

발 간 등 록 번 호

11-1543000-001238-01

**돼지의 성장과 면역 및 번식능력 평가에 의한 항생제
대체 자기활성수 시스템 개발**

(Development of Magnetized Water System for
Antibiotics-Replacement from Assesment of Growth,
Immunity and Reproductive Activity in Pigs)

강원대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “돼지의 성장과 면역 및 번식능력 평가에 의한 항생제 대체 자기활성수 시스템 개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016년 02 월 03일

주관연구기관명 : 강원대학교

주관연구책임자 : 박 춘 근

연 구 원 : 이 상 희

연 구 원 : 송 은 지

연 구 원 : 차 혜 진

연 구 원 : 황 보 용

연 구 원 : 오 해 인

연 구 원 : 김 유 진

연 구 원 : 정 수 정

요 약 문

I. 제 목 : 돼지의 성장과 면역 및 번식능력 평가에 의한 항생제 대체 자기활성수 시스템 개발에 관한 연구

II. 연구성과 목표 대비 실적

구 분	지식재산권		논문		학술 발표	기술 거래	교육 지도	상품화	기술 인증	인력 양성	정책 활용	언론 홍보	기 타
	출원	등록	SCI	비 SCI									
목표	1	1	1	5				1				1	
실적	2		1	5	9	1		1		2		1	
달성율(%)	200		100	100				100				100	

III. 연구개발의 목적 및 필요성

- 자기활성수 장치를 개발하여 세포의 성장과 항산화능력, 돼지의 성장, 번식능력 및 면역력을 평가하여 항생제대체 시스템을 개발

IV. 연구개발 내용 및 범위

1. 연구개발의 내용

- 가. 정자와 난자 및 상피세포에서의 자기활성수의 성장능력과 항산화능력 구명
- 나. 돼지의 임신 전후의 자기활성수 급여에 의한 면역능력, 수태능력 및 번식능력 구명
- 다. 돼지의 성장 및 면역능력의 평가에 의한 자기활성수 시스템의 개발

2. 연구개발의 범위

- 가. 자기활성수를 생산하기 위한 자석 제조 및 장치 규격화
- 나. 자기활성수를 이용한 돼지정액 보존액 실험실시 및 돼지 난자 성숙 실험 실시
- 다. 난관 및 자궁 상피세포를 이용한 자기활성화 된 배양액의 성장능력 및 항산화능력 분석
- 라. 돈사 급수시설 설비에 자기활성수 생산 장치 개발
- 마. 자기활성수의 급여가 모돈의 번식능력에 미치는 영향 분석
- 바. 자기활성수의 급여가 모돈의 포유능력 및 초유 단백질 패턴에 미치는 영향 규명
- 사. 자기활성수의 급여가 비육돈의 성장능력 및 면역능력에 미치는 영향 규명
- 아. 자기활성수를 급여한 돼지의 육질 분석

V. 연구개발결과

- 1. 세포 희석액 및 배양액을 자기활성화 시키기 위한 자기활성장치 제조

가. 2개의 neodymium 자석을 이용하여 액체가 관류할 수 있는 장치를 개발

나. 자석의 세기 및 거리를 조정하여 세포 희석액 및 배양액이 지나가는 공간을 2000, 4000, 6000G의 자력의 세기가 되도록 장치를 제조

2. 세포 수준에서의 자기활성수의 역할 구명

가. 돼지의 생식세포에서의 자기활성화 된 희석액 및 배양액의 영향

- (1) 4000G 이상의 자력의 세기에서 5분 동안 관류된 정액 보존액(자기활성화 된 정액 보존액)으로 희석된 돼지 정자는 보관 120시간 이후부터 대조구에 비해 생존율, 침체반응 억제율, 미토콘드리아 활성 및 체외 수정률이 향상되었음
- (2) 자기활성화 된 정액 보존액은 BSA로부터 발생하는 정자의 산화스트레스를 억제함
- (3) 자기활성화 된 배양액을 이용하여 돼지 난자를 성숙시켰을 때, 난자의 핵 성숙의 향상, 활성산소의 감소, 항산화효소의 활성도 증가 및 apoptosis 유전자를 감소시킴

나. 돼지 자궁내막 상피세포에서의 자기활성수의 역할 구명

- (1) 6000G 자력의 세기에서 5분 동안 관류된 세포 배양액은 돼지 자궁내막 상피세포의 성장률을 증가시키고 세포 내 항산화 효소 활성도를 증가시킴
- (2) 자기활성화 된 세포배양액은 산화스트레스가 유도된 자궁내막 상피세포의 활성산소를 감소, 항산화 효소의 활성도 증가 및 미토콘드리아 활성과 생존율을 증가시킴

3. 자기활성수의 급여가 돼지의 번식능력 및 포유능력에 미치는 영향

가. 임신기간 동안 자기활성수의 급여가 돼지의 번식능력에 미치는 영향

- (1) 임신기간(114일)동안 6000G 자석의 세기를 통과한 자기활성수를 급여한 돼지의 분만 시 자돈의 체중과 수가 증가되었음

나. 임신기간 동안 자기활성수의 급여가 돼지의 포유능력에 미치는 영향

- (1) 임신기간 동안 자기활성수를 급여한 모돈의 분만 때의 초유 단백질을 profiling한 결과 자돈의 항감염에 관련된 단백질과 immunoglobulin family의 단백질이 증가한 것을 확인
- (2) 자기활성수를 급여한 포유돈의 초유 및 모유를 급여한 자돈은 이유 시 체중이 증가하였으며, 사산되는 자돈의 수가 감소하였음

4. 자기활성수의 급여가 돼지의 성장, 면역 및 육질에 미치는 영향

가. 자기활성수의 급여가 이유자돈의 성장 및 혈액성상에 미치는 영향

- (1) 6000G의 자석의 세기를 통과한 자기활성수를 이유자돈에게 급여하였을 때, 일당증체량 및 사료효율이 향상됨
- (2) 자기활성수를 급여한 자돈의 적혈구, 헤모글로빈 및 혈구용적이 향상됨

나. 자기활성수의 급여가 비육돈의 성장 및 면역능력에 미치는 영향

- (1) 자기활성수의 급여는 육성돈의 일당증체량 및 사료효율을 향상시킴
- (2) 혈청 내 immunoglobulin G와 M은 자기활성수를 급여한 비육돈에서 대조구에 비해 증가한 것을 확인

다. 자기활성수의 급여가 돼지고기 육질에 미치는 영향

- (1) pH와 육색이 자기활성수를 급여한 돼지의 돈육에서 정상범위 내의 수치를 나타냄
- (2) 자기활성수를 급여하였을 때 돈육의 전단력 증가, 가열감량의 감소 및 보수력이 증가하였음
- (3) 4℃에서 냉장 보관하는 동안 10, 13일차에는 자기활성수를 급여한 돼지의 돈육의 단백질 산패도가 감소하였음

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 성장속도의 증가와 활성산소를 줄여주는 세포배양시스템의 개발이 가능
2. 청정에너지의 사용 및 보급을 확대하는 저탄소 녹색성장 시대에 지속가능하고 환경오염이 발생하지 않는 가축의 생산성 향상을 위한 농가형 자기활성수 생산 시스템 개발
3. 모든 번식능력 향상으로 인한 생산성 증가는 국내 양돈산업의 MSY 증가와 타 가축의 기능성 음용수 산업에도 접목 할 수 있고 농업에도 활용이 가능하고 판단
4. 연구결과의 지적 재산권을 확보하여 참여기업에서 제품을 대량으로 생산할 수 있는 설계도 및 생산 라인을 바탕으로 제품의 상품화
5. 산학협력 기술이전을 통한 축산농가 및 기업에 기술이전 실시
6. 지자체 및 양돈협동조합 지원사업의 협력을 통한 제품의 사업화

SUMMARY

I. Title : Development of Magnetized Water System for Antibiotics-Replacement from Assesment of Growth, Immunity and Reproductive Activity in Pigs

II. Goal of Research and Development Records

Item	Patents		Paper		Conf eren ce	Tech nical trans fer	Educ ation	Com merc ializa tion	Tech nical certifi cation	Manp over traini ng	Apply ing policy	Medi a publi c relati on	Othe rs
	Appli catio n	Regis trati on	SCI	Non SCI									
Goal	1	1	1	5				1				1	
Record	2		1	5	9	1		1		2		1	
Achievement(%)	200		100	100				100				100	

III. Objective and Necessity of Research and Development

- Development of magnetized water system for improvement of growth and antioxidative ability of cells, reproductive performance, growth performance in pigs

IV. Contents and Range of Research and Development

1. Contents

- A. Investigation of magnetized water on sperm characteristics, oocyte maturation and endometrial epithelial cells in pigs
- B. Investigation of magnetized water on reproductive performance, lactation ability in sows
- C. Development of magnetized water system for improvement of growth performance and immunity in growing pigs

2. Ranges

- A. Installation of magnetic equipment for production of magnetized water
- B. Study of magnetized semen extender and medium on sperm liquid preservation and oocyte maturation in pigs
- C. Investigation of magnetized culture medium on cell growth and antioxidative in porcine endometrial epithelial cells
- D. Installation of magnetic equipment onto water pipe for production of magnetized water
- E. Investigation of magnetized water on reproductive performance in sows

- F. Investigation of magnetized water on lactation ability and colostrum protein pattern in pigs during lactation phase
- G. Study of magnetized water on growth performance and immunity in growing pigs
- H. Investigation of magnetized water on meat quality in pigs

V. Results

1. Installation of magnetic equipment for production of magnetized semen extender and cell culture medium
 - A. Development of magnetic equipment using two neodymium magnet
 - B. Development of magnetic field (2000, 4000 and 6000 G) regulation system for flowing semen extender and cell culture medium using magnets distance and field
2. Investigation of magnetized water in porcine cells
 - A. Effect of magnetized semen extender and cell culture medium in porcine reproductive cells
 - (1) Improvement of sperm characteristics (viability, acrosome reaction and mitochondrial activity) during liquid preservation in semen diluted with semen extender passing through over 4000G magnetic fields (magnetized semen extender) after 120 hours
 - (2) Antioxidative effects of magnetized extender containing bovine serum albumin (BSA) on sperm oxidative stress during long-term liquid preservation of boar sperm
 - (3) Improvement of nuclear maturation rate, decreasing oxidative stress, increasing of antioxidative activity and decreasing of apoptosis genes during *in vitro* maturation in porcine oocytes cultured with magnetized medium
 - B. Investigation of magnetized water in porcine endometrial epithelial cells
 - (1) Increasing of cell growth and antioxidant enzyme activity during cultivation using medium passing through 6000G magnetic fields (magnetized medium) for 5 min in porcine endometrial epithelial cells
 - (2) Inhibition of reactive oxygen species (ROS), increasing of antioxidant enzyme, mitochondrial activity and viability during cultivation using magnetized medium in oxidative stress induced porcine endometrial epithelial cells
3. Investigation of magnetized water on reproductive ability and lactation ability in pigs
 - A. Effect of magnetized water on reproductive performance in sows during gestation phase

- (1) Water of passing through 6000 G magnetic field (magnetized water) improve litter size and piglet weight in sows during gestation phase

B. Effect of magnetized water on lactation ability in pigs lactation phase

- (1) Magnetized water improved colostrum protein such as anti-infection and immunoglobulin family proteins in sows during lactation phase
- (2) Weaning pig number and weight were increased in magnetized water group compared with general water and missed piglet during lactation phase was lower in magnetized water group than general water

4. Investigation of magnetized water on growth performance, immunity and meat quality in growing pigs

A. Effect of magnetized water on growth performance and blood characteristics in weaning pigs

- (1) Magnetized water improved average daily gain (ADG) and feed efficiency in weaning pigs
- (2) Total red blood cells, hemoglobin and hematocrit were higher in magnetized water group than general water group in weaning pigs

B. Effect of magnetized water on growth performance and immunity in fattening pigs

- (1) ADG and feed efficiency were increased magnetized water group compared with general water group in fattening pigs
- (2) Magnetized water improve immunoglobulin G and M of porcine serum during fattening phase

C. Effect of magnetized water meat quality in pigs

- (1) Pork pH and meat color were not exceed normal range in magnetized water group
- (2) Magnetized water improved shear force and water holding capacity, decreased cooking loss in pork.
- (3) VBN was decreased in magnetized group pork at 10 and 13 days under refrigeration

VI. Research Outcome and Utilization Plan

1. Development of advanced cell culture system for improvement of growth and antioxidative

using magnetized medium technique

2. Development of eco-friendly magnetized water system for improvement of domestic animal production
3. Improvement of MSY using reproductive performance improvement techniques and application of magnetized water system in other fields
4. Commercialization of magnetized water system based on research result and intellectual property right
5. Transfer of technique to domestic industry and company using universityindustry cooperation policy
6. Commercialization of magnetized water system using supporting project of local government and farmers cooperative

CONTENTS

Chapter 1 Summary of Research Project.....	11
Chapter 2 Outlook of Technology Development.....	14
Chapter 3 Contents and Results of Research.....	17
Chapter 4 Level of Achievement and Contribution to Related Area.....	78
Chapter 5 Research Outcomes and Plan to Utilization.....	84
Chapter 6 International Science and Technology Information during Research Progress.....	85
Chapter 7 Research Facilities and Equipments.....	88
Chapter 8 Reference.....	90

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 및 성과목표.....	11
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	14
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	17
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	78
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획.....	84
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보.....	85
제 7 장	연구시설·장비 현황.....	88
제 8 장	연구실 안전관리 이행실적.....	89
제 9 장	참고문헌.....	90

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1 절 연구개발의 목적, 필요성 및 범위

1. 연구개발의 필요성

우리가 생명을 유지해 나가는데 있어 물은 가장 중요한 역할을 하고 있다. 그렇기 때문에 과거로부터 현재에 이르기까지 물에 관한 연구는 끊임없이 진행되고 있다. 기본적으로 물의 구조는 2개의 수소원자(H⁺)와 1개의 산소원자(O²⁻)가 결합된 형태이며, 화학적인 구조로 물 분자는 수소결합으로 이루어진 3가지 형태(6각형, 5각형, 사슬구조)의 안정적인 고리모양 구조를 띠고 있다. KAIST 전무식 박사는 인체의 60-80%를 차지하는 물 중 전해질로 조성된 물을 분석한 결과 육각수의 비율이 가장 높았으며 이것은 생명활동의 기본단위를 구성하는 세포에서 가장 선호하는 물 구조라는 결과를 얻었다. 그러나 이런 육각형의 물 분자는 짧은 시간동안 생성 및 분리작업을 반복하기 때문에 인체 내에 긴 시간동안 형성되어 있지 못하다. 따라서 인위적인 육각수를 만들기 위하여 최근에는 자력을 가진 자석에 물을 관류시켜 수소결합의 분리와 재결합의 과정을 거치면서 물 분자가 작아지는 원리를 이용하여 물 분자구조를 생체수와 같은 구조를 가진 안정된 물로 전환하는 자기활성수에 대한 관심이 증가하고 있다.

자기활성수는 물 분자가 서로 뭉쳐져 있는 물 분자 덩어리 즉, 클러스터를 작게 만들어 주어 물의 삼투압 증가로 인한 세포막의 침투성을 강하게 해주고 세포흡수력을 높여준다. 또한 물의 분자간 힘이 감소되어 물질에 대한 용해도의 증가와 작아진 클러스터로 인한 이물질들의 분리 혹은 제거에 대한 계면활성능력을 증가시킬 뿐 만 아니라 자기장에 의해 이온이 활성화되어 물의 전도율 역시 증가하게 한다. 이러한 특징들 외에도 세포배양 시 가장 크게 주목 받고 있는 특징으로는 낮은 산화환원전위로 세포에서 전자를 잃지 않도록 보호하고 산소 분자를 안정화시키는 역할, 활성산소(O₂⁻, OH⁻, H₂O₂ 등)를 재 활성화시켜 무해한 산소로 전환함으로써 체내에 활성산소들을 제거하는 능력 및 활성산소가 세포를 공격하기 전에 물질 내 자유기와 먼저 반응하여 자유기를 소모시켜주는 전자공여능력이 있다. 전자공여능력은 항산화능력과 밀접하게 관련되어 있는데 특히, 자기활성수에서는 이런 전자공여능력이 높아 항산화능력이 우수하다. 높은 항산화능력을 바탕으로 세포에서 발생하는 산화스트레스를 줄여 많은 질병(암, 당뇨, 파킨슨 병 등)으로부터 인체를 보호할 뿐만 아니라 전체 농업에 약 40%를 차지하고 있는 축산업에서도 동물의 질병 예방, 성장 촉진, 번식효율 증진 등에 많은 도움을 줄 수 있을 것이라고 생각되어진다.

2. 연구개발의 범위

가. 기초연구측면

- (1) 자기장의 세기에 따른 자기활성수의 특성 평가
- (2) 세포수준에서의 자기활성수 실험을 통한 성장능력, 면역능력 및 항산화 기능 구명

- (3) 돼지의 수정 및 임신유지, 포유 및 건강과 관련된 면역 및 항산화효소 평가
- (4) 자기활성수 급여에 따른 돼지의 성장능력, 사료효율, 면역능력 및 육질과의 관계 규명

나. 기술적 측면

- (1) 세포 성장 및 보존능력 향상을 위해 자기활성수를 이용한 배양 및 보존기술 개발
- (2) 가축의 성장 및 번식능력 향상을 위해 적용 가능한 자기활성수 제조장치의 기술 개발
- (3) 가축의 면역력 증강에 의한 저(무)항생제 사육기술 개발

다. 산학협력부분

- (1) 자기활성수를 연구하는 기초연구실과의 공동연구과제 개발을 위한 협력관계
- (2) 자기활성수 제조장치를 개발하고자 하는 업체와의 산학협력

라. 산업 및 경제적 측면

- (1) 세포성장능력과 항산화 향상 기술을 이용한 세포배양기술 향상
- (2) 세포손상능력 감소에 의한 보존능력 향상으로 돼지 액상정액 보존효율의 향상
- (3) 돼지의 면역력 증강에 의한 번식능력 향상으로 돼지의 생산성 향상
- (4) 양돈 농가에서 간편 설치가 가능한 적정 자기활성수 시스템의 개발과 보급
- (5) 자기활성수 제조장치 개발업체와 양돈산업의 활성화에 의한 관련 산업의 활성화

3. 연구개발의 목표

가. 연차별 목표

목표 연차	연 차 별 목 표
1차년도	돼지 체세포 및 생식세포에서 자기활성수에 의한 성장능력과 항산화능력 구명 - 자기활성된 배양액을 이용하여 자궁 및 난관세포의 성장능력과 생식세포의 보존능력을 평가하여 세포수준에서의 자기활성수의 능력 평가
2차년도	돼지의 임신 전 후 자기활성수 급여에 의한 면역능력과 수태능력의 구명 - 돼지에서 수태, 임신 및 포유능력에 있어서 자기활성수가 임신돈 및 태아의 건강과 관련된 면역학적 평가
3차년도	돼지의 성장 면역능력에 있어서 자기활성수의 기능 구명 - 지속적인 자기활성수의 급여가 돼지에 있어서 면역, 성장 및 육질의 변화 미치는 영향 평가
최종목표	돼지의 면역력과 번식생리활성 향상을 위한 자기활성수의 메카니즘 구명 및 농가 활용 기술 개발

나. 연차별 연구방법

(1) 1차년도

- (가) 자기활성장치의 제조 및 규격화
- (나) 종돈에서 정액채취 후 바로 사용 가능한 자기활성화 된 돼지정액 보존액 개발
- (다) 돼지 생식세포(난자 및 정자)의 체외배양 시스템 개선을 위한 자기활성수 시스템 개발
- (라) 돼지의 체세포 및 생식세포의 성장능력을 향상시키기 위한 세포배양액 개발
- (마) 자궁 내 환경을 개선시키기 위한 자궁 내막상피세포를 이용한 자기활성수 능력 구명

2) 2차년도

- (가) 임신돈사에 이용 가능한 자기활성 장치의 규격화
- (나) 모든의 번식능력 및 포유능력 개선 기술 개발
- (다) 자기활성수 급여에 따른 초유 내 단백질 변화 확인

3) 3차년도

- (가) 비육돈사에 이용 가능한 자기활성장치의 규격화 및 시스템 개발
- (나) 자돈시기의 면역능력 향상 기술 개발
- (다) 사람에게서는 검증하기 힘든 체계화된 환경 내에서 자기활성수를 장기간 급여한 돼지의 혈액을 채취하여 임상실험을 통한 생체 내에서의 자기활성수 효용성 분석
- (라) 자기활성수를 이용한 사료비 절감 시스템 기술 개발
- (마) 고품질 돈육생산을 위한 기술 개발
- (바) 사양관리 기술 및 육질분석을 통한 농가 보급 및 홍보

제 2 절 연구성과 목표 대비 실적

구 분	지식재산권		논문		학술 발표	기술 거래	교육 지도	상품화	기술 인증	인력 양성	정책 활용	언론 홍보	기 타
	출원	등록	SCI	비 SCI									
1차 년도	목표			2									
	실적				2					3			
2차 년도	목표	1		2									
	실적	2		4	2					3			
3차 년도	목표		1	1	1			1				1	
	실적			1	1	5				2		1	
최종 목표	목표	1	1	1	5		1	1				1	
	실적	2		1	5	9	1	1		8		1	

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 현황 및 문제점

1. 물은 생명체의 구성성분에 있어 70% 이상을 차지하고 생명활동의 기초가 되며 모든 생명체의 기초가 되는 부분은 작은 단위인 세포를 기본으로 하여 생명활동이 이루어짐
2. *In vitro*에 의한 연구는 *in vivo* 및 임상 연구와 함께 산업 및 의료를 발전시켰으며, 가축산업에서 역시 *in vitro*의 기본개념을 바탕으로 동물의 성장능력, 면역능력 및 항산화능력을 높여 생산성을 증진시키는 연구와 사업이 많이 이루어져 왔음
3. 축산업 분야의 산업적 규모는 농업분야 전체의 40% 이상을 차지하며, 국내 단일 농업 생산품목 중 2위를 차지하는 돼지고기를 생산하는 양돈 산업에서 가축의 생산성 향상은 매우 큰 잠재력이 있다고 판단, 또한 이를 활용한 시장 활성화는 매우 크다고 판단되기 때문에 이에 대한 연구와 산업화가 절실히 필요
4. 저탄소 녹색기술이 대두되고 있는 현대산업의 흐름에 발맞추어 축산업계에서 역시 유기농, 친환경 및 순환 에너지 기술을 이용한 사업이 널리 이용되고 있으나, 첨단 과학기술과 지속 가능한 친환경 기술이 융합된 학문을 활용하여 가축의 생산성을 향상시키는 연구 및 사업에 대한 이해가 부족하며 산업체 및 대학에서 연구가 미흡한 실정
5. 국내 돼지 인공수정 산업은 주로 액상 정액으로 실시되고 있고, 정액 희석액의 능력을 향상시키기 위한 연구는 많이 진행되었지만 정액을 생산하는 돼지의 사양방법에 대한 연구는 적은 실정이며, 임신 중 사료의 에너지수준과 첨가물질을 조절하여 임신돈의 번식능력을 향상시키는 연구는 많이 진행되었지만 급여되는 물에 대한 연구는 부족한 실정
6. Free radical이 적어 항산화 능력이 향상된 자기활성수를 이용하여 세포의 성장능력, 초유 면역물질, 비육돈의 성장, 면역능력 및 돼지고기의 품질을 향상시킬 수 있는 연구를 바탕으로 번식능력을 향상시킬 수 있는 기술을 현장에 적용 시키는 연구는 아직 부족한 실정

제 2 절 국내외의 연구동향

1. 돼지의 번식능력 향상 기술을 이용한 생산성 증진 연구
 - 가. 양돈농가의 생산성 증가를 위해 돼지의 정액에서 biomarker를 이용한 산자수 예측 기술에 대한 연구가 진행되고 있음(Kwon 등, 2015)
 - 나. 배란 후 난관에서 수정 된 난자가 자궁에 착상하여 산자로 태어나는 비율이 50%로 보고 되었으며, 산자 생산과 돼지 자궁 환경 사이에 밀접한 연관성이 있다는 것을 의미(Garcia

등, 2007)

- 다. 자궁내막의 특이한 인자들은 착상에 관여하는 것을 확인(Wollenhaupt 등, 2011)
- 라. 임신주기에 따라 돼지 자궁내막에 존재하는 단백질의 변화를 확인하였고, 이를 바탕으로 착상에 관여하는 유전자에 대한 연구도 진행(Jalali 등, 2015)
- 마. 항산화 물질을 배양액에 첨가하여 돼지 난자 내 ROS의 수준을 감소시켰을 때 배반포 형성률 및 총 세포수가 증가한 것을 확인. 이는 난자 내 산화스트레스 수준이 수정란의 발달에 직접적으로 영향을 미치는 것을 의미, 과도한 산화스트레스의 방지는 고품질 수정란 생산을 위한 필수적인 요소임

2. 자기활성수의 물리학적 능력에 대한 연구

- 가. 자기활성수를 이용해 녹인 용매의 결정의 구조는 일반물에 비해 치밀하였으며, 결정화 빈도가 증가하였음(Jeon 등, 2001)
- 나. 자기활성수는 증류수에 비해 계면활성제인 SDS, CTAB, Pluronic F-68 등에 더 긴밀하게 반응하여 계면활성제 능력을 증가시킨다는 보고가 있음(Lee 등, 2009)
- 다. DPPH 검사를 통해 radical 제거(전자 공여)능력이 증가 및 용액 내 철 이온 흡광도의 증가로 인한 녹을 방지하는 효과를 확인한 결과 전자 공여 능력이 일반물에 비하여 4000G의 자력을 통과한 물은 1.05배 증가하였으며, 6000G의 자력을 통과한 물은 1.26배가 증가하였고 철이온 흡광도는 4000G 처리구에서 1.15배 및 6000G 처리구에서 1.31배 증가하였음, 따라서 자기활성수는 일반물에 비하여 radical을 감소되어 항산화 능력이 향상되며, 이에 따라 녹을 방지할 수 있다고 보고(Jeon 등, 2010)
- 라. 물 분자 클러스터가 작아져 물 분자 간에 작용하는 힘이 감소하여 아미노산이나 염류와 같은 이온들이 더욱 쉽게 용해되며 계면활성 능력이 향상되고 pH가 약알칼리성으로 증가하여 체액과 비슷한 상태로 변함. 또한 작아진 물 분자 클러스터는 물의 동결 시 보다 작은 빙정을 형성한다고 보고됨

3. 자기활성수를 이용한 생물학적 연구

- 가. 자기활성수를 관개용수로 이용하였을 때 0-60cm의 깊이에서 일반 물을 사용했을 경우보다 토양 수분함량이 7.5% 높게 나타났다고 보고
- 나. 부콩에 자기활성수를 급여하여 성장 및 발달을 비교한 결과 잎의 수, 건조중량, 기공 유통성, 용수 효율, 잎 면적비, 줄기 무게 비율이 증가하여 성장과 발달이 촉진 확인
- 다. Streptozotocin(STZ)에 의해 병이 유도된 마우스에게 자기활성수를 지속적으로 급여한 결과 DNA가 손상된 림프구의 비율과 항산화 능력 향상된 것을 확인(Lee 등, 2013)

제 3 절 연구결과의 기술개발현황에서 차지하는 위치

- 1. 국내에서의 자기활성수에 관한 물리화학적 연구는 미미한 실정이며, 가축의 세포와 실험동물을 이용한 연구는 본 연구과제 팀에서 독자적으로 수행

2. 전자석을 이용해야만 가능했던 6000 G의 자력의 세기를 특수한 장치를 이용해 전기를 사용하지 않고 두 개의 영구자석만으로 구현하는 기술보유

가. 희토류자석 중 한 종류인 네오디뮴(neodymium, Nd)자석을 이용하여, 자기활성화 장치를 제조가능

나. 네오디뮴 자석은 다양한 산업전선에서 사용되며, 페라이트, 알리코 및 사마륨코발트 자석에 비해 자기력의 세기가 안정적이고 강하기 때문에 배양액을 자기활성화 시키는 자석으로 이용

다. 전자석을 이용할 경우 강한 자기력을 구현할 수 있지만, 전기를 사용해야 하는 불편함이 발생하기 때문에 공간에 제약을 적게 받으며 강력한 자기장을 생성할 수 있는 네오디뮴 자석을 이용

라. 두 개의 네오디뮴 자석을 이용하여 배양액이 관류할 수 있는 공간을 제조하는데 성공, 특히적으로 단일 영구자석으로는 구현하기 힘든 자력(6000 G)을 두 개의 자석을 이용하여 구축

마. 자력의 세기에 따른 세포 배양액의 능력을 검증하기 위해 배양액이 통과하는 두 개의 자석 사이 자기장의 세기를 정확하게 2000, 4000 및 6000 G로 구축하는 기술을 보유하고 있음

바. 다음 기술들은 본 연구과제를 수행하는데 있어, 자기장의 세기에 따른 세포 배양액의 능력을 정확히 검증하는데 유용하게 이용가능

사. 자궁 내 환경에서의 매카니즘 규명을 위해 필요한 배양액을 자석에 자동적으로 순환시킬 수 있는 연동펌프를 사용하여 관류 속도와 시간 조절을 통한 세포 배양액 자기활성 시스템 보유

2. 자기활성화 된 배양액은 체외에서 배양되는 돼지 난자의 성숙률의 증가, 활성산소의 감소, 항산화 효소의 활성 증가 및 apoptosis 유전자의 발현이 감소한다고 최초로 보고(Kim 등, 2014)

3. 액체상태의 돼지 정액을 장시간 동안 보존하기 위하여, 정액 희석액을 자기활성화 시킨 결과 정자의 생존율과 미토콘드리아의 능력이 증가하였으며, 수정능력이 증가한 것을 확인 (Lee 등, 2015)

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 정자와 난자 및 상피세포에서의 자기활성수의 성장능력과 항산화능력 규명

1. 자석제조 및 장치 규격화

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 네오디움 자석 2개를 이용하여 배양액이 흐르는 공간을 만들어 자석을 제조
- (2) 강력한 자석사이를 관류할 수 있도록 장치를 제조

나. 재료 및 방법

- (1) 네오디움 자석의 종류(2000과 4000 gauss)를 달리하여 자석 사이 공간의 자력의 세기를 2000, 4000 및 6000 gauss (G)가 되도록 자석을 제조
- (2) 현존하는 네오디움 자석은 4000 G까지 밖에 없기 때문에 4000 G의 자석 2개를 이용하여 그 사이의 공간을 6000 G로 자력의 공간은 만듦
- (3) 배양액의 자기활성화를 위해서는 일정한 속도이상의 유속이 있어야하기 때문에 BT100-2J 속도조절형 튜브연동식 정량 펌프를 사용하여 자기활성장치를 제조하였으며, 100 rpm의 속도로 5분간 관류시키는 방법을 채택
- (4) 정액 및 세포배양액은 공기중에 노출되면 쉽게 산화되기 때문에 이러한 산화를 줄이기 위하여 관류되는 관의 길이를 최소화하여 공기와 접촉하는 공간을 최소화하였음
- (5) 자석사이를 통과하는 시간이 길수록 자력의 영향을 길게 받기 때문에 자석사이에 통과하는 공간에 홈을 만들어 액체가 통과하는 시간을 연장함
- (6) 자석의 양 끝에 15mm PVC, 엑셀관 등에 탈부착이 가능하도록 제작하고 자석의 외부에 플라스틱 cap을 씌움으로써 자석의 외부에 이물질이 부착 또는 오염되는 것 방지
- (7) 이러한 방식은 기존 2000, 4000 및 6000 G의 자기활성장치에 비하여 향상된 자기활성장치를 제작하였으며 이미 출시된 다른 상품과의 차별성을 갖음
- (8) 향후 시제품 및 산업현장에 다량으로 이용하기 위하여 참여기업에서 ‘자기활수기’ 라는 제품을 computer aided design (CAD)로 도면을 제작하였음

다. 연구결과

- (1) 네오디움자석 2개를 이용하여 배양액이 흐르는 공간을 만들어 자석을 제조

네오디움자석의 종류(2000과 4000 gauss)를 달리하여 자석사이 공간의 자력의 세기를 2000, 4000 및 6000 gauss (G)가 되도록 자석을 제조하였으며, 현존하는 네오디움자석은 4000 G까지

밖에 없기 때문에 4000 G의 자석 2개를 이용하여 그 사이의 공간을 6000 G로 자력의 공간은 제작하였다(Fig. 1). 배양액의 자기활성화를 위해서는 일정한 속도이상의 유속이 있어야하기 때문에 BT100-2J 속도조절형 튜브연동식 정량 펌프를 사용하여 자기활성장치를 제조하였으며, 100 rpm의 속도로 5분간 관류시키는 방법을 채택하였다(Fig. 2). 정액 및 세포배양액은 공기중에 노출되면 쉽게 산화되기 때문에 이러한 산화를 줄이기 위하여 관류되는 관의 길이를 최소화하여 공기와 접촉하는 공간을 최소화하였다.

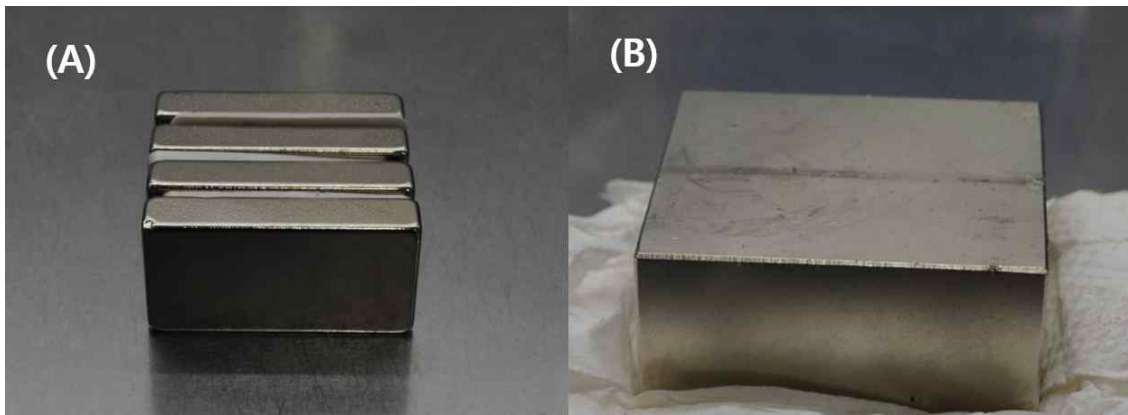


Fig. 1. Image of Neodymium magnet, (A): 2000 gauss, (B): 4000 gauss magnet



Fig. 2. Image of magnetic equipment system, left equipment is Peristaltic Pump, right equipment is neodymium magnet

(2) 강력한 자석사이를 관류할 수 있도록 장치를 제조 및 제품화

자석사이를 통과하는 시간이 길수록 자력의 영향을 길게 받기 때문에 자석사이에 통과하는 공간에 홈을 만들어 액체가 통과하는 시간을 연장하는 방법을 고안하였으며, 자석의 양 끝에 15mm PVC, 엑셀관 등에 탈부착이 가능하도록 제작하였으며 자석의 외부에 플라스틱 cap을 씌움으로써 현장에서 사용될때에 자석 외부에 이물질이 부착되거나 오염되는 것을 방지하도록 하였다(Fig. 3). 이러한 방식은 기존 2000, 4000 및 6000 G의 자기활성장치에 비하여 향상된 제

품을 제작하였다고 판단되며 이미 출시된 다른 상품과의 차별성을 갖는다. 향후 시제품 및 산업현장에 다량으로 이용하기 위하여 참여기업에서 ‘자기활수기’라는 제품을 computer aided design (CAD)로 도면역시 보유하고 있다.

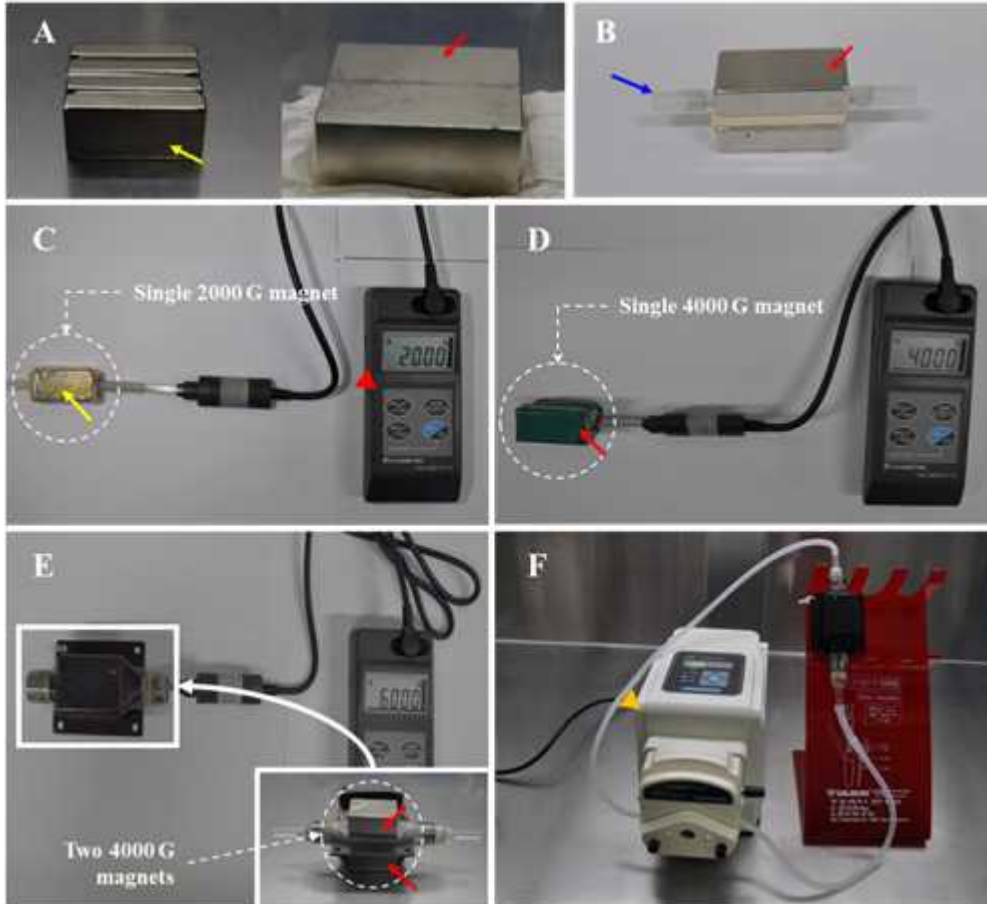


Fig. 3. Neodymium magnetic equipment for production magnetized culture medium and freezing extender, neodymium magnet of 2000 G (yellow arrows) and 4000 G (red arrows) magnetic intensity (A), installed plastic pipe (blue arrow) for flowing extender (B), 2000 G (C) and 4000 G (D) magnetic intensity were formed by single neodymium magnet equipment, and two 4000 G neodymium magnets (red arrows) were used for formation of 6000 G magnetic intensity (E). Culture medium and freezing extender were rotated using peristaltic pump (yellow arrow head) for magnetization in neodymium magnetic equipment (F). Magnetic intensity was measured pipe center using magnetometer (red arrow head)

2. 자기활성된 돼지 정액 보존액이 돼지 정액의 액상보존과 수정능력에 미치는 영향

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 일반적으로 돼지 정액은 한번에 사출되는양이 200-300ml이며 15-20℃에서 최대 14일간 보존이 가능하고, 인공수정에 이용되는 돼지 정액은 주로 채취 후 3-4일 이내의 정액을 사용하며 유통 또한 액상 형태로 이루어지나 장기간 액상보존하는 동안 세포의 막손상,

- DNA손상 및 활성산소 등의 생산은 돼지 정액을 액상보존하는데 있어 큰 피해를 끼침
- (2) 돼지 정액 보존액은 다른 세포 배양액들과 마찬가지로 물을 기본으로하며 보존에 필요한 여러 가지 물질들이 포함되어 있으며, 돼지 정액 보존액을 자기활성화시키면 정액 보존액의 물분자 클러스터를 작게하여 세포의 투과성이 높아지게 되어 정액의 원형질막, 침체막 및 미토콘드리아 내막의 손상이 감소할것이라 예상됨
 - (3) 자력의 세기를 다르게 하여 자력세기에 따른 정액 보존액의 영향에 대하여 규명하고 자기활성화된 정액 보존액으로 보관되는 정액의 체외수정능력을 검증

나. 구체적인 내용

- (1) 시중에서 파는 정액은 채취 후 바로 일반희석액으로 희석되어지기 때문에 본 연구에서 이용된 정액은 직접 기르는 돼지에서 채취한 샘플을 이용하며, 연구실에서 제조한 자기활성화된 정액 보존액으로 희석하여 실험에 이용
- (2) 실험에 이용되는 정액 보존액은 Bovine serum albumin이 포함되어있지 않은 Modean B를 이용하였으며, 정액 채취 1시간전 2000, 4000 및 6000 G의 세기에서 100 rpm의 속도로 5분 동안 정액희석액을 자기활성화 시켜 채취 후 1×10^7 개/ml로 희석한 뒤 희석된 정액은 17°C에서 7일 동안 보관하여 채취된 당일, 3일, 5일 및 7일 때의 정자 성상을 검사
- (3) 1×10^6 개/ml의 정자에 SYBR14와 PI 이중염색을 실시하여 원형질막 손상을 검사하며, 1×10^6 개/ml의 정자에 FITC가 labeling 되어있는 PNA와 PI 이중염색을 실시하여 침체막 손상을 검사, Rhodamine123과 PI를 1×10^6 개/ml의 정자에 이중염색을 실시하여 미토콘드리아 내막 손상을 검사, 형광염색된 정자들은 flow cytometry (FACs calibur)를 이용하여 총 10,000개의 정자를 분석(Fig. 4)
- (4) 도축된 돼지에서 난소를 채취하여 TCM199에 10% porcine follicular fluid, EGF, hCG, LH, FSH를 첨가하여 44시간 동안 난자를 성숙, 성숙된 난자는 자기활성화된 정자배양액에 0, 3, 5 및 7일 동안 보관중인 정자를 이용하여 체외수정을 실시한 후 0, 3, 5 및 7일 동안 보관중인 정자를 이용한 수정란을 168시간 동안 배양하여 분할율과 배반포형성율을 관찰

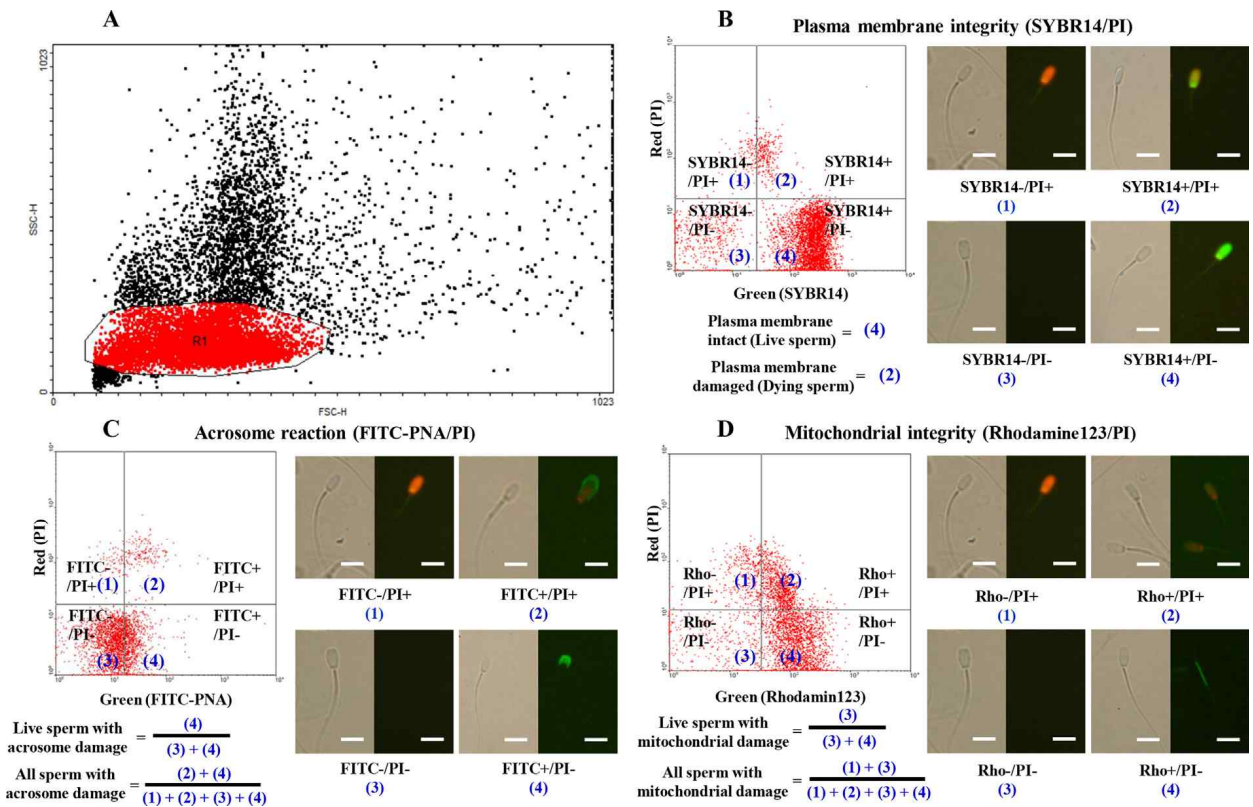


Fig. 4. Standard of flow cytometry analyses for assessing sperm membrane integrity in pig (A). Plasma membrane integrity was detected using SYBR14 and propidium iodide (PI) double staining (B). Plasmamembrane intact sperm was stained green color (SYBR14 positive) and dead sperm was stained red color (PI positive). Quadrants can be divided into SYBR14- /PI+ (dead sperm; B-1), SYBR14+ /PI+ (dying sperm; B-2), SYBR14- /PI- (unstained sperm; B-3) and SYBR14+ /PI- (viable sperm; B-4). Acrosomal membrane damage (acrosome reaction) was detected using FITC-PNA and PI double staining (C). Green color sperm is acrosomal membrane damage sperm (FITC-PNA positive). Quadrants can be divided into FITC- /PI+ (dead with intact acrosomal membrane sperm; C-1), FITC+ /PI+ (dead with intact acrosomal membrane; C-2), FITC- /PI- (live with intact acrosomal membrane sperm; C-3) and FITC+ /PI- (live with damaged acrosomal membrane sperm; C-4). Mitochondrial outer membrane state (mitochondrial integrity) was detected using Rhodamine123 (Rho) and PI double staining. Quadrants can be divided into Rho- /PI- (live with damaged mitochondrial membrane; D-3), Rho+ /PI- (live and intact mitochondrial membrane; D-4), Rho- /PI+ (dead and damaged mitochondrial membrane; D-1) and Rho+ /PI+ (dead and intact mitochondrial membrane; D-2). Scale bar: 10um.

다. 연구결과

(1) 자기활성된 정액 보존액의 정자원형질막 보존능력

자기활성세기에 따른 정액 보존액의 정자원형질막 보존율에 관한 결과를 시간별로 Fig. 5에 나타냈다. 자기활성된 정액 보존액을 희석한 후 48시간 후에는 신선정액(Fresh)에 비하여 처리구에서 유의적으로 낮아졌으나($p < 0.05$) 처리구간에는 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 정

액 보존 120시간 후에는 Fresh 처리구에 비하여 자기활성수 처리구들이 모두 유의적으로 낮아졌으며($p < 0.05$), 4000G($71.96 \pm 0.54\%$)와 6000G($70.95 \pm 1.01\%$) 처리구에서 원형질막 보존율이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 특히 168시간 후에는 4000G($58.44 \pm 2.84\%$)에서 다른 처리구들에 비하여 원형질막 보존율이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 한편, 자기활성세기에 따른 정액 보존액의 정자원형질막 손상이 진행 중인 정자의 비율을 보존 시간별로 Fig. 5에 나타냈다. 정자 보존 48시간과 168시간 후 처리구간 사이의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 120시간 후에는 4000G($22.53 \pm 4.04\%$)와 6000G($27.86 \pm 4.04\%$)에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

물 분자 클러스터의 소형화, 전기전도율의 증가, 세포막을 통한 침투성의 증가는 세포막 변화의 물리적인 피해에 있어 손상을 감소시킬 것으로 생각된다. 실제로 Fig. 5에서 정자의 원형질막 보존능력에 있어 원형질막 안정성을 비교하였을 때 증가하는 것을 관찰하였다. 이와 같은 결과는 자기활성된 정자 희석액이 물 분자 클러스터의 소형화로 인하여 배양액 성분이 세포 내로 원활하게 교환되기 때문에 원형질막의 보존에 좋은 영향을 끼쳤을 것으로 추측된다.

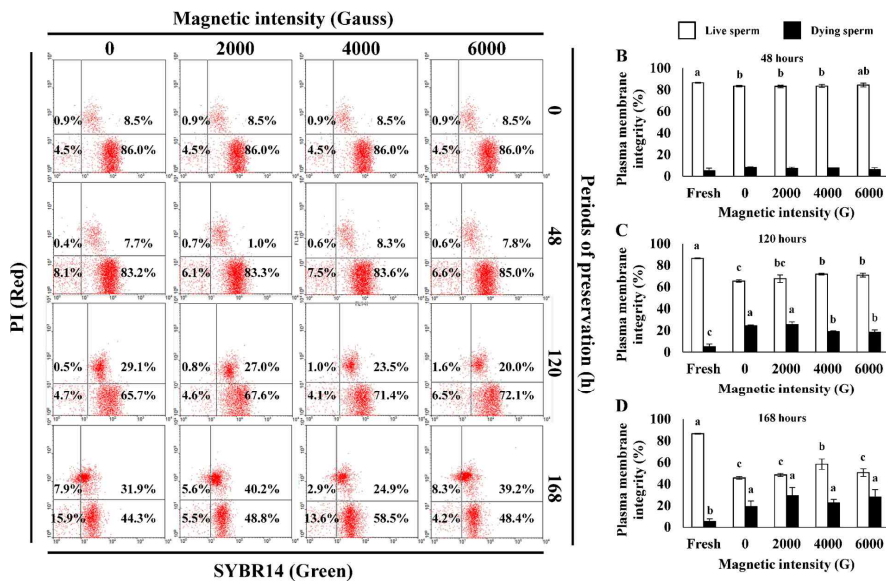


Fig. 5. Changes in plasmamembrane intactness during liquid preservation in semen diluted with magnetized semen extender. Typical cytometric dot-plots and frequencies of sperm populations preserved in magnetized semen extender (A). The periods of storage were 0 h (Fresh), 48 h (B), 120 h (C), and 168 h (D). Similarly shaded bars with different letters are significantly different within histograms ($p < 0.05$).

(2) 자기활성된 정액 보존액의 정자 침체막 보존능력

자기활성 세기에 따른 정액 보존액의 정자침체막 손상율에 관한 결과를 보존 시간별로 Fig. 6에 나타냈다. 자기활성된 정액 보존액을 희석한 후 48시간 후에는 신선정액에 비하여 모든 처리구가 침체막 손상이 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$) 특히 6000G(Live: $16.32 \pm 2.23\%$, All: $23.83 \pm 0.36\%$)에서 침체막 손상이 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 또한 120시간 후에는 6000G(Live: $32.11 \pm 1.47\%$, All: $39.13 \pm 1.95\%$)에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 정자 보존 168시간 후에는 자기활성의 세기가 강할수록 침체막 보존능력이 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

정자의 침체반응은 수정율과 매우 밀접한 관계가 있다. 수정과정에서 침체반응은 난자와의 결합을 위해 필수적인 단계이지만 정액을 체외에서 보존하는 동안에는 침체의 반응을 일으키지 않는 것이 매우 중요하다. 따라서 정액을 체외에서 보존하는 동안에 침체반응을 최소화하려는 연구가 진행되었다. 또한 정자의 침체는 Ca^{2+} 과 HCO_3^- 의 이온에 의한 반응과 활성산소에 의해 일어난다. 일반적인 정장액이나 배양액에는 앞에서 언급한 이온들이 이온화되어 있으며 정자의 장기보존 시 자연스럽게 정자의 침체반응이 일어나게 된다. 본 연구에서는 Fig. 6의 결과에서 보는 바와 같이 자기활성화된 보존액을 희석한 후 120시간 이후부터 대조구에 비하여 침체반응이 유의적으로 감소한 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 이는 자기활성화된 보존액의 free radical 소거능력에 의한 침체반응 유발인자들의 반응성 감소와 활성산소의 free radical을 제거해줌으로써 정자의 침체반응에 관련된 침체막의 반응을 감소시킨 것으로 추측된다.

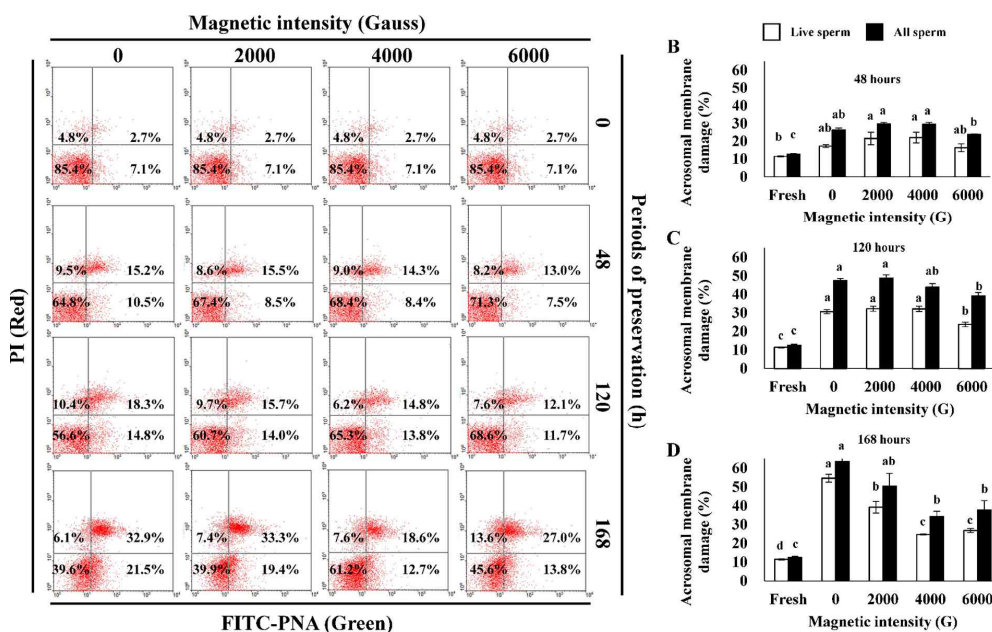


Fig. 6. Changes in acrosomal membrane damage during liquid preservation in semen diluted with magnetized semen extender. Typical cytometric dotplots and frequencies of sperm populations preserved in magnetized semen extender (A). The periods of storage were 0 h (Fresh), 48 h (B), 120 h (C), and 168 h (D). Similarly shaded bars with different letters are significantly different within histograms ($p < 0.05$).

(3) 자기활성된 정액 보존액의 정자 미토콘드리아막 보존 능력

자기활성 세기에 따른 정액 보존액의 정자 미토콘드리아막 손상율에 관한 결과를 보존 시간 별로 Fig. 7에 나타냈다. 자기활성화된 정액 보존액을 희석한 후 48시간 후에는 신선정액에 비하여 모든 처리구에서 미토콘드리아 손상이 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$) 처리구간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 정액 보존 120시간 후에는 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 168시간 후에는 생존정자에서 유의적인 차이는 보이지 않았으나 전체 정자를 기준으로 봤을 때 2000G($16.38 \pm 0.60\%$)에서 미토콘드리아막 손상율이 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

일반적으로 동물의 세포는 에너지를 필요로 하며 미토콘드리아의 대사과정을 통해 에너지를

얻게 된다. 이러한 반응은 산소를 필요로 하며 대사산물로 활성산소(O₂⁻, OH⁻, H₂O₂)가 생성된다. 활성산소는 정자 세포 내에서 세포의 소기관, 막, DNA등에 피해를 주며 세포는 사멸하게 된다. 적정수준의 활성산소는 항산화효소 및 항산화제에 의해 세포 자체적으로 제거 되지만 과도한 활성산소는 정자를 죽게 만든다. 특히 세포의 호흡을 담당하는 미토콘드리아에서는 활성산소에 대한 메커니즘에 대한 연구가 많이 진행되었다. 정자는 미토콘드리아막이 손상되면 원활한 세포호흡이 이루어지지 않기 때문에 미토콘드리아막 손상정도를 통해 미토콘드리아의 기능을 확인할 수 있다. Fig. 7은 자기활성된 보존액을 정액 희석액으로 이용하여 희석하였을 때 자력의 세기가 세질수록 미토콘드리아막 손상이 감소하는 경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 이는 앞으로 반복적인 실험과 개체수를 증가시켜 추가적인 실험이 더 요구된다.

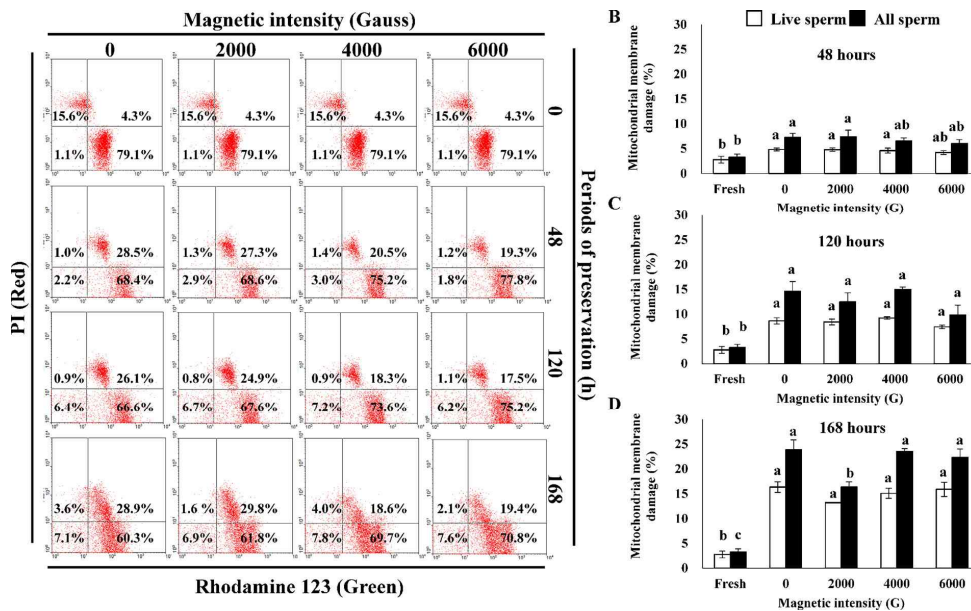


Fig. 7. Changes in mitochondrial membrane damage during liquid preservation in semen diluted with magnetized semen extender. Typical cytometric dot-plots and frequencies of sperm populations preserved in magnetized semen extender (A). The periods of storage were 0 h (Fresh), 48 h (B), 120 h (C), and 168 h (D). Similarly shaded bars with different letters are significantly different within histograms ($p < 0.05$).

(4) 장기간 보존기간 동안의 정자막의 변화양상

자기활성 정액 보존액을 이용하여 보존한 정자막의 변화양상을 Fig. 8에 나타냈다. 정자 원형질막, 침체막 및 미토콘드리아막은 희석 후 48시간까지는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 특히 원형질막의 손상은 주로 120에서 168시간 사이에 급격하게 손상되었고 그 중 4000G의 정액 보존액을 이용하여 정자를 보관 시 원형질막 보존율이 높아지는 것을 관찰하였다(Fig. 8A). 자기활성화된 보존액을 이용한 정액보존방법은 침체막 보존에 있어 살아있는 정자 및 모든 정자에서 손상률이 적어지는 것을 관찰하였다(Fig. 8C, D). 미토콘드리아의 경우 희석 후 120시간까지의 유의적인 차이는 보이지 않았지만 168시간 후 살아있는 정자 및 모든 정자에서 자기활성화된 정액 보존액이 미토콘드리아막 손상을 줄이는 것을 관찰하였다(Fig. 8E, F).

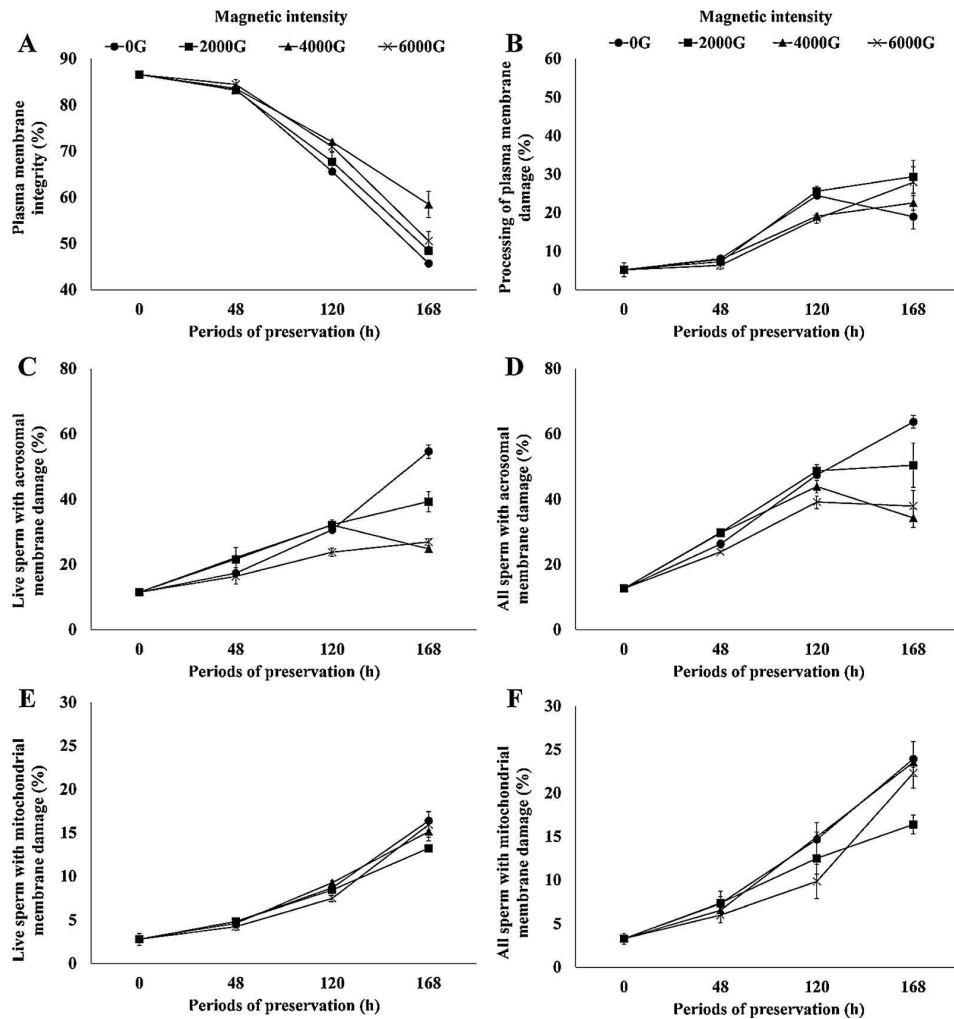


Fig. 8. Effect of magnetized extender on changes of sperm plasma, acrosomal, and mitochondrial membranes during the liquid preservation of boar sperm, plasma membrane intactness (A), plasma membrane damage (B), acrosomal membrane damage in live sperm (C), acrosomal membrane damage in all sperm (D), mitochondrial membrane damage in live sperm (E), mitochondrial membrane damage in all sperm (F).

(5) 자기활성된 정액 보존액의 체외수정능력

자기활성된 보존액에서 배양된 정자의 체외수정능력을 Table 1에 나타냈다. 정액 희석 후 48, 120 및 168시간 후의 분할율은 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 모두 60% 이상의 체외 수정률을 보였다. 그러나 48시간 후의 정자의 체외수정능력을 비교해본 결과 처리구에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 120시간 후의 배반포 형성률이 4000G($19.7 \pm 3.2\%$)에서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 168시간 후의 배반포 형성률은 6000G($17.6 \pm 2.4\%$)에서 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높았으며 또한 대조구에 비하여 자기활성화된 보존액에서 보관된 정자의 체외수정능력 중 배반포 형성률이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

체외수정은 정자의 수정능력을 판단하는 방법으로 널리 이용되어지고 있다. Table 1은 자기활성화된 보존액을 이용한 정자의 체외수정능력에 대한 결과이다. 특히 48시간 후의 4000G의 정자의 체외수정능력은 신선정액과 비교하였을 때 유의적인 차이가 나지 않았다. 120시간과

168시간 때의 정자의 체외수정능력은 대조구에 비해 처리구의 배반포율이 유의적으로 증가한 것을 관찰하였다($p < 0.05$). 이는 자기활성화된 보존액이 정자의 체외수정능력을 증가시키는 것으로 판단된다. 또한 정자의 막관련 검사의 결과와 체외수정의 배반포율의 결과가 일치하는 것으로 보아 정자의 막 온전성과 체외수정에는 밀접한 관련이 있다고 판단된다.

Table. 1 Oocyte cleavage and blastocyst formation rates at 144 h after in vitro fertilization with sperm stored in magnetized semen extender.

Magnetic intensity (G)	Periods of semen preservation								
	48h			120h			168h		
	No. of oocytes	Cleavage (%)	Blastocyst (%)	No. of oocytes	Cleavage (%)	Blastocyst (%)	No. of oocytes	Cleavage (%)	Blastocyst (%)
Fresh	205	146 (70.8 ± 2.7)	33 (22.5 ± 2.0) ^a	205	146 (70.8 ± 2.7)	33 (22.5 ± 2.0) ^a	205	146 (70.8 ± 2.7)	33 (22.5 ± 2.0) ^a
0	220	153 (69.6 ± 6.3)	20 (13.4 ± 2.0) ^b	155	97 (62.0 ± 3.2)	14 (14.4 ± 1.2) ^b	207	134 (64.7 ± 0.8)	12 (8.8 ± 0.8) ^c
2000	239	160 (65.8 ± 5.0)	28 (17.8 ± 0.8) ^{ab}	209	144 (68.9 ± 3.0)	25 (17.4 ± 0.4) ^{ab}	246	168 (68.3 ± 1.4)	20 (12.0 ± 0.9) ^c
4000	243	147 (60.4 ± 2.3)	26 (17.5 ± 1.3) ^{ab}	198	124 (62.9 ± 5.6)	25 (19.7 ± 3.2) ^{ab}	214	148 (69.6 ± 3.8)	20 (13.3 ± 1.1) ^{bc}
6000	254	167 (65.2 ± 2.6)	27 (16.6 ± 2.4) ^{ab}	188	105 (56.2 ± 6.4)	17 (16.7 ± 2.3) ^{ab}	210	138 (65.6 ± 3.1)	24 (17.6 ± 2.4) ^{ab}

Data are presented as the mean ± SEM. a-c: values in brackets with different superscripts differ significantly from each other ($p < 0.05$). n=5.

3. 자기활성화된 정액 보존액이 BSA로부터 발생하는 산화스트레스 억제 효과

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 돼지 정액 보존에 있어 Bovine serum albumin(BSA)은 정자의 운동성, 생존능력을 향상시키며, BSA는 수정능력획득에 있어 중요한 역할을 하는 인자들을 함유하고 있으나 수정능력획득은 정자가 난자와 만나는 수정능력에 있어 필수적인 현상이지만 이후에는 정자 원형질막의 콜레스테롤 유출로 인한 활성산소가 증가하게 됨
- (2) 자기활성화된 배양액은 물 분자 클러스터를 작게하며 이러한 의미는 cyclohexamer구조의 물 분자 클러스터 형태가 많다는 것을 의미하며 cyclohexamer구조는 물 분자 클러스터 구조에서 제일 안정한 구조이기 때문에 이러한 클러스터가 많은 배양액은 활성산소 발생률이 적을 것이라 예상
- (3) 일반적으로 세포가 대사활동하는 동안에는 미토콘드리아에서 생성되는 산화물에 의하여 활성산소가 발생하고 활성산소의 종류에는 H_2O_2 , OH^- 등이 있으며 이러한 활성산소들은 반응성이 매우 높으며 세포의 악영향을 끼침
- (4) 돼지의 경우 정액 채취를 하고 즉시 희석액을 이용하여 섞은 후 그 이후 배양액을 교체하지 않는 방식의 보관법을 이용하며 이러한 방식은 장시간 보존되는 동안 정자가 대사활동을 하면서 활성산소를 많이 생성하며 생성된 활성산소가 배양액 내에 계속 축적되는 현상이 발생하는 문제점이 생기 때문에 BSA가 포함되어 있는 정액 보존액을 자기활성화시켜 액상 보존되는 동안 BSA로부터 오는 산화스트레스의 감소유무를 정자분석을 통해 확인

나. 재료 및 방법

- (1) 실험에 이용되는 정액 보존액은 Bovine serum albumin이 포함되어있는 Modena B를 이용하였으며, 정액 채취 1시간 전 BSA가 첨가되지 않은 0 G 및 6000 G 처리구와 0.4% BSA가 첨가된 0G 및 6000G의 세기에서 100rpm의 속도로 5분 동안 정액희석액을 자기 활성화 시켜 채취 후 1×10^7 개/ml로 희석
- (2) 희석된 정액은 17°C 에서 11일 동안 보관하여 채취된 당일, 4일, 7일 및 11일 때의 정자 성상을 검사하며, 1×10^6 개/ml의 정자에 SYBR14와 PI 이중염색을 실시하여 생존율을 검사, FITC-PNA와 PI 이중염색을 실시하여 정자의 침체반응율을 검사, Carboxy-DCFDA와 PI 이중염색을 실시하여 정자 내 고농도 H_2O_2 를 함유하는 율을 확인, Superoxide dismutase(SOD)검사를 통하여 정자 내 항산화효소 활성도를 측정, BODIPY와 PI를 이중 염색하여 정자 내 지질산화정도를 검사하여, 형광염색된 정자들은 flow cytometry (FACs calibur)를 이용하여 총 10,000개의 정자를 분석

다. 연구 결과

(1) BSA가 포함된 자기활성화된 정액 보존액의 정자의 생존능력

BSA가 포함된 정액희석액을 자기활성화 시켜 돼지 정액을 11일 동안 액상보존했을 때의 정자의 생존율을 Fig. 9에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 BSA를 함유한 정액 보존액이 첨가하지 않은 처리구에 비하여 7일 이상 보관하였을 때 생존율이 증가하였다. 또한 6000G의 자력으로 자기활성된 처리구에서 생존율이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

돼지는 1회 사출되는 정액량이 많고 저온에 대한 내성이 약하며 일반적으로 액상상태에서의 인공수정을 실시하는 경우가 많다. 이러한 돼지정액의 특성상 빠른 시간 내에 인공수정을 실시해야 하며 액상상태로의 운반, 보존 및 희석액에 대한 연구가 많이 필요한 실정이다. 그러나 현재 국내에서 유통되어지고 있는 정액은 장기간 보존이 가능한 돼지 정액 보존액으로써 그 제품에는 생존율과 활력을 위하여 Bovine serum albumin (BSA)를 첨가하여 희석을 하고 있다. BSA는 정액의 품질을 증가시키지만 수정능획득을 가속화시키기 때문에 정자내의 활성산소가 증가하게 된다. 이러한 현상들은 결국 정자 및 보존액 내의 활성산소를 증가시키고 정자의 보존에 나쁜 영향을 미치게 되며 결국 운동성감소, 원형질막, 침체막, 미토콘드리아막 및 DNA 손상이 일어나게 된다. Fig. 9에서는 BSA와 자기활성화된 배양액이 정액을 보존하는데 있어 생존율을 증가시킨 것을 확인할 수 있었다.

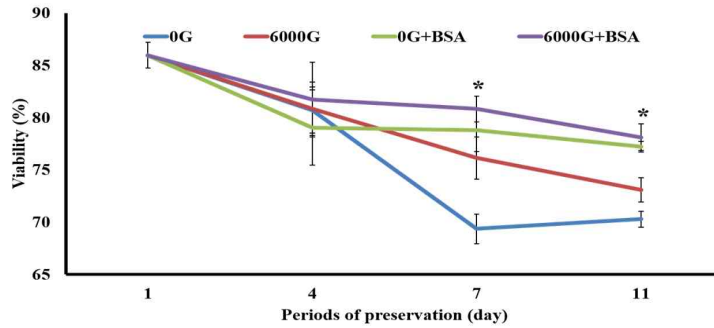


Fig. 9. Magnetized semen diluter changes plasma membrane damage by liquid preserved semen obtained on days 1 ~ 11 *(p<0.05).

(2) BSA가 포함된 자기활성화된 정액 보존액의 정자의 침체반응

Fig. 10은 BSA가 포함된 정액희석액을 자기활성화시켜 돼지 정액을 11일 동안 액상보존했을 때의 정자의 침체반응율을 나타낸 결과이다. 정액 보존 4일 째에는 처리군 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 7일 째에는 BSA를 첨가한 처리구가 첨가하지 않은 처리구에 비하여 침체반응이 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었으며, BSA를 첨가하지 않은 처리구에서는 자기활성수를 이용하였을 때 침체반응이 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다(p<0.05). 보존 11일째 역시 7일째의 결과와 같은 결과를 나타내었다.

이전 연구에서 언급하였듯이 자기활성된 정액 보존액은 침체반응을 억제시켜주는 효과를 나타내었다. 이는 자기활성화된 정액 보존액의 물 분자 클러스터가 안정적이기 때문에 배양액 내에 갖고 있는 활성산소를 감소시켜 세포막 안정에 좋은 영향을 미쳤을 것이라 생각된다. 또한 BSA는 침체반응을 억제하는 결과를 나타내었다. 하지만 BSA를 첨가한 처리구에서는 자기활성수의 효과는 나타나지 않았다.

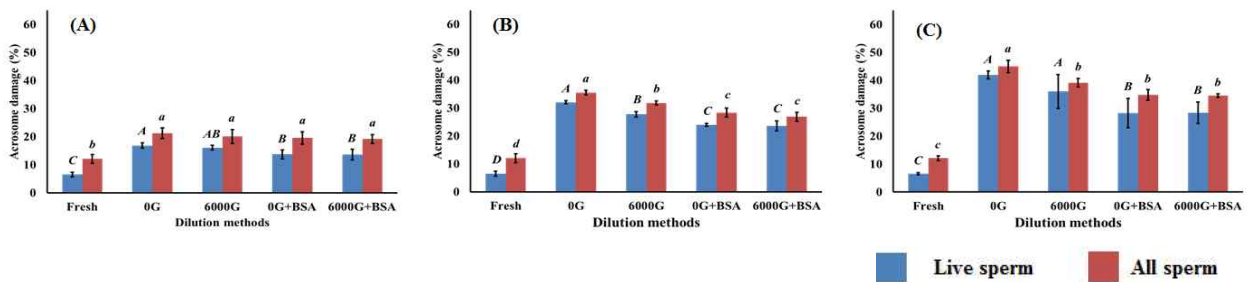


Fig. 10. Magnetized semen diluter changes acrosome membrane damage by liquid preserved semen obtained on days 1-11. (A): Day 4, (B): Day 7, (C): Day 11, A-C: between live sperm, a-c: between dying sperm (p<0.05)

(3) BSA가 포함된 자기활성화된 정액 보존액의 고농도 H₂O₂의 정자 비율

돼지 정액을 액상보존하는 동안 H₂O₂의 농도가 높은 정자의 비율을 Fig. 11에 나타내었다. 보존 4일째에는 BSA를 첨가하여 정액을 보존하였을 때 첨가하지 않은 처리구에 비하여 H₂O₂의 농도가 높은 정자의 비율이 증가하였다. 또한 보존 7일째와 11일째 역시 유의적인 차이는 나타

나지 않았지만 BSA를 첨가한 그룹에서 H₂O₂의 농도가 높은 정자의 비율이 증가하였다. 또한 보존 4, 7 및 11일째 모두 자기활성화된 정액 보존액을 사용하였을 때 H₂O₂의 농도가 높은 정자의 비율이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다(p<0.05).

모든 세포는 대사활동을 하기 때문에 산화물이 생기게 된다. 특히 H₂O₂의 경우는 대사산물의 중간물질로써 세포에 항상 존재하며, 이러한 H₂O₂는 체내 항산화효소인 Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 및 GSH-Px와 같은 물질에 의해 물과 산소로 분해된다. 이중 H₂O₂의 농도가 높은 정자가 많을수록 산화스트레스에 많이 노출되어 있다고 판단할 수 있다. 실제로 형광염색을 하여 현미경을 관찰하게 되면 H₂O₂는 모두 염색되어지지만 형광세기가 다른 정자들을 관찰할 수 있다. 죽어있는 정자에서는 세포 내 H₂O₂는 줄어들게 된다. 실제로 BSA가 첨가된 배양액에서 정액을 보존하였을 때 H₂O₂의 농도가 높은 H₂O₂의 비율이 다른 처리구에 높은 것을 확인할 수 있었으며, 자기활성화된 정액 보존액에서는 H₂O₂의 농도가 높은 정자의 비율이 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 이는 자기활성화된 정액 보존액이 세포 내의 H₂O₂의 농도를 감소시켰을 것이라 판단된다. 또한 시중에서 유통되고 있는 정액 희석액은 가루 형태로 팔기 때문에 자기활성화된 물을 이용하여 제조한다면 액상상태로 유통되는 돼지 정액의 생존율, 첨제 보존율을 상승시킴과 동시에 활성산소 억제제로써의 역할도 할 수 있을 것이라 기대된다.

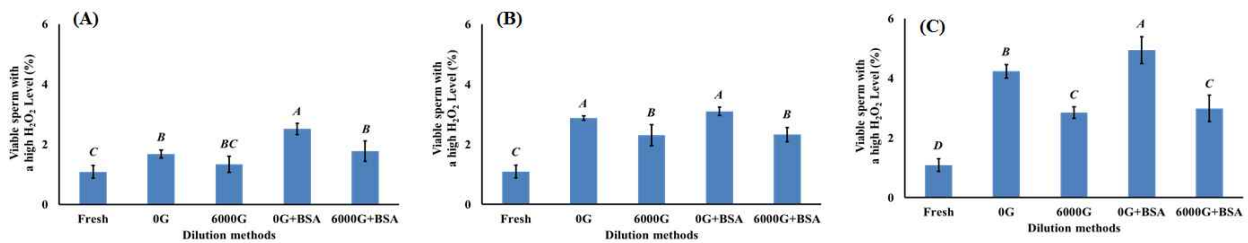


Fig. 11. Magnetized semen diluter changes viable sperm with a high H₂O₂ level by liquid preserved semen obtained on days 1-11, (A) : Day 4, (B) : Day 7, (C) : Day 11 A-C: between live sperm, (p<0.05)

(4) BSA가 함유되어있는 자기활성화된 정액 보존액의 superoxide dismutase(SOD) activity

돼지 정액을 7일 동안 액상보존한 결과를 Fig. 12에 나타내었다. 처리구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 BSA를 첨가하지 않은 처리구에서 자기활성된 돼지 정액 보존액을 이용하였을 때 superoxide dismutase activity가 증가하는 경향을 보였으나, BSA를 첨가한 처리구 내에서는 반대의 결과가 나왔다.

Superoxide dimutase (SOD)는 세포 내의 H₂O₂를 물과 산소로 최초로 분해해주는 항산화효소이다. 이러한 SOD와 함께 catalase 및 GSH 역시 대표적인 항산화효소이다. 본 연구결과에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

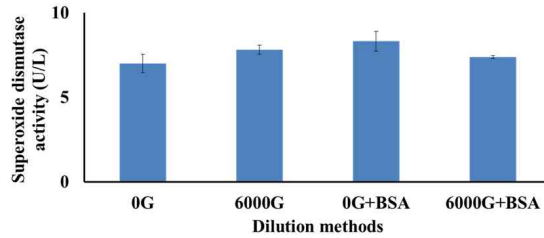


Fig. 12. Magnetized semen diluter changes viable sperm with superoxide dismutase activity by liquid preserved semen obtained on day 7

(5) BSA가 함유되어있는 자기활성화된 정액 보존액의 정자의 지질산화

Table 2는 보존일수에 따른 돼지정액의 지질산화정도를 측정한 결과이다. 표에서 보는 바와 같이 보존일수별, 처리구별 유의적인 차이가 나타나지 않았고 또한 경향도 나타나지 않았다.

지질산화는 산화스트레스를 측정하는 지표 중에 하나이다. 하지만 본 연구에서는 각 처리구별 보존일수별 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 하지만 이전 연구들을 통하여 생존율, 침체 보존율 및 세포 내 활성산소의 감소의 효과가 있을 것이라 생각된다. 이러한 차이는 자기활성수가 정액보존에 있어 정자의 지질산화에는 관련이 없다고 판단된다.

Table 2. Effect of the magnetized semen diluter on lipid peroxidation following storage periods at day 11 in boar sperm (Mean ± SEM)

Dilution methods	Periods of preservation					
	Day 4		Day 7		Day 11	
	Low peroxidation (%)	High peroxidation (%)	Low peroxidation (%)	High peroxidation (%)	Low peroxidation (%)	High peroxidation (%)
Fresh	68.0±26.2	30.7±26.4	68.0±26.2	30.7±26.4	68.0±26.2	30.7±26.4
Without BSA	20.3±34.3	79.7±34.3	9.9±7.2	90.1±7.2	8.0±7.2	92.0±7.2
With BSA	18.0±33.3	82.0±33.3	11.2±7.7	88.8±7.7	13.2±15.6	86.8±15.6
0G	57.6±26.5	41.7±27.1	84.3±8.6	12.5±7.9	56.4±32.9	42.8±33.4
6000G	59.0±28.6	40.5±29.0	81.2±8.4	17.2±7.5	70.6±18.1	28.0±18.9

4. 자기활성된 난자 배양액이 돼지 난자 성숙에 미치는 효과

가. 이론적, 실험적 접근 방법

- (1) 세포에서의 적정수준의 ROS는 세포의 신호를 전달하는 역할을 하지만 과도한 ROS는 세포성장의 억제를 야기하며 난자의 발달에 악영향을 미치며, 인큐베이터의 불안정한 대기농도, 세포배양액 및 체외에서의 난자의 조작에 의해 산화충격을 받게 되어 ROS에 노출됨
- (2) 자기활성화된 배양액은 물 분자 클러스터를 작게 하며 이러한 의미는 cyclohexamer구조의 물 분자 클러스터 형태가 많다는 것을 의미하고 cyclohexamer구조는 물 분자 클러스터 구조에서 제일 안정한 구조이기 때문에 이러한 클러스터가 많은 배양액은 활성산소 발생률이 적을 것이라 예상되기 때문에 자기활성된 난자 배양액을 이용하여 난자를

성숙 시키고 그에 관련된 검사항목들을 분석

나. 재료 및 방법

- (1) 도축된 돼지에서 난소를 채취하여 TCM199에 10% porcine follicular fluid, EGF, hCG, LH, FSH를 첨가하여 44시간 동안 난자를 성숙하며, 성숙된 난자는 0, 2000, 4000 및 6000G로 자기활성화된 난자 배양액에서 22시간마다 갈아주며 총 44시간 동안 배양
- (2) 배양된 돼지 난자세포의 H_2O_2 의 농도를 Carboxy-DCFDA 시약을 이용하여 측정, 배양된 돼지 난자세포의 GSH의 농도를 CellTracker Red시약을 이용하여 측정, 배양한 돼지 난자의 원형질막의 온전성을 SYBR14와 PI를 이중염색하여 측정, 배양한 돼지 난자에서의 Bcl-xL을 PCR기법을 이용하여 apoptosis 정도를 mRNA 수준에서 분석
- (3) 44시간동안 배양된 돼지 난자의 핵형을 Orcein기법을 이용하여 분석 후 성숙률을 관찰, 형광염색된 세포들은 Confocal laser microscope를 이용하여 가시화함, 발현되는 양을 정확히 측정하기 위하여 Hoechst33342 시약으로 DNA를 염색하여 DNA당 각각의 인자들이 발현되는 정도를 spectrophotometry를 이용하여 분석

다. 연구결과

- (1) 돼지 난자가 체외성숙되는 동안에 자기활성화된 난자 배양액이 세포 내 활성산소 (Reactive oxygen species, ROS)에 미치는 영향

자기활성화된 배양액으로 난자를 배양한 후에 microplate spectrofluormeter를 이용하여 세포 내 ROS 수준을 측정하여 비교하였다. 난자의 ROS 강도를 확인하기 위하여 carboxy-DCFDA와 Hoechst 33342를 이중염색하여 분석하였다(Fig. 13). 0, 22 및 44시간 배양할 때 각 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 하지만 감수분열 2단계에 난자가 도달하였을 때에는 대조구에 비하여 처리구에서 난자 내의 H_2O_2 의 강도가 낮아지는 경향을 보였다.

돼지 난자는 체외에서 42~44시간 동안 배양하는 시스템을 이용하고 있으며 21~22시간 마다 배양액을 교체해주는 방식을 많이 사용하고 있다. 본 연구를 진행하기 위하여 배양 전, 22시간 배양 및 44시간 배양되었을 때의 난자 내의 H_2O_2 의 강도를 측정하여 비교하였다. 난자가 성숙하는 동안 난자 내 H_2O_2 의 증가는 배양 후 0, 22 및 44시간 때 0 G의 처리구에서 확인할 수 있었다. 배양 0시간 및 0 G의 감도를 기준으로 하여 상대적인 수치를 비교하였을 때에는 배양 시간별 처리구별 유의적인 차이는 나타나지 않았지만, 배양 후 44시간 때에는 자기활성화된 배양액을 이용하여 성숙된 난자의 H_2O_2 의 감도가 낮아지는 경향을 확인할 수 있었다. 이는 더 많은 연구를 통하여 자기활성화된 배양액과 난자 성숙 동안 발생하는 H_2O_2 의 양을 좀 더 정확하게 규명해야 할 필요가 있다고 생각한다.

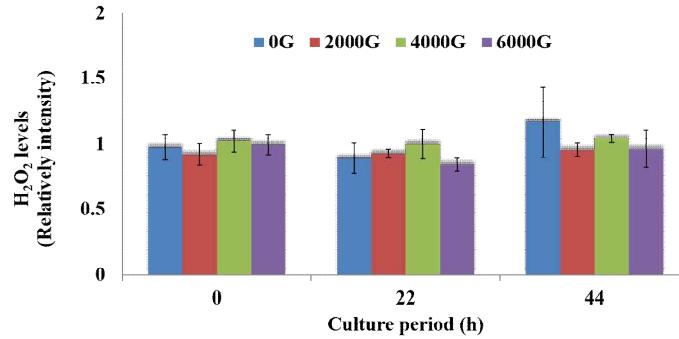


Fig. 13. H₂O₂ levels during the different culture periods of porcine oocytes with magnetized medium

(2) 돼지 난자가 체외성숙되는 동안에 자기활성화된 난자 배양액이 세포 내 GSH에 미치는 영향

자기활성화된 배양액으로 난자를 배양한 후에 microplate spectrofluormeter를 이용하여 세포 내 GSH 수준을 측정하여 비교하였다. 난자의 GSH의 변화를 확인하기 위하여 CellTracker™과 Hoechst 33342를 이중염색하여 분석하였다(Fig. 14). 그 결과 배양 후 0시간 및 22시간 때에는 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 배양 44시간 때의 대조구(1.04 ± 0.30)에 비하여 2000G(2.82 ± 0.33), 4000G(4.04 ± 0.56) 및 6000G(3.04 ± 0.27)의 GSH의 수준이 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$) 자기활성 배양액 내 처리구에는 유의적인 차이가 없었다. Fig. 15에서 보라색으로 염색된 부분은 세포의 핵을 나타내고 빨간색은 GSH를 나타낸다. 그림에서 보는 바와 같이 난구세포보다 난자 내에서 GSH가 많이 발현되는 것을 확인할 수 있었으며 배양시간이 길어짐에 따라 GSH의 양이 증가하는 것을 확인할 수 있다. 또한 배양 후 22시간 때에는 처리구간 GSH의 함량이 차이가 나지 않지만 배양 44시간 때에는 자기활성 배양액을 이용한 난자에서 대조구에 비하여 GSH가 많이 발현되는 것을 확인할 수 있다.

세포에서 생성된 O₂는 항산화 효소인 SOD에 의하여 H₂O₂와 O₂로 전환되며 그 후 우선적으로 catalase에 의하여 H₂O₂와 O₂는 H₂O와 산소로 합성한다. 그 이후 전부 전환되지 못한 활성산소인 H₂O₂는 GSH가 GSSG로 전환되면서 H₂O로 분해된다. 따라서 세포 내 GSH의 함량의 증가는 H₂O₂를 분해 할 수 있는 능력이 높다는 것을 의미한다. Fig. 14의 배양 후 44시간 때의 결과에서 보는 바와 같이 자기활성화된 배양액에서의 GSH 감도가 대조구에 비하여 유의적으로 증가한 것으로 보아 자기활성된 배양액은 항산화효소의 활성을 증가시키는 것으로 생각된다. 또한 난자의 성숙은 수정을 하기 위한 준비로써 mRNA, 단백질, 탄수화물 및 지질이 증가한다는 보고가 있다. 본 연구에서도 확인하였듯이 난자가 성숙함에 따라 GSH가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 항산화효소들이 많게 되는 배양 후 44시간 때의 난자에서 자기활성화된 배양액의 효과를 확인할 수 있었다. 따라서 자기활성화된 배양액은 난자의 성숙에 있어 항산화효소를 증가시킨다고 볼 수 있으며, 이러한 효과는 활성산소 및 산화스트레스에 좋은 영향을 미칠 것이라 생각된다.

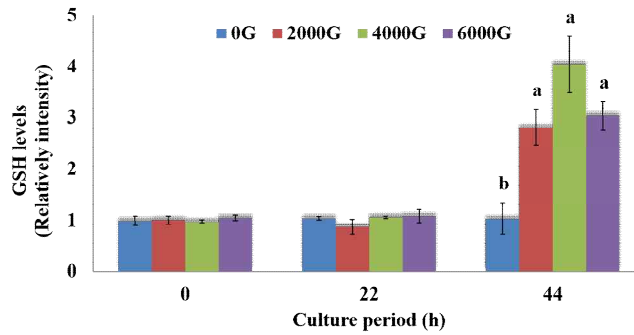


Fig. 14. GSH levels during the different culture periods of porcine oocytes with magnetized medium ($p < 0.05$)

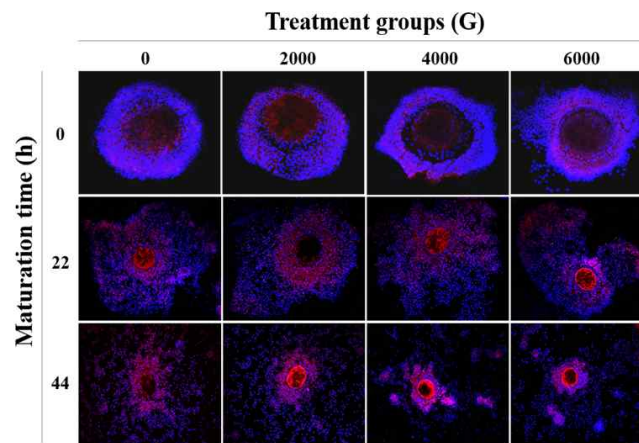


Fig. 15. Confocal laser scanning microscopic images of GSH levels on *in vitro* maturation of porcine oocytes, Oocytes were stained with CellTracker™ Red and Hoechst 33342 to detect intracellular levels of GSH

(3) 자력의 세기에 따른 배양액의 44시간 동안 난자에서의 H₂O₂와 GSH의 변화

자기활성화된 배양액을 이용하여 44시간 동안 체외에서 성숙된 돼지 난자의 H₂O₂와 GSH의 변화를 Fig. 16에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 H₂O₂의 수준은 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 감소하는 경향을 보였으며, GSH의 수준은 대조구에 비하여 처리구가 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

이는 난자의 성숙이 완성되는 배양 후 44시간 때의 결과로써 난자의 성숙이 완료되는 배양 시간 22-44시간 때에 자기활성 배양액을 이용하여 배양을 한다면 난자의 활성산소의 감소와 항산화효소의 증가로 인하여 성숙에 좋은 영향을 끼칠 것이라 생각된다.

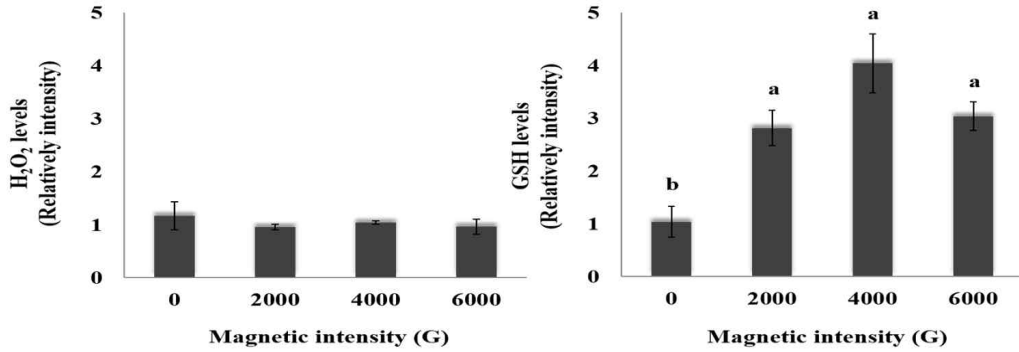


Fig. 16. Comparison of H₂O₂ and GSH levels in matured oocyte at 44 h ($p < 0.05$)

(4) 자력의 세기에 따른 배양액의 성숙된 돼지 난자에서의 Bcl-xL mRNA 발현 변화

44시간 동안 성숙된 돼지 난자에서의 자력의 세기가 따른 배양액의 효과를 알아보기 위하여 anti-apoptosis 유전자인 Bcl-xL의 mRNA를 PCR을 이용하여 분석하였다(Fig. 17). 그 결과 Bcl-xL의 발현량은 4000 및 6000G에서 0 및 2000G에 비하여 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

Apoptosis는 세포 내에서 일어나는 세포치사작용으로 세포의 성장, 신호 및 여러 가지 기작에 의하여 발동이 된다. 본 연구에서는 anti-apoptosis 인자인 Bcl-xL을 RT-PCR을 통해 검사하였다. 그 결과 자기활성된 배양액을 이용하여 배양시킨 난자에서 anti-apoptosis의 인자가 더 많이 발현된 것을 확인하였으며, 이러한 결과는 앞선 결과와 마찬가지로 항산화효소의 증가 및 활성산소의 증가와 함께 자기활성화된 배양액이 난자 성숙과 성장에 있어 좋은 영향을 끼친다고 판단된다.

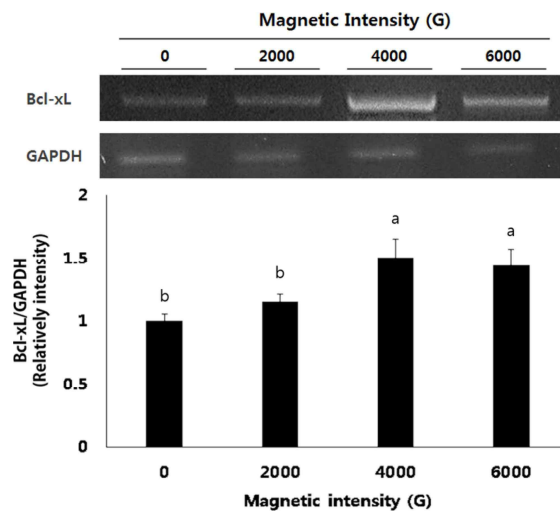


Fig. 17. Expression of Bcl-xL mRNA at 44 h of *in vitro* maturation in porcine oocytes ($p < 0.05$)

(5) 자력의 세기에 따른 배양액의 난구세포 세포막 데미지의 변화

난자의 성장과 성숙에 있어 필수적인 난구세포의 세포막 데미지 변화를 SYBR14와 PI를 이 중염색하여 평가하였다(Table 3, Fig. 18). 그 결과 배양 0시간 때에는 처리구간 유의적인 차이

는 나타나지 않았지만, 배양 후 22시간과 44시간 때의 난구세포의 손상은 4000G가 2000G에 비하여 유의적으로 감소하였다.

난구세포는 난자가 성숙하는 동안 호르몬, cytokine 및 세포에 필요한 신호를 전달하기 때문에 난구세포의 성장은 곧 난자의 성숙과 이어진다. 본 연구를 통하여 자기활성 배양액이 난자가 아닌 난구세포의 세포막 손상에 미치는 효과에 대하여 알아보았다. 난자의 성숙이 완료되는 배양 후 44시간 때에는 처리구에서 세포막 손상이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 본 연구를 실행하는데 있어 세포손상 정도를 PI의 형광값으로 나타내었는데, 난구세포가 성장하는 동안에는 죽어있는 난구세포가 없어 세포막 손상을 측정하는데 어려움이 있었다. 하지만 자기활성화된 배양액을 이용할 때의 PI의 형광값도가 감소한 것을 확인하였으며, 세포의 원형질막 보존에 있어 자기활성수가 좋은 영향을 끼친다는 것을 확인하였다. 이 결과는 이전 정자 실험에서와 같은 결과이며 자기활성수가 세포막 보존에 있어 좋은 영향을 끼친다는 것을 재 입증하는 결과이다.

Table 3. Cumulus cell membrane damage during the different culture periods of porcine oocytes with magnetized medium

Magnetic intensity (G)	Maturation period of oocytes (h)		
	0	22	44
0	22.058 ± 0.383	25.592 ± 0.494 ^{ab}	21.577 ± 1.098 ^{ab}
2000	22.397 ± 1.605	27.646 ± 1.859 ^a	23.863 ± 1.177 ^a
4000	22.335 ± 0.397	21.972 ± 0.377 ^c	19.444 ± 0.873 ^b
6000	22.482 ± 0.628	23.148 ± 0.301 ^{bc}	21.152 ± 1.917 ^{ab}

^{a,b} Values in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

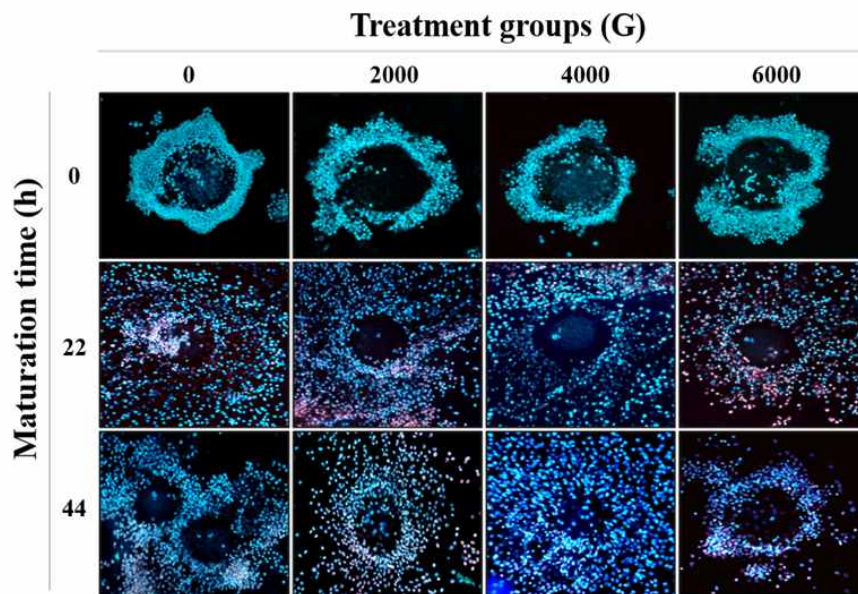


Fig. 18. Fluorescent photomicrographic images of membrane damage during *in vitro* maturation of porcine oocytes, Oocyte were stained with PI and Hoechst 33342 to detect cumulus cell damage

(6) 돼지 난자가 성숙되는 동안에 자기활성수가 핵성숙에 미치는 영향

자기활성수가 돼지 난자 성숙에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 4에 나타내었다. 본 연구 결과 난자의 성숙이 완성되었다고 판단되는 감수분열 제2기(metaphase II, MII)까지 도달한 난자의 비율은 대조구에 비하여 처리구가 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 난핵포단계(Germinal vesicle, GV)의 비율은 4000G에서 유의적으로 감소하였으며, 감수분열 제1기(metaphase I, MI)의 비율이 대조구에 비하여 처리구에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 또한 퇴화(Degeneration, Deg)하는 난자의 비율을 6000G에서 다른 처리구에 비하여 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

난자의 성숙은 세포질 성숙과, 세포핵 성숙으로 나눌 수 있다. 세포질 성숙이 난자가 성장과 수정에 필요한 외부물질의 제공해주는 환경적인 요인이라면, 세포핵 성숙은 난자가 정자와 만나 유전정보를 제공할 수 있는 조건을 갖추는 단계라고 할 수 있다. 난자의 핵성숙은 난자의 성숙을 알아보는데 있어 가장 널리 쓰이는 방법이고 간편한 방법이다. 본 연구는 자기활성화된 배양액이 난자의 핵성숙을 증가시키는 결과에 대하여 증명하기 위하여 자기활성화된 배양액의 활성산소 제거, 항산화효소 증가, anti-apoptosis 증가 및 난구세포의 원형질막 손상능력에 대하여 검증하였다. 그 결과 자기활성화된 배양액을 이용하였을 경우 난자의 핵 성숙률이 평균 22.5% 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 체외배양시스템에 있어 자기활성수를 이용한다면 세포의 성장과 항산화효과에 좋은 영향을 끼칠 것이라 생각된다.

Table 4. Change of oocyte nuclear type by magnetized medium on *in vitro* maturation of porcine oocytes

Magnetic intensity (G)	No. of oocytes examined	Nuclear type of oocytes (%)			
		GV	MI	MI	Deg.
0	153	15 ^a (9.64±1.91)	51 ^a (33.25±3.89)	74 ^b (48.47±4.91)	13 ^a (8.65±1.88)
2000	137	6 ^{ab} (4.4±0.69)	27 ^b (19.58±3.93)	91 ^a (66.18±3.92)	13 ^a (9.84±1.64)
4000	248	4 ^b (1.36±0.84)	36 ^b (14.45±0.75)	186 ^a (75.41±2.32)	22 ^a (8.78±1.70)
6000	138	7 ^{ab} (4.94±2.73)	33 ^b (23.79±2.24)	93 ^a (67.62±4.34)	5 ^b (3.65±0.56)

^{a,b} Values in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

5. 자궁환경 모델을 이용한 자기활성수 능력 검증

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 활성산소가 감소된 자기활성수의 능력을 검증하기 위해 인위적으로 돼지 자궁내막상피 세포에 산화스트레스를 유도, 산화스트레스 물질로 잘 알려진 H₂O₂를 배양액 내 첨가

하여 인위적으로 산화스트레스를 유도

- (2) 각각의 세포주마다 H_2O_2 에 의한 산화스트레스의 수준이 다르기 때문에 문헌 검색을 통해 산화스트레스 물질의 농도 범위를 설정하고 생존율과 apoptosis 유전자 발현 정도를 분석, 산화스트레스가 유도된 자궁상피세포에서 자기활성수로 인해 감소된 세포 내 활성산소를 측정하기 위하여 carboxy-DCFDA 형광염색약을 이용, Confocal 현미경을 이용하여 세포 내 활성산소의 발현정도를 가시화, 세포마다 발현되는 활성산소의 형광 세기를 flow cytometry를 이용하여 분석, 각 DNA에서 발현되는 활성산소의 양은 carboxy-DCFDA와 Hoechst 333424 형광 염색약을 이중 염색하여 미세관 형광분석기를 이용하여 분석
- (3) 세포 내 활성산소를 감소시키기 위해서는 항산화 효소의 활성이 일어나야하기 때문에 세포 내 glutathione(GSH)을 확인 할 수 있는 celltracker Red라는 형광 시약을 이용하여 실험을 실시, Confocal 현미경을 이용하여 세포 내 GSH의 발현정도를 가시화, 세포마다 발현되는 GSH의 형광 세기를 분석하기 위하여 flow cytometry를 이용하여 분석, DNA당 발현되는 GSH의 양은 celltracker red와 Hoechst 33342 형광 염색약을 이중 염색하여 미세관 형광분석기를 이용하여 분석, 활성산소와 항산화효소의 반응은 세포대사과정이 일어나는 소기관인 미토콘드리아에서 발생
- (4) 미토콘드리아 활성 정도를 측정하기 위하여 Rhodamine123 형광염색약을 이용, 자기활성화 된 배양액이 미토콘드리아 활성에 미치는 영향을 가시화하기 위하여 confocal 현미경을 이용하여 분석, 세포마다 발현되는 미토콘드리아 활성정도를 분석하기 위하여 flow cytometry를 이용, DNA당 발현되는 미토콘드리아 활성정도를 분석하기 위하여 Hoechst 33342 형광염색약과 이중 염색하여 미세관 형광분석기를 이용하여 분석

나. 재료 및 방법

- (1) 자궁내막상피세포에 적정 산화스트레스를 유도하기 위하여 0, 25, 50, 100, 200 및 400 μM H_2O_2 를 배양액에 첨가하여 24시간 동안 배양 후 세포를 회수, 회수 된 세포는 생존율을 측정하기 propidium iodide의 형광염색약을 이용하였으며, 유속세포기로 형광값을 분석, Apoptosis와 관련된 유전자인 Bax와 Bcl-xL의 mRNA 발현정도를 RT-PCR기법을 이용하여 분석
- (2) 자기활성화 된 세포배양액에 200 μM H_2O_2 를 첨가하여 24시간 동안 배양, Culture dish 내 cover glass를 부착하여 세포를 키운 뒤 배양액 제거 후 carboxy-DCFDA가 함유된 PBS에서 세포를 염색을 실시하였으며, 염색 완료 후 cover glass를 slide glass에 부착 후 confocal 현미경으로 활성산소의 밝기가 감소하는 것을 관찰, 세포마다 발현되는 활성산소를 측정하기 위하여 부착되어있는 세포에 trypsin EDTA를 처리하여 단일세포로 만든 후 형광 염색하여 flow cytometry로 분석
- (3) Carboxy-DCFDA 형광값이 기준값보다 높게 발현되는 세포들의 비율을 수치화, Flow cytometry 분석방식은 세포를 단일화하기 위하여 사용된 Trypsin-EDTA에 의한 산화스트레스 영향도 존재할 수 있기 때문에 culture dish에 부착된 상태에서 Hoechst33342와 carboxy-DCFDA를 이중염색 실시, 이 후 화학적 충격을 최소화하기 위하여 cell scraper를 이용해 물리적으로만 세포를 회수한 뒤 미세관 형광분석기를 이용해

carboxy-DCFDA의 과장값을 DNA의 과장값으로 나누어 세포 내 활성산소 정도를 분석

다. 연구결과

(1) 자기활성화된 세포배양액이 세포 성장에 미치는 영향

자기활성화된 세포배양액이 돼지 자궁상피세포의 성장에 미치는 영향에 대한 결과를 Fig. 19에 나타내었다. 그림에서 보는바와 같이 배양 2일 차에는 대조구에 비하여 처리구에서 자궁상피세포의 성장이 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 또한 배양 4일 차에는 대조구, 2000 G 및 4000 G에서 상피세포의 성장은 차이가 없었지만 6000 G에서 세포의 성장이 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 각각 배양한 세포는 48시간동안 culture하여 세포수를 측정하여 doubling time을 계산하였다. 그 결과 4000 및 6000 G 처리구에서는 doubling time의 시간이 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 세포가 성장하는데 있어 자기활성된 배양액이 도움을 준다고 생각한다.

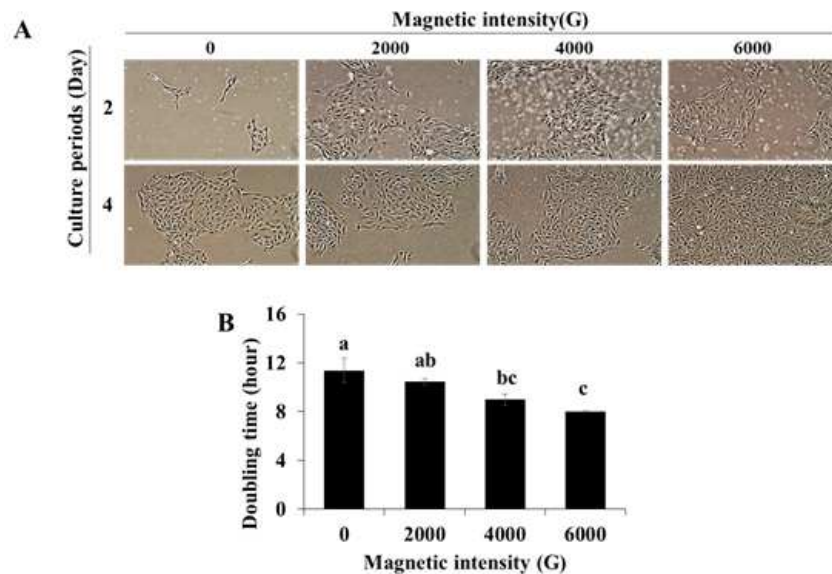


Fig. 19. Effect of magnetized culture medium on growth (A) and doubling time (B) in porcine endometrial epithelial cells (PEECs), (^{a-c}P < 0.05.)

(2) 자기활성화된 세포배양액이 세포의 glutathione에 미치는 영향

자기활성화된 세포배양액으로 장시간 배양시킨 자궁세포에서 세포 내 glutathione(GSH)를 관찰하였다. 실험에 이용된 세포는 세포 채취 후 초대배양에서부터 자력의 세기가 다른 자기활성장치로 제조된 배양액을 이용하여 실험을 실시하였다. 세포 배양시 배양액은 48시간 마다 교체해 주었으며, 교체시마다 배양액을 5분동안 자기활성화시켜 세포 배양액 이용하였다. 실험에 사용된 세포는 초대 배양 7일 후 1회 계대한 세포를 이용하였다. 배양된 세포는 고정 후 Celltracker Red를 이용하여 세포 내 GSH를 confocal laser micro scope를 이용하여 관찰하였다 (Fig. 20). Confocal laser의 사진에서 GSH의 강도를 비교하기 위하여 형광의 세기를 모두 동일 시하여 GSH의 형광을 측정하였다. Fig. 20에서 보는 바와 같이 자력의 세기에 따른 GSH의 형

광이 자기활성화된 배양액 처리구에서 대조구에 비하여 밝게 나타난 것을 확인 할 수 있었으며, 이를 수치한 결과 4000G 처리구에서 유의적으로 높게 나타난 것을 확인하였다($p < 0.05$). 이러한 결과는 자기활성화된 배양액으로 세포를 배양시 GSH의 농도가 증가한 것이라 생각되며, 실제로 장시간 세포배양시 자기활성화된 배양액을 이용하면 세포내 항산화 효소가 증가하는 것을 확인하였다.

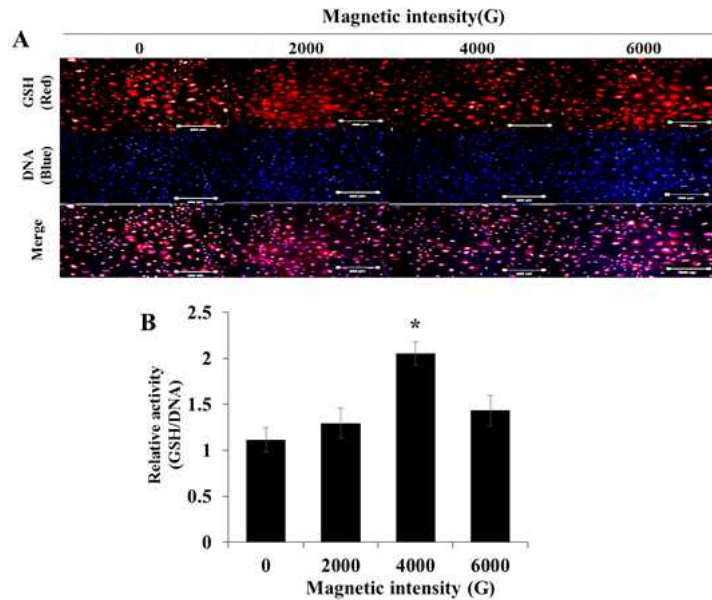


Fig. 20. Effect of magnetized culture medium on glutathione (GSH) expression (A) and relative activity of GSH (B) in porcine endometrial epithelial cells (PEECs), white scale bar, $200 \mu\text{m}$. * $P < 0.05$.

(3) 자궁환경 산화스트레스 유도를 위한 활성산소 유도물질 농도 설정

자궁내막세포에 산화스트레스를 유도한 후 PI를 염색하여 생존율을 유속세포기로 분석하였으며, apoptosis 관련 유전자는 PCR로 확인하여 산화스트레스 유도를 위한 과산화수소의 최적의 농도를 설정하였다. 그 결과 Fig. 21A에서 보는바와 같이 $200 \mu\text{M}$ 농도의 과산화수소를 첨가하였을 때 PI가 염색이 많이 되는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 결과 $200 \mu\text{M}$ 이상의 과산화수소를 첨가하였을 때 세포의 생존율이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다($p < 0.05$). 세포의 apoptosis 유도하는 유전자인 Bax mRNA 발현 역시 H_2O_2 의 농도가 $200 \mu\text{M}$ 이상에 유의적으로 높게 발현되었으며, 이를 억제하는 유전자인 Bcl-xL mRNA 발현은 H_2O_2 의 농도가 $100 \mu\text{M}$ 이상에서 유의적으로 낮게 발현되었다($p < 0.05$). 이러한 결과를 바탕으로 산화스트레스를 유도하기 위하여 $200 \mu\text{M}$ 의 과산화수소를 첨가하는 방식을 선택하여 실험을 실시하였다.

(4) 자기활성수가 자궁환경 활성산소에 미치는 영향

자기활성화된 세포배양액이 세포내 과산화수소에 미치는 영향을 분석한 결과, Fig. 22A의 사진에서 보는 바와 같이 과산화수소를 24시간 동안 처리하였을 때 세포내 과산화수소가 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 흡광도를 분석한 결과를 Fig. 22B에 나타내었으며, 자기활성화

된 처리구에서 DNA당 발현하는 DCFDA 형광값이 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 유속세포분석을 이용하여 수치화 시켰을 때에도 비슷한 경향으로 유의적으로 감소하였으나, 6000 gauss(G)와 0G의 자력의 세기를 통과한 배양액을 이용하여 세포를 배양한 처리구(이하 6000G 및 0G)에서는 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

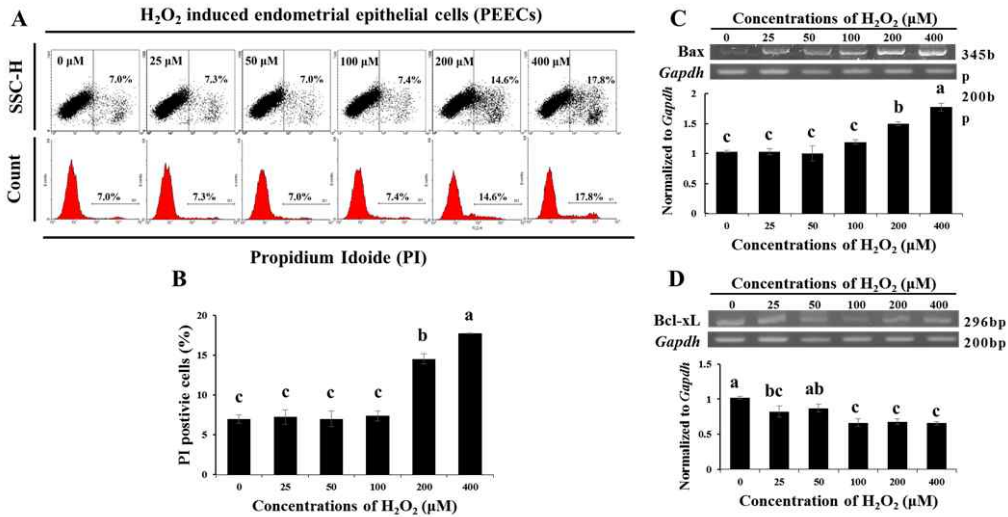


Fig. 21. Effects of H₂O₂ on cell viability (A, B), expression of *Bax* (C) and *Bcl-xL* (D) mRNA in porcine endometrial epithelial cells ($P < 0.05$)

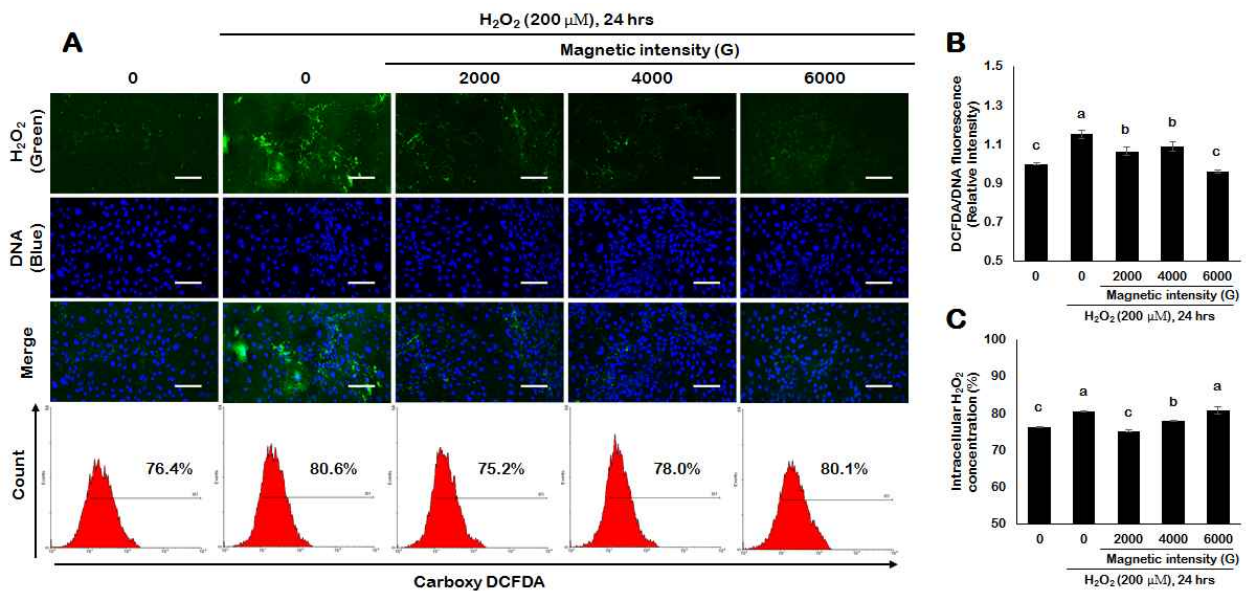


Fig. 22. Identification of intracellular H₂O₂ in porcine endometrial cells treated with magnetized culture medium. A: Confocal laser scanning microscopic image and histogram using flow cytometry, green is intracellular H₂O₂ and blue is DNA, B: Spectrophotometry, C: Flow cytometry analysis ($p < 0.05$, Scale bar = 50 μm).

(5) 자기활성수가 자궁환경 항산화 효소에 미치는 영향

자기활성화된 세포배양액이 세포내 항산화효소인 glutathione(GSH) 발현에 미치는 영향을 분석한 결과, Fig. 23A에서와 같이 과산화수소를 24시간 동안 처리하였을 때 4000G 자석으로 자기활성화 시킨 배양액에서는 GSH의 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Fig. 23B에서와 같이 세포의 흡광도를 분석하였을 때, DNA당 GSH가 발현되는 양은 6000G 자석으로 자기활성화된 처리구가 대조구에 비하여 형광값이 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 유속세포분석기를 이용하여 수치화 시켰을 때 역시 6000G 처리구에서 다른 처리구에 비해 고농도 GSH가 함유된 세포의 비율이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 이는 자기활성화된 배양액이 산화스트레스로 유도된 세포의 GSH를 증가시키는 결과로 볼 수 있다.

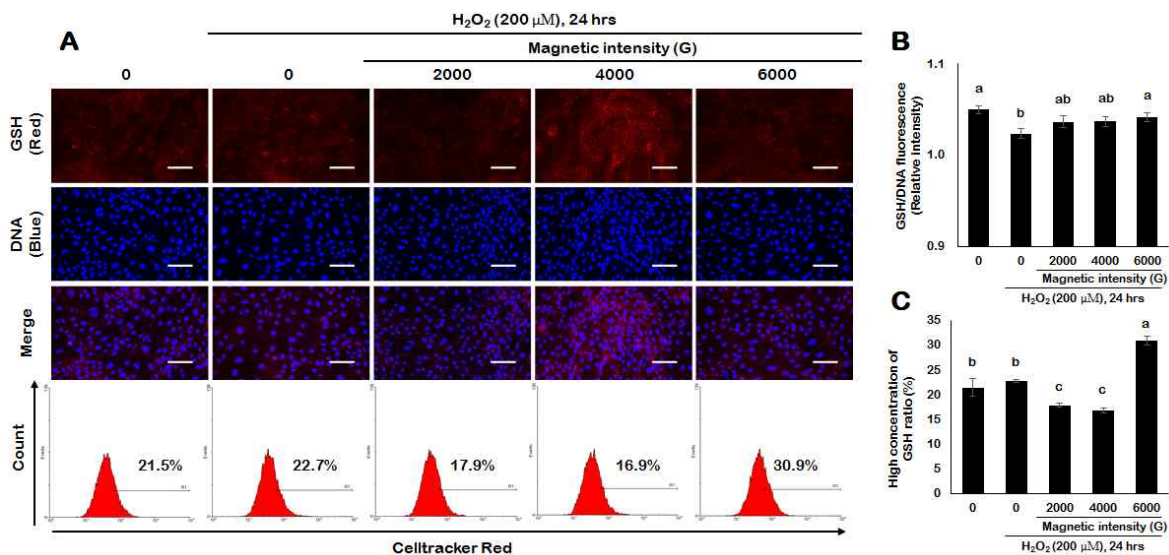


Fig. 23. Identification of glutathione (GSH) in porcine endometrial cells treated with magnetized culture medium. A: Confocal laser scanning microscopic image and histogram using flow cytometry, red color is GSH and blue is DNA, B: Spectrophotometry, C: Flow cytometry analysis ($p<0.05$, Scale bar = 50 μ m).

(6) 자기활성수가 자궁세포내 미토콘드리아 활성화에 미치는 영향

앞선 결과들은 모두 미토콘드리아 대사과정 중에 생성되거나 사라지는 물질들이기 때문에, 자기활성화된 세포배양액이 세포내 미토콘드리아 활성화에 영향을 미치는 결과를 Fig. 24에 나타내었다. 그 결과, Fig. 24A에서와 같이 과산화수소를 24시간 동안 처리하였을 때 미토콘드리아 활성화가 감소하였고, 이와같이 처리된 세포에 자기활성된 배양액을 첨가한 결과 미토콘드리아의 활성화가 증가하는 것을 확인하였다. Fig. 24B에서와 같이 세포의 흡광도를 분석하였을 때, DNA당 rhodamine123 발현되는 형광값이 증가하였으며 이러한 결과는 미토콘드리아 온전성이 증가하는 경향을 나타내었다고 판단된다. 유속세포분석기를 이용한 dot plot의 결과 역시 자기활성화된 세포배양액을 이용한 세포에서 미토콘드리아의 처리구에서 대조구에 비하여 미토콘드리아의 활성화가 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 따라서 자기활성화 된 배양액이 미토콘드리아의 활성을 증가시킨다고 판단된다.

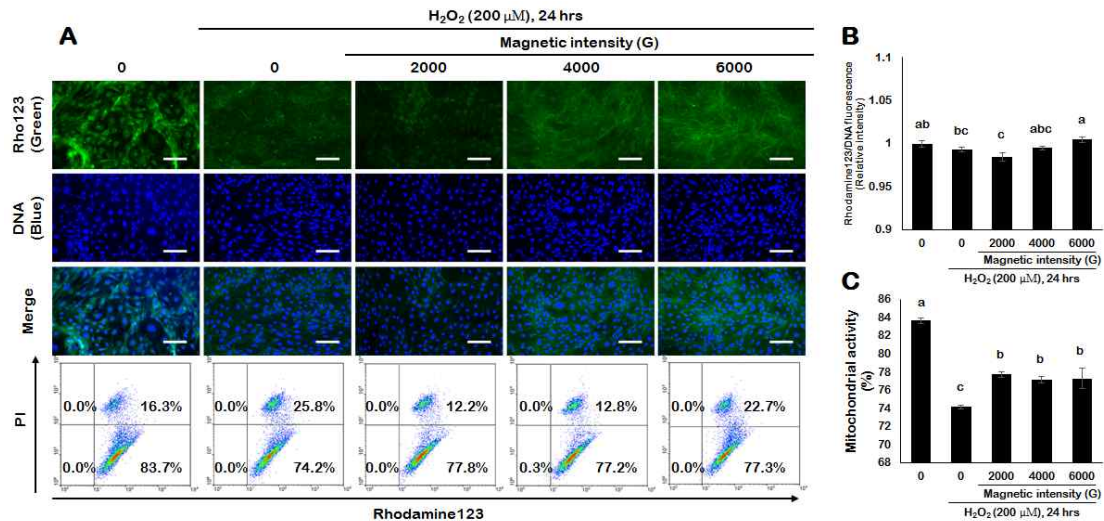


Fig. 24. Identification of mitochondrial activity in porcine endometrial cells treated with magnetized culture medium. A: Confocal laser scanning microscopic image and histogram using flow cytometry, green is mitochondria and blue is DNA, B: Spectrophotometry, C: Flow cytometry analysis ($p < 0.05$, Scale bar = 50 μm).

(7) 자기활성수가 자궁세포 원형질막 보존에 미치는 영향

마지막으로 세포의 생존율과 관련된 원형질막 온전성검사를 분석한 결과, 2000 및 6000G에서 형광값이 증가하였으며, dot plot의 결과 원형질막이 보존된 세포의 비율이 증가하였다. DNA 형광값에 따라 발견되는 SYBR14의 형광값은 Fig. 25C와 같은 결과가 나타났으며, 유숙세포 분석한 결과 자기활성된 배양액을 이용하여 배양한 세포들의 원형질막 보존율이 대조구에 비하여 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

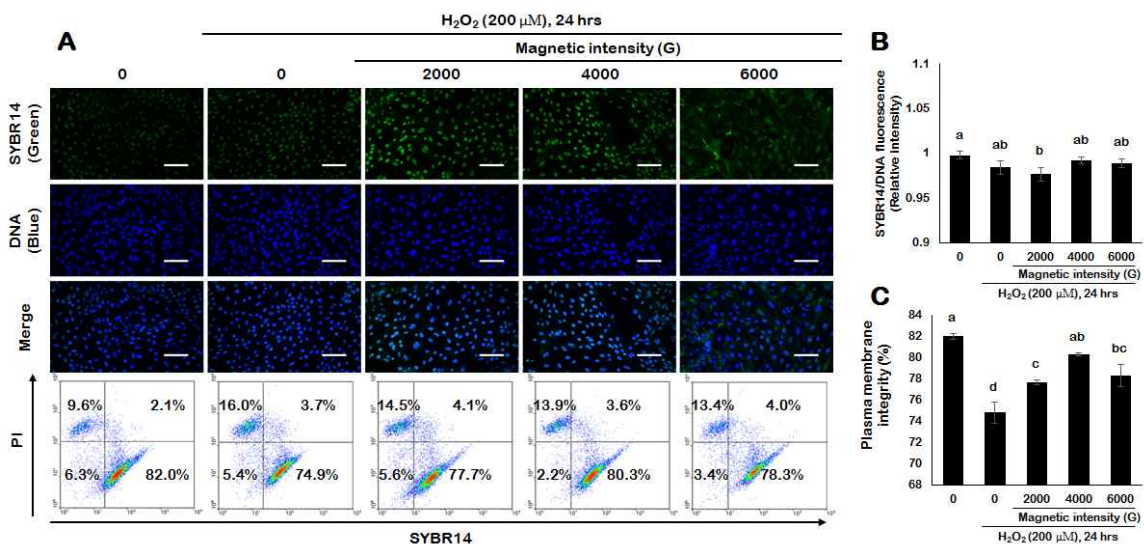


Fig. 25. Identification of plasma membrane integrity in porcine endometrial cells treated with magnetized culture medium. A: Confocal laser scanning microscopic image and histogram using flow cytometry, green is intact plasma membrane cells and blue is DNA, B: Spectrophotometry, C: Flow cytometry analysis ($p < 0.05$, Scale bar = 50 μm).

(8) 자궁상피세포 연구결과를 기초로 한 자기활성수와 자궁환경의 상호관계 규명

지금까지의 결과를 요약하자면, 산화스트레스가 유도된 자궁내막상피세포에서의 자기활성된 배양액은 세포내 활성산소의 감소, 항산화효소의 증가, 미토콘드리아 활성 및 원형질막 보존에 효과를 나타내었다. 전체적으로 요약하자면 활성산소에 노출된 자궁내막상피세포가 항산화능력을 지닌 자기활성수에 의해 자궁환경을 개선시켰다고 판단된다.

이와같은 결과를 종합하였을 때 세포수준에서 자기활성수는 항산화 효과를 가지고 있으며, 화학적, 물리적 충격을 억제하였다. 이러한 결과들을 바탕으로 모돈에게 직접 급여하였을 때 자기활성수를 이용하여 산화 손상으로부터 자궁을 보호하는 효과를 기대할 수 있으며 이는 자궁환경을 개선시킴으로써 착상, 임신 및 분만으로 이어지는 번식효율을 높일 수 있는 효과를 기대할 수 있다.

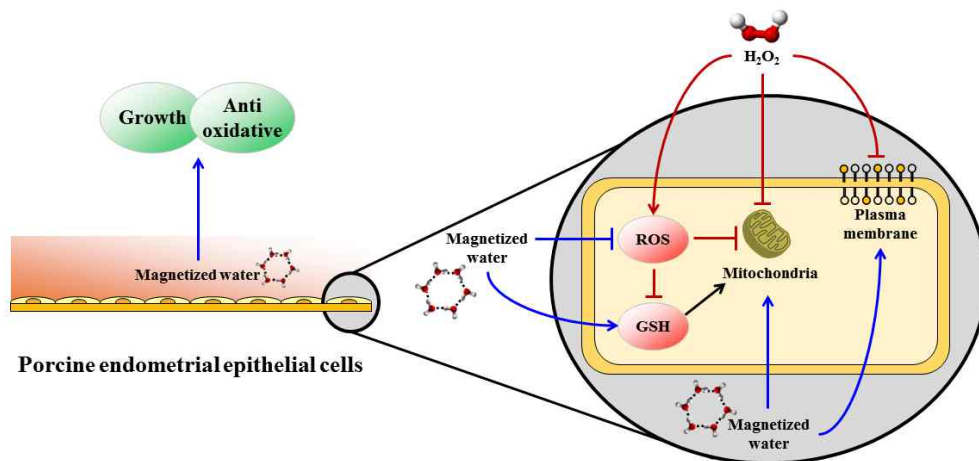


Fig. 26. Effect of magnetized culture medium on growth, antioxidative influence in porcine endometrial epithelial cells (PEECs) and intracellular H_2O_2 , glutathione, mitochondria activity and plasma membrane in H_2O_2 -induced PEECs

제 2 절 돼지의 임신기간 동안자기활성수 급여에 의한 번식능력 및 포유능력 규명

1. 돈사급수시설에 자기활성장치 설치

가. 이론적, 실험적 접근 방법

- (1) 실험이 실시되는 위탁농가의 급수관을 파악하여 자기활성장치 설치 방법을 결정, 위탁농가의 모돈 회전 시스템을 파악, 임신사에서 분만사로 이동된 돼지들은 7일 후 분만을 하며, 25일 동안 포유 후 이유, 약 5일 후 재발정이 오기 때문에 인공수정 전에만 자기활성수를 급여하기 위해 분만사에 자기활성장치를 설치

- (2) 분만시기가 다가온 돼지들이 임신사에서 무작위로 분만사로 입식이 되기 때문에 자기활성수를 선택적으로 급여될 수 있도록 자기활성장치를 개조, 임신사에는 인공수정 후 약 107일 동안 임신기간을 보내기 때문에 임신사의 2개의 동 중에서 1개의 방에만 자기활성수를 급여할 수 있게 자기활성장치를 설치
- (3) 임신사의 경우 한 개의 배관에서 75마리 이상의 돼지에게 물을 급여하는 방식을 이용하고 있었기 때문에 중앙 물탱크에서 배관이 시작되는 사이에 자기활성장치를 설치하여 여러 마리의 돼지가 자기활성수를 급여할 수 있도록 설계

나. 재료 및 방법

- (1) 임신사에는 20mm PVC 배관이 설치되어있기 때문에 자기활성장치 양쪽에 장착되어 있는 15mm관을 확장시켜 이어 줄 수 있는 결합 배관을 이용, 분만사에는 15mm 엑셀 배관이 설치되어 있기 때문에 자기활성장치 양쪽에 장착되어 있는 15mm관을 그대로 이용(Fig. 31)

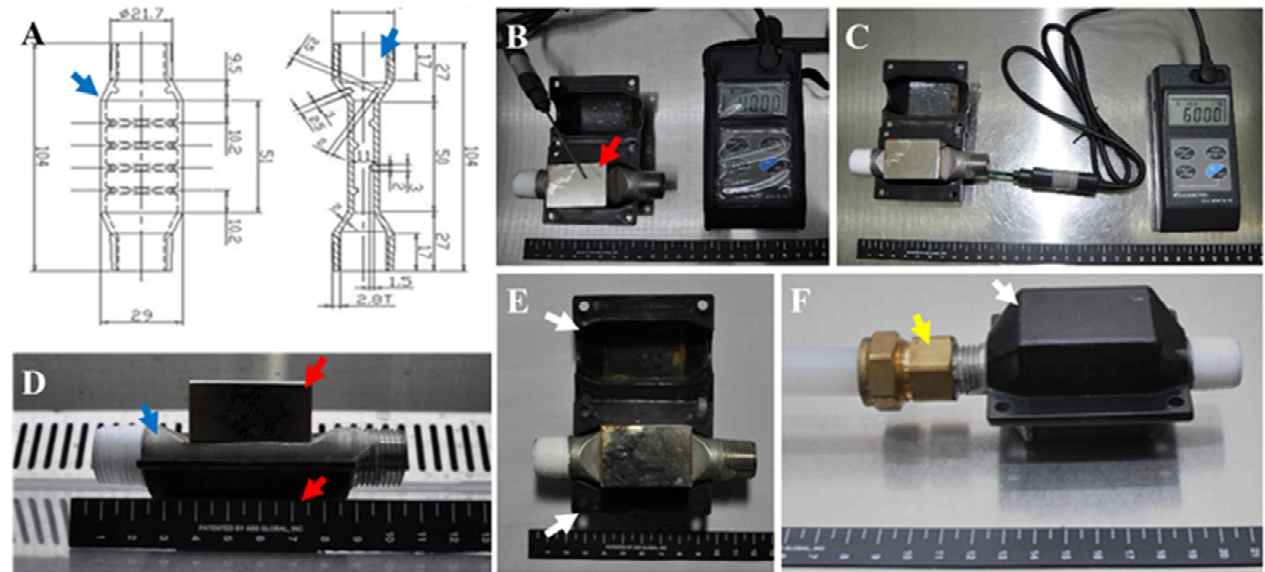


Fig. 27. Image of magnetic equipment for production of magnetized water, A, magnetic equipment of assembly drawing using AutoCAD system, B, produced magnetic equipment, C, magnetic field of neodymium, D, magnetic field between magnetic gap, E, plastic cap for protect from external materials, F, 15mm excel coupling for installation with water pipes, blue arrows: connection device, red arrows: 4000 G neodymium magnets, white arrows: plastic caps

- (2) 실험이 실시된 위탁농가는 150마리의 임신돈이 사육되는 2개의 ‘임신사’와 12마리씩 분만돈이 사육되는 ‘분만사’는 총 9개의 방으로 구성, 인공수정 전 자기활성수 급여가 모돈의 산자능력에 미치는 영향을 분석하기 위하여 실험 3개월 동안 12마리가 있는 분만사의 1개의 방에만 자기활성장치를 설치하여 인공수정 전 30일 동안 자기활성수를 급여
- (3) 지속적인 자기활성수의 급여가 모돈의 산자능력에 미치는 영향에 대한 실험을 위해 2

개의 벨브, 15mm 엑셀관, 연결 파이프 및 자기활성장치를 이용하여 선택적으로 자기활성수를 급여 될 수 있는 장치를 제조하였으며, 9개의 방마다 2개씩 설치하여 총 18개의 자기활성장치를 설치

- (4) 입구에 설치된 물통에서부터 나오는 배관은 20mm PVC 배관이었기 때문에 실톱을 이용하여 물 배관을 자른 후 확장 배관이 장착된 자기활성장치를 자른 배관사이에 이어주었으며, 물이 새지 않도록 테이프를 감아준 후 본드로 결합
- (5) 2개의 돈사중 1개의 돈사에만 자기활성장치를 설치하여 150마리의 임신돈이 실험에 이용되었으며, 실험시작 114일 후 분만되는 모돈의 데이터를 이용, 임신사에서 분만사로 이동하는 돼지는 매주 12마리 정도 되기 때문에 실험 시작 114일 후 1주일마다 실험결과를 도출

다. 연구결과

(1) 돈사 급수시설에 자기활성장치 설치

양돈농가에 자기활성수를 지속적으로 급여하기 위해서는 해당농가의 모든 회전 시스템을 파악 해야 한다. 본 연구에서는 인공수정 전 급여, 임신 전기간 동안 급여 및 포유기간 동안 급여를 위하여 해당 연구가 이루어지는 위탁농가의 모든 회전 시스템을 파악하였다. 처음 3개월 동안에는 인공수정 전 급여에 대한 실험을 진행하였으며, 그 이후 3개월 동안에는 임신 전기간 동안 급여하는 실험을 진행하였다. Fig. 28은 연구가 이루어지는 위탁농가의 모든 회전 시스템을 나타낸 결과로써 약 100-200마리의 임신돈을 사육할 수 있는 임신사에는 인공수정 후 약 107일 동안 임신기간을 보내게 된다. 이 후 분만 7일 전에는 분만을 준비하기 위하여 임신돈은 분만사로 이동한다. 분만사로 이동한 뒤 7일 후에 분만이 이루어지고 25일 동안 자돈에게 젖을 먹이는 포유기의 시간을 분만사에서 갖게 된다. 자돈이 젖을 먹는 동안에는 호르몬의 영향으로 인해 모돈의 발정이 오지 않으며, 자돈의 이유 약 5일 후 재발정이 오게 된다. 재발정이 오게 되면 다시 인공수정을 실시하고 이 시기에 모돈은 다시 분만사에서 임신사로 이동시키는 과정을 거쳐 실험준비를 하였다.

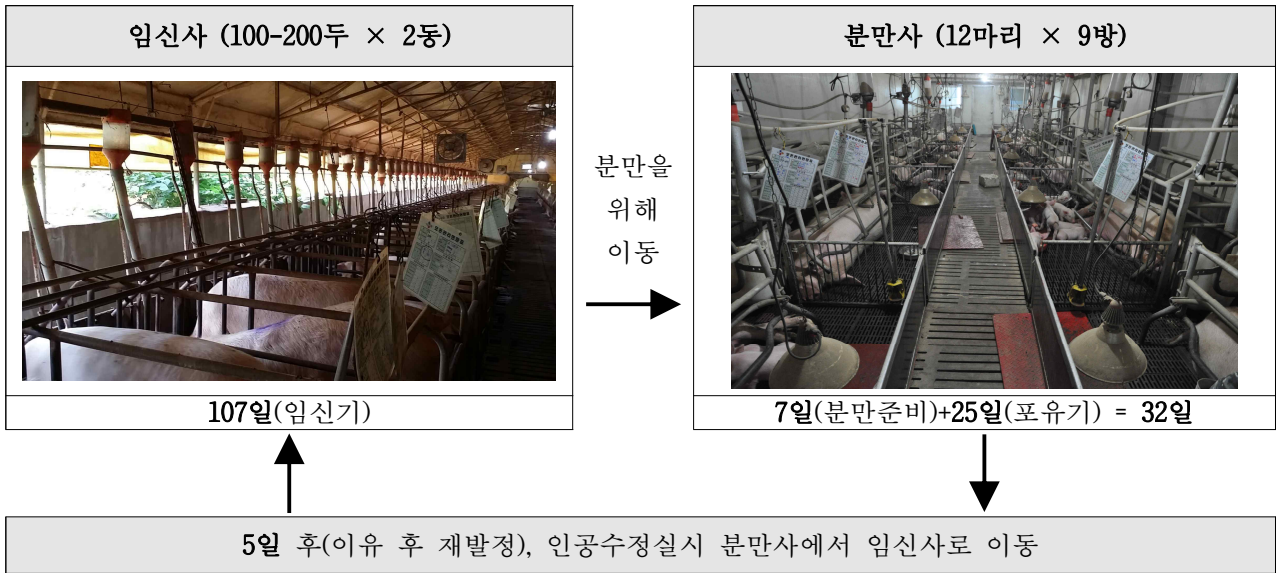


Fig. 28. System of sow rotation for pregnancy and parturition in experimental farm

(2) 임신 전 자기활성수 급여를 위한 자기활성장치 설치

임신돈은 인공수정 32일전까지는 분만사에서 사육된다(Fig. 29). 인공수정 전 자기활성수의 급여가 임신돈의 수태율 및 산자생산능력에 미치는 영향을 평가하기 위해서 분만사에 자기활성 장치를 설치하였다. 실험이 실시된 위탁 농가는 분만사 한 돈방에 12마리의 돼지가 사육되고 있었으며 중심 배관에서 각 돼지에게 물이 급여되는 방식을 사용하고 있었다(Fig. 29A, B). 분만사의 돼지에게 선택적으로 자기활성수를 급여하기 위하여 총 9개의 방으로 나뉘어져 있는 분만사에 1개의 방에만 자기활성장치를 설치하여 32일 동안 모돈에게 자기활성수를 급여할 수 있도록 하였다(Fig. 30).

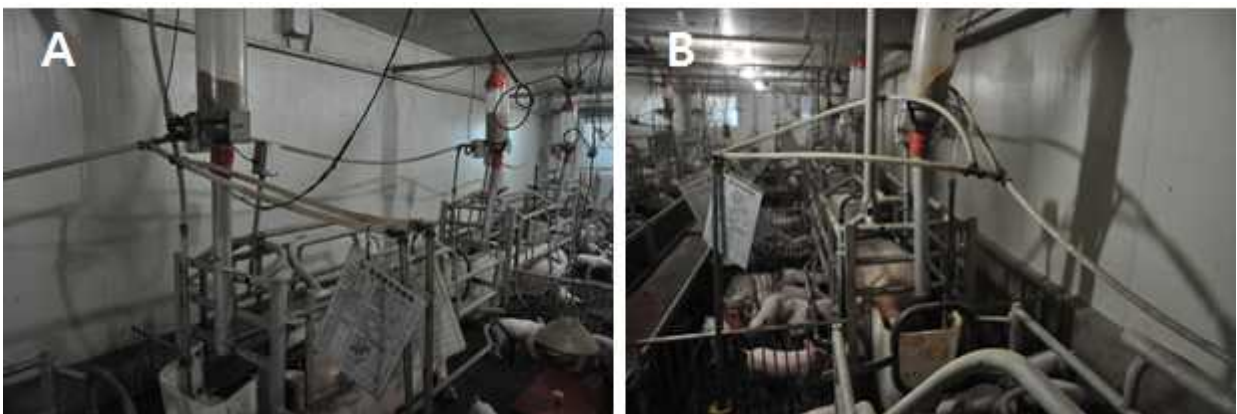


Fig. 29. Water system of parturition room in experimental farm, A: left space, B: right space



Fig. 30. Installation of magnetic equipment in parturition room of experimental farm, A: parturition room, B, C, D, E: installation of magnetic equipments

(3) 임신 전기간 동안 자기활성수 급여를 위한 자기활성장치 설치

실험이 실시된 위탁농가에서는 임신돈이 107일간 임신사에서 사육되며 32일 동안에는 분만사에서 사육된다(Fig. 31). 또한 임신사의 경우 입구에 설치된 물통에서부터 모든 임신돈이 물을 급여할 수 있도록 2개로 나뉘는 배관으로 구성되어 있었다. 따라서 본 연구에서는 2개의 임신사 중 1개의 임신사에만 자기활성장치를 설치하여 모든 임신돈에게 자기활성수를 급여하였다(Fig. 31A). 이 후 분만이 예정된 임신돈들은 빈 방에 선택적으로 입식이 되기 때문에 분만사 9개의 방에 자기활성수를 선택적으로 급여할 수 있는 장치를 제조(Fig. 31B)하여 설치(Fig. 31C)하였다.



Fig. 31. Installation of magnetic equipment in pregnancy room (A), control valve (B) and parturition room (C) of experimental farm

2. 임신기간 중 자기활성수의 급여가 돼지의 번식능력 및 혈액성상에 미치는 영향

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 인공수정 전 자기활성수 급여가 임신돈 번식능력에 미치는 영향을 알아보기 위해 인공수정 전 30일 동안 자기활성수를 급여할 수 있도록 자기활성장치를 급수관에 설치
- (2) 모돈에 있어 자기활성수의 안정성을 검증하는 동시에 인공수정 전에만 자기활성수를 급여함으로써 돼지가 임신 준비 능력을 향상 시킬 수 있는 항목을 분석
- (3) 분만 후 혈액능력, 산자능력 및 이유 자돈의 능력을 분석하여 임신 준비에 있어 자기활성수의 능력을 평가, 임신은 태아가 모체에서 자라는 시기이기 때문에 지속적인 자기활성수 급여를 통해 임신돈과 태아에 미치는 영향을 평가
- (4) 수태율 및 산자생산능력과 같은 임신돈의 번식능력은 품종과 산차수에 따라 변화하기 때문에 품종에 따른 번식능력을 평가

나. 재료 및 방법

- (1) 본 연구에 사용된 공시동물의 사양관리는 강원대학교 실험동물 복지 및 관리 기준 (KIACUC-09-0139)에 의거하여 실시하였다. 실험동물은 시험개시부터 분만예정 7일 전까지 $21.0 \pm 4.0^\circ\text{C}$ 의 온도의 조건에서 개체별로 사육되었으며, 분만 예정 7일 전부터는 분만 준비를 위하여 자동으로 온도가 조절되는 분만사로 이동되어 사육되었다. 실험사료의 영양소 함량은 NRC(1998)의 영양소 요구수준의 기준으로 급여를 하여 옥수수과 대두박 위주의 임신돈 기초사료를 사용하였으며, 사료의 구성과 함량은 Table 5에 나타내었다. 임신 전체 기간에는 2.5kg/일의 사료를 하루에 2회 나누어 급여 하였으며, 분만예정 1주 전부터는 난산을 막기 방지하기 위하여 일당 1kg의 사료를 급여하도록 하였다. 실험 1에서는 예상 인공수정 날짜를 기준으로 30일 전부터 0G 처리구 임신돈 35마리에는 수돗물을 6000G 처리구 돼지에게는 자기활성수를 급여한 후 인공수정 실시 후 분만 까지는 모든 처리구의 임신돈에게 일반 물을 급여하였다. 모든 실험의 물은 자유 채식하였다.
- (3) 같은 날짜의 인공수정을 위하여 호르몬을 이용하여 발정동기화 실시 후 개체의 발정 체크, 실험에 사용된 정액은 1×10^7 개/ml 농도의 Duroc 정액 100ml를 12시간 마다 주입하여 인공수정을 실시(Fig. 32)
- (4) 인공수정 21일 후부터 재발정의 유무를 관찰하여 인공수정 성공 유무를 판단, 인공수정 114일 후 분만 시 생산되는 분만자돈과 젖을 떼 이유자돈의 능력을 분석, 분만 후 혈액채취를 하여 혈액치 및 혈액 생화학 검사를 실시
- (5) 양돈 경영관리 프로그램인 '피그플랜'의 data를 바탕으로 실험시작 후 인공수정이 실시된 돼지의 평균 수태 성공률, 평균 산차 및 산자 생산능력을 분석하여 품종에 따른 번식능력을 평가(Fig. 33)

Table 5. Formula, ingredients and chemical composition of the experiment diets

Ingredient	%
Corn	70.86
Soybean meal-45	21.5
Wheatbran	2.00
Molassesane	2.00
Animalfat	1.77
Salt	0.30
Vitamin Mix	0.30
Limestone	0.50
Tricalcium Phosphate	0.67
Total	100.00

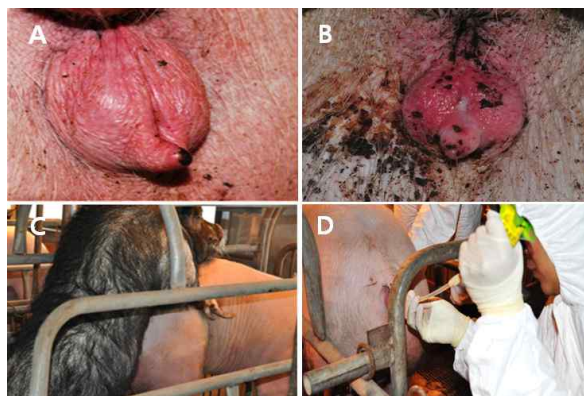


Fig. 32. Detection of estrus cycle and artificial insemination

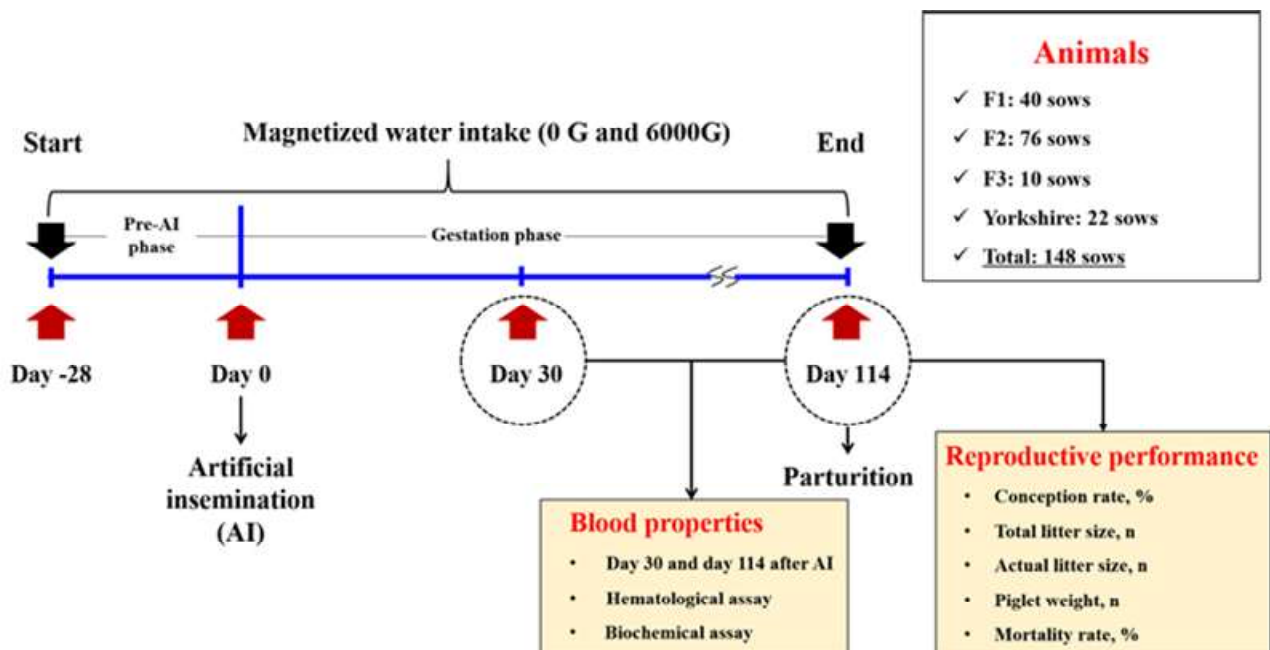


Fig. 33. Experimental designs

(6) 혈액채취는 수의사와 함께 진행되었으며, 혈액채취로 인해 발생하는 스트레스와 유산의 위험 때문에 인공수정 30일 이후 때의 혈액만을 채취, 혈액치의 일부항목과 혈액화학치의 결과값을 분석하여 자기활성수 급여에 따른 임신돈의 면역능력에 대한 상호관계를 규명

다. 연구결과

(1) 인공수정 전 자기활성수 급여가 임신돈 번식능력에 미치는 영향

돼지의 번식 능력은 품종 및 개체에 따라 번식능력이 차이가 발생하기 때문에 본 연구에서는 분만 시 총 한배 새끼 수가 평균 10~15마리인 임신돈을 선발하기 위하여, 양돈생산 경영관리 프로그램(Pigplan, Korea)을 이용하여 실험에 사용된 임신돈의 분만 경험 동안의 평균 분만 횟수, 인공수정 성공률, 총 한배 새끼 수, 실제 한배 새끼 수, 자돈의 생시 체중 및 총 한배 새끼 수에서 실제 한배 새끼 수의 차이를 백분율로 나타낸 자돈의 폐사율의 자료를 실험에 이용하였다. 번식능력에 있어 자기활성수의 안정성을 검증하기 위한 실험에서는 F2품종만을 선발하여 자기활성수를 급여하지 않은 처리구(0G)에서는 30마리와 6000G의 자기장을 통과한 물을 급여한 처리구(6000G)에서는 35마리의 임신돈을 실험에 사용하였으며, 배란능력을 검증하기 위해 평균 분만 경험 횟수가 3~4회이고 평균 총 한배 새끼 수 10~14마리인 개체를 처리구별로 각각 6마리씩 무작위로 선별하여 실험에 이용하였다(Table 6).

Table 6. Breeding grade of experimental animals

Breed	Number of sows (n)	Calving number (n)	Conception rate (%)	Total little size (n)	Actual little size (n)	Piglet weight (kg)	Mortality rate (%)
F2	65	5.2±0.4	98.3±1.8	11.9±0.8	9.4±1.1	1.3±0.05	12.8±1.4

Table 7은 자기활성수를 급여하지 않은 임신돈과 6000G 자기활성수를 급여(이하 6000G 처리구)한 임신돈의 인공수정 성공률을 평가한 것이다. 6000G 처리구에서는 자기활성장치 설치 전보다 인공수정 성공률에서 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 자기활성수를 급여하였을 때 인공수정 성공률이 높아졌으므로 긍정적인 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 또한 해당년도 평가의 착안점으로 제시한 인공수정 실패율을 5% 미만을 달성하였다. 해당 실험에는 개체의 반복 실험이 적었기 때문에 이 후 실시한 임신 모든 기간 동안 자기활성수를 급여하는 실험에서 인공수정 성공률에 대한 결과를 개제하였다.

Table 7. Effect of magnetized water on conception rates in water supplied sows during pre-artificial insemination phase

Tre. (gauss)	No. of sows examined	Success rate of Artificial insemination (%)	
		Pre	Post
0	30	100.00±0.00	100.00±0.00
6000	35	96.67±3.33	100.00±0.00

Pre: Pre-installation of magnetic equipment, Post: post-installation of magnetic equipment, Mean ± SEM

(2) 인공수정 전 자기활성수 급여가 산자능력에 미치는 영향

Table 8은 자기활성수를 급여하지 않은 임신돈과 자기활성수를 급여한 임신돈의 산자수와 자돈의 출생 시 체중을 평가한 것이다. 자기활성수를 급여하지 않은 임신돈은 자기활성장치 설치 후에 한배 새끼수가 감소하였으며, 분만 시 자돈의 체중 또한 감소하였다. 또한 6000G 처리구에서는 급여한 임신돈은 자기활성장치 설치 후에 한배 새끼수가 증가하였지만, 분만 시 자돈의 체중은 감소하였다. 또한 자기활성수를 급여한 처리구에서는 한배 새끼수가 증가하였다.

Table 8. Effect of magnetized water on parturition of total piglet and weight in water supplied sows during pre-artificial insemination phase

Tre. (gauss)	No. of sows examined	Parturition of total little (Pigs)		Parturition of weight (kg)	
		Pre	Post	Pre	Post
0	30	12.11±0.77	11.67±0.33	1.28±0.06	1.08±0.03
6000	35	11.76±0.93	12.50±0.76	1.27±0.06	1.07±0.02

Pre: Pre-installation of magnetic equipment, Post: post-installation of magnetic equipment, Mean ± SEM

(3) 임신기간 동안의 자기활성수의 급여가 모돈의 사양성적에 미치는 영향

총 148마리의 임신돈이 실험에 이용되었으며, 0G 처리구에는 총 74마리, 평균 분만 횟수 3.6±0.3회, 인공수정 성공률 94.7±2.1%, 총 한배 새끼 수 11.7±0.6마리, 실제 한배 새끼수 10.3±0.5마리, 자돈의 생시 체중 1.1±0.1kg 및 자돈의 폐사율 12.2±2.2%의 번식성적을 나타내는 임신돈이 실험에 이용되었다. 또한 6000G 처리구에는 총 74마리, 평균 분만 횟수 3.9±0.4마리, 인공수정 성공률 92.5±4.9%, 총 한배 새끼 수 11.4±0.7마리, 실 한배 새끼 수 10.1±0.5마리, 자돈 생시 체중 1.1±0.1kg 및 자돈의 폐사율이 10.9±2.1%인 번식성적을 나타내는 임신돈이 실험에 이용되었다. 또한 40마리의 F1(Landrace × Yorkshire), 76마리의 F2(Landrace × Yorkshire × Duroc), 10마리의 F3 [(Landrace × Yorkshire × Duroc) × Duroc] 및 22마리의 Yorkshire 품종 총 148마리의 임신돈을 실험에 이용하였다. 실험에 이용된 총 148마리의 임신돈은 평균 3.7±0.3번의 분만 횟수, 93.6±3.1% 인공수정 성공율, 분만 시 11.6±0.9마리의 총

한배 새끼 수, 10.2 ± 0.5 마리의 실제 한배 새끼 수 및 $11.6 \pm 2.0\%$ 자돈의 폐사율의 번식성적을 나타내었다. 실험은 총 27주 동안 실시되었으며, 실험에 이용된 임신돈의 품종별 분만 경험 동안의 평균 번식 성적은 Table 9에 기입하였다.

Table 9. Breeding grade of experimental animals

Breed	Number of sows (n)	Calving number (n)	Conception rate (%)	Total litter size (n)	Actual litter size (n)	Piglet weight (kg)	Mortality rate (%)
F1	40	3.6 ± 0.4	92.8 ± 1.6	12.0 ± 1.7	10.3 ± 0.4	1.3 ± 0.2	13.6 ± 1.4
F2	76	6.3 ± 0.1	94.3 ± 1.5	12.3 ± 0.2	10.6 ± 0.2	1.2 ± 0.0	13.5 ± 1.2
F3	10	1.2 ± 0.2	95.0 ± 5.0	10.0 ± 1.4	9.3 ± 1.0	1.0 ± 0.2	5.3 ± 3.6
Yorkshire	22	3.8 ± 0.6	92.3 ± 4.4	12.1 ± 0.5	10.4 ± 0.5	1.0 ± 0.0	14.0 ± 1.6
Total	148	3.7 ± 0.3	93.6 ± 3.1	11.6 ± 0.9	10.2 ± 0.5	1.1 ± 0.1	11.6 ± 2.0

F1(Landrace × Yorkshire), F2(Landrace × Yorkshire × Duroc), F3(F2 × Duroc), F1+F2+F3+Yorkshire

임신돈의 번식 능력은 품종의 따라 변화가 있다. 또한 같은 품종일지라도 개체 및 사용된 정액 품종에 따라 번식능력이 차이가 난다. 따라서 본 연구에서는 자기활성수 급여 유무에 따른 품종 간 번식능력을 분석하였다. 그 결과 자기활성수 급여 따른 F1(Yorkshire × Landrace), F2(Yorkshire × Landrace × Duroc), F3[(Yorkshire × Landrace × Duroc) × Duroc] 및 Yorkshire 4가지 품종의 번식성적이 다른 것을 확인하였다(Table 10). 이전의 결과와 같이 모든 품종의 임신돈에서 0G 처리구와 6000G의 처리구사이에 수태율의 차이는 없었다. F1 품종의 임신돈의 경우 6000G 처리구에서 총 한배 새끼 수와 실제 한배 새끼 수가 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 자돈의 생시 체중과 폐사율은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 F2 품종의 임신돈은 실 한배 새끼 수가 6000G 처리구에서 유의적으로 증가, 폐사율은 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 하지만 실제 총 한배 새끼 수와 자돈의 생시체중은 유의적인 차이를 보이지 않았다. F3 품종의 임신돈에서는 총 한배 새끼 수 및 실제 한배 새끼 수가 0G 처리구와 비교하여 6000G 처리구에서 유의적으로 증가하였고($p < 0.05$), 자돈의 생시 체중과 폐사율은 유의적인 차이가 없었다. 마지막으로 Yorkshire 품종의 임신돈은 실제 한배 새끼수가 6000G 처리구에서 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$), 총 한배 새끼수, 자돈의 생시 체중 및 폐사율은 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과를 종합한 결과, 총 한배 새끼 수 및 실제 한배 새끼수는 유의적으로 증가하였고, 폐사율 역시 유의적으로 감소한 것을 확인하였지만($p < 0.05$), 자돈의 생시 체중은 유의적인 차이를 나타나지 않았다(Table 10).

Table 10. Effects of magnetized water on conception rate, total litter size, actual litter size, piglet weight and mortality rates during gestation phase in F1, F2, F3 and Yorkshire sows

Items	Magnetic fields (G)		SEM	P-value
	0	6000		
F1				
Conception rate, %	100	100	0	-
Total litter size, n	12.7	13.95*	0.34	0.01
Actual litter size, n	10.9	11.80*	0.23	0.01
Piglet weight, kg	1.04	1.03	0.04	0.87
Mortality rate, %	13.52	14.89	1.82	0.59
F2				
Conception rate, %	100	100	0	-
Total litter size, n	11.84	12.29	0.27	0.25
Actual litter size, n	9.5	10.92a	0.21	<.0001
Piglet weight, kg	1.36	1.09	0.12	0.27
Mortality rate, %	19.09	10.34*	1.63	0.01
F3				
Conception rate, %	100	100	0	-
Total litter size, n	10	11.20*	0.49	0.01
Actual litter size, n	9	11.00*	0.51	0.03
Piglet weight, kg	1.14	1.1	0.06	0.66
Mortality rate, %	9.74	16.59	3.54	0.22
Yorkshire				
Conception rate, %	100	100	0	-
Total litter size, n	12.55	13.55	0.49	0.23
Actual litter size, n	10.27	11.73*	0.4	0.04
Piglet weight, kg	1.08	1.03	0.03	0.19
Mortality rate, %	17.82	13.19	2.64	0.25
All sows				
Conception rate, %	100	100	0	-
Total litter size, n	11.77	12.25*	0.4	0.01
Actual litter size, n	9.92	11.36*	0.34	<.0001
Piglet weight, kg	1.15	1.06	0.06	0.23
Mortality rate, %	15.04	13.75*	2.41	0.01

SEM: standard errors mean, F1 (Landrace×Yorkshire): 40 sows, F2(Landrace×Yorkshire×Duroc): 76 sows, F3 (F2 ×Duroc): 10 sows, Yorkshire: 22 sows, *Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

(4) 임신기간 동안의 자기활성수의 급여가 모돈의 혈액성상에 미치는 영향

Table 11는 자기활성수를 급여한 임신돈과 급여하지 않은 임신돈의 적혈구 혈액치를 평가한 것이다. 자기활성수 급여 30일 이후 6000G의 처리구에서 MCHC의 수치를 제외한 적혈구와 관련된 항목들이 증가하였지만 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 자기활성수 급여 114일 때에는 MCHC의 수치를 제외한 적혈구와 관련된 항목들이 감소하였지만 유의적인 차이를 보이지 않았다.

적혈구 용적률(HCT)은 적혈구 침강과 관련이 있고, 정상 수치 이상의 적혈구(RBC)는 탈수 및 급성 비장수축 등을 일으키며 감소할 경우 빈혈을 유발한다. 일반적으로 적혈구는 체내에 산소와 철의 운반을 하기 때문에 모체와 태아의 물질 교환이 이루어지는 임신기간 중 매우 중요한 역할을 한다. 우리의 연구에서는 자기활성수를 급여하는 동안 임신 30일 때와 분만 직후인 114일 때의 적혈구 및 백혈구와 관련된 수치를 관찰한 결과 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 연구에서는 자기활성 streptozotocin이 유도된 쥐에게 자기활성수를 급여하여 이상적으로 높아진 Hb의 수치를 감소시켰지만 우리의 결과에서는 자기활성수를 장기간 급여한 시기인 실험 30일 때에는 Hb 수치가 증가하는 경향을 보였으나 114일 때에는 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 종합하여 볼 때 자기활성수의 급여는 정상 수치의 범위를 넘어선 Hb의 수치를 감소시킬 수 있었지만 정상적인 Hb 수치에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Table 11. Effects of magnetized water on characteristic of red blood cell levels during gestation in sows

Items	Magnetic fields (G)		SEM	P-value
	0	6000		
Post-30 days				
HCT, %	45.05	52.4	3.23	0.27
RBC, 10 ⁶ cells/ μ L	6.58	6.7	0.27	0.81
Hb, g/dL	13.2	15.15	1.28	0.39
MCV, fL	68.6	78.15	3.03	0.2
MCH, pg	20	22.6	1.1	0.27
MCHC, g/dL	29.25	28.9	0.73	0.82
Post-114 days				
HCT, %	35.7	29.17	2.64	0.28
RBC, 10 ⁶ cells/ μ L	5.87	4.8	0.19	0.27
Hb, g/dL	12.4	10.07	0.77	0.26
MCV, fL	60.85	60.67	3.88	0.54
MCH, pg	21.1	20.93	1.01	0.53
MCHC, g/dL	34.7	34.53	0.56	0.53

SEM: Standard error means, HCT: Hematocrit, RBC: Red blood cell, Hb: Hemoglobin, MCV: Mean corpuscular volume, MCH: Mean corpuscular hemoglobin, MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration

자기활성수를 급여한 임신돈과 급여하지 않은 임신돈의 백혈구와 혈소판의 혈액치를 Table 12에 나타내었다. 자기활성수 급여 30일 이후에는 6000G 처리구에서 0G 처리구에 비해 NE 및 MO의 비율에서는 높은 경향을 보였다. 또한 MO수치에서 6000G 처리구가 0G 처리구에 비해 뚜렷하게 증가했음을 확인하였다. 혈소판 수치의 경우 6000G 처리구에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 증가하는 경향을 보였다. 또한 자기활성장치를 급여한 114일인 분만 직후에는 0G 처리구에 비하여 6000G 처리구에서 WBC, NE, LY, MO 및 BA 비율이 감소하였지만 처리구 간 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, PLT 수치 역시 유의적인 차이는 없었다.

일반적으로 백혈구 중 호중성구(NE)는 식균작용, 호산구(EO)는 독성작용의 중화, 호염기구(BA)는 헤파린 운반 및 peroxidase를 저장하는 역할을 하며(Prasad, 1980; Volk 등, 2004), 림프구(LY)는 항체형성, 및 T, B-Cell의 분화, 단핵구(MO)는 왕성한 식균작용에 관여하기 때문에 동물의 면역에 있어 중요한 역할을 한다. 또한 임신 기간 중 모체의 면역 상태는 태아의 상태와 매우 밀접한 관계가 있기 때문에 임신 기간 중 돼지의 백혈구 수치는 매우 중요하다. 인위적으로 쥐의 LY DNA를 손상시켜 자기활성수를 급여한 연구에서는 손상된 LY DNA를 유의적으로 감소시켰다는 보고가 있다. 우리의 결과에서도 정상 범위를 벗어나지 않는 수준에서 전체 백혈구 중 LY의 비율이 실험 30일 때와 114일 때에 6000G 처리구에서 감소하는 경향을 보였다. 이는 항체형성 및 면역세포의 분화와 관련된 감소는 체내의 면역반응이 적게 일어난다고 판단된다. 따라서 자기활성수의 급여는 임신돈의 혈관생성을 자극하고 상처를 치유하며, 림프구에 항원을 제공하는 백혈구에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 확인되었지만 이에 대한 자세한 연구는 필요하다고 생각된다

Table 12. Effects of magnetized water on properties of white blood cells and platelet levels during gestation in sows

Items	Magnetic fields (G)		SEM	P-value
	0	6000		
Post-30days				
WBC, 10 ³ cells/ μ L	12	10.29	1.08	0.39
NE, %	44.1	49.69	5.08	0.56
LY, %	48.03	43.65	4.7	0.62
MO, %	2.44	4.85	0.36	0.05
EO, %	5.13	1.55	0.79	0.09
BA, %	0.31	0.26	0.08	0.76
PLT, 10 ³ / μ L	168.5	177.5	10	0.63
Post-114 days				
WBC, 10 ³ cells/ μ L	15.28	13.68	3.03	0.16
NE, %	51.95	43.03	9.92	0.85
LY, %	42.1	32.2	10.55	0.2
MO, %	5.85	2.6	5.95	0.22
EO, %	1.85	4.7	12.29	0.25
BA, %	0.85	0.4	1.28	0.32
PLT, 10 ³ / μ L	155.5	144	102.24	0.9

SEM: Standard error means, WBC: White blood cell, NE: Neutrophil, LY: Lymphocyte, MO: Monocyte, EO: Eosinophil, BA: Basophil, PLT: Platelet

Table 13은 자기활성수를 급여한 임신돈과 급여하지 않은 임신돈의 혈액 화학치를 평가한 것이다. 자기활성수 급여 30일 이후에는 LDL, TG, TP, GOT, GPT 및 Ca²⁺의 수치가 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 급여 114일 후에는 LDL, GLU가 6000G 처리구에서 감소하였으나, 급여 30일과 마찬가지로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

콜레스테롤의 종류에는 저밀도 콜레스테롤(LDL) 및 고밀도 콜레스테롤(HDL) 등 여러 가지가 있으며 현재 보고된 콜레스테롤 중에서 HDL은 콜레스테롤 역수송, 항염증 그리고 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 하지만 실험 30일 때 혈액에서의 TG(p=0.16), GPT(p=0.14) 및 Ca²⁺(p=0.11)항목이 다른 혈액 화학수치에 비해 자기활성수와 상관관계가 높았지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 쥐에게 자기활성수를 급여하였을 때 TC, TG, HDL-C 및 LDL-C의 수치에는 유의적인 차이가 없었다는 것과 일치하는 결과이다. 하지만 포유동물에서 자기활성수 급여에 따른 지질산화에 관여하는 GOP와 혈액응고 역할을 하는 혈액 내 Ca²⁺에 대한 연구는 이루어지지 않았기 때문에 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 생각한다. 실험 114일 때에는 GLU(p=0.12) 항목이 감소하였고 다른 항목에 비하여 상관관계가 높았다. 이러한 결과는 쥐에게 자기활성수를 총 8주 동안 급여하였을 때, 급여 3주 후부터 혈액 내 GLU수치가 유의적으로 감소한다는 결과 비교해 보았을 때 임신 중 자기활성수의 급여는 분만 시기에 GLU를 감소시킨다고 판단된다.

Table 13. Effects of magnetized water on glucose, total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, high density lipoprotein cholesterol and triglyceride in sows

Item	Magnetic fields (G)		SEM	P-value
	0	6000		
Post-30 days				
LDL, mg/dL	20.3	16.5	4.3	0.67
HDL, mg/dL	24.1	22.5	3.2	0.81
CHOL, mg/dL	33.7	34.2	6.9	0.97
GLU, mg/dL	55	61.5	8.25	0.63
TG, mg/dL	42.5	19	5.75	0.16
TP, mg/dL	7.6	7.45	0.58	0.89
GOT, IU/L	16.5	15	4.25	0.88
GPT, IU/L	27.5	15.5	3.5	0.15
Ca ²⁺ , mg/dL	12.05	11.25	0.2	0.11
Post-114 days				
LDL, mg/dl	34.8	33.33	5.69	0.87
HDL, mg/dl	44.58	47.6	6.09	0.75
CHO, mg/dl	89.13	92.48	15.83	0.88
GLU, mg/dl	78.86	69.3	3.47	0.12
TG, mg/dl	24.72	28.26	2.14	0.32
TP, mg/dl	7.58	7.43	0.24	0.68
GOT, IU/L	31.05	43.79	16.27	0.62
GPT, IU/L	33.59	32.36	5.29	0.87
Ca ²⁺ , mg/dl	10.42	10.76	0.19	0.28

SEM: Standard error means, LDL: Low density lipoprotein, HDL: High density lipoprotein, CHOL: Cholesterol, GLU: Glucose, TG: Triglycerides, TP: Total protein, GOT: Glutamyl coxaloacetic transaminase, GPT: Glutamyl pyruvic transaminase, Ca²⁺: Calcium ion

3. 자기활성수의 급여가 모돈의 포유 능력에 미치는 영향

가. 이론적, 실험적 접근방법

- (1) 분만 직후 모돈의 초유에는 자돈의 면역력 능력을 향상시켜주는 물질들이 많이 함유, 원활한 젖분비를 위해서는 충분한 음수를 공급(Fig. 34)

< Function of colostrum >

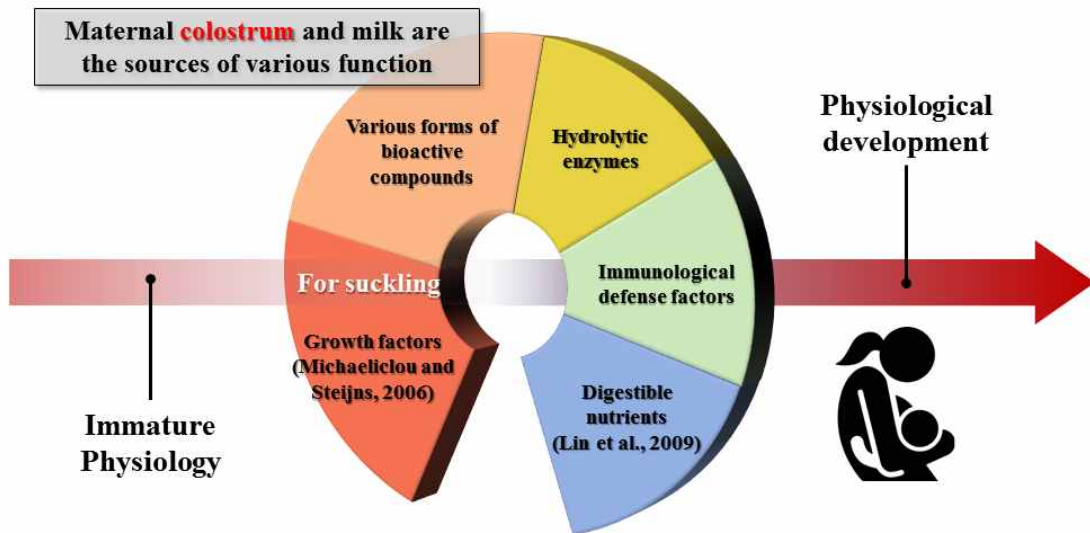


Fig. 34. Function of maternal colostrum

- (2) 임신사부터 자기활성수를 급여한 돼지를 이용하여 자기활성수가 모돈의 포유능력에 미치는 영향을 분석, 초유에는 면역물질과 관련된 단백질들이 풍부하게 함유되어 있기 때문에 이차원 전기영동을 이용한 초유 단백질 분석을 실시
- (3) 양돈 경영 관리 프로그램인 ‘피그플랜’을 이용하여 품종, 산차수 및 이유자돈의 수와 무게와 초유 단백질 패턴 패턴과의 상호관계를 규명

나. 재료 및 방법

- (1) 분만이 예정된 돼지는 임신사에서 분만사 빈방에 무작위로 입식되기 때문에 자기활성수를 선택적으로 급여할 수 있는 장치를 분만사에 설치하여 자기활성수 급여 유무를 벨브로 조절
- (2) 자기활성수의 급여가 모돈의 포유능력, 자돈의 이유두수 및 이유체중에 미치는 영향을 알아보기 위하여 임신기간동안 지속적으로 자기활성수를 급여한 돼지를 실험에 이용 (Table 14).

Table 14. Reproductive performance of experimental animals

Breed	Number of sows (n)	Parturition number (n)	Total litter size (n)	Piglet weight (kg)	No. of weaning pig (n)	Weaning pig weight (kg)
F1	35	3.9±0.4	11.7±0.4	1.1±0.1	8.0±0.4	5.6±0.3
F2	101	6.5±0.1	12.0±0.2	1.2±0.1	10.0±0.1	7.1±0.1
F3	9	1.0±0.0	9.7±1.2	1.0±0.1	8.8±0.1	5.6±0.7
Yorkshire	32	3.7±0.3	11.8±0.4	1.1±0.1	9.9±0.1	6.6±0.1
Total	177	4.3±0.2	11.3±0.6	10.2±0.5	9.2±0.4	6.2±0.3

F1(Landrace × Yorkshire), F2(Landrace × Yorkshire × Duroc), F3(F2 × Duroc), F1+F2+F3+Yorkshire

- (3) 분만이 시작된 후 4시간 내에 초유를 채취하여 -80℃ 하여 단백질 분석에 이용, 매주 4-6두의 자기활성수를 급여한 모돈의 초유를 수집하여 2차원 전기영동 실시(Fig. 35)
- (4) 피크플랜 프로그램을 이용하여 초유가 수집된 개체의 번식능력의 평균값을 계산, 자기활성수 급여 전과 후, 자기활성수 급여 유무에 따른 이유자돈의 능력을 분석(Fig. 36)

1. Collection of colostrum

- Within 4 hours after parturition, only F2 breed (n=8)
- -80 °C before experiment

2. Two-dimensional electrophoresis (2-DE)



3. Weaning pigs performance

- Weaning pig number, n, weaning pig weight, kg
- Missed piglet, n, enhanced piglet weight, kg

4. Statistical analysis

- SAS 9.2, GLM

Fig. 35. Analysis of lactation ability using 2-DE and weaning pigs performance

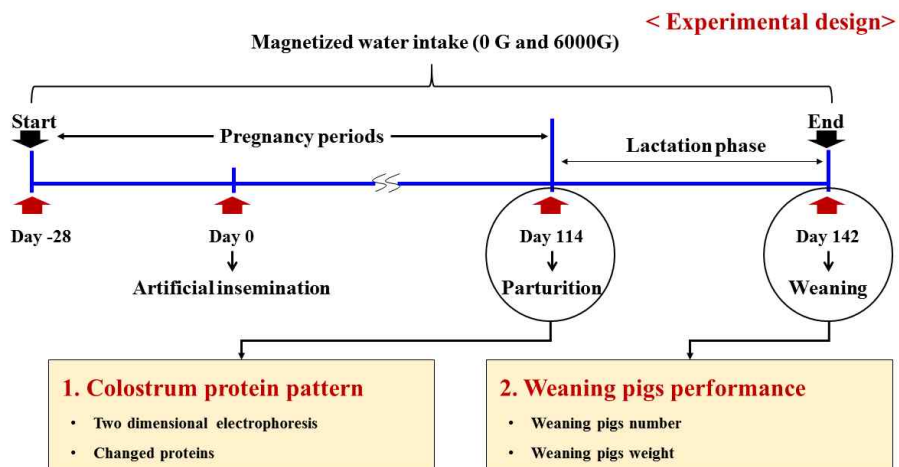


Fig. 36. Experimental designs

다. 연구결과

(1) 임신 중 자기활성수의 급여가 돼지의 초유 단백질 패턴에 미치는 영향

임신기간 동안 자기활성수의 급여는 모든 번식성적을 증가시켰다. 따라서 본 연구에서는 포유기간 중 자기활성수의 지속적인 급여가 모든 초유 단백질 변화와 이유 자돈의 성장에 미치는 영향에 대하여 실험을 실시하였다. 초유는 분만 후 4시간 이내에 수집하여 이차원 전기영동을 실시하여 단백질 변화를 분석하였다. 6000 G 처리구에서 8개의 초유 단백질이 증가한 것을 확인하였다(Fig. 37).

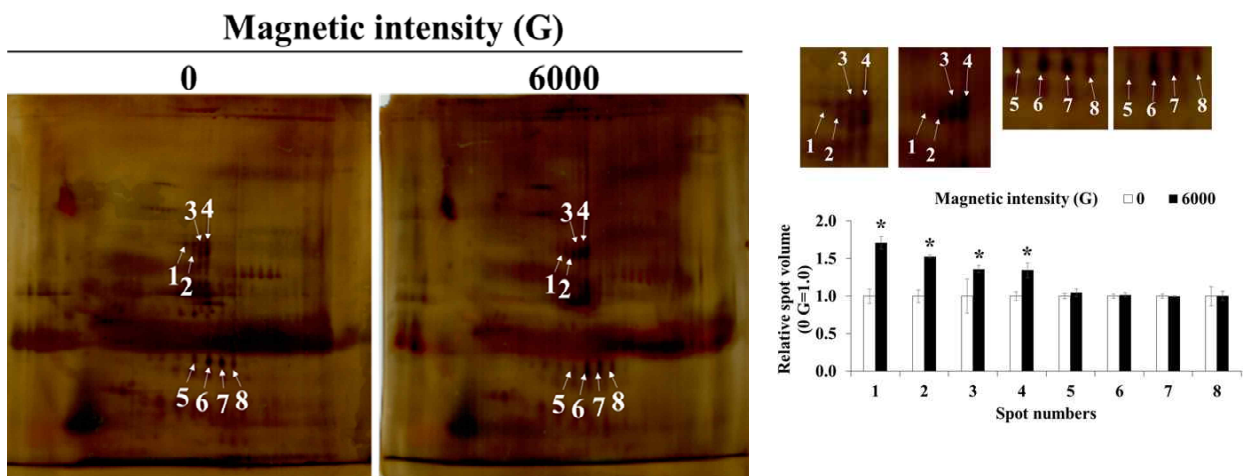


Fig. 37. Distribution of differentially expressed protein spots in 2-dimensional gels of colostrum from mammary glands of magnetized water intake in lactating sows

따라서 포유기간 동안의 자기활성수의 급여는 모든 포유능력을 향상시켰다고 판단된다. Wu 등 (2001)에 따르면 돼지 유두의 위치에 따라 초유 단백질 성분함량이 다르다고 보고하였다. 앞쪽에 위치한 유두에서 분비되는 초유는 주로 유선세포에서 분비되는 단백질을 많이 함유하고 있으며, 체세포에서 분비되는 단백질은 적게 함유하고 있다고 보고하였으며, immunoglobulin fraction, lactadherin 및 lactoferrin과 같은 단백질들이 여기에 속한다. 본 연구결과와 Wu et al. (2001)의 결과를 비교하여 단백질 spot의 위치를 비교해 보았을 때, 1-4번 단백질 spot은 주로 immunoglobulin fraction 단백질이었으며, 5-8번 단백질 spot들은 lactadherin과 lactoferrin 단백질인 것을 확인하였다. 따라서 임신 중 자기활성수의 급여는 다음과 같은 초유 내 단백질들을 증가시켰다고 판단된다.

(2) 포유기간 중 자기활성수의 급여가 이유자돈의 성장능력에 미치는 영향

포유기간 동안 자기활성수의 급여가 이유자돈의 성장능력을 평가한 결과 6000G 처리구에서 이유 시 자돈의 수가 9.82마리로 대조구에 비해 증가하였으며, 이유 시 자돈의 체중도 향상되었다(Table 15). 또한 분만 후 이유시까지 손실된 자돈의 수가 평균 0.24마리가 감소하였으며,

증가된 체중도 증가하였다. 이러한 결과는 자기활성수의 급여가 이유 자돈의 사양성적을 향상 시킨것이라 판단된다.

Table 15. Effect of magnetized water on weaning piglet performance in sows

Item	Magnetic fields (G)		SEM	P-value
	0	6000		
Weaning pig number, %	9.23	9.82	0.34	0.46
Weaning pig weight, kg	6.17	6.65	0.21	0.31
Missed piglet, n	3.69	3.45	0.49	0.08
Enhanced piglet weight, kg	5.2	5.61	0.19	0.58

SEM: Standard error means, Missed piglet: total litter size - weaning piglet size, Enhanced piglet weight: Weaning pig weight - piglet weight

4. 연구결과를 기초로 한 자기활성수와 돼지 번식능력 및 포유능력의 상호관계 규명

1차년도 연구결과를 바탕으로 자기활성화 된 희석액은 정액의 성상능력의 향상, 항산화 능력의 향상 및 수정률이 향상되는 것을 확인하였고, 세포배양액은 자궁내막 상피세포에 좋은 영향을 미쳤다고 판단되며, 이러한 결과는 자기활성수가 돼지 자궁 내 산화스트레스를 감소시키는 기능을 갖고 있다고 판단, 따라서 자기활성수는 돼지의 자궁 내 환경을 개선시켜 번식성적에 좋은 영향을 미칠것이라 판단된다. 또한 이유 자돈의 능력도 향상되었기 때문에, 포유기간 동안 모돈에게 급여하는 자기활성수는 이로인 초유단백질을 더 많이 생산하게 하며, 결론적으로 포유능력을 증진시킬수 있었다고 판단된다(Fig 38).

본 연구의 자기활성장치는 양돈농가에서 사용하는 기존 음수배관에 설치가 간편하며, 지속적으로 활용 가능하기 때문에, 자기활성수를 임신돈에게 장기간 급여하여 수태율 및 임신돈의 자돈 생산을 향상시킬 수 있다고 판단된다. 이러한 결과는 양돈농가의 생산 효율 지표인 marketed-pigs per sow per year(MSY)을 증가시켜 농장의 경제적 이익을 증진시킬 것이다.

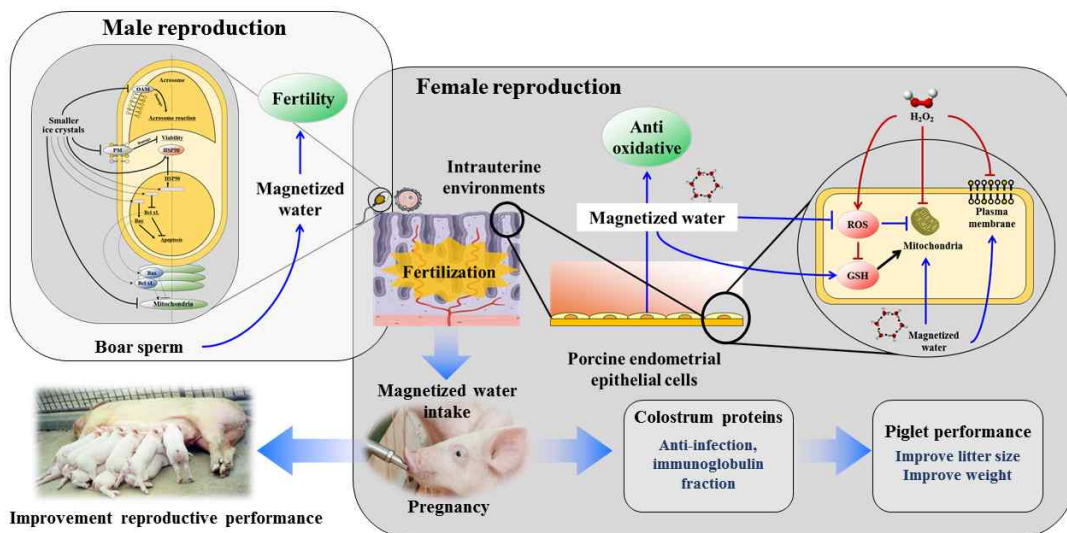


Fig. 38. Application of magnetized water system on female and male reproductive biotechnology in pigs

제 3 절 돼지의 성장 및 면역능력의 평가에 의한 자기활성수 시스템 개발

1. 돈사급수시설에 자기활성장치 설치

가. 이론적, 실험적 접근 방법

- (1) 양돈 농가 규모의 실험을 위한 자기활성수 급여가 가능한 장치의 고안
- (2) 양쪽끝을 15mm 넓이의 연결장치를 장착할 수 있도록 설계하여 다양한 종류로 설치되어 있는 돈사 물 배관에 유동적으로 장착할 수 있도록 제작이 필요

나. 재료 및 방법

- (1) 성장하는 자돈이 지속적으로 자기활성수를 급여할 수 있도록 자돈이 성장하는 돈방별로 파이프에 자기활성장치를 설치
- (2) 성장기간 중 지속적으로 자기활성수를 급여할 수 있도록 설계

다. 연구결과

농가 규모의 실험을 분석을 위한 선택적 자기활성수 급여장치(A), 18mm PVC 배관에 장착하기 위한 장치연결(B), 15mm 메타폴 배관에 장착하기 위한 부품 연결(C) 및 비육돈사 장치모습(D) (Fig. 39)

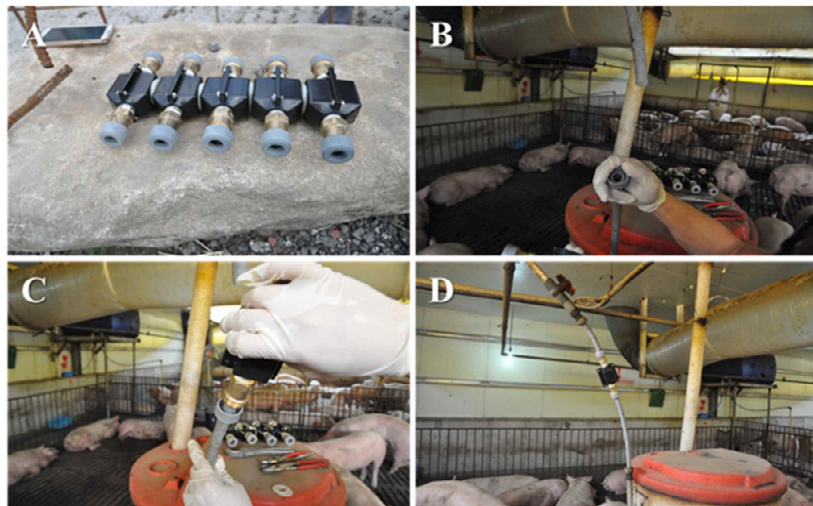


Fig. 39. Installation of magnetic equipment for produce magnetized water in growing pigs room of experimental farm, A: magnetic equipment, B: cutting water PVC pipe C: installation of magnetic equipment and D: installed magnetic equipment

2. 자기활성수의 급여가 자돈 및 육성돈 성장에 미치는 영향

가. 이론적, 실험적 접근 방법

- (1) 1차년도 실험에서 자기활성수는 세포의 성장능력과 항산화 능력을 향상시키는 것을 검증하였으며, 이러한 결과를 바탕으로 성장을 목적으로 하는 육성돈의 효능 검정이 필요하다고 판단
- (2) 군단위로 사육되는 가축의 문제점은 사료 내 항생제 첨가 금지로 인한 전체적인 면역력 약화 이로 인해 발생하는 대규모 전염병이 발발할 가능성이 높기 때문에, 항생제를 사용하지 않고 군단위로 사육되는 가축의 면역능력을 높이는 기술이 필요하다고 판단
- (3) 1차년도에서는 자기활성수의 세포막 보존, 항산화 능력, 성장능력 및 apoptosis를 억제효과를 검증하였으며, 2차년도에서는 임신기간 동안의 자기활성수의 급여가 모돈 초유 면역 단백질들을 증가시키고, 번식성적이 향상되는 것을 확인
- (4) 이에 따라 돼지고기를 생산하는 비육돈의 실험이 절실히 필요

나. 재료 및 방법

- (1) 실험에 이용된 공시축은 평균 체중 $5.28 \pm 0.89\text{kg}$ 인 3원 교잡종 거세 이유자돈 [(Landrace \times Yorkshire) \times Duroc, 약 28일령] 27두를 공시(Table 17) 하여 체중이 비슷한 자돈을 임의배치법으로 각 처리구당 3두씩 3반복을 실시하였다(Fig. 40). 실험은 성장시기에 따라 실험 1과 실험 2로 나누어 실험하였으며 체중은 4주마다 측정하였고 혈액은 실험 종료 시 채취하여 분석하였다. 사양실험은 16주 동안 수행(Fig. 41)



Fig. 40. Experimental animals

	Start					End	
	0 week	4 week		8 week	12 week	16 week	20 week
	Weaning pig			Growing pig			Slaughtered pig
Pigs	Weaning			Growing	Finishing		-
Check	Weight	Weight	Weight Blood	Weight	Weight Blood	Carcass grade	
Feed	Phase1 (2 weeks)	Phase2 (3 weeks)	Phase3 (4 weeks)	Phase4 (4 weeks)	Phase5 (3 weeks)	-	

Fig. 41. Experimental designs

- (2) 본 연구에 사용된 공시동물의 사육관리는 강원대학교 실험동물 복지 및 관리 기준 (KIACUC-09-0139)에 의거하여 실시, 급수구에 자기활성장치(0, 4000G 및 6000G)를 설치하여 물과 사료는 자유채식
- (3) 실험사료의 영양소 함량은 NRC(1998)의 영양소 요구수준의 기준으로 급여를 하였으며 기초식은 옥수수-대두박 위주의 식이로 제조하여 성장기에 따라 급여(Table 18)

Table 17. Experimental animals

Treatment	Animals	Contents
0G	3 castrated pigs 3 replication	General water (0G)
4000G	3 castrated pigs 3 replication	Magnetized water passing through 4000G magnetic field (4000G)
6000G	3 castrated pigs 3 replication	Magnetized water passing through 6000G magnetic field (6000G)

Table 18. Formula and chemical composition of experimental diets during growing pig

Ingredients (%)	Phase (days)			
	0-21	22-48	49-70	71-128
Corn	33.77	41.44	46.26	67.86
Full fat soya	5.00	5.00	-	-
Deh-SBM	23.47	25.50	-	-
SBM (45%)	-	-	34.00	18.76
Fish meal	5.00	3.00	-	-
Animal fat	-	-	4.50	3.50
Soy oil	4.20	4.20	-	-
Whey powder	20.70	15.00	-	-
Wheat	-	-	11.00	3.69
MCP	0.36	0.60	-	-
DCP	-	-	0.80	0.80
Molasses	1.00	2.00	-	-
Limestone	0.64	0.80	0.60	0.85
Salt	0.20	0.20	0.30	0.30
Sucrose	5.00	3.00	-	-
DL-Methionine (98%)	0.24	0.11	0.32	0.21
L-lysine (98%)	0.29	0.14	-	-
L-Lysine (23%)	-	-	0.90	1.71
Threonine (98%)	0.13	0.04	-	-
Mineral premix ¹	0.30	0.30	0.15	0.15
Vitamin premix ²	0.30	0.30	0.15	0.15
ZnO	0.30	0.30	-	-
Choline chloride (50%)	0.10	0.07	0.02	0.02
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated composition (%)				
ME, kcal/kg	3,510	3,489	3,300	3,300
CP	22.00	21.01	20.00	18.00
Ca	0.80	0.80	0.30	0.25
Av. P	0.40	0.40	0.70	0.60
Lys	1.60	1.40	1.00	1.00
Met + Cys	0.88	0.80	0.59	0.48

¹Supplied per kilogram of diet: 45 mg Fe, 0.25 mg Co, 50 mg Cu, 15 mg Mn, 25 mg Zn, 0.35 mg I, 0.13 mg Se, ²Supplied per kilogram of diet: 16,000 IU vitamin A, 3,000 IU vitamin D₃, 40 IU vitamin E, 5.0mg vitamin K₃, 5.0 mg vitamin B₁, 20 mg vitamin B₂, 4 mg vitamin B₆, 0.08 mg vitamin B₁₂, 40 mg pantothenic acid, 45 mg niacin, 0.15 mg biotin, 0.65 mg folic acid, 12 mg antioxidant

(4) 체중측정 및 사양성적 분석

실험 기간 중 체중은 실험 개시 후 체중계를 이용하여 처리구당 개체별로 측정하여 평균 체중을 산출하였다. 사양성적을 분석하기 위하여 체중과 사료섭취량을 기본으로 하여 일당증체량 (average daily gain, ADG)은 증가된 체중을 실험일수로 나누어 계산하였고 일일 사료섭취량 (average daily feed, ADF)은 섭취한 사료를 실험일수로 나누어 계산하였다. 사료요구율 (Feed intake:gain)은 일당증체량을 일일사료 섭취량으로 나누어 계산하였고 사료효율(Gain:feed intake)은 사료섭취량을 증체량으로 나누어 산출하였다.

(5) 혈액채취 및 분석

(가) 혈액 채취

혈액은 시험 종료 시 주사기를 이용하여 경정맥에서 채취하였고 혈구분석을 위한 혈액의 응고를 막기 위하여 K3EDTA가 코팅된 진공튜브에 넣어 보관 하였으며 혈청을 이용하기 위해서는 Serum이 코팅된 진공튜브에 3,000rpm에서 5분 동안 혈액을 분리하여 혈청만을 수집하였다.

(나) C.B.C(Complete Blood Count)검사

채취한 혈액의 적혈구와 백혈구의 성분분석을 하였으며, 자동혈액분석기(ForcCyte, OSI, USA)를 통해 적혈구는 HCT(적혈구 용적), RBC(적혈구), Hb(혈색소), MCV(평균 적혈구 용적), MCH(평균 적혈구 혈색소량), MCHC(평균 적혈구 크기), Retics(망상적혈구), PLT(혈소판), MPV(평균 혈소판 용적), PDW(혈소판분포계수)를 분석 하였고, 백혈구는 WBC(백혈구), NE(호중성구), LY(림프구), MO(단핵구), EO(호산구), BA(호염기구)를 분석 하였다.

(다) 생화학 분석(Biochemical analysis)

분리된 혈청은 강원대학교 동물병원에 의뢰하여 건식 생화학 분석기(Spotchem SP-4430, ARAKRAY, Japan)를 이용하여 혈당량(Glucose), 총 콜레스테롤과 고밀도 콜레스테롤 (High density lipoprotein cholesterol ,HDL-Cholesterol), 중성지방(Triglyceride, TG), 저밀도 콜레스테롤(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-cholesterol)을 분석하였다.

(라) 혈중 Selenium 및 독성검사

혈중 Selenium농도는 원자흡광광도법으로 분석하였으며 Selenium의 독성과 관련된 수치인 SGOT(Serum glutamic-oxaloacetic transaminase), SGPT(Serum glutamic-pyruvic transaminase)분석은 자동생화학 분석기를 이용하여 분석하였다.

(마) 항산화능력

① Superoxide dismutase(SOD)

활성산소중의 한 종류인 superoxide($O_2 \cdot$)를 제거하는 SOD를 측정하기 위하여 채집된 샘플의 tetrazolium salt(radical detector) 제거능력을 확인하였다. 희석된 tetrazolium에 샘플과 xantine oxidase를 넣어 산화반응을 유도 시킨 후에 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 방법을 사용하여 변화된 값을 spectrophotometry의 440nm의 파장으로 측정한 후 SOD activity의 양을 계산하였다.

② Catalase(CAT)

활성산소중의 한 종류인 hydrogen peroxide(H_2O_2)를 제거하는 catalase를 측정하기 위하여 준비된 샘플에 H_2O_2 를 첨가하여 H_2O_2 의 분해능력을 ELISA 방법을 사용하여 변화된 값을 spectrophotometry의 540nm의 파장으로 측정한 후 catalase activity의 양을 계산하였다.

(바) 면역능력

면역능력 수치인 Immunoglobulin G, M은 ELISA 분석법으로 측정하였다.

(사) 폐사율

폐사율은 실험 개시 후 처리구당 자돈 중 죽은 자돈의 수를 백분율로 나타내었다.

다. 연구결과

(1) 자기활성수 급여가 자돈 및 육성돈 사양성적에 미치는 영향

자기활성수가 자돈의 사양성적에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 19에 나타내었다. Phase 1 단계에서는 자기활성수를 급여하였을 때, 일당증체량, 일당섭취량 및 사료효율이 향상되었으며, phase 2단계에서는 사료효율이 유의적으로 향상되었다($p < 0.05$). 또한 자돈의 전체시기인 Overall(Phase I+Phase II)단계에서는 사료효율이 대조구에 비하여 향상되었지만 유의적인 수준은 나타나지 않았다.

Table 20은 육성돈 성장에 있어 자기활성수의 급여가 사양성적에 미치는 영향에 대한 결과이다. Phase 3단계에서는 6000G 처리구에서 대조구에 비해 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 사료효율이 향상되는 경향을 보였으며, 특히 비육말기인 Phase 4단계에서는 4000G의 자기활성수를 급여한 육성돈이 대조구에 비하여 일당증체량, 사료효율 및 실험 종료 후 체중이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 또한 육성돈 전체시기인 overall(phase 3+phase 4)단계에서는 6000G 처리구에서 사료효율이 향상되는 경향을 보였다.

Table 21은 16주동안 자기활성수 급여에 따른 비육돈의 사양성적을 나타낸 결과로써, 처리

구간 유의적인 차이는 나타나지 않으나, 4000G 및 6000G 처리구에서 대조구에 비해 사료효율이 향상되는 경향을 나타내었다.

Table 19. Effects of magnetized water on growth performance in periods of weaning pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 1 (0-4, weeks)					
Initial BW ² , kg	5.28	5.55	5.49	0.410	0.892
ADG ³ , kg	0.406 ^b	0.491 ^a	0.515 ^a	0.006	0.003
ADFI ⁴ , kg	0.513 ^b	0.3040 ^b	0.322 ^a	0.000	0.000
G/F ⁵	0.79 ^b	1.61 ^a	1.60 ^a	0.015	0.006
Final BW, kg	11.10	12.59	12.87	1.110	0.686
Phase 2 (4-8, weeks)					
ADG, kg	0.676	0.692	0.720	0.047	0.470
ADFI, kg	1.282	1.237	1.383	0.089	0.202
G/F	0.527 ^a	0.560 ^b	0.521 ^b	0.013	0.031
Final BW, kg	33.80	40.60	40.69	2.240	0.119
Overall (0-8, weeks)					
ADG, kg	0.541	0.591	0.617	0.021	0.185
ADFI, kg	0.898	0.770	0.852	0.045	0.177
G/F	0.603	0.768	0.725	0.011	0.231

¹SEM: standard error means, ²BW: body weight, ³ADG: average daily gain, ⁴ADFI: average daily feed intake, ⁵G:F: ADG/ADFI (feed efficiency), ^{ab}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

Table 20. Effects of magnetized water on growth performance in periods of finishing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 3 (8-12, weeks)					
Initial BW ³ , kg	33.80	40.60	40.69	2.240	0.112
ADG, kg	0.869	0.776	0.750	0.055	0.778
ADFI, kg	2.218 ^b	1.915 ^a	1.557 ^b	0.046	0.001
G/F	0.409 ^{ab}	0.405 ^b	0.482 ^a	0.021	0.078
Final BW, kg	61.08	63.00	64.93	4.067	0.810
Phase 4 (12-16, weeks)					
ADG, kg	1.073 ^b	1.162 ^a	1.069 ^b	0.030	0.068
ADFI, kg	2.668	2.859	2.851	0.054	0.657
G/F	0.402 ^b	0.407 ^a	0.375 ^b	0.004	0.012
Final BW, kg	91.11 ^b	97.78 ^a	94.60 ^{ab}	1.200	0.046
Overall (8-16, weeks)					
ADG, kg	0.971	0.969	0.909	0.037	0.388
ADFI, kg	2.398 ^b	2.387 ^a	2.204 ^b	0.039	0.016
G/F	0.405	0.406	0.413	0.012	0.262

¹SEM: standard error means, ²BW: body weight, ³ADG: average daily gain, ⁴ADFI: average daily feed intake, ⁵G:F: ADG/ADFI (feed efficiency), ^{ab}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

Table 21. Effects of magnetized water on growth performance in periods of growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Total overall (0-16, weeks)					
ADG ² , kg	0.756	0.780	0.763	0.024	0.333
ADFI ³ , kg	1.648	1.579	1.528	0.034	0.044
G/F ⁴	0.459	0.494	0.500	0.008	0.634

¹SEM: standard error means, ²BW: body weight, ³ADG: average daily gain, ⁴ADFI: average daily feed intake, ⁵G:F: ADG/ADFI (feed efficiency),

(2) 자기활성수 급여가 자돈 및 육성돈 혈액 화학 수치에 미치는 영향

자기활성수의 급여가 비육돈 성장에 있어 혈청 화학 수치에 대한 결과를 Table 22에 나타내었다. 실험은 총 2회에 실시되었으며, 자돈의 실험 종료 및 육성돈 실험 종료에 각각 1회 씩 수행하였다. 그 결과 자돈 시기(phase 1)에 자기활성수의 급여가 혈당(GLU) 수치를 감소시켰고, 육성돈 시기(phase 2)에 저밀도 지단백 콜레스테롤 수치가 유의적으로 증가하였다. 비육돈 성장(phase 1+phase 2)에 있어 자기활성수의 급여는 혈액 화학수치에 영향을 미치지 않았다.

Table 22. Effects of magnetized water on glucose, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein cholesterol during 0~16 weeks in growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 1 (0-8, weeks)					
GLU ² (mg/dL)	92.000 ^a	94.000 ^a	79.056 ^b	3.286	0.049
CHOL ³ (mg/dL)	108.000	102.333	104.056	3.083	0.531
HDL ⁴ (mg/dL)	38.444	42.000	40.167	1.816	0.446
LDL ⁵ (mg/dL)	56.500	52.000	61.667	3.547	0.341
TG ⁶ (mg/dL)	54.111	49.611	56.000	4.354	0.638
Phase 2 (8-16, weeks)					
GLU ² (mg/dL)	93.667	89.833	96.778	2.086	0.149
CHOL ³ (mg/dL)	90.333	85.611	95.389	3.292	0.296
HDL ⁴ (mg/dL)	31.111	28.000	35.444	2.052	0.182
LDL ⁵ (mg/dL)	37.778 ^{ab}	32.667 ^a	43.167 ^b	1.868	0.067
TG ⁶ (mg/dL)	45.333	35.111	37.333	2.717	0.121
Overall (0-16, weeks)					
GLU ² (mg/dL)	92.833	91.917	87.917	2.019	0.314
CHOL ³ (mg/dL)	99.167	93.972	99.722	2.111	0.257
HDL ⁴ (mg/dL)	34.778	35.000	37.806	1.464	0.404
LDL ⁵ (mg/dL)	47.139	42.333	52.417	2.486	0.082
TG ⁶ (mg/dL)	49.722	42.361	46.667	3.288	0.362

¹SEM: standard error means, ²GLU: glucose, ³CHOL: total cholesterol, ⁴HDL: high density lipoprotein, ⁵LDL: low density lipoprotein, ⁶TG: triglyceride, ^{ab}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

(3) 자기활성수 급여가 자돈 및 육성돈 적혈구 수치에 미치는 영향

Phase 1 시기의 자기활성수의 급여는 자돈의 총 적혈구, 헤모글로빈, 적혈구 용적률 상승시켰으나 phase 2 시기의 자기활성수의 급여는 육성돈의 적혈구 수치에 영향을 미치지 않았다. 전체적인 비육돈 시기에 있어 자기활성수의 급여는 적혈구 용적률을 상승시켰으나 다른 적혈구 수치에는 영향을 미치지 않았다. 적혈구(RBC)는 출혈성 빈혈, 용혈성 빈혈 및 생성감소 빈혈과 관련이 있다. 또한 헤모글로빈(Hb)의 증가는 용혈성 빈혈, 유리혈색소 및 지방혈증이 나타나며, 감소할 경우 소적혈구증이 유발되고 적혈구 용적율(HCT)은 적혈구 침착 용적과 깊은 관련이 있다. 적혈구는 혈액 내 산소를 운반 및 공급하기 때문에 자기활성수의 급여는 체내의 산소운반에 도움을 주어 육성돈의 대사활동을 향상시켜 성장능력에 좋은 영향을 미칠 것이라 판단된다(Table 23).

Table 23. Effects of magnetized water on properties of red blood cell during 0~16 weeks in growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 1 (0~8, weeks)					
RBC ² (1×10 ⁶ cell/μL)	6.652 ^b	7.227 ^a	6.898 ^{ab}	0.150	0.109
Hb ³ (g/dL)	9.400 ^b	10.739 ^a	11.211 ^a	0.303	0.014
HCT ⁴ (%)	30.200 ^b	33.544 ^{ab}	34.117 ^a	0.908	0.071
MCV ⁵ (fL)	48.067	49.717	49.500	0.841	0.527
MCH ⁶ (pg)	15.678	15.467	16.289	0.332	0.305
MCHC ⁷ (g/dL)	32.544	31.95	33.233	0.724	0.533
Phase 2 (8~16, weeks)					
RBC ² (1×10 ⁶ cell/μL)	7.289	7.363	7.449	0.146	0.76
HGB ³ (g/dL)	13.85	14.333	14.106	0.336	0.628
HCT ⁴ (%)	39.383	39.444	40.767	0.682	0.355
MCV ⁵ (fL)	53.578	53.689	54.394	0.344	0.288
MCH ⁶ (pg)	19.322	19.85	19.033	0.542	0.649
MCHC ⁷ (g/dL)	34.922	35.467	34.444	0.283	0.113
Overall (0~16, weeks)					
RBC ² (1×10 ⁶ cell/μL)	7.258	7.008	7.174	0.082	0.217
HGB ³ (g/dL)	12.294	11.867	12.658	0.302	0.257
HCT ⁴ (%)	36.464 ^{ab}	34.822 ^b	37.442 ^a	0.664	0.084
MCV ⁵ (fL)	50.822	51.703	51.947	0.462	0.429
MCH ⁶ (pg)	17.5	17.658	17.661	0.400	0.955
MCHC ⁷ (g/dL)	33.733	33.708	33.839	0.271	0.955

¹SEM: standard error means, ²RBC: red blood cell, ³Hb: hemoglobin ⁴HCT: hematocrit, ⁵MCV: mean corpuscular volume, ⁶MCH: mean corpuscular hemoglobin, ⁷MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, ^{ab}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

(4) 자기활성수 급여가 자돈 및 육성돈 백혈구 및 혈소판 수치에 미치는 영향

Phase 1 시기와 Phase 2 시기의 자기활성수의 급여는 돼지의 백혈구 수치를 상승시켰으며, 정상 범위를 벗어나지 않았다. 백혈구는 크게 granulocyte와 agranulocyte로 나누어지며, granulocyte의 경우 호중성구(NE)는 식균작용, 호산구(EO)는 독성작용의 중화, 호염기구(BA)는 헤파린 운반 및 peroxidase를 저장하는 역할을 한다. 또한 agranulocyte의 경우 림프구(LY)는 항체형성, 및 T, B-Cell의 분화, 단핵구(MO)는 왕성한 식균작용에 관여한다. 본 연구의 결과에서 총 백혈구(WBC)는 정상 수치를 넘지 않는 범위에서 대조구에 비해 자기활성수 처리구에서 높아졌다. 이와 같은 결과는 백혈구의 정상수치를 벗어나지 않는 점을 고려하여 볼 때, 생체 내에서 일어나는 면역에 관련된 세포의 수가 증가되었다고 판단되며, 이 후 백혈구의 종류와 비율에 관한 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다(Table 24).

Table 24. Effects of magnetized water on properties white blood cell and platelet during 0~16 weeks in growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 1 (0~8, weeks)					
WBC ² (1×10 ⁶ cell/ μL)	15.420 ^b	19.962 ^a	21.430 ^a	1.016	0.018
PLT ³ (1×10 ⁶ cell/ μL)	236.464 ^{ab}	329.350 ^a	221.142 ^b	22.16	0.048
Phase 2 (8~16, weeks)					
WBC ² (1×10 ⁶ cell/ μL)	18.033 ^a	15.317 ^b	19.111 ^a	0.626	0.064
PLT ³ (1×10 ⁶ cell/ μL)	162.900	259.200	156.000	76.52	0.691
Overall (8~16, weeks)					
WBC ² (1×10 ⁶ cell/ μL)	16.727 ^b	17.639 ^b	20.271 ^a	0.381	0.002
PLT ³ (1×10 ⁶ cell/ μL)	199.700	294.300	188.600	32.890	0.175

¹SEM: standard error means, ²WBC: white blood cell, ³PLT: platelet, ^{ab}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

(5) 자기활성수 급여가 자돈 및 육성돈 면역능력 및 혈액 내 항산화 효소에 미치는 영향

Table 25에서는 자기활성수를 이용한 육성돈의 면역능력 수치를 나타내었다. 이 과정에서 체액 전체의 Immunoglobulin의 75%를 차지하는 IgG (Immunoglobulin G)의 수치를 분석하였다. IgG의 수치는 대조구에 비해 6000G 처리구에서 유의적으로 증가하였다. 이러한 결과는 자기활성수는 생체의 면역계에서 이물질인 항원침입에 반응하는 방어물질인 면역글로불린의 수치를 증가시켜줌으로써 면역능력을 향상시켜 육성돈의 성장효능에 영향을 끼쳤다고 판단되어 진다. 또한 자기활성수를 급여한 포유돈의 초유에서 immunoglobulin의 수치가 증가한 결과와 일치하기 때문에 자기활성수의 급여는 돼지의 면역능력을 향상시켰으며, 가축의 면역력을 향상시키는 항생제 대체 물질로써 이용가능하다고 판단된다.

Table 25에서는 자기활성수를 이용한 육성돈의 혈중 항산화 능력에 대하여 나타내었다. SOD와 CAT 활성이 대조구에 비하여 6000G 처리구에서 높아지는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 자기활성수가 자돈시기에는 혈액내의 hydrogen

peroxide의 수치를 낮추어주고 육성돈 시기 때에는 혈액내의 superoxide를 활성화시켰다고 판단된다.

Table 25. Effects of magnetized water on immunoglobulin M, G and antioxidant enzymes activity during 0~16 weeks in growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)			SEM ¹	P-value
	0	4000	6000		
Phase 1 (0~16, weeks)					
IgG ² (mg/dL)	416.889 ^b	402.944 ^b	491.389 ^a	14.515	0.033
IgM ³ (mg/dL)	106.389 ^b	111.500 ^b	127.722 ^a	3.309	0.032
SOD ² activity (U/L)	1.178	0.709	1.272	3.467	0.827
CAT ³ activity (umol/ml/min)	0.303	0.397	0.465	3.467	0.378

¹SEM: standard error means, ²IgG: Immunoglobulin G, ³IgM: Immunoglobulin M, ²SOD: Superoxide dismutase, ³CAT: Catalase, ^{a,c}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05)

(6) 자기활성수 급여가 자돈의 폐사율에 미치는 영향

Table 26은 자기활성수의 급여가 자돈의 폐사율에 미치는 영향에 대한 결과이다. 0-16주 동안 자기활성수의 능력을 검증한 결과 6000 G의 자력의 세기를 통과한 자기활성수를 급여하였을 때, 돼지의 성장 및 면역능력이 향상된 것을 확인하였다. 이 후 실험농장에서 생후 25일령의 이유자돈 84마리(0G: 42마리, 6000G: 42마리)를 이용하여 32일 동안 6000G의 자기활성수를 급여한 결과 Phase I 시기에는 대조구 및 처리구에서 폐사율이 발생하지 않았지만 Phase II 시기에 대조구 총 42마리의 자돈 중 3마리가 폐사하였다. 따라서 6000G 처리구에서 폐사율이 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 하지만 대규모로 사육되는 돼지의 특성에 따라 더욱 많은 시료를 확보하여 추가적인 실험이 필요하다고 판단된다.

Table 26. Effects of magnetized water on mortality rate during in growing pigs

Item	Magnetic fields (Gauss)		SEM ¹	P-value
	0	6000		
Phase I (25~47, days)				
Mortality rate (%)	0.00	0.00	0.00	0.000
Phase II (47~57, days)				
Mortality rate (%)	7.14 ^a	0.00 ^b	2.01	0.001
Overall (25~57, days)				
Mortality rate (%)	7.14 ^a	0.00 ^b	2.01	0.001

¹SEM: standard error means, ^{a,c}Means in the same row with different superscripts differ (p<0.05), n=84

3. 자기활성수의 급여가 돼지고기 육질에 미치는 영향

가. 이론적, 실험적 접근 방법

- (1) 국민들이 가장 원하는 것은 우선적으로 안전하고 맛있는 축산물을 섭취하는 것이며, 자기활성수는 임신 기간 동안 모돈이 생산하는 자돈의 수와 체중을 증가시켰고, 모돈의 초유 면역 글로불린 단백질을 증가시켜 젖을 먹은 돼지의 성장능력이 향상됨
- (2) 자기활성수를 먹고 사육된 품질 좋은 돼지고기를 소비자들에게 제공함과 동시에 국민들에게 좋은 먹거리를 제공하는 것은 양돈 산업의 최고의 목적이기도 함
- (3) 자돈을 생산하기 위해 모돈을 사육하는 농가와 돼지고기를 생산하는 비육돈 농가에도 이러한 시스템이 적용하기 위한 연구가 필요

나. 재료 및 방법

(1) 도체성적

도축을 실시 후 등급판정소의 데이터를 받았으며, 등급판정은 “축산물등급판정세부기준”에 의해 등급사를 통해 측정하였다. 도축이후 육질(quality grade), 육량(yield grade), 도체중(carass weight), 도체율(dressing percent), 등지방 두께(back fat thickness)등을 측정하여 등급판정을 하였다.

(2) 시료채취

6000G 자석의 의해 제조된 자기활성수를 급여한 돼지의 등심을 분석하였으며, 성별(거세), 도축체중(86-89kg) 및 도체등급(1+)이 비슷한 비육돈 10마리(일반돼지 5마리, 자기활성수 급여 돼지 5마리) 선정하였으며, 축산물등급판정소 등급판정 기록표 기반으로 개체번호 추적 후 도축 24시간 후 좌반도체의 등심을 채취시료채취는 도축 24시간 후 좌반도체의 6번 마디와 13번 마디의 등심근 1kg을 채취하여 아이스박스에 담아 2시간 이내에 실험실로 이송하여 육질분석을 실행(Fig. 42).

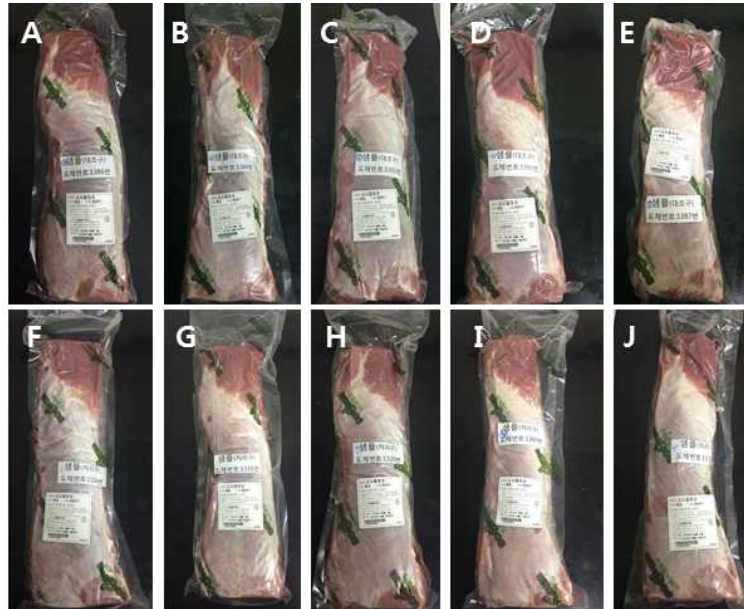


Fig. 42. Experimental samples, 0G treatments (A-E) and 6000G treatment (F-J) pork

(3) pH, 육색(meat color) 및 전단력(shear force)

pH는 10g을 90ml 증류수와 함께 균질화한 후 pH meter로 측정하였다(Fig. 43A). 신선육의 표면색(육색)은 색차계를 이용하여 L*(Lightnes, 명도), a*(Rednes, 적색도), b*(Yelownes, 황색도) 값을 동일한 방법으로 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 표준색은 Y값이 93.60, x값이 0.3134, y값이 0.3194인 표준백판을 사용하여 측정하였다(Fig. 43B). 전단력 분석은 Texture analyzer TA 1(LLOYD instruments, USA)를 사용하여 측정하였다. Instron 측정 시 V형태의 칼날을 이용하여 분석 시료의 근섬유 방향과 직각이 되게 잘라 측정하였다. 2x2x1cm의 크기로 잘라 측정하였다. Texture Analyzer의 측정 조건은 load cell은 50 kg, trigger speed는 50 mm/min, test speed는 50 mm/min, trgger forces는 10gf로 설정하여 분석하였다(Fig. 43C).

(4) 가열감량(cooking loss) 및 보수력(Water holding capacity)

가열감량은 가열 후 고기의 수분 손실률을 나타낸 것이다. 가열감량을 측정하는 방법으로는 시료를 3cm 두께로 절단하여 지퍼백에 넣고 진공 포장하여 70℃ water-bath에서 40분간 가열한 후 30분간 방랭시켜 가열 전후 중량차를 백분율로 계산하였다. 보수력은 고기가 수분을 함유하는 능력으로써 보수력이 높으면 영양분의 유출이 적다는 것을 의미한다. 보수력측정 방법으로는 파쇄한 시료를 80℃ water-bath에서 20분간 가열한 다음 10분간 방랭시켜 2000rpm에서 10분간 원심분리한다. 원심분리한 후 남은시료를 가열 전 무게 비율(%)로 표시하여 나타내었다(Fig. 43D).

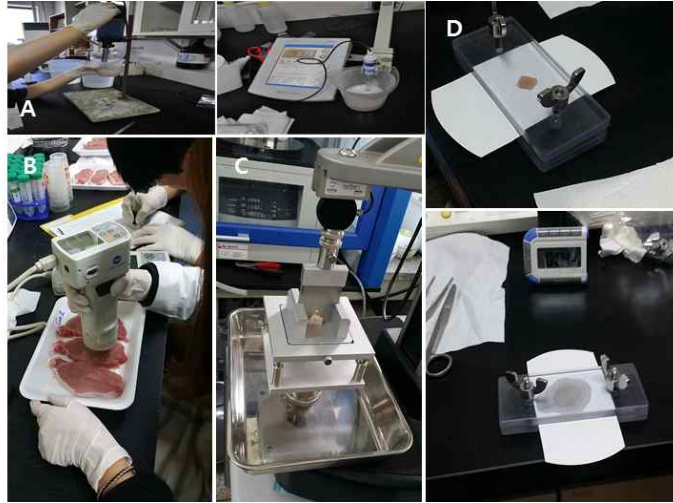


Fig. 43. Analysis of pH (A), meat color (B), shear force (C) and water holding capacity (D) in pork

(5) 관능적 특성

관능적 특성은 잘 훈련된 관능검사요원 12명을 선발하여 각 시험구별로 9점 척도법으로 실시하였다. 시료는 동일한 두께로(0.2cm) 잘라 제시하였다. 각 검사 요인별로 1점은 매우 나쁘거나 낮음, 9점은 매우 좋거나 강함으로 표시하도록 하였다. 관능 항목은 육색, 냄새, 풍미, 다즙성, 연도 및 종합성 기호도를 평가하였다.

(6) TBARS

지방산패도를 의미하는 TBARS는 시료 10g에 BHA 50 μ l와 20%의 trichloroacetic acid(in 2M phosphoric acid)를 25 ml 첨가하고 균질하였다. 균질액이 50 ml가 되도록 증류수를 첨가한 후, 원심분리(3000rpm, 4 $^{\circ}$ C, 10분)한 다음, Whatman No.1 여과지를 이용하여 여과하였다. 여과액과 5 mM 2-thiobarbituric acid를 1:1로 혼합 한 뒤 실온 암소에서 15시간 방치하였고 530 nm에서 흡광도를 측정하고 아래의 식에 의하여 계산하였다. TBARS는 4 $^{\circ}$ C에서 돼지고기 등심을 보관하며 1, 3, 5, 10, 13 및 15일 때마다 측정하였다.

TBARS (mg malondialdehyde (MDA)/kg sample) = (시료흡광도-공시료흡광도) x 5.2

(7) VBN

휘발성 염기질소 함량 2: VBN 함량은 Conway unit을 사용한 미량확산법을 이용하여 측정하였다. 식육 10g에 증류수 90mL을 넣고, homogenizer (PolyTron PT-2500E, kinematica)로 14,000rpm에서 20초 동안 균질화 하였다. 균질액을 원심분리 (3,000rpm, 4 $^{\circ}$ C, 10min)한 다음 Whatman NO.1 여과지를 이용하여 여과하였다. 여과액 1mL을 conway unit 외실에 넣고, 내실에는 0.01N boric acid 1mL 와 conway reagent 50 μ l를 넣었다. 뚜껑과 접착부위에 글리세린을 바르고 뚜껑을 닫은 후 50% potassium carbonate 1mL을 외실에 주입 한 다음 즉시 밀폐한 다음 용기를 수평으로 교반시킨 후 37 $^{\circ}$ C에서 120분간 방치하고 0.02N 황산으로 적정하여 무색이

되는 양을 측정하고, 아래의 식을 이용하여 계산하였다(Fig. 44). a는 시료를 적정한 황산의 부피 (mL), b는 공시료를 적정한 황산의 부피 (mL), f는 0.02N 황산의 표준화 지수, S는 시료 무게(g)이다.



Fig. 44. Analysis of VBN using spectrophotometry

(8) 콜레스테롤 분석

돈육의 콜레스테롤 함량측정은 Folch등(1957)방법에 따라 돈육 0.1g에 chloroform-methano(2:1, v/v)을 첨가하여 냉장상태에서 3일간 방치한 후 증류수를 첨가하고 3,000rpm에서 20분간 원심분리시킨 후 지질층인 하층부를 취한 다음 총 콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak(1969)에 의하여 측정하였다.

다. 연구결과

(1) 자기활성수 급여가 돼지의 도체등급에 미치는 영향

Table 27은 자기활성수를 급여한 돼지의 도체등급을 나타낸 결과이다. 자기활성수의 급여는 비육돈의 도체등급에는 영향을 미치지 않았다.

Table 27. Effect of magnetized water on carcass grade in growing pigs

Item	Grade	Magnetized fields (Gauss)			SEM ¹
		0	4000	6000	
Back fat thickness (mm)		12.086	13.303	12.489	0.623
Carcass evaluation (%)					
Conformation grade	A	28.6	57.1	33.3	
	B	28.6	14.3	14.3	
	C	42.9	28.6	42.9	
Quality grade	1+	0.0	0.0	0.0	
	1	71.4	85.7	50	
	2	28.6	14.3	50	

¹SEM: standard error means

(2) 자기활성수 급여가 돼지의 육질에 미치는 영향

(가) pH 육색

이 등(2005)은 pH가 육의 물리화학적 성질 중에서 가장 기본적이며 중요한 성질이며 육의 보수력에 영향을 미친다고 보고하였다. 본 연구 결과, 돈육 등심의 pH는 대조구가 5.559, 6000G 처리구가 5.481로 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 박(2003) 등의 효모배양물의 수준별 급여가 돈육의 이화학적 특성에 미치는 영향에 대한 연구에서 대조구의 pH는 5.55로 본 연구와 유사한 경향을 보였다(Table 28).

(나) 육색(Meat color)

육색은 소비자가 식육을 구매하는 가장 중요한 기준이 되므로 육의 품질에 가장 중요한 요소가 된다고 최 등(2012)은 보고 하였다. 김 등(2013) 또한 육색은 소비자가 육류를 구매하는데 가장 큰 요인으로 작용하며 L*값과 a*값이 높을수록 좋은 품질로 평가하여 구매한다고 보고하였다.

본 연구에서 명도를 나타내는 L*값은 대조구에서 49.827을 나타내었고, 6000G 처리구는 50.150을 나타내었다. 적색도를 나타내는 a*값은 대조구가 5.607, 처리구가 5.844를 나타내었으며, 황색도를 나타내는 b*값은 대조구가 2.570, 처리구가 3.243을 나타내었다. 박 등(2003)의 효모배양물의 수준별 급여가 돈육의 이화학적 특성에 미치는 영향에 대한 연구에서 육색은 myoglobin이 산소와 반응, 육 조직 내의 효소, 온도 및 pH가 중요하게 영향을 미치며 급여하는 사료에 따라 육색이 변할 수도 있으나 효모배양물의 급여가 육색에 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 본 연구결과 또한 대조구와 처리구(6000G)의 육색 값이 유의적인 차이가 나타나지 않아 육색에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Table 28).

(다) 전단력(Shear force)

전단력이란 고기의 연한 정도를 과학적으로 측정할 수 있는 표준 측정법으로써 칼날을 이용하여 전단하면서 고기를 자를 때 필요한 힘의 크기를 측정하는 것이다. Yates 등(1983)은 전단력은 일반적으로 사후 pH와 온도가 연도에 영향을 미치며, 주로 근육 내 효소들에 의한 근원 섬유 단백질 등의 분해로 고기가 연화된다고 하였다.

본 연구에서 육의 기계적인 연도를 알아보는 전단력은 대조구가 5.969kgf, 6000G 처리구가 6.621kgf로 6000G 처리구가 대조구보다 전단력이 유의적으로 높았다(Table 28).

(라) 콜레스테롤

자기활성수를 급여한 육성돈 돈육의 콜레스테롤의 함량에 대한 결과를 Table 31에 나타내었다. 처리구(6000G)에서 증가하는 경향을 보였지만 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한 같은 처리구 내에서 개체에 따라 콜레스테롤 값이 변화의 폭이 컸기 때문에, 실험시료의 개수

를 늘려 추가적인 연구를 진행해야 할 것이라 판단된다(Table 28).

Table 28. Effect of magnetized water on meat pH, color and shear force in growing pigs

Items	Treatments		SEM	p-value
	0G	6000G		
pH	5.559	5.481	0.075	0.511
Meat color				
L*	49.827	50.150	0.301	0.572
a*	5.607	5.844	0.226	0.524
b*	2.570	3.243	0.378	0.346
Shear force, kgf	5.969 ^b	6.621 ^a	0.107	0.013
Cholesterol (mg/dl)	77.513	90.615	7.428	0.222

(마) 가열감량(Cooking loss)

가열감량은 가열에 의한 육단백질의 변성에 의해 단백질과 물 분자 사이의 결합력이 약해 짐으로써 수분 손실에 의해 일어나며, 단백질, 지방, 물의 비율 및 가공 조건에 따라 차이가 난다.

가열 감량은 대조구가 36.997%였으며, 처리구(6000G)는 35.715%으로 대조구가 처리구(6000G)보다 가열감량 값이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). Jin 등(2009)은 돼지고기 등심을 4cm로 절단하고 지퍼백에 포장하여 80°C 항온 수조에서 1시간 가열했을 때 가열감량은 32.11~34.70%이었으며, 최 등 (2002)은 70°C에서 1시간 가열한 돼지고기 등심의 가열 감량은 35.40~36.90%라고 보고하여 본 실험 결과와 유사한 가열감량을 나타내었다(Table 29).

(바) 보수력(water holding capacity)

식육의 보수력이란 식육에 절단, 분쇄, 압착 등 외적인 물리적 힘을 가하였을 때 식육 내 수분을 유지하려는 힘이다. Park 등(28)은 돼지고기 등심의 pH가 높으면 보수력이 높아지면서 가열감량과 육즙손실이 낮아지고, 보수력이 낮으면서 가열감량과 육즙손실이 높은 것은 근육의 pH가 낮아 myosin의 변성과 근육 filament의 전하량 이 감소하기 때문이라고 보고하였다. An 과 Kim(2003)은 보수력이 높으면 식육 가공시 제품의 수분량을 증가시키고 조직감을 좋게 하며 품질을 향상시킬 것으로 기대된다고 하였다.

본 연구에서 돼지 등심의 보수력 지수는 처리구(6000G)가 50.560% 대조구(40.674%)에 비해 유의적으로 높게 나타났었다($p < 0.05$). Moon(2008)의 연구에 의하면, 돼지 등심부위의 대조구 보수력은 냉장저장 0일차에 42.94%, 1일차에 44.71%를 나타내었으며, Seol 등(2014)의 연구에서도 돼지 등심부위 대조구의 보수력이 42.10%를 나타내어 본 연구와 비슷한 수준을 나타내었다(Table 29).

(사) 관능평가(Sensory evaluation)

고기의 관능적 품질은 소비자가 고기를 재 구매하는데 가장 영향을 미치기 때문에 고기의

전체 품질 중 중요한 부분이다.

돼지고기 등심을 9점 척도법으로 관능평가한 결과 향(aroma), 풍미(flavor), 다즙성(juiciness), 종합적 기호도(acceptability)는 대조구와 비교하여 처리구(6000G)간의 유의적인 차이는 없었다. 색(color)의 대한 기호도 평가에서 대조구는 6.538, 처리구(6000G)는 7.462으로, 처리구(6000G)는 색의 대한 기호도에서 대조구보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 고기의 부드럽고 질긴 정도를 나타내는 연도(Tenderness)에서는 대조구가 5.846, 처리구(6000G)는 4.462으로 대조구가 처리구(6000G)보다 고기의 연도가 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 본 결과는 기계적으로 측정된 전단력이 낮을수록 관능 특성 중 연도가 우수하였으며, Caine 등(2003)의 결과 유사하였다(Table 29).

Table 29. Effect of magnetized water on meat cooking loss, water holding capacity and sensory evaluation in growing pigs

Items	Treatments		SEM	p-value
	0G	6000G		
Cooking loss (%)	36.997 ^a	35.715 ^b	0.167	0.013
Water holding capacity	40.674 ^b	50.560 ^a	1.756	0.033
Sensory evaluation				
color	6.538 ^b	7.462 ^a	0.180	0.002
Aroma	6.615	7.000	0.246	0.282
Flavor	6.538	6.692	0.250	0.671
Juiciness	5.846	5.692	0.310	0.731
Tenderness	5.846 ^a	4.462 ^b	0.369	0.014
Acceptability	6.462	6.615	0.214	0.616

(아) TBARS

TBARS 값은 지방의 산패 정도를 측정하는 방법으로 지방의 산화에 의해 발생하는 malonaldehyde(MDA)와 thiobarbituric acid가 반응하여 생성되는 분홍색의 강도를 측정한 값이다. Witte 등(1970)과 Demeyer 등(1974)은 육의 숙성 중에 지방이 산화되거나 가수분해되어 카보닐 화합물, alcohol, ketone, aldehyde 등의 부산물로 분해되면서 맛과 향에 영향을 미치게 되어 식육의 저장기간이 경과함에 따라 TBARS가 증가한다고 하였다.

본 연구에서 돼지 등심의 TBARS 값은 저장초기 0.008-0.009 mg MDA/kg에서 저장기간이 경과할수록 값이 증가함을 나타내었으며, 대조구와 처리구(6000G) 사이의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Seong 등(2014)의 연구에 의하면 longissimus dorsi 근육의 TBARS가 가장 낮은 이유가 다른 근육들보다 지방함량이 낮기 때문인 것으로 사료된다고 하여 본 연구의 결과를 뒷받침해준다. Brewer et al., (1992)은 신선한 돈육의 TBA는 0.2 mg MDA/kg였으며, 저장기간이 경과함에 따라 TBA가 증가되었으며, 4.0 mg MDA/kg 이상은 완전히 산패된 것을 평가하였다. 본 실험 결과 저장 15일에 0.081-0.090 mg MDA/kg을 나타내어 신선한 돈육으로 지방산패가 진행 되지 않았다고 판단된다(Table 30).

(자) VBN

단백질 분해물질의 환원작용에 의한 저분자 무기태 질소로 분해된 물질의 양을 나타내는 휘발성염기질소(VBN) 함량은 저장기간이 경과할수록 값이 증가하였다. 10, 13일차에는 대조구가 처리구(6000G)보다 유의적으로 높은 VBN함량을 나타내었으며($p < 0.05$), 15일차에는 대조구와 처리구(6000G)가 각각 12.578, 12.011 mg%로 유의적인 차이가 없었다. 우리나라 식품공전(2014)에는 원료육 및 포장육에 대해 휘발성 염기질소의 함량을 20 mg% 이하로 규정하고 있으며, 본 실험 결과 저장 15일에 12.011, 12.578 mg%를 나타내어 신선도를 유지한 것으로 판단되었다(Table 30).

자기활성수를 급여한 돼지의 돈육을 냉장으로 보관했을 때의 보관 10일 차부터는 대조구에 비해 감소하였다. 자기활성수는 세포의 산화스트레스의 억제, 항산화 효소의 활성 육성돈의 혈청의 항산화 효소의 활성을 증가시켰다. 다음의 결과 역시 단백질이 산화되는 정도인 VBN을 측정한 결과 10일과 15일때의 VBN의 함량이 대조구에 비해 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 돼지가 장기간 자기활성수를 급여하였기 때문에 돈육 역시 항산화능력이 있는 것을 판단된다. 따라서 자기활성수를 급여한 돼지고기 돈육의 항산화 능력에 대한 추가적인 연구가 실시되어야 할 것으로 판단된다.

Table 30. Effect of magnetized water on pork TBARS and VBN

Items	Treatments	Storage days					
		1	3	5	10	13	15
TBARS (mgMDA/kg)	0G	0.008	0.033	0.042	0.064	0.08	0.09
	6000G	0.009	0.033	0.046	0.058	0.074	0.081
	SEM	0.002	0.001	0.004	0.002	0.003	0.008
VBN (mg%)	0GI	8.248	8.062	9.002	9.578 ^a	10.643 ^a	12.578
	6000G	8.027	7.875	8.563	9.174 ^b	9.434 ^b	12.011
	SEM	0.078	0.054	0.162	0.084	0.138	0.209

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 연구개발 목표의 달성도

연구 연차	세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 목표치	달성도(%)
1차 년도 (2013)	- 자석제조 및 장치규격화	- 자력세기 2000, 4000 및 6000G 자기활성장치 제작 여부	100
	- 돼지정액 보존액 실험실시	- 5일 이상 보존된 정액 생존율 50% 이상 - 5일 이상 보존된 정액 체외수정률 50% 이상 - 5일 이상 보존된 정액 배반포율 10% 이상	100
	- 돼지 난자 성숙 실험실시	- 난자 성숙율 10% 향상	100
	- 자궁 상피세포 성장 능력 및 항산화능력 분석	- 자궁 상피세포의 성장 및 생존율 10% 향상 - 항산화 관련 검사항목 검증	100
2차 년도 (2014)	- 돈사 급수시설 설비	- 모돈과 포유돈이 급수하는 파이프에 자기활성장치 설치 여부	100
	- 모돈 및 포유돈 실험실시	- 인공수정 실패율 5% 미만으로 감소	100
	- 혈액 채취 및 효능 검정	- 자기활성수 급여 동안 혈청의 생화학 검사(최소 5가지) 검증	100
	- 모돈 면역 및 산자 생산능력 평가	- 모돈 평균 한배 새끼수 9마리 이상 여부	100
	- 포유능력 및 산자성장능력 평가	- 모돈 초유의 면역관련 수치(최소 1종) 검사 - 모돈 초유의 단백질(최소 3종) 검사 - Proteomic기법과 면역능력수치를 이용한 상호관계 규명	100
3차 년도 (2015)	- 돈사 내 급수시설 및 돈사정비	- 자돈이 급수하는 파이프에 자기활성장치 설치 여부	100
	- 자돈 및 비육돈 실험실시	- 자기활성 시스템을 이용한 육성돈 사육방법 기술 확보	100
	- 혈액 채취 및 효능 검정	- 혈액채취를 통한 면역능력(최소1종), 생화학분석(최소5종), 항산화능력(최소2종) 분석을 통한 자기활성수의 효능검정	100
	- 비육돈의 육질 분석	- 보수력 및 가열감량이 적은 자기활성수를 급여한 돼지의 돈육 능력 검증	100
	- 냉장보관 능력	- 돼지고기의 냉장 시간을 증진시킬 수 있는 기술 확보	100
	최종목표	- 세포의 성장 및 항산화 향상 배양기법 개발 - 모돈의 번식 및 비육능력 향상 기술 개발 - 비육돈의 성장 및 면역력 증진 기술개발 - 고품질 돼지고기 생산기술 개발	100

2. 정량적 연구개발 성과
가. 논문성과

계재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2014	해양성 광천수가 자돈의 성장 및 혈액성상에 미치는 영향	이상희, 신중서	박춘근	민경필, 이경진, 이재홍, 정희태, 양부근	Annals of animal resource sciences	25(1)14-22	국내	비SCI
2014	Storage of Bull and Boar Semen: Novel Concepts Derived Using Magnetized Water and Antioxidants	이상희	박춘근	정희태, 양부근	한국동물 번식학회지	38(1)1-8	국내	비SCI
2014	돼지 품종간 정액 내에서 수정 능력과 단백질 변화와의 관계 분석	이연주	박춘근	이상희, 김유진, 정희태, 양부근	한국동물 번식학회지	38(1)53-62	국내	비SCI
2014	Effects of L-Carnitine during the Storage of Fresh Semen in Miniature Pigs	이연주	박춘근	이상희, 이은송, 이승태, 정희태 양부근, 이승형	한국동물 번식학회지	38(4)171-1 77	국내	비SCI

2015	Effect of magnetized extender on sperm membrane integrity and development of oocytes in vitro fertilized with liquid storage boar semen	이상희	박춘근		Animal reproduction science	154:86-94	국외	SCI
2015	Prostaglandin F2 α Controls Reactive Oxygen Species in Bovine Corpus Luteum	이승형	박춘근	양부근	한국동물번식학회지	39(1)1-6	국내	비SCI

나. 특허 및 프로그램 등록 성과

등록연도	출원명	출원인	출원국가	출원번호
2014	돼지자궁상피세포 배양액의 제조방법	강원대하교 산학협력단	대한민국	10-2014-0161009
2014	자기활성수를 이용한 돼지의 번식능력 개선방법	강원대학교 산학협력단	대한민국	10-2014-0180628

다. 학술발표

게재 연도	논문명	발표자	학술회의명	Vol.(No.)	발표일시	장소	국내외 구분
2013	Effects of magnetized water on in vitro maturation of porcine oocytes	이상희	13th 발생공학 국제심포지엄 및 학술대회	Poster Presentation/ 10p	2013-10-25	청주/충북대학교	국제

2013	Changes on sperm characteristics by magnetized semen diluter in pig	이상희	13th 발생공학 국제심포지엄 및 학술대회	Poster Presentation/ 162p	2013-10-25	청주/충북대학교	국제
2014	Changes of growth rates and antioxidative effects during the culture with magnetized medium in porcine endometrium epithelial cells	이상희	한국동물번식학회	Oral Presentation/ 38(2)20	2014-07-03	제주대학교	국내
2014	가축의 생산성 향상을 위한 자기활성장치의 개발	이상희	9th 바이오엑스포 학술콘테스트	초록집 미발간, 수상경력 대체	2014-08-29	춘천바이오산업진흥원	국내
2015	Effect of magnetized freezing extender on sperm cryopreservation in pig	이상희	한국동물번식학회	Poster Presentation/ 39(2)176	2015-07-02	춘천/강원대학교	국내
2015	Effect of Magnetized Water on Piglet Performance, Ability of Reproduction and Lactation in Sows	김현수	한국동물번식학회	Poster Presentation/ 39(2)96	2015-07-02	춘천/강원대학교	국내
2015	Effect of Nicotinic Acid on Frozen-Thawed Sperm Characteristics in Cows	김유진	한국동물번식학회	Poster Presentation/ 39(2)176	2015-07-02	춘천/강원대학교	국내

2015	Development of freezing extender for cryopreservation of separated boar sperm by Percoll	이상희	15th 발생공학 국제심포 지엄 및 학술대회	Poster Presentation/ 17p	2015-10-23	안성/중앙대학교	국제
2015	Anti-stress effect of magnetized-culture medium in bovine endometrium	최수빈	15th 발생공학 국제심포 지엄 및 학술대회	Poster Presentation/ 43p	2015-10-23	안성/중앙대학교	국제

라. 연구성과 활용

구분		기술거래	교육지도	상품화	기술인증	정책활용	언론홍보	기타
활용건수	목표			1			1	
	실적	1		1			1 ⁽¹⁾	2 ⁽²⁾

- (1) 언론홍보: 본 과제의 연구책임자인 강원대학교 동물생명과학 대학 박춘근 교수는 KBS춘천방송총국 제1라디오의 방송에 전화인터뷰를 실시하였다. 방송시간은 2015년도 10월 20일 오전 11시10분부터 11시 25분까지 진행하였으며, 앵커의 질의응답에 대답하였다. 주요 내용은 축산농가에 활용가능한 자기활성수 활용시스템에 대한 연구와 이를 활용할 수 있는 방안에 대하여 홍보를 실시하였다.
- (2) 수상실적: 2014년 한국동물번식학회 정기학술대회 구두발표부분에서 우수한 성적으로 입상, 강원바이오엑스포 학술콘테스트 우수상(2014), 학회의 구두발표 및 학술콘테스트에서 향산화능력이 있는 자기활성화 된 배양액을 이용한 세포 배양 방법 및 가축산업에서의 자기활성수 활용방안에 대한 내용으로 수상

마. 연구인력 활용/양성 성과

- (1) 박사학위 배출 : 1명
(2) 석사학위 배출 : 5명
(3) 학사학위 배출 : 2명

3. 연구개발 결과의 관련분야에의 기여도

가. 산업적 측면

- (1) 국내 양돈산업은 사료비 절감과 생산성 향상이라는 최종 목표로 산업이 형성되어 있기 때문에 자기활성수 기술은 돼지의 사료효율의 향상시켰기 때문에, 돼지 한 마리를 키우는데 들어가는 사료비를 절약
- (2) 기업형 농장같이 큰 규모로 돼지를 사육에 적용

나. 기술적 측면

- (1) 2012년부터 가축 사료 내 항생제 첨가가 법으로 금지됨에 따라 전체적인 가축의 면역능력이 감소하는 문제점이 발생할 가능성에 대비하여 자기활성수 활용 시스템을 적용, 가축의 면역능력을 향상시켜 구제역과 같은 국가 법정 전염병 대응
- (2) 국민들이 가장 원하는 것은 우선적으로 안전하고 맛있는 축산물을 섭취하는 것이기 때문에 육즙이 증가되어 가열 후 수분손실이 적었으며, 냉장보관을 하여도 일반 돼지고기에 비해 단백질이 산화되는 정도가 감소하는 돼지고기 생산
- (3) 양돈 산업에서 자돈을 생산하기 위해 모돈을 사육하는 농가와 돼지고기를 생산하는 비육돈 농가에 기술 이전

다. 경제성 분석

- (1) 경제성 분석을 위해 양돈농가에 대표적으로 사용하는 Marketted-pigs per Sow per Year(MSY)를 기준으로 경제성을 분석
- (2) MSY는 어미돼지 한 마리가 출산한 돼지가 돼지고기용으로 출하되는 평균 마리수를 뜻한 것으로 본 연구과제에서는 번식효율을 증진 시키기 위한 정액 보존액 개발, 모돈의 번식능력을 향상, 비육돈 면역력과 성장능력을 향상시키기 위한 자기활성수 시스템에 대한 경제성 분석을 다음과 같이 실시(2016년 03월 08일, 축산유통종합정보센터)

(국내 평균 MSY 18마리, 전국 돈가 평균 4,188원/kg, 평균 도체중 86.2kg, 500마리 기준)

일반 양돈 농가 (A)	자기활성수 시스템 설치 양돈농가 (B)
<ul style="list-style-type: none"> ○ 산자 능력이 다양한 모돈 보유 ○ 국내 MSY 18두 기준 - 연간 비육돈 생산비 $500\text{마리} \times 18\text{두} \times 4,188\text{원} \times 86.2\text{kg}$ = 1,354,377,600원 	<ul style="list-style-type: none"> ○ <u>고품질 액상정액 이용한 산자수 향상</u> ○ <u>모돈의 산자능력 및 포유능력 향상</u> ○ <u>비육돈의 면역능력 및 성장능력 향상</u> ○ MSY 1두 향상 예상(19두 예상) - 연간 비육돈 생산비 $500\text{마리} \times 19\text{두} \times 4,188\text{원} \times 86.2\text{kg}$ = 1,514,376,000원
3,249,050,400원	3,429,553,200원
일반 양돈 농가와 비교 고능력 후보돈을 선발한 양돈농가의 연간 예상 이익 (B-A) = 180,502,800원	

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 개발기술의 실용화 및 산업화 계획

- 가. 자기활성화 된 정액 희석액 기술 개발 - 액상정액을 대량으로 제조하는 인공수정 센터에 기술이전 후 산업화 실시
- 나. 성장능력 향상 및 항산화 능력이 있는 세포 배양 기법 개발 - 지적 재산권 확보 후 논문 및 연구를 바탕으로 연구분야에 활용이 가능하도록 산업화 실시
- 다. 번식능력 향상을 위한 자기활성장치 제조 - 지자체 사업 및 협동조합의 지원사업과 함께 보조금을 지원해주며 국내 양돈농가에 산업화 실시
- 라. 사료비 절감 및 면역능력을 향상시킬 수 있는 기술 개발 - 군단위로 사육되는 가축의 전체적인 면역을 향상시킬 수 있는 방법을 제시, 기술이전 후 산업화 실시
- 마. 고품질 돈육 생산기법 개발을 위한 기업형 농장의 자체 브랜드화 실시 - 기술이전 및 사업화 실시

2. 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획

- 가. 자기활성수의 이화화적인 능력을 활용한 농업 및 생물학 관련 사업 제안
- 나. 지자체, 축산 협동 조합 및 영농 조합 등의 전문과들과의 컨포지엄을 통한 제품 홍보

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보 계획

- 가. 돼지자궁상피세포 배양액의 제조방법 - 자기활성화 된 배양액을 이용한 세포 배양시스템 관련 특허 출원 완료(2014. 11), 등록 후 지적 재산권 확보 예정
- 나. 자기활성수를 이용한 돼지의 번식능력 개선방법 - 농가에게 접목하기 위한 간편하고 다른 기업과는 자력의 세기가 1.5배 높은 자기활성수 생산 장치를 이용한 사양방법 특허 출원 완료(2014.12), 등록 후 지적 재산권 확보 예정
- 다. 동물세포 동결보존 전처리 장치 - 자기활성장치가 부착되어 자동으로 동결액을 자기활성화 시켜주는 제품 특허 출원 완료(2015.04), 등록 후 지적 재산권 확보 예정
- 라. 본 연구과제에서 발생한 연구결과를 국외 SCI(E) journal에 투고예정 - Effect of magnetized medium on antioxdative effect in porcine endometrial epithelial cells 외 2편

4. 추가연구, 타연구에 활용 계획 등

- 가. 동물의 성장 및 면역능력이 향상되는 원천적인 기술을 이용해 군집단위로 사육되는 육계, 산란계 및 오리 등에 이용하는 국가단위 사업 구상 및 계획
- 나. 추가연구비를 확보를 바탕으로 큰 규모의 번식, 사양 및 육질 분석능력에 대한 추가적인 검증이 필요하다고 판단

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 자기활성장치를 이용한 국외 제품생산 및 시장 현황

- 해당국가 : 일본
- 해당년도 : 2009
- 주요특징
가축의 음용수에 활성화시켜 동물을 육종하는 방법으로 자기면역(autoimmunity)을 강화시키는 방법
- 출처 : Kiris, 특허정보검색서비스)

- 해당국가 : 미국
- 해당기업 : SuperMAX USA Inc.
- 제품명 : 파이프로텍터 2000
- 주요 특징
 - 관에 부착된 FeO, Fe₂O₃, Fe₃O₄, Fe₂O₃·H₂O 등을 분석한 결과 녹이에 관련된 화합물들이 제품이 장치된 곳에서는 적게 생성된 것을 확인
 - 크린타워 관련시설에 대한 상태를 개선하기위해 호텔의 열 교환용 장치에 자기활성장치를 설치하여 그에 대한 개선효과를 확인
 - 보일러실 브로스팀 냉각용 크린타워에 설치하였을 경우 내부 열 교환 패널하부에 부착되어있던 오염이 박리되었고 내부 최하층 셋트부의 물의 투명도가 현격하게 향상되었으며 세트에 부착된 오락분도 경감되는 것을 확인



관에 부착하여 녹이 줄어든 효과



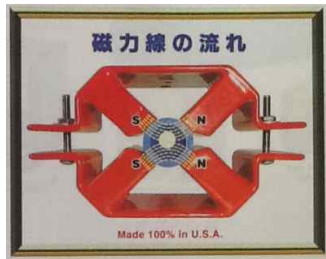
크린타워 열 교환용 장치효과



열 교환 패널하부의 오염물질 개선

- 출처 : SuperMAX USA Inc. 홍보자료 참조

- 해당국가 : 미국
- 해당기업 : Magne Gen.
- 제품명 : SUPERMAG, PIPE PROTECTOR



SUPERMAG



PIPE PROTECTOR

- 주요 특징
 - 자기활성된 물을 급여한 식물의 열매가 시드는 것을 방지하는 효과확인
 - 농가에서 오이를 생산하는데 이용한 결과 본 제품의 사용한 식물의 수확량이 증가하는 것을 확인함



열매의 병충해 방지 상승능력



야채 및 채소의 수확량 증가

- 출처 : Magne Gen. 홍보자료 참조

2. 국내에서 미미하게 수행되고 있는 자기활성수의 이화학적 연구에 대한 다수의 논문 확보가 온도변화에 따른 자기활성수의 메카니즘 및 생물학적 이용에 대한 정보 제공

This article was downloaded by: [Yonsei University]
 On: 13 November 2012, At: 04:36
 Publisher: Taylor & Francis
 Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Drying Technology: An International Journal

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.tandfonline.com/loi/ldrt20>

Effects of Electric and Magnetic Field on Freezing and Possible Relevance in Freeze Drying

M. W. Woo^a & A. S. Mujumdar^b

^a Department of Chemical Engineering, Monash University, Melbourne, Victoria, Australia

^b Mechanical Engineering Department, National University of Singapore, Singapore

Version of record first published: 27 Apr 2010.

Breaking van der Waals Molecules with Magnetic Fields

R. V. Krems*

Harvard-MIT Center for Ultracold Atoms, Department of Physics, Harvard University and Institute for Theoretical Atomic, Molecular and Optical Physics, Harvard-Smithsonian Center for Astrophysics, Cambridge, Massachusetts 02138, USA
(Received 29 September 2003; published 28 June 2004)

It is demonstrated that weakly bound van der Waals complexes can dissociate in a magnetic field through coupling between the Zeeman levels. The Zeeman predissociation process is shown to be efficient and it can be controlled by external magnetic fields.

DOI: 10.1103/PhysRevLett.93.013201

PACS numbers: 34.20.Gj, 32.60.+i, 32.80.Pj, 34.50.-s

제 7 장 연구시설·장비 현황

- 해당사항 없음

제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

1. 연구실 안전관리 교육

- 가. 주관기관에서 실시하는 연구실 안전교육 연구책임자 이수 완료
- 나. 참여연구원 및 소속 연구원(대학원생 등) 안전 교육 이수완료

2. 연구책임자 외 참여연구원이 소속된 연구실 안정적인 관리 유지

- 가. 주관기관에서 주기적인 연구실 안전점검 실시
- 나. 연구실 내 자제 점검표 및 안전일지 구비완료

제 9 장 참고문헌

- Aderem A, Underhill DM (1999): Mechanisms of phagocytosis in macrophages. Annual review of immunology 17.1: 593-623.
- An, J. H., and Kim, Y. J. (2003): Effect of feeding mugwort powder on the physico-chemical properties of pork. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 23: 16-20.
- Beenu M. J., Marek B., Mariola D., Pawel L., Marta W (2015): Proteomic analysis of porcine endometrial tissue during peri-implantation period reveals altered protein abundance. Journal of Proteomics 125:76-88.
- Brewer, M. S., Ikins, W. G., and Harbers, C. A. Z. (1992): TBA values, sensory characteristics and volatiles in ground pork during long-term frozen storage: Effect of packaging. *J. Food Sci.* 57:558-563.
- Bruce Furie, Barbara C. Furie (1988): The molecular basis of blood coagulation. Cell press 53:505-518.
- Caine, W. R., Aalhus, J. L., Best, D. R., Dugan, M. E., and Jeremia, L. E. (2003): Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Sci.* 64:333-339.
- Choi, J. S., Lee, J. H., Lee, H. J., Jang, S. S., Lee, J. J., and Choi, Y. I. (2012): Effect of Stevia and Charcoal as an Alternative to Antibiotics on Carcass Characteristics and Meat Quality in Finishing Pigs. *Korean J. Food Sci. An.* 32(6): 835-841.
- Choi, Y. S., Pack, B. Y., Lee, S. K., Kim, I. S., and Kim, B. C. (2002): Composition and physico-chemical properties of vacuum packaged Korean pork loins for export during cold storage. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 22:151-157.
- Coresopo, F. L., Millan, R., and Moreno, A. S. (1978): Chemical changes during ripening of spanish dry. III. Changes in water soluble N-compounds. *A Archivos de Zootechia.* 27:105-108.
- Demeyer, D., Hoozee, J., and Mesdom, H. (1974): Specificity of lipolysis during dry sausage ripening. *J. Food Sci.* 39:293-296.
- Geering B, Stoeckle C, Conus S, Simon HU (2013): Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. Trends in immunology 34.8:398-409.
- Hamm. R. (1961): Biochemistry of meat hydration. *Adv. Food Res.* 10:355-463.
- Harris TN, Grimm E, Mertens E, Ehrich WE (1945): The role of the lymphocyte in antibody formation. The Journal of experimental medicine 81.1:73-83.
- Hye-Jin Lee and Myung-Hee Kang (2013): Effect of the magnetized water supplementation on blood glucose, lymphocyte DNA damage, antioxidant status, and lipid profiles in STZ-induced rats. Nutrition Research and Practice 7(1):34-42.
- J.C. Garcia, M. Abad, R.N. Kirkwood (2007): Effect of sperm numbers and time of insemination relative to ovulation on sow fertility. Animal Reproduction Science

100:397-401.

- Jeon, M. S., Shim, J. W., and Yoon, S. (2013): Effect of Different Cooking Methods and Temperatures on Physicochemical and Sensory Properties of Pork Hams: Ocoo, Sous-Vide, steaming, and boiling. *Korean J. Food Cookery Sci.* 29: 309-316.
- Jeon, S. I., D-R. Kim, and S. K. Lee (2001): Changes of solubility speed of salts in magnetized water and crystal patterns of NaCl, KCl and gypsum intermediated by magnetized water. *Journal of Korean Chemical Society* 45.2:116-130.
- Jin, S. K., Kim, I. S., Song, Y. M., Kang, S. N., Je, J. J., Oh, J. Y., Min, H. S., and Min, C. S. (2009): The Effect of Ion Water and Premixed Mineral Supplementation on the Growth Performance, Carcass, and Meat Quality Parameters in Finishing Pigs. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 29:252-259.
- Jukka T. Salonen, MD, PhD, MPH; Riitta Salonen, MD; Kari Seppanen, MPH; Rainer Rauramaa, MD, PhD; and Jaakko Tuomilehto, MD, PhD (1991): HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern Finnish men. *American Heart Association* 84:129-139.
- KARIN WOLLENHAUPT, KATI REINKE, KLAUS-PETER BRUSSOW, WILHELM KANITZ, WOLFGANG TOMEK (2011): 4E-BP1 Degradation and eIF4E Truncation Occur Spatially Distinctly in the Porcine Uterine Epithelia and Are Features of Noninvasive Implantation in the Pig. *Molecular Reproduction & Development* 78:895-905.
- Kim YJ, Lee SH, Jung SJ, Park CK (2014): Effects of Magnetized Medium on In Vitro Maturation of Porcine Cumulus Cell-Oocyte Complexes. *Journal of Magnetics* 19.3:241-247.
- Kim, C. B., Yang, C. J., Shim, K. H., Jung, H. S., and Choi, O. J. (2013): Feeding Effects of Zeolite on the Quality Property of Pork Loin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42(12):2028-2034.
- Kim, I. S., Min, J. S., Lee, S. O., Shin, D. K., Lee, J. I. and Lee, M. H. (1998): Physicochemical and sensory characteristics of domestic vacuum packaged pork loins for export during chilled storage. *Kor. J. Ani. Sci.* 40:401-413.
- Korean Food & Drug Administration. (2014): *Food Code*. Munkyungsa, Seoul. p 212-251.
- Lee HJ, Kang MH (2013): Effect of the magnetized water supplementation on blood glucose, lymphocyte DNA damage, antioxidant status, and lipid profiles in STZ-induced rats. *Nutrition research and practice* 7.1:34-42.
- Lee SH, Park CK (2015): Effect of magnetized extender on sperm membrane integrity and development of oocytes in vitro fertilized with liquid storage boar semen. *Animal Reproduction Science* 154:86-94.
- Lee, J. I., Lee, J. D., Ha, Y. J., Jung, J. D., Lee, J. W., Lee, J. R., and Kim, D. H. (2005): Effects of dietary silkworm droppings on quality characteristics of pork loin. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 25(2):175-188.
- Lee, J. I., Min, H. K., Lee, J. W., Jeong, J. Doo., Ha, Y. J., Kwack, S. C., and Park, J. S. (2009): Changes in the Quality of Loin from Pigs Supplemented with Dietary Methyl

- Sulfonyl Methane during Cold Storage. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 29:229-237.
- Moon, Y. H. (2008): Effect of feeding citrus byproducts on pork quality during cold storage. *J East Asian Soc Dietary Life* 18:633-640.
- Park, B. Y., Cho, S. H., Yoo, Y. M., Kim, J. H., Chae, H. S., Ahn, J. N., Kim, Y. K., Lee, J. M., Yun, S. K. (2002): Comparison of pork quality by different postmortem pH₂₄ values. *Korean J. Anim. Technol.* 44:233-238.
- Park, J. H., Lim, O. C., Na, C. S., and Ryu, K. S. (2003): Effect of dietary supplementation of yeast culture on the performance, nutrient digestibility and physico-chemical characteristics of the pork in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science and Technology.* 45(2):219-228.
- Park, J. H., Lim, O. C., Na, C. S., and Ryu, K. S. (2003): Effect of dietary supplementation of yeast culture on the performance, nutrient digestibility and physico-chemical characteristics of the pork in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science and Technology.* 45(2):219-228.
- Prasad S Benjamin (1980): Multinationalism, Japanese Style. Academy of Management. The Academy of Management Review (pre-1986) 5.000004: 616.
- Sang Il Jeon, Dong Ryul Kim, Sung Hyun Lee, Dong Suk Kim, and Suk Keun Lee (2002): Study on the Effect of Magnetized Water in the Precipitation Reaction of Salts and in the Hydration Hardening Speed of Gypsum Plaster. *Journal of Korean Chemical Society* 46:7-13.
- Seol, K. H., Kim, K. H., Joo, B. J., Kim, J. E., Kim, K. S., Kim, Y. H., Park, J. C., and Lee, M. H. (2014): The effect of high omega-3, -6 fatty acid feeding on the free fatty acid profile and meat quality traits of pork loin. *CNU Journal of Agricultural Science* 41:213-220.
- Seong, P. N., Cho, S. H., Kim, J. H., Kang, G. H., Park, B. Y., Lee, J. M., and Kim, D. H. (2010): Changes in haem pigments, peroxide value, TBARS, free fatty acid contents and fatty acid composition of muscles from low fat pork cuts during chilled storage. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 30:427-434.
- Sung Hyun Lee, Suk Keun Lee, Sang Il Jeon (2009): Study on the Critical Micelle Concentration Changes of Surfactants in Magnetized Water. *Journal of Korean Chemical Society* 53:125-132.
- WALKER J, TURNBULL E (1955): The environment of the foetus in human multiple pregnancy. *Etudes Neonatales* 4.3:123-48.
- Watanabe Y, Nakagawa M, Miyakoshi Y (1997): Enhancement of lipid peroxidation in the liver of mice exposed to magnetic fields. *Industrial health* 35.2:285-290.
- Weetman AP (2010): Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nature Reviews Endocrinology* 6.6:311-318.
- Witte, V. C., Krause, G. F. and Baile, M. E. (1970): A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.* 35:582-585.
- Woo-Sung Kwon, Md Saidur Rahman, June-Sub Lee, Sung-Jae Yoon, Yoo-Jin Park, Myung-Geol Pang (2015): Discovery of Predictive Biomarkers for Litter Size in Boar

Spermatozoa. *Molecular & Cellular proteomics* 14:1230-1240.

Wu WZ, Wang XQ, Wu GY, Kim SW, Chen F, Wang JJ (2010): Differential composition of proteomes in sow colostrum and milk from anterior and posterior mammary glands. *Journal of animal science* 88.8:2657-2664.

Yates, L. D., Dutson, T. R., Caldwell, J., and Carpenter, Z. L. (1983): Effect of temperature and pH on the post-mortem degradation of myofibrillar proteins. *Meat Sci.* 9:157.

Zayas, J. F. (1985): Structural and water binding properties of meat emulsions prepared with emulsified and unemulsified fat. *J. Food Sci.* 50:689-692.

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

신청과제명	돼지의 성장과 면역 및 번식능력 평가에 의한 항생제 대체 자기활성수 시스템 개발		
주관연구책임자	박 춘 근	주관기관	강원대학교 산학협력단

1. 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
자기활성화 기술	일본	20	40	60	
정액보존 및 체외수정 기술	미국	70	70	85	
임신돈 및 비육돈 사양기술	미국	60	50	70	

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) 현재 기술수준은 선진국 100% 대비 우리나라 및 신청한 연구팀의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 당해과제 완료 후 선진국 100% 대비 목표수준 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비교란에 작성

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	<p>농,축산물 음용수용 자화이온활성수기 (Magnetizing solion for agro-livestock products drinding)</p> <p>본 고안은 자화이온활성수기에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 자화이온활성수를 만들기 위해 몸체의 내부에 1차적으로 원수를 육각고리 형태의 이온화수로 만드는 자화필터가 형성되고, 상기 자화필터에서 배출되는 이온화수는 모든 불순물을 제거하기 위해 2차적으로 부직포필터에 유입되어 불순물을 제거한 후, 배출되는 이온화수의 철분 및 세균을 제거하기 위한 게르마늄 자화필터가 형성되는 자화이온활성수기에 관한 것이다.</p>

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		자기활성수(자화수)를 이용한 가축생산	자기활성수(자화수)를 이용한 번식능력향상
Keyword		자기활성수(자화수), 가축	자기활성수(자화수), 번식, 생식세포
검색건수		10	0
유효특허건수		9	0
핵심특허 및 관련성	특허명	농,축산물 음용수용 자화이온활성수기	-
	보유국	한국	-
	등록년도	2007	-
	관련성(%)	10%	-
	유사점	자기활성수를 이용한 살균작용	-
	차이점	게르마늄 첨가	-

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총 검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 특허를 의미
- 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	국내, 미국, 일본, 유럽
논문 DB	Aureka DB, pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성





개발기술명		자기활성수(자화수)를 이용한 세포배양	자기활성수(자화수)를 이용한 번식능력 평가
Keyword		자기활성수(자화수), 세포	자기활성수(자화수), 번식
검색건수		30	5
유효논문건수		2	2
핵심논문 및 관련성	논문명	Effects of Magnetized Medium on In Vitro Maturation of Porcine Cumulus Cell-Oocyte Complexes	Antioxidative effects of magnetized extender containing bovine serum albumin on sperm oxidative stress during long-term liquid preservation of boar semen
	학술지명	Journal of Magnetism	BBRC
	저자	Yun-Jung Kim, Sang-Hee Lee, Jung-Soo Jung, Choon-Keun Park	Sang-Hee Lee, Choon-Keun Park
	게재년도	2014	2015
	관련성(%)	40%	40%
	유사점 차이점	자기활성수의 효과 실험샘플	자기활성수의 효과 실험샘플

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

- 언론매체를 이용한 시장현황과 제품의 특징을 조사

진출기업 (대표)	해당년도	주요특징	
(주)한나래 그린월드	2004	‘특고자성 자화수기’, 수도 계량기 옆에 부착해 수돗물을 소립수로 분해 환원하여 활성수로 전환시키는 역할(한국일보)	
동림엔텍 (허만혁)	2007	‘아리오레스’, 자기와 전기의 전자유도 작용으로 배관 내부의 녹과 스케일을 제거 방지하여 원수와 같은 물을 배출하는 방식이 특징(한국일보)	
엠비올라	2008	‘매직세탁볼’, 매직볼에 내장되어있는 매직볼, 알카리볼, 향균볼, 마그넷볼을 바탕으로 발생하는 원적외선이 물분자의 수소결합을 끊어 물분자 집단을 작게 만들어 운동에너지를 활발히 하는 제품(ebuzz)	
듀벨	2009	‘G7’ 기존 연수기는 물속의 칼슘이나 마그네슘 등의 경도를 약화시켜 연수를 내보내지만 자화연수기는 물에 들어있는 미네랄 등 인체에 이로운 물질들의 손상이 전혀 없으며 특히 ‘네오디움(Neodium)’ 이라는 특수자석을 이용해 반영구적으로 사용하는 기능을 가짐(서울경제)	
코리아크린시스템 (송기봉)	2010	‘아하브153 시스템’ 수도배관의 부식을 억제해 늘 깨끗한 물을 유지할 수 있도록 하는 것뿐만 아니라 물 자체를 육각수로 바꿔주는 기능을 하여 깨끗한 물을 지속적으로 섭취 가능(천지일보)	
샘 인터네셔널	2010	‘샘 자화수기’, 기존의 자화수의 특징들과 살균실험을 실시한 결과 대장균의 수가 감소한 것을 확인, 이러한 결과를 바탕으로 간편 설치가 가능한 ‘샘 자화수기’ 를 공급(환경비즈니스)	
(주)엘빙고 (김성현)	2011	‘나고(NAGO)’, 자기부상식 순환동력부가 구비된 물을 넣어 자기활성시켜 받아현미가 빨리 성장하게 하는 방식이 특징임(한국경제)	

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

○ 국내 제품생산 및 시장 현황을 바탕으로 한 본 연구과제와의 관련성

- 국내의 시장현황은 일반생활의 편의 및 건강을 위한 자기활성수의 시장이 주로 형성되어져 있음
- 제품의 특성 중 대장균 수의 감소, 발아현미의 성장촉진, 강력한 자기장을 가진 네오디움자석을 이용한 자기활성장치 제품의 특징을 조사
- 자기활성수의 면역강화, 성장능력촉진이 이미 제품화 되어있음을 확인하였고 본 연구에서 이용하고자 하는 가축의 번식능력 향상에 있어 충분히 이용가능하다고 판단됨
- 가축시장에 있어 자기활성수를 이용하는 제품은 미미한 실정
- 강력한 반영구 자석인 네오디움자석을 이용하는 제품은 많지 않음을 확인
- 전자석을 이용하지 않고 일반자석으로 자기장의 세기를 6000 Gauss 만드는 방식을 이용하여 반영구적으로 이용하여 제품을 특성화 시키는데 있음
- 자기활성수가 가축산업 활용에 있어 저조한 실정이고 본 연구에서 실행된 연구결과와 제안하고자 하는 특별한 방식의 반영구적 네오디움 자석을 이용하여 가축에게 이용가능한 자기활성수 시스템을 산업화 하는 방향으로 추진

○ 국외 제품생산 및 시장 현황을 바탕으로 한 본 연구과제와의 관련성

- 국내와는 달리 자기활성수를 농업, 축산업에 이용하는 경우가 많음
- 국내의 수준역시 높은 기술력을 바탕으로 하고 있지만 국외에 비하여 시장 현황과 이용분야가 저조함
- 국외에서는 농업, 축산업에 이용가치가 있다고 판단되어지며 그 시장규모도 작지 않음
- 국외에서의 경우를 바탕으로 국내에서도 이용가능하다고 판단되어지며 가축시장에 이용할 수 있는 방향으로 추진

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	5,000	10,000	20,000			35,000
경제적 파급효과	10,000	15,000	20,000			45,000
부가가치 창출액	1,000	5,000	10,000			16,000
합 계	16,000	30,000	50,000			96,000

- 1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- 2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과

등 추정치

- 3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

5. 3P(특허, 논문, 제품)분석을 통한 연구추진계획

가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

- 기존 특허는 실생활 이용분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 연구팀이 보유하고 있는 논문 및 지적재산권을 중심으로 실생활에 적용가능한 가능한 방향으로 연구를 추진하여 자기활성수의 국내 및 국외에 출원할 계획임
- 기존 특허는 사람의 음용수 이용, 배관의 부식방지에 방지하는 깨끗한 물 생산등과 같은 사람에게 이용되는 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 가축산업에 이용 가능한 방향으로 연구를 추진하여 자기활성수를 이용한 가축사양체계를 구축하여 가축시장에 도입이 되는 특허 등을 국내 및 국외에 출원할 계획임

2) 논문분석 측면

- 기존 논문은 자기활성수 자체의 물리적 특성분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 생물학적 이용 방향으로 연구를 추진하여 자기활성수가 가축에게 미치는 영향에 관련된 논문 등을 SCI급의 Animal Science 분야 학술지 등에 게재할 계획임
- 기존 논문은 자기활성수가 사람의 식생활에 미치는 영향에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 돼지에 이용하는 방향으로 연구를 추진하여 자기활성수가 가축의 번식능력 향상과 생산성에 미치는 영향에 관련된 논문 등을 SCI급의 Animal Science 학술지 등에 게재할 계획임

3) 제품 및 시장분석 측면

- 국내 및 국외시장 분석결과 자력의 세기를 높이기 위한 전자석제품 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 현재 쇠퇴기에 접어들었으므로, 본 연구과제에서는 반영구적인 방식을 이용하며 자력의 세기를 강하게 할 수 있는 자석의 제조방향으로 연구를 추진하여 자기활성장치제품 등을 생산하여 국내 및 국외에 판매할 계획임
- 국내 및 국외시장 분석결과 무항생제를 이용한 법조항에 따라 무항생제 사료의 판매가 이루어지고 있으나, 현재 그 시장규모가 사료형태로 제한되어있으므로, 본 연구과제에서는 사료를 급여하는 방식이 아닌 무항생제 및 면역력이 증강하는 자기활성수 급여방향으로 연구를 추진하여 자기활성장치 뿐만 아니라 생산성을 향상시킬 수 있는 점을 강조하여 국내 및 국외에 판매할 계획임

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.