	0.09
FCR	1.57	1.53	1.36	1.28	0.30
Overall (56days)					
BWG, kg	22.27	20.77	22.17	22.40	0.82
ADG, kg	0.40	0.37	0.40	0.40	0.80
ADFI, kg	0.58	0.52	0.53	0.50	0.27
FCR	1.45	1.41	1.33	1.25	0.41

○ 혈청 내 생화학 지표 분석

- GPT는 간 손상을 나타낼 수 있는 효소임(Goorden, S.M., et al, 2013)
- GPT의 경우 처리구 A에서 대조구 C에 비해 유의미하게 높은 수치가 나타남 이는 항생제의 처리가 이유자돈의 간에 영향을 미쳤을 가능성을 제시함
- 또한 GPT 값에서 처리구 T1은 가장 낮은 수치를 보이며, 이는 난각첨가제의 처리 (0.2%)가 간 기능에 긍정적인 효과가 있을 수 있음을 시사함
- ALB는 혈액 내 주요 단백질임(Gremse, Elisa, et al, 2023)
- ALB의 경우 처리구 A에서 대조구 C에 비해 유의미하게 높은 수치가 나타남 이는 항생제의 처리가 이유자돈에서 ALB 수치를 증가시킬 수 있음을 의미함
- 또한 ALB 값에서 처리구 T1과 처리구 T2는 대조구 C와 유의적인 차이가 나타나지 않음
- 이는 난각 첨가제의 사료 첨가가 ALB 수치에 특별한 악영향을 미치지 않았음을 시사함

표. 난각첨가제가 전기(0-4주차) 이유자돈의 혈청 내 생화학지표에 미치는 영향

Item	Treatment				p-value
	C	A	T1	T2	
GOT, U/L	102.17	140	123.17	125.83	0.3629
GPT, U/L	46.3 ^{ab}	66.5 ^a	38.5 ^b	50.33 ^{ab}	0.02
GLU, mg/dL	108.33	111.17	88.33	95.67	0.228
BUN, mg/dL	4.93	7.2	5.73	4.48	0.172
CRE, mg/dL	0.96	1.03	1.07	0.97	0.4591
ALB, g/dL	2.78 ^{ab}	3.15 ^a	2.6 ^b	2.63 ^{ab}	0.0356
HDLC, mg/dL	31	32.67	32.83	24.33	0.0535
TC, mg/dL	73.17	77.83	78.5	57.83	0.0525
TP, g/dL	5.82	5.75	5.67	5.95	0.947
TG, mg/dL	1.00	1.17	1	1	0.4133
CA, mg/dL	9.83	9.88	10.02	9.83	0.9223
IP, mg/dL	7.95	9.12	8.77	9.65	0.1106

- 8주차의 경우에는 지표들 간의 유의적인 차이가 나타나지 않음

- 따라서 난각첨가제의 첨가가 5-8주차 이유자돈의 혈액 내 생화학 지표에 별다른 악영향을 끼치지 않았음을 알 수 있음

표. 난각첨가제가 후기(4-8주차) 이유자돈의 혈청 내 생화학지표에 미치는 영향

Item	Treatment				p-value
	C	A	T1	T2	
GOT, U/L	128.67	105.17	91.83	80.17	0.7062
GPT, U/L	37.83	39.830	42.67	41.67	0.8302
GLU, mg/dL	66.67	59.17	58.17	70.5	0.3977
BUN, mg/dL	5.62	4.77	6.42	6.08	0.4869
CRE, mg/dL	1.05	0.98	1	0.98	0.7271
ALB, g/dL	3.28	3.27	3.22	3.28	0.9893
HDLc, mg/dL	36.5	36	36.5	36.83	0.9934
TC, mg/dL	93.33	92.83	87.33	89.67	0.8489
TP, g/dL	6.20	6.22	6.17	6.3	0.974
TG, mg/dL	30.50	34.5	34	23.33	0.4972
LDL, mg/dL	50.73	50.43	44.07	48.17	0.7391
CA, mg/dL	10.62	11	11.2	10.18	0.2925
IP, mg/dL	8.68	9.7	8.38	8.53	0.5037

○ Colony Forming Unit(CFU)

- 실험 종료 후 진행한 CFU 측정 결과 중 MRS와 SS 배지에서 유의적인 차이가 나타남
- 그 중 특히 SS 배지의 경우, 일반적으로 유해균이 자라는 배지임
- SS배지의 경우, 처리구 T2에서 유의하게 낮은 수의 미생물 colony가 나타남
- 또한 처리구 T1 또한 SS 배지에서 처리구 A(항생제 처리구)에 비해 유의하게 낮은 수의 미생물 colony가 나타남
- 이는 난각 첨가제의 0.4% 첨가(처리구 T2) 이유자돈의 장내 균총에서 유해균의 수를 낮추는 역할을 했을 수 있음을 시사함

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 장내 미생물균총의 구성에 미치는 영향

Item	Treatment				p-value
	C	A	T1	T2	
8wk					
R2A	8.55	8.13	8.11	8.13	0.9291
MRS	9.85 ^a	9.65 ^{ab}	9.31 ^{bc}	9.06 ^c	<0.001
MAC	7.75	7.25	7	8.12	0.3762
SS	6.5 ^c	7.55 ^a	7.16 ^b	6 ^d	<0.0001

*CFU/ml 값을 log10값으로 나타냄

○ 장내균총 조성(NGS)

- Chao1 지수는 샘플에서 드물게 발견된 미생물을 통해 전체 종류의 수를 추정하는 지수임
- Chao 1 값의 경우 T2 처리구에서 다른 어떤 처리구보다 유의적으로 높은 값이 나타남
- 이는 난각 첨가제의 사료 첨가가 회장 내 미생물의 다양화를 일으킬 수 있음을 시사함

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 장내 미생물총의 풍부도와 다양성에 미치는 영향

Item	C	A	T1	T2	SEM	P-value
Chao1	61.55 ^{ab}	51.5 ^b	63.18 ^{ab}	127.45 ^a	11.13	<0.05
Shannon	2.47	2.71	2.02	2.78	0.15	0.3077
Simpson	0.599	0.72	0.497	0.621	0.037	0.2341

*Values are presented as mean and standard error of mean (SEM).

*Chao1: Community richness

*Shannon : Number and homogeneity of species

*Simpson: Probability that any two individuals drawn from a community belong to different species.

그림. Phylum level에서의 NGS taxonomic assignment result

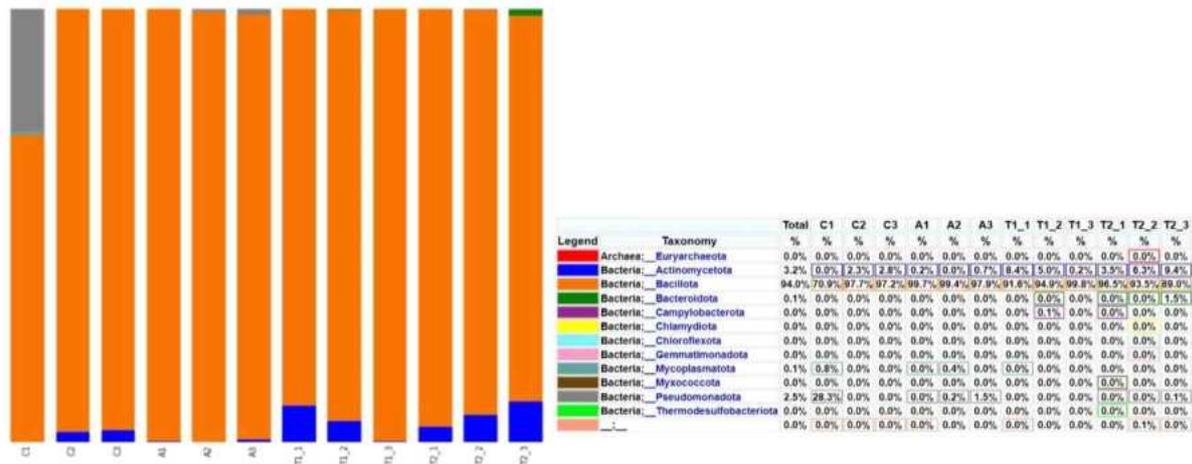


표. 처리구 별 Phylum level에서의 NGS taxonomic assignment result

Taxonomy	Total	Treatment			
		C	A	T1	T2
Phylum name, (%)					
Bacillota	94	88.6	99	95.33	93
Actinomycetota	3.2	1.7	0.3	4.53	6.4
Pseudomonadota	2.5	9.43	0.57	0	0.03

- Bacillota문의 세균이 전체 중 94%로 가장 큰 비율을 차지함
- Bacillota 문 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 첨가제 첨가 비율에 따라 증가하는 경향을 보임
- Bacillota 문은 일반적으로 장내 미생물군의 중요한 구성원으로, 소화와 영양소 흡수, 면역 조절과 장 건강 유지에 중요한 역할을 함
- 따라서 Bacillota 문의 증가는 이유자돈의 전체적인 장 건강에 긍정적인 영향을 미쳤을 수 있음
- Actinomycetota 문의 세균이 전체 중 3.2%를 차지함
- Actinomycetota 문 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 첨가제 첨가 비율에 따라 증가하는 경향을 보임
- Actinomycetota 문은 자연계에서 항생제를 생산하는 것으로 가장 잘 알려진 세균 그룹 중 하나임

- 또한 장내 면역 체계의 발달과 성숙에 영향을 미치며, 장내 환경의 균형을 유지하는 데도 역할을 함
- 따라서 Actinomycetota 문의 증가는 이유자돈의 장 내 면역 능력을 향상시켰을 수 있음

그림. Family level에서의 NGS taxonomic assignment result

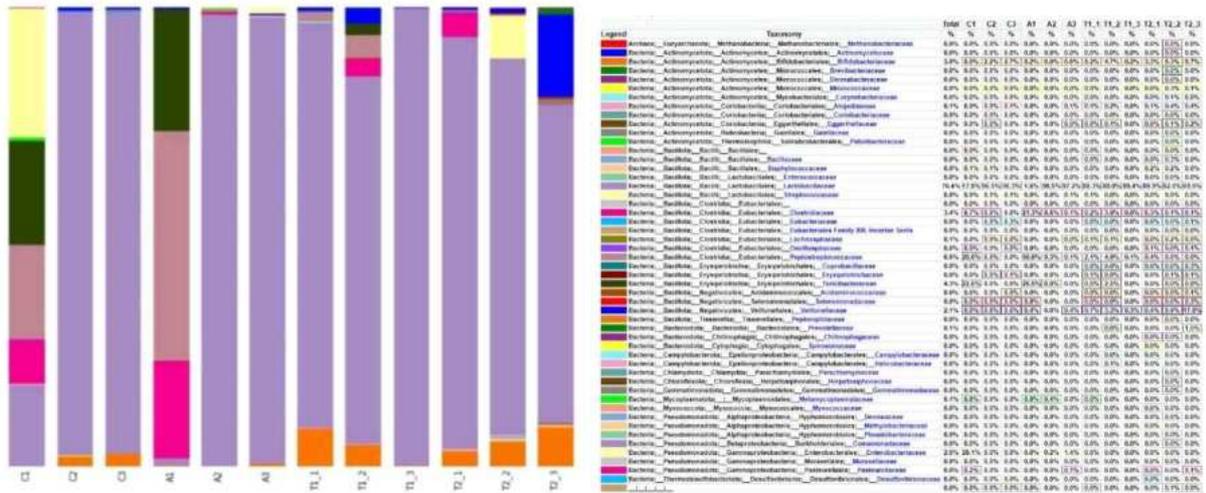


표. 처리구 별 Family level에서의 NGS taxonomic assignment result

Taxonomy	Total	Treatment			
		C	A	T1	T2
Family name, (%)					
Lactobacillaceae	76.4	70.2	65.77	89.23	80.47
Peptostreptococcaceae	6.5	6.87	16.8	2.37	0.13
Turicibacteraceae	4.3	7.53	8.83	0.83	0
Clostridiaceae	3.4	3.23	7.3	1.37	1.83
Bifidobacteriaceae	3	1.63	0.27	4.37	5.77
Enterobacteriaceae	2.5	9.37	0.53	0	0
Veillonellaceae	2.1	0.43	0.27	1.43	6.37

- Lactobacillaceae과의 세균이 전체 중 76.4%로 가장 큰 비율을 차지함
- Lactobacillaceae 문 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 모두 증가하는 경향을 보임
- Lactobacillaceae 과의 세균은 젖산을 생산하여 장 내 환경의 pH를 낮추는 데 기여하며, 이 저pH 환경은 병원성 미생물의 성장을 억제하고 건강한 장내 환경을 유지하는 데 도움을 줌.
- 따라서 Lactobacillaceae 과 세균의 증가는 이유자돈의 장내 환경 개선에 영향을 미쳤을 수 있음
- Bifidobacteriaceae 과의 세균은 전체 중 3%를 차지함
- Bifidobacteriaceae 과 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 첨가제 첨가 비율에 따라 증가하는 경향을 보임

표. 처리구 별 Genus level에서의 NGS taxonomic assignment result

Taxonomy	Total	Treatment			
		C	A	T1	T2
Genus name, (%)					
Lactobacillus	65.5	58.87	49.37	81.1	72.67
Limosilactobacillus	10.8	11.1	16.37	8.1	7.63
Terrisporobacter	5.7	5.4	15.73	1.6	0.1
Turicibacter	4.3	7.53	8.83	0.83	0
Clostridium	3.4	3.23	7.3	1.37	1.8
Bifidobacterium	2.7	1.5	0.27	4.37	4.63
Escherichia	2.5	9.37	0.53	0	0
Megasphaera	2.1	0.4	0.23	1.43	6.33

- Lactobacillus 속의 세균이 전체 중 65.5%로 가장 큰 비율을 차지함
- Lactobacillus 속 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 모두 증가하는 경향을 보임
- Lactobacillus 속의 세균들은 장 점막을 보호하고 강화하는데 도움을 주며, 장의 세포가 제대로 기능하도록 지원함
- 이는 Lactobacillus 속 세균의 비율 증가가 이유자돈의 장 투과성을 감소시키고 장염과 같은 염증성 장 질환의 위험을 줄일 수 있음을 시사함
- Bifidobacterium 속의 세균이 전체 중 2.7%를 차지함
- Bifidobacterium 속 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 모두 증가하는 경향을 보임
- Bifidobacterium 속 세균은 비타민 B 복합체와 비타민 K를 생산하는 기능을 하며, 이 비타민들은 이유자돈의 에너지 대사, 신경 기능, 혈액 응고에 중요한 역할을 함
- Megasphaera 속의 세균은 전체 중 2.1%를 차지함 (total 2.1%)
- Megasphaera 속 세균의 장 내 차지 비율은 대조구에 비해 처리구 T1 과 T2에서 모두 증가하는 경향을 보임
- Megasphaera 속의 균은 주로 발효 과정에 관여하는 그람 음성, 혐기성 세균임.
- 따라서 Megasphaera 속 균의 비율 증가는 이유자돈 장 내의 발효 과정을 촉진시키고 소화 흡수를 돕는 역할을 활성화시킬 수 있음을 시사함
- 이유자돈 사료에 난각생균복합제를 급여함으로써 장 내 미생물의 다양성이 증가하고, 유익한 미생물 그룹의 증가가 나타남
- 이는 난각생균복합제가 이유자돈의 장 건강에 전반적으로 유익한 영향을 끼치고, 이를 기반으로 생산성의 증가를 불러올 수 있음을 시사함

○ 분변 악취 분석

- 악취측정기로 측정했을 때, 바로 채취한 상태에서의 값이 0이 나와 측정이 어려운 항목이 있었음. 따라서 30℃에서 24시간 후숙 후 값을 한 번 더 측정함
- 분변 악취 분석의 결과는 하단의 표에 후숙 전 및 후 값을 각각 나타냄
- 악취 측정 검사의 결과로는, 전체적으로 처리구 T2에서 유의적으로 낮은 값이 나타남
- 돈분 후숙 전의 경우 4주차의 NH3 지표는 처리구 T2에서 처리구 C에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였으며, 4주차의 Odor 지표는 처리구 T2에서 처리구 C 및 A에 비해 유의적으로 낮은 값이 나타남
- 돈분 후숙 후의 경우 4주차의 NH3와 Odor 지표는 처리구 T2에서 처리구 C 및 A에 비해 유의적으로 낮은 값이 관찰되었으며, H2S 지표는 처리구 T2에서 처리구 A에 비해 유의적으로 낮은 값이 나타남
- 따라서 난각 첨가제를 0.4% 수준으로 사료 배합에 첨가했을 때, 4주 이하의 이유자돈에서 악취저감에 효과가 있었다는 결과를 얻을 수 있음

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 분변(후숙 전) 악취에 미치는 영향

Item	Treatment			p-value
	C	A	T2	
4wk				
NH ₃ , ppm	0.47 ^a	0.02 ^b	0 ^b	<0.05
H ₂ S, ppm	0	0	0	-
Odor, ppm	2.55 ^a	2.12 ^a	1.51 ^b	<0.005

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 분변 악취(후숙 후)에 미치는 영향

Item	Treatment			p-value
	C	A	T2	
4wk				
NH ₃ , ppm	2.86 ^b	5.34 ^a	0.41 ^c	=0.0001
H ₂ S, ppm	1.48 ^{ab}	2.64 ^a	0.24 ^b	<0.005
Odor, ppm	13.74 ^a	16.83 ^a	6.7 ^b	<0.005

○ 다리 뼈 CT 촬영

- MeanH는 "Mean Hounsfield Unit"의 약자로, HU(Hounsfield Unit)는 특정 부위의 X선 흡수 정도를 의미함. 골밀도가 높을수록 X선을 흡수하는 정도가 크므로, MeanH 값이 클수록 골밀도가 높다고 볼 수 있음
- Modified Mean은 MeanH 값을 보정한 값으로, 실제 물체의 HU 값과 비슷하도록 공식을 이용해 표현한 값임 (CT 팬텀을 이용, 회귀계수를 이용한 역변환 공식: $x=(y-6.7879)/1.2107$)
- Ca over Volume은 칼슘 함량 대비 체적을 의미함. 이 값이 높을 수록 해당 부위의 뼈가 더 밀도가 높고 칼슘 함량이 많음을 나타냄
- 해당 분석에서는 18가지의 분석 중 5가지에서 지표들간의 유의차가 나타남
- 특히, 그 중 처리구 T2의 뒷다리 뼈(Back) 근위부(Proximal)의 골밀도가 다른 처리구에 비해 유의적으로 높았음($p<0.005$). 해당 지표에 대한 Tukey 분석의 그래프는 하단의 그림에 나타냄

표. 난각생균복합제의 첨가가 이유자돈의 다리 건강에 미치는 영향

Measurement		C	A	T1	T2	P-value	
Front	Proximal	MeanH	233.14	262.9	263.86	280.73	0.266576
		Modified_Mean	208.49	244.64	193.13	237.95	0.696192
		Ca_over_volume	0.34	0.37	0.19	0.33	0.269431
	Middle	MeanH	686.94	717.28	663.73	790.59	0.185552
		Modified_Mean	497.36	609.62	608.21	591.44	0.79887
		Ca_over_volume	2.76	3.8	3.5	3.25	0.708466
	Distal	MeanH	272.79 ^a	172.12 ^a	295.4 ^a	182.1 ^a	0.040509
		Modified_Mean	200.71	167.44	215.83	165.72	0.785595
		Ca_over_volume	0.21	0.19	0.22	0.13	0.567022
Back	Proximal	MeanH	274.73 ^b	281.79 ^b	278.52 ^b	360.98 ^a	<0.005
		Modified_Mean	202.65	239.74	216.91	277.13	0.163075
		Ca_over_volume	0.28	0.35	0.27	0.39	0.268691
	Middle	MeanH	622.95 ^b	855.95 ^a	798.1 ^{ab}	674.1 ^{ab}	0.031602
		Modified_Mean	527.55	612.8	645.4	586.48	0.76278
		Ca_over_volume	3.01	3.85	3.85	3.18	0.664912
	Distal	MeanH	254.78 ^b	355.3 ^a	246.91 ^b	223.9 ^b	0.000911
		Modified_Mean	219	266.8	187.43	183.68	0.110427
		Ca_over_volume	0.26 ^{ab}	0.33 ^a	0.18 ^{ab}	0.14 ^b	0.037184

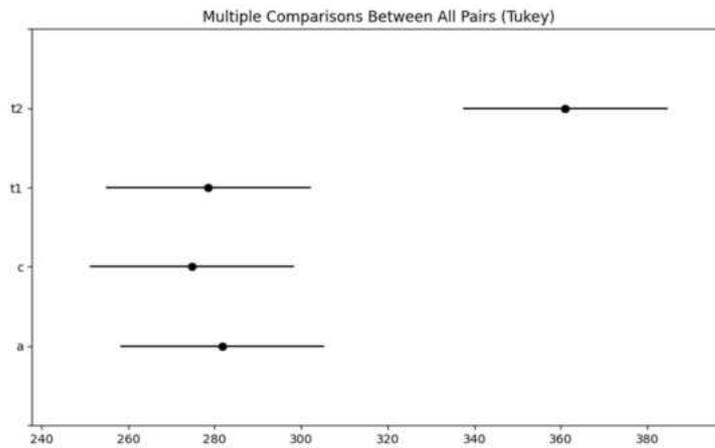


그림. 이유자돈의 뒷다리 뼈 근위부 CT 촬영값의 Tukey 분석

■ 주관연구개발기관: (주) 하농

1) 영진한돈농장(금산)

- 기초체중은 대조구 평균 9.33kg, 시험구 평균 8.46kg임
- 기말체중은 대조구 평균 21.76kg, 시험구 평균 22.03kg임
- 평균 증체량은 대조구 12.43kg, 시험구 13.57kg로, 시험구가 1.14kg 높았음
- 상하위 10%를 제외한 기초체중은 대조구 평균 9.33kg, 시험구 평균 8.50kg임
- 상하위 10%를 제외한 기말체중은 대조구 평균 21.64kg, 시험구 평균 22.04kg임
- 상하위 10%를 제외한평균 증체량은 대조구 12.31kg, 시험구 13.54kg로, 시험구가 1.23kg 높았음

2) 형제농장(파주)

- 시험제품 급여 전 평균 출하일령은 191일이었음
- 시험제품 급여 후 평균 출하일령은 170일로 21일가량 단축되었음

3) 해돈(안성)

- 대조구의 자돈 평균 이유체중은 7.12kg, 시험구의 자돈 평균 이유체중은 7.62kg으로 자돈 두당 500g의 이유체중이 증가했음



(2) 정량적 연구개발성과

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계	1단계	2단계	계	가중치 (%)
			(2021)	(2022)	(2023)		
전담기관 등록·기탁 지표	논문	목표(단계별)	1	1	1	3	20
		실적(누적)	1	2	0	3	100
	학술발표	목표(단계별)	1	2	2	5	15
		실적(누적)	2	2	1	5	100
	특허출원	목표(단계별)	0	1	1	2	15
		실적(누적)	0	0	2	2	100
연구개발과제 특성 반영 지표	고용창출	목표(단계별)	0	0	1	1	10
		실적(누적)	3	4	2	9	900
	홍보	목표(단계별)	0	1	1	2	20
		실적(누적)	7	7	0	14	700
	인력양성	목표(단계별)	0	1	1	2	10
		실적(누적)	1	4	2	7	350
	포상 및 수상	목표(단계별)	0	0	0	0	10
		실적(누적)	1	1	0	2	>100
	계	목표(단계별)	2	6	7	15	100
		실적(누적)	15	20	7	34	>350

가. 학술대회 발표를 통한 난각분말의 우수성 등 홍보

1) 산란계 중 노계에서 칼슘원으로써 난각 분말의 효능 (한국축산학회, 2021)



- 발표 장소 및 일시 : 온라인 / 2021. 07. 08
- 발표명 : Effects of dietary eggshell powder as a calcium source on growth performance, meat quality, blood parameters, and tibia characteristics in broilers
- 발표자 : 이우도, 김종일, 김경일, 문승규, 코타리 다미니, 김수기
- 목적 : 난각분말을 육계의 칼슘공급원으로 사용하였을 때, 섭취시 및 체내 부작용 없이 이용 가능 여부를 확인하기 위하여 조사
- 결과 : 난각분말은 육계의 사료섭취와 체내 칼슘 이용에 문제없이 사용 가능한 것으로 밝혀졌으며, 폐자원으로 분류되어 처리되고 있는 난각분말의 부가가치화를 통하여 경제적 손실을 방지할 수 있을 것으로 사료됨

2) 산란계에서 부추 발효 천연 사료첨가제의 급여 효능 (한국축산학회, 2021)



- 발표 장소 및 일시 : 온라인 / 2021. 07. 08
- 발표명 : Effects of dietary eggshell powder as a calcium source on growth performance, meat quality, blood parameters, and tibia characteristics in broilers
- 발표자 : 이우도, 김종일, 김경일, 문승규, 코타리 다미니, 김수기
- 목적 : 난각분말을 육계의 칼슘공급원으로 사용하였을 때, 섭취시 및 체내 부작용 없이 이용 가능 여부를 확인하기 위하여 조사
- 결과 : 난각분말은 육계의 사료섭취와 체내 칼슘 이용에 문제없이 사용 가능한 것으로 밝혀졌으며, 폐자원으로 분류되어 처리되고 있는 난각분말의 부가가치화를 통하여 경제적 손실을 방지할 수 있을 것으로 사료됨

3) 육계에 있어 난각분말 첨가제의 사용 안전성 및 효과 검증 (AAP, 2022)



- 발표 장소 및 일시 : 제주도 / 2022. 08. 25
- 발표명 : Supplementation effects of feed additive containing multi-probiotic strains and *Schisandra chinensis* combined with eggshell in broilers
- 발표자 : 김솔희, 문승규, 전상우, 왕연칭, 온정연, 최민경, 김수기
- 목적 : 폐자원 난각분말을 첨가제로 제작하여 육계 사료 내 사용가능성과 안전성, 효과를 검증하기 위한 연구를 수행
- 방법 : 공시동물로 Abor Acres 1일령 360수 (처리구당 90수, 반복당 15수)를 사용하였으며, 4주간 사육하여 생산성과 축산물의 품질 및 면역기능을 측정하였음.
- 결과 : 실험결과에 유의차가 발생하지 않음. 부정적인 효과도 없으나, 개선을 위해 첨가제의 배합비 수정이 필요함

4) 산란계에 있어 난각분말 첨가제의 사용 안전성 및 효과 검증 (한국가금학회, 2022)



- 발표 장소 및 일시 : 대전, / 2022. 11. 03
- 발표명 : Supplementation effects of feed additive containing multi-probiotic strains and Schisandra chinensis by-products combined with eggshell in laying hens
- 발표자 : 김솔희, 전상우, 최민경, 온정연, 왕엔칭, 상일강, 김수기
- 목적 : 폐자원 난각분말을 첨가제로 제작하여 산란계 사료 내 사용가능성과 안전성, 효과를 검증하기 위한 연구를 수행하였음
- 방법 : 공시동물로 Hy-line Brown 70주령 216수를 공시함. (처리구단 9반복, 반복당 6수) 적응기 2주 이후 4주간 첨가제를 급여하여 난 생산성 및 면역기능 등을 측정함.
- 결과 : 첨가제를 0.2% 급여한 처리구에서 산란율이 높게 나타남. 0.4% 급여한 처리구에서는 효과가 나타나지 않았기에 이에 대한 고찰 및 추가분석이 필요함

5) 난각생균복합제의 산란계 경골에서의 급이 효능 평가 (생명과학회, 2023)



- 발표 장소 및 일시 : 산청 / 2023.10.05
- 발표명 : Supplementation effects of feed additive containing multi-probiotic strains and Schisandra chinensis by-products combined with eggshell in laying hens
- 발표자 : 조항설, 김솔희, 왕엔칭, 상일강, 김수기
- 목적 : 복합프로바이오틱스 균주(Schisandra chinensis)와 오미자, 난각분말로 구성된 사료첨가제가 산란계의 뼈(tibia)에 미치는 영향의 연구
- 결과 : 경골 분석 지표 중 파쇄강도 및 무게에는 유의한 차이가 나타나지 않음. 경골 이외 다른 특성의 관찰도 필요할 것으로 보임

나. 국제논문 발표를 통한 난각분말의 우수성 홍보



- 1)
 - 저널명 : scientific reports
 - 저자 : Woo-Do Lee, Damini Kothan, Kai-Min Niu, Jeong-Min Lim, Da-Hye Park, Jaeun Ko, Kidong Eom & Soo-Ki Kim
 - 게재일 : 2021.06.24.
 - 논문명 : Superiority of coarse eggshell as a calcium source over limestone, cockle shell, oyster shell, and fine eggshell in old laying hens
 - 목적 : 노계에서 석회석을 대체할 칼슘원으로써의 난각분말
 - 내용 : 산란계 중 특히 노계에서 석회석 및 굴껍질, 고운 난각을 대체할 칼슘원으로써 거친 난각 분말이 효과적일 수 있는지에 대한 연구
 - 결과 : 거친 난각 분말은 산란계 중 노계에서 성장지표 및 난각 품질, 그리고 정강이 뼈의 건강에 있어 긍정적인 영향을 미칠 수 있음을 시사함



Communication

Potential Probiotic Acceptability of a Novel Strain of *Paenibacillus konkukensis* SK 3146 and Its Dietary Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota, and Meat Quality in Broilers

Seung-Gyu Moon¹, Damini Kothari², Woo-Deu Lee³, Jung-II Kim¹, Kyung-II Kim¹, Yong-Gi Kim¹, Goo-Whei Ga¹, Eun-Joy Kim¹ and Soek-Ki Kim^{1*}

¹ Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 05208, Korea; seunggyu@konkuk.ac.kr (S.G.M.); damini@konkuk.ac.kr (D.K.); woo-deu@konkuk.ac.kr (W.-D.L.); jungii@konkuk.ac.kr (J.-I.K.); kyungii@konkuk.ac.kr (K.-I.K.); yonggi@konkuk.ac.kr (Y.-G.K.); gwoo@konkuk.ac.kr (G.-W.G.); eunjoy@konkuk.ac.kr (E.-J.K.); soekki@konkuk.ac.kr (S.-K.K.)

² Division of Animal Husbandry, Yonsei College, Cheonan 31501, Korea; yoon@yonsei.ac.kr

³ Correspondence: soekki@konkuk.ac.kr; Tel: +82-43-493726; Fax: +82-43-493729



Check for updates

Citation: Moon, S.G.; Kothari, D.; Lee, W.-D.; Kim, J.-I.; Kim, K.-I.; Kim, Y.-G.; Ga, G.-W.; Kim, E.-J.; Kim, S.-K.

Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 14844.

https://doi.org/10.3390/ijerph191414844

Received: 12 October 2022

Accepted: 22 October 2022

Published: 24 October 2022

Copyright: © 2022 Moon et al.

Reprints: www.mdpi.com/journal/ijerph

Article Metrics: www.mdpi.com/journal/ijerph/metrics

Article Views: 14844

Full Views: 14844

PDF Views: 14844

Abstract Views: 14844

References: 14844

Keywords: 14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

2)

- 저널명 : animals

- 저자 : Moon, S. G., Kothari, D., Lee, W. D., Kim, J. I., Kim, K. I., Kim, Y. G., Ga, G.W., Kim, E. J., & Kim, S. K.

- 게재일 : 2022.06.06

- 논문명 : Potential Probiotic Acceptable of a Novel Strain of *Paenibacillus konkukensis* SK 3146 and Its Dietary Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota, and Meat Quality in Broilers

- 목적 : 난각생균제에 추가로 배합가능한 신균주 탐색

- 내용 : 신균주인 *Paenibacillus konkukensis*의 특성을 파악할 뿐만 아니라, 육계에 급여하여 그 효과 파악

- 결과 : 대조구에 비해 PK를 처리한 그룹에서 가슴살의 상대 중량이 증가하였으며, 공장내 다른 장내

미생물에 대한 *P. konkukensis*의 부작용 없이 *Streptococcus thermophilus*의 증가된 수($p < 0.05$)를 나타냄. 이 연구는 *P. konkukensis*가 가금류의 프로바이오틱 사료 첨가제로 적용될 가능성이 있음을 시사함

3)

- 저널명 : animals

- 저자 : Lee, W. D., Kothari, D., Moon, S. G., Kim, J. I., Kim, K. I., Kim, Y. G., Ga, G. W., & Kim, S. K.

- 게재일 : 2022.10.12

- 논문명 : Evaluation of Non-Fermented and Fermented Chinese Chive Juice as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters of Broilers

- 목적 : 난각생균제에 항산화능을 높이기 위해 새로운 천연물질(부추즙) 탐색을 진행함.

- 내용 : 육계인 Ross 308 총 800마리를 4개의 처리구로 나누어 실험을 진행함.

- 결과 : 발효부추즙의 추가급여는 혈액 구성을 개선하고 장내 병원균의 성장을 억제함으로써 가금류의 건강을 유지함



Article

Evaluation of Non-Fermented and Fermented Chinese Chive Juice as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters of Broilers

Woo-Deu Lee¹, Damini Kothari², Seung-Gyu Moon¹, Jung-II Kim¹, Kyung-II Kim¹, Goo-Whei Ga¹, Yong-Gi Kim¹ and Soek-Ki Kim^{1*}

¹ Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 05208, Korea

² Poultry Research Institute, National Institute of Animal Health, E1A, Pyungchang 214C, Korea

* Correspondence: soekki@konkuk.ac.kr; Tel: +82-43-493729

Citation: Lee, W.-D.; Kothari, D.; Moon, S.-G.; Kim, J.-I.; Kim, K.-I.; Kim, Y.-G.; Ga, G.-W.; Kim, S.-K.

Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 14844.

https://doi.org/10.3390/ijerph191414844

Received: 12 October 2022

Accepted: 22 October 2022

Published: 24 October 2022

Copyright: © 2022 Lee et al.

Reprints: www.mdpi.com/journal/ijerph

Article Metrics: www.mdpi.com/journal/ijerph/metrics

Article Views: 14844

Full Views: 14844

PDF Views: 14844

Abstract Views: 14844

References: 14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

14844

다. 연구인력양성



본 연구과제에 참여한 건국대학교에서 석사를 배출함. 축산업 종사자를 배출함으로써 이는 축산업 활성화에 기여할 것으로 보임

라. 마케팅 및 홍보

1) ‘라이브팜뉴스’, ‘한국농촌경제신문’ 등 Internet/PC 통신을 이용한 홍보

- 2021년: 라이브팜뉴스, 한국농촌경제신문 등은 전 축종의 농가, 축산 관련 업체가 보는 축산전문 인터넷 신문임. 공동연구개발기관 (주)하농은 난각생균제 개발에 앞서 소비자, 파트너가 제품에 대한 인식을 형성하도록 아래와 같은 기사를 게재하였으며, 개발하고자 하는 제품의 특징점과 기능성을 밝혀 국내외 축산 종사자들에게 홍보하고자 하였음



- 2022년: 라이브팜 뉴스는 전 축종의 농가, 축산 관련 업체가 보는 축산전문 인터넷 신문임. 공동연구개발기관 (주)하농은 난각생균제 개발에 앞서 소비자, 파트너가 제품에 대한 인식을 형성하도록 아래와 같은 기사를 게재하였으며, 개발하고자 하는 제품의 특징점과 기능성을 밝혀 국내외 축산 종사자들에게 홍보하고자 하였음



2) '축산경제신문' 매체를 통한 수행 연구 홍보 및 시험사육 농가 모집공고

- 축산경제신문은 한우, 낙농, 한돈, 양계, 오리를 비롯해 양봉, 양토, 양록 등 기타 축종까지 축산업에서 이슈화되고 있는 주요 정보들을 축산인들에게 전달하는 매체임. 본 매체를 통해 연구개발기관(건국대, (주) 하농)에서 개발하고자 하는 난각생균제 제품의 독창성과 차별성 및 기능성을 보도하였음
- 특히, 1년차인 2021년도에, 2, 3차년도 시제품의 실증 검증을 위하여 시험사육농가 모집 공고 기사를 아래와 같이 보도하였음

2021-09-10 15:44 (금)
채널모로 | 포커싱 | 회원가입 | 전체기사

HOME > 관련산업 > 사료

하농 생균제 '난각 멀티제' 공동 개발

이국열 기자 | 승인 2021.08.27 14:10 | 댓글 0

건국대학교와, 시험농장 모집



[축산경제신문 이국열 기자] 사료첨가제 전문기업인 (주)하농은 건국대학교와 난각에서 추출한 특수균으로 만든 사료첨가제 '난각 멀티제' 공동개발에 착수했다. 이번에 개발한 균들은 장내 병원균 증식을 억제해 가축 폐사를 줄이고 면역증강, 소화율 향상 등의 효과가 있는 것으로 확인됐다. 보통 상균제의 경우 유통과정에서 시간이 지나면 균수가 빠른 속도로 감소해 유통과정에서 균수가 많이 감소하지만 이번에 개발한 균주들은 상온기간이 길어서 가축이 섭취하기까지 균수를 최대한 보존하는 특징이 있다. '난각 멀티제'는 난각생균제에 비타민, 아미노산, 천연미네랄, 복합효소제 등을 조합해 다양한 성분들을 동시에 급여할 수 있다. 김수기 건국대학교 교수는 "농가가 경제력을 확보하기 위해서는 적절한 첨가제를 사용해 사료의 품질을 강화하고 사양관리를 통해 차별적인 성적을 이뤄야 한다"고 강조했다. 최주철 하농 대표이사는 "어떤 병아리나, 사료에도 좋은 성적을 낼 수 있는 첨가제 개발을 목표로 원료를 엄선해 제품을 설계했다"며 "하농은 신제품 시험사육을 진행할 육계·산란계 농가를 모집하고 있어 시험사육 참여농가에게 전문 컨설팅트를 파견해 사양관리 컨설팅을 제공할 예정이다"고 말했다. 한편, 특허균주 개발자인 김수기 건국대학교 교수는 특허기술을 (주)하농에 이전하고 균주를 분양하며 공동 개발에 착수했다. 하농은 김수기 교수를 비롯한 양계전문가 집단과 협력해 시험사육을 진행해 사료영양·사양관리 솔루션을 농가에 제공하고, 2022년에는 양돈농가를 위한 제품도 개발할 예정이다.

저장공간 > 축산경제신문 보안전재 및 재래포 등지

인기기사

- 1 '누구를 위한 제2개신인가'
- 2 식약처 일부종류 동물 제란 공표용 확산
- 3 축산업 '외국산 축산물 수입이 큰 급식 개선...
- 4 참프레 후식선물세트 8종 선봬
- 5 멧돼지 갑종 확산정 대책 집중
- 6 '식물분야 디지털 플랫폼' 사업 본격화
- 7 올해 최고의 사육종 대통령장 차지
- 8 대동 2021년 하반기 신임/경력 사원 채용
- 9 동물약품협회 예방동물용제제 업체 교육 실시
- 10 세계 축산관련업체인 지글인 동물약품

최신기사

- 축산농가 개선요구 특살한 재 사육밀도모니터링 가동
- 한돈협회 '모든이형제, 또 다른 규제'
- 한돈협회 '비수사육 1%에 6마리...
- 가족분노처리 지원사업 어떻게 바뀌나
- 통계청 생산비 공표용위 확대 추진

3) 월간지를 이용한 홍보

- 2022년: 공동연구개발기관 (주)하농은 건국대학교에서 실험한 실험결과를 양계관련 업체가 보는 월간잡지인 월간양계, 월간닭고기, 월간폴트리, 스마트 양계 등에 게재하여 제품의 홍보를 진행함



월간양계 (2022.10)



월간닭고기 (2022.10)



월간폴트리 (2022.10)



스마트양계 (2022.10)

- 2023년: 건국대학교에서 실험한 실험 결과를 가금 관련 업체가 보는 월간잡지 및 양돈 밴드에 게재하여 제품의 홍보를 진행함



전문잡지 광고 사진



양돈 밴드 광고 사진

4) 박람회/전시회 참여를 통한 홍보

- 2022년: 공동연구개발기관 (주)하농은 대구에서 열리는 한국국제축산박람회에 참여하여 오프라인 전시를 진행함. 해당 전시에서는 본 과제의 개발제품인 난각생균제의 차별성을 홍보하면서 시제품을 나누어주는 등 본격적인 시장 인식 형성을 진행함



- 2022년: 공동연구개발기관 (주)하농은 광주에서 열리는 스마트 축산 K-FARM 페어 (KOLEF)에 참여하여 오프라인 전시를 진행함. 해당 전시에서는 본 과제의 개발제품인 난각생균제의 차별성을 홍보하면서 시제품을 나누어주는 등 본격적인 시장 인식 형성을 진행함



- 2023년: 공동연구개발기관 (주)하농은 한국 홀스타인 품평회 및 한국 국제 축산 박람회에 참여하여 오프라인 전시를 진행함. 해당 전시에서는 본 과제의 개발제품인 난각생균제의 차별성을 홍보하면서 시제품을 나누어주는 등 본격적인 시장 인식 형성을 진행함



한국홀스타인품평회 참여 사진



한국국제축산박람회 참여 사진

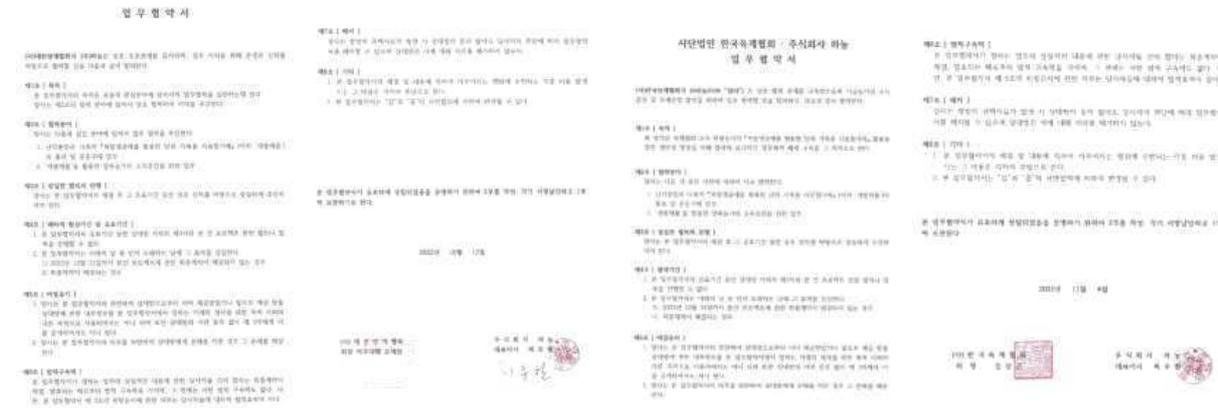
5) 2022 제 10차 한국양계포럼 발표

공동연구개발기관 (주)하농은 한국양계포럼에 참석하여 육계시험사육결과 발표를 진행함.



6) 대한양계협회 총회 홍보물 배포 및 MOU 체결

공동연구개발기관 (주)하농은 본 과제 개발제품인 난각생균제의 홍보 및 공동구매를 위해 (사)대한양계협회 및 (사)한국육계협회와 MOU를 체결함.



(사)대한양계협회 업무협약서

(사)한국육계협회 업무협약서

마. 기술자료 확보

(1) 육계 사육, 산업 관련 기술자료 확보 (2021)

공동연구개발기관 (주)하농은 육계 컨설팅 전문기관인 (주)계흥의 유재석 대표와 협업하여 제품적용에 있어서 필요한 사양관리, 사료, 유통과정에 대한 가장 최신의 기술자료를 2021년 9월부터 12월에 걸쳐서 다량 확립하고, 컨설턴트의 방문교육을 통해 참여연구원들이 육계사육, 육계시장에 대한 지식을 배양하도록 함



(2) 개발제품, 성분 관련 기술자료 확보 (2021)

공동연구개발기관 (주)하농은 주식회사 조은이엔지 소속의 조명현 축산박사와 협업하여 개발제품의 기술자료를 작성하고, 연구에 사용되거나 사용될 수 있는 균주들의 약리작용에 대한 자료 등 향후 제품홍보 및 농가적용에 있어서 필수적인 기술자료를 작성함



(3) 투입원료 및 후보원료의 안정성 및 성분 검정 (2021)

1) 투입원료

- 사용 균주

사용 균주인 바실러스 서브틸리스, 바실러스 리체니포미스, 사카로마이세스 세레비지에를 난각, 천연미네랄, 단미사료(옥수수, 소맥피)와 각각 혼합하여 단순배합한 경우, 60도로 1시간동안 가열한 경우를 측정한 결과 어떤 경우에서도 균이 사멸하는 경우는 없었으며 특히 난각의 경우 60도 가열했을 때 사카로마이세스 세레비지에의 균수가 높게 나타나는 경향을 보였음

수입으로 진행한 바실러스 서브틸리스와 바실러스 리체니포미스의 효소반응을 건국대학교에서 측정한 결과 셀룰라제, 아밀라아제, 프로테아제에서 모두 정상적으로 나타나고 균수 역시 그램당 10의 11승 이상을 보임

- 비타민

보조사료 시장에서는 비타민의 안정도가 문제가 되는 경우가 많아서 시장에서 안정도가 가장 높은 것으로 알려져 있는 DSM사의 종합비타민을 원료로 활용함. 크리스탈 코팅의 강도를 시험하기 위해 비타민을 60도에서 1시간 가열하여 비타민A, D3, E의 활성도를 측정함. 그 결과 60도로 1시간 가열한 경우에도 비타민의 함량에 전혀 손실이 없었음. 이를 통해 농가의 사료조 또는 배합사료공장의 공정으로 난각생균제가 들어갔을 때 비타민이 소실되지 않고 대부분 보전될 가능성이 높다는 것을 알 수 있음

- 진세노사이드 원액

진세노사이드 및 사포닌은 면역물질로서 질병을 예방하고, 동물의 혈행을 개선하는 것으로 알려져있음. 분석결과 원료로 채택한 진세노사이드 원액은 g당 조사포닌의 함량이 약 8mg으로 나타났고, 차년도 후보원료인 홍삼박의 경우 g당 약 30mg으로 원액보다 더 높게 나타남. 또한 진세노사이드 전문 분석기관인 (재)금산인삼약초산업진흥원에 원액의 진세노사이드 함량 검정을 맡긴 결과 Rg1, Rb1, Rg3(s)의 함량이 g당 1.72mg으로 나타남

진세노사이드 원액을 투입함으로써 가축질병을 예방하고 건강을 증진시킬 수는 있으나, 아직 사포닌계란, 사포닌 닭고기 등 프리미엄급 축산물을 생산할 만큼의 사포닌을 함유하고 있지는 않다고 판단됨

- 난각 유해성분 분석

난각의 유해성분을 분석한 결과 대장균, 살모넬라 모두 불검출됨

2) 후보원료

- 발효총체옥수수 분말

발효정도를 관찰하기 위해 프로테아제, 알파아밀라아제, 셀룰라아제, 키시라나제를 측정 한 결과 4종의 효소가 모두 거의 나타나지 않음

- 발효섬유소 분말

발효정도를 관찰하기 위해 프로테아제, 알파아밀라아제, 셀룰라아제, 키시라나제를 측정 한 결과 4종의 효소가 모두 거의 나타나지 않음. 이에 따라 발효옥수수, 발효섬유소는 본 과제의 원료로 사용하기에 부적합하다는 결론을 내림

- 곡물혼합사료

미강, 루핀, 대두박, 소맥피, 버섯배지 등을 원료로 하여 발효한 곡물혼합사료 샘플 3점 획득하여 난각샘플 10%, 고초균 0.1%, 효모균 0.1%를 각각 혼합하여 분석함. 곡물혼합사료 자체에 유산균이 g당 $10^4 \sim 10^6$ 까지 검출되었으나 오차의 범위가 넓었고, 효소의 경우 한 개의 샘플에서 알파아밀라아제가 3455U/g이 검출된 것 외에는 3점의 샘플 모두에서 거의 검출되지 않았음. 이러한 특성을 감안하더라도 곡물혼합사료는 대두박 등에 비해 단가가 저렴하기 때문에 향후 과제의 원료로 고려해볼 수 있음

(4) 전문가 초빙 컨설팅 수행 (2021)

공동연구개발기관 (주)하농은 산업의 특성, 사양관리, 사료영양, 마케팅 등의 지식을 습득하기 위해 다양한 기관으로부터 전문가를 초빙하여 참여연구원을 대상으로 컨설팅 및 교육을 진행함

컨설팅을 수행한 전문인력은 다음과 같음

- 김춘수 : 농학박사, 현 연암대학교 축산학 교수
- 유한진 : 축산기술사, 저서 ‘산란계사양관리 지침서’ 저자
- 유재석 : (주)계흥 대표, 저서 ‘육계사양관리’ 저자, 육계 ICT컨설턴트
- 조명현 : 축산박사, (주)조은이앤지 소속, 축산 컨설턴트
- 윤흥선 : 현. (주)현대양계 대표이사



(5) 공정도 확보 (2021)

공동연구개발기관 (주)하농은 보조사료제조 전문업체인 허브바이오에 컨설팅을 의뢰하여 아래와 같은 공정도를 확보함

난각생갈제 공정도

기업명: 주식회사 하농 제품명: 분말
 제품명: 난각생갈제 사료명칭: 마성물갈제
 고객명: 난각생갈제 이후각 축산생물체를 활용한 단위가축을 사료첨가제의 성분화

공정 설명:

영역 번호	공정명	공정 상세내용
1	원재료 입고	원재료 입고시 수량 변동체크, 규격 확인
2	역상이상을 배양	역상배양으로 난각 추출은 3주용 각자 배양
3	역상원료 수분조절	역상원료를 수분조절제와 혼합하여 수분을 30% 이하로 조정
4	분쇄원상 제거	분쇄제 혼합한 역상원료의 분쇄원상 제거를 위해 건조, 수분조절제 추가혼합 진행
5	1차 갈사	수분조절 원료 혼합검사
6	소량원료 혼합	1종당 2kg 미만으로 들어가는 소량 분쇄원료를 소량 용량이 순회용 용포당 20kg 이상 혼합
7	분쇄기	난각 및 부피가 큰 원료는 수분율 10% 미만으로 조절하고 분쇄 진행
8	원료유입	원재료의 투입은 분쇄난각을 먼저 투입시켜 소량원료가 하얗게 날리진 않도록 함
9	원료배합	배합은 1종씩 진행하며 1종당 90분 이상 혼합
10	2차 갈사	8면 공정을 완료한 제품이 대포를 위해 소량으로 제조된 샘플의 색상과 일치하는지 확인
11	계량 및 포장	속이 날, 지아를 채워하여 20kg 남포 표준 및 알러브 작업 제조일자 표기
12	피동 갈사	무질량제, 제조일자, 생산량 등 최종검정

* 분 순정순 원료 투입비율에 따라 변경될 수 있음

그림. 사료첨가제 공정도

(6) 발표조건 조성에 관한 컨설팅 진행 (2022)

- 공동연구개발기관 (주)하농은 현 고창부안축협, 익산군산축협, 함달산청축협, 의령축협 컨설턴트인 권오광 축산박사와 협업하여 이상적인 발효조건 조성에 관한 컨설팅을 진행함



바. 시제품 생산

(1) 난각생균제 홍보영상, 팸플릿, 제품디자인 확보 (2021)

- 공동연구개발기관 (주)하농은 개발제품인 난각생균제의 홍보 및 설문조사를 위한 팸플릿을 전문 디자인기관에 의뢰하여 작성하였고, 스티커 디자인 3점, 제품지대 디자인 3점 등 제품디자인을 확보함. 또한 난각생균제의 홍보영상 제작을 위해 (주)하농, 건국대학교와의 인터뷰를 진행하였고, 개발제품에 대한 전문의견을 모았음



난각생균제 제품설명서 1



난각생균제 제품설명서 2



난각생균제 제품설명서 3



난각생균제 제품지대 디자인



난각생균제 제품지대 디자인



난각생균제 제품지대 디자인



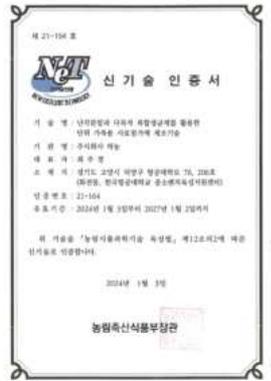
난각분말 복합생균제 홍보 동영상

(2) 난각생균제 시제품 생산 (2022)

공동연구개발기관 (주)하농은 2022년 4월 20일과 5월 17일에 첨가제 시제품을 각 5톤씩 생산함. 총 10톤의 첨가제 시제품은 시험사육, 실험 등에 사용됨



사. 신기술 인증 취득



난각막의 특성과 미생물의 흡착 원리

1) 공동연구개발기관 (주)하농은 '난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제 제조기술'에 대하여 **농림식품신기술인증(NET)**을 취득함

2) 본 신기술의 핵심 원리: 난각막의 미생물 흡착원리는 난각막의 다공성 구조와, 난각분말의 양이온 및 미생물의 음이온의 결합으로 난각 담체(Carrier)에 균이 쉽게 흡착되는 것을 이용. 흡착된 유용미생물을 동정하여 밝히고 이를 대량배양하여 다시 난각분말, 기타 유용성분들과 복합제로 개발한 사료첨가제 제조 기술임

3) 본 신기술은 난각분말과 난각에서 분리한 균주 *Bacillus licheniformis* SK4279, *Bacillus subtilis* SK4282, *Lactobacillus plantarum* SK4288를 활용하여 난각분말에서의 유익균 생존성을 높이고, 사료요구율 등 가축의 생산성을 높이고, 골밀도 개선 및 장내균총 개선 등 가축의 지속성을 높이며, 암모니아 가스 및 악취저감 등 환경을 개선하는 것을 내용으로 함

아. 특허 출원



출원일자 : 2024.02.14.
 출원번호 : 10-2024-0020884
 출원인 명칭 : 건국대학교 산학협력단
 발명의 명칭 : 난각분말, 오미자박 및 생균제를 포함하는 육계용 사료첨가제 조성물



출원일자 : 2024.02.14.
 출원번호 : 10-2024-0020805
 출원인 명칭 : 건국대학교 산학협력단
 발명의 명칭 : 이유자돈사 악취저감, 장내균총 및 골밀도 개선용 난각생균 혼합물 사료첨가제

자. 포상 및 수상

1) 농림축산식품 과학기술대상 수상 (수상번호 : 농림축산식품 제118980호)



- 포상종류 : 제24회 농림축산식품 과학기술대상
 - 포상명 : 농림축산식품부 장관 표창장
 - 포상내용 : 농림축산식품 과학기술 개발 및 보급, 산업 발전 기여 공로
 - 포상기관 : 농림축산식품부
 - 포상일 : 2021. 09. 08

2) 한국국제 축산박람회 우수전시업체 수상 (수상번호 : 제 7935호)



- 포상종류 : 2022 한국국제 축산박람회 우수전시업체 심사
 - 포상명 : 최우수상(국무총리상)
 - 포상내용 : 2022 한국국제 축산박람회 우수전시업체 심사에서 우수한 성적을 거두어 최우수상을 수여
 - 포상기관 : 행정안전부
 - 포상일 : 2022. 04. 15

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)
1	Superiority of coarse eggshell as a calcium source over limestone, cockle shell, oyster shell, and fine eggshell in old laying hens	Scientific reports	Woo-Do Lee, Damini Kothari	11	미국	Nature	SCI	2021.06.24	2045-2322
2	Potential Probiotic Acceptability of a Novel Strain of Paenibacillus konkukensis SK 3146 and Its Dietary Effects on Growth Performance, Intestinal Microbiota, and Meat Quality in Broilers	Animals	Seung-Gyu Moon	12	스위스	MDPI	SCI	2022.06.06	2076-2615
3	Evaluation of Non-Fermented and Fermented Chinese Chive Juice as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters of Broilers	Animals	Woo-Do Lee	12	스위스	MDPI	SCI	2022.10.12	2076-2615

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국축산학회	이우도, 김총일, 김경일, 문승규, 코타리, 다미니, 김수기	2021.07.08	온라인	대한민국
2	한국축산학회	김경일, 이우도, 김총일, 문승규, 코타리, 다미니, 김수기	2021.07.08	온라인	대한민국
3	AAAP	김술희, 문승규, 전상우, 최민경, 온정연, 왕연칭, 상일강, 김수기	2022.08.24	제주 ICC 국제컨벤션센터	대한민국
4	한국가금학회	김술희, 전상우, 최민경, 온정연, 왕연칭, 상일강, 김수기	2022.11.04	대전 IBS 과학문화센터	대한민국
5	한국생명과학회	조항설, 김술희, 왕연칭, 상일강, 김수기	2023.10.05	산청세계전통의약항노화엑스포	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원 일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	난각분말, 오미자박 및 생균제를 포함하는 육계용 사료첨가제 조성물	대한민국	건국대학교 산학협력단	24.02.14	10-2024-0020884						
2	이유자돈사 악취저감, 장내균총 및 골밀도 개선용 난각생균 혼합물 사료첨가제	대한민국	건국대학교 산학협력단	24.02.14	10-2024-0020805						

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

Table with 11 columns: 번호, 제품화, 방어, 전용실시, 통상실시, 무상실시, 매매/양도, 상호실시, 담보대출, 투자, 기타. Row 1: √ in 제품화 column.

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

Table with 8 columns: 번호, 저작권명, 창작일, 저작자명, 등록일, 등록 번호, 저작권자명, 기여율.

□ 신기술 지정

Table with 6 columns: 번호, 명칭, 출원일, 고시일, 보호 기간, 지정 번호. Row 1: 21-164, 난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위 가축용 사료첨가제 제조기술, 2024.01.03, 2024.01.03, 2024.01.03 - 2027.01.02.

□ 기술 및 제품 인증

Table with 6 columns: 번호, 인증 분야, 인증 기관, 인증 내용 (인증명, 인증 번호), 인증 획득일, 국가명.

□ 표준화

○ 국내표준

Table with 8 columns: 번호, 인증구분¹, 인증여부², 표준명, 표준인증기구명, 제안주체, 표준종류³, 제안/인증일자.

- * 1] 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
* 2] 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 3] 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

Table with 11 columns: 번호, 표준화단계구분¹, 표준명, 표준기구명², 표준분과명, 의장단 활동여부, 표준특허 추진여부, 표준개발 방식³, 제안자, 표준화 번호, 제안일자.

- * 1] 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 2] 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
* 3] 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

Table with 9 columns: 번호, 시제품명, 출시/제작일, 제작 업체명, 설치 장소, 이용 분야, 사업화 소요 기간, 인증기관 (해당 시), 인증일 (해당 시). Row 1: 1, 난각생균제, 21.12.31 / 22.04.20, (주) 하농, 육계/산란계/양돈, 3년.

□ 기술 실시(이전)

Table with 7 columns: 번호, 기술 이전 유형, 기술 실시 계약명, 기술 실시 대상 기관, 기술 실시 발생일, 기술료 (해당 연도 발생액), 누적 징수 현황.

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	기술이전	기존 제품 개선	국내	난각생균제	난각생균	(주) 하능	122,965		2023	

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
난각생균복합제 제품 판매	2023	122,965	-	122,965	
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		122,965	500,000	1,000,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내	0.001	0.005	0.01
국외			0.001	0.005	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		123,000	500,000	1,000,000	
	수출		200,000	500,000	

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)			합계
			2021년	2022년	2023년	
1	난각분말과 다목적복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제의 상용화	(주) 하능	3명	4명	2명	9명
합계			3명	4명	2명	9명

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	3
		생산인력	2
	개발 후	연구인력	5
		생산인력	5

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도	난각생균제	123,000				9	
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원
1	난각생균제	2021	축산인	전시장	100
2	난각생균제	2022	축산인	전시장	90

□ 기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
			1	6	1	1	5	4	9					

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	internet/PC통신	인터넷 뉴스기사	하농 생균제 '난각 멀티제' 공동 개발	2021.08.27
2	internet/PC통신	인터넷 뉴스기사	하농, 난각 추출 특수균주 첨가 사료첨가제 개발 착수	2021.08.31
3	internet/PC통신	인터넷 뉴스기사	'난각' 특수균으로 사료첨가제 개발 돌입	2021.08.31
4	월간잡지	스마트양계	산학 연구 통해 농가에 꼭 필요한 제품 내 놓겠다	2021.09.01
5	internet/PC통신	인터넷 뉴스기사	(주)하농, 건국대학교와 난각 유래 특수균주로 신제품 개발착수	2021.09.08
6	월간잡지	홍보용 팸플렛	'난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제'	2021.12.13
7	internet/PC통신	제품 홍보영상	'난각분말과 다목적 복합생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제'	2021.12.30
8	internet/PC통신	라이브팜뉴스	난각생균제 바이오칼슘, 산란율과 난질 시험 사육	2022.09.15
9	월간잡지	월간양계	사료값 줄여준다. 얼마나? 10%	2022.10.01
10	월간잡지	월간닭고기	사료요구율 10% 개선, 증체량 100g 증가	2022.10.01
11	월간잡지	월간폴트리	사료값 줄여준다. 얼마나? 10%	2022.10.01
12	월간잡지	스마트 양계	사료값 줄여준다. 얼마나? 10%	2022.10.01

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
제 118980호	장관표창장	농림축산식품부 장관 표창장	농림축산식품 과학기술 개발 및 보급 및 산업 발전 기여 공로	김수기 교수	2021.09.08	농림축산식품부
제 7935호	2022 한국국제 축산박람회	국무총리표창 (최우수상)	2022 한국국제 축산박람회 우수전시 업체 심사	(주) 하농	2022.04.15	행정안전부

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 학술발표 5건	○ AAAP, 한국가금학회 등에 참석하여 달성	100
○ 논문 (SCI) 2건	○ Animals에 2편 투고	100
○ 논문 (비 SCI) 1건	○ Scientific reports에 1편 투고(SCI)	100
○ 인력양성 2건	○ '가견취' 연구원 등 석박사 학위 수료 및 초과 달성	350
○ 홍보전시 2건	○ 박람회 참여 등 총 7건으로 초과 달성	700
○ 특허출원 2건	○ 육계, 이유자돈 실험내용으로 달성	100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 사항 없음)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

국내에서 배출되는 난각은 2016년 기준으로 연 9만 톤에 이르지만, 재활용되는 난각의 양은 매우 적으며 대부분은 폐기물로 분류되어 일반쓰레기로 배출되고 있는 상황임. 국내에 난각 분말을 처리할 수 있는 시설이 있지만 처리비용이 많이 들고 환경적 문제가 발생 되어 다방면으로 피해 및 손실이 발생함 (월간양계, 2016) 위와 같이 현재도 난각은 재활용이 거의 되어지지 않고 있는 실정이지만 위의 연구를 통하여 난각의 재활용을 가능하게 할 수 있음과 동시에 효과가 있는 사료첨가제로서 사용할 수 있고, 난각생균제는 항생제를 대체할 수 있음

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

난각생균제는 단위동물용 사료첨가제로서의 활용이 가능하고 추후에도 (주)하농은 다양한 축종을 위한 사료첨가제 제작이 가능함

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1. 공통 요구자료	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
	3) 연구부정행위 예방 확인서

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업 ‘난각분말과 다목적 복합 생균제를 활용한 단위가축용 사료첨가제의 상용화’ 연구과제의 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 기술사업화지원사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.