

GOVP1200611685

최 종
연구보고서

페미역을 이용한 젖소 및 가금용 기능성
사료개발에 관한 연구

Studies on Technical Development for
Functional Feed of Dairy Cattle and Poultry by
Using Dietary Brown Seaweed

연구 기관

서울대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “폐미역을 이용한 젖소 및 가금용 기능성 사료개발에 관한 연구”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 8 월 14 일

주 관 연구기관: 서울대학교

총괄연구책임자: 이 홍 구

세부연구책임자: 이 홍 구

연 구 원: 홍 중 산

연 구 원: 이 남 경

협동연구기관명: 건국대학교

협동연구책임자: 고 태 송

참 여 기 업: (주) 성진수산

요 약 문

I. 제 목

폐미역을 이용한 젖소 및 가금의 기능성 사료개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적과 필요성

사료원료의 대부분을 수입에 의존하고 있는 사료산업의 취약성과 값싼 외국 축산물과의 가격경쟁에서 상대적으로 열등한 산업구조를 가지고 있는 우리의 축산현실을 볼 때, 국내의 부존자원의 효율적인 활용을 통한 가축의 생산성 향상 및 고부가가치 축산물 생산 기술개발이 그 어느 때보다도 절실히 요구되어진다. 더 나아가 축산물 소비자들의 의식수준의 향상으로 축산물의 안전성을 고려한 환경친화적이며 안전한 축산물의 고급화를 위한 천연 사료원료의 개발이 시급한 시점이다.

본 연구에서 개발하고자하는 미역 및 미역폐기물의 가축사료화를 위한 이점은 예로부터 우리나라에서는 출산 후의 산모에게 미역국을 복용시키는 습관이 있듯이 미역은 젖 분비를 원활히 하고 피를 맑게 하여 산후조리에 좋다는 본초강목 및 동의보감에서 유래한 한의학적인 이론에 근거로 한 선조들이 우리에게만 물려준 소중한 지혜의 소산이다. 최근 이러한 미역에 대한 관심이 의학 및 식품영양학 분야에서 산후조리 및 젖분비에 미치는 영향에 관하여 많은 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구에서 미역중의 다당류인 알긴산이 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 중금속을 흡착하여 배출시키며 동맥경화를 예방하는 작용이 있는 것이 증명되었으며, 미역중의 산성 수용성다당류인 후코이단은 혈액 중에 존재하는 합황 산성다당류인 헤파린과 구조 및 생리적으로 특성이 유사하여 항혈액응고작용(Bernardi and Springer, 1962)과 항종양활성작용 (Nakazawa등, 1974)항암활성(Yamamoto et al., 1987), 항산화효과 (최진호 등, 1999)가 있음이 확인되었다. 또한 미역 중에 요드는 갑상선호르몬의 합성에 필

요하며, 이것은 소화관으로부터 포도당 흡수율을 증가시키고 세포에서의 포도당이용률(utilization) 및 단백질의 동화작용과 이화작용을 함께 증가시키며 지방대사도 촉진한다. 아울러 미역 중에는 기능성 지방산 함량 및 생리활성 광물질 함량이 풍부하다. 이러한 식품 의학적으로 탁월한 효능 및 기능성 물질이 다량 함유된 미역은 젓소 및 가금에 있어서도 긍정적인 효과가 기대되어진다.

그러나 양식 미역 폐기물의 사료자원화에 있어서 커다란 문제점은 양식미역의 수확시기가 2-4월 사이에 일시에 이루어져, 확보된 미역생초의 보관 및 안전하고 효율적인 저장이 선행되어야한다. 이들 미역 중에는 미역의 세포벽 구성 물질이라 할 수 있는 알긴산이 최고 30%이상 함유되어있어 공기 중에 노출되면 잡균에 의하여 쉽게 부패되므로 건조 또는 염장을 하지 않으면 안 된다. 그렇지만 기존의 식용미역과 같은 건조방식은 가공비용이 많아 원가상승을 초래하며, 염장을 통한 저장은 염도의 상승으로 인한 가축에 부정적인 영향을 가져올 수 있다. 따라서 이와 같은 문제를 해결하기 위한 기술개발 및 사료자원으로 이용에 있어 효과 규명 및 평가가 요구되어진다.

경제·산업적 측면에서 보면 외국 수입 축산물의 완전 개방에 따른 가격경쟁력확보를 위하여 생산성향상에 기여할 수 있는 안전하고 생리활성작용이 탁월한 사료자원의 개발이 필요하고 경제성장에 따른 고품질 축산물에 대한 소비자의 요구가 높아지고 있으며 이에 따른 농가 소득 증대를 가져올 수 있는 고부가가치 기능성 축산물 생산을 위한 천연사료 개발이 필요하다.

버려진 미역폐기물(미역을 채취하고 남은 줄기와 뿌리 그리고 포자엽 부위로 미역엽체와 모양만 다를 뿐, 오히려 폐기물에 포함된 포자엽은 종자의 조포체로서 월등한 영양소를 가지고 있음)은 전 미역 생산량 35만 톤의 약 40-60%를 점유, 14- 21만 톤이 양식장에 그대로 버려지고 있어 이를 가축의 사료로 이용한다면, 수거 처리하는 비용을 줄임은 물론 미역이 가지고 있는 생리활성 및 기능성물질을 효율적으로 가축생산에 적용할 수 있어 고부가가치 사료자원으로 이용함으로써 경제적 효과가 매우 클 것으로 사료된다. 또한 값이 싼 외국산 미역의 유입으로 위기에 처해있는 미역 양식어민의 새로운 판로의 개척을 통하여 어민의 보호와 수입증대를 가져올 수 있다.

사회·문화적 측면에서 볼 때 버려진 미역폐기물들은 남해안연안의 양식장의 심각한 오염원으로 소위 바늘구멍병 (좁쌀병) 및 아나아기병등의 원인이 되어 양식미역

생산의 치명적인 감소는 물론 해양오염이 가속화됨으로 수려한 남해의 자원이 고갈 될 우려가 높고 최근 중국 및 동남아에서의 저렴한 미역의 유입으로 미역양식의 사양화가 증가되어 미역 양식 어민들의 고통에 대한 사회적 분담이 요구되어지고 미역 및 미역 폐기물을 가축의 사료로 이용한다면 해양 오염 및 양식어민의 또 다른 수입 창출 및 유용한 천연자원의 확보측면에서 사회적으로 기여되어질 수 있다. 또한 우리 선조들이 물려준 지혜의 소산인 식재료를 가축에 응용함으로 축산발전에 기여함은 물론 전 세계에 우리의 식문화우수성에 대한 이미지를 제고할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 양식 폐미역의 가축용 기능성 사료자원으로의 개발을 위하여 젖소 및 가금의 생산성, 면역반응 및 생리반응에 미치는 영향을 조사하고, 미역양식폐기물의 저장성 확보를 위하여 알긴산 분해 미생물에 의한 발효시스템 구축 및 이렇게 생산된 발효 폐미역의 젖소 및 가금용 기능성 사료개발에 관한 연구를 실시하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용과 범위

폐미역을 이용한 젖소 및 가금의 기능성 사료개발에 관한 연구를 세부과제 별로 나누어 보면 아래와 같다.

제1세부과제명: 폐미역을 이용한 젖소 기능성 사료개발에 관한 연구
서울대학교 농생명공학부(이 홍구)
제2세부과제명: 가금의 생산성과 면역반응성에 미치는 미역제품의 영향
건국대학교 축산대학(고 태송)

제1세부과제의 연구내용과 범위:

DS-01 균주 접종량 및 시간에 따른 발효정도, 발효정도에 따른 품질의 변화양상을 조사하고 안정성 검증을 실시하였으며, *in vitro* 실험을 통하여 폐미역이 반추위 발효성상에 미치는 영향을 조사하였고 폐미역의 급여수준을 결정했으며, 발효미역 수준별 *in vitro* 발효성상을 조사하였다. 착유우에 있어서 미역이 산유량, 항병력 및 유방염과 관련된 면역관련시험을 실시하고 폐미역사료를 이용하여 홀스타인 처녀우의 성장과 번식 및 내분비관련 시험을 실시한후 비유우를 이용하여 발효미역사료의 수준별 첨가가 산유량과 혈액성상 및 내분비생리 및 유성분에 미치는 영향을 조사하였다.

제2세부(협동연구)과제 연구내용과 범위:

미역제품을 이용한 가금용 기능성 사료 개발이라는 목표아래 브로일러에서 미역제품이 생산성과 면역반응성에 미치는 영향 조사하였고, 산란계에서는 미역분말과 발효미역이 생산성과 계란의 품질에 미치는 영향을 조사하였다. 아울러 미역과 발효미역이 가지고 있는 고 기능성 성분의 가금 생산물로의 전이 실험을 실시하여 고부가가치 기능성 가금 생산물의 생산 가능성을 검증하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 미역폐기물의 첨가가 반추위 발효 정상 및 홀스타인 육성우의 성장, 번식 및 내분비생리에 미치는 영향

본 연구는 미역부산물인 반추위 발효성상에 미치는 영향과 Holstein 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향을 2개의 실험으로 나누어 조사하였다.

실험1에서는 기초사료에 미역부산물을 0, 2, 4%수준으로 첨가하여 *in vitro* 배양장치에서 3, 6, 9, 12, 24시간동안 배양한 후 반추위 pH, 암모니아태 질소, 휘발성지방산을 조사하였다. 미역부산물의 첨가 비율의 증가는 배양시간이 지속됨에 따라 pH가 대조군에 비하여 다소 높아지는 경향을 나타내었으며, 특히 배양 12시간에서는 대조구의 6.26에 비하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 암모니아태 질소의 경우 발효 3시간과 24시간에서는 미역부산물 첨가구가 대조군에 비해 낮은($p < 0.05$) 암모니아태 질소 농도를 나타내고 기타 시간대에도 낮은 경향이 나타났다. 미역부산물의 첨가는 휘발성지방산의 생성에 있어서 발효 3~12시간에서는 유의한 영향을 미치지 않았으나 발효 24시간에서는 측정된 acetate, propionate, butyrate, iso-butyrate, valerate, iso-valerate 전체 항목에서 2% 미역부산물 첨가구는 대조군과 유사한 결과를 나타낸 반면 4% 미역부산물 첨가구는 유의성 있게 낮게 나타났다($p < 0.05$).

실험2에서는 미역부산물의 첨가가 Holstein 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향을 조사한 것으로 1일 두당 180g와 360g 수준으로 급여하여 대조군과 비교하였다. 사료건물섭취량은 처리에 의해 영향을 받지 않았고 일당증체와 사료효율도 처리의 영향을 받지 않았다. 수태당 수정회수와 어린송아지 생시체중의 경우도 시험처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 혈중 호르몬과 대사산물의 경우 임신 120에서 혈중 estrogen의 농도를 보면 2%BSW이 94.14pg/ml, 4%BSW는 72.32pg/ml로 대조군 55.71pg/ml보다 각각 77.96%와 29.82%가 높았다. 임신 240일의 경우 2%BSW은 189.57pg/ml, 4%BSW는 165.22pg/ml로 대조군의 121.57pg/ml보다 각각 55.93%와 35.91% 높게 나타났다. Progesterone의 경우 처리사

이는 단계별로 별 다른 차이를 나타내지 않았으나 4%BSW의 경우 미역 첨가전의 1.94ng/ml에서 5.00ng/ml로 무려 157.73%의 증가를 보였으나 대조구와 2% BSW는 각각 69.63%와 59.20%의 증가를 보였다.

혈중 T₃과 T₄의 경우 단계별로 횡적으로 볼 때 갑상선 호르몬 합성의 증가양상은 나타나지 않았다. 다만 T₃의 경우 임신 120일과 240일에서 시험개시전보다 3.83%와 5.87% 증가하는 양상을 나타내었다. 혈중 면연단백질인 IgG는 임신 240일에서 2% BSW와 4% BSW 처리구가 각각 15.78%, 9.95%증가하였다. 혈중 대사산물인 glucose의 경우 임신기간의 증가에 따른 gluconeogenesis의 활성화에 따른 증가양상을 나타냈을 뿐 처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났으며 NEFA와 BUN도 시험 처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 그리고 시험축의 분만 후 1개월간의 산유량과 유성분을 조사한 결과 육성·임신기의 미역폐기물의 첨가가 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 보면 미역부산물의 첨가는 반추위내 pH를 안정시키고 반추위 발효 동조화를 유발시키며 유선관계의 발달에 관여하는 estrogen에 영향을 줌이 확인되어 분만 후 산유능력에 영향을 미칠 것으로 판단된다.

나. 홀스타인 비유우에 있어서 미역폐기물의 첨가가 비유성적 및 내분비 생리에 미치는 영향

본 시험은 폐미역 분말의 첨가가 Holstein 젖소의 유생산과 내분비계에 미치는 영향을 규명하기 위하여 실시하였다. 실험1에서는 폐미역 분말의 첨가수준을 결정하기 위하여 1%, 2%, 4% BSW첨가수준으로 3개월간 시험한 결과 4%수준에서 가장 유량 증가가 뚜렷한 결과를 보였다. 이와 같은 결과를 기초로 실험2에서는 기초사료에 폐미역분말을 1일 두당 4% BSW(800g)의 수준으로 급여하여 비유성적, 면역반응 및 비유관련 호르몬을 무처리구(대조구)와 비교하였다. 사료건물섭취량은 미역분말처리에 의해 영향을 받지 않았고 비유말기 산유량은 대조구에 비해 일일 6.25kg이나 높게 증가하였다(p < 0.05). 하지만 유성분은 처리구간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 대조구의 체세포수는 유동적이었지만 처리구의 체세포수는 시험 종료 시 10만개/ml로 시험개시에 비해 무려 53.77%의 감소효과를 보여 탁월한 체세포감소효과를 나타내었다. 미역분말의 첨가가 혈중 면연글로부린의 함량에는 영향을 주지 않은 것으로 나타났다. 비유에 직접적인 영향을 미치는 IGF-I의 혈장농도는 미역처리구에

서 유의성 있게 증가하였으며 비유와 직접적인 관련이 있는 또 다른 호르몬인 T₃ 와 T₄의 농도도 유의적으로 증가하는 양상을 나타내었다. 지질대사산물인 TC, HDL-C 와 LDL-C의 농도는 모두 처리구에서 증가하는 양상을 나타냈다.

이와 같이 미역부산물의 사료 중 첨가는 유생산량의 증가를 보였는데 이는 혈중 비유관련 호르몬의 분비에 영향을 준 결과로 확인된바 짓소사료자원으로서의 응용가치가 클 것으로 사료된다.

다. DS-01균주를 이용한 폐미역의 저장성 확보 및 사료화에 관한 연구

DS-01균주 접종에 의한 미역폐기물의 발효산물이 분해정도, 영양소 변화 및 미생물오염정도에 관한 관찰과 반추위 발효성상에 미치는 영향을 관찰하여 폐미역의 저장성확보와 반추동물의 사료로서의 이용가능성을 발효단계에 따라 조사하였다. DS-01균주와 함께 배양된 폐미역은 발효 1개월부터 현저한 분해율을 보이기 시작했다. 폐미역중의 영양성분함량은 발효와 함께 커다란 변화를 나타내지 않았으며 모든 처리에서 반추동물에 병원성을 가지는 미생물들도 검출되지 않았다.

반추위 pH에 미치는 영향을 보면 발효1개월 제품의 경우 9시간에서 6% 미역분말 첨가구가 타 처리구에 비하여 높은 pH를 나타내는 경향이 있었으며 발효 24시간에서 모든 발효미역 첨가구가 대조구의 6.33보다 높은 pH를 나타냈다($p < 0.05$). 발효2개월의 경우 발효 3시간에서 6%BSW첨가구가 6.92로 대조구와 2%, 4%BSW 첨가구보다 높은 경향($p=0.0540$)을 나타냈으며 발효9시간에서는 대체로 비슷한 결과를 나타내었으며, 발효 6, 12, 24시간에서는 미역부산물 첨가구가 대조구보다 높게 나타났다. 발효 3개월 미역의 경우 발효 3시간에서 대조구와 6%BSW가 같은 수준의 pH값을 나타냈고 2%BSW와 4%BSW는 타 처리구에 비해 약간 높게 나타났다. 발효 6시간에는 같은 수준의 pH값을 나타냈으나 발효 12시간과 24시간에서는 미역부산물 첨가구의 pH가 오히려 대조구보다 유의적인 감소($p < 0.05$)결과를 보였다. 발효 6개월과 발효 1년 된 미역부산을 이용한 시험에서도 발효 3시간과 6시간에는 처리간 대체로 유사한 결과를 나타내고 통계적인 유의차는 없지만 발효 9시간과 12시간 및 24시간에서는 오히려 발효미역 첨가구들이 대조구보다 낮은 pH값을 나타내었다.

반추위내 암모니아태 질소의 생성에 미치는 영향을 보면 발효 1개월 미역부산물의 경우 3시간에서는 발효미역첨가구가 대조구에 비해 높은 농도를 나타내었다. 발효 2

개월 미역부산물 첨가의 경우 발효3시간, 6시간, 9시간, 12시간에서는 처리구들이 오히려 대조구보다 낮은 암모니아태 질소 농도를 나타내었으며 발효 24시간에서도 4%BSW를 제외한 기타 처리에서 대조구 보다 낮은 암모니아태 질소 농도를 나타냈고 특히 전 발효기간동안 6%BSW처리구가 발효 3시간과 24시간에서 타 처리구에 비하여 낮게 나타나는 경향이 있었다. 발효 3개월과 6개월 미역부산물 첨가의 경우 발효3시간에서 24시간까지 전기간 동안 처리간에 유사한 암모니아태 질소 생성을 보여 통계적인 유의차를 나타내지 않았다. 발효 1년의 경우 9시간과 12시간에서 모든 발효미역첨가구가 대조구에 비해 유의적으로 높은($p < 0.05$) 암모니아태 질소 농도를 나타내었다.

반추위내 휘발성지방산의 생성에 미치는 영향을 보면 발효 1개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 6시간에서 iso-butyrate와 valerate의 농도가 유의성 있게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내었고 iso-valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서는 측정된 acetate, propionate, butyrate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 발효 2개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 보였고 valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서는 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게 나타나는 경향을 보였는데 같은 시간대의 암모니아태 질소의 농도가 타 처리구보다 낮게 나타난 결과와 결부시켜 볼 때 발효 동조화에 의해 휘발성 지방산과 암모니아태 질소의 감소를 가져온 것으로 사료된다. 이 결과 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도도 통계적인 유의차($p < 0.05$)를 나타냈다. 발효 3개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내었고 valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게($p < 0.05$) 나타나는 경향을 보였다. 이것은 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도의($p < 0.05$) 증가를 유도했다. 발효 6개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 9시간에서 iso-butyrate, iso-valerate가 현저하게 감소하고 butyrate, valerate는 감소하는 경향을 보이는 의외의 결과를 나타냈다. 발효 12개월

미역부산물의 경우 iso-butyrate 항목에서 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간에서는 증가하는 경향을 보이다 6시간에서는 통계적인 유의차가 있게($p < 0.05$) 모든 미역 발효제품 첨가구가 증가하였다. Butyrate는 6시간과 9시간에서 증가하는 경향을 나타냈으며 iso-valerate는 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간과 6시간에서 대조구보다 유의적으로 증가($p < 0.05$)하고 9시간에서는 증가하는 경향을 나타냈다. Valerate는 발효 6시간에서 모든 미역발효부산물처리구가 증가하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 발효미역중 단백질은 발효초기에 빠르게 분해되는 것이 관찰되었으며, 발효미역은 반추위 완충작용에 효과적이며 VFA생성량을 증가시키는 등 반추위 발효환경을 개선시킴이 확인되었다. 아울러 12개월 발효된 폐미역의 *in vitro* 발효성상의 결과가 초기 발효미역과 크게 다르지 않은 것을 볼 때 1년까지의 발효미역제품은 사료적 가치에 문제가 없음이 확인되었다.

라. 발효미역의 첨가가 홀스타인 비유우의 비유성적, 혈액성상 및 비유생리에 미치는 영향

본시험은 발효미역의 수준별 첨가가 Holstein 비유우의 산유량과 유성분, 혈중 호르몬과 대사산물 및 IgG와 IgA의 농도등을 조사하여 발효미역의 사료적 가치를 평가하기 위하여 실시하였다. 산유량을 보면 시험60일에서 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 28.99kg/d, 31.00kg/d, 30.39kg/d로 1%FBSW구에서 대조구에 비하여 2kg/d의 유량증가를 보였으며, D0에 대한 유량 증가 또한 대조구 -1.84kg/d에 비하여 1%FBSW는 0.23kg/d로 유의성 있는 증가를 보였다($P < 0.05$). 유지방, 유단백, SNF, MUN 등 유성분에서는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 우유중의 칼슘농도는 시험 40일에서 대조구가 13.73mg/dl, 1%FBSW이 18.02mg/dl, 16.64mg/dl로 통계적인 유의차를 나타냈다. 우유중 total cholesterol은 시험개시와 시험종료시 대조구와 유사한 결과를 나타냈다. 우유중의 체세포는 시험 60일에서 13.86-15.66만개/ml범위내(체세포 1등급기준 <20만개/ml)에 있음이 관찰되어 발효미역첨가의 효과가 관찰되지 않았다. 혈중 IgG는 시험 종료 시 처리구간 유사하게 나타났으며 IgA의 농도는 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 181.23, 207.83, 242.39 μ g/ml로 발효미역 첨가구에서 대조구에 비해 높게 나타났으나 통계적인 유의차는 없었다. 혈중 GH의 농도를 보면 1%FBSW이 0.073ng/ml로 가장 높게 나타났으나 혈중 IGF-I의 농도는 처리사이 통계적인 유의차는 없었다. 갑상선호르몬인 T4는 발효미역 첨가에 의해 뚜

렸한 증가를 보였고, 비유축진 호르몬인 prolactin은 1%FBSW이 0.76ng/ml로 가장 높게 나타났다.

혈중 대사산물인 glucose는 처리간의 유의차는 나타나지 않았으며 NEFA의 경우도 0.30-0.32mEq/dl로 처리간에 거의 같은 수준으로 나타났다. BUN의 경우 처리 40d에서 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 19.22, 17.81, 16.58mg/dl로 2%BSW가 유의적으로 낮게 나타났으나, 다른 비유기 예는 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

혈중 WBC, RBC, Hb, Hct, T-B, ALP, GOT, GPT등 항목의 측정결과 시험 20일에서는 각항목에서 처리별 차이가 나타나지 않았으며 시험 40일의 경우 혈중 GOT가 1%FBSW이 107.71IU/L로 가장 낮게 나타났고 2%FBSW가 146.71IU/L, 대조구가 163.57IU/L로 통계적인 유의차를 나타냈으나($p < 0.05$), 다른 비유기 예는 유의차를 보이지 않았다. 결과를 종합해 보면 1%수준의 발효미역을 젖소사료에 첨가는 젖소의 산유량증가에 효과적이며, 이는 비유관련 호르몬의 발현을 증가시킴으로 기인된 것으로 판단되어진다. 아울러 우유중 Ca의 함량이 현저히 증가되는 결과를 볼 때 발효미역을 보다 효율적으로 이용한다면 고능력 및 고기능성 젖소사료로의 이용가능성이 클 것으로 사료된다.

마. 급성기 반응을 활성화한 육계 병아리에서 사료중 미역 제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향

급성기 반응중인 육계 병아리 사료의 미역제품 수준이 생산성과 단백질 및 에너지 대사에 미치는 영향이 조사 되었다. 막 부화한 숫병아리 (Ross)에 기초사료 중의 밀기울 대신 0.0%(기초사료),1.0, 2.0 및 4.0 %의 미역제품을 각각 대치한 실험사료를 3주간 급여하였다. 급성기 반응은 2주령인 8, 10 및 12 일령에 복강 내 주입한 *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS)로 활성화 하고, 이때 생산성(사료 섭취량, 증체량, 사료효율), 단백질 이용성 (질소밸런스: NB ; 요산태 질소 배설량: UAN) 및 에너지 이용성(ME)을 조사 하였다.

급성기 반응중인 병아리에서, 미역제품사료는 대사체중($kg^{0.75}$)당 NB를 낮추나 사료 g당 ME값을 높였다. 미역제품수준이 높아짐에 따라 급성기 반응은 일당 증체 그리고 $kg^{0.75}$ 당 NB 와 UAN 및 ME 이용성을 점차 감소 시켰다. 육계 병아리 3주령에는 급성기 반응의 경험과 미역제품 수준에 따른 증체량 저하가 없었다. 미역 제

품 1.0% 와 2.0%사료는 육계병아리의 급성기 반응에 의한 사료섭취량 감소를 완화하였다. 정상병아리에서 미역제품 2.0% 사료는 사료 g 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 NB를 높이고 UAN 배설량을 감소시켰다. 본 성적은 미역 제품에는 급성기 반응과 상호 작용하는 물질이 있고 대조병아리에서 미역제품 2.0%사료는 체 단백질 분해량을 감소시켜 단백질 축적량을 높인다는 것을 나타내었다.

바. 미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응을 활성화한 육계병아리의 혈액 항산화균형에 미치는 영향

사료중 미역제품 수준이 타고난 면역 반응이 활성화한 육계병아리의 혈액내 항산화 효소계에 미치는 영향을 조사하였다. 막 부화한 숫병아리(Ross)에 미역제품이 0.0%(기초사료),1.0, 2.0 및 4.0 % 함유한 실험사료를 3주간 급여하였다. 타고난 면역 반응은 *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide(LPS)를 8, 10 및 12일령에 복강 내에 주입하여 활성화 하고 혈액중의 과산화물, 과산화물 분해효소, 적혈구중의 MnSOD 및 CuZnSOD 활성을 측정하였다. 타고난 면역반응의 활성화는 적혈구 세포액의 SOD 활성을 유의하게($p<0.01$) 높였고, 미역제품 1.0 및 2.0%사료는 SOD활성을 유의하게($p<0.05$) 낮추었다. 타고난 면역반응이나 미역제품사료는 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소의 활성을 높였고($p<0.01$), 과산화물 농도는 미역제품의 농도($p=0.009$)에 따라 증가하였다. 사료 중 미역제품 수준이 높아지면, 4 주령 육계병아리의 혈장 과산화물 함량은 점차 타고난 면역반응 활성화경험은 낮추고 정상 병아리는 높였다. 한편 미역제품사료는 혈장 과산화물 분해효소 활성을 기초사료보다 타고난 면역반응 활성화 경험이 있는 것에서는 높이고($p<0.05$) 정상 병아리에서는 낮추었다($p<0.05$).

본성적은 미역제품 사료와 타고난 면역 활성화는 항산화계 와 항산화 효소활성에 영향을 미치며, 미역제품 2.0% 사료를 급여한 병아리의 혈액 항산화계의 변화는 다른 사료와 다르게 나타났다.

사. 미역과 콩추출물의 상호작용이 육계병아리의 생산성과 타고난 면역반응성(친염증성 사이토카인 분비)에 미치는 영향

타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 타고난 면역반응활성화로 감소된 사료섭취량을 높이고, 뇨산태 질소의 배설량(체

단백질분해량)을 감소시켜 단백질 축적량을 높였다. 특히 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 4주령 체중을 회복시켰다. 타고난 면역반응 시에 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 혈장 과산화물 농도를 높이나 혈장 적혈구세포액의 과산화물 분해효소의 활성을 감소시켰고, 오보트랜스헤린과 TNF- α 농도는 감소시켰다. 사료중 콩추출물함유 미역은 항산화계와 친 염증성 사이토카인 생산에 영향을 미쳐서 육계병아리의 단백질 분해량을 감소시켜 생산성을 증가시킬 수 있었다.

아. 산란계 사료 중 미역과 발효미역 영양소 이용성, 생산성, 난질 및 혈장과 난백 항산화계에 미치는 영향.

본 연구는 육계병아리에서의 연구 성적을 기초로 산란계에서의 미역 과 발효미역의 항산화 및 질병저항기능성을 평가하기 위하여 산란계의 에너지와 단백질 대사, 생산성, 계란 품질 및 혈액 항산화계에 미치는 영향을 벵코마이신 함유사료와 비교하였다. 산란계 168수를 사료당 각각 42수씩 배분하여 기초사료, 기초사료의 밀기울 대신 2.0%의 미역 또는 발효미역 대치사료 및 10ppm의 벵코마이신(Vancomycin) 함유 기초사료의 네가지 실험사료를 급여하여 실험 전 3주(1회), 실험 사료급여 3주씩 4회 그리고 실험 후 3주(1회)를 급여하였다.

1). 영양소 이용성: 미역 또는 발효미역 사료를 급여한 산란계의 체중 또는 대사 체중 당($\text{kg}^{0.75}$) 질소 균형(NB)은 벵코마이신 함유사료를 급여한 것보다 유의하게 ($p<0.05$) 높았다. 발효미역 사료를 급여한 산란계의 요산 태 질소 배설은 미역 또는 벵코마이신 사료를 급여한 것보다 낮아지는 경향을 보였다. 발효미역사료의 g당 대사에너지(ME) 값은 미역사료의 값보다 유의하게 높아지나, 체중 당 또는 대사 체중 ($\text{kg}^{0.75}$) 당 ME 이용성은 유사하였다.

2). 생산성 : 산란계의 사료섭취량은 실험사육 기간($p<0.001$)의 경과에 따라 점차 감소하였고, 산란계는 미역 또는 발효미역 함유사료를 기초사료 또는 벵코마이신 함유사료보다 더 많이 섭취하였다. 산란율은 실험사육기간($p<0.001$)의 경과에 따라 점차 낮아졌으며, 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 산란율이 높았다 ($p=0.006$). 난중에 미치는 실험사육기간과 실험사료의 상호작용은 유의($p=0.004$)하여, 실험사육기간의 경과에 따라 미역이나 발효미역 함유사료는 난중을 점차 높이나 기초사료와 벵코마이신 사료는 난중을 점차 낮추었다($p<0.001$). 산란일량($p <0.001$)

과 사료효율($p < 0.001$) 은 실험 사육기간이 경과에 따라 유의하게 감소하였고, 실험 사료는 산란일량($p=0.002$) 과 사료효율($p < 0.001$)의 변화에 유의한 영향을 미쳤다. 미역, 발효미역 및 벵코마이신이 함유 사료 급여한 산란계의 사료효율은 기초사료보다 유의하게($p < 0.05$) 낮았다.

3). 난질 : 미역사료를 급여한 산란계가 낳은 계란의 호우 유닛(HU)은 실험사육 전 기간에 걸쳐서 발효미역과 벵코마이신 함유사료를 급여한 것에 비해서 유의하게 ($p < 0.001$) 높았다. 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란의 HU는 실험 두 번째 3주 및 3번째 3주 동안은 기초사료를 급여한 것에 비해서 유의하게 낮았다. 실험사육기간($p < 0.001$)과 사료($p < 0.001$)는 난각두께 와 난황색상에 유의한 영향을 미쳤다. 난각 두께는 발효미역을 급여한 산란계가 산란한 계란에서 가장 얇았으며, 미역사료와 벵코마이신 사료에서는 실험사육기간의 경과에 따라 점점 얇아졌다. 난황색상은 실험사육기간의 경과에 따라($p < 0.001$)는 유의하게 진하였으며, 발효미역을 급여한 산란계가 낳은 계란의 난황색상은 미역이나 벵코마이신 사료 보다 유의하게 농후하였다.

4) 혈장과 난백의 항산화제와 난황의 콜레스테롤 함량

가) 난백 CuZnSOD 활성과 난황 콜레스테롤 함량 : 난백 CuZnSOD활성과 HU는 미역사료를 급여한 산란계의 계란에서 가장 높고, 발효미역사료를 급여한 것에 가장 낮았다. HU값과 난백 CuZnSOD활성의 상관관계는 유의하여($r=0.53$, $n=27$, $p < 0.01$) HU값과 난백 CuZnSOD활성은 상호작용하였다. 난황의 콜레스테롤 함량은 실험사료 사이에 유의차가 없었으나, 벵코마이신을 급여했을 때 가장 높은 값을 나타내었다.

나) 적혈구세포액의 SOD와 과산화물분해효소의 활성 : 미역사료를 급여한 산란계 적혈구의 MnSOD활성은 실험사료중에서 가장 높았으며, 발효미역 및 벵코마이신 함유사료 순으로 점차 낮아졌다. 한편 CuZnSOD활성은 미역사료를 급여한 것에 가장 높고 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란 난백에서 유의하게 낮았다. 그리고 미역사료는 산란계의 적혈구의 과산화물 분해효소의 활성을 CuZnSOD활성과 반대로 발효미역사료와 벵코마이신사료를 급여한 산란계보다 유의하게 낮추었다.

다) 혈장의 과산화물 농도와 과산화물 분해효소 활성 : 혈장의 과산화물 농도는 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 낮고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에 유의하게 높았다. 한편 혈장 과산화물 분해효소의 활성은 과산화물 농도와 반대로 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 높고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 유의하게 낮았다.

2. 활용에 대한 건의

- 가. 미역등 해조류용 이용 항생제 대체제 개발과 이용 - 산업화 유도
- 나. 해조 폐기물 처리에 활용
- 다. 요석증 예방 사료 개발에 활용
- 라. 한우 번식우 사료 및 습식 TMR 사료 개발에 이용
- 마. 특허 또는 기술이전 등 실용화(2005-6년도) : 1건 이상
- 바. 국내 저명학술지(3편) 및 SCI(E)급 논문 1편 이상 투고

SUMMARY

This study was conducted to determine the effects of supplementation of brown seaweed waste (BSW) on the performance, immune and physiological responses in dairy cattle and poultry. In addition, we evaluated the feeding value of fermented brown sea waste (FBSW) by DS-01 and determined the effect of FBSW on rumen fermentation, milk and egg production, immune and physiological responses as functional feed.

In our study, we found that the supplementation of BSW did not affect to rumen fermentation, but affected to development of mammary duct system and increased significantly the milk yield with supplementation of 4% BSW. Furthermore the increased milk yield was related to lactogenic hormones as IGF-1, T₃ and T₄. In study on fermentation of BSW by DS-01 microbes, the chemical composition (CP, EE, CF, Ash) between BSW and fermented BSW(FBSW) was not different and the contamination of pathogenic microbes was not detected in FBSW. The FBSW supplementation in basal diet increased the milk yield and lactogenic hormones in Holstein lactation cows. In study of poultry, the BSW was able to interact with the acute phase response and increased protein retention via decreased breakdown of protein in birds fed brown seaweed 2.0% diet. Dietary BSW affected SOD and peroxidase activity in blood of broiler chicks during activation of innate immune response. The interaction of BSW with bean extracts increased performance of broiler chicks due to reduced protein breakdown which affected by antioxidants system and pro-inflammatory cytokine production. In addition, the BSW improved the metabolism of energy and protein performance, egg quality and blood antioxidant system in layer.

A summary about the results is as follow;

I. Effects of supplementation of brown sea waste (BSW) on ruminal fermentation, growth performance, reproduction and physiological responses in Holstein heifers

This study was conducted to determine the effects of supplementation of brown seaweed waste (BSW) on ruminal fermentation, growth performance, and reproduction and endocrine physiology in Holstein heifers. In experiment 1, the effects of different levels (0, 2, 4% of basal diet) of BSW were evaluated in a 3, 6, 9, 12 and 24 hr *in vitro* batch culture rumen microbial fermentation. The pH tended to be higher with level of BSW supplementation, the pH at 12hr was significantly higher than that of treatments without BSW ($p < 0.05$). The concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ was lower at 3hr and 24hr incubation ($p < 0.05$) than control ($p < 0.05$), also tended to be low at other incubation time. VFA values tended to be higher at 3–12 hr incubation while higher the values were observed in 4% BSW treatment at 24 hr ($p < 0.05$). In experiment 2, the effects of levels (0%, 2%, 4%) of brown sea waste (BSW) on ruminal fermentation, growth performance, reproduction and endocrine physiology were studied in Holstein heifers. DMI, AVG and FE (feed efficiency) were not affected by BSW supplementation. In addition, differences in artificial insemination times per pregnancy and live weight of calves between BSW treatments and control were not significant, however the concentrations of plasma estrogen control, 2% BSW and 4% BSW in three months pregnant were 55.71pg/ml, 94.14pg/ml and 72.32pg/ml, respectively. Furthermore 2% BSW and 4% BSW treatment in eight months pregnant were increased about 55.93% and 35.91% compared with without BSW. Although differences of progesterone levels between BSW treatment and control was not significant, that concentration in 4% BSW treatment was increased to 157.73% compared with initial level of experiment. Triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) levels were also higher in both three months and eight months pregnant than initial level of experiment ($p < 0.05$). The plasma total IgG

levels in eight months pregnant cows fed 2% BSW was increased to 15.78% compared with control group ($p < 0.05$), but plasma metabolites (NEFA and BUN) and IgA levels were not significantly different between groups. In addition since BSW treatments for one month did not affect daily milk yield and composition.

In conclusion, the present results could be summarized that the supplementation of BSW does not improve effect on rumen fermentation, but may affect to development of mammary duct system.

II. Effect of brown seaweed waste supplementation on lactational performance and endocrine physiology in Holstein lactation cows

This study was conducted to investigate effects of the BSW supplementation on milk production and related endocrine response in serum in Holstein dairy cows. A total of 14 Holstein dairy cows (initial mean live weights 625kg, average lactation days 225, Reproduction, 2.4) were randomly allocated into control and treatment groups with 7 replications for 90 days. Dry matter intake was not affected by BSW supplementation, but daily milk yield (kg) significantly increased 6.25kg in treatment group compared with control group ($p < 0.05$) at the last experiment. The plasma insulin-like growth factor (IGF) -1, triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) levels were significantly increased in treatment group compared with control group ($p < 0.05$), although the concentration of plasma growth hormone (GH) was not significantly different. Milk composition was not significantly different between groups. The somatic cell count (SCC) in milk were significantly reduced in treatment group compared with control group ($p < 0.05$), but antibodies (total IgG, G1, G2) were not significantly different between groups.

Therefore we strongly believe that the increased milk yield is related to metabolic hormones as IGF-1, T_3 and T_4 and the mechanism of reducing SCC in milk must do more study related nonspecific immunosystem in the future.

III. Feed evaluation of brown sea waste (FBSW) fermented by DS-01 microbe and effect of FBSW on *in vitro* fermentation

This study was conducted to determine the feed evaluation of FBSW and effect of FBSW on rumen fermentation. The chemical composition (CP, EE, CF, Ash) between BSW and FBSW was not different. The contamination of pathogenic microbes was not detected in FBSW.

The pH value tended to be higher with level of 6% supplementation of fermented BSW for one month supplementation than other treatments, the pH at 24hr was significantly higher than that of treatments without FBSW ($p < 0.05$). In fermented BSW for two months, the pH value in 6% FBSW at 3 hr *in vitro* fermentation tend to be higher than 2% or 4% BSW treatments ($p=0.0540$). However in other fermentation times were not show difference. In fermented BSW for three months, the pH values in 2%, 4% and 6% FBSW at 3 hr *in vitro* fermentation were 6.55, 6.59, 6.58 and 6.55, and those at 6hr were 6.45, 6.44, 6.44 and 6.44 respectively. The change in pH value *in vitro* fermentation of BSW fermented for six months and one year tend to be similar between treatments. *In vitro* trial, although the concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ of BSW fermented for one year was higher than control at 9 hr and 12 hr ($p < 0.05$).

Iso-butyrate and valerate values were significantly increased in 4 and 6% BSW fermented for one year at 6 hr incubation ($p < 0.05$). In BSW fermented for two months, the concentration of acetate and butyrate were significantly increased in 6% treatment at 9 hr ($p < 0.05$), tended to be higher at 3~12 hr incubation while higher the values were observed in 4% BSW treatment at 24 hr ($p < 0.05$).

IV. Effectsof fermented brown sea waste (FBSW) on milk production, composition and physiological response as functional feed for 40 days in Holstein lactation cows.

This study was conducted to determine effects of FBSW on milk production, composition and physiological response as functional feed for 40 days in Holstein lactation cows. Daily milk yield and composition (fat, protein, SNF, MUN) were not affected by FBSW supplementation, but Ca level (mg/dl) significantly increased 4.29mg/dl and 2.91 mg/d in 1% 2% groups compared with control group ($p < 0.05$) at the last experiment, respectively. Although the somatic cell count (SCC) in milk was not significant, it was reduced in treatment group compared with control group at the day 20 and day 40, but plasma total IgG level tended to be higher for 1% FBSW group than other groups. The plasma growth hormone (GH), insulin-like growth factor (IGF)-1 and prolactin were increased in 1% FBSW compared with control and 4% FBSW group at the last experiment, but triiodothyronine (T3) and thyroxin (T4) levels were not significant. Concentrations of plasma glucose in control, 1% FBSW and 2% FBSW groups were 64.37mg/dl, 66.15mg/dl and 73.02mg/dl and plasma NEFA level was 0.30~0.32mEq/dl. Concentrations of BUN tended to be higher for FBSW groups than for control group. Although WBC, RBC, Hb, Hct, T-B, ALP, and GPT levels were not affected by FBSW supplementation, GOT level was significantly decreased in cows fed 1% FBSW diet compared with control group ($P < 0.05$).

Therefore we strongly believe that the 1% FBSW supplementation in basal diet increased calcium(Ca) level and the lactogenic hormones as GH and prolactin in Holstein lactation cows. We suggest that it can be contributed to improve the animal production and health.

V. Effect of dietary brown seaweed levels on the protein and energy metabolism in broiler chicks activated acute phase response

Effects of dietary brown seaweed product levels on performance and metabolism of protein and energy were investigated in broiler chicks that were

activated the acute phase response. One-day old chicks were fed diets containing either 0.0 (basal), 1.0, 2.0 or 4.0 % brown seaweed products for 3 weeks. The acute phase response was activated by injecting i.p. the *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS) at 2nd week of age. The acute phase response lowered nitrogen balance(NB)/kg^{0.75}(metabolic body size) and highered dietary ME values in birds fed diets containing brown seaweed product. Increase in dietary brown seaweed products levels lowered daily gain, and NB, uric acid nitrogen(UAN) excretion and ME utilization per kg^{0.75} in chicks with the acute phase response. But the dietary brown seaweed product level did not affect the performance of 3 week old broiler chicks that experienced the acute phase response. And the brown seaweed products 1.0 and 2.0% diets lessened the feed intake reduction caused by the acute phase response in broiler chicks. The brown seaweed 2.0% diet increased NB/g diet or kg^{0.75} and decreased the excretion of UAN/g diet or kg^{0.75}. This result indicated that the brown seaweed was able to interact with the acute phase response and increased protein retention via decreased breakdown of protein in birds fed brown seaweed 2.0% diet.

VI. Effect of dietary brown seaweed product levels on the antioxidant system in broiler chicks activated innate immune response

Effect of dietary brown seaweed(*Undaria pinnatifida*) levels on the anti-oxidant enzyme system was evaluated in blood of broiler chicks activated innate immune response. Day-old broiler chicks were fed diets containing 0.0(basal), 1.0, 2.0 and 4.0 % of brown seaweed product for 4 weeks. The innate immune response was activated by injecting *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS) i.p. at 8, 10 and 12 day of age. The activation of innate immune response enhanced($p < 0.01$) and the brown seaweed product 1.0 and 2.0% diets reduced($P < 0.05$) significantly the superoxide dismutase(SOD) activity in erythrocyte cytosol. The innate immune response elevated significantly the levels of peroxide and the activity of peroxidase in plasma, while the levels of dietary

brown seaweed product resulted in a significant linear increase in peroxidase activity. Experience of the innate immune response reduced linearly the plasma level of peroxide with the level of dietary brown seaweed product and enhanced the plasma peroxidase activity. And the plasma of normal birds fed the brown seaweed gave higher level of peroxide and lower activity of peroxidase than those of basal diet. The results indicated that dietary brown seaweed affected SOD and peroxidase activity in blood of broiler chicks during activation of innate immune response.

VII. Interaction of brown seaweed with bean extracts on performance and innate immune response (proinflammatory cytokine secretion) of broiler chicks

In broiler chicks activated the innate immune response, diet containing 2.0% of brown seaweed with bean extracts increased diet intake and protein retention by lowering protein decomposition(uric acid nitrogen excretion). And brown seaweed with bean extract recovered body weight of 4 week broiler chicks. Brown seaweed with bean extracts diets increased peroxide levels and reduced peroxidase activity or levels of ovotransferrin and TNF- α in plasma. The results indicated the interaction of brown seaweed with bean extracts increased performance of broiler chicks due to reduced protein breakdown which affected by antioxidants system and pro-inflammatory cytokine production.

VIII. Effect of dietary brown seaweed and fermented brown seaweed on the metabolism of energy and protein performance, egg quality and blood antioxidant system in layer

In order to evaluate nutrients metabolism, performance, egg quality and antioxidant system in egg white and blood, layer fed on basal diet, diets containing 2.0% of brown seaweed(BSW), or fermented brown seaweed (FBSW) and basal diet containing 10 ppm of vancomycin.

Nutrient metabolism : Bird fed on BSW or FBSW diets showed higher nitrogen balance(NB) per body weight or metabolic body weight($\text{kg}^{0.75}$) than those fed on vancomycin diet. FBSW diet tended to lower excretion of uric acid nitrogen(UAN) of layers than that on BSW or vancomycin diets. FBSW diet contained higher($p<0.05$) ME compared with that of BSW diet, while layer fed FBSW diet utilized similar ME with those fed BSW diet.

Performance : Feed intake of layer was reduced($p<0.001$) gradually according to the passage of experimental feeding period, while layer fed on brown seaweed and fermented brown sea weed consumed more diet than those fed on basal diet and diet containing vancomycin. Egg production of layer was lowered($p<0.001$) linearly with the passage of the experimental periods and layer fed on the basal diet and diet containing vancomycin had higher($p=0.006$) egg production than those on brown seaweed and fermented brown sea weed. Experimental diets interacted with the periods significantly($p=0.004$). Birds fed on basal and vancomycin diet layed down lower weight of egg compared with those on diets brown seaweed and fermented brown seas weed depending on the passage of experimental feeding period, Daily egg mass($p <0.001$) and feed efficiency($p <0.001$) was lowered depending on the passage of experimental feeding period, while daily egg mass($p=0.002$) and feed efficiency($p <0.001$) affected experimental diets. Feed efficiency of layer fed on diets containing brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin was lower than that fed basal diet.

Egg quality : Birds fed on the brown seaweed diet layed eggs of higher($p<0.001$) Haugh unit than those fed on diets containing fermented brown seaweed and vancomycin during whole experimental feeding period. During 2nd and 3rd 3 weeks HU of eggs from layers fed diet containing fermented brown seaweed lower than those fed on basal diet. Both experimental feeding period($p<0.001$) and diet($p<0.001$) affected thickness of eggshell and yolk color significantly. Birds fed on the fermented brown seaweed laid eggs of the lowest eggshell thickness among experimental diets. As passage of experimental feeding period eggshell thickness of eggs from layers fed on diets containing brown sea

weed and vancomycin was reduced. Yolk color was more saturated depending on the experimental feeding period passed, eggs from birds fed fermented brown seaweed have more thick yolk color than those fed diet containing brown seaweed and vancomycin.

Antioxidant system of plasma and eggwhite and cholesterol content in egg yolk : The CuZnSOD activity in egg white and Haugh unit of egg showed the highest value in bird fed BSW diet and the lowest value in bird fed FBSW diet among experimental diets. And the CuZnSOD activity in egg white interacted linearly with Haugh unit of egg significantly ($r=0.53$, $n=27$, $p<0.01$), while experimental diets did not affect cholesterol content of egg yolk.

Activity of MnSOD and peroxidase in erythrocyte cytosol : The MnSOD and CuZnSOD activity in birds fed BSW diet was shown the highest value among birds fed experimental diets. While MnSOD was decreased in order of FBSW and vancomycin diets and the CuZnSOD activity in birds fed on FBSW diet was shown the lowest value among birds fed experimental diet. The BSW diet decreased significantly the peroxidase activity in erythrocyte cytosol on the contrary with the CuZnSOD activity compared with those in FBSW and vancomycin diets.

Peroxide levels and peroxidase activity in plasma : FBSW diet lowered significantly peroxidase activity in plasma compared with those in basal and vancomycin diets. Although on the contrary with the level of peroxide, FBSW diet increased significantly peroxidase activity in plasma compared with those in basal and vancomycin diets.

CONTENTS

Chapter 1. Synopsis of Study.....	31
Section 1. Necessity of study.....	31
Section 2. Purpose of study.....	34
Section 3. Contents of study.....	35
 Chapter 2. Current situation of the level of technology development related to the project.....	37
Section 1. Current situation of the level of technology development in foreign countries.....	37
Section 2. Future prospects.....	38
 Chapter 3. Results.....	40
Section 1. Effects of supplementation of brown sea waste (BSW) on ruminal fermentation, growth performance, reproduction and physiological responses in Holstein heifers.	40
Section 2. Effect of brown seaweed waste supplementation on lactational performance and endocrine physiology in Holstein lactation cows.....	60
Section 3. Feed evaluation of brown sea waste (FBSW) fermented by DS-01 microbe and effect of FBSW on <i>in vitro</i> fermentation.....	76
Section 4. Effects of fermented brown sea waste (FBSW) on milk production, composition and physiological response as functional feed for 40 days in Holstein lactation cows	101
Section 5. Effect of dietary brown seaweed levels on the protein and energy metabolism in broiler chicks activated acute phase response	116
Section 6. Effect of dietary brown seaweed product levels on the	

antioxidant system in broiler chicks activated innate immune response.....	129
Section 7. Interaction of brown seaweed with bean extracts on performance and innate immune response (proinflammatory cytokine secretion) of broiler chicks.....	140
Section 8. Effect of dietary brown seaweed and fermented brown seaweed on the metabolism of energy and protein in layer.....	149
Chapter 4. Achievements and contributions.....	164
Chapter 5. Result application.....	166
Chapter 6. References.....	168

목 차

제1장 연구개발과제의 개요.....	31
제1절 연구개발의 필요성.....	31
제2절 연구개발의 목적.....	34
제3절 연구개발의 내용과 범위.....	35
제2장 국내외 기술개발현황.....	37
제1절 국내외 관련기술의 현황과 문제점.....	37
제2절 앞으로의 전망.....	38
제3장 연구개발 수행내용 및 결과.....	40
제1절 미역폐기물의 첨가가 반추위 발효 정상 및 홀스타인 육성우의 성장, 번식 및 내분비생리에 미치는 영향.....	40
제2절 홀스타인 비유우에 있어서 미역폐기물의 첨가가 비유성적 및 내분비 생리에 미치는 영향.....	60
제3절 DS-01균주를 이용한 폐미역의 저장성 확보 및 사료화에 관한 연구.....	76
제4절 발효미역의 첨가가 홀스타인 비유우의 비유성적, 혈액정상 및 비유생리에 미치는 영향.....	101
제5절 급성기 반응을 활성화한 육계 병아리에서 사료중 미역 제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향	116
제6절 미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 혈액 항산화균 형에 미치는 영향	129
제7절 미역과 콩추출물의 상호작용이 육계병아리의 생산성과 타고난 면역반응성 (친염증성 사이토카인 분비)에 미치는 영향.....	140
제8절 산란계의 영양소 이용성, 계란 생산성, 난질 및 항산화계에 미치는 산란계 사료 중 미역과 발효미역의 영향.....	149
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	164

제5장 연구개발결과의 활용계획.....166

제6장 참고문헌.....168

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

사료원료의 대부분을 수입에 의존하고 있는 국내의 사료산업의 여건, 가축에 항생제 사용규제의 강화 및 친환경에 대한 관심이 고조되고 있는 우리의 축산 현실에서 고 기능성 부존자원의 사료화를 통한 가축의 생산성 향상 및 고부가가치 축산물 생산 기술개발이 그 어느 때 보다 절실히 요구되어진다.

본 연구에서 개발하고자하는 양식 미역폐기물의 가축사료화를 위한 잇점은 예로부터 우리나라에선 출산후의 산모에게 미역국을 복용시키는 습관이 있듯이 미역은 젖분비를 원활히 하고 피를 맑게 하여 산후조리에 좋다는 본초강목 및 동의보감에서 유래한 한의학적인 이론에 근거로한 선조들이 우리에게만 물려준 소중한 지혜의 소산이다. 최근 이러한 미역에 대한 관심이 의학 및 식품영양학 분야에서 산후 조리 및 젖분비에 미치는 영향에 관하여 많은 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구에서 미역중의 다당류인 알긴산이 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 중금속을 흡착하여 배출시키며 동맥경화를 예방하는 작용이 있는 것이 증명되었으며, 미역중의 산성 수용성다당류인 후코이단은 혈액 중에 존재하는 함황 산성다당류인 헤파린과 구조 및 생리적으로 특성이 유사하여 항혈액응고작용(Bernardi and Springer, 1962)과 항종양 활성작용 (Nakazawa등, 1974)항암활성(Yamamoto et al., 1987), 항산화효과 (최진호 등, 1999)가 있음이 확인되었다. 또한 쥐에 있어서 미역중 알긴산 및 푸코이단은 혈중 콜레스테롤 수치를 감소시키고(Kimura 등, 1996), 면역방어기능을 활성화시키는 것으로 알려져 있다 (Yamamoto et al., 1987). 동물의 면역세포인 Macrophage등 식세포는 노출된 세균이나 Lipopolysaccharide (LPS) 같은 면역원을 인지하고 타고난 면역 반응(급성기 반응)을 활성화 한다 (Klasing,1998). 급성기 반응은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친염증성 사이토카인 분비 (Gauldie등,1991)와 급성기 단백질합성을 높이고 발열을 유도하며(Gaby와 Kushner, 1999), 가금에서도 사료섭취량과 근육단백질 축적량을 감소시키고 대사율과 체중 대 장기 비율을 높인다(Benson등,1993; Koh 등,1996; Klasing과 Korver,1997,Koh등, 2004). 식용 해조류로서 갈조류의 일종인 미역(*Undaria pinnatifida*)은 건물 량 기준 34.2-48.8%의 섬유소를 함유하고 이중 가용

성은 17.5-31.3%이며, 알긴산(Alginic acid)은 가용성섬유소의 9.0-15.1%로 가장 높다(Cho 등,1995). 갈조류의 알긴산 함량(Suzuki등,1993; Kim등,1995)과 구성 D-Manuronic acid(매뉴로닉산)과 L-Guluronic acid(구류로닉산)의 조성과 분자량은 종, 산지 및 수확시기에 따라 다르다(Mori등,1981). 미역의 알긴산은 구류로닉산에 대한 매뉴로닉산의 비율 (M/G)이 높다(Lee등, 1998). 알긴산 중의 매뉴로닉산은 IL-1, IL-6 및 TNF-a와 같은 사이토카인의 생산을 자극하는 활성 다당 구조를 가지고, 구류로닉산의 상대적인 양이 많으면 면역억제 작용이 있다(Otterlei 등,1991). 이와 같이 미역 알긴산의 매뉴로닉산과 구류로닉산의 비율이 면역반응에 영향을 미치므로, 육계 병아리에 미역함유 사료를 급여하면 급성기 반응과 상호작용이 존재하여 단백질과 에너지 대사 등 생산성에 영향을 미칠 것이라는 추론과, 급성기반응과 미역제품내의 상호 작용하는 물질 그리고 정상 병아리의 체단백질의 분해를 감소시키는 물질이 혈액의 항산화 균형과 관계가 있을 것이라는 가정을 세웠다. 이와같은 명제를 증명하기 위하여 가금 사료중 미역제품 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리 혈액의 항산화 항상성에 미치는 영향에 관한 연구가 요구되어진다.또한 미역 중에 요드는 갑상선호르몬의 합성에 필요하며, 이것은 소화관으로부터 포도당 흡수율을 증가시키고 세포에서의 포도당이용률(utilization) 및 단백질의 동화작용과 이화작용을 함께 증가시키며 지방대사도 촉진한다. 아울러 미역중에는 기능성 지방산 함량 및 생리활성 광물질 함량이 풍부하다. 이러한 식품 의학적으로 탁월한 효능 및 기능성 물질이 다량 함유된 미역은 젓소 및 가금에 있어서도 긍정적인 효과가 기대되어진다.

이러한 양식미역 유래 미역 폐기물의 사료자원화에 있어서 커다란 문제점은 양식미역의 수확시기가 2-4월 사이에 일시에 이루어져, 확보된 미역생초의 보관 및 안전하고 효율적인 저장이 선행되어야 하는 것이다. 이들 미역중에는 미역의 세포벽 구성 물질이라 할 수 있는 알긴산이 최고 30%이상 함유되어있어 공기 중에 노출되면 잡균에 의하여 쉽게 부패되므로 건조 또는 염장을 하지 않으면 안 된다. 그렇지만 기존의 식용미역과 같은 건조방식은 가공비 비용이 많아 원가상승을 초래하며, 염장을 통한 저장은 염도의 상승으로 인해 가축에 부정적인 영향을 가져올 수 있다.

따라서 양식 폐미역의 젓소 및 가금의 생산성, 면역반응 및 생리반응에 미치는 영향을 보다 면밀히 조사하고, 이들의 원가절감형 저장성 확보 기술 개발을 통한 가축의 사료화의 가능성을 검토한 후 이들 저장 폐미역의 가축의 이용성에 대한 검증

이 요구되어진다.

2. 경제·산업적 측면

외국 수입 축산물의 완전 개방에 따른 우리의 축산업은 값싼 외국 축산물과의 가격경쟁이 불가피하게 되었다. 따라서 가격경쟁력확보를 위하여 국내 부존자원의 개발을 통한 원가절감형 사료자원 확보 및 안전하고 생리활성작용이 탁월한 사료자원의 개발이 절실히 요구되어진다. 이와 같은 관점에서 양식과정 중 바다에 버려지는 미역폐기물의 사료화는 해양오염원을 자원화 하여 경제적 효과가 클 것으로 사료된다. 일반적으로 양식 미역 폐기물은 전 미역 생산량 35만 톤의 약 40-60%를 점유, 14- 21만 톤으로 바다에 그대로 버려지고 있어 폐기물 처리에 따른 비용 절감 및 사료자원화에 따른 수익을 돈으로 환산하면 196억 원의 경제적 효과를 가져 올 수 있다. 아울러 버려지는 미역 폐기물은 미역을 채취하고 남은 줄기와 뿌리 그리고 포자엽 부위로 미역 엽체와 모양만 다를 뿐, 오히려 폐기물에 포함된 포자엽은 종자의 조포체로서 월등한 영양소 및 생리활성을 가지고 있어 이를 기능성 가축의 사료로 재평가된다면 그 경제적 가치는 더욱 클 것으로 사료된다. 아울러 값이 싼 외국산 미역의 유입으로 위기에 처해있는 미역 양식어민의 새로운 판로의 개척을 통하여 어민의 보호와 수입증대에 기여함으로써 타 산업의 경제창출에 공헌되어질 수 있을 것이다.

3. 사회·문화적 측면

미역 양식의 수확시 버려지는 미역폐기물들은 남해안연안의 양식장의 심각한 오염원으로 소위 바늘구멍병 (좁쌀병) 및 아나기병등의 원인이 되어 양식미역 생산의 치명적인 감소는 물론 해양오염이 가속화됨으로 수려한 남해의 자원이 고갈될 우려가 높다. 아울러 최근 중국 및 동남아에서의 저렴한 미역의 유입으로 미역양식의 사양화가 증가되어 미역 양식 어민들의 고통에 대한 사회적 부담이 요구되어지고 있다. 따라서 미역 및 미역 폐기물을 가축의 사료로 이용한다면 해양 오염 및 양식어민의 또다른 수입창출 및 가축의 유용한 천연자원의 확보측면에서 사회적으로 기여되어질 수 있을 것으로 사료된다. 더욱이 우리 선조들이 물려준 지혜의 소산인 식재료를 가축에 응용함으로써 축산발전에 기여함은 물론 전 세계에 우리의 식문화우수성에 대한 이미지 제고에 기여되어질 수 있다.

제2절 연구개발의 목적

본 연구에서는 미역 폐기물의 사료자원화를 통한 젓소 및 가금의 생산성, 면역반응 및 생리반응에 미치는 영향을 조사하고, 미역 폐기물의 가축사료로의 이용성 증진 및 저장성 확보를 위하여 남해안 해저 에서 분리 동정한 알긴산 분해력이 탁월함이 이미 입증된 *gamma proteobacterium group*에 속하는 DS01균주를 통하여 미역의 저장성, 가축의 영양소 이용성 및 생리활성 개선 효과를 동시에 가져올 수 있음을 증명하여 외국산 미역의 유입으로 위기에 처해있는 미역 양식어민의 새로운 판로의 개척과 해양오염의 방지는 물론 천연 해조사료를 통한 가축의 건강, 생산성향상 및 고부가가치 축산물의 생산의 가능성을 타진하고자 하는데 그 목적이 있다.

제1세부과제에서는 1) DS-01 균주 접종량 및 시간에 따른 발효정도 및 발효정도에 따른 품질의 변화 양상을 조사하고 안정성 검증, 2) *in vitro* 실험을 통하여 폐미역이 반추위 발효성상에 미치는 영향을 조사하고 폐미역의 급여수준을 결정하며 발효미역의 *in vitro* 발효성상을 조사 3) 착유우에 있어서 폐미역이 생산성, 항병력 및 유방염과 관련된 면역반응 및 홀스타인 처너우의 성장과 번식 및 내분비에 미치는 영향 규명 4) 발효미역의 수준별 첨가가가 비유우의 산유량과 혈액성상 및 내분비생리 및 유성분에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다.

제2세부(협동연구)과제에서는 미역제품을 이용한 가금용 기능성 사료 개발이라는 목표아래 1) 브로일러에서 미역제품이 생산성과 면역반응성에 미치는 영향 규명, 2) 산란계에서는 생산성과 계란의 품질에 미치는 미역제품의 영향, 3) 아울러 미역제품이 가지고 있는 고 기능성 성분의 가금 생산물로의 전이 실험을 실시하여 고부가가치 기능성 가금 생산물의 생산 가능성을 검증하기 위하여 실시하였다.

제3절 연구개발의 내용과 범위

1. 미역폐기물의 첨가가 반추위 발효 성장 및 홀스타인 육성우의 성장, 번식 및 내분비생리에 미치는 영향

- 실험1: 미역폐기물을 수준별로 첨가가 *in vitro* 반추위 발효성상에 미치는 영향
 - 폐미역의 영양 성분조사
 - *in vitro* 실험으로 반추위 발효성상에 미치는 영향 조사
- 시험2: 미역부산물 첨가가 홀스타인 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향
 - 홀스타인 육성 처녀우를 이용하여 수정율, 분만, 유선발달 및 재발정과 관련된 내분비학적 해석

2. 비유생리 및 번식생리학적 관점에서 폐미역의 효과 규명

- 실험 1. 홀스타인 젖소에 있어서 미역폐기물 분말이 유성적에 미치는 영향 규명
 - 홀스타인 착유우를 이용하여 미역폐기물 첨가수준이 유성적에 미치는 영향 조사
- 실험 2. 폐미역사료 (BSW)가 반추동물의 면역, 번식 및 비유생리에 미치는 효과 규명
 - 홀스타인 착유우를 이용하여 면역단백질을 조사하여 유방염 방지 정도를 조사

3. 미역발효균을 이용한 폐미역의 저장성 확보 및 사료화에 관한 연구

- 실험 1. 미역발효균을 이용한 폐미역 발효 적정화 및 발효정도에 따른 품질 평가
 - 폐미역의 발효정도에 따른 미역발효물의 물리적 성상, 영양성분 규격화 및 안전성조사
- 실험 2. 발효미역 발효 적정화 및 반추위 발효성상조사
 - *in vitro* 실험으로 반추위 발효성상에 미치는 영향 조사
 - 폐미역 발효 적정화 및 품질평가
 - 발효미역의 반추위 발효 성상 조사

4. 발효미역을 이용한 젖소용 기능성 사료 개발

- 발효미역사료가 비유우의 생산성 및 유성분 향상에 적합한 첨가방식 및 수준 결정
- 항병성 및 면역 증대 효과 조사
- 미역첨가사료의 효과검증 및 경제성 비교분석
- 기능성 우유생산을 위한 발효미역 첨가 효과 조사

5. 폐미역이 브로일러의 생산성과 면역반응성에 미치는 영향

- LPS(Bone,1991)등으로 주입하여 면역담당세포인 마크로파지를 자극하여 면역스트레스시의 생산성과 면역반응 조사
- 생산성 조사 : 면역반응 발생시의 성장, 사료섭취량, 및 사료효율과 노산배설량에 미치는 발효미역의 영향을 조사
- 면역 반응성 조사 : 혈액중 급성기 단백질인 세룰로플라스민과 오보트랜스헤린을 정량하고, 친염증성 사이토카인인 IL-1, IL-6 및 TNF- α (Tove Gullstein Jahr et al.,1997) 분비량에 미치는 발효미역의 영향을조사한다. 또는 비장세포와 말초혈관모노사이트(PBMC)증식에 미치는 발효미역의 영향을 조사

6. 산란계의 영양소 이용성, 계란 생산성, 난질 및 항산화계에 미치는 산란계 사료 중 미역과 발효미역의 영향.

- 브로일러에서의 성적을 기초로 시험사료를 조제하여, 산란계의 생산성(산란율, 난중 및 사료효율)에 미치는 영향을 조사
- 면역반응검사에서는 혈액중의 말초혈관모노사이트(PBMC)를 분리하여 PHA-P나 LPS(Bone,1991)등으로 자극하여 이에 대한 증식율과 친염증성 사이토카인 IL-1, IL-6 및 TNF- α (Tove Gullstein Jahr et al., 1997) 분비량에 미치는 발효미역의 영향을 조사
- 계란의 품질과 특성화 평가 : 난황 색상(로슈 Color Fan), TBAR(malondialdehyde량), 콜레스테롤, Carotenoids, 비타민 A, 비타민 E, 지방산 조성등을 조사하여 계란의 품질에 미치는 발효미역의 영향을 평가

제2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내외 관련기술의 현황과 문제점

식품 및 의학에서 미역의 다양한 효과는 가축의 건강, 생산성 향상 및 고부가가치 축산물의 생산을 위한 가축의 사료화의 잠재성을 간접적으로 시사하고 있다. 그 예로 일찌기 영국이나 스칸디나비아 제국에서는 미역이 가축의 사료로도 일부 쓰이고 있었으며(윤성구 등, 1995), 일본에서는 미역을 닭에 투여하여 노른자의 색깔을 밝게 하고 요오드의 함량을 높여 요오드란 이라는 상표로 일본 등지에서 고가에 거래되고 있다. 또한 러시아의 한 과학자는 장기간의 연구를 거쳐 요오드의 결핍은 젖소체내의 물질교환을 파괴하며, 체내의 영양결핍을 초래하여 산유량을 감소시키며 요오드가 결핍할 때 젖소의 탄수화물, 지방, 단백질 등의 물질교환이 파괴되어 비타민 A, Ca, P 등 원소가 결핍하게 되고 젖소의 간 기능과 갑상선기능에 이상이 생기고 적혈구의 변형이 초래된다. 요오드가 결핍된 소에게 요오드를 보충한 결과 체내 물질교환이 점진적으로 정상화되었고 산유량이 급속히 증가하였다고 보고하였다. 이로부터 미역 중 다량 함유된 요오드도 동일한 효과가 있을 것으로 보여 진다. 이와 같은 효과는 우리선조들이 임산부에게 미역을 섭취시킴으로 산후 조리는 물론 젖분비촉진을 위한 식품으로 애용했다는 점에 납득되어지며, 이들 미역중 성분이 분명히 가축의 번식 및 젖생산에 밀접한 관계가 있을 것이라는 확신을 가능케 한다. 독일의 Nutra Sweet Kelco사는 해초중 오메가-3지방산함량이 많이 함유되어있음을 착안해 해초를 병아리 때부터 먹여 기른 달걀을 DHA 건강달걀로 상품화하여 '97 전 유럽 개량식품 분야에서 최우상을 수상하고 전 유럽에 판매망을 구축한 예도 있다. 한편 쥐에 있어서 미역중 알긴산 및 푸코이단은 혈중 콜레스테롤 수치를 감소시키고 (Kimura 등, 1996), 면역방어기능을 활성화시키는 것으로 알려져 있다 (Yamamoto et al., 1987). 동물의 면역세포인 Macrophage 등 식세포는 노출된 세균이나 Lipopolysaccharide (LPS) 같은 면역원을 인지하고 타고난 면역 반응(급성기 반응)을 활성화 한다 (Klasing, 1998). 급성기 반응은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친염증성 사이토카인 분비 (Gauldie 등, 1991)와 급성기 단백질합성을 높이고 발열을 유도하며 (Gaby와 Kushner, 1999), 가끔에서도 사료섭취량과 근육단백질 축적량을 감소시키고 대사율과 체중 대

장기 비율을 높인다(Benson 등,1993; Koh 등,1996; Klasing과 Korver,1997,Koh 등, 2004)는 연구 논문도 발표되고 있다. 1999년 미국 영양학회지에서 Sharon T. 등은 홀스타인 비유우에 해조류 약 1kg 6주간 급여했을 때 최근 항암, 당뇨병억제효과 및 다이어트 등에 효과가 있다고 알려진 CLA가 우유중 그 함량이 무첨가구에서 0.37g/100g fat (대조구) 비하여 해조류 첨가구에서는 2.62g/100g fat 로 뚜렷한 증가를 보였으며 DHA 또한 무첨가구는 0g/100g fat 비하여 0.76g/100g fat의 증가를 보이는 결과를 발표했다.

문제점 : 양식미역 및 미역폐기물의 사료자원화에 있어서 커다란 문제점은 양식미역의 수확시기가 2-4월 사이에 일시에 이루어져 있어, 확보된 미역생초의 보관 및 안전하고 효율적인 저장이 선행되어야 한다. 이들 미역중에는 미역의 세포벽구성물질이라 할 수 있는 알긴산이 최고 30%이상 함유되어있어 공기 중에 노출되면 잡균에 의하여 쉽게 부패되므로 건조 또는 염장을 하지 않으면 안된다. 그렇지만 기존의 식용미역과 같은 건조방식은 가공비 비용이 많아 원가상승을 초래하며, 염장을 통한 저장은 염도의 상승으로 인해 가축에 부정적인 영향을 가져올 수 있다. 아울러 경제동물에 있어서 비유, 면역, 각종생리작용 및 기능성물질의 전이에 관한 정확한 연구 결과는 매우 미흡한 실정이다.

제2절 앞으로의 전망

양식 미역 및 버려진 폐기물을 가축의 사료로 자원화하고 이를 가축의 생리에 맞게 적용하는 기술이 개발되어 가축의 생산성 향상 및 고부가가치 축산물을 생산하기 위한 천연 사료자원으로 이용되어진다면, 양식어민의 새로운 소득원이 되며, 해양오염의 방지 및 축산에 있어서 천연 기능성 사료자원의 확보를 통한 고소득 창출이 기대되어진다.

○ 버려지는 미역 폐기물은 사료로 자원화 함으로 해양오염방지 및 어민소득증대가 기대되어진다.

- 미역 중 다량 함유되어있지만 가축이 이용할 수 없는 고분자 알긴산을 알긴산분해균에 의해 저당으로 분해함으로 가축의 영양소원으로 이용함은 물론 저분자화에 따른 면연력 및 항콜레스테롤 축적 작용도 기대되어진다. 이에 따른 기능성 사료 제조가 가능해져 생산성 향상, 농가소득 증대가 기대된다.

- 미역중 풍부한 기능성 광물질 및 생리활성 물질을 축산물중으로 전이를 통한 기능성 축산물 생산을 위한 사료자원으로 이용함으로 축산물의 경쟁력 강화가 기대된다.

제3장 연구개발 수행 내용 및 결과

제1절 미역폐기물의 첨가가 반추위 발효 정상 및 홀스타인 육성우의 성장, 번식 및 내분비생리에 미치는 영향

1. 서론

우리나라는 삼면이 바다이고 북상하는 난류와 남하하는 한류가 교류하는 지역적인 특성에 의해 해조류의 서식이 다양하고 풍부하다. 지금까지 조사보고 된 것에 의하면 우리나라 연안에 생육하는 해조류는 녹조류(*Chlorophyceae*) 98종, 갈조류(*Phaeophyceae*) 166종, 홍조류(*Rhodophyceae*)가 489종으로 총 753종이 존재한다(이와 강, 2002). 해조 생산량중 미역이 단연 1위를 차지하며 다양한 용도로 사용되고 있다.

미역에는 다당류인 알긴산이 풍부하여 콜레스테롤의 흡수를 억제(Keys 등, 1961; Tsuji 등, 1968, 1977; Kimura 등, 1996)하고 중금속을 흡착하여 배출시키며 동맥경화를 예방하는 작용이 있는 것이 증명되었으며, 미역중의 산성 수용성다당류인 Fucoidan은 Thrombin과 Factor Xa, u-PA(plasminogen activator)와 t-PA의 생성을 증가시켜 항 혈액응고 작용(Nishino 등, 1999, 2000), 항종양·항암활성(Yamamoto 등, 1984; Zhuang 등, 1995), 항산화효과(Allen 등, 2001)가 있음이 확인되었다. 아울러 미역 중에 다량 함유된 다당류의 일종인 Alginates가 효소에 의해 분해된 Alginate oligomer는 Cytokine의 분비 증가(Iwamoto 등, 2003)와 아연의 Bioavailability를 개선시킴(Yonekura와 Suzuki, 2003)으로 체내 면역시스템 활성화에도 직·간접적으로 기여되어질 수 있다.

또한 미역 중에는 광물질이 다량 함유되어 있는데 이중 다른 식품보다 요오드(I) 및 칼슘 함량이 특히 높다. I는 thyroxine(T₄)과 triiodothyronine(T₃)의 합성에 필수며(Sethi와 Kapil, 2004.) 갑상선 호르몬은 소화관으로부터 포도당 흡수율을 증가시키고 세포에서의 포도당이용률(utilization) 및 단백질의 동화작용과 이화작용을 함께 증가시키며 지방대사도 촉진시키는 작용 등 여러 가지 기능을 가지고 있어 유선발달

과 비유에도 관여한다(Hadley, 1996). Pattanaik 등(2001)이 산양의 기초사료에 일일 두당 요오드를 0.05mg과 0.075mg을 투여하였을 때 T₃와 T₄ 모두 증가하는 양상을 나타내었다. 아울러 미역중 칼슘은 일반식품에 함유된 무기태 칼슘보다 소장 내 흡수율이 높은 유기태 Ca함량이 높다. 이러한 Ca은 체내 호르몬 분비 및 조절에 중요한 광물질로 호르몬 receptor-mediated transmembrane signalling에 중요한 역할을 한다(Hadley, 1996).

해조류를 사료로 이용하려는 연구는 일찍 시도되었었다. 우리나라에서는 최초로 강(1964)이 육성 돈에서 밀기울 대체효과를 검정하기 위하여 시험을 실시하여 육성 돈의 사료에 밀기울 대신에 15%까지 모자반 가루를 첨가할 수 있음을 증명하였고 박(1968, 1970)은 유추와 중추 및 대추에서 비식용해조의 사료효과 증진시험을 실시하여 전 사료 기준으로 5~10%까지 해조류분말을 사료에 첨가할 수 있음을 증명하였다. 70년대 중반 해조류의 사료적 가치를 평가하는 시험 (김, 1974; 하 등, 1975; 한 등, 1975; 이와 김, 1976; 이, 1977)에서 해조류의 사료적 가치가 긍정적인 평가를 받았으며 90년대에 들어서서 어류(이와 장, 1994)와 육성 돈(배 등, 1999)에서 시험결과들이 발표되었으며 이등(2005)이 미역의 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 혈액 항산화 균형에 미치는 영향을 보고하였다. 젖소에 관한 연구는 백등(2004)이 미역부산물 첨가가 *in vitro* 발효성상과 젖소의 산유량 및 유성분에 미치는 영향을 보고하였을 뿐 해조류가 젖소의 성장과 번식 및 분만후의 유생산에 관한 연구는 거의 행하여지고 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 *in vitro*상에서 미역부산물이 반추위 발효성상에 미치는 영향을 조사하고 *in vivo*상에서 미역부산물의 첨가가 홀스타인 육성우의 성장과 번식, 내분비생리, 혈중대사산물 및 유생산에 미치는 영향을 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

본 연구는 부존 해양사료자원으로서 미역 부산물의 반추동물에 대한 사료적 가치 평가와 처녀우의 성장과 번식, 혈중대사산물 및 유생산에 미치는 영향을 조사하기 위하여 두개의 실험으로 나누어 실시하였다. 실험1은 기초사료에 미역부산물을 수준별로 첨가하여 *in vitro*상에서 반추위 발효성상에 미치는 영향을 조사하였고 실험2는 미역부산물의 수준별 첨가가 홀스타인 육성우의 성장과 번식, 내분비생리, 혈중대사산물 및 유생산에 미치는 영향을 조사하였다.

실험1: 미역부산물의 수준별 첨가가 *in vitro* 반추위 발효성상에 미치는 영향

가. 실험설계

실험은 미역을 수준별로 첨가하여 *in vitro* 반추위 발효성상을 조사한 것으로, 처리구는 대조구(0%), 2%, 4%의 세 수준의 실험구로 설정하였다. 기초사료는 착유우용 배합사료와 건초를 각각 50:50의 비율로 혼합하여 배양기질로 하였다.

Table 1-1. Chemical composition of experimental diets(%)

Items	Diet	
	Concentrate	Tall fescue
Chemical composition, %		
Crude protein	13.50	14.21
Crude fat	2.00	3.47
Crude fiber	10.00	26.16
Crude ash	15.00	6.24
Ca	0.90	0.14
P	0.50	0.02
TDN ²⁾	68.00	51.00

¹⁾BSW: Brown seaweed waste

²⁾ TDN: Total digestible nutrient

나. Rumen inoculum 준비와 배양방법

배양에 사용된 rumen inoculum은 반추위 cannulae가 정착된 Holstein cow로부터 얻어 실험실로 운반하였다. 운반하는 동안 39℃로 유지된 보온병에 잘 보관하였고, 운반 후 즉시 반추위 내용물(rumen content)은 사료입자를 제거하기 위해 4겹 cheesecloth에 여과하였고 항온수조에 39℃로 유지하여 보관하였다. 여과된 반추위내 용물은 CO₂로 bubbling한 rumen buffer 용액과 1:1로 혼합하여 이를 rumen inoculum으로 사용하였다. Rumen buffer 용액은 McDougal's buffer를 사용하였다. 먼저 기질 0.25g을 120ml serum bottle에 넣고 혐기상태에서 rumen inoculum 25ml을 주입하고 Bottle은 butyl-rubber stopper와 aluminum cap으로 막은 후 39℃로 설정된 항온교반기(SI-600R, Lab.companion. KOREA)에서 120rpm으로 교반하면서 배양하였으며 배양시간은 3, 6, 9, 12, 24시간으로 하였다. 각 배양시간이 끝나면 배양병 각각의 배양액을 시료로 채취하고 rumen parameter인 pH, 암모니아태 질소농도 및 휘발성지방산농도를 분석하여 미역부산물의 반추위내 발효성상을 평가하였다.

다. 분석방법

실험에 이용된 기초사료 및 미역부산물의 영양성분은 AOAC(1995)의 방법에 따라 건물, 조단백질, 에테르추출물, 조회분, 칼슘 및 인 함량을 분석하였고, ADF(acid detergent fiber)와 NDF(neutral detergent fiber)는 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석하였다. 배양한 후에 각 배양물은 pH meter(inoLab pH Level1, Germany)를 사용하여 pH를 측정 한 후 Ammonia-N 측정용은 배양물을 4℃에서 3000rpm으로 15분간 원심 분리하여 상층액을 분석시 까지 -20℃에 보관하여 사용하였으며 VFA(volatile fatty acid)분석용은 배양물에 25% HPO₃을 첨가하여 4℃에서 3,000rpm으로 15분간 원심 분리하여 상층액을 분석 시 까지 -72℃에 보관하여 사용하였다. Ammonia-N의 분석은 Chaney와 Marbach(1962)의 방법에 따라 phenol과 alkali를 동량으로 발색시킨 후 spectrophotometer(Optizen 1142H, MECASYS CO., LTD, KOREA)를 이용하여 630nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 휘발성지방산은 Erwin등(1961)의 방법에 따라 gas chromatography(VARIAN CP-3800)에 주입하여 분석하였다. 휘발성지방산분석에 사용된 column은 fused silica capillary column(30m×0.32mm, 0.5μm film thickness, HP Innowax)이었고, detector는 FID(flame ionization detector)이었다.

시험2: 미역부산물의 첨가가 홀스타인 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향

가. 공시축 및 시험설계

홀스타인 육성우 21두(평균체중419kg,)를 3처리 7반복으로 할당하여 대조구, 미역부산물 2%첨가구, 미역부산물 4%첨가구로 나누어 서울대학교 농업생명과학대학 실험목장에서 시험을 진행하였다.

나. 사양관리

모든 시험축은 NRC 사양표준에서 제시한 체중과 증체량에 따른 영양소 요구량중 단백질, TDN, Ca, P의 요구량을 감안하여 결정하였다. 농후사료의 급여는 1일 급여량을 2회로 나누어 오전 8:30분과 오후 16:00시에 급여하였으며 미역부산물은 농후사료에 혼합하여 급여하였다. 조사료 원으로 Tall fescue를 자유채식을 하게 하였고 물

과 미네랄 볼록은 자유채식하게 하였다. 시험에 사용된 사료성분은 Table 1-2, 1-3에 나타내었다.

Table 1-2. Chemical composition of experimental diets(%)

Items	Diets		
	Concentrate	Tall fescue	BSW ¹⁾
Chemical composition(%)			
Crude protein	13.50	14.21	8.37
Crude fat	2.00	3.47	0.87
Crude fiber	10.00	26.16	11.53
Crude ash	15.00	6.24	35.84
Ca	0.90	0.14	1.05
P	0.50	0.02	0.24
I	-	-	7.8 ²⁾
TDN ³⁾	68.00	51.00	43.20

¹⁾ BSW: Brown seaweed waste

²⁾ I=7.8mg/100g

³⁾ TDN: Total digestible nutrient

Table 1-3. Ingredient and chemical composition of experimental diets

	Control	2% BSW	4% BSW
Ingredient%		
Concentrate	36.49	37.17	35.09
Tall fescue	63.51	60.93	61.47
BSW		1.90	3.44
Total	100.00	100.00	100.00
Chemical composition%		
TDN	57.15	57.12	56.64
CP	13.95	13.84	13.76
FAT	2.89	2.83	2.82
NDF	52.14	51.46	51.76
ADF	27.53	27.07	27.34
Ca	0.45	0.47	0.47
P	0.33	0.33	0.33
I		1.35 ¹⁾	2.70 ²⁾
Moist	10.43	10.50	10.48

¹⁾ I content:1.35ppm;

²⁾ I content:2.70ppm

다. 체중과 체위측정

체중은 매 2개월 단위로 오전 9:00에 측정하였으며 체위는 시험개시전과 시험 종료시 체중 측정 후 측정하였다.

라. Sample채취 및 분석방법

1). 혈액 채취 및 분석

혈액은 시험개시전과 임신 120일, 240일 되는 날 오전 9:00시에 경정맥을 통하여 10 ml의 혈액을 해파린 처리된 진공 tube (BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions U.S.A)에 신속히 채취하여 원심분리(4℃, 3000g, 15분)후 혈장을 혈액성분 분석 때 까지 -72℃ 에 보관하였다.

2). 유량 및 유성분

유량은 ALPRO SYSTEM(Alfa Laval Agri)에 의한 자동기록으로 매일 기록하였으며 유성분은 분만 30일 오후 착유시 우유 Sample 채취기를 이용하여 채취하여 Milkoscan-133B를 이용하여 유단백, 유지방, 유당, SNF를 분석하고 Fossomatic-300을 이용하여 체세포수를 측정하였다.

3). 혈중 면역글로부린의 분석

혈장 내 Total IgG, IgA는 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay)방법으로 분석하였다. Total IgG의 분석방법을 간단히 요약하면, 96 well plate에 primary antibody:coating buffer=1:100으로 희석하여 Well당 100ul씩 넣어 실온에서 1시간 동안 Incubation 시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거하고 200ul의 wash solution으로 2회 세척한 다음 postcoat를 각각의 well에 200ul씩 넣어주고 실온에서 30분간 배양 시킨 후 용액을 제거하고 다시 전과같이 세척을 2회 실시했다. Standards와 serum sample을 희석하여 각각의 well에 100ul씩 넣고 실온에서 1시간동안 배양시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거하고 wash solution 200ul로 4회 세척해 준다. Secondary antibody:conjugate dilution buffer=1:100,000(IgA의 경우 Secondary antibody:dilution buffer=1:35,000)로 희석하여 100ul씩 넣고 1시간동안 실온에서 배양 시키고 다시 4회 세척한 후 기질을 100ul씩 넣고 푸른색을 띄면 stop solution(2N

H₂SO₄)을 50u씩 넣어 반응을 종료 시키고 450nm에서 O.D.값을 측정하였다.

4). 혈중 호르몬의 분석

혈중 Total estrogen, progesterone, T₃, T₄의 분석:

Total estrogen은 DA Total Estrogen kit(ICN Biomedicals, USA), progesterone은 CoAT-A-COUNT Progesterone kit(Diagnostic Products Corporation, USA)을 이용하여 RIA방법으로 측정하였다.

T₃와 T₄는 RIA-mat-T₃와 RIA-mat-T₄kit(Byk-Sangtec Diagnostica, Germany)을 이용하여 RIA방법으로 측정하였다.

5). 혈중 대사산물의 분석

혈중 glucose와 NEFA는 시판용 enzyme kit(和光純葯工業株式會社, 日本)을 이용하여 측정하였으며 BUN은 시판용 BUN kit(아산제약주식회사, 한국)를 이용하여 urease-indophenol법을 이용하여 파장 580nm에서 측정하였다.

마. 통계분석

시험1과 2에서 얻어진 결과는 SAS(Statistical Analysis System, Version 8.1, USA, 2000)를 이용하여 각 처리구간의 평균값을 Duncan,s multiple range test로 비교검정하였다(Steel과 Torrie, 1980).

3. 결과 및 고찰

시험1: 미역부산물의 수준별 첨가가 *in vitro* 반추위 발효성상에 미치는 영향

시험1에서는 미역부산물의 첨가가 반추위 발효성상에 미치는 영향을 조사하여 반추동물에 대한 미역부산물의 영양적 가치를 평가하였다. Table 1-4는 미역부산물이 반추위내 pH 및 암모니아태 질소농도에 미치는 영향을 나타내었다. 표에서 보시는 바와 같이 반추위내 pH는 발효 24시간동안 점진적인 감소현상을 보였다. 특히 발효

12시간에서 미역부산물 첨가구 모두가 대조구에 비해 유의하게 증가되었다($p < 0.05$). Jasaitis 등(1987)은 사료중 양이온농도와 조회분 비율이 완충능력과 깊은 상관관계가 있다고 보고하였는바 미역부산물에 다량으로 함유되어 있는 광물질이 반추위내에서 완충능력(buffering capacity)으로 나타난 결과로 사료된다. 하지만 기타 시간대에서는 처리간 유사한 결과를 나타내었다.

반추위내 암모니아태 질소농도의 경우 발효 3시간과 24시간에서 미역부산물 첨가구가 대조구에 비해 낮은($p < 0.05$) 암모니아태 질소농도를 나타냈다. 반추위내에서 생성되는 암모니아의 대부분은 사료 단백질의 분해로 생성되는 대사산물이고 이들은 반추위내 미생물의 성장에 필요한 질소원을 공급하여 미생물체 단백질 합성의 원료가 되고 이후 소장으로 이행하여 숙주동물이 필요로 하는 대부분의 아미노산을 공급하며, 미생물이 생성된 암모니아를 체내로 유입시키기 위해서는 충분한 양의 에너지를 필요로 한다(Hoover와 Stokes, 1991). 그러므로 사료단백질의 분해로 생성된 암모니아가 미생물체내 단백질 합성시 반추위내 분해성 탄수화물이 부족하면 반추위내에 암모니아가 축적되어 암모니아태 질소가 축적되고 이는 반추위벽을 통하여 흡수되고 간에서 최종적으로 요소태 질소로 전환되어 뇨로 배출(Russell과 Sniffen, 1984)되거나 타액을 통하여 재이용 된다. 미역에 다량 함유되어 있는 다당류는 alginic acid, fucoidan, laminaran 등 화학적으로 견고한 결합형태로 존재하고 그 중 alginic acid는 분자량이 5만~20만의 고분자 섬유질로서 D-mannuronic acid와 그의 이성체인 L-guluronic acid로 구성된 이질다당류(heteropolysaccharide)로 이루어져 있고 이들은 미역을 포함한 갈조류 세포벽의 대부분을 차지하며(Beresford 등, 2000; Klinkenberg 등, 2001), 반추동물에서는 구조성 탄수화물로서 작용하여 반추위 미생물에 의해 발효가 일어나면서 숙주동물에게 에너지를 공급한다(Greenweed 등, 1983a; Greenweed 등, 1983b; Beresford 등, 1999). 따라서 본 시험의 결과는 미역부산물의 첨가로 인하여 반추위내에서의 발효동조화가 더 조화롭게 일어나 암모니아태 질소의 감소결과를 가져온 것으로 사료된다.

Table 1-4. Effects of dietary BSW supplementation on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾			SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%		
pH					
3	6.62	6.60	6.63	0.009	0.4058
6	6.51	6.51	6.53	0.008	0.4664
9	6.39	6.37	6.39	0.006	0.5935
12	6.26 ^b	6.30 ^a	6.30 ^a	0.008	0.0287
24	6.22	6.20	6.22	0.013	0.8051
NH ₃ -N(mg/dℓ)					
3	7.66 ^a	6.44 ^{ab}	5.05 ^b	0.494	0.0312
6	4.94	4.44	4.66	0.221	0.6731
9	6.74	6.98	3.44	0.716	0.1039
12	8.00	6.71	4.74	0.634	0.1557
24	18.10 ^a	14.03 ^{ab}	10.43 ^b	1.212	0.0234

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 1-5는 미역부산물이 반추위내 휘발성지방산의 농도에 미치는 영향을 나타내었다. 발효 3시간에서 12시간까지는 전체 휘발성지방산의 생성량이 미역부산물의 첨가 영향을 받지 않은 것으로 나타났으나 발효 24시간에서는 전체 휘발성지방산 항목들이 2% 미역부산물을 첨가한 구에서는 대조구와 유사한 결과를 나타낸 반면 4% 미역부산물 첨가구는 유의하게(p < 0.05) 낮게 나타났다.

이상의 결과에서 미역부산물은 높은 비율의 가용성 단백질과 조회분으로 인하여 반추동물의 사료로 이용할 시 지극히 낮아질 수 있는 반추위내 pH를 다소 증가시켰고, 발효 24시간외에 acetate, propionate, butyrate, iso-butyrate, valerate, iso-valerate의 생성에 별다른 영향을 미치지 않아 *in vivo* 시험시 반추위 발효시스템에 나쁜 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다.

Table 1-5. Effects of dietary BSW supplementation on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾			SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%		
	----- Acetate, mM -----				
3	45.47	48.30	46.02	1.434	0.8253
6	53.29	52.39	55.48	0.972	0.5745
9	62.51	56.41	52.96	1.884	0.0697
12	62.58	60.98	62.97	1.607	0.8789
24	71.47 ^a	77.47 ^a	62.40 ^b	2.408	0.0057
	----- Propionate, mM -----				
3	11.78	12.78	12.75	0.473	0.7730
6	14.52	14.64	16.20	0.430	0.3446
9	17.69	15.21	15.58	0.536	0.0738
12	17.95	17.64	19.47	0.646	0.4907
24	20.70 ^{ab}	23.69 ^a	19.15 ^b	0.797	0.0357
	----- <i>iso</i> -butyrate, mM -----				
3	0.60	0.68	0.65	0.033	0.7353
6	0.69	0.67	0.76	0.022	0.3264
9	0.88	0.73	0.63	0.049	0.0872
12	0.90	0.85	0.85	0.042	0.8710
24	1.33 ^a	1.41 ^a	1.00 ^b	0.071	0.0034
	----- Butyrate, mM -----				
3	5.99	6.59	6.14	0.326	0.8504
6	7.57	7.16	7.90	0.210	0.5047
9	9.60	8.09	7.26	0.483	0.1133
12	9.65	9.09	9.25	0.407	0.8683
24	11.45 ^a	12.06 ^a	8.97 ^b	0.551	0.0116
	----- <i>iso</i> -Valerate, mM -----				
3	0.72	0.85	0.79	0.046	0.6820
6	0.80	0.78	0.87	0.023	0.4204
9	1.09	0.93	0.72	0.075	0.1259
12	1.19	1.08	1.04	0.065	0.7152
24	2.03 ^a	2.02 ^a	1.37 ^b	0.121	0.0016
	----- valerate, mM -----				
3	0.69	0.74	0.64	0.046	0.7955
6	0.83	0.76	0.81	0.022	0.4254
9	1.05	0.90	0.72	0.065	0.0827
12	1.06	1.00	0.97	0.050	0.7851
24	1.43 ^a	1.40 ^a	1.08 ^b	0.072	0.0043
	----- Total volatile fatty acids, mM -----				
3	65.265	69.94	66.99	2.324	0.8332
6	77.70	76.39	82.01	1.645	0.5073
9	92.82	82.26	77.87	3.033	0.0753
12	93.33	90.64	94.55	2.740	0.8526
24	108.41 ^a	118.14 ^a	93.97 ^b	3.941	0.0089

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ (p < 0.05 or p < 0.01).

시험2: 미역부산물 첨가가 홀스타인 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향

가. 일당증체, 사료효율 및 체위변화

홀스타인 처녀우의 성장성적은 Table 1-3에서 나타내었다. 평균 체중이 419kg되는 홀스타인 처녀우를 총 275일간 사양한 결과 일당증체는 세처리 모두 0.7kg/d로 나타나 미역분말의 첨가가 일당증체에는 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 해조류의 세포벽을 구성하는 aginic acids는 점성 겔(viscous gel)을 형성하는 특성이 있어 반추동물에서는 기호성을 떨어뜨리고 사료섭취량이 지극히 감소하는 현상이 나타나는 것으로 보고된바 있고(Beresford 등, 2000), Franklin 등(1999) 또한 착유우에 해조류를 급여한 결과 건물섭취량이 유의하게 감소한다고 보고하였으나 본시험의 결과를 보면 Tall fescue의 섭취량이 미역첨가수준이 높을수록 감소하는 경향이 있었으나 농후사료와 미역의 양을 감안한 총 건물섭취량은 대조구와 2%미역첨가구 및 4% 미역첨가구가 각각 10.58kg, 10.36kg, 10.49kg으로 처리간 유사한 결과를 나타내어 본시험의 첨가수준에서는 건물섭취량에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 따라서 사료효율도 세처리가 모두 유사하게 대조구와 2%미역첨가구 및 4% 미역첨가구순으로 각각 6.62%, 6.76%, 6.68%로 나타났다.

시험 개시시와 시험 종료시 시험우의 체고(Withers height), 체장(Body length), 흉위(Chest girth), 흉심(Chest depth), 흉폭(Chest width), 요각폭(Hip width), 곤폭(Pelvic width)을 측정하여 Table 1-7에서 나타냈다. 표에서 보는 바와 같이 성장발육특성을 나타내는 위의 7가지 측정항목들은 세 처리 간에 유사한 결과를 나타내어 체위 또한 미역의 첨가 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.

Table 1-6. Effects of dietary BSW supplementation on growth performance for 9 months in Holstein heifers.

Item	Control	2%BSW	4%BSW	SE	p value
Body weight(kg)					
Initial(6.30)	419.14	419.00	419.14	8.848	0.9997
Final(3.31)	612.71	610.29	611.71	17.460	0.9927
Weight gain(kg)	193.57	191.29	192.57	6.352	0.9928
Daily weight gain(kg/d)	0.70	0.70	0.70	0.023	0.9963
Feed intake					
(dry matter, kg/d)	10.58	10.36	10.49	-	-
Tall fescue(kg)	6.78	6.38	6.45	-	-
Brown seaweed(kg)		0.18	0.36	-	-
Concentrate(kg)	3.80	3.78	3.58	-	-
Growth efficiency(%)	6.62	6.76	6.68	-	-

- 사료섭취량이 처리별로 평균으로 산출된 관계로 통계분석을 하지 않았음.

Table 1-7. Effect of growth promotants on body measurements.¹⁾ (Unit : cm)

Items	Control	2%BSW	4%BSW
Initial			
Withers height	120.0±2.08	119.6±1.52	121.6±1.32
Body length	130.2±3.50	132.7±1.49	131.7±1.69
Chest girth	155.5±1.94	154.7±1.60	156.7±1.68
Chest depth	59.6±0.63	60.3±0.75	61.8±0.96
Chest width	37.3±1.46	38.5±1.27	36.5±1.63
Hip width	37.5±0.87	37.6±0.24	37.8±0.73
Pelvic width	41.2±0.78	40.3±0.69	41.8±0.78
Final			
Withers height	160.2±3.17	160.5±2.47	160.5±2.47
Body length	138.2±2.15	139.5±0.50	137.2±0.58
Chest girth	204.2±2.81	205.3±2.33	204.3±2.55
Chest depth	75.8±1.25	74.6±0.33	75.8±0.58
Chest width	48.1±1.01	50.7±2.45	49.6±2.90
Hip width	57.7±0.92	58.8±1.30	58.8±1.30
Pelvic width	51.3±0.75	50.5±0.76	52.5±0.67

나. 수태당 수정회수와 생시체중

치너우의 인공수정은 발정을 시험시행자가 확인하고 전문직 수정사에 의뢰하여 시술하였다. 결과를 보면 수태당 수정회수는 대조구가 평균 1.38회, 2%BSW이 1.40회, 4%BSW가 1.33회로서 처리간 유사한 결과를 나타내었다. 생시체중은 대조구가 평균 42.34kg, 2%BSW이 43.25kg, 4%BSW가 44.38kg으로 통계적인 유의차를 보이지 않았다. Data는 제시하지 않았지만 4%BSW구의 생시체중이 다른 처리구보다 약간 높은 관계로 분만이 다른 처리보다 좀 어려웠으며 조산조치가 더 필요하였다.

Table 1-8. Effect of BSW supplement on reproduction and berth weight in Holstein heifers

Item	Control	2%BSW	4%BSW
Artificial insemination times	1.38	1.40	1.33
Berth weight(kg)	42.34	43.25	44.38

다. 혈중 호르몬과 대사산물에 미치는 영향

난소는 난포막 세포(theca cell)와 과립막 세포(granulosa cell)등 두 종류의 세포와 FSH와 LH 두 종류의 호르몬을 이용하여 에스트로젠을 생성하는데 이것을 2-세포, 2-성선자극호르몬설(two-cell two-gonadotropin theory)이라고 부른다. 난소의 난포(ovarian follicle)로부터 분비되는 estrogen에 의하여 유선관계(duct system)가 발달하며 estrogen의 작용을 받은 유선관계에 progesterone이 작용함으로써 분비조직인 유선포계(alveolar system)가 발달하게 되며 또한 estrogen은 임신기간의 증가에 따라 증가하는 양상을 나타내고 초산우 분만 2~3주 전에는 최고 335pg/ml까지 도달할 수 있다(정길생 등, 1980). 본 시험에서 나타난 estrogen의 임신전과 임신후의 변화패턴은 정상적인 estrogen의 변화패턴을 나타내 주고 있다. 비록 통계적인 유의차는 없었지만 임신 120일에서 혈중 estrogen의 농도를 보면 2%BSW이 94.14pg/ml, 4%BSW는 72.32pg/ml로 대조구 55.71pg/ml보다 각각 77.96%와 29.82%가 높았다. 임신 240일의 경우 2%BSW은 189.57pg/ml, 4%BSW는 165.22pg/ml로 대조구의 121.57pg/ml보다 각각 55.93%와 35.91% 높게 나타났다. progesterone의 경우 처리사이는 단계별로 별 다른 차이를 나타내지 않았으나 4%BSW의 경우 미역 첨가전의 1.94ng/ml에서 5.00ng/ml로 무려 157.73%의 증가를 보였으나 대조구와 2%BSW은 각각 69.63%와 59.20%의 증가를 보였다.

T₃와 T₄는 갑상선에서 합성되어지는 호르몬으로 요오드가 중요한 합성원료의 일종이다. Pattanaik등(2001)이 산양의 기초사료에 일일 두당 0.05mg과 0.075mg수준으로 요오드를 첨가하였을 때 혈청 중 T₃과 T₄의 함량이 대조구에 비해 유의적으로 증가하였다고 보고 하였으나 본 시험에서는 단계별로 볼 때 갑상선 호르몬 합성의 증가양상은 나타나지 않았다. 다만 T₃의 경우 임신 120일과 240일에서 시험개시전보다 3.83%와 5.87% 증가하는 양상을 나타내었다.

Table 1-9. Effects of dietary BSW supplementation on Hormone for Holstein heifers

Item	Control	2%BSW	4%BSW	SE	p value
Before BSW supplementation					
Estrogen(pg/ml)	20.57	20.57	23.14	1.417	0.3101
Progesterone(ng/ml)	3.26	3.26	1.94	0.438	0.0917
T3(ng/dl)	167.24	167.24	147.47	2.865	0.0163
T4(ug/dl)	6.52	6.53	6.19	0.145	0.1531
After conception 120d					
Estrogen(pg/ml)	55.71	94.14	72.73	7.314	0.0764
Progesterone(ng/ml)	4.92	5.84	4.61	0.450	0.4479
T3(ng/dl)	159.69	167.71	153.12	3.695	0.1843
T4(ug/dl)	5.95	6.25	5.35	0.235	0.1957
After conception 240d					
Estrogen(pg/ml)	121.57	189.57	165.22	20.159	0.3871
Progesterone(ng/ml)	5.53	5.19	5.00	0.446	0.8902
T3(ng/dl)	160.38	167.29	156.14	2.419	0.0888
T4(ug/dl)	5.45	5.95	5.36	0.212	0.4149

혈중 대사산물인 glucose, NEFA, BUN의 변화양상은 Fig1-1~3에서 나타내었다.

Glucose의 농도는 주로 insulin의 anabolic 효과와 glucagon, catecholamine, 및 glucocorticoid의 catabolic 효과에 의해서 결정된다(smith, 1989). Dumelod 등(1999)은 수용성 식이섬유가 소장에서 glucose의 이용율을 줄이고 glucose의 흡수를 지연시키며 결과적으로 섭취후 혈중 glucose의 농도를 낮추는 작용을 한다고 보고하였으나 본시험에서는 처리별 glucose의 농도가 유사하게 나타나 식이섬유에 의한 혈중 glucose 농도의 감소효과는 나타나지 않은 것으로 사료되며 이는 첨가된 미역부산물의 양이 건물기준으로 0.18kg/d, 0.36kg/d으로 총 섭취량중에서 차지하는 비율이 낮아 식이섬유의 작용이 미미한데서 기인한 것으로 사료된다. 다른 한편 Steel과 Leng(1973)은 임신한 양의 간에서 gluconeogenesis가 임신하지 않은 양보다 월등히 높다고 보고하였는바 본 시험에서 glucose의 농도가 임신전보다 세처리 모두에서 높

게 나타난 결과는 임신에 의한 gluconeogenesis가 활발하게 일어난 결과로 사료된다.

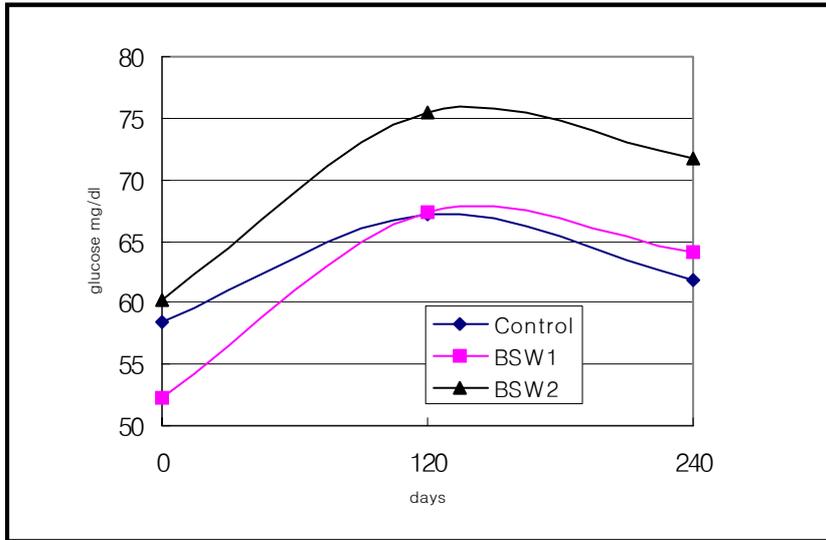


Figure 1-1. Plasma glucose concentration.

전통적으로 젖소의 영양상태를 측정할 경우 체중이나 BCS의 변화를 관찰하였으나 현재 혈중 NEFA농도의 측정이 효과적인 방법으로 각광받고 있으며 부의 에너지의 경우 지방조직의 분해에 의해 생성되어 NEFA의 농도가 높을 경우 지방이 간조직으로 침윤하여 지방간을 생성할 수 있다(Robert와 Van, 2000). 이들이 성장단계별 NEFA의 기준농도를 제시하였는데 건유기의 경우 0.325mEq/L보다 낮아야 하고 전환기의 경우 0.40mEq/L보다 낮아야 한다. 본시험의 결과를 보면 세 처리 모두 0.15mEq/L~0.35mEq/L사이로 비록 4%BSW가 임신 240일에서 기타 처리구보다 높은 농도를 나타냈으나 정상적인 NEFA의 농도 범위에 속한다고 볼 수 있다.

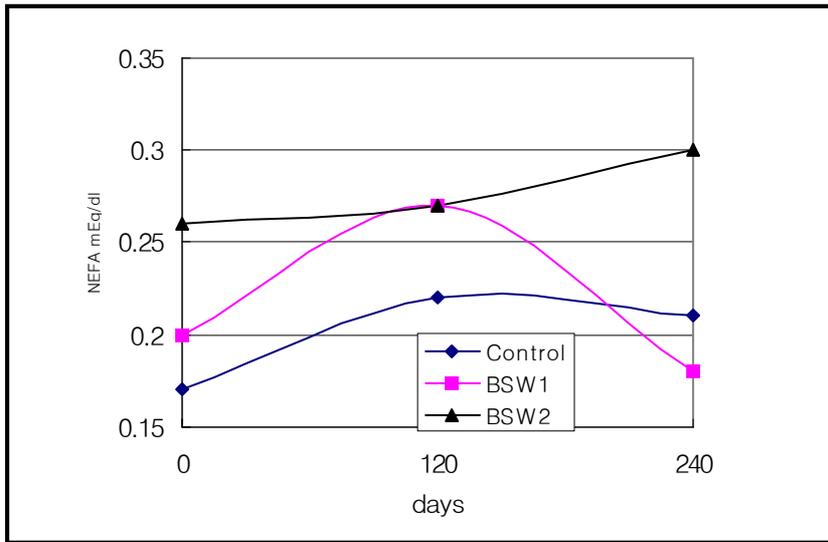


Figure 1-2. Plasma NEFA concentration.

BUN(blood urea nitrogen)은 사료의 단백질 상태 즉 단백질의 함량, 단백질의 소화율 및 배합비의 에너지수준을 나타내며 젖소에서 단백질의 섭취량을 반영한다 (Roseler 등, 1993). BUN은 또한 MUN(milk urea nitrogen)과 높은 상관관계($r=0.96$)를 가지고 있어(Baker 등, 1995) 젖소의 경우 번거로운 채혈절차를 거치지 않고 우유 중의 MUN을 통하여 손쉽게 점검할 수 있는 항목이다. 에너지와 단백질의 balance가 적절할 경우 일정한 혈중 BUN 수준을 유지하고 에너지가 부족할 때 혹은 단백질 과잉의 경우 높게 나타날 수 있다. 본 시험의 결과를 보면 미역의 첨가가 혈중 BUN의 농도에는 영향을 미치지 않은 것으로 나타났으며 BUN농도는 양등(1996)이 제시한 6-26mg/이 범위안에 속함을 알 수 있다.

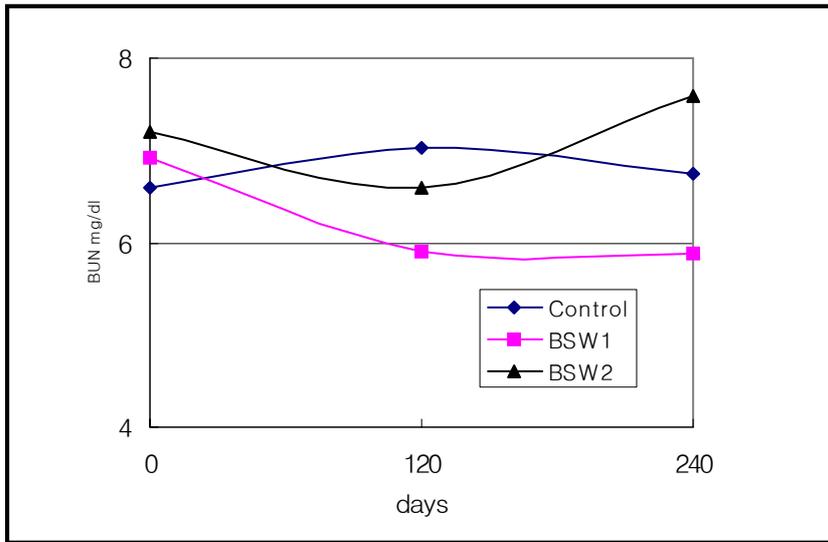


Figure 1-3. Plasma BUN concentration.

라. 유량과 유성분 변화

시험축 분만 후 1개월간의 산유량 및 유성분을 Table 1-10에서 나타내었다. 건물 섭취량은 대조구와 2%BSW, 4%BSW가 각각 21.05kg, 20.88kg, 20.52kg으로 처리간 유사한 결과를 나타내었다. 임신기 estrogen과 progesterone의 농도가 2%BSW에서 다른 처리에 비해 높게 나타나는 경향이 있어 유선발달에 영향주어 산유량의 차이를 가져올 것으로 기대하였으나 결과적으로 비유 4주에서 대조구, 2%BSW과 4%BSW에서 각각 27.14kg, 28.77kg, 27.65kg으로 나타나 산유량의 차이를 가져오지 못하였다. 유단백질, 유지방, 유당, SNF(Solid not fat)의 함량도 처리간 유사하게 나타나 임신기의 미역부산물의 첨가가 비유시기에는 영향을 미치는 않는 것으로 나타났다.

Table 1-10. Effects of dietary BSW supplementation on DMI, milk yield and composition in dairy cows

Variables	Treatments			SEM	p value
	Control	2%BSW	4%BSW		
Cows, n	5	6	6		
DMI, kg/d	21.05	20.88	20.52	0.525	0.8752
Milk yield, kg/d	27.14	28.77	27.65	0.342	0.7963
Milk fat, %	4.07	4.12	4.03	0.230	0.5364
Milk protein, %	3.11	3.06	3.12	0.158	0.8897
Milk lactose, %	4.71	4.81	4.73	0.112	0.7856
Solid-not-fat, %	8.27	8.31	8.32	0.175	0.9982

4. 적 요

본 연구는 미역부산물이 반추위 발효성상에 미치는 영향과 Holstein 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향을 2개의 실험으로 나누어 조사하였다.

실험1에서는 기초사료에 미역부산물을 0, 2, 4%수준으로 첨가하여 *in vitro* 배양장치에서 3, 6, 9, 12, 24시간동안 배양한 후 반추위 pH, 암모니아태 질소, 휘발성지방산을 조사하였다. 미역부산물의 첨가 비율의 증가 및 배양시간이 지속됨에 따라 pH가 대조군에 비하여 다소 높아지는 경향을 나타내었으며, 특히 배양 12시간에서는 대조구의 6.26에 비하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 암모니아태 질소의 경우 발효 3시간과 24시간에서는 미역부산물 첨가구가 대조구에 비해 낮은($p < 0.05$) 암모니아태 질소 농도를 나타내고 기타 시간대에도 낮은 경향이 나타났다. 미역부산물의 첨가는 휘발성지방산의 생성에 있어서 발효 3~12시간에서는 유의한 영향을 미치지 않았으나 발효 24시간에서는 측정된 acetate, propionate, butyrate, iso-butyrate, valerate, iso-valerate 전체 항목에서 2% 미역부산물 첨가구는 대조구와 유사한 결과를 나타낸 반면 4% 미역부산물 첨가구는 유의성 있게 낮게 나타났다($p < 0.05$).

실험2에서는 미역부산물의 첨가가 Holstein 육성우의 성장·번식·내분비생리 및 혈중 대사산물에 미치는 영향을 조사한 것으로 1일 두당 180g와 360g 수준으로 급여하여 대조군과 비교하였다. 사료건물섭취량은 처리에 의해 영향을 받지 않았고 일당증체와 사료효율도 처리의 영향을 받지 않았다. 수태당 수정회수와 어린송아지 생시체중의 경우도 시험처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 혈중 호르몬과 대사산물의 경우 임신 120에서 혈중 estrogen의 농도를 보면 2%BSW이 94.14pg/ml,

4%BSW는 72.32pg/ml로 대조구 55.71pg/ml보다 각각 77.96%와 29.82%가 높았다. 임신 240일이 경우 2%BSW은 189.57pg/ml, 4%BSW는 165.22pg/ml로 대조구의 121.57pg/ml보다 각각 55.93%와 35.91% 높게 나타났다. Progesterone의 경우 처리사이는 단계별로 별 다른 차이를 나타내지 않았으나 4%BSW의 경우 미역 첨가전의 1.94ng/ml에서 5.00ng/ml로 무려 157.73%의 증가를 보였으나 대조구와 2% BSW은 각각 69.63%와 59.20%의 증가에 그쳤다.

혈중 T₃과 T₄의 경우 단계별로 횡적으로 볼 때 갑상선 호르몬 합성의 증가양상은 나타나지 않았다. 다만 T₃의 경우 임신 120일과 240일에서 시험개시전보다 3.83%와 5.87% 증가하는 양상을 나타내었다. 혈중 면역단백질인 IgG는 임신 240일에서 2% BSW과 4%BSW 처리구가 각각 15.78%, 9.95%증가하였다. 혈중 대사산물인 glucose의 경우 임신기간의 증가에 따른 gluconeogenesis의 활성화에 따른 증가양상을 나타냈을 뿐 처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났으며 NEFA와 BUN도 시험처리의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 그리고 시험축이 분만 후 1개월간의 산유량과 유성분을 조사한 결과 육성·임신기의 미역폐기물의 첨가가 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 보면 미역부산물의 첨가는 반추위내 pH를 안정시키고 반추위 발효 동조화를 유발시키며 분만후 1개월까지 유량증가를 보이지는 않았으나, 유선관계의 발달에 관여하는 estrogen에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

제2절 홀스타인 비유우에 있어서 미역폐기물의 첨가가 비유 성적 및 내분비 생리에 미치는 영향

1. 서론

미역은 대표적인 갈조류로서 2000년 기준으로 양식수산물 생산량의 33%와 양식해조류의 57%를 차지하고 있을 정도로 산후조리를 위한 물론 일상 식단에서도 없어서는 안 될 중요한 식자원 중의 하나이다(강, 2001).

이처럼 우리 식문화에 중요한 미역에는 다당류인 알긴산이 풍부하여 콜레스테롤의 흡수를 억제(Keys 등, 1961; Tsuji 등, 1968, 1977; Kimura 등, 1996)하고 중금속을 흡착하여 배출시키며 동맥경화를 예방하는 작용이 있는 것이 증명되었으며, 미역중의 산성 수용성다당류인 Fucoidan은 Thrombin과 Factor Xa, u-PA(plasminogen activator)와 t-PA의 생성을 증가시켜 항 혈액응고 작용(Nishino 등, 1999, 2000), 항종양·항암활성(Yamamoto 등, 1984; Zhuang 등, 1995), 항산화효과(Allen 등, 2001)가 있음이 확인되었다. 아울러 미역 중에 다량 함유된 다당류의 일종인 Alginates가 효소에 의해 분해된 Alginate oligomer가 Cytokine의 분비 증가(Iwamoto 등, 2003)와 아연의 Bioavailability를 개선시킴(Yonekura와 Suzuki, 2003)으로 체내 면역시스템 활성화에도 직·간접적으로 기여되어질 수 있다.

특히, 미역 중에는 광물질이 다량 함유되어 있는데 이중 다른 식품보다 요오드(I) 및 칼슘 함량이 특히 높다. I는 Thyroxine(T₄)과 Triiodothyronine(T₃)의 합성에 필수며(Sethi와 Kapil, 2004.) 갑상선 호르몬은 소화관으로부터 포도당 흡수율을 증가시키고 세포에서의 포도당이용률 및 단백질의 동화작용과 이화작용을 함께 증가시키며 지방대사도 촉진시키는 작용 등 여러 가지 기능을 가지고 있어 유선발달과 비유에 관여한다(Hadley, 1996). Pattanaik 등(2001)이 산양의 기초사료에 일일두당 요오드를 0.05mg과 0.075mg을 투여하였을 때 T₃와 T₄ 모두 증가하는 양상을 나타내었다. 아울러 미역중 칼슘은 일반식품에 함유된 무기태 칼슘보다 소장 내 흡수율이 높은 유기태 Ca함량이 높다. 이러한 Ca은 체내 호르몬 분비 및 조절에 중요한 광물질로 호르몬 Receptor-mediated transmembrane signalling에 중요한 역할을 한다(Hadley, 1996). 비유촉진과 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있는 뇌하수체 전엽의 Growth hormone(GH)은 시상하부의 GH-releasing hormone에 의하여 분비가 유기

되어진다(Hadley, 1996). 아울러 직접적인 유선상피세포에서의 유성분합성등 유합성 촉진에 직접적으로 관여하고 있는 호르몬으로 알려져 있는 Insulin-like growth factor(IGF-1)는 주로 간에서 분비되어 혈액을 통하여 유선조직에 이동하여 작용하거나 GH에 의하여 유선에서도 직접 발현하는 호르몬으로 비유와 밀접한 관련성을 보이고 있다(Cohick, 1998). 일반적으로 IGF-1은 GH의 직접적인 작용에 의하여 분비가 조절되어지지만 말초조직에서의 GH/IGF-1 axis는 영양상태가 중요한 조절인자임이 여러 연구자를 통하여 보고되고 있다(Thissen 등, 1994; Lee 등, 2000; 2005). 한편 T₃과 T₄ 또한 GH에 의한 간에서의 IGF-1분비를 강화하는 것으로 보고 된 바(Wolf 등, 1989; Tollet 등, 1990) 비유와 관련된 내분비 대사를 활성화 시킬 수 있는 물질이 풍부한 미역을 비유우의 사료에 첨가하였을 경우 이들 호르몬 간의 상호조절 메커니즘에 의하여 유분비 양상에 변화가 있어 비유에 영향을 줄 것으로 사료된다.

이러한 관점에서 본 연구는 2개의 실험으로 실시되었다. 실험1에서는 홀스타인 비유우에서 미역폐기물의 첨가수준을 결정하였고, 실험2에서는 결정된 첨가수준을 홀스타인 착유사료내 첨가시 유생산과 유성분에 미치는 영향과 함께 체세포 감소에 미치는 혈중 면역글로블린의 변화양상 및 비유관련 혈중호르몬의 변화양상을 조사하여 유생산과 관련된 내분비 생리에 미치는 미역의 첨가효과를 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

실험 1. 홀스타인 젖소에 있어서 미역폐기물 분말이 유성적에 미치는 영향규명

가. 공시축 및 시험설계

Multiparous Holstein cow 40두(평균체중 645kg, 유기, 200일, 1, 2산)를 4처리 10반복으로 무작위로 할당하여 대조구 미역분말첨가구로 나누어 2개월간 시험을 진행하였다.

나. 사양관리

모든 착유우는 자동급이기가 설치된 Free stall에서 사육되었으며 NRC(1998) 사양표준에 근거하여 체중, 유량, 산차, 분만경과일등을 감안하여 일일급여량을 결정하였다. 농후사료의 급여는 1일 7회로 나누어 자동급여기를 이용하여 급여되도록 설계되었다. 1회 급여량은 1.5kg이었으며, Mineral 및 물은 자유롭게 섭취되도록 하였다. 파

위TMR사료[(주)퓨리나 코리아, 한국]를 두당 일일 3kg씩 급여하고 알팔파베일을 두당 1kg씩 급여하였으며 Tall fescue는 자유채식을 하게 하였다. 미역폐기물 분말사료의 영양소함량은 Table 2-1 (BSW로 표기)에 나타내었다. 첨가수준은 실험1에서 가장 효과가 있었던 일일 급여사료의 4%수준(800g)을 오전 8:30분과 오후 3:00시에 2회로 나누어 옥수수사일리지에 섞어 급여하였다. 착유는 매일 05:00 및 17:00시에 2회 실시하였다. 시험에 사용된 기초사료의 사료성분은 Table 2-1에 나타내었다.

다. 유량은 매 15일 단위로 채취하여 유량, 유성분을 측정하였다.

Table 2-1. Chemical composition of the brown seaweed waste (BSW) and basal diet

	BSW	Basal diet
	----- Chemical composition ¹⁾ (% , DM basis) -----	
Dry matter	89.55	76.66
Crude protein	11.66	16.40
Acid detergent fiber	12.50	22.03
Neutral detergent fiber	22.71	34.32
N o n - f i b r o u s	26.38	38.22
carbohydrate ²⁾	1.54	3.65
Ether extract	37.71	7.41
Crude ash	0.99	0.95
Ca	0.46	0.54
P		

¹⁾ All figures are analysed values; ²⁾ value calculated as follows: 100 - (crude protein + neutral detergent fiber + ether extract + crude ash).

실험 2. 폐미역사료 (BSW)가 반추동물의 면역, 번식 및 비유생리에 미치는 효과 구명

가. 공시축 및 시험설계

Multiparous Holstein cow 14두(평균체중 625kg, 유기, 225일, 2.4산)를 2처리 7반복으로 무작위로 할당하여 대조구 미역분말첨가구로 나누어 서울대학교 농업생명과학대학 실험목장에서 3개월간 시험을 진행하였다.

나. 사양관리

모든 착유우는 자동급이기가 설치된 Free stall에서 사육되었으며 NRC(1988) 사양표준에 근거하여 체중, 유량, 산차, 분만경과일등을 감안하여 일일급여량을 결정하였다. 농후사료의 급여는 1일 7회로 나누어 자동급여기를 이용하여 급여되도록 설계되었다. 1회 급여량은 1.5kg이었으며, Mineral 및 물은 자유롭게 섭취되도록 하였다. 파워TMR사료[(주)퓨리나 코리아, 한국]를 두당 일일 3kg씩 급여하고 알팔파베일을 두당 1kg씩 급여하였으며 Tall fescue는 자유채식을 하게 하였다. 미역폐기물 분말사료의 영양소함량은 Table 2-1 (BSW로 표기)에 나타내었다. 첨가수준은 실험1에서 가장 효과가 있었던 일일 급여사료의 4%수준(800g)을 오전 8:30분과 오후 3:00시에 2회로 나누어 옥수수사일리지에 섞어 급여하였다. 착유는 매일 05:00 및 17:00시에 2회 실시하였다. 시험에 사용된 기초사료의 사료성분은 Table 2-2~3에 나타내었다.

Table 2-2. Chemical composition of experimental diet and feedstuffs(% of air-dry basis)

Items	Diet and feedstuffs					
	Concentrate	TMR	Tall fescue	Alfalfa	Silages	² %BSW)
Chemical composition,						
%						
Crude protein	19.00	12.00	14.21	16.38	1.81	8.37
Crude fat	3.00	4.10	3.47	1.44	0.53	0.87
Crude fiber	20.00	6.70	26.16	34.30	6.56	11.53
Crude ash	15.00	4.80	6.24	8.55	1.47	35.84
Ca	0.80	0.70	0.14	0.99	0.03	1.05
P	0.50	0.30	0.02	0.29	0.05	7.8 ²⁾
I	-	-	-	-	-	43.20 ⁴⁾
TDN ³⁾	72.50	71.00	51.00	60.00	11.10	

¹⁾ BSW: Brown seaweed waste. ²⁾ I= 7.8mg/100g. ³⁾ TDN: Total digestible nutrients. ⁴⁾ NRC 1979.

Table 2-3. Ingredient and chemical composition of experimental diets

Ingredient	Control	BSW
	%	
Concentrate	42.89	44.18
Tall fescue	36.50	31.32
TMR	12.25	12.63
Alfalfa	3.72	3.83
Corn silages	4.64	4.70
BSW	0	3.34
Total	100	100
Chemical composition	(% of DM basis)	
TDN	68.76	69.01
CP	17.81	17.68
EE	3.55	3.45
NDF	47.25	45.99
ADF	24.35	23.54
Ca	0.59	0.64
P	0.36	0.37
I		62.4 ¹⁾

¹⁾ I content: 7.8mg/100g×800g=62.4mg.

다. Sample채취 및 분석방법

1). 유량 및 유성분

유량은 ALPRO SYSTEM(Alfa Laval Agri)에 의한 자동기록으로 매일 기록하였으며 유성분은 15일 단위로 오후 착유시 우유 Sample 채취기를 이용하여 채취하여 Milkoscan-133B(Foss Electric, Denmark)를 이용하여 유단백, 유지방, 유당, SNF를 분석하고 Fossomatic-300(Foss Electric, Denmark)을 이용하여 체세포수를 측정하였다.

2). 혈액 분석

혈액은 시험개시전과 시험 30일, 60일, 90일 되는 날 오전 9:00시에 경정맥을 통하여 10 ml의 혈액을 해파린 처리된 진공 tube (BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions, U. S. A)에 신속히 채취하여 원심분리(4℃, 3000g, 15분)후 혈장을 혈액성분 분석 때 까지 -70℃ 에 보관하였다.

(가) 혈중 면역글로부린의 분석

혈장 내 Total IgG, IgG1, IgG2는 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 방법으로 분석하였다. 간단히 요약하면, 96 Well plate에 Primary Antibody:Coating Buffer=1:100으로 희석하여 Well당 100ul씩 넣어 실온에서 1시간 동안 Incubation 시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거하고 200ul의 Wash Solution으로 2회 세척한 다음 Postcoat를 각각의 Well에 200ul씩 넣어주고 실온에서 30분간 배양 시킨 후 용액을 제거하고 다시 전과같이 세척을 2회 실시했다. Standards와 Serum Sample을 Dilution하여 각각의 Well에 100ul씩 넣고 실온에서 1시간동안 Incubation 시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거하고 Wash Solution 200ul로 4회 세척해 준다. Secondary Antibody:Conjugate Dilution=1:100,000로 희석하여 100ul씩 넣고 1시간동안 실온에서 배양 시키고 다시 4회 세척한 후 Substrate를 100ul씩 넣고 푸른색을 띄면 Stop Solution(2N H₂SO₄)을 50u씩 넣어 반응을 종료 시키고 450nm에서 O.D.값을 측정하였다.

(나)혈중 비유관련 호르몬의 분석

혈장 GH분석은 2항체법으로 제1항체로 anti-bovine GH (USDA-anti-bGH, lot

AFPB55)를 이용하였으며, 표준물질 및 ^{125}I iodination을 위해 bovine GH (USDA-bGH, lot AFP-11182)를 이용하였다. ^{125}I 와 bGH는 chloramine T 방법에 의하여 iodination 되었다. 그 IGF-1 분석계의 민감도는 0.43 ng/mL였고 inter- and intra-assay CV는 각각 12.3과 8.2 ng/mL였다.

IGF-1 은 결합단백질과 결합되어 있는 까닭에 먼저 단백질 분리작업을 Daughaday 등(1980)의 방법으로 실시한 후 NHPP anti-human- IGF-1 (AFP4892898), 표준 hIGF-1 (Amersham, lot # 30) 과 labeled ^{125}I -IGF-1 (Amersham, code IM172)를 이용하여 제2항체법으로 실시하였다. 그 IGF-1 분석계의 민감도는 0.82 ng/mL고 inter- and intra-assay CV는 각각 11.3과 6.2 ng/mL였다.

Leptin은 multispecies leptin RIA kit(Linco Research, Inc., St Louis, MO)을 이용하여 분석하였다. 재조합 bovine leptin은 Animal Metabolism and Physiology Laboratory (Obihiro Univ. of Agric & Vet Med, Japan)제공 받아 표준물질로 사용하였다.

T_3 와 T_4 는 RIA-mat- T_3 와 RIA-mat- T_4 kit(Byk-Sangtec Diagnostica, Germany)을 이용하여 RIA방법으로 측정하였다.

(다)혈중 지질의 분석

TC는 효소법을 이용하여 Hitachi 7600-110을 이용하여 측정하였으며, HDL, LDL 은 Homogeneous Enzymatic Colorimetric Method로 HDL-C plus, LDL-C plus kit(Roche, U.S.A)를 사용하여 Hitachi 7600-110으로 측정하였다.

라. 통계분석

시험 결과는 Student's *t*-test를 통하여 처리간의 평균값을 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

실험 1. 홀스타인 젖소에 있어서 미역폐기물 분말이 유성적에 미치는 영향규명

미역폐기물을 착유우의 사료로 이용할 시 산유성적에 미치는 영향을 조사한 것으로서, 기초사료에 1일 두당 사료섭취량(건물 20kg기준) 기준 으로 1, 2, 4 %에 해당하는 양을 TMR사료에 혼합하여 대조구와 비교하였다.

미역폐기물 급여가 사료섭취량 및 산유성적에 미치는 영향은 Table 2-4에 나타낸 바와 같다. 착유우에 미역폐기물의 급여는 건물섭취량에 유의한 영향을 미치지 않았고, 모든 처리구에서 공히 22kg 이상 섭취하여 미역부산물인 미역부산물인 착유우의 사료섭취량을 제한하지 않았다. 일반적으로 해조류의 세포벽을 구성하는 alginic acids는 점성 겔(viscous gel)을 형성하는 특성이 있어 반추동물에서는 기호성을 떨어뜨리고 사료섭취량이 지극히 감소하는 현상이 나타나는 것으로 보고된 바 있고(Beresford 등, 2000), Franklin 등(1999) 또한 착유우에 해조류를 급여한 결과 건물섭취량이 유의하게 감소한다고 보고하였으나, 본 실험에서의 급여수준에서는 건물섭취량을 제한하지 않는 것으로 나타났다. 1일 산유량은 대조구에 비하여 4% BSW 급여군에서 32.35kg으로 유의하게 증가하였으나($p < 0.05$), 유성분조성에는 처리구간 유의차가 나타나지 않았다. 일반적으로 산유량은 여러 가지 요인에 의하여 영향을 받으며, 특히 섭취되는 사료의 영양적 조성, 생리적 단계(산차) 및 각종 내분비 호르몬에 의하여 산유량이 영향을 받는다(Kahl 등, 1995; Quevedo-Corona 등, 2000). 특히 비유에 관여하는 호르몬은 prolactin, insulin, glucocorticoids 및 갑상선호르몬 등이 있으며, 이 중 갑상선호르몬은 정상적인 비유유지에 중요한 역할을 한다(Tucker, 1981). 갑상선호르몬은 구조적으로 요오드(I ; T_3 및 T_4)를 가지고 있어 사료 및 식이로 섭취하는 요오드의 섭취량에 따라 이 호르몬의 발현이 증가한다(Swanson 등, 1990). 이러한 관점에서 미역 및 해조류 내에는 다량의 광물질(조회분)이 존재할 뿐만 아니라, 육상식물에 비하여 요오드를 풍부하게 함유하는 것으로 보고되고 있어(Hou 등, 1997), 본 실험에서도 미역부산물의 착유우에 대한 급여가 산유량을 증가시킨 것으로 사료된다. 이와같은 결과와 추론을 토대로 실험 2를 실시하여 확인하였다.

Table 2-4. Effects of dietary BSW supplementation on DMI, milk yield and composition in dairy cows

Variables	Treatments ¹⁾			
	Control	1%BSW	2%BSW	4%BSW
Cows, n	10	10	10	10
DMI ²⁾ , kg/d	21.44	22.53	22.25	22.26
Milk yield, kg/d	27.27 ^b	27.33 ^b	29.32 ^{ab}	32.35 ^a
Milk fat, %	3.23	3.45	3.34	3.36
Milk protein, %	3.14	3.13	3.13	3.13
Milk lactose, %	4.88	4.72	4.72	4.72
Total solids, %	12.19	12.33	12.24	12.36
Solid-not-fat, %	8.45	8.48	8.39	8.36

¹⁾ All figures represent the mean of 10 cows; ²⁾ dry matter intake; ³⁾ somatic cell counts
BSR: Brown Seaweed Waste
a,b <0.05

따라서 제1절 실험1 에서 4% BSW 미역폐기물 첨가는 높은 비율의 가용성 단백질과 조회분으로 인하여 고능력 반추동물의 사료로 이용할 시 지극히 낮아 질수 있는 반추위내 pH를 다소 증가시켰고, 미역부산물에 존재하는 다당류는 휘발성 지방산의 acetate와 분지지방산의 농도를 증가키며, 현재의 실험에서 4% BSW첨가가 젖소의 사료섭취량 및 유성분을 감소시키지 않고 산유량이 증가된 결과를 기초로 착유우에 있어 BSW의 첨가수준은 4%수준이 적당한 것으로 사료된다. 이와 같은 결론을 토대로 4% BSW첨가 면역, 번식 및 비유생리에 미치는 효과를 실험2를 통하여 규명하였다.

실험 2. 폐미역사료 (BSW)가 반추동물의 면역, 번식 및 비유생리에 미치는 효과 규명

가. 유생산량과 유성분 변화

유생산량과 유성분의 변화결과는 Table 2-5에서 나타내었고 시험기간 동안의 유

생산량 변화추이는 Fig. 2-1에서 나타내었다. 유생산에 따른 건물섭취량은 두 처리사이에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 유량은 시험 종료 시 처리구와 대조구간에 현저한 차이가 나타났다. 즉 시험 종료 시 대조구의 평균 산유량은 시험개시시보다 평균 1.93kg 감소한 반면에 처리구의 평균 산유량은 2.23kg 증가되어 결과적으로 평균 두당 6.25kg의 산유량 차이로 통계적인 유의차를 나타냈다($p < 0.05$). 일반적으로 젖소는 분만 후 6~8주령에 최고비유량에 도달한 후 그 후부터는 서서히 감소하는 비유 곡선의 특징을 가진다(Wilks, 1998). 따라서 대조구는 비유후기의 전형적인 유량변화를 나타낸 것으로 정상적인 유량변화패턴을 나타내었으나 처리구는 미역분말의 첨가로 이에 반하는 결과를 나타내어 미역분말의 첨가가 비유촉진효과가 있음을 시사한다. 유지방 함량은 시험 종료 시 처리구에서 3.29%의 감소를 보인 반면 대조구에서는 1.5%의 감소를 보여 현저한 차이를 나타내지 않았다. 건물섭취량결과는 Franklin 등(1999)이 갈조류의 일종인 *Schizochytrium sp.*를 젖소에게 급여하였을 때 건물섭취량은 현저하게 감소하는 현상을 나타낸 결과와는 대조되는 결과이다. 이들의 시험에서는 건물섭취량의 감소가 결과적으로 산유량의 감소 및 유지방함량의 감소로 이어졌지만 본시험에서는 건물섭취량이 대조구와 유사한 수준으로 유지되어 현저한 유지방함량의 변화를 가져오지 않은 것으로 사료된다. 백 등(2004)이 젖소를 이용한 시험에서 미역부산물 일일 800g의 첨가가 건물섭취량에는 영향을 미치지 않았을 뿐만 아니라 유생산량의 증가를 가져오는 결과를 보고하였다. 따라서 일일 800g의 BSW 첨가수준은 젖소의 건물섭취량에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다. 단위동물을 대상으로 실시한 시험에서도 대체적으로 건물섭취량에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Montserrat과 Isabel(2001)이 Rats를 시험동물로 미역등 첨가물이 장균총의 활성에 주는 영향을 측정한 시험에서는 전체 시험기간 동안 대조구와 미역 첨가구에서 각각 234.61g과 235.04g의 건물섭취량을 보였으며 경(1991)이 흰쥐를 대상으로 지질대사에 미치는 영향을 연구한 시험에서도 대조구와 유사한 건물섭취량을 보였다. 단위동물과 반추동물이라는 품종적인 차이도 있겠지만 800g 수준의 미역 첨가가 건물섭취량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 유단백질 함량은 시험 종료 시 대조구와 처리구에서 각각 3.28%와 3.23%를 나타내어 처리간 유사한 결과를 나타내었다. 유당함량은 시험 종료 시 대조구에서 4.66%를 나타내 시험 개시시보다 0.43% 증가한 반면 처리구에서는 4.76%로 2.15%의 증가를 가져왔으나 통계적인 유의차는 없었다. SNF(solids-not fat)의 함량은 시험 종료 시 대조구와 처리구에

서 각각 8.70%와 8.69%를 나타내어 역시 처리간의 유의차를 나타내지 않았다.

Table 2-5. Effects of dietary BSW supplementation on DMI, milk yield and milk composition in dairy cows

Variables	Diets ¹⁾		Significance
	Control	BSW	
Cows, n	7	7	
DMI (kg/d)	21.5±2.42	20.9±2.71	NS
Milk yield, kg/d			
Initial	23.0±2.77	25.1±2.56	NS
Final	21.1±3.31	27.3±2.23	*
Increment(%)	-10.8	11.1	-
Milk fat, %			
Initial	3.99±0.10	3.95±0.13	NS
Final	3.93±0.16	3.82±0.21	NS
Increment(%)	-2.42	-5.90	-
Milk protein, %			
Initial	3.35±0.07	3.28±0.10	NS
Final	3.28±0.11	3.23±0.08	NS
Increment(%)	-2.71	-1.85	-
Milk lactose, %			
Initial	4.64±0.10	4.66±0.12	NS
Final	4.73±0.09	4.76±0.06	NS
Increment(%)	1.92	2.34	-
Solid-not fat, %			
Initial	8.69±0.12	8.64±0.18	NS
Final	8.70±0.18	8.69±0.12	NS
Increment(%)	0.08	0.69	-

¹⁾ All figures represent the mean of 7 cows±SD

Increment(%) = (Final - Initial) / Final × 100

BSW: Brown seaweed waste

* p<0.05; NS: non significance

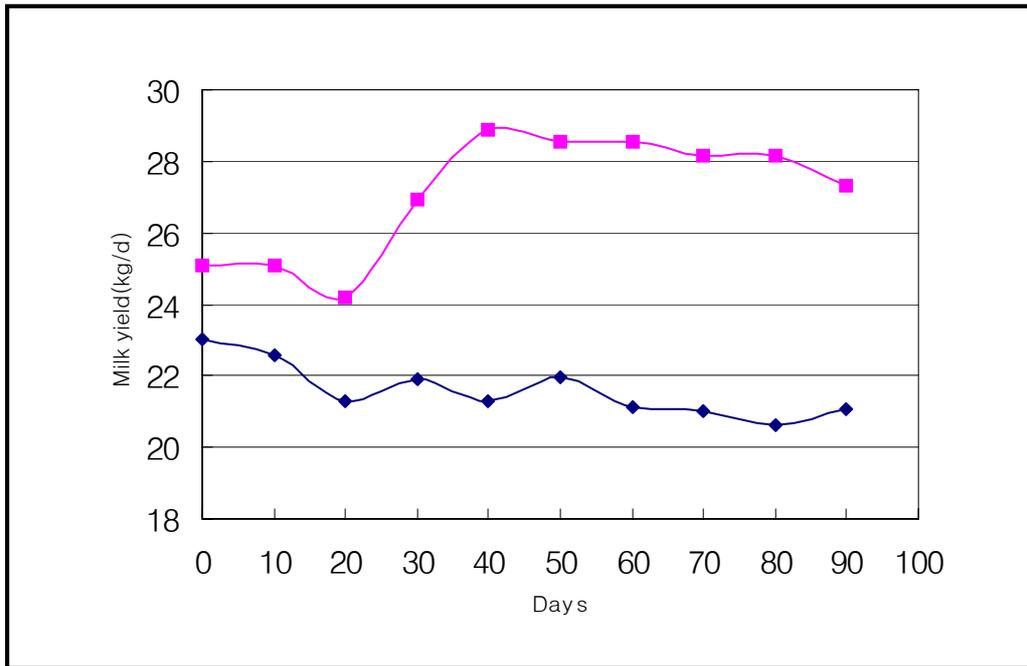


Fig. 2-1. The milk yield curves of experimental Holstein cows.

나. 체세포수 및 면역글로부린 함량의 변화

체세포수 및 면역글로부린 함량의 변화는 Table 2-6에서 나타내었다. 대조구의 체세포수는 시험개시시보다 16.62% 증가한 반면 미역첨가구의 체세포수는 시험개시시보다 53.77% 감소하였다. 혈중 Total IgG, IgG1, IgG2의 함량은 미역첨가의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. Lina와 Hiroo(2003)는 알긴산등 일부 다당류가 Rats에서 Zinc의 Bioavailability를 개선시킨다고 보고 하였으며 Iwamoto 등(2003)은 효소에 의해 분해 된 Alginate oligomer가 Cytotoxic cytokine의 합성을 자극하고 마크로파지로 하여금 TNF- α 를 분비하게끔 자극한다고 보고하였고 Kooijman 등(1996)은 IGF-1은 interleukin(IL-2)의 생성을 촉진한다고 보고하였다. 아울러 우유 중 체세포수의 증가는 유생산이 왕성한 시기 Oxygen radical이 형성되기 쉬워 초래 되어질 수 있는데, 이와 오(2000)는 해조류 추출물이 Oxygen radical 소거활성을 갖는다고 보고하였고 최 등(2000)은 미역이 Oxygen radical의 형성을 억제하고 생체방어효소인 SOD의 형성을 증가시킨다고 보고하였다. 따라서 시스템 면역체계에 중요한 IgG 계열의 혈액 중 변화에는 영향을 미치지 못하였으나 우유 중 체세포수 감소가 뚜렷

한 결과를 볼 때 미역 내 포함되어있는 여러 물질이 유선상피세포의 안정성을 향상시키고 비 특이적인 면역체계를 향상시켜 결과적으로 체세포 감소 결과를 나타낸 것으로 보여 진다.

Table 2-6. Effects of dietary BSW supplementation on somatic cell counts and Immunoglobulins in Holstein dairy cows

Variables	Period(day)				Increment(%)
	Day0	Day30	Day60	Day90	
Cows, n	7	7	7	7	
Somatic cell, x1,000					
Control	327	184	235	381	16.6
BSW	216	281	140	100	-53.8
Total IgG, mg/ml					
Control	28.0	26.6	27.2	26.9	-3.86
BSW	24.1	24.9	21.2	23.0	-4.46
IgG1, mg/ml					
Control	23.4	22.2	20.6	21.4	-8.69
BSW	19.3	18.5	15.2	16.9	-12.6
IgG2, mg/ml					
Control	22.5	20.6	19.5	20.0	-10.9
BSW	20.0	20.2	15.8	18.0	-10.3

¹⁾ All figures represent the mean of 7 cows.
 Increment= (Day90 - Day0) / Day90 x 100.
 BSW: Brown seaweed waste.

다. 혈중 호르몬 및 대사산물의 변화

혈중 호르몬 및 대사산물의 변화는 Table 2-7에서 나타내었다. 혈중 GH의 함량은 대조구와 처리구에서 각각 시험개시시의 2.33ng/ml과 2.82ng/ml로부터 1.17ng/ml과 1.07ng/ml로 감소하는 결과를 나타내었으나 처리사이에 유의적인 차이가 없었다. 비유에 직접적인 영향을 미치는 IGF-1의 농도는 처리구가 54.8ng/ml로 시험개시초보다 5.89%증가한 반면 대조구는 33.8ng/ml로 49.75%감소한 결과를 나타내어 통계적인 유의차를 나타냈다(p<0.05). IGF- I 은 GH에 의해 간에서 분비되는 호르몬으로서 정상적인 영양상태에서 GH와 밀접한 상관관계를 갖는다(Lee 등, 2000; 2005).

Thissen 등(1994)은 저 영양상태에서 GH분비는 증가되나 내성이 생겨 IGF- I의 분비를 증가시키지 못하며 영양상태의 호전에 따라 GH 수용체의 민감성이 증가되어 IGF- I의 분비를 증가시킨다고 보고하였다. 다른 한편 갑상선호르몬은 간에서 GH와 수용체의 결합능력을 상향 조절하는 작용을 하여 IGF-1의 분비를 증가시킨다고 보고하였다 (Wolf 등, 1989; Tollet 등, 1990). 이러한 GH에 의한 IGF-1분비 증가는 분비 조직 내 Ca^{2+} 의 증가와 밀접한 관계가 있다 (Schwartz 등, 1991; Tollet 등, 1995). 일반적으로 Ca은 펩타이드 호르몬의 plasma membrane에서의 receptor-mediated transmembrane signalling에 관여하는 조절기작을 가지고 있다 (Channon과 Leslie 1990; Tollet 등, 1995; Hadley, 1996). 따라서 미역 중 다량 함유되어있는 I는 T_3 와 T_4 증가를 유도하여 간이나 유선세포에서의 GH의 수용체의 민감성을 증가시켰고, Ca에 의한 신호전달의 활성화 등 복합적인 교호작용으로 IGF-1의 생산이 증가되었을 것으로 사료된다. 한편 혈중 T_3 와 T_4 의 농도는 처리구에서 증가하는 양상(Table 2-7)을 나타내어 위의 결과를 뒤 받침해 주며 이는 미역 속에 다량 함유된 요오드가 갑상선호르몬합성의 원료로 이용되어 나타난 결과로 사료된다. 이는 Pattanaik 등(2001)이 산양의 기초사료에 일일 두당 0.05mg과 0.075mg수준으로 요오드를 첨가하였을 때 혈청 중 T_3 과 T_4 의 함량이 대조구에 비해 유의적으로 증가하는 결과가 관찰된 것과 유사한 결과이다. 증가된 T_3 과 T_4 는 결과적으로 비유에도 영향을 주어 증가된 IGF-1과 같이 협동작용을 하여 유생산량을 증가시킨 것으로 사료된다. 고밀도 리포단백질(highdensity lipoprotein, HDL)은 비교적 소량의 콜레스테롤과 콜레스테롤에스테르, 많은 양의 단백질로 된 작은 과립으로 간장과 소장에서 합성된다(김 등, 2002). 시험 종료 시 처리구의 HDL-C의 농도는 125mg/dl로 대조구의 116mg/dl에 비해 높게 나타났으나 유의성은 없었으며 LDL-C농도 역시 각각 34.1mg/dl과 31.3mg/dl로 두처리간에 유사한 결과를 나타냈다. TC 또한 처리구와 대조구가 각각 252mg/dl과 227mg/dl로 처리구에서 높게 나타났다. 지방분해를 촉진하는 T_3 과 T_4 의 농도가 증가한 결과를 나타냈는데 이는 체지방의 분해를 대조구 보다 활발하게 하였을 것으로 추정하며 시험말기 지방조직으로부터 분비되는 호르몬의 일종인 leptin의 농도가 처리구에서 대조구 보다 낮게 나타난(Table 2-7) 경향이 이를 뒤받침 하고 있다.

Table 2-7. Effects of dietary BSW supplementation on blood cholesterol and lactation hormones in Holstein dairy cows

		Control	BSW	Significance
GH(ng/ml)	D0	2.33	2.82	NS
	D90	1.17	1.07	NS
	Increment	-1.16	-1.75	NS
	Increment(%)	-49.8	-62.0	NS
IGF-1 (ng/ml)	D0	45.5	51.8	NS
	D90	33.8	54.8	*
	Increment	-11.7	3.05	*
	Increment(%)	-49.8	5.89	*
T ₃ (ng/dl)	D0	161	132	NS
	D90	165	158	NS
	Increment	3.94	25.7	NS
	Increment(%)	2.45	19.4	*
T ₄ (ug/dl)	D0	5.12	4.10	NS
	D90	5.34	4.75	NS
	Increment	0.23	0.65	NS
	Increment(%)	4.44	15.9	*
TC(mg/dl)	D0	232	201	NS
	D90	228	252	NS
	Increment	-4.14	51.1	NS
	Increment(%)	-1.79	25.5	*
HDL-C (mg/dl)	D0	113	109	NS
	D90	116	125	NS
	Increment	2.59	16.3	NS
	Increment(%)	2.28	15.0	*
LDL-C (mg/dl)	D0	33.4	26.1	NS
	D90	31.3	34.1	NS
	Increment	-2.14	8.00	NS
	Increment(%)	-6.41	30.6	*
Leptin (ng/ml)	D90	4.41	3.63	NS

¹⁾ All figures represent the mean of 7 cows.

GH: growth hormone, IGF-1: insulin like growth factor-1.

TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol.

LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol.

BSW: Brown seaweed waste.

Increment = Day90 - Day0.

Increment(%) =(Day90 - Day0)/Day90×100.

* p<0.05.

4. 적 요

본 시험은 폐미역 분말의 첨가가 Holstein 젖소의 유생산과 내분비계에 미치는 영향을 규명하기 위하여 실시하였다. 실험1에서는 폐미역 분말의 첨가수준을 결정하기 위하여 1%, 2%, 4% BSW첨가수준으로 3개월간 시험한 결과 4%수준에서 가장 유량 증가가 뚜렷한 결과를 보였다. 이와 같은 결과를 기초로 실험2에서는 기초사료에 폐미역분말을 1일 두당 4% BSW(800g)의 수준으로 급여하여 비유성적, 면역반응 및 비유관련 호르몬을 무처리구(대조구)와 비교하였다. 사료건물섭취량은 미역분말처리에 의해 영향을 받지 않았고 비유말기 산유량은 대조구에 비해 일일 6.25kg이나 높게 증가하였다($p < 0.05$). 하지만 유성분은 처리구간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 대조구의 체세포수는 유동적이었지만 처리구의 체세포수는 시험 종료 시 10만개/ml로 시험개시에 비해 무려 53.77%의 감소효과를 보여 탁월한 체세포감소효과를 나타내었다. 미역분말의 첨가가 혈중 면역글로부린의 함량에는 영향을 주지 않은 것으로 나타났다. 비유에 직접적인 영향을 미치는 IGF- I의 혈장농도는 미역처리구에서 유의성 있게 증가하였으며 비유와 직접적인 관련이 있는 또 다른 호르몬인 T3와 T4의 농도도 유의적으로 증가하는 양상을 나타내었다. 지질대사산물인 TC, HDL-C와 LDL-C의 농도는 모두 처리구에서 증가하는 양상을 나타냈다.

이와 같이 미역부산물의 사료 중 첨가는 유생산량의 증가를 보였는데 이는 혈중 비유관련 호르몬의 분비에 영향을 준 결과로 확인된바 젖소사료자원으로서의 응용 가치가 클 것으로 사료된다.

제3절 DS-01균주를 이용한 폐미역의 저장성 확보 및 사료 화에 관한 연구

1. 서론

예로부터 우리나라에서는 해조를 식용, 약용, 사료 또는 해조공업의 원료로 많이 이용하여 왔으며, 최근에는 건강식품으로 인정을 받으면서 본격적인 식량자원으로 활용하려는 움직임이 많이 일고 있고, 바다의 채소(sea vegetable)라는 이름을 사용할 정도로 우리의 식생활에 밀접한 관계가 있다(해양수산부, 2000). 그러나 현재까지 실제로 이용되고 있는 해조의 종류는 70여종에 불과하며, 해조류의 가공에 있어서 가장 문제가 되는 것은 단단한 조체와 세포벽 층진 물질인 세포 간 다당의 유용성분을 추출하는 것과, 추출 시 많은 비용을 필요하게 된다는 것이다(Bae 등, 2002). 많은 해조류 중에서 미역은 버리는 부분이 많아 환경오염을 유발할 가능성이 어느 해조류보다 높다(박 등, 2003). 미역은 바다에서 채취할 때 미역의 밑 부분을 잘라서 그대로 바다에 버리고 또 육상에서 가공 중에도 많은 부분이 폐기물로 버려지고 있기 때문이다(안 등, 2004). 박 등(2003)바다에 폐기되는 미역의 양은 전체 미역의 약 40~60%로 우리나라에서만 14~21만톤이 매년 남해안에 폐기되어 바다 오염과 미역의 썩살병 등을 발생시키는 원인이 되고 있으며 미역폐기물을 수거해 와도 육상에서 활용할 방법이 없어 또 다른 환경오염을 만들기 때문이라고 하였으며 폐기되는 미역의 밑 부분은 대부분이 미역의 줄기이고 약간의 포자엽, 뿌리, 잎들을 포함하나 식용으로 이용되는 미역 잎과 조성이 비슷하여 여러 용도로 활용할 수 있다. 미역 폐기물은 건강식품(Suzuki 등, 1993a; Ikegami 와 Innami, 1990; Suzuki 등, 1993b; Kimura와 Tsuji, 1993)과 중금속이온의 흡착제(Alderhold 등, 1996; Williams와 Edyvean, 1997; Costa 등, 1996; Chu 등, 1996) 등 고부가가치 제품으로도 이용될 수 있고 또한 가축의 사료 또는 유기질비료와 같은 저가 제품의 원료로 이용될 수 있다.

미역 폐기물을 사료화 하기 위하여 전통적인 건조방법이 있지만 미역의 채취시기가 2-4월에 집중되어 있기 때문에 건조설비를 이용하여야 하고 이러한 건조설비의 년가동율은 1/4정도밖에 되지 않기에 다른 대안이 제시되어야 한다고 본다. 따라서 본 연구는 알긴산 분해 능력이 뛰어난 DS-01균주를 이용하여 실험1에서는 미역을

저분자화 하는 특징을 가진 DS-01균주를 이용하여 미역을 저분자화 함으로써 확보되는 저장기간 결정, 영양소의 손실여부, 안전성을 확인하였다. 실험2에서는 전 시험에서 확정된 최적 첨가수준으로 DS-01균주를 배양하여 집중시킨 미역폐기물의 발효단계별 시료를 이용하여 반추위 발효성상에 미치는 영향을 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

실험 1. DS-01균주를 이용한 미역의 저장 방법 개발 및 사료화에 관한 연구

가. DS-01균주의 배양: DS-01균주는 항온교반기(SI-600R, Lab.companion. KOREA)를 이용하여 30℃, 150rpm으로 회전전탕하면서 배양하였으며 배양에 사용된 배지조성은 아래와 같다.

DS-01균주배양용 배재 조성(1L):

품 목	수 량
증류수	250ml
해수	750ml
Peptone	5g
Yest extract	1g
Agar*	15g

* 평판배지 배양시 추가 항목

가. 생초미역 수확 전 건미역의 DS-01균에 의한 발효실험

발효기간: 2개월간

실험설계: Control : 배양액만 접종

Treat 1: 5×10^7 cfu/g BSW

Treat 2: 1×10^8 cfu/g BSW

Treat 3: 2×10^8 cfu/g BSW

조사간격 : 0, 14, 30, 60일

샘플갯수: 4(처리수) x 3 (기간수) x 4 (반복수) = 72개

분석항목 : 발효기간에 따른 미역의 particle size(저분자화)의 변화

영양소 함량의 변화 (DM, CP, EE, CF등)

미생물 오염도: 대장균수, 총세균수, 병원성 미생물

다. 생초미역폐기물의 DS-01균에 의한 발효실험

발효기간: 6개월간 (2004년 9월 종료)

실험설계: Control : 배양액만 접종

Treat 1: 5×10^7 cfu/g BSW

Treat 2: 1×10^8 cfu/g BSW

Treat 3: 2×10^8 cfu/g BSW

조사간격 : 1, 2, 3, 6, 12개월

샘플갯수: 4(처리수) x 5 (기간수) x 5 (반복수) = 100개

분석항목 : 발효기간에 따른 미역의 particle size(저분자화)의 변화

영양소 함량의 변화 (DM, CP, EE, CF)

미생물 오염도: 대장균수, 총세균수, 병원성 미생물

(미생물 오염도 검사는 서울대 수의대에 의뢰하여 진행하였음)

실험 2. 발효미역 발효 적정화 및 반추위 발효성상조사

- *in vitro* 실험으로 반추위 발효성상에 미치는 영향 조사
- 발효미역의 반추위 발효 성상 조사

가. 실험설계

실험은 단계별로 발효시킨 발효미역(Table 3-2)을 수준별로 첨가하여 *in vitro* 반추위 발효성상을 조사한 것으로, 처리구는 대조구(0%), 2%, 4%, 6% 네 수준의 실험구로 설정하였다. 기초사료는 착유우용 배합사료(Table 3-1)와 건초를 각각 50:50의 비율로 혼합하여 배양기질로 하였다.

Table 3-1. Chemical composition of experimental diets(%)

Items	Diet	
	Concentrate	Tall fescue
Chemical composition, %		
Crude protein	19.00	14.21
Crude fat	3.00	3.47
Crude fiber	20.00	26.16
Crude ash	15.00	6.24
Ca	0.80	0.14
P	0.50	0.02
TDN ²⁾	72.50	51.00

¹⁾BSW: Brown seaweed waste.

²⁾ TDN: Total digestible nutrient.

Table 3-2. Chemical composition of fermented BSW¹⁾ diets(%).

Items	Diet				
	1month	2month	3month	6month	12month
Chemical composition ²⁾ (%, DM basis)					
Crude protein	21.07	20.15	19.44	18.08	17.04
Crude fat	3.62	3.33	3.02	2.55	2.11
Crude fiber	10.05	10.88	11.23	13.95	14.95
ADF	30.21	30.25	29.83	31.33	31.33
NDF	24.11	23.05	24.61	26.75	26.75
NFE	32.11	32.44	30.56	27.33	25.72
Crude ash	33.15	33.20	35.75	38.09	40.18
Ca	1.59	1.48	1.55	1.43	1.43
P	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38

¹⁾BSW: Brown seaweed waste.

²⁾All values represent the mean of triplicates.

나. Rumen inoculum 준비와 배양방법

배양에 사용된 rumen inoculum은 반추위 cannulae가 정착된 Holstein cow로부터 얻어 실험실로 운반하였다. 운반하는 동안 39℃로 유지된 보온병에 잘 보관하였고, 운반 후 즉시 반추위 내용물(rumen content)은 사료입자를 제거하기 위해 4겹 cheesecloth에 여과하였고 항온수조에 39℃로 유지하여 보관하였다. 여과된 반추위내

용물은 CO₂로 bubbling한 rumen buffer 용액과 1:1로 혼합하여 이를 rumen inoculum으로 사용하였다. Rumen buffer 용액은 McDougal's buffer를 사용하였다. 먼저 기질 0.25g을 120ml serum bottle에 넣고 혐기상태에서 rumen inoculum 25ml을 주입하고 Bottle 은 butyl-rubber stopper와 aluminum cap으로 막은 후 39℃로 설정된 항온교반기(SI-600R, Lab.companion. KOREA)에서 120rpm으로 교반하면서 배양하였으며 배양시간은 3, 6, 9, 12, 24시간으로 하였다. 각 배양시간이 끝나면 배양병 각각의 배양액을 시료로 채취하고 rumen parameter인 pH, 암모니아태 질소농도 및 휘발성지방산농도를 분석하여 미역부산물의 반추위내 발효성상을 평가하였다.

다. 분석방법

실험에 이용된 기초사료 및 미역부산물의 영양성분은 AOAC(1995)의 방법에 따라 건물, 조단백질, 에테르추출물, 조회분, 칼슘 및 인 함량을 분석하였고, ADF(acid detergent fiber)와 NDF(neutral detergent fiber)는 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석하였다. 배양한 후에 각 배양물은 pH meter(inoLab pH Level1, Germany)를 사용하여 pH를 측정 한 후 Ammonia-N 측정용은 배양물을 4℃에서 3000rpm으로 15분간 원심 분리하여 상층액을 분석시 까지 -20℃에 보관하여 사용하였으며 VFA(volatile fatty acid)분석용은 배양물에 25% HPO₃을 4:1의 비율로 첨가하여 4℃에서 3,000rpm으로 15분간 원심 분리하여 상층액을 분석 시 까지 -72℃에 보관하여 사용하였다. Ammonia-N의 분석은 Chaney와 Marbach(1962)의 방법에 따라 phenol과 alkali를 동량으로 발색시킨 후 spectrophotometer(Optizen 1142H, MECASYS CO., LTD, KOREA)를 이용하여 630nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 휘발성 지방산은 Erwin등(1961)의 방법에 따라 gas chromatography(VARIAN CP-3800)에 주입하여 분석하였다. 휘발성지방산분석에 사용된 column은 fused silica capillary column(30m×0.32mm, 0.5 μ m film thickness, HP Innowax)이었고, detector는 FID(flame ionization detector)이었다. 미생물 오염도 검사는 서울대학교 수의과 대학 미생물 실험실에 의뢰하여 분석하였다.

라. 통계분석

본시험에 얻어진 결과는 SAS package program(2000, release. 8.1 version)을 이용하여 통계분석하였으며 GLM(general linear model) procedure의 Duncan 다중검정에

의해 처리구간의 유의성($p < 0.05$)을 검증하였다(Steel과 Tarrie, 1980).

3. 결과 및 고찰

실험 1. DS-01균주를 이용한 미역의 저장 방법 개발 및 사료화에 관한 연구

Table 3-3은 DS-01균주의 접종량과 발효 기간에 따른 DS-01균주에 의한 폐미역의 분해정도를 발효미역을 2.8 mm 체를 이용하여 통과하지 않고 남은 미역입자의 비율을 측정하여 나타낸 결과이다. Table3-3에서 나타난 것과 같이 폐미역에 DS-01균주를 처리한 처리구 모두에서 대조구에 비하여 그 분해정도가 14일부터 차이를 보였으며, 특히 2×10^8 cfu/g의 균주를 첨가한 treat 3에서 대조구에 비하여 뛰어난 분해력을 보였다. 아울러 treat 3의 발효기간별 영양소 변화량을 조사한 결과는 table 3-4에 나타내었다. 결과를 보면 발효가 진행됨에 따라 단백질 함량이 낮아졌으나, 미네랄중 Ca과 P의 함량은 감소되지 않았다. 아울러 미생물 감염여부를 조사한 table 3-5~6의 결과에는 DS-01첨가구에서 세균수가 대조구에 비하여 크게 감소되었다. 대조구에서 세균수가 10만이상검출된 것은 잡균의 유입과 증식됨으로 나타난 결과라 사료되나, DS-01처리구에서 10만 이하검출된 것은 DS-01균주가 잡균의 유입을 막고 있음을 간접적으로 시사하고 있다. 아울러 자료로 제시할 수는 없지만 발효상태를 육안 및 냄새를 통하여 검증한 결과에서도 DS-01첨가구에서는 부패에 따른 악취가 나지 않은 반면 대조구에서는 미역의 심한 부패에 따른 악취가 발생됨이 확인되었다. 아울러 대조구에 비하여 균주 처리구의 미역의 촉감이 부드러웠으며 점성도 약하였다. 현재 이들에 대한 곰팡이 독소인 아프라톡신 및 보미톡신에 대한 검사를 실시중에 있다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 DS-01균주는 미역의 저분자화에 탁월한 효과가 있으며 아울러 세균의 증식을 억제함으로 부패를 막는데 효과가 있음이 확인되었다. 이들의 결과는 추후 생초실험을 통하여 보다 장기간의 발효상태를 조사할 예정으로 있으므로 그 효과는 보다 정확하게 검증될 예정이다.

Table 3-3. Degradation of BSW with different DS-01 after day 14, 30 and 60 ¹⁾

Degradation (%) ²⁾	Control	Treat 1	Treat 2	Treat 3
Day 14	55.25	69.55	55.79	66.70
Day 30	54.49	78.49	67.75	82.89
Day 60	91.89	94.85	96.34	97.09

¹⁾ All values represent the mean of 6 samples;

²⁾ (Total particle-2.8mm passed particles)/total particle

Table 3-4. Change in chemical composition of the BSW(dry) in treat 3 during the fermentation periods.

Items	Day 0	Day 30	Day 60
	----- Chemical composition ¹⁾ (% , DM basis)		
Crude protein	11.45	10.40	8.46
Acid detergent fiber	12.62	12.45	12.60
Neutral detergent fiber	21.33	23.36	25.56
Non-fibrous carbohydrate ²⁾	27.57	26.22	28.55
Ether extract	1.62	1.45	1.54
Crude ash	38.03	38.23	35.71
Ca	0.95	0.87	0.95
P	0.48	0.54	0.46

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ value calculated as follows: 100 - (crude protein + neutral detergent fiber + ether extract + crude ash).

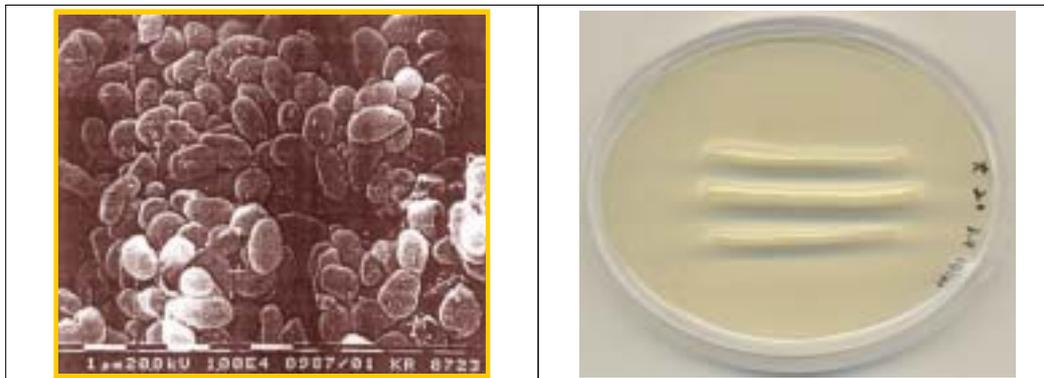


Figure3-1. DS-01균주 및 그의 접종에 의한 agar배지 함몰현상

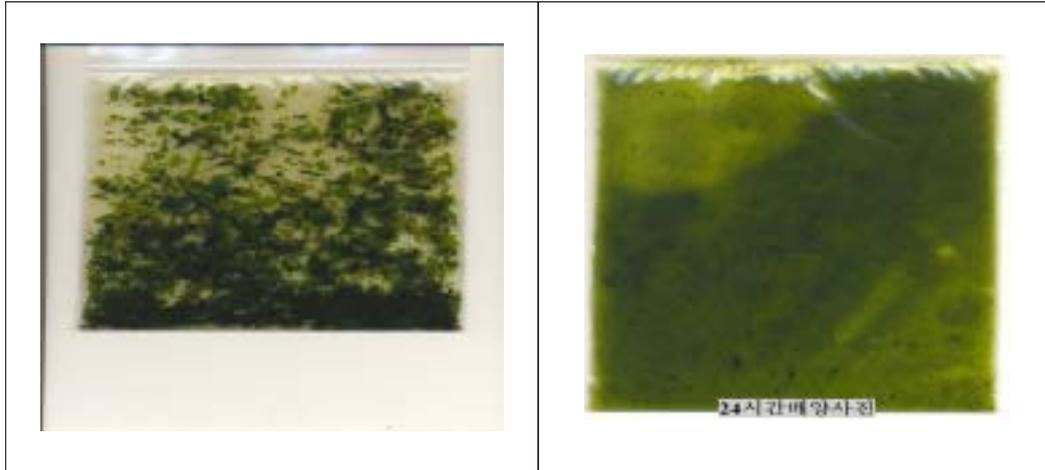


Figure3-2. DS-01균주에 의한 미역의 분해사진

Table 3-5. Effect of DS-01 supplementation in BSW(dry) on microbial contamination after 60 days.

Treatment	대장균군수 CFU/ml	총세균수 CFU/ml	대장균						
			O157:	Sal.	Stap.	L.	Entero.	Camp.	Cl.
Control	ND	1.0E+ 08	-	-	-	-	-	-	-
	ND	1.2E+ 08	-	-	-	-	+	-	-
Treat 1	ND	1.3E+ 07	-	-	-	-	-	-	-
	ND	1.8E+ 06	-	-	-	-	+	-	-
Treat 2	ND	3.7E+ 06	-	-	-	-	-	-	-
	ND	6.4E+ 05	-	-	-	-	+	-	-
Treat 3	ND	2.1E+ 04	-	-	-	-	+	-	-
	ND	3.9E+ 05	-	-	-	-	-	-	-

ND : non-detection, +: detection, -:non-detection

Sal : 살모넬라, Stap : 포도상구균, L : 리스테리아,
 Entero : 장구균, Camp : 캄필로박터, Cl. : 클로스트리디움

Table 3-6. Effect of DS-01 supplementation in BSW(Fresh) on microbial contamination.

Treatment	대장균 균수 CFU/ml	총세균 균수 CFU/ml	대장균 O157:H7	Sal.	Stap.	L.	Entero.	Camp.	Cl.
30	Control	5.36E+04	9.8E+06	-	-	-	-	-	-
		ND	3.4E+06	-	-	-	-	-	-
	Treat 1	1.8E+03	2.8E+06	-	-	-	-	-	-
		ND	1.3E+06	-	-	-	-	-	-
	Treat 2	9.0E+02	3.6E+06	-	-	-	-	-	-
		ND	6.2E+06	-	-	-	-	-	-
60	Treat 3	7.1E+05	8.4E+06	-	-	-	-	-	-
		4.5E+02	3.4E+06	-	-	-	-	-	-
	Control	7.9E+04	2.4E+06	-	-	-	+	-	-
		1.2E+06	9.3E+06	-	-	-	+	-	-
	Treat 1	1.2E+06	3.9E+06	-	-	-	+	-	-
		3.8E+05	4.1E+06	-	-	-	+	-	-
90	Treat 2	3.0E+06	9.5E+06	-	-	-	+	-	-
		2.1E+06	2.4E+07	-	-	-	+	-	-
	Treat 3	6.4E+04	2.9E+06	-	-	-	+	-	-
		1.7E+06	4.8E+06	-	-	-	+	-	-
	Control	9.3E+04	2.3E+05	-	-	-	+	-	-
		1.2E+05	2.7E+05	-	-	-	+	-	-
180	Treat 1	7.9E+04	6.3E+05	-	-	-	+	-	-
		1.6E+04	3.5E+05	-	-	-	+	-	-
	Treat 2	1.3E+05	0.3E+06	-	-	-	+	-	-
		7.2E+03	2.3E+05	-	-	-	+	-	-
	Treat 3	6.4E+04	1.2E+06	-	-	-	+	-	-
		5.0E+05	1.1E+06	-	-	-	+	-	-
15*	Treat 3	5.9E+01	4.5E+06	-	-	-	+	-	-
30*	Treat 3	4.5E+00	1.6E+06	-	-	-	+	-	-
360*	Treat 3	0.0E+00	1.3E+06	-	-	-	+	-	-

ND : non-detection, +: detection, -:non-detection

Sal : 살모넬라, Stap : 포도상구균, L : 리스테리아,

Entero : 장구균, Camp : 캠페일로박터, Cl. : 클로스트리디움

*: 대용량 2×10^8 cfu/g접종수준임

Table 3-7. Chemical composition of fermented BSW¹⁾ diets(%).

Items	Diet				
	1month	2month	3month	6month	12month
	Chemical composition ²⁾ (%, DM basis)				
Crude protein	21.07	20.15	19.44	18.08	17.04
Crude fat	3.62	3.33	3.02	2.55	2.11
Crude fiber	10.05	10.88	11.23	13.95	14.95
ADF	30.21	30.25	29.83	31.33	31.33
NDF	24.11	23.05	24.61	26.75	26.75
NFE	32.11	32.44	30.56	27.33	25.72
Crude ash	33.15	33.20	35.75	38.09	40.18
Ca	1.59	1.48	1.55	1.43	1.43
P	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38

¹⁾BSW: Brown seaweed waste.

²⁾All values represent the mean of triplicates.

실험 2. 발효미역 발효 적정화 및 반추위 발효성장조사

착유우용사료와 조사료를 1:1로 배합한 기초사료에 단계별 미생물분해 미역부산물을 *in vitro* 배양장치에 수준별(0, 2, 4, 6)로 첨가했을 때 반추위내 발효특성을 조사하여 반추동물에 대한 미생물분해산물의 영양적 가치를 평가하였다. Table 3-8~12은 각각 발효 1개월, 2개월, 3개월, 6개월, 12개월 된 미역을 첨가하였을 때 반추위 pH와 암모니아태 질소의 생성량을 나타낸 결과이다.

가. 반추위내 pH에 대한 영향

반추위내 적정 pH는 6.0-6.3이고(이 등, 2001), 반추위내 섬유소분해 박테리아의 최적 pH는 6.0~6.8로서 6.0이하로 낮아지면 섬유소분해 미생물의 유지요구량이 증가하여 미생물의 성장률 및 성장효율이 감소한다(Hutjens, 1995). 반추위 pH는 일반적으로 가축이 섭취한 사료의 영양적 조성, 급여방식, 사료의 물리적인 형태, 가공방법 등 여러 가지에 의해 영향을 받으나 그 중에서 영양적 조성이 가장 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있으며(Bargo 등, 2001, Holden 등, 1994, Rearte와 Santini, 1993) 반추위내에서 전분의 과도한 분해는 반추위 내 pH를 저하시켜 미생물의 성장저하로 사료의 분해도가 떨어지며(Grant와 Mertens, 1992)또한 Jasaitis 등(1987)은 사료중 양이온농도와 조회분 비율이 완충능력과 깊은 상관관계가 있다고 보고하였다.

반추위 pH에 대한 영향은 Table 3-8~12에서 나타내었다. 발효 1개월의 경우 발효 9시간에서 6% 미역분말 첨가구가 타 처리구에 비하여 높은 pH를 나타내는 경향이 있었으며 발효 24시간에서 모든 발효미역 첨가구가 대조구의 6.33보다 높은 pH를 나타냈다($p < 0.05$). 발효2개월의 경우 발효 3시간에서 6%BSW첨가구가 6.92로 대조구와 2%, 4% BSW 첨가구보다 높은 경향($p=0.0540$)을 나타냈으며 발효9시간에서는 대조구가 6.51 2% BSW가 6.50, 4% BSW가 6.47, 6%BSW가 6.50으로 대체로 비슷한 결과를 나타낸 외에 발효 6, 12, 24시간에서는 미역부산물 첨가구가 대조구보다 높게 나타났다. 발효 3개월의 미역의 경우 발효 3시간에서 대조구, 2% BSW, 4% BSW, 6% BSW가 각각 6.55, 6.59, 6.58, 6.55로 대조구와 6% BSW가 같은 수준의 pH값을 나타냈고 2% BSW와 4%BSW가 타 처리구에 비해 약간 높게 나타났다. 발효 6시간에는 대조구, 2% BSW, 4% BSW, 6% BSW가 각각 6.45, 6.44, 6.44, 6.44로 거의 같은 수준의 pH값을 나타냈으나 발효 9시간에서는 미역폐기물 첨가군의 pH가 오히려 대조구보다 낮은 경향을 나타내었으며 발효 12시간과 24시간에서는 유의적인 감소($p < 0.05$)결과를 보여주었다. 발효 6개월과 발효 1년 된 미역부산을 이용한 시험에서도 발효 3시간과 6시간에는 처리간 대체로 유사한 결과를 나타내고 통계적인 유의차는 없지만 발효 9시간과 12시간 및 24시간에서는 오히려 발효미역 첨가구들이 대조구보다 낮은 pH값을 나타내고 있다. 백등(2004)이 미역부산물 첨가가 *in vitro* 발효성상에 미치는 영향을 조사한 시험에서 배양기질을 완전혼합사료(total mixed ration): 착유우용 배합사료=7:3으로 하였을 때 곡류사료의 비중이 높아 pH의 급격한 저하현상을 보였으나 본 시험에서는 pH의 변화가 비교적 완만하였으며 이는 배양기질이 젖소용농후사료: 톨페스큐=50:50으로 하였기에 나타난 결과로 사료 된다. Piya 등(2001)이 본 시험과 동일한 방법으로 유카 추출물 첨가가 *in vitro* 반추위 미생물 발효에 미치는 영향을 조사한 시험에서 옥수수과 벧짚을 기질로 하였을 때 pH변화 양상이 본 시험과 유사하게 나타났다.

나) 반추위내 암모니아태 질소에 대한 영향

반추위 암모니아태 질소에 대한 영향은 Table 3-8~12에서 나타내었다. 반추위내 생성되는 암모니아의 대부분은 사료 단백질의 분해로 생성되는 대사산물이고 이들은 반추위내 미생물의 성장에 필요한 질소원을 공급하여 미생물체 단백질 합성의 원료가 되고 이후 소장으로 이행하여 숙주동물이 필요로 하는 대부분의 아미노산을 공급

하며, 미생물이 생성된 암모니아를 체내로 유입시키기 위해서는 충분한 양의 에너지를 필요로 한다(Hoover와 Stokes, 1991). 사료단백질의 분해로 생성된 암모니아가 미생물체내 단백질로 합성시 반추위내 분해성 탄수화물이 부족하면 반추위내에서 암모니아가 축적되고, 이는 반추위벽을 통하여 흡수되며 흡수된 암모니아는 간을 거쳐 최종적으로 요소로 전환되어 뇨로 배출되는 영양소의 낭비를 초래하게 된다(Russell과 Sniffen, 1984). 반추위내 암모니아태 질소농도에서는 발효 1개월 미역부산물물의 경우 3시간에서는 발효미역첨가구가 대조구에 비해 높은 농도 즉 대조구, 2%BSW, 4%BSW, 6%BSW가 각각 3.71, 4.60, 4.53, 4.28mg/dl로 나타났다. 백등(2004)의 시험 결과는 미역부산물내에 존재하는 단백질은 반추위내에서 비교적 분해가 빠르게 일어나는 것으로 나타났고, 특히 배양초기에 단백질의 상당량이 분해되어 다소 높은 암모니아태 질소 농도를 나타내었으며 발효 24시간에서도 4%BSW를 제외한 기타 처리에서 대조구 보다 낮은 암모니아태 질소 농도를 나타냈고 특히 전체 발효기간동안 6%BSW처리구가 발효 3시간과 24시간에서 타 처리구에 비하여 낮게 나타나는 경향이 있었다. 발효 3개월과 6개월 미역부산물 첨가의 경우 발효3시간에서 24시간까지 전기간동안 처리간에 유사한 암모니아태 질소 생성을 보여 통계적인 유의차를 나타내지 않았다. 발효 1년의 경우 9시간과 12시간에서 모든 발효미역첨가구가 대조구에 비해 유의적으로 높은($p < 0.05$) 암모니아태 질소 농도를 나타냈고 기타 시간대에서는 통계적인 유의차를 나타내지 않았다.

Table 3-8. Effects of dietary supplementation fermented BSW(1month) on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
pH						
3	6.93	6.92	6.92	6.91	0.008	0.9280
6	6.69	6.72	6.72	6.70	0.011	0.9485
9	6.57 ^b	6.56 ^b	6.56 ^b	6.60 ^a	0.007	0.0619
12	6.44	6.46	6.46	6.47	0.006	0.5697
24	6.33 ^b	6.34 ^a	6.35 ^a	6.35 ^a	0.003	0.0206
NH ₃ -N(mg/dℓ)						
3	3.71	4.60	4.53	4.28	0.254	0.6751
6	4.91 ^a	2.79 ^b	3.35 ^b	3.25 ^b	0.294	0.0373
9	4.97	4.02	4.22	4.28	0.367	0.8776
12	6.19 ^a	5.51 ^{ab}	5.57 ^{ab}	4.67 ^b	0.278	0.2066
24	14.36	12.67	14.54	14.37	0.521	0.5731

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-9. Effects of dietary supplementation fermented BSW(2month) on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
pH						
3	6.79 ^b	6.79 ^b	6.76 ^b	6.92 ^a	0.023	0.0540
6	6.56	6.68	6.60	6.64	0.021	0.2947
9	6.51	6.50	6.47	6.50	0.008	0.2876
12	6.34	6.36	6.36	6.41	0.014	0.4112
24	6.19	6.23	6.21	6.22	0.009	0.5212
NH ₃ -N(mg/dℓ)						
3	6.24 ^a	5.23 ^{ab}	5.68 ^{ab}	4.31 ^b	0.299	0.0765
6	6.33	5.47	5.06	4.23	0.343	0.2759
9	7.19	6.33	7.44	4.25	0.634	0.2797
12	10.10	9.84	8.89	7.83	0.831	0.8367
24	18.44 ^{ab}	18.08 ^{ab}	20.46 ^a	13.45 ^b	1.194	0.1075

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-10. Effects of dietary supplementation fermented BSW(3month) on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
pH						
3	6.55	6.59	6.58	6.55	0.009	0.4623
6	6.45	6.44	6.44	6.44	0.008	0.7344
9	6.34 ^a	6.33 ^{ab}	6.31 ^b	6.34 ^a	0.005	0.0907
12	6.30 ^a	6.28 ^{ab}	6.26 ^b	6.26 ^b	0.007	0.0257
24	6.13 ^a	6.10 ^a	6.09 ^{ab}	6.05 ^b	0.009	0.0163
NH ₃ -N(mg/dℓ)						
3	7.91	7.76	8.44	7.63	0.194	0.5024
6	6.77	7.97	8.58	7.87	0.287	0.2156
9	9.38	9.53	10.08	9.40	0.282	0.8796
12	11.15	11.54	12.17	11.85	0.336	0.8313
24	26.47	27.02	26.80	29.50	0.792	0.6473

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-11. Effects of dietary supplementation fermented BSW(6month) on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
pH						
3	6.55	6.56	6.56	6.55	0.012	0.7726
6	6.45	6.44	6.45	6.44	0.009	0.1953
9	6.34 ^{ab}	6.27 ^b	6.29 ^{ab}	6.34 ^a	0.006	0.1660
12	6.30	6.21	6.20	6.26	0.005	0.2794
24	6.13	6.13	6.09	6.05	0.008	0.1823
NH ₃ -N(mg/dℓ)						
3	6.44	6.97	5.28	6.18	0.312	0.3906
6	6.08	5.87	4.97	5.52	0.303	0.7032
9	8.30	7.69	7.67	6.92	0.413	0.7528
12	10.06	8.35	9.71	10.16	0.536	0.7430
24	21.30	18.52	19.59	17.77	0.721	0.4520

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-12. Effects of dietary supplementation fermented BSW(12month) on *in vitro* pH and ammonia-N concentration.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
pH						
3	6.68	6.64	6.65	6.63	0.009	0.3202
6	6.51 ^a	6.45 ^b	6.48 ^{ab}	6.47 ^{ab}	0.008	0.0360
9	6.36 ^a	6.34 ^b	6.37 ^{ab}	6.37 ^a	0.005	0.0562
12	6.25	6.27	6.26	6.28	0.005	0.3084
24	6.16 ^a	6.13 ^b	6.15 ^{ab}	6.13 ^b	0.005	0.0527
NH ₃ -N(mg/dℓ)						
3	4.84 ^b	4.71 ^b	7.17 ^a	4.47 ^b	0.428	0.0656
6	4.67 ^b	4.84 ^b	7.79 ^{ab}	8.97 ^a	0.708	0.0557
9	5.66 ^c	7.12 ^b	6.93 ^b	8.97 ^a	0.383	0.0027
12	8.26 ^b	12.49 ^a	12.34 ^a	12.17 ^a	0.574	0.0018
24	23.27	27.13	27.67	25.52	1.044	0.5930

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

다) 반추위내 휘발성지방산에 대한 영향

반추동물에 있어서 탄수화물은 미생물 성장을 위한 에너지원과 우유생산에 필요한 에너지 전구물질(energy precursor)로서 유우가 필요로 하는 에너지 요구량의 70~80%를 공급한다(Nocck과 Russell, 1988). 그러나 탄수화물의 화학, 구조적 복잡성과 반추위와 장관 내 분해 특성이 다양하여(De Visser, 1993), 여러 종류의 탄수화물 공급은 반추위 내 발효, 장관 내 분해 및 유선으로의 영양소 공급이 달라진다. NRC(2000)에서는 탄수화물을 구조성 탄수화물과 비구조성 탄수화물로 분류하고 이러한 분류체계는 반추위 내 분해속도와 반추위 미생물의 질소이용성과 밀접하게 관계한다고 하였다. Cellulose와 hemicellulose로 구성된 구조성 탄수화물 분해미생물은 주로 ammonia를 이용하고(Bryant, 1973), starch, pectin, sugar 등을 구성하는 비구조성 탄수화물 분해미생물은 미생물체 단백질합성을 위해 ammonia, amino acids, peptides를 이용한다(Russell 등, 1992). 비구조성 탄수화물은 반추위 내에서 빠른 속도로 분해되고, 반추위 미생물성장을 위한 에너지를 공급한다(이 등, 2001). 대부분의 곡류사료는 다량의 starch를 함유하고, 그 범위가 58.1~75.7%의 범위에 있다고 보고된 바 있다.(Herrera-Saldana 등, 1990). 반추위내 분지지방산(branched-chain fatty

acid)은 사료단백질 특히 분지아미노산(leucine, isoleucine 및 valine)이 미생물에 의한 분해로 생성되며 이들은 반추위내 미생물이 분지아미노산을 합성하도록 탄소골격을 제공할 뿐만 아니라 대다수의 섬유소분해 미생물중에 영양분을 제공하여 반추위내 섬유소분해를 향상시키는 역할을 한다(백 등, 2004).

미역에 다량 함유되어 있는 다당류는 alginic acid, fucoidan, laminaran 등 화학적으로 견고한 결합형태로 존재하고 그 중 alginic acid는 분자량이 5만~20만의 고분자 섬유질로서 D-mannuronic acid와 L-guluronic acid의 이질다당류(heteropolysaccharide)로 이루어져 있고 이들은 미역을 포함한 갈조류 세포벽의 대부분을 차지하며(Beresford 등, 2000; Klinkenberg 등, 2001), 반추동물에서는 구조성 탄수화물로서 작용하여 반추위 미생물에 의해 발효가 일어나면서 숙주동물에게 에너지를 공급한다(Greenwood 등, 1983a; Greenwood 등, 1983b; Beresford 등, 1999).

발효미역부산물의 첨가가 반추위 내 휘발성지방산의 농도에 미치는 영향은 Table 3-13~17에서 나타냈다. 발효 1개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 6시간에서 Iso-butyrate와 valerate의 농도가 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내고 Iso-valerate가 증가하는 양상을 나타낸 외, 기타 시간대에서 측정된 acetate, propionate, butyrate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 발효 2개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내고 valerate가 증가하는 양상을 나타낸 외, 기타 시간대에서는 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게 나타나는 경향을 보였는데 같은 시간대의 암모니아태 질소의 농도가 타 처리구보다 낮게 나타난 결과와 결부시켜 볼 때 발효 동조화에 의해 휘발성 지방산과 암모니아태 질소의 감소를 가져온 것으로 사료된다. 결과적으로 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도도 통계적인 유의차($p < 0.05$)를 나타냈다. 발효 3개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내고 valerate가 증가하는 양상을 나타낸 외, 기타 시간대에서 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게($p < 0.05$) 나타나는 경향을 보였는데 같은 시간대의 암모니아태 질소의 농도가 타 처리구보다

낮게 나타난 결과와 결부시켜 볼 때 발효 동조화에 의해 휘발성 지방산과 암모니아에 질소의 감소를 가져온 것으로 사료된다. 결과적으로 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도도 통계적인 유의차($p < 0.05$)를 나타냈다. 발효 6개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 9시간에서 iso-butyrate, iso-valerate가 현저하게 감소하고 butyrate, valerate는 감소하는 경향을 보이는 의외의 결과를 나타내결과를 나타냈고 기타 시간대에는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 발효 12개월 미역부산물의 경우 iso-butyrate는 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간에서는 증가하는 경향을 보이다 6시간에서는 통계적인 유의 차가 있게($p < 0.05$) 모든 미역발효제품 첨가구가 증가하였다. butyrate는 6시간과 9시간에서 증가하는 경향을 나타냈으며 iso-valerate는 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간과 6시간에서 대조구보다 유의적으로 증가($p < 0.05$)하고 9시간에서는 증가하는 경향을 나타냈다. Valerate는 발효 6시간에서 모든 미역발효부산물처리구가 증가하는 경향을 나타냈다. Acetate와 propionate는 처리간 유사한 결과를 나타냈다.

Table 3-13. Effects of dietary supplementation fermented BSW(1month)on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾			SEM ²⁾	p value	
	Control	BSW 2%	BSW 4%			BSW 6%
---- Acetate, mM ----						
3	39.76	39.61	41.17	41.26	0.700	0.8541
6	46.02 ^{ab}	43.48 ^b	48.90 ^a	48.34 ^a	0.804	0.0561
9	48.80	48.76	50.08	47.92	0.546	0.6299
12	60.21	57.45	57.21	59.04	1.230	0.8548
24	68.54	65.65	69.27	66.98	0.848	0.4953
---- Propionate, mM ----						
3	10.77	10.80	10.73	11.35	0.230	0.8452
6	12.07 ^b	12.17 ^{ab}	13.05 ^a	12.60 ^{ab}	0.156	0.1416
9	14.70	14.82	14.67	14.43	0.157	0.8747
12	17.91	12.20	17.23	18.55	1.392	0.3404
24	21.55	21.63	20.79	21.00	0.272	0.7434
---- <i>iso</i> -butyrate, mM ----						
3	0.59	0.63	0.64	0.68	0.021	0.6764
6	0.65 ^{ab}	0.59 ^b	0.71 ^a	0.72 ^a	0.019	0.0251
9	0.65 ^b	0.67 ^{ab}	0.74 ^a	0.66 ^{ab}	0.015	0.1024
12	0.92	0.82	0.83	0.87	0.032	0.7279
24	1.28	1.22	1.31	1.26	0.024	0.6627
---- Butyrate, mM ----						
3	4.67	4.54	4.97	4.73	0.126	0.8160
6	6.15 ^{ab}	5.24 ^b	6.37 ^a	6.45 ^a	0.191	0.0979
9	6.44 ^{ab}	6.47 ^{ab}	7.00 ^a	6.23 ^b	0.118	0.1441
12	8.76	7.72	7.77	8.05	0.272	0.5720
24	9.79	9.23	9.90	6.43	0.732	0.3612
---- <i>iso</i> -Valerate, mM ----						
3	0.77	0.79	0.85	0.87	0.025	0.5254
6	0.83 ^{ab}	0.76 ^b	0.92 ^a	0.96 ^a	0.029	0.0539
9	0.82 ^b	0.84 ^{ab}	0.94 ^a	0.85 ^{ab}	0.020	0.1698
12	1.28	1.07	1.09	1.17	0.055	0.5764
24	1.97	1.83	2.05	1.96	0.051	0.6057
---- valerate, mM ----						
3	0.54	0.52	0.60	0.51	0.019	0.4709
6	0.67 ^{ab}	0.59 ^b	0.70 ^a	0.72 ^a	0.018	0.0401
9	0.69 ^{ab}	0.69 ^{ab}	0.74 ^a	0.65 ^b	0.014	0.1615
12	0.97	0.85	0.85	0.87	0.033	0.6144
24	0.17	1.96	1.27	1.22	0.021	0.5884
---- Total volatile fatty acids, mM ----						
3	57.10	56.89	58.97	59.40	1.087	0.8821
6	66.39 ^{ab}	62.83 ^b	70.66 ^a	69.78 ^a	1.151	0.0528
9	72.09	72.24	74.18	70.75	0.789	0.5361
12	90.06	80.12	84.98	88.54	2.495	0.4693
24	104.40	100.76	104.59	98.85	1.390	0.5233

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-14. Effects of dietary supplementation fermented BSW(2month)on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾			SEM ²⁾	p value	
	Control	BSW 2%	BSW 4%			BSW 6%
---- Acetate, mM ----						
3	41.82	38.39	44.32	41.25	1.133	0.3098
6	48.00	51.71	52.71	48.27	1.540	0.7182
9	58.78 ^a	60.69 ^a	60.14 ^a	52.65 ^b	1.178	0.0428
12	61.96	63.60	61.01	59.66	1.870	0.9066
24	75.42	71.41	73.03	66.54	1.875	0.3040
---- Propionate, mM ----						
3	11.21	10.40	12.23	12.01	0.416	0.3341
6	12.83	15.18	15.40	14.57	0.561	0.4313
9	17.38	18.42	17.85	16.96	0.274	0.3227
12	17.90	19.59	19.20	20.13	0.473	0.4810
24	23.68	22.02	22.18	21.44	0.483	0.3538
---- iso-butyrate, mM ----						
3	1.56	0.57	0.64	0.60	0.021	0.5195
6	0.67	0.69	0.72	0.65	0.030	0.9112
9	0.84 ^{ab}	0.90 ^a	0.89 ^a	0.70 ^b	0.030	0.0736
12	0.99	0.98	0.88	0.84	0.073	0.8320
24	1.45	1.36	1.46	1.13	0.076	0.2442
---- Butyrate, mM ----						
3	5.52	4.62	5.97	4.76	0.267	0.2027
6	7.17	6.85	7.17	5.80	0.355	0.6130
9	9.60 ^a	9.24 ^a	9.61 ^a	6.90 ^b	0.397	0.0328
12	10.37	9.54	9.17	7.97	0.691	0.6379
24	12.46	11.81	12.12	9.89	0.575	0.1812
---- iso-valerate, mM ----						
3	0.70	0.60	0.79	0.68	0.034	0.2330
6	0.82	0.83	0.84	0.71	0.042	0.7994
9	1.10 ^{ab}	1.11 ^{ab}	1.18 ^a	0.82 ^b	0.054	0.1155
12	1.40	1.30	1.14	0.98	0.137	0.6856
24	2.28	2.10	2.29	1.62	0.153	0.2177
---- valerate, mM ----						
3	0.59	0.48	0.63	0.46	0.035	0.2686
6	0.74	0.71	0.74	0.61	0.036	0.6661
9	0.94 ^a	0.94 ^a	0.96 ^a	0.70 ^b	0.038	0.0566
12	1.09	1.01	0.95	0.84	0.081	0.7135
24	1.54	1.42	1.51	1.18	0.081	0.2250
---- Total volatile fatty acids, mM ----						
3	60.40	55.06	64.59	69.75	1.846	0.3207
6	70.23	75.98	77.56	70.61	2.468	0.7340
9	88.64 ^a	91.30 ^a	90.62 ^a	78.75 ^b	1.852	0.0409
12	93.71	96.03	92.35	90.42	3.145	0.9395
24	116.83	110.12	112.58	101.79	3.191	0.2889

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-15. Effects of dietary supplementation fermented BSW(3month)on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
---- Acetate, mM ----						
3	55.01	52.01	53.68	50.95	0.757	0.3641
6	53.62 ^b	59.21 ^a	59.45 ^a	59.59 ^a	0.933	0.0348
9	63.69	62.87	63.12	62.42	0.522	0.8977
12	64.96 ^{ab}	64.60 ^b	68.50 ^a	68.82 ^a	0.725	0.0707
24	75.71	81.04	79.56	79.67	0.876	0.2024
---- Propionate, mM ----						
3	15.36	14.31	14.46	14.04	0.231	0.2109
6	15.20 ^b	16.58 ^a	16.73 ^a	16.94 ^a	0.227	0.0084
9	18.19	18.17	18.05	18.29	0.132	0.9641
12	18.98	19.04	19.93	20.32	0.261	0.2486
24	22.56	24.15	23.84	23.72	0.309	0.2449
---- <i>iso</i> -butyrate, mM ----						
3	0.69	0.69	0.70	0.66	0.008	0.3867
6	0.68 ^b	0.77 ^a	0.77 ^{ab}	0.79 ^a	0.017	0.1002
9	0.83	0.84	0.85	0.80	0.012	0.5779
12	0.92 ^{ab}	0.88 ^b	0.96 ^a	0.98 ^a	0.014	0.0389
24	1.38	1.51	1.49	1.51	0.029	0.4595
---- Butyrate, mM ----						
3	8.05	7.74	8.05	7.51	0.109	0.2468
6	8.48 ^b	9.60 ^a	9.62 ^a	9.60 ^a	0.202	0.0899
9	10.29	10.22	10.42	10.05	0.132	0.8352
12	10.72	10.46	11.50	11.52	0.187	0.1229
24	12.80	14.26	13.97	13.99	0.283	0.3754
---- <i>iso</i> -valerate, mM ----						
3	0.89	0.87	0.89	0.83	0.012	0.4025
6	0.87 ^b	1.00 ^a	0.99 ^{ab}	1.01 ^a	0.024	0.0882
9	1.11	1.10	1.13	1.04	0.019	0.4956
12	1.30	1.23	1.36	1.37	0.023	0.2003
24	2.24	2.48	2.44	2.50	0.060	0.5455
---- valerate, mM ----						
3	0.87	0.83	0.86	0.81	0.012	0.2495
6	0.87 ^b	0.99 ^a	0.99 ^a	0.99 ^a	0.019	0.0813
9	1.06	1.05	1.06	1.02	0.014	0.8255
12	1.14	1.11	1.20	1.22	0.019	0.1662
24	1.57	1.73	1.71	1.72	0.032	0.3718
---- Total volatile fatty acids, mM ----						
3	80.88	76.45	78.65	74.80	1.087	0.3155
6	79.73 ^b	88.15 ^a	88.55 ^a	88.91 ^a	1.402	0.0324
9	95.17	94.25	94.63	93.62	0.798	0.9448
12	98.02 ^{ab}	97.32 ^a	103.44 ^{ab}	104.23 ^a	1.188	0.0932
24	116.27	125.17	123.03	123.11	1.503	0.2137

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-16. Effects of dietary supplementation fermented BSW(6month)on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
---- Acetate, mM ----						
3	49.37	47.95	45.89	49.44	0.942	0.5720
6	56.22	53.97	53.56	56.13	0.760	0.5507
9	61.38	60.76	56.23	59.51	0.892	0.2118
12	62.96	62.47	63.60	66.13	1.072	0.7482
24	75.73	78.01	79.56	79.60	0.876	0.2124
---- Propionate, mM ----						
3	13.19	12.95	12.18	13.21	0.235	0.4351
6	14.99	14.67	14.80	15.09	0.182	0.9068
9	16.71	16.66	15.34	16.61	0.298	0.4255
12	17.27	17.52	17.48	18.20	0.189	0.4196
24	22.60	24.15	23.84	23.33	0.309	0.2515
---- <i>iso</i> -butyrate, mM ----						
3	0.60	0.62	0.58	0.64	0.018	0.3413
6	0.73	0.67	0.65 ^b	0.73 ^b	0.018	0.3186
9	0.86 ^a	0.85 ^a	0.75 ^b	0.75 ^b	0.017	0.0071
12	0.88	0.85	0.87	0.94	0.029	0.7962
24	1.38	1.53	1.49	1.51	0.029	0.4987
---- Butyrate, mM ----						
3	7.71	7.39	6.95	7.28	0.187	0.5131
6	9.63	8.74	8.50	9.55	0.213	0.1886
9	10.75 ^a	10.65 ^a	9.48 ^b	9.80 ^{ab}	0.208	0.0774
12	10.57	10.30	10.87	11.31	0.276	0.7463
24	12.08	14.22	13.97	13.99	0.283	0.3795
---- <i>iso</i> -valerate, mM ----						
3	0.86	0.81	0.76	0.83	0.024	0.5312
6	0.97 ^a	0.85 ^{ab}	0.79 ^b	0.95 ^{ab}	0.028	0.0993
9	1.20 ^{ab}	1.17 ^{ab}	1.01 ^{bc}	0.98 ^c	0.034	0.0412
12	1.28	1.18	1.23	1.32	0.048	0.8394
24	2.24	2.33	2.44	2.50	0.060	0.5152
---- valerate, mM ----						
3	0.79	0.75	0.70	0.71	0.017	0.2328
6	0.91	0.83	0.82	0.92	0.020	0.1820
9	1.05 ^a	1.06 ^a	0.93 ^b	0.95 ^{ab}	0.022	0.0597
12	1.08	1.05	1.08	1.14	0.030	0.8296
24	5.69	1.73	1.71	1.72	0.032	0.3654
---- Total volatile fatty acids, mM ----						
3	72.57	70.48	67.05	72.11	1.401	0.5490
6	83.45	79.73	79.11	83.55	1.190	0.5090
9	91.95	91.15	83.77	88.58	1.380	0.1847
12	94.03	93.37	95.13	99.06	1.614	0.7258
24	119.20	121.97	123.01	122.65	1.503	0.2213

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

Table 3-17. Effects of dietary supplementation fermented BSW(12month)on *in vitro* VFA production.

Incubation time(h)	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾	p value
	Control	BSW 2%	BSW 4%	BSW 6%		
---- Acetate, mM ----						
3	49.87	50.35	50.70	51.57	0.426	0.6712
6	57.06 ^b	61.90 ^a	58.81 ^{ab}	59.34 ^{ab}	0.739	0.1891
9	64.07	65.30	65.20	65.22	0.433	0.6685
12	61.96	63.60	61.01	59.66	1.870	0.9066
24	75.42	71.41	73.03	66.54	1.875	0.3040
---- Propionate, mM ----						
3	13.56	13.91	13.96	13.99	0.137	0.7437
6	16.07	17.46	16.75	16.74	0.230	0.2631
9	18.74	18.81	18.61	18.76	0.104	0.8848
12	17.90	19.59	19.20	20.13	0.473	0.4810
24	23.68	22.02	22.18	21.44	0.483	0.3538
---- <i>iso</i> -butyrate, mM ----						
3	0.58 ^b	0.61 ^{ab}	0.64 ^a	0.64 ^a	0.010	0.0638
6	0.66 ^b	0.79 ^a	0.74 ^{ab}	0.75 ^a	0.017	0.0448
9	0.81 ^b	0.85 ^{ab}	0.84 ^{ab}	0.86 ^a	0.009	0.1695
12	0.99	0.98	0.88	0.84	0.073	0.8320
24	1.45	1.36	1.46	1.13	0.076	0.2442
---- Butyrate, mM ----						
3	6.77	7.03	7.22	7.18	0.084	0.2355
6	8.34 ^b	9.62 ^a	9.14 ^{ab}	9.09 ^{ab}	0.181	0.0844
9	9.86 ^b	10.40 ^a	10.25 ^a	10.30 ^a	0.082	0.0559
12	10.37	9.54	9.17	7.97	0.691	0.6379
24	12.46	11.81	12.12	9.89	0.575	0.1812
---- <i>iso</i> -valerate, mM ----						
3	0.76 ^b	0.80 ^{ab}	0.83 ^a	0.85 ^a	0.012	0.0304
6	0.84 ^b	1.03 ^a	0.99 ^a	1.00 ^a	0.026	0.0279
9	1.05 ^b	1.17 ^a	1.15 ^a	1.18 ^a	0.019	0.0560
12	1.40	1.30	1.14	0.98	0.137	0.6856
24	2.28	2.10	2.29	1.62	0.153	0.2177
---- valerate, mM ----						
3	0.75	0.77	0.79	0.78	0.008	0.4579
6	0.87 ^b	1.00 ^a	0.94 ^{ab}	0.95 ^{ab}	0.018	0.0918
9	1.04	1.06	1.05	1.06	0.007	0.6980
12	1.09	1.01	1.05	0.84	0.081	0.7135
24	1.54	1.42	1.51	1.18	0.081	0.2250
---- Total volatile fatty acids, mM ----						
3	72.29	73.47	74.14	75.02	0.661	0.6276
6	83.85 ^b	91.80 ^a	87.36 ^{ab}	87.87 ^{ab}	1.192	0.1695
9	95.56	97.57	97.11	97.39	0.606	0.5591
12	93.71	96.03	92.35	90.71	3.140	0.9395
24	116.83	110.12	112.58	101.79	3.192	0.2889

¹⁾ All values represent the mean of triplicates; ²⁾ standard error of mean; ³⁾ a, b means in the same row with different superscripts differ(p<0.05).

4. 적 요

DS-01균주 접종에 의한 미역폐기물의 발효산물이 분해정도, 영양소 변화 및 미생물오염정도에 관한 관찰과 반추위 발효성상에 미치는 영향을 관찰하여 폐미역의 저장성확보와 반추동물의 사료로서의 이용가능성을 발효단계에 따라 조사하였다. DS-01균주와 함께 배양된 폐미역은 발효 1개월부터 현저한 분해 율을 보이기 시작했다. 폐미역중의 영양성분함량은 발효와 함께 커다란 변화를 나타내지 않았으며 모든 처리에서 반추동물에 병원성을 가지는 미생물들도 검출되지 않았다.

반추위 pH에 미치는 영향을 보면 발효 1개월 제품의 경우 9시간에서 6% 미역분말 첨가구가 타 처리구에 비하여 높은 pH를 나타내는 경향이 있었으며 발효 24시간에서 모든 발효미역 첨가구가 대조구의 6.33보다 높은 pH를 나타냈다($p < 0.05$). 발효 2개월의 경우 발효 3시간에서 6%BSW첨가구가 6.92로 대조구와 2%, 4%BSW 첨가구보다 높은 경향($p=0.0540$)을 나타냈으며 발효9시간에서는 대체로 비슷한 결과를 나타내었으며, 발효 6, 12, 24시간에서는 미역부산물 첨가구가 대조구보다 높게 나타났다. 발효 3개월의 미역의 경우 발효 3시간에서 대조구와 6%BSW가 같은 수준의 pH값을 나타냈고 2%BSW와 4%BSW가 타 처리구에 비해 약간 높게 나타났다. 발효 6시간에는 같은 수준의 pH값을 나타냈으나 발효 12시간과 24시간에서는 미역부산물 첨가군의 pH가 오히려 대조구보다 유의적인 감소($p < 0.05$)결과를 보였다. 발효 6개월과 발효 1년 된 미역부산을 이용한 시험에서도 발효 3시간과 6시간에는 처리간 대체로 유사한 결과를 나타내고 통계적인 유의차는 없지만 발효 9시간과 12시간 및 24시간에서는 오히려 발효미역 첨가구들이 대조구보다 낮은 pH값을 나타내었다.

반추위내 암모니아태 질소의 생성에 미치는 영향을 보면 발효 1개월 미역부산물의 경우 3시간에서는 발효미역첨가구가 대조구에 비해 높은 농도를 나타내었다. 발효 2개월 미역부산물 첨가의 경우 발효3시간, 6시간, 9시간, 12시간에서는 처리구들이 오히려 대조구보다 낮은 암모니아태 질소 농도를 나타내었으며 발효 24시간에서도 4%BSW를 제외한 기타 처리에서 대조구 보다 낮은 암모니아태 질소 농도를 나타냈고 특히 전 발효기간동안 6%BSW처리구가 발효 3시간과 24시간에서 타 처리구에 비하여 낮게 나타나는 경향이 있었다. 발효 3개월과 6개월 미역부산물 첨가의 경우 발효3시간에서 24시간까지 전기간 동안 처리간에 유사한 암모니아태 질소 생성을 보여 통계적인 유의차를 나타내지 않았다. 발효 1년의 경우 9시간과 12시간에서 모

든 발효미역첨가구가 대조구에 비해 유의적으로 높은($p < 0.05$) 암모니아태 질소 농도를 나타내었다.

반추위내 휘발성지방산의 생성에 미치는 영향을 보면 발효 1개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 6시간에서 iso-butyrate와 valerate의 농도가 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내었고 iso-valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서는 측정된 acetate, propionate, butyrate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 발효 2개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 보였고 valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서는 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게 나타나는 경향을 보였는데 같은 시간대의 암모니아태 질소의 농도가 타 처리구보다 낮게 나타난 결과와 결부시켜 볼 때 발효 동조화에 의해 휘발성 지방산과 암모니아태 질소의 감소를 가져온 것으로 사료된다. 이 결과 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도도 통계적인 유의차($p < 0.05$)를 나타냈다. 발효 3개월 미역부산물의 경우 2, 4%BSW 첨가구가 9시간에서 acetate와 butyrate의 농도가 6% BSW 첨가구에 비해 현저하게 증가($p < 0.05$)하는 양상을 나타내었고 valerate가 증가하는 양상을 보인 기타 시간대에서 측정된 propionate, iso-butyrate, iso-valerate의 농도는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 특히 6%BSW 첨가구 각 항목의 측정결과가 타 처리구에 비해 유의적으로 적게($p < 0.05$) 나타나는 경향을 보였다. 이것은 9시간에서 total volatile fatty acid의 농도의($p < 0.05$) 증가를 유도했다. 발효 6개월 미역부산물의 경우 4, 6%BSW 첨가구가 9시간에서 iso-butyrate, iso-valerate가 현저하게 감소하고 butyrate, valerate는 감소하는 경향을 보이는 의외의 결과를 나타냈다. 발효 12개월 미역부산물의 경우 iso-butyrate 항목에서 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간에서는 증가하는 경향을 보이다 6시간에서는 통계적인 유의차가 있게($p < 0.05$) 모든 미역발효제품 첨가구가 증가하였다. Butyrate는 6시간과 9시간에서 증가하는 경향을 나타냈으며 iso-valerate는 모든 발효미역부산물 첨가구가 3시간과 6시간에서 대조구보다 유의적으로 증가($p < 0.05$)하고 9시간에서는 증가하는 경향을 나타냈다. Valerate는 발효 6시간에서 모든 미역발효부산물처리구가 증가하는 경향을 나타냈다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 발효미역중 단백질은 발효초기에 빠르게

분해되는 것이 관찰되었으며, 발효미역은 반추위 완충작용에 효과적이며 VFA생성량을 증가시키는 등 반추위 발효환경을 개선시킴이 확인되었다. 아울러 12개월 발효된 폐미역의 *in vitro*발효성상의 결과가 초기 발효미역과 크게 다르지 않은 것을 볼 때 1년까지의 발효미역제품은 사료적 가치에 문제가 없음이 확인되었다.

제4절 발효미역의 첨가가 홀스타인 비유우의 비유성적·혈액성상 및 비유생리에 미치는 영향

1.서론

해조류

선행연구에 의해 DS-01균주에 의한 미역의 분해는 저장성 확보는 물론 영양소의 유실이 미미하고 병원성미생물의 오염이 없었으며 미역자체의 영양성분을 고유하고 있음이 증명되었다.

최근 들어 기능성 식품에 대한 추구가 증가하면서 우유의 소비에도 기능성개념이 많이 도입되어 유익한 성분은 많게, 과잉되면 유해한 성분은 될 수록 적게 함유하게 하려고 노력하고 있다. 대표적인 사례가 남양유업의 아인슈타인 우유로서 우유중의 불포화지방산함량을 높게 한 것이 되겠고 발효유제품으로는 많은 유산균함유제품들이 있다. 일찍 1970년대에 Brumby 등(1972)과 Pennington과 Davis(1975)는 cod-liver oil을 첨가하여 우유중의 불포화지방산을 증가시켰다고 보고하였다. 이러한 어류에 다량 함유되어 있는 불포화 지방산은 어류의 먹이인 해조류에서 기인한 것이라고 보고되고 있다. 이러한 점에 착안하여 Franklin등(1999)는 젖소에 일일 두당 910g의 해조류(*Schizochytrium sp*)를 불포화지방산 공급원으로 젖소의 사료에 첨가하였을 때 우유 중의 CLA(conjugated linoleic acid)와 DHA(docosahexaenoic acid)의 현저하게 증가하였다고 보고하였다. 이는 해조류를 젖소의 사료로 하였을 경우 우유중의 불포화지방산의 함량을 증가시킬 수 있는 가능성을 시사한다.

개체별 동물의 혈액검사는 젖소의 질병진단과 영양상태를 점검하기 위하여 일상적으로 사용되는 분석항목이며 젖소에 있어서 NEFA는 중요한 대사산물로서 에너지 상태를 아주 잘 나타내고 있으며 특히는 전환기에 있어서 BCS보다 더 정확하게 에너지 밸런스를 나타낸다(Robert, 2000). 미국 미시간주립대에서 제시한 혈청중 NEFA의 농도 참고기준을 보면 건유초기는 <0.325mEq/L, 전환기는 <0.4mEq/L, 분만후는 > 0.6mEq/L이다. BUN은 단백질의 섭취량과 반추위에서의 분해정도, 사료의 아미노산 조성, 단백질의 수요량과 섭취량의 비율, 간과 신장의 기능, 근육조직의 breakdown, 사료중의 탄수화물의 양과 반추위에서의 분해율등 다양한 인자의 영향을 받는다(Robert, 2000). 대사성 질병인 케토시스의 경우 혈중 glucose의 함량이 낮

게 나타나 일명 저혈당증이라고도 한다. 이와 같은 질병이나 건강상태에 의한 혈액상의 변화에 근거하여 오늘날 거의 모든 가축 질병의 확진과 예후판단이 실험실 검사성의 뒷받침에 의해서 이루어지고 있다(김 등, 1989; 조 등, 1988).

따라서 본 연구는 발효미역부산물의 첨가가 산유량과 유성분, 혈중 면역글로블린의 변화양상, 비유관련 혈중호르몬의 변화양상, 혈중 대사산물, 혈액상을 조사하여 유생산과 내분비 생리에 미치는 발효미역부산물의 첨가효과를 규명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 공시축 및 시험설계

Multiparous Holstein cow 24두(평균 월령, 49.33, 유기, 175일, 2.0산)를 3처리 8반복으로 할당하여 발효미역 부산물 무첨가구(대조구)와 건물기준 발효 미역부산물 180g 첨가구(1%FBSW)와 360g 첨가구로(2%FBSW) 나누어 충청남도 천안시 소재 S 목장에서 2개월간 시험을 진행하였다.

나. 사양관리

모든 착유우는 자동급이기가 설치된 free stall에서 사육되었으며 NRC 사양표준에 근거하여 체중, 유량, 산차, 분만경과일등을 감안하여 일일급여량을 결정하였다. 농후사료의 급여는 1일 7회로 나누어 자동급여기를 이용하여 급여되도록 설계되었다. 1회 급여량은 1.5kg이었으며, mineral 및 물은 자유롭게 섭취되도록 하였다. 일일 두당 세미 TMR사료 6.67kg, Timothy hay 2.79kg, Alfalfa hay 0.83kg, 옥수수 Silages 6kg씩 급여하였다. DS-01균주에 의한 미역발효 사료는 착유종료후 9:00 및 21:00시에 1일급여량을 2회로 나누어 급여하였다. 착유는 매일 07:00 및 19:00시에 2회 실시하였다. 시험에 사용된 사료성분은 Table 4-1~2에서 나타내었다.

Table 4-1. Chemical composition of experimental diets(%)

Items	Diets					
	Concentrate	TMR	Timothy	Alfalfa	Silages	FBSW ¹⁾
Chemical composition, %						
Crude protein	18.31	14.00	7.05	19.98	2.26	8.37
Crude fat	5.37	2.00	1.13	1.08	0.22	0.87
Crude fiber	17.86	17.00	34.50	29.29	6.99	11.53
Crude ash	9.76	10.00	5.48	9.34	1.59	35.84
Ca	0.78	0.70	0.22	0.83	0.04	1.05
P	0.41	0.30	0.13	0.37	0.10	0.24
I	-	-	-	-	-	7.8 ²⁾
TDN ³⁾	72.50	65.00	51.00	60.00	11.10	43.20 ⁴⁾

¹⁾ Fermented Brown seaweed waste. ²⁾ I=7.8mg/100g. ³⁾ TDN: Total digestible nutrient. ⁴⁾ NRC 1979

Table 4-2. Ingredient and chemical composition of experimental diets

	Control	1%FBSW	2%FBSW
Ingredient%		
Concentrate	49.46	49.05	48.64
TMR	27.49	27.26	27.04
Timoth hay	12.05	11.94	11.84
Alfalfa bale	3.42	3.39	3.36
Silage	7.58	7.52	7.46
BSW		0.84	1.66
Total	100.23	100	100
Chemical composition%		
TDN	61.39	61.23	61.08
CP	14.12	14.08	14.03
FAT	2.09	2.08	2.07
CF	22.96	22.86	22.77
ASH	8.10	8.33	8.56
NDF	43.69	43.65	43.62
ADF	23.10	23.09	23.07
Ca	0.50	0.50	0.51
P	0.28	0.28	0.28
I ¹⁾		0.65	1.29
Mois	15.76	15.73	15.70

¹⁾ I content:0.65ppm and 1.29ppm

다. Sample채취 및 분석방법

1). 유량 및 유성분

유량은 ALPRO SYSTEM(Alfa Laval Agri)에 의해 기록하였으며 유성분은 20일 단위로 시험개시전, 시험20일, 40일, 60일 오후 착유시 우유 Sample 채취기를 이용하여 채취하여 Milkoscan-133B를 이용하여 유단백, 유지방, SNF를 분석하고 Fossomatic-300을 이용하여 체세포수를 측정하였다.

2). 혈액 분석

혈액은 시험개시전과 시험 20일, 40일, 60일 되는 날 오전 12:00시에 경정맥을 통하여 10 ml의 혈액을 EDTA 처리된 진공 tube(BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions U.S.A)와 혈청 분리용 진공 tube(BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions U.S.A)를 이용하여 채취하여 혈청은 원심분리(4℃, 3000g, 15분)후 혈액성분 분석 때 까지 -74℃ 에 보관하였다.

EDTA 처리된 진공 tube로 채취한 전혈을 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈구용적비(hematocrit), 헤모글로빈(hemoglobin) 함량을 분석하고 분리한 혈청을 이용하여 total bilirubin, alkaline phosphatase(ALP), glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), 를 분석하고 냉동보관된 혈청을 이용하여 Ig G, Ig A, prolactin, IGF- I, growth hormone(GH), triiodothyronine(T₃), thyroxine(T₄), glucose, nonesterified free fatty acid(NEFA), blood urea nitrogen(BUN), Ca, triglyceride(TG), total cholesterol(TC)를 분석하였다.

가). 혈중 면역글로불린의 분석

혈장 내 Total IgG, IgA는 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay)방법으로 분석하였다. 간단히 요약하면, 96 well plate에 primary antibody:coating buffer=1:100으로 희석하여 Well당 100ul씩 넣어 실온에서 1시간 동안 Incubation 시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거하고 200ul의 wash solution으로 2회 세척한 다음 postcoat를 각각의 well에 200ul씩 넣어주고 실온에서 30분간 배양 시킨 후 용액을 제거하고 다시 전과같이 세척을 2회 실시했다. Standards와 serum sample을 희석하여 각각의 well에 100ul씩 넣고 실온에서 1시간동안 배양시킨 후 Well내의 용액을 완전히 제거

하고 wash solution 200ul로 4회 세척해 준다. Secondary antibody:conjugate dilution=1:100,000(IgA의 경우 secondary antibody: conjugate dilution=1:35000)으로 희석하여 100ul씩 넣고 1시간동안 실온에서 배양 시키고 다시 4회 세척한 후 기질을 100ul씩 넣고 푸른색을 띄면 stop solution(2N H₂SO₄)을 50u씩 넣어 반응을 종료 시키고 450nm에서 O.D.값을 측정하였다.

나). 혈중 비유관련 호르몬의 분석

혈장 GH분석은 2항체법으로 제1항체로 anti-bovine GH (USDA-anti-bGH, lot AFPB55)를 이용하였으며, 표준물질 및 ¹²⁵I iodination을 위해 bovine GH (USDA-bGH, lot AFP-11182)를 이용하였다. ¹²⁵I 와 bGH는 chloramine T 방법에 의하여 iodination 되었다. 그 IGF-1 분석계의 민감도는 0.43 ng/mL였고 inter- and intra-assay CV는 각각 12.3과 8.2 ng/mL였다.

IGF-1 은 결합단백질과 결합되어 있는 까닭에 먼저 단백질 분리작업을 Daughaday 등(1980)의 방법으로 실시한 후 NHPP anti-human- IGF-1 (AFP4892898), 표준 hIGF-1 (Amersham, lot # 30) 과 labeled ¹²⁵I-IGF-1 (Amersham, code IM172)를 이용하여 제2항체법으로 실시하였다. 그 IGF-1 분석계의 민감도는 0.82 ng/mL고 inter- and intra-assay CV는 각각 11.3과 6.2 ng/mL였다.

Prolactin은 prolactin kit(biosource, USA)를 이용하여 Immunoradiometric assay 방법으로 측정하였다.

T₃와 T₄는 RIA-mat-T₃와 RIA-mat-T₄kit(Byk-Sangtec Diagnostica, Germany)을 이용하여 RIA방법으로 측정하였다.

다). 혈중 대사산물과 지질의 분석

혈중 glucose와 NEFA는 시판용 enzyme kit(和光純葯工業株式會社, 日本)을 이용하여 측정하였으며 BUN은 시판용 BUN kit(아산제약주식회사, 한국)를 이용하여 urease-indophenol법을 이용하여 측정하였다.

TC(total cholesterol)는 ChemiLab T-CHO kit(IVDLab CO., LTD, KOREA)을 이용하여 CHOD-PAP Method에 의해, TG(triglyceride)는 ChemiLab TG kit(IVDLab CO., LTD, KOREA)을 GPO-PAP Method를 이용하여 MECASYS

1412H(MECASYS CO., LTD, KOREA)로 측정하였다.

(라). 혈액상 및 혈중 ALP, GOT, GPT의 분석

백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈구용적비(hematocrit), 헤모글로빈(hemoglobin) 함량은 혈액자동분석기(Advia 120, Germany)의 CBC(complete blood count)측정 실시 방법에 의하여 측정하였다. Total bilirubin은 ChemiLab T-BIL kit(IVDLab CO., LTD, KOREA)을 이용하여 End point colorimetric method에 의해, Alkaline phosphatase(ALP)는 Sicdia ALP reagent(Shinyang Chemical Co Ltd, Korea) 시약을 이용하여 효소법으로 의해, GOT는 ChemiLab GOT kit(IVDLab CO., LTD, KOREA), GPT는 ChemiLab GPT kit(IVDLab CO., LTD, KOREA)을 이용하여 효소활성측정법에 의해 Hitachi 7600-110 automatic analyzer(Hitachi High-Technologies, JAPAN)로 측정하였다.

라. 통계분석

시험에서 얻어진 결과는 SAS package program(version 8.1; SAS Institute Inc, Cary, NC)을 이용하여 분산 분석을 하였고 GLM(general linear model) procedure의 Duncan 다중검정에 의해 처리간의 유의성($p < 0.05$)을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 유생산량과 유성분 변화

유생산량과 유성분의 변화결과는 Table 4-3에서 나타내었다. 유생산에 따른 건물섭취량은 대조구, 1%BSW과 2%BSW가 각각 21.35kg, 21.53kg, 21.71kg으로 세 처리 사이에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 건물섭취량결과는 Franklin 등(1999)이 갈조류의 일종인 *Schizochytrium sp*를 젖소에게 급여하였을 때 건물섭취량은 현저하게 감소하는 현상을 나타낸 결과와는 대조되는 결과이다. 이들의 시험에서는 건물섭취량의 감소가 결과적으로 산유량의 감소 및 유지방함량의 감소로 이어졌지만 본시험에서는 건물섭취량이 대조구와 유사한 수준으로 유지되어 현저한 유지방함량의 변화를 가져오지 않은 것으로 사료된다. 백 등(2004)이 젖소를 이용한 시험에서 미역부산물 일일 800g의 첨가가 건물섭취량에는 영향을 미치지 않았을 뿐만 아니라 유생산량

의 증가를 가져오는 결과를 보고하였다. 따라서 일일 180g과 360g BSW 첨가수준은 젖소의 건물섭취량에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다. 단위동물을 대상으로 실시한 시험에서는 대체적으로 건물섭취량에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Montserrat과 Isabel(2001)이 Rats를 시험동물로 미역등 첨가물이 장균총의 활성화에 주는 영향을 측정한 시험에서는 전체 시험기간 동안 대조구와 미역 첨가구에서 각각 234.61g과 235.04g의 건물섭취량을 보였으며 경(1991)이 흰쥐를 대상으로 지질대사에 미치는 영향을 연구한 시험에서도 대조구와 유사한 건물섭취량을 보였다. 단위동물과 반추동물이라는 품종적인 차이도 있겠지만 미역의 첨가가 건물섭취량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 유량은 시험 종료 시 처리구와 대조구간에 현저한 차이가 나타났다.

산유량결과를 보면 시험 60일에 대조구, 1% FBSW, 2% FBSW가 각각 28.99, 31.00, 30.39kg으로 시험개시시 유량을 기준으로 하였을 때 대조구는 1.84kg/d 감소한 반면 1% FBSW는 0.23kg/d 증가하여 증감량 측면에서 통계적인 유의차($p<0.05$)를 나타냈다. 이러한 결과를 뒷받침 해주는 결과가 60일의 혈중 비유관련 호르몬 측정결과에서 나타났는데 비유에 밀접한 관련이 있는 GH, T₃, T₄, Prolactin등 호르몬 함량이 1% FBSW에서 대조구에 비해 높은 결과를 나타냈으며 특히 시험 60일의 경우 혈중 T₄농도가 대조구에 비해 유의적으로($p<0.05$) 높게 나타났다. 이결과는 1%FBSW의 첨가에 의하여 비유유지 관련 호르몬들에 의한 비유량의 유지가 이루어져 대조구보다 좋은 결과를 나타낸 것으로 사료된다. 유지방 함량은 시험 60일에 대조구에서 3.38, 3.49, 3.41%로 발효미역 첨가에 의해 다소 증가하는 결과를 나타냈으나 통계적인 유의차는 없었다. 유단백질 함량은 시험 60일에 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 3.09, 3.14, 3.17%를 나타내어 처리구 사이 유사한 결과를 나타내었다. SNF(solid not fat)의 함량은 시험 60일에 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 8.82, 8.87, 8.73%를 나타내어 처리사이 유사한 결과를 나타내었다.

Table 4-3. Effects of dietary FBSW supplementation on DMI, milk yield and composition in dairy cows.

Variables	Treatments			SEM	p value
	Control	1%FBSW	2%FBSW		
Cows, n	8	8	8	-	-
DMI, kg/d	21.35	21.53	21.71	-	-
Milk yield, kg/d					
Initial	30.83	30.77	30.20	1.442	0.8416
Final	28.98	30.95	30.39	1.676	0.8728
Increment ¹⁾	-1.84	0.23*	0.19		
Milk fat. %					
Initial	4.33	4.47	4.16	0.216	0.8689
Final	3.38	3.49	3.41	0.130	0.9396
Milk protein, %					
Initial	4.20	3.98	4.41	0.123	0.4330
Final	3.09	3.14	3.17	0.062	0.8576
SNF(%)					
Initial	9.42	9.25	9.70	0.098	0.2005
Final	8.82	8.87	8.73	0.084	0.5881
MUN(mg/dl)					
Initial	19.76	16.23	17.79	0.754	0.0880
Final	17.73	16.98	16.70	0.687	0.6796

Abbreviations: FBSW: Fermented Brown Seaweed Waste; DMI: dry matter intake; SNF: solid not fat; MUN: milk urea nitrogen;

¹⁾ Increment(%)=D60-D0

* P<0.05 compared with control group (paired *t*-test)

Table 4-4. Effects of dietary FBSW supplementation on milk Ca, I and cholesterol in dairy cows.

Variables	Treatments			SEM	p value
	Control	1%FBSW	2%FBSW		
Before FBSW supplementation					
Ca(mg/dl)	14.00	15.36	16.58	0.661	0.2247
Total cholesterol (mg/dl)	150.25	150.63	151.50	9.769	0.9986
After FBSW supplementation 40d					
Ca(mg/dl)	13.73 ^b	18.02 ^a	16.64 ^{ab}	0.922	0.0436
Total cholesterol (mg/dl)	161.25	166.13	159.25	8.388	0.9529

FBSW: Fermented Brown Seaweed Waste

우유중의 요오드, 칼슘 및 총 콜레스테롤의 함량은 Table 4-4에서 나타났다. 시험 40일우유중의 Ca 함량은 대조구가 13.73mg/이로 나타났고 1%FBSW구가 18.02mg/dl, 2%FBSW구가 16.64mg/dl로 나타나 통계적인 유의차(p < 0.05)를 나타냈다. 해조류중의 광물질은 유기태상태로 존재하여 이용효율이 무기태보다 높다(劉, 1992)고 보고하였는바 이는 발효미역의 첨가로 유기태 칼슘의 농도의 증가와 흡수율의 증가에 의하여 일어난 결과로 사료된다. 총콜레스테롤은 시험 40일에 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW각 각각 161.25mg/dl, 166.13mg/dl, 159.25mg/dl로 처리사이 유의한 결과를 나타냈다.

2) 체세포수 및 면역글로부린 함량의 변화

Table 4-5에서 발효미역부산물 첨가전과 첨가후 60일에서의 체세포수, IgG, IgA의 변화양상을 나타내었다. IgG는 비장, 림프절 및 골수에서 만들어지고 혈액속에서 가장 많이 검출되며 항체가 매개하는 면역방어메카니즘에서 가장 중요한 역할을 하는 항체이며 IgA는 바로 체표면 밑의 세포에서 분비되어 장, 호흡기, 뇨도, 피부 및 유선에서 합성 분비되며 분비된 기관에서 면역장벽을 형성한다(Tizard, 1999). 강등(2002)은 한우에서 광물질 첨가제 급여가 혈중 IgG에 미치는 영향을 조사한 결과 처리구 별로 10.2~11.6mg/ml로 처리사이의 영향은 받지 않았으며 정상축에서 볼수 있는 범위내에 있으면서 일라이트와 활성탄 첨가구에서 시험개시전보다 각각 6.9%, 2.85% 증가하였다고 보고하였다. 본 시험의 40일 결과를 보면 IgG와 IgA모두 처리사이에 유의적인 차이를 보이지 않았지만 IgA는 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 180.60, 208.30, 240.90ug/ml로 발효미역사료의 첨가구가 수적으로 높게 나타났다.

Table 4-5. Effects of dietary FBSW supplementation on somatic cell counts and Immunoglobulins dairy cows.

Variables	Treatments			SEM	p value
	Control	1%FBSW	2%FBSW		
Before FBSW supplementation					
Somatic cell, (1×10,000)	14.30	7.11	11.95	1.676	0.2679
IgG(mg/ml)	27.65	25.90	28.84	0.543	0.1587
IgA(ug/ml)	179.50	222.20	230.60	14.383	0.3800
After FBSW supplementation 20d					
Somatic cell, (1×10,000)	13.75	11.59	14.83	1.957	0.3215
IgG(mg/ml)	26.59	25.34	26.75	0.455	0.1230
IgA(ug/ml)	185.29	213.15	250.14	15.231	0.3879
After FBSW supplementation 40d					
Somatic cell, (1×10,000)	11.39	9.59	12.30	1.798	0.2760
IgG(mg/ml)	25.50	24.25	26.59	0.419	0.1102
IgA(ug/ml)	180.60	208.30	240.90	12.946	0.2352
After FBSW supplementation 60d					
Somatic cell, (1×10,000)	15.66	13.86	15.19	1.256	0.2590
IgG(mg/ml)	23.36	25.98	25.36	0.419	0.5202
IgA(ug/ml)	181.23	207.83	242.39	10.126	0.3355

¹⁾ All figures represent the mean of 8 cows
FBSW: Fermented Brown Seaweed Waste

3) 혈중 호르몬과 대사산물의 변화

혈중 호르몬 및 대사산물의 변화는 Table 4, 6~7에서 나타내었다. 혈중 GH의 함량은 시험 60일에 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW에서 각각 0.034, 0.073, 0.051ng/dl로 1%FBSW구가 가장 높게 나타났다. 혈중 T₃과 T₄의 농도는 미역 첨가에 의해 증가하는 양상을 나타냈으며 시험 60일의 경우 T₄의 농도가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타나 미역 첨가의 결과로 사료된다. 이는 Pattanaik등(2001)이 산양의 기초사료에 일일 두당 0.05mg과 0.075mg수준으로 요오드를 첨가하였을 때 혈청 중 T₃과 T₄의 함량이 대조구에 비해 유의적으로 증가하는 결과가 관찰된 것과 유사한 결과가

다. Prolactin의 경우 1% FBSW처리에서 시험 60일에 0.76ug/dl 로 대조구 및 2% 2%FBSW다 높게 나타났다. 위의 결과들을 종합해 보면 전반적인 비유관련 호르몬의 경우 1%FBSW처리가 타 처리보다 좋은 결과들이 나타났으며 결과적으로 비유량의 지속적인 유지로 이어져 시험 60일에서 비유량의 유의적인 차이를 유출해 낸 것으로 사료된다.

Table 4-6. Changes in lactogenic hormones after 60d fed BSW in dairy cows .

Items	Control	1%FBSW	2%FBSW	SEM	p value
GH(ng/ml)	0.034	0.073	0.051	0.006	0.0554
IGF- I (ng/ml)	342	329	280	15.542	0.3119
T ₃ (ng/dl)	206	227	224	5.210	0.1371
T ₄ (ug/dl)	4.42	5.26	5.14	0.157	0.0458
Prolactin(ng/ml)	0.47	0.76	0.52	0.100	0.5219

¹⁾ All figures represent the mean of 8 cows

Abbreviations: GH : growth hormone, IGF-1 : insulin like growth factor-1, T₃: triiodothyronine T₄: thyroxine. FBSW: Fermented Brown Seaweed Waste

혈청중 대사산물의 변화양상을 Table 4-7에서 나타내었다. 혈청 glucose는 반추동물에서는 주로 당신생에 의해 형성된다. 이는 포도당이 사료로 공급되었다라도 반추위에서 미생물에 의해 휘발성 지방산으로 분해되어 이용되기 때문이다. 시험 40일의 결과를 보면 glucose, NEFA, TC, TG의 농도는 세처리간에 유사한 결과를 나타냈지만 혈중 BUN의 농도는 2%FBSW가 대조구에 비해 현저하게 낮은 16.58mg/dl을 나타냈으며 이는 체내에서의 단백질 이용이 원활히 진행됨을 시사한다. 혈중 칼슘의 농도는 2%FBSW가 대조구에 비해 높게 나타났다.

Table 4-7. Effects of dietary FBSW supplementation on metabolite in dairy cows

Item	Control	1%FBSW	2%FBSW	SEM	p value
Before FBSW supplementation					
Glucose(mg/dl)	93.27	86.06	82.46	2.107	0.0975
NEFA(mEq/dl)	0.25	0.28	0.26	0.020	0.8916
BUN(mg/dl)	12.28	13.37	14.23	0.425	0.2390
TC(mg/dl)	185.00	158.75	212.31	14.127	0.1626
TG(mg/dl)	74.92 ^b	71.29 ^c	78.54 ^a	1.089	0.0021
Ca(mg/dl)	9.22	8.23	9.46	0.390	0.4258
After FBSW supplementation 20d					
Glucose(mg/dl)	64.37	66.15	73.02	3.017	0.3012
NEFA(mEq/dl)	0.34	0.31	0.32	0.020	0.9555
BUN(mg/dl)	18.27	17.81	16.58	0.359	0.0678
TC(mg/dl)	231.35	228.71	165.48	15.012	0.1854
TG(mg/dl)	73.10	73.71	75.52	1.351	0.7327
Ca(mg/dl)	9.05	8.82	10.84	0.589	0.5415
After FBSW supplementation 40d					
Glucose(mg/dl)	66.55	65.51	70.22	2.086	0.2917
NEFA(mEq/dl)	0.32	0.31	0.30	0.017	0.9457
BUN(mg/dl)	19.22 ^a	17.81 ^{ab}	16.58 ^b	0.490	0.0428
TC(mg/dl)	234.33	230.48	163.84	16.010	0.1672
TG(mg/dl)	69.66	72.25	73.84	1.257	0.7237
Ca(mg/dl)	9.26	8.65	10.14	0.535	0.5885
After FBSW supplementation 60d					
Glucose(mg/dl)	65.18	67.82	70.22	2.006	0.4574
NEFA(mEq/dl)	0.35	0.32	0.31	0.025	0.9745
BUN(mg/dl)	18.33	17.28	17.35	0.512	0.1125
TC(mg/dl)	225.11	221.78	178.48	17.092	0.2885
TG(mg/dl)	70.58	69.27	71.49	2.58	0.8851
Ca(mg/dl)	8.54	8.65	9.12	0.412	0.6954

Abbreviations: FBSW: Fermented Brown Seaweed Waste, NEFA: nonesterified fatty acid, BUN: blood urea nitrogen, TC: total cholesterol, TG: triglyceride,

혈중 WBC, RBC, Hb, Hct, T-b, ALP, GOT, GPT의 변화양상은 Table 4-8에서 나타내었다. 시험 60일에 면역 및 항병력과 연관이 있는 WBC, RBC 두가지 항목이 대조구와 발효미역첨가구 사이에 유사하게 나타났으며 Hb, Hct, T-b, ALP, GPT도

유사한 결과를 나타내었으나 GOT는 시험 40일에서 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 163.57, 107.71, 146.71IU/L로 발효미역 첨가군에서 개선되는 효과를 나타냈다.

Table 4-8. Effects of dietary FBSW supplementation on metabolite in dairy cows

Item	Control	1%FBSW	2%FBSW	SEM	p value
After FBSW supplementation 20d					
WBC(10^3 /ul)	11.72	11.97	11.24	0.664	0.9092
RBC(10^6 /ul)	6.07	6.08	5.74	0.086	0.1284
Hb(g/dl)	11.48	11.50	10.89	0.161	0.2330
Hct(%)	29.94	31.25	28.68	0.499	0.0921
T-B(mg/dl)	0.15	0.14	0.15	0.006	0.8864
ALP(IU/L)	218.50	203.12	184.13	16.779	0.6193
GOT(IU/L)	130.88	118.12	157.00	8.904	0.2330
GPT(IU/L)	24.50	24.75	26.75	1.012	0.6445
After FBSW supplementation 40d					
WBC(10^3 /ul)	14.79	12.64	15.63	0.857	0.2871
RBC(10^6 /ul)	6.20	5.75	5.93	0.091	0.2138
Hb(g/dl)	11.71	11.19	11.57	0.171	0.5381
Hct(%)	30.57	29.87	30.50	0.522	0.8783
T-B(mg/dl)	0.15	0.16	0.15	0.005	0.4702
ALP(IU/L)	271.43	226.57	222.29	16.482	0.4974
GOT(IU/L)	163.57 ^a	107.71 ^b	146.71 ^{ab}	8.876	0.0204
GPT(IU/L)	26.14	24.85	28.71	1.148	0.4416
After FBSW supplementation 60d					
WBC(10^3 /ul)	11.53	11.56	11.71	0.694	0.9931
RBC(10^6 /ul)	5.60	5.71	5.75	0.085	0.6179
Hb(g/dl)	10.50	11.09	11.23	0.172	0.0559
Hct(%)	27.53	29.73	29.87	0.555	0.0987
T-B(mg/dl)	0.16	0.19	0.19	0.009	0.3746
ALP(IU/L)	259.71	225.57	230.71	14.482	0.6882
GOT(IU/L)	193.14	136.71	158.29	10.863	0.1173
GPT(IU/L)	23.14	24.29	25.14	0.858	0.6795

Abbreviations: WBC:white blood cell, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin Hct: hematocrit, T-B: total bilirubin, ALP: alkaline phosphatase, GOT: glutamic oxalacetic transaminase, GPT: glutamic pyruvic transaminase.

4. 적 요

본시험은 발효미역의 수준별 첨가가 Holstein 비유우의 산유량과 유성분, 혈중 호르몬과 대사산물 및 IgG와 IgA의 농도에 미치는 영향을 조사하여 발효미역의 사료적 가치를 평가하기 위하여 실시하였다. 산유량을 보면 시험60일에서 대조구와 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 28.99kg/d, 31.00kg/d, 30.39kg/d로 1%FBSW구에서 대조구에 비하여 2kg/d의 유량증가를 보였으며, D0에 대한 유량 증가 또한 대조구 -1.84kg/d에 비하여 1%FBSW는 0.23kg/d로 유의성있는 증가를 보였다 ($P<0.05$). 유지방, 유단백, SNF, MUN 등 유성분에서는 처리간에 유사한 결과를 나타냈다. 우유중의 칼슘농도는 시험 40일에서 대조구가 13.73mg/dl, 1%FBSW이 18.02mg/dl, 16.64mg/dl로 통계적인 유의차를 나타냈다. 우유중 total cholesterol은 시험개시와 시험종료시 대조구와 유사한 결과를 나타냈다. 우유중의 체세포는 시험 60일에서 13.86-15.66만개/ml범위내(체세포 1등급기준 <20만개/ml)에 있음이 관찰되어 발효미역첨가의 효과가 관찰되지 않았다. 혈중 IgG는 시험 종료 시 처리구간 유사하게 나타났으며 IgA의 농도는 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 181.23, 207.83, 242.39 μ g/ml로 발효미역 첨가구에서 대조구에 비해 높게 나타났으나 통계적인 유의차는 없었다. 혈중 GH의 농도를 보면 1%FBSW이 0.073ng/ml로 가장 높게 나타났으나 혈중 IGF-I의 농도는 처리사이 통계적인 유의차는 없었다. 갑상선호르몬인 T_4 는 발효미역 첨가에 의해 뚜렷한 증가를 보였고, 비유축진 호르몬인 prolactin은 1%FBSW이 0.76ng/ml로 가장 높게 나타났다.

혈중 대사산물인 glucose는 처리간의 유의차는 나타나지 않았으며 NEFA의 경우도 0.30-0.32mEq/dl로 처리간에 거의 같은 수준으로 나타났다. BUN의 경우 처리 40d에서 대조구, 1%FBSW, 2%FBSW가 각각 19.22, 17.81, 16.58mg/dl로 2%BSW가 유의적으로 낮게 나타났으나, 다른 비유기 에는 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

혈중 WBC, RBC, Hb, Hct, T-B, ALP, GOT, GPT등 항목의 측정결과 시험 20일에서는 각 항목에서 처리별 차이가 나타나지 않았으며 시험 40일의 경우 혈중 GOT가 1%BSW이 107.71IU/L로 가장 낮게 나타났고 2%FBSW가 146.71IU/L, 대조구가 163.57IU/L로 통계적인 유의차를 나타냈으나($p<0.05$), 다른 비유기 에는 유의차를 보이지 않았다. 결과를 종합해 보면 1%수준의 발효미역을 젖소사료에 첨가는 젖소의 산유량증가에 효과적이며, 이는 비유관련 호르몬의 발현을 증가시킴으로 기인된 것

으로 판단되어진다. 아울러 우유중 Ca의 함량이 현저히 증가되는 결과를 볼 때 발효
미역을 보다 효율적으로 이용한다면 고능력 및 고기능성 젖소사료로의 이용가능성이
클 것으로 사료된다.

제5절 급성기 반응이 활성화한 육계 병아리에서 사료 중 미역제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향

1. 서론

동물의 면역세포인 Macrophage 등 식세포는 노출된 세균이나 Lipopolysaccharide (LPS) 같은 면역원을 인지하고 타고난 면역 반응(급성기 반응)을 활성화 한다(Klasing, 1998). 급성기 반응은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친염증성 사이토카인 분비(Gauldie 등, 1991)와 급성기 단백질합성을 높이고 발열을 유도한다(Gaby와 Kushner, 1999). 그리고 사료섭취량과 근육단백질 축적량을 감소시키고 대사율과 체중 대 장기 비율을 높인다(Benson 등, 1993; Koh 등, 1996; Klasing과 Korver; 1997; Koh 등, 2004).

식용 해조류로서 갈조류의 일종인 미역(*Undaria pinnatifida*)은 건물 량 기준 34.2-48.8%의 섬유소를 함유하고 이중 가용성은 17.5-31.3%이며, 알긴산(Alginic acid)은 가용성섬유소의 9.0-15.1%로 가장 높다(Cho 등, 1995). 갈조류의 알긴산 함량(Suzuki 등, 1993; Kim 등, 1995)과 구성 D-Manuronic acid(매뉴로닉산)과 L-Guluronic acid(구류로닉산)의 조성 및 분자량은 종, 산지 및 수확시기에 따라 다르다(Mori 등, 1981). 미역의 알긴산은 구류로닉산에 대한 매뉴로닉산의 비율(M/G)이 높다(Lee 등, 1998). 알긴산 중의 매뉴로닉산은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 와 같은 사이토카인의 생산을 자극하는 활성 다당 구조를 가지고, 구류로닉산의 상대적인 양이 많으면 면역억제 작용이 있다(Otterlei 등, 1991).

이와 같이 미역 알긴산의 매뉴로닉산과 구류로닉산의 비율이 면역반응에 영향을 미치므로, 본 연구는 육계 병아리에 미역제품 첨가 사료를 급여하면 급성기 반응과 상호작용이 존재하여 단백질과 에너지 대사 등 생산성에 영향을 미칠 것이라는 가정을 세웠다. 따라서 육계 병아리에서 LPS 주입으로 급성기반응을 활성화하여 사료의 미역제품 수준이 생산성과 단백질 및 에너지 이용성에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

가. **공시동물, 실험사료, 실험설계 및 사육** : 갯 부화된 육계 숫 병아리(Ross)에 1 일령부터 Table 5-1의 기초사료와 기초사료(0.0%) 중 밀기울 대신 1.0, 2.0 및 4.0 %의 미역제품을 각각 대치한 네 종류의 실험사료를 급여하여 사육하였다. 미역

(*Undariapinnatifida*)제품은 우리나라 남해안의 양식미역을 건조 분말화한 것이다. 미역제품은 수분 12.2, 조단백 13.6, 조지방 0.9, 조섬유 4.0 및 조회분 38.9% 그리고 GE 2570kcal/kgDM 함유하였다. 한편 기초사료는 밀기울 함량 이외는 Koh 등 (2004a)이 사용한 것과 동일하게 조제하였다. 육계병아리 120수를 24 개 우리에서 시험사료 하나당 각각 6개 우리를 두고 우리당 5 수씩으로 나누어 온도가 조절되는 사육실에서 3 주간 사육하였다. 물과 사료는 자유로 섭취하게 하였다. 각 시험 사료구의 절반인 3개 우리의 병아리에 대해 2 주령인 8, 10 및 12일 령에 LPS 용액을 1수당 3.0mL (300ug/수)씩 복강내에 각각 주입하여 급성기 반응을 활성화 하였다. 대조구 병아리에는 LPS 용액대신 Saline을 주입 하였다. 따라서 실험 요인은 4개 사료에 2가지 면역원으로 8개(=4 x 2) 요인에 3반복이다. LPS 용액은 0.9 % (9 g NaCl/1,000 mL) 염용액 1,000 mL에 *Salmonella typhimurium* LPS [Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA] 100mg을 용해하고, 0.22 um 필터로 여과 멸균한 것이다.

나. **증체 및 사료섭취량과 간장 및 비장 무게** : 실험 개시일로부터 1 주일 간격으로 모든 우리(24개)의 무게를 우리별로 측정하고, 매일 24시간 간격으로 정해진 시간에 사료 섭취량과 잔량을 기록하였다. 세 번째 LPS주입 24시간 뒤인 13일령에 매 우리(24개)마다 임의 선발한 1수의 병아리는 체중을 측정하고 경추골 분리로 희생한 다음 복부를 절개하여 간장과 비장을 적출하였다. 간장과 비장은 0.9 % 염용액에서 세척 후 화학저울로 무게를 측정하였다.

Table 5-1. Formula and chemical composition of experimental diets

Ingredients	Brown seaweed product levels (%)			
	0.0 ³⁾	1.0	2.0	4.0
Ground yellow corn (8.8 % Protein)	546.0	546.0	546.0	546.0
Soybean meal (48.5 % Protein)	355.0	355.0	355.0	355.0
DL-methionine	2.5	2.5	2.5	2.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Wheat bran	50.0	40.0	30.0	10.0
Choline HCl (50 %)	1.5	1.5	1.5	1.5
Salt	5.0	5.0	5.0	5.0
CaCO ₃	10.0	10.0	10.0	10.0
CaHPO ₄ 2H ₂ O	20.0	20.0	20.0	20.0
Vitamine mix ¹⁾	2.5	2.5	2.5	2.5
Mineral mix ²⁾	2.5	2.5	2.5	2.5
Brown seaweed product	0.0	10.0	20.0	40.0
Total	1,000g	1,000g	1,000g	1,000g
Analyzed chemical composition %			
Moisture	12.0	12.2	12.2	12.4
Crude protein	18.6	18.9	18.1	18.1
Crude fat	2.5	2.5	2.7	2.7
Crude fiber	3.6	3.4	3.4	3.3
Crude ash	8.2	8.8	9.6	9.3
Nitrogen-free extracts	55.1	54.2	54.0	54.2
Gross Energy, kcal/kg DM	4,183	4,222	4,153	4,169

¹⁾ Vitamin mix contain in kg diet Vitamin K 0.55 mg, Antioxidant 125 mg, Vitamin E 10 IU, Vitamin D₃ 400 IU, Vitamin A 1,500 IU, Biotin 0.15 mg, Folicin 0.55 mg, Pyridoxine HCl 3 mg, Niacin 25 mg, Calcium panthothenate 10 mg, Riboflavin 3.6 mg, Thiamin HCl 1.8 mg.

²⁾ Mineral mix contain in kg diet MnSO₄ H₂O 170 mg, ZnSO₄ H₂O 110 mg, Ferric citrate 500 mg, CuSO₄ 5H₂O 16 mg, Na₂SeO₃ 0.2 mg.

³⁾ Basal diet.

다. 분뇨혼합물 채취와 요산, 질소 함량 및 연소열가 측정: 육계 병아리 8, 10, 및 12 일 령에 LPS 주입 때마다 정확히 24 시간 간격으로(뒤에) 각 우리 별로 채취한 분뇨혼합물은 증류수 일정량과 함께 균질화 하였다. 균질화한 분뇨혼합물 일정량으로 총질소 및 요산태 질소(UAN) 함량 및 연소열가를 측정하였다. 요산태 질소는 Koh등(1993)의 방법에 따라 완충액(pH9.8)으로 분뇨혼합물에서 추출하여 285nm의 흡광도에서 측정 (Marquardt, 1983)하였다. 사료와 분뇨혼합물중의 총질소량은 켈텍

시스템으로, 그리고 열풍건조기 65℃에서 건조한 균질화 분뇨혼합물 일정량과 사료의 연소열가를 폭발열량계 (PARR Instrument사, U.S.A.)로 측정하였다.

계산: 총질소섭취량(Nitrogen intake: NI)에서 분뇨 혼합물 중의 N 량(Excreta Nitrogen=FN+ UN : Fecal + Urinary nitrogen)을 빼어 질소밸런스(NB)를 계산하였다. 대사에너지(ME)는 섭취사료의 연소열가(EI)에서 분뇨혼합물의 연소열가(FE+ UE :Fecal + Urinary energy)를 빼서 계산하였으며, MEn은 NB g당8.22kcal를 보정한 값(Hill 과 Anderson, 1958)이다. NB, UAN 및 ME는 사료g 당, 또는 증체 g당과 대사체중(kg0.75)당 값으로 표시하였다.

라. **통계처리** : 실험 데이터는 면역원과 미역제품 수준의 2원 배치 분산분석을 SAS(SAS Institute, Cary, NC) 프로그램의 GLM 법으로 주 효과 및 상호관계를 조사하였다. 주 효과가 유의 하면 ($p<0.05$), 평균 사이의 유의는 SAS의 최소 유의 차 값으로 검정하였다.

3. 결과

가. **생산성과 간장 및 비장 무게** : 급성기 반응 중인 육계병아리의 성장율, 사료 섭취량, 사료효율, 간장과 비장 무게에 미치는 미역제품이 단계적으로 함유된 사료의 영향을 Table 5-2에 나타내었다. 급성기 반응은 일당증체와 사료효율에 영향을 미치지 않았으나 사료섭취량을 감소시키는 경향($p=0.07$)이 있었다. 한편 사료의 미역제품 수준은 일당 증체($p=0.06$), 사료섭취량($p=0.15$) 및 사료효율($p=0.12$)에 영향을 미치는 경향이 있었다. 급성기 반응중인 병아리에서 기초사료 이외의 실험사료 중 미역제품 수준이 높아짐에 따라 일당 증체, 사료섭취량 및 사료효율이 점차 낮아졌다. 대조의 Saline을 투여한 병아리에서는 미역제품 수준에 따른 일당 증체, 사료섭취량 및 사료효율이 낮아지는 현상이 관찰 되지 않았다. 급성기 반응은 Saline을 투여한 대조병아리에 비해서 미역 제품 1.0%와 2.0%사료의 섭취량에는 영향을 미치지 않았으나, 기초사료와 미역제품 4.0%사료의 섭취량($p<0.05$)을 감소시켰다.

미역제품 1.0% 사료는 급성기 반응에 관계 없이 미역제품 4.0%사료 보다 병아리의 증체량과 사료 효율을 ($p<0.05$) 높였다. 대조 병아리에서는 미역제품 4.0% 사료의 섭취량이 가장 낮았고, 미역 제품 2.0% 사료를 섭취한 병아리의 사료 효율은 미역제품 4.0% 보다 유의하게($p<0.05$) 높았다.

한편 급성기 반응은 실험사료중 미역제품 수준에 관계없이 체중에 대한 간장 (p=0.02)과 비장(p<0.01)의 무게(g/100g BW)를 높였다. 미역 제품 4.0 %사료를 섭취한 육계 병아리의 간장과 비장 무게는 미역제품 사료 중에서 급성기 반응시에는 가장 무거웠으나 대조 병아리에서는 가장 낮은 값을 보였다.

Table 5-2. Effect of dietary brown seaweed product levels on the growth and feed efficiency and relative weight of liver and spleen during acute phase response in broiler chicks at 2nd week of age

BSW Level	0.0 %		1.0 %		2.0 %		4.0 %		SEM
	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	
Gain g/b/d	24.7 ^{ab}	25.3 ^a	25.1 ^a	25.3 ^a	23.5 ^{ab}	25.0 ^a	21.4 ^b	22.4 ^b	0.47
FI g/b/d	37.0 ^{b*}	39.3 ^a	37.0 ^b	38.3 ^{ab}	36.8 ^b	36.3 ^{bc}	34.5 ^{c*}	37.2 ^{ab}	0.41
Gain/FI %	66.6 ^{ab}	64.4 ^{ab}	67.9 ^{ab}	66.2 ^{ab}	63.6 ^b	69.0 ^a	61.8 ^b	60.2 ^b	0.98
Liver g/100g BW	3.1 ^b	3.0 ^b	3.3 ^{ab*}	3.1 ^b	3.2 ^{ab}	3.1 ^b	3.4 ^{a*}	2.7 ^c	0.066
Spleen g/100g BW	0.12 ^{a*}	0.069 ^b	0.10 ^{ab*}	0.085 ^{ab}	0.12 ^{a*}	0.079 ^b	0.13 ^{a*}	0.057 ^b	0.0075
	Gain		FI		FE		Liver		Spleen
p values									
LPS	0.34		0.07		0.98		0.02		0.005
Level	0.06		0.15		0.12		0.75		0.99
LPS × Level	0.96		0.45		0.41		0.17		0.55

Values are mean of 3 replicates, BSW: Brown seaweed product, FI: Feed intake,

Gain/FI : Feed efficiency, BW: body weight;

LPS : Birds activated acute phase response by injecting LPS i.p.

Con : Normal birds unchallenged with the LPS.

SEM : Standard error of mean.

a~b : Means in a row with no common superscript and

* : means between LPS and Con in a row differ significantly at p<0.05.

나. 단백질 대사 : 육계 병아리의 급성기 반응과 사료의 미역제품 수준이 질소밸런스(NB)와 요산태 질소 배설량(UAN)에 미치는 영향을 사료 g당 및 증체 g당 또는 대사체중 (kg^{0.75})당 값으로 표현하여 Table 5-3에 나타내었다. 급성기 반응은 사료g 및 증체 g당 NB에는 영향을 미치지 않았으나 kg^{0.75}당 NB(p=0.02)와 UAN(p=0.03) 그리고 사료 g당(p=0.006) 및 증체 g당(p=0.17) UAN에는 영향을 미쳤다. 미역제품 수준은 사료 g당 NB(p=0.10)에는 영향을 미치는 경향이 있었으나 증체 g당 NB와 UAN에 주는 영향은 없었으며, kg0.75당 NB(p=0.09)와 UAN(p=0.01) 및 사료 g당(p=0.01)에는 영향을 미쳤다. 그리고 급성기 반응과 미역제품 수준의 상호작용은 NB에는 영향을 주지 않았으나, 사료 g(p=0.001), 증체 g(p=0.03) 및 kg0.75

당(p=0.001) UAN에는 유의한 영향을 미쳤다.

Table 5-3. Effect of dietary brown seaweed product levels on the protein utilization of broiler chicks during acute phase response at 2nd week of age

BSW Level LPS	0.0 %		1.0 %		2.0 %		4.0 %		SEM
	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	
NB mg / g diet	18.6 ^b	18.2 ^{bc}	18.2 ^{bc}	18.3 ^{bc}	18.8 ^{ab*}	19.7 ^a	18.4 ^{bc*}	17.4 ^c	0.20
NB mg / g gain	28.6 ^{ab}	29.0 ^{ab}	27.2 ^b	29.2 ^{ab}	30.0 ^{ab}	30.6 ^{ab}	29.6 ^{ab}	31.0 ^a	0.53
NB mg / kg ^{0.75}	2,437 ^b	2,385 ^{bc}	2,324 ^{bc*}	2,515 ^{ab}	2,430 ^{b*}	2,625 ^a	2,264 ^{c*}	2,430 ^b	29.1
UAN mg / g diet	13.3 ^{c*}	11.8 ^c	13.1 ^{ab*}	12.1 ^{bc}	12.3 ^{bc*}	10.6 ^d	11.2 ^{cd*}	12.5 ^b	0.21
UAN mg / g gain	19.9 ^{ab}	18.3 ^b	19.3 ^{ab}	18.2 ^b	19.6 ^{ab*}	15.4 ^c	18.3 ^{b*}	21.0 ^a	0.45
UAN mg / kg ^{0.75}	1,669 ^{a*}	1,505 ^b	1,662 ^a	1,573 ^{ab}	1,500 ^{ab*}	1,318 ^c	1,396 ^{c*}	1,652 ^a	28.9
	NB mg / g diet	NB mg / g gain	NB mg / kg ^{0.75}	UAN mg / g diet	UAN mg / g gain	UAN mg / g gain	UAN mg / kg ^{0.75}		
p values									
LPS	0.89	0.36	0.02	0.006	0.17	0.03			
Level	0.10	0.47	0.09	0.01	0.24	0.01			
LPS*Level	0.38	0.96	0.23	0.001	0.03	0.001			

Values are mean of 3 replicates. BSW : Brown seaweed product,

NB : Nitrogen balance, UAN : Uric acid nitrogen.

LPS : Birds activated acute phase response by injecting LPS i.p.

Con : Normal birds unchallenged with the LPS.

SEM: Standard error of mean.

kg^{0.75}: Metabolic body size.

a~c : Means in a row with no common superscript and

* : Means between LPS and Con in a row differ significantly at p < 0.05.

사료 g당 NB는 급성기 반응에 의해서 Saline을 투여한 대조병아리의 값(대조)들과 비교하면 미역제품 2.0%사료에서 유의하게(p<0.05) 낮았고 미역제품 1.0% 사료에서는 영향이 없었으며, 미역제품4.0%사료에서는 유의하게 높아졌다. 증체 g당 NB는 급성기 반응이나 미역제품 수준의 영향을 받지 않았다. 병아리 kg^{0.75} 당 NB는 급성기 반응에 의해서 대조에 비해서 미역제품사료를 급여하면 수준에 관계없이 유의하게(p<0.05) 낮아졌으나 기초사료를 급여하면 영향을 받지 않았다. 사료 g당 및kg^{0.75} 당 UAN은 급성기 반응에 의해서 대조에 비해서 유의하게(p<0.05) 높아졌으나 미역제품 4.0%사료에서는 유의하게 낮아졌다(p<0.05). 한편 증체 g당 UAN 배설량은 급성기 반응에 의해서 대조에 비하여 미역 제품 2.0% 사료에서 높았으나(p<0.05) 기초사료와 미역제품사료1.0%사료에서는 영향이 없었고 미역제품 4.0% 사료에서 낮았다(p<0.05). 대조 병아리에서 실험사료를 서로 비교하면 미역 제품 2.0% 사료는 사료

g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 NB를 높였고($p < 0.05$), 사료 g 당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 UAN 배설량을 가장 낮추었다($p < 0.05$).

다. 에너지대사 : 급성기 반응중인 육계 병아리에서 사료의 미역제품 수준이 사료 kg당 에너지 함량 (ME)과 증체 g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 에너지 이용성에 미치는 영향을 Table 5-4에 나타내었다. 급성기 반응은 사료 kg당 ME함량($p=0.02$)과 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME($p=0.10$) 및 MEn($p=0.11$)요구량에 영향을 미쳤으나 증체 g당 ME요구량에는 영향을 미치지 않았다. 미역제품수준은 사료 ME 함량, 증체 g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME이용성에 영향을 미치지 않았다. 급성기 반응과 미역제품 수준의 상호작용은 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 이용성($p=0.18$)에는 영향을 미치는 경향이 있었으나 사료의 ME 함량과 증체 g당 ME 요구량에는 영향을 미치지 않았다. 급성기 반응은 사료의 ME 함량을 대조의 Saline을 투여한 병아리의 값들(대조)에 비해서 유의하게 높였다. 미역제품수준이 높아짐에 따라 대조 병아리에서 미역제품사료의 ME 함량이 점차 낮아졌으나 급성기 반응이 활성화한 병아리에서는 이러한 직선적인 ME함량의 변화가 관찰되지 않았다. 급성기 반응이 활성화한 육계 병아리에서 미역제품 수준이 1.0, 2.0 및 4.0%로 높아지면 증체 g당 ME 요구량은 점차 높아지나, 체중 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 및 MEn 요구량은 점차 감소시키는 경향을 보였다. 대조 병아리에서는 미역제품사료 중에서 미역제품 2.0%사료가 증체 g당 ME 요구량과 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 및 MEn 요구량이 가장 낮아지는 경향을 보였다.

미역제품2.0%사료를 급여하면 급성기 반응과 대조 사이에 사료의 ME 함량, 증체 g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 요구량이 유의차가 없었다. 그러나 미역 제품 1.0% 및 4.0% 사료를 급여하면 급성기 반응중인 병아리 사료의 ME 함량, 증체 g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 요구량이 대조보다 유의하게($p < 0.05$) 낮았다. 그리고 미역 제품 1.0% 사료를 섭취한 대조 병아리의 사료 ME함량, 증체 g당 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당($p < 0.05$) ME 요구량은 기초사료보다 높았다.

Table 5-4. Effect of dietary brown seaweed product levels on the energy utilization in broiler chicks during acute phase response at 2nd week of age

BSW Level	0.0 %		1.0 %		2.0 %		4.0 %		SEM
	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	
ME kcal/kgdiet	2823 ^{a*}	2716 ^b	2862 ^{a*}	2785 ^{ab}	2779 ^{ab}	2738 ^{ab}	2795 ^{ab*}	2709 ^b	16.20
ME kcal/kgdiet	2670 ^{a*}	2567 ^b	2713 ^{a*}	2634 ^{ab}	2624 ^b	2576 ^b	2644 ^{ab*}	2566 ^b	15.70
ME kcal/g gain	4316 ^{ab}	4310 ^{ab}	4239 ^b	4410 ^{ab}	4365 ^{ab}	4250 ^b	4485 ^{ab}	4773 ^a	0.08
ME kcal/ kg ^{0.75}	367.7 ^a	354.9 ^b	362.3 ^{ab*}	380.2 ^a	353.4 ^b	364.6 ^{ab}	342.8 ^{b*}	374.5 ^{ab}	3.72
ME kcal/ kg ^{0.75}	347.7 ^{ab}	335.3 ^b	343.2 ^{ab*}	359.6 ^a	333.5 ^b	343.1 ^{ab}	324.2 ^{b*}	354.5 ^{ab}	3.53
	ME	ME n	ME	ME	ME	ME	ME	ME n	
	kcal / kg diet	kcal / kg diet	kcal / kg gain	kcal / kg gain	kcal / kg gain	kcal / kg ^{0.75}	kcal / kg ^{0.75}	kcal / kg ^{0.75}	
p values									
LPS	0.02		0.02		0.63		0.10		0.11
Level	0.35		0.28		0.49		0.55		0.49
LPS*Level	0.82		0.92		0.84		0.18		0.18

Values are mean of 3 replicates, BSW: Brown seaweed product, ME : Metaboizable energy, LPS : Birds activated acute phase response by injecting LPS i.p., Con: Normal birds un-challenged with the LPS. SEM : Standard error of mean, kg^{0.75} : Metabolic body size.

a~b : Means in a row with no common superscript and

* : means between LPS and Con in a row differ significantly at p<0.05.

4. 고찰

가. **생산성** : 급성기 반응은 기초사료 및 미역 제품4.0%사료 섭취량을 유의하게 감소시켰다. 본 연구는 급성기 반응의 활성화는 주입 면역원의 종류와 상관없이 육계 병아리의 성장율과 사료 섭취량을 저하 시킨다(Klasing, 1987; Klasing과 Banes; 1988Koh 등 1996, 2004)는 보고와 일치하였다. 그러나 미역 제품 1.0 및 2.0% 사료의 섭취량은 급성기 반응 중인 육계 병아리와 대조의 Saline 투여 병아리(대조) 사이에 차이가 없었다. 이것은 미역 제품 1.0 및 2.0%사료는 급성기 반응시의 사료 섭취량 감소를 완화하는 작용이 있다는 것을 나타내는 것이라 생각되었다.

나. **단백질 대사** : 본 연구에서는 사료 g당 또는 kg0.75당 단백질 축적량(NB)과 단백질 분해량(UAN 배설량)에 미치는 급성기 반응과 실험 사료의 영향을 검토하였다(Table 5-3). 질소밸런스(NB)는 단백질 축적량을 그리고 요산태 질소(UAN)는 가금에서 요질소(UN) 배설량을 대표하여 단백질의 분해량(Koh등, 1994)을 나타내고, 체중이 다른 동물 사이의 대사량 비교는 대사체중 (kg^{0.75})당 값(Kleiber, 1947)을 기

초로 하기 때문이다.

미역제품 2.0%사료를 급여한 육계 병아리에서 급성기 반응은 사료 g당 및 kg^{0.75}당 NB를 유의하게 감소시켜서 단백질 축적량을 감소 시켰다. 그리고 급성기 반응은 사료 g당, 증체 g당 및 kg^{0.75}당 UAN을 유의하게 높여서 단백질 분해량을 높였다. 본 연구는 급성기 반응의 활성화는 대사율과 근육 단백질의 분해량을 높인다 (Klasing과 Austice, 1984; Roura 등, 1992)는 연구와 동일한 결과를 보였다. 그리고 본 연구실에서 실시한 다른 실험에서도 급성기 반응은 사료 g당 UAN 배설량으로 측정된 체 단백질의 분해량을 높여서(Im 등, 2003) 본 연구성과 유사하였다.

이와 같이 미역 제품 2.0%사료 급여시의 급성기 반응에 의한 단백질 축적량의 감소는 체단백질의 분해량 증가가 반영된다는 것을 나타내었다. 면역반응은 임파구의 클론 증식, 임파조직에서의 높은 친화성의 면역항체 생산을 위한 배반 형성, 항체나 슈퍼옥사이드 또는 산화 질소 등의 작동 분자를 만들기 위하여 단백질이 필요하다 (Klasing,1998). 미역 제품 2.0% 사료를 급여했을 때 급성기 반응시의 단백질 축적량 (NB)이 그 대조보다 낮은 것은 급성기반응에 필요한 단백질을 근육단백질의 분해 (UAN)증가로 보충하고 있다는 것을 나타낸다. 그러나 미역 제품 4.0%사료를 급여하면 급성기 반응의 활성화는 사료 g당 NB를 높이고, 사료 g당, 증체 g당 및 kg^{0.75}당 UAN을 유의하게 낮추었다. 따라서 미역 제품 4.0%사료는 급성기반응시의 근육 단백질 분해를 완화하고 있다는 것을 나타내었다. 그러나 미역제품 2.0%와 4.0%사료 사이에 단백질 축적과 분해량의 차이점에 대한 검토는 불가능하였다.

다. 에너지 대사 : 급성기 반응은 사료 kg당 ME 함량을 유의하게(p=0.02) 높였다(Table 5-4). 본 실험실에서 실시한 크릴밀(Im 등, 2003) 또는 어유 (Koh 등, 2004)함유사료를 급여한 육계 병아리에서도 급성기반응의 활성화는 사료의 ME함량을 유의하게 높여 본 실험성과 같았다. Benson 등(1993)은 육계 병아리의 복강내에 LPS를 본 실험과 같은 방법으로 반복 주입하여 급성기 반응을 활성화하면 체온과 발열량이 높아지는 것을 관찰하였다. 이러한 체온상승은 면역반응에 에너지가 필요하기 때문이라고 하였다.

사료의 ME 값은 섭취 에너지(EI)에서 분(FE)과 요 에너지(UE)를 뺀 값 이다. UE는 단백질 최종 대사 산물인 UN의 연소열가 이다. NB값은 UN양에 따르나 ME 값에 미치는 UE의 영향은 높지 않아서 최대 5.0% 이하이다 (Koh 등, 1994). 따라서 사료의 ME 값은 주로 에너지원의 소화 흡수량의 영향을 받는다. 따라서 본 실험에

서 LPS를 반복 하여 복강내 주입하였을 때 사료의 ME 값이 높아지는 것은, 급성기 반응에 필요한 에너지의 공급을 위하여 에너지원의 흡수를 소화관내에서 증가시키고 있기 때문이라고 생각된다. 동물은 급성기 반응이 활성화하면 기초대사량을 높이고 (Dascombe 등, 1989 Flores 등, 1989), 체단백질을 분해하여 아미노산을 에너지원으로 사용한다 (Klasing, 등, 1987). 따라서 사료의 ME함량이 높아지는 것은 급성기 반응에 필요한 에너지원의 공급에 체단백질의 분해 이외에 소화관내에서 단백질, 탄수화물이나 지질등 에너지급원의 흡수율을 높여서 보충을 하는 메커니즘도 있다는 것을 나타내는 것 같다.

라. **미역제품의 농도** : 한편 미역 제품 농도가 높아짐에 따라 급성기 반응은 사료의 병아리의 증체량과 사료섭취량을 순차적으로 감소시켰으나, 대조 병아리의 사료섭취량 등 생산성은 미역제품의 농도에 따른 변화가 없었다(Table5-2). 따라서 급성기 반응시의 증체량 감소는 사료섭취량의 감소가 원인인 것 같다. 그리고 급성기 반응 시의 $\text{kg}^{0.75}$ 당 분해 단백질량과 ME 이용량도 사료의 미역제품 농도가 높아지면 점차 낮아 지나($p < 0.01$), 대조에서는 이러한 영향이 없었다. 이러한 성적들을 종합하면 미역 제품내 어떤 성분(물질)(미역제품의 농도)과 급성기 반응의 상호작용이 육계 병아리의 사료섭취량, 단백질 분해량($p=0.001$)(Table 5-3) 그리고 ME 이용량($p=0.18$)(Table 5-4)에 영향을 미치고 있다는 것을 가리킨다.

미역은 가용성 섬유소 중에서 알긴산을 가장 많이 함유한다 (Lee 등, 1998). 알긴산에 많이 함유된 매뉴로닉산은 면역세포로부터 사이토카인 분비를 자극한다 (Takahashi등,1988; Otterlei등,1991). Son 등(2001)은 서류의 복강 내 매뉴로닉산이 많이 함유된 알긴산을 주입하여 마크로파지를 자극하면 TNF-알파의 분비량이 높아진다는 것을 관찰하였다. 사료의 미역제품 농도가 높아지면 알긴산 섭취량이 증가하고, 장 점막내의 면역세포에 미치는 알긴산의 영향도 점차 많아지는 결과라고 짐작이 간다. 왜냐하면 본 연구에서 미역제품의 농도와 사료섭취량, 단백질 분해량 또는 ME이용량이 연계되는 이유는 급성기 반응을 조절하는 사이토카인의 분비가 미역제품에 의해서 자극된 결과일 가능성이 있기 때문이다. 미역제품 수준이 많아지면 장내 면역세포를 자극하여 TNF-알파 등 사이토카인 분비량을 높일것이다.

면역세포에서 분비되는 TNF-알파 등 사이토카인은 사료섭취량을 감소시킨다 (Benson등, 1993; Klasing, 1994; Klasing과 Korver, 1997)는 연구결과가 있기 때문이다. 그러나 본 연구에서는 혈장 사이토카인 농도나 면역세포에 의한 사이토카인의

분비 능력의 측정, 구체적 성분이나 반응 메커니즘 또는 미역내의 알긴산 이외의 다른 성분의 작용의 검토에 필요한 자료는 구하지 못 하였다.

마. 대조 병아리 : 한편 대조병아리에서 사료의 ME 함량은 미역제품수준이 높아짐에 따라 점차 낮아졌다(Table 5-4). 미역은 건물당 섬유소 34.2-48.8% 함유한다(Cho 등, 1995). 따라서 미역 제품에 함유된 소화 흡수되지 않은 섬유소 또는 가용성 알긴산이 높아지면 사료의 에너지 값이 점차 낮아질 것이다. 그러나 ME 요구량, 단백질 축적량 및 단백질 분해량은 미역제품사료사이에 직선성이 없었다. 미역제품 2.0% 사료를 섭취한 병아리는 미역 제품 1.0 및 4.0%사료에 비해서 단백질 축적량이 높았고 ME 요구량과 단백질 분해량은 낮았다. 미역제품 2.0% 사료는 실험사료 중에서 NB를 가장 높이고 UAN을 가장 낮추는 것은 단백질의 축적량 증가는 체단백질 분해량의 감소가 그 원인중의 하나라는 것을 증명한다. 미역제품 2.0%사료는 체단백질의 분해량을 낮추는 결과 단백질 축적량을 높여서 생산성을 높였다. 이상과 같이 미역제품의 농도가 ME 함량과 ME이용성 또는 단백질 대사량에 미치는 영향은 달랐다. 사료의 미역제품의 함량이 높아지면 미 이용에너지원이 많아지고, 미역제품내 어떤 성분이 에너지원의 흡수를 억제하거나 소화흡수되지 않으며 또는 체단백질 분해량 감소에 영향을 미치고 있다는 것을 나타내었다.

바. LPS 급성기 반응 활성화 후의 보상 성장 : 육계 병아리 3주령의 생산성에 미치는 2 주령 급성기 반응 활성화 경험의 영향을 Table 5-5에 나타내었다. 3주령 초의 체중은 급성기 반응이 활성화한 2 주령의 일당증체(Table 5-2)와 동일하게 미역제품 수준이 높아지면 체중이 점차 낮아졌다($p=0.07$). 급성기 반응 경험이나, 미역제품의 수준 그리고 급성기 반응의 경험과 미역제품수준의 상호작용은 3주령의 일당증체, 사료섭취량과 사료효율에 영향을 미치지 않았다.

미역제품 1.0 및 2.0%사료를 섭취한 급성기 반응을 경험한 병아리는 미역제품 4.0%보다 높은 일당 증체와 사료효율을 보였다. 이것은 2 주령에는 급성기 반응과 미역제품의 어떤 성분과 상호 작용을 하였으나, 3주령 에는 이러한 작용이 없어졌다는 것을 보이고 있다고 생각된다.

결론적으로 본 연구 성적들은 육계병아리의 급성기 반응과 미역 제품의 어떤 물질이 상호 작용하며, 미역제품 2.0%사료를 급여한 대조병아리의 높은 증체와 단백질 축적량은 체단백질 분해량을 감소시킨 결과라는 것을 나타내었다. 본 성적은 앞으로

미역제품 내에 존재하는 급성기 반응과 상호 작용하는 물질과 정상 병아리의 체단백질의 분해를 감소시키는 물질에 관한 연구의 필요성을 가리켰다.

Table 5-5. Effect of dietary brown seaweed product levels on the performance of 3 weeks old broiler chicks experienced the acute phase response at 2nd week of age

BSW Level	0.0 %		1.0 %		2.0 %		4.0 %		SEM
	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS	Con	
Initial BW g/bird	266.2 ^{ab}	283.6 ^a	270.0 ^{ab}	271.3 ^{ab}	259.5 ^b	267.1 ^{ab}	244.5 ^b	252.1 ^b	3.7
Final BW g/bird	507.0	501.0	492.1	506.3	496.0	479.1	451.5	449.6	10.2
Daily Gaing/bird/day	30.1	27.2	27.8	29.4	29.5	26.5	25.9	24.7	0.9
Feedintakeg/bird/day	58.5	57.2	59.7	57.6	60.2	58.6	59.4	60.4	0.6
Gain/FI %	51.5 ^{ab}	47.4 ^{ab}	46.6 ^{ab}	50.8 ^{ab}	48.9 ^{ab}	44.0 ^{ab}	43.6 ^{ab}	40.8 ^b	1.4
	Initial BW		Final BW		Daily Gain		Feed Intake		Feed Efficiency
p values									
LPS	0.24		0.91		0.51		0.48		0.57
Level	0.07		0.34		0.62		0.72		0.34
LPS × Level	0.87		0.97		0.84		0.86		0.71

Values are mean of 3 replicates, BSW: Brown seaweed product,

FI : Feed intake, Feed efficiency; Feed efficiency

LPS : Birds experienced acute phase response at 2nd week of age.

Con : Normal birds. SEM: Standard error of mean.

a[~]b : Means in a row with no common superscript and

* : means between LPS and Con in a row differ significantly at p<0.05.

5. 적 요

급성기 반응중인 육계 병아리 사료의 미역제품 수준이 생산성과 단백질 및 에너지 대사에 미치는 영향이 조사 되었다. 갯 부화한 슷 병아리 (Ross)에 기초사료 중의 밀기울 대신 0.0%(기초사료), 1.0, 2.0 및 4.0 %의 미역제품을 각각 대치한 실험 사료를 3주간 급여하였다. 급성기 반응은 2주령인 8, 10 및 12 일령에 복강내 주입한 Salmonella typhymurium lipopolysaccharide (LPS)로 활성화 하고, 이때 생산성(사료 섭취량, 증체량, 사료효율), 단백질 이용성 (질소밸런스: NB ; 요산태 질소 배설량: UAN) 및 에너지 이용성(ME)을 조사 하였다.

급성기 반응중인 병아리에서, 미역제품사료는 대사체중(kg^{0.75})당 NB를 낮추나 사료 g당 ME값을 높였다. 미역제품수준이 높아짐에 따라 급성기 반응은 일당 증체 그

리고 $\text{kg}^{0.75}$ 당 NB 와 UAN 및 ME 이용성을 점차 감소 시켰다. 육계 병아리 3주령에는 급성기 반응의 경험과 미역제품 수준에 따른 증체량 저하가 없었다. 미역 제품 1.0%와 2.0%사료는 육계병아리의 급성기 반응에 의한 사료섭취량 감소를 완화하였다. 정상병아리에서 미역제품 2.0% 사료는 사료 g 및 $\text{kg}^{0.75}$ 당 NB를 높이고 UAN 배설량을 감소시켰다. 본 성적은 미역 제품에는 급성기 반응과 상호 작용하는 물질이 있고 대조병아리에서 미역제품 2.0%사료는 체 단백질 분해량을 감소시켜 단백질 축적량을 높인다는 것을 나타내었다.

Key Words:미역제품, 급성기 반응, 질소밸런스, 요산태 질소, 대사에너지, 육계병아리

제6절 미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리의 혈액 항산화균형에 미치는 영향

1. 서론

육계 병아리에 그람 음성 균 세포벽의 주성분인 lipopolysaccharide(LPS)를 주입하면 가끔의 대식세포(macrophage)는 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친염증성 사이토카인을 생성분비하는 타고난 면역반응을 활성화한다(Xie 등, 2000). 타고난 면역반응은 체내에서 발열, 골격근 단백질의 분해증가, 사료섭취량의 감소, 간장에서 급성기 단백질의 합성 증가 등 한시간 이내에 생리적 및 대사적 변화를 발생시키고, 체중에 대한 장기무게(Klasing과 Korver, 1997) 와 사료의 대사에너지(ME) 함량(Koh 등, 2004)을 높인다. 활성화한 마크로파지등 식세포는 감염원을 식작용하고 슈퍼옥사이드 음이온(O₂⁻), 수산 반응기(OH*), 단일산소 원소(1O₂), 산화질소(NO) 와 과산화아질산이온(ONOO⁻)등 반응성산소군(Reactive oxygen species:ROS)한다 (Zhao 등, 1998). Superoxide dismutase(SOD: 슈퍼옥사이드 이성화효소)(EC 1.15.1.1)는 O₂⁻을 산소(O₂) 와 과산화수소(H₂O₂)로 이성화 하는 반응을 촉매(McCord 와 Fridovich, 1969)하여 ROS등 반응성자유기로부터 정상적인 세포를 보호한다. 체내에 넓게 분포하는 과산화물 분해효소(Peroxidase) 효소는 혈액과 장기 기질을 ROS로부터 손상 받은 지질 과산화물과 다른 과산화물을 제독하는 예방적 항산화제로 작용한다(Halliwell과 Gutteridge, 2000).

미역(*Undaria pinnatifida*)의 가용성 섬유소는 구류로닉산(L-Guluronic acid)에 대한 매뉴로닉산(D-Manuronic acid)의 비율(M/G)이 높은 알긴산(Alginic acid)을 함유한다(Lee 등, 1998). 알긴산 중의매뉴로닉산은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친사이토카인의 생산을 자극하는 활성 다당구조로서 구류로닉산의 상대적인 양이 많으면 면역억제 작용이 있다(Otterlei 등, 1991).

고 등(2004)은 이러한 미역중 알긴산의 면역반응 조절작용을 이용하기 위하여 육계 병아리에 미역 제품의 수준을 달리한 사료를 급여하여 면역반응에 영향을 미치는지를 확인하는 실험을 하였다. 그 결과 미역제품은 타고난 면역반응 (급성기 반응)과 상호 작용하는 물질을 함유하고, 미역제품 2.0% 사료 급여시의 증체와 단백질 축적

량의 향상은 체단백질 분해량을 감소시키는 미역제품중의 어떤 성분에 의한다고 추론하였다. 따라서 우리는 미역제품 내의 급성기반응과 상호 작용하는 물질 그리고 정상 병아리의 체단백질의 분해를 감소시키는 물질이 혈액의 항산화 균형과 관계가 있을 것이라는 가정을 세웠다.

본 연구는 가금 사료중 미역제품 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리 혈액의 항산화 항상성에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행 되었다.

2. 재료 및 방법

가. 공시동물, 실험사료, 실험설계 및 사육 : 갯 부화된 육계병아리(Ross)에 1 일령 부터 Table 6-1의 기초사료 중 밀기울 대신 0.0(기초사료), 1.0, 2.0 및 4.0 %의 미역 제품을 각각 대치한 네종류의 실험사료를 급여하여 사육하였다. 미역제품은 우리나라 남해안에서 양식하는 미역(*Undaria pinnatifida*)을 건조 분말화한 것으로 수분 12.2, 조단백 13.6, 조지방 0.9, 조섬유 4.0 및 조회분 38.9%과 GE 2570kcal/kgDM 함유하였다. 기초사료는 고 등(2004)이 사용한 것과 동일하다. 한 시험사료당 각각 6 개 우리를 두고, 우리 당 5 수씩, 24개 우리로 육계병아리 120수를 나누어 온도가 조절되는 사육실에서 4 주간 사육하였다. 물과 사료는 자유로 섭취하게 하였다. 각 시험사료 구의 절반인 3개 우리의 병아리 8, 10 및 12 일령에 LPS 용액을 1수당 3.0mL (300ug/수)씩 주사기로 복강내에 각각 주입하여 타고난 면역 반응을 활성화하였다. 대조는 LPS 용액대신 0.9% Saline을 주입한 병아리로 하였다. 따라서 실험 요인은 4개 사료에 2 가지 면역원으로 8개(=4 x 2) 요인에 3 반복이다. LPS 용액은 염 용액 0.9 % (9 g NaCl /1,000 mL) 1,000 mL에 *Salmonella typhimurium* LPS [Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA] 100 mg을 용해하고, 0.22 um 필터로 여과 멸균한 것이다.

Table 6-1. Composition (g/kg) of experimental diets

Ingredients ³⁾	Brown seaweed product levels			
	0.0	1.0	2.0	4.0
Ground Yellow Corn (8.8% Protein)	546	546	546	546
Soybean meal (48.5% Protein)	355	355	355	355
DL-Methionine	2.5	2.5	2.5	2.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Wheat Bran	50	40	30	10
Choline HCl (50%)	1.5	1.5	1.5	1.5
Salt	5.0	5.0	5.0	5.0
CaCO ₃	10.0	10.0	10.0	10.0
CaHPO ₄ · 2H ₂ O	20.0	20.0	20.0	20.0
Vitamine mix ¹⁾	2.5	2.5	2.5	2.5
Mineral mix ²⁾	2.5	2.5	2.5	2.5
Brown seaweed product	0.0	10.0	20.0	40.0
Total	1,000g	1,000g	1,000g	1,000g
Analyzed chemical composition	----- % -----			
Moisture	12.0	12.2	12.2	12.4
Crude protein	18.6	18.9	18.1	18.1
Crude fat	2.5	2.5	2.7	2.7
Crude fiber	3.6	3.4	3.4	3.3
Crude ash	8.2	8.8	9.6	9.3
Nitrogen-free extracts	55.1	54.2	54.0	54.2
Gross Energy kcal/kg DM	4,183	4,222	4,153	4,169

1) Vitamin mix contain in kg diet Vitamin K 0.55 mg, Antioxidant 125 mg, Vitamin E 10 IU, Vitamin D3 400 IU, Vitamin A 1,500IU, Biotin 0.15 mg, Folicin 0.55 mg, Pyridoxine HCl 3 mg, Niacin 25mg, Calcium panthothenate 10 mg, Riboflavin 3.6 mg, Thiamin HCl 1.8 mg.

2) Mineral mix contain in kg diet MnSO₄ H₂O 170 mg, ZnSO₄ H₂O 110 mg, Ferric citrate 500 mg, CuSO₄ 5H₂O 16 mg, Na₂SeO₃ 0.2mg.

3) Basal diet.

나. 혈액의 채취 및 과산화물과 항산화 효소계의 측정 : 마지막 LPS 주입 후 24 시간 뒤 와 생후 4주령 병아리에서 헤파린 처리 주사기로 채취한 혈액은 원심 분리하여 혈장과 적혈구를 분리 하였다. 침전 적혈구는 상층의 백혈구 층을 제거하고 탈이온수에 현탁하여 냉동 및 해동으로 세포막을 파괴하고 원심분리하여 세포액을 얻었다. 적혈구 세포액의 MnSOD(EC1.15.1.1) 와 CuZnSOD(EC 1.15.1.1) 그리고 혈장 (세포 외액) 내 Total SOD(Ec SOD)의 활성은 Koh등(1996)의 방법으로 각각 측정하였다. SOD활성은 적혈구세포액 백질 (Lowry 등,1951) mg당 또는 혈장 mL당 단

위(U)로 표시하였다. 혈장중의 총과산화물(Total peroxide)은 과산화수소(H₂O₂)를 기준으로, 혈장과 적혈구 세포액중의 과산화물 분해효소(peroxidase)는 Horseradish Peroxidase (HRP)(Sigma)의 H₂O₂ 분해 능력을 기준으로 측정 계산하였다. 과산화물 또는 과산화물 분해효소의 작용으로 H₂O₂를 첨가 배양한 3,5,3',5'-Tetramethylbenzidine(TMB)(Sigma)의 산화물을 만드는 정도에 따른 450nm에서의 발색도 변화를 측정하여 혈장중의 과산화물 농도(ug/mL) 또는 과산화물 분해효소의 활성(mU/mL)을 결정하였다(Tatzber 등, 2003).

다. **통계처리** : 실험 데이터는 면역원과 미역제품 수준의 2원 배치 분산분석을 SAS(SAS Institute, Cary,NC) 프로그램(V6,2)의 GLM법으로 주 효과 및 상호관계를 조사하였다. 평균 사이의 유의차는 SAS의 최소유의차 값으로 검정하였다.

3. 결과

가. **적혈구 세포액의 SOD 활성** : 타고난 면역반응이 활성화한 2주령 육계 병아리의 적혈구 세포액중의 MnSOD 와 CuZnSOD 그리고 혈장(EcSOD) 활성에 미치는 사료 중 미역제품 수준의 영향을 Table 6-2에 나타내었다. 타고난 면역 반응의 활성화는 적혈구 세포액중의 MnSOD와 CuZnSOD활성을 실험 사료의 종류와 관계 없이 높였다. 미역제품 사료는 적혈구 세포 액내 MnSOD 와 CuZnSOD의 활성을 기초사료 보다 낮추었다. 미역 제품 사료 중에서 타고난 면역 반응의 활성화와 관계없이 미역제품 2.0% 사료는 적혈구 세포액내 MnSOD 와 CuZnSOD의 활성을 가장 낮추었다.

타고난 면역반응의 활성화는 세포외액 SOD 활성을 기초사료와 미역제품 1.0%사료에서 유의하게 감소시켰으나 미역제품 2.0%사료에서는 영향을 미치지 않았다. 미역제품 사료 중에서는 타고난 면역반응의 활성화와 관계없이 미역제품 2.0% 사료는 세포외액 SOD 활성을 유의하게 낮추었다.

Table 6-2. Effect of dietary brown seaweed product levels on the MnSOD and CuZnSOD activity in the erythrocyte cytosols and total SOD in plasma of 2 week age of broiler chicks activated the innate immune response

Diet BSW Level	MnSOD		CuZnSOD		EcSOD	
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS
%	-----U/mg protein-----					
0.0 ¹⁾	36.8 ^a	44.1 ^{ab*}	1.9 ^a	2.3 ^{a*}	296.5 ^b	158.1 ^{b*}
1.0	30.9 ^a	35.4 ^{b*}	1.2 ^b	1.4 ^{b*}	368.4 ^a	208.8 ^{a*}
2.0	20.4 ^b	28.5 ^{b*}	0.92 ^c	1.2 ^{b*}	73.1 ^c	65.7 ^c
4.0	32.2 ^a	49.1 ^{a*}	1.1 ^c	1.3 ^{b*}	97.2 ^c	158.8 ^{b*}
SEM	2.17		0.10		21.9	
LSD LPS(Level)	6.52(9.22)		0.22(0.31)		29.0(41.1)	
p values						
LPS	0.009		0.014		0.0004	
Level	0.005		<0.001		<0.001	
LPSxLevel	0.54		0.95		<0.001	

Values are mean of 3 replicates, MnSOD : Manganese superoxide dismutase, CuZnSOD: Copper zinc superoxide dismutase, BSW: Brown seaweed product,
 LSD : Least significant difference, LPS : Birds activated innate immune response by injecting LPS i.p., Con : Normal birds injected with the 0.9% saline. S
 SEM: Standard error of mean. 1) Basal diet
 a~c: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

나. 과산화물 함량 과 과산화물 분해효소활성 : 2주령 타고난 면역반응중 : 타고난 면역반응이 활성화한 2주령 육계 병아리의 혈장과산화물 농도와 과산화물분해효소활성 및 적혈구 세포액중의 과산화물분해효소에 미치는 사료중 미역제품 수준의 영향을 Table 6-3에 나타내었다. 타고난 면역반응의 활성화는 혈장의 과산화물 함량을 유의하게(p=0.006) 높였다.

Table 6-3. Effect of dietary brown seaweed product levels on the peroxide levels in plasma and peroxidase activity in plasma and erythrocyte cytosols of 2 week age broiler chicks activated innate immune response

Diet BSW Level	Plasma				Erythrocyte	
	Peroxide		Peroxidase		Peroxidase	
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS
%	-----M-----		---mU/10uL plasma---		---mU/ug protein---	
0.0 ¹⁾	0.45 ^{ab}	0.49 ^{a*}	0.24 ^c	1.28 ^{c*}	1.14	1.88 [*]
1.0	0.40 ^a	0.42 ^b	2.43 ^a	4.41 ^{a*}	1.06	1.03
2.0	0.43 ^b	0.51 ^{a*}	2.71 ^a	1.65 ^{c*}	1.84	1.89
4.0	0.47 ^a	0.51 ^{a*}	2.04 ^b	2.52 ^{b*}	1.39	1.32
SEM	0.01		0.25		0.17	
LSD LPS(Level)	0.03(0.04)		0.43(0.60)		0.78(1.1)	
p values						
LPS	0.006		0.008		0.64	
Level	0.009		<0.001		0.49	
LPS x Level	0.51		0.0006		0.84	

Values are mean of 3 replicates, BSW: Brown seaweed product, LPS : Birds activated innate immune response by injecting LPS i.p., Con : Normal birds injected with the 0.9% saline. SEM: Standard error of mean.1) Basal diet

a~c: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

과산화물 농도는 사료 중 미역제품의 농도(p=0.009)에 따라 증가하였고, 미역제품 수준과 타고난 면역반응 활성화의 상호작용은 없었다. 타고난 면역 반응의 활성화와 관계없이 미역제품 1.0%사료는 혈장 과산화물 농도를 기초사료보다 낮추었다 (p<0.05). 정상병아리에서는 미역제품의 수준이 높아지면 점차 혈장 과산화물의 농도가 높아지나(p<0.05) 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리에서는 미역 제품 2.0 및 4.0%사료는 미역제품1.0%사료 보다 혈장 과산화물 함량을 유의하게(p<0.05) 높였다.

타고난 면역반응의 활성화는 과산화물 분해효소의 활성을 유의하게 높였다 (p<0.01). 타고난 면역반응 활성화와 관계 없이 미역제품 사료는 기초사료보다 과산화물분해효소의 활성을 높였다(p<0.01). 미역 제품 2.0% 사료는 미역제품사료를 급여한 타고난 면역 반응이 활성화한 병아리 중에서 과산화물 분해효소의 활성을 가장 낮추었다. 타고난 면역반응의 활성화는 적혈구 세포 액 내 과산화물 분해효소의 활성을 기초사료에서 유의하게 높였으나 미역 제품 사료를 급여한 병아리에서는 영향을 미치지 않았다. 미역 제품 사료중에서는 타고난 면역 반응의 활성화와 관계없이

미역제품 2.0% 사료는 과산화물 분해효소의 활성을 높이는 경향을 나타내었다.

Table 6-4. Effect of dietary brown seaweed levels on the peroxide level and peroxidase activity in plasma of 4 week old broiler chicks experienced the innate immune response during 2 week of age

Diet BSW Level	Peroxide		Peroxidase	
	Con	LPS	Con	LPS
%	-----M-----		-----mU/10uL plasma-----	
0.0 ¹⁾	0.55 ^c	0.62 ^{bc*}	1.61 ^a	0.30 ^{c*}
1.0	0.79 ^b	0.89 ^{a*}	0.69 ^b	1.34 ^{a*}
2.0	0.70 ^b	0.71 ^{b*}	0.11 ^c	0.45 ^{c*}
4.0	0.99 ^a	0.55 ^{c*}	0.68 ^b	0.77 ^b
SEM	0.03		0.11	
LSD LPS(Level)	0.08(0.12)		0.22(0.31)	
p values				
LPS	0.10		0.57	
Level	0.002		0.0004	
LPSxLevel	0.0004		0.0001	

Values are mean of 3 replicates, BSW: Brown seaweed product, LPS : Birds activated innate immune response by injecting LPS i.p., Con : Normal birds injected with the 0.9% saline. SEM: Standard error of mean. 1) Basal diet

a~c: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

다. 4주령 타고난 면역반응 경험 : Table 6-4에는 2주령에 타고난 면역반응 활성화 경험이 있는 육계 병아리의 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소활성에 미치는 사료 중 미역제품 수준의 영향을 나타내었다. 과산화물 함량에 미치는 타고난 면역반응 활성화와 미역제품 수준의 상호작용은 유의하였다(p=0.0004). 사료 중 미역제품 수준이 높아지면 (p=0.002), 4주령 육계 병아리 혈장의 과산화물 함량을 점차 정상병아리에서는 높이고 타고난 면역 반응 활성화의 경험이 있는 병아리에서는 낮추었다. 따라서 타고난 면역반응의 활성화 경험은 정상병아리에 비해서 육계 병아리의 혈장 과산화물 농도를 기초사료와 미역제품 1.0%사료에서는 높이거나 미역제품 4.0%사료에서는 감소시켰다. 미역제품 2.0% 사료는 육계 병아리의 과산화물 농도에 타고난 면역반응의 활성화 경험의 영향이 없었다.

타고난 면역 반응 활성화 경험과 미역 제품 수준은 과산화물 분해효소의 활성에 상호 작용하였다(p=0.001). 미역제품 사료는 혈장 과산화물 분해효소 활성을 기초사

료를 급여한 것에 비해서 정상적인 병아리에서는 유의하게 낮추고($p<0.05$) 타고난 면역반응의 활성화 경험이 있는 것에서는 유의하게 ($p<0.05$) 높였다. 미역제품 사료 중에서 미역제품 2.0%사료는 타고난 면역반응 활성화 경험에 관계 없이 가장 낮은 과산화물 분해효소 활성을 보였다. 타고난 면역반응의 활성화 경험은 과산화물 분해효소의 활성을 기초사료에서 감소시키고 미역제품 1.0 및 2.0%사료에서 유의하게 ($p<0.05$) 높였다.

라. **2주 령과 4주 령의 비교** : 혈장 내 과산화물 농도는 타고난 면역 반응의 활성화와 관계없이 2 주령에 비해서 4 주령에 높았다. 혈장 내 과산화물 농도는 미역제품 수준이 높아짐에 따라 2 주령에는 정상 병아리에서 점차 높아졌고 4 주령에는 타고난 면역 반응활성화 경험이 있는 병아리에서 점차 낮아졌다. 타고난 면역반응의 활성화 경험이 있는 생후 4 주령 병아리는 실험사료의 종류와 관계없이 혈장 내 과산화물 분해효소의 활성을 2주령의 타고난 면역반응이 활성화한 병아리보다 낮추었으나, 정상병아리에서는 미역제품 사료를 급여하면 낮았으나 기초사료를 급여하면 유의하게 높았다.

4. 고찰

가. **SOD 활성** : 본 연구에서 2 주령 육계 병아리에 LPS의 주입이 적혈구 세포막 내 SOD 활성을 높이는 것은 마크로파지가 활성화하여 타고난 면역 반응이 진행하고 있다는 것을 나타내었다. 이것은 Koh등(2004) 및 Park 등(2004)도 육계 병아리에 LPS를 주입하면 적혈구의 SOD 활성이 증가하여 본 연구 성적과 일치하였다.

한편 포유류에서도 LPS를 주입하거나 친염증성 사이토카인을 주입하면 SOD 활성이 증가한다(Visner 등, 1990; DiSilvestro 등, 1991). 활성화한 마크로파지와 모노사이트는 슈퍼옥사이드 음이온(O_2^-)등 반응성 산소 중간 대사물(ROS)을 생산한다(Zhao 등,1998). 정상적인 세포 대사에서도 생산 되는 ROS가 축적되면 세포나 조직을 손상하여 산화스트레스를 발생시킨다(Jenssen 등, 1993). SOD는 산화 스트레스에 의하여 특이하게 유도되는 항산화 효소로서(Wong 등,1988), O_2^- 를 과산화수소와 물로의 특이적 변환을 신속히 촉매 한다(McCord 와 Fridovich, 1969). 본 연구에서 SOD 활성이 증가 하는 것은 타고난 면역 반응 중에 슈퍼옥사이드 등 ROS가 증가한 결과를 반영한다고 볼수 있다. 그러나 미역 제품 사료는 SOD 활성을 감소 시켰

고 그 중에서 미역제품 2.0% 사료는 SOD 활성을 더 감소 시켰으나 미역제품 수준에 따른 SOD 활성의 변화는 없었다. 이러한 SOD 활성의 감소는 미역 제품 2.0% 사료를 섭취한 병아리에서는 적혈구 세포액에서 슈퍼옥사이드 등 ROS의 농도가 낮아지는 것을 반영한다고 추측 할수 있다. 고 등(2004)은 미역 제품 2.0% 사료는 미역 제품 사료 중에서 높은 NB(단백질 축적량) 및 낮은 $\text{kg}^{0.75}$ 당 단백질 분해량(UAN 배설량)을 나타내는 현상을 관찰하였고 본 연구의 적혈구 세포액중의 SOD활성 감소와 일치하였다. 슈퍼옥사이드 등 ROS의 농도와 단백질 분해량을 감소시키는 결과는 단백질 축적량을 증가시키는 원인이 되는 미역 제품 중의 어떤성분의 작용이 있다고 생각된다. 미역제품중의 알긴산의 작용이라면 사료 중미역 제품농도와 적혈구 세포액의 SOD활성은 상관이 있어야 할 것이다.

따라서 단백질 분해 량 감소에 영향을 미치고 있는 미역 제품 내 어떤 성분 또는 미역제품 2.0% 사료에서의 어떤 성분과 다른 영양소사이의 균형이라고 생각되나 그 이상은 검토 할 수 없었다. 따라서 본 연구 성적은 미역제품 2.0%사료에서 슈퍼옥사이드 등 ROS를 감소시켜 산화 스트레스를 감소 시키는 메커니즘이 단백질 분해량 감소와 연계될 가능성을 나타낸다.

나. 과산화물 함량과 과산화물 분해효소 활성 : 본 연구는 2 주령 육계 병아리에서 LPS의 주입으로 마크로파지를 활성화하여 타고난 면역반응을 활성화하면 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소의 활성을 높였다. 활성화한 마크로파지와 모노사이트 및 Heterophil등 식세포는 감염원을 식작용하고 O_2^- 등 ROS을 생산하고 (Zhao 등.,1998), SOD는 O_2^- 를 이성화하여 과산화수소와 물을 생산하는 반응을 촉매하여 과산화물의 농도가 혈장중에 높아졌다고 생각된다. 그러나 과산화물분해효소(Peroxidase)는 체내에 넓게 분포하고 있는 효소의 총칭으로 혈액과 장기 기질에서 손상 받은 지질 과산화물과 다른 과산화물을 제독하는 예방적 항산화제로 작용한다 (Halliwell과 Gutteridge, 2000). 주로 항산화 작용을 한다고 알려진 과산화물 분해효소는 Glutathione peroxidase(GPx)이나 혈장에는 적고 주로 적혈구에 분포하고 있다 (Halliwell과 Gutteridge, 2000). 한편 Myeloperoxidase (MPO)는 포유류에는 Neutrophil, Macrophage등 면역 세포에 풍부하게 함유된다는 것이 알려져 있다. 그러나 Harmon(1998)은 조류의 Heterophil (면역세포)에서 MPO의 활성을 발견하지 못했으나, Lam(1997)은 조류의 Heterophil은 사람의 Neutrophil의 DNA와 유사한 10개의 분획을 찾아내었고 MPO 활성을 갖는다고 하였다. 한편 Kogut 등(1998)은 닭과

철면조 Heterophil이 호흡 과열하는 식작용을 관찰하였다. 이와 같이 Lam(1997)이나 Kogut 등(1998)의 연구를 기초로 하면 본 연구에서 타고난 면역반응의 활성화 중 혈장의 과산화물 분해 효소와 과산화물의 농도는 면역세포가 활성화 한 결과라는 것을 나타내고 있다.

한편 본 연구에서 기초사료를 급여하면 타고난 면역반응의 활성화가 적혈구의 과산화물 분해효소인 GPx의 활성을 높이고 있으나 미역 제품 사료를 급여한 것에서는 이러한 타고난 면역반응의 활성화 영향을 받지 않았다. 이것은 미역제품사료의 항산화 기능 또는 면역반응 조절작용을 증명하는 것이라고 생각되었다.

그리고 본연구에서 과산화물 농도는 사료중 미역제품의 농도에 따라 증가 하였고, 미역제품 사료는 기초사료보다 과산화물 분해효소의 활성을 높였다($p < 0.01$). 고 등(2004)은 타고난 면역반응이 활성화한 병아리에서 사료중의 미역 제품의 농도가 높아짐에 따라 순차적으로 증체량, 사료섭취량, 그리고 $\text{kg}^{0.75}$ 당 단백질 분해 량과 ME 이용량도 감소하는 것을 관찰하였다. 미역은 가용성 섬유소 중에서 알긴산을 가장 많이 함유하며 (Lee 등,1998), 매뉴로닉 산이 많이 함유된 알긴산은 면역세포로부터 사이토카인 분비를 자극 한다 (Takahashi 등, 1988; Otterlei 등,1991). 사료중 미역 제품의 농도가 높아지면 알긴산의 섭취량이 증가하고, 알긴산 섭취량이 많아지는 정도에 따라 장점막 내의 면역세포에 미치는 영향도 더 커진다는 것을 가리킨다. 서류의 복강 내에 매뉴로닉 산이 많이 함유된 알긴산을 주입하여 자극 하고 수확한 마크로 파지는 TNF-알파의 분비량을 높였다(Son 등, 2001). 이와 같이 미역제품 수준과 함께 타고난 면역 반응을 조절하는 TNF-알파 등 사이토카인분비가 자극된 결과 타고난 면역 반응이 작동되면 사료섭취량, 단백질 분해 량 또는 ME 이용량과 혈장의 과산화물 농도에 영향을 미칠 수 있을 것이다. 그러나 본 연구에서는 구체적 성분이나 반응 메커니즘에 관한 연구 또는 미역내의 알긴산 이외의 다른 성분의 작용의 검토에 필요한 자료는 구하지 못하였다.

결론적으로 본 연구는 타고난 면역 반응은 적혈구 SOD 활성과 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소의 활성을 높였다. 미역 제품 사료는 SOD 활성을 감소 시켰고, 미역제품 2.0% 사료는 SOD 활성을 더 감소 시켰다. 그러나 미역 제품 사료는 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소의 활성을 높였다. 과산화물 농도는 사료중 미역제품의 농도에 따라 증가하였고, 미역제품 사료는 과산화물분해효소의 활성을 높였다. 사료 중 미역제품 수준이 높아지면 타고난 면역 반응 활성화의 경험이 있는

4주령 육계 병아리 혈장의 과산화물 함량은 점차 낮아졌고, 과산화물 분해효소 활성은 미역제품 사료에 의하여 타고난 면역반응의 활성화 경험이 있는 것에서 유의하게 높았다.

본성적인 미역제품 사료와 타고난면역반응 활성화는 항산화계와 항산화 효소 활성화에 영향을 미치며, 미역제품 2.0%사료를 급여한 병아리의 생산성의 증가는 혈액 항산화계의 변화와 연계된다는 것을 나타내었다.

5. 적요

사료중 미역제품 수준이 타고난 면역 반응이 활성화한 육계병아리의 혈액내 항산화 효소계에 미치는 영향을 조사하였다. 부화한 숫병아리(Ross)에 미역제품이 0.0% (기초사료), 1.0, 2.0 및 4.0 % 함유한 실험사료를 3주간 급여하였다. 타고난 면역반응은 Salmonella typhymurium lipopolysaccharide(LPS)를 8, 10 및 12일령에 복강내에 주입하여 활성화 하고 혈액중의 과산화물, 과산화물 분해효소, 적혈구중의 MnSOD 및 CuZnSOD 활성을 측정하였다. 타고난 면역반응의 활성화는 적혈구 세포액의 SOD 활성을 유의하게($p < 0.01$) 높였고, 미역제품 1.0 및 2.0%사료는 SOD활성을 유의하게($p < 0.05$) 낮추었다. 타고난 면역반응이나 미역제품사료는 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소의 활성을 높였고($p < 0.01$), 과산화물 농도는 미역제품의 농도($p = 0.009$)에 따라 증가하였다. 사료 중 미역제품 수준이 높아지면, 4 주령 육계병아리의 혈장 과산화물 함량은 타고난 면역반응 활성화경험은 낮추고 정상 병아리는 높였다. 한편 미역제품사료는 혈장 과산화물 분해효소 활성을 기초사료보다 타고난 면역반응 활성화 경험이 있는 것에서는 높이고($p < 0.05$) 정상 병아리에서는 낮추었다($p < 0.05$).

본성적인 미역제품 사료와 타고난 면역 활성화는 항산화계와 항산화 효소활성에 영향을 미치며, 미역제품 2.0% 사료를 급여한 병아리의 혈액 항산화계의 변화는 다른 사료와 다르게 나타났다.

Key words : Broiler chicks, peroxide, peroxidase, SOD, innate immunity

제7절 미역과 콩추출물의 상호작용이 육계병아리의 생산성과 타 고난 면역반응성(친염증성 사이토카인 분비)에 미치는 영향

1. 서론과 목적

가. 제5절 에서 .“급성기 반응을 활성화한 육계 병아리에서 사료중 미역 제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향”에서 급성기 반응(타고난 면역반응) 중인 육계병아리에서 미역에 함유된 어떤 물질은 타고난 면역반응과 상호작용하였다. 따라서 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리에서는 미역 제품사료를 급여하였을 때 이러한 상호작용이 생산성을 감소시키는 원인이 되었다. 그러나 대조병아리에서는 미역제품 2.0%사료가 체 단백질 분해량을 감소시킨 결과 증체와 단백질 축적량을 높인다는 것이 발견 되었다.

나. 한편 제6절 에서는 “미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리의 혈액 항산화균형에 미치는 영향”에서 미역제품 사료와 타고난면역반응 활성화의 상호작용은 항산화계와 항산화 효소 활성화에 영향을 미친다는 것이 발견되었다. 미역제품 2.0%사료를 급여한 대조 병아리의 생산성 증가는 혈액 항산화계의 변화와 관계가 있다는 것이 발견되었다.

따라서 본 연구에서는 미역제품에 항산화 물질이 함유된 콩 추출물이 첨가되면 타고난 면역반응이 활성화하여도 미역 2.0% 사료 급여시에도 육계 병아리의 생산성을 향상시킬 것이라는 가정을 세웠다.

육계병아리에서 생산성과 항산화 단백질인 Ovotransferrin 과 친염증성 사이토카인 TNF- α 의 혈장 농도 및 자극된 PBMC의 IL-1분비정도에 미치는 콩추출물 함유 2.0% 미역사료 급여의 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

기초사료와 기초사료의 밀기울 대신 2.0%의 미역제품 그리고 2.0% 미역제품과 콩추출물의 혼합물을 대치한 3종류의 실험사료를 1일령 슛컷 병아리(Ross종)에 4주간 급여하였다. 육계병아리 2주령에 *Salmonella typhimurium* lipopolysacchride (LPS)를 복강내에 2일 간격으로 3회(8, 10 및 12일령) 주입하여 타고난 면역반응을 활성화하였다. 타고난 면역반응활성화시(2주령)와 전 실험기간동안(4주)의 증체량, 사료섭취량, 사료효율을 기록하여 생산성을 평가하였다.

급성기 반응유도 24시간뒤인 9, 11, 13일령에 각 실험사료구의 분뇨혼합물을 채취하여 총질소의 배설량과 뇨산태 질소(UAN; uric acid nitrogen)의 배설량을 측정하였다. 건조 분뇨혼합물의 연소열가와 섭취한 사료의 연소열가를 측정하였다. 각각 질소 밸런스(NB)와 대사에너지 이용성(EB: ME)을 계산하였다.

타고난 면역반응활성화시에는 급성기 단백질중의 하나인 항산화단백질인 혈장의 ovotransferrin 농도와 마크로파지가 분비하는 TNF- α 의 농도를 조사하였다. 그리고 타고난 면역반응활성화(면역스트레스) 2 주 뒤인 4주령에 혈액의 PBMC의 증식도와 PBMC가 분비하는 친염증성 사이토카인 중의 하나인 Interleukin-1의 농도를 조사하였다.

Ovotransferrin은 혈장단백질을 전기영동으로 분리하여 표준품과 비교하여 측정하였다. TNF- α 의 혈장 농도는 L929 cell line의 폐사정도로 그리고 PBMC 증식도는 Alama blue의 환원량을 파장 570nm에서 600nm의 값을 뺀값을 기초로 측정하였다. PBMC 증식도는 기초사료를 급여한것의 파자의 변화값을 100%로 하여 실험사료 또는 타고난 면역반응이 활성화한 것의 혈장과 비교하여 표시하였다. 한편 상등액중의 IL-1의 농도는 Thymocyte에 Con A를 첨가했을때의 Alama blue 색상의 변화를 100%로 하여 여기에 기초, 미역제품, 콩추출물 급여한 육계의 PBMC의 배양액을 첨가 했을때의 비율을 말한다.

3. 결과 및 고찰 :

가. 생산성

Table 7-1은 타고난 면역반응이 활성화 한 2주령과 타고난 면역반응의 활성화로

부터 회복중인 3주령 과 4주령 육계병아리의 생산성에 미치는 미역제품과 미역제품과 콩추출물 상호작용을 나타내었다.

타고난 면역 반응 활성화시의 생산성 : 타고난 면역 반응의 활성화는, 기초사료를 급여한 병아리에서는 일당증체량과 사료 섭취량을 유의하게 낮추나, 미역제품이나 미역제품과 콩추출물을 함께 급여한 육계 병아리에서는 정상병아리와 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리 사이에 유의차가 없었다.

타고난 면역반응의 활성화가 사료효율에는 영향을 미치지 않았으나 미역제품이나 미역제품과 콩추출물이 함유된 사료를 급여한 육계병아리에서는 사료효율이 기초사료를 급여한것보다 낮아지는 경향이 있었다.

타고난 면역반응후의 회복기의 생산성 : 타고난 면역반응 활성화의 경험이 있는 3주령 육계 병아리에서 정상병아리에 비해서 일당 증체량과 사료효율은 기초사료와 콩추출물함유사료를 급여하면 낮아지는 경향이 있었으나, 미역제품 함유사료를 급여한 육계병아리에서는 타고난 면역반응활성화 경험의 영향이 없었다. 사료섭취량은 3주령 육계병아리에서 실험사료의 종류나 타고난 면역반응활성화의 경험에 의한 영향이 없었다.

타고난 면역반응 활성화의 경험이 있는 4주령 육계 병아리에서 정상병아리에 비해서 일당 증체량과 사료효율은 면역제품 함유사료를 급여하면 유의하게($p<0.05$) 높았으나, 기초사료와 콩추출물함유 미역제품사료를 급여하면 타고난 면역반응활성화의 경험의 영향이 없었다. 사료섭취량은 4주령 육계 병아리에서 실험사료의 종류나 타고난 면역반응활성화의 경험에 의한 영향이 없었다.

Table 7-1. Effect of interaction of dietary brown sea weed products with bean extracts on the performance of broiler chicks activated the innate immune response

Diet LPS	Basal		BSW		BSW+ Bean Extracts		LSD	SEM
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS		
2nd Week During Activation of the Innate Immune Response								
Gain g/day	21.9 ^a	19.8 ^b	19.8 ^b	19.3 ^b	19.8 ^b	20.0 ^{ab}	2.1	0.66
FI g/day	34.9 ^a	32.5 ^c	33.2 ^{bc}	33.4 ^{abc}	34.2 ^{ab}	33.5 ^{abc}	1.7	0.68
Gain/FI %	62.8	61.0	59.7	57.6	57.9	59.8	6.4	0.77
3rd Week Recovery from the Innate Immune Response								
Gain g/day	39.7 ^a	37.8 ^{ab}	37.6 ^{ab}	38.0 ^{ab}	37.5 ^{ab}	34.1 ^b	4.4	0.53
FI g/day	61.6	62.5	61.4	62.0	62.0	63.1	2.5	0.27
Gain/FI %	64.5 ^a	60.6 ^a	61.2 ^a	61.4 ^a	60.5 ^a	53.9 ^b	6.1	0.84
4th Week Recovery from the Innate Immune Response								
Gain g/day	43.3 ^b	43.9 ^b	45.0 ^{ab}	49.3 ^a	48.1 ^{ab}	46.3 ^{ab}	5.1	0.66
FI g/day	93.0	90.2	90.1	91.8	91.0	88.9	6.3	0.68
Gain/FI %	46.5 ^b	48.8 ^{ab}	50.0 ^{ab}	53.7 ^a	52.9 ^a	52.2 ^{ab}	5.7	0.74

Values are mean of 3 replicates. BSW : Brown Seaweed. LSD : Least significant difference. SEM : Standard error of mean, Con: LPS-unchallenged normal bird, LPS : The innate immune response activated bird by injectiv LPS, FI : Feed intake
a~c: Means in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

나. 단백질대사

Table 7-2는 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 질소밸런스(단백질축적량)에 미치는 콩 추출물 함유 미역의 영향을 나타내었다.

사료 g 당 또는 체중당 단백질 축적량(NB)은 미역 2.0% 사료를 급여하면 유의하게 높아지나 콩추출물 함유 미역사료에서는 단백질 축적량이 높아지지 않았다. 그리고 타고난 면역반응의 활성화는 사료 g 당 단백질 축적량에는 영향을 미치지 않으나 체중당 단백질 축적량은 유의하게 감소시켰다.

Table 7-2. Effect of interaction of dietary brown sea weed products with bean extracts on the nitrogen balance in 2nd week old broiler chicks activated innate immune response

	mg/g diet		mg/g BW		g/kg ^{0.75}	
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS
Basal	20.2±0.7	20.4±1.2	3.16±0.05 ^{b*}	3.01±0.09 ^b	2.11±0.03 ^{b*}	1.98±0.04 ^c
BSW	21.1±0.9	21.3±0.6	3.38±0.06 ^{a*}	3.17±0.08 ^a	2.23±0.03 ^{a*}	2.09±0.04 ^a
BSW+Bean	19.2±0.8	19.8±1.5	3.19±0.07 ^{b*}	3.06±0.08 ^b	2.10±0.03 ^{b*}	2.03±0.04 ^b
SEM	0.24		0.04		0.02	
LSD Diet(Imm)	0.3(0.9)		0.10(0.07)		0.5(0.03)	
p values Diet	0.04		<0.001		<0.001	
Imm	0.24		<0.001		<0.001	
DietxImm	0.88		0.70		0.32	

a~c: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

Table 7-3은 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 요산태질소(UAN) 배설량(체단백질분해량)에 미치는 콩추출물함유 미역사료의 영향을 나타내었다.

타고난 면역활성화시에 대조와 비교하여 단백질 섭취량당 요산태 질소배설량(UAN/NI)은 미역2.0% 함유사료는 높이나, 콩추출물 함유미역 사료는 감소시키는 경향을 보였다. 따라서 콩추출물은 미역과 타고난면역반응의 상호작용에 의한 단백질 분해량의 증가를 감소시키는 경향이 있다는 것을 나타내었다. 한편 콩추출물함유 미역사료는 대사체중당(p<0.05) 또는 증체 g 당 UAN 배설량을 감소시켰으나, 미역사료를 급여한 육계 병아리에서는 이러한 영향이 없었다. 이와 같이 콩추출물은 미역에 의한 타고난 면역활성화시의 체내에서의 단백질 분해증가를 완화하는 작용이 있다는 것을 나타내었다.

Table 7-3. Interaction of dietary brown seaweed with bean extracts on the excretion of uric acid in 2nd wk-old broiler chicks activated the innate immune response

	UAN/NI%		g/kg ^{0.75}		mg/g Gain	
	Con	Imm	Con	Imm	Con	Imm
Basal	24.9±5.2	23.4±6.8	0.98±0.26	0.86±0.34	13.8±3.9	12.4±4.8
BSW	21.1±7.3	23.2±7.9	0.84±0.22	0.85±0.18	12.2±2.8	12.7±2.4
BSW+Bean	23.0±3.1	21.1±5.1	0.90±0.07	0.74±0.09	13.1±0.6	11.1±1.1
SEM	1.04		0.04		0.53	
LSD Diet(Imm)	6.8(4.8)		0.25(0.18)		3.5(2.5)	
p values Diet	0.49		0.45		0.68	
Imm	0.75		0.23		0.41	
Diet x Imm	0.92		0.88		0.90	

다. 에너지 대사

Table 7-4는 타고난면역반응이 활성화한 육계병아리의 에너지 대사에 미치는 콩추출물 함유 미역사료의 영향을 나타내었다.

미역사료와 콩추출물 함유 미역사료는 기초사료에 비해서 사료 g 당 ME함량을 낮추는 경향(p<0.10)이 있었으나 체중당(p<0.01) 또는 대사체중당(p<0.03) 에너지 이용성은 유의하게 증가시켰다. 타고난 면역반응의 활성화는 사료 g 당 ME함량(p<0.06)은 높이는 경향이 있었으나, 체중당(p<0.001) 또는 대사체중당(p<0.001) 에너지 이용성은 유의하게 감소시켰다.

Table 7-4. Effect of interaction of dietary brown sea weed products with bean extracts on the energy utilization of 2nd week old broiler chicks activated innate immune response

	cal/g diet		kcal/100g BW		kcal/MBW	
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS
Basal	3,105±38	3,143±18	56.96±0.99 ^b	55.33±1.67	380.4±5.0*	363.9±8.3
BSW	3,091±39	3,105±54	58.77±1.07 ^{ab*}	55.23±1.39	388.3±5.3*	364.7±6.9
BSW+LPS	3,031±36	3,086±110	59.01±1.31 ^{a*}	54.26±1.53	389.0±6.5*	360.2±7.6
SEM	17		0.52		3.0	
LSD Diet(LPS)	91(65)		1.76(1.25)		8.7(6.2)	
p values Diet	0.10		0.01		0.03	
LPS	0.06		<0.001		<0.001	
Diet x LPS	0.54		0.30		0.48	

a[~]b: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

라. 혈장 과산화물 농도와 혈장과 적혈구 세포액의 과산화물 분해효소활성

Table 7-5. Interaction of dietary brown sea weed with bean extracts on the peroxide level in plasma and peroxidase activity in plasma and erythrocyte cytosol of 2nd week-old broiler chicks activated the innate immune

Diet	Plasma				Erythrocyte cytosol	
	Peroxide		Peroxidase		Peroxidase	
	Con	LPS	Con	LPS	Con	LPS
	-----M-----		----mU/ml-----		----mU/ug protein-----	
Basal	0.90±0.13	0.90±0.3 ^{ab}	1.55±0.69	1.31±0.16	0.91±0.26 ^a	0.84±0.06 ^a
BSW	0.72±0.04	0.59±0.53 ^b	1.29±0.57	1.42±0.73	0.71±0.13 ^a	0.64±0.18 ^b
BSW+LPS	0.78±0.43	0.98±0.07 ^a	1.16±0.17	0.65±0.46	0.53±0.09 ^{b*}	0.42±0.07 ^{bc}
SEM	0.06		0.10		0.043	
LSD Diet(LPS)	0.34(0.24)		0.55(0.39)		0.18(0.13)	
p values Diet	0.31		0.14		0.001	
LPS	0.86		0.33		0.72	
Diet x LPS	0.68		0.68		0.30	

Values are mean of 3 replicates ± SD.

a[~]c: Means in a column and * : means between LPS and Con in a row with no common superscript differ significantly at p<0.05.

Table 7-5는 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 혈장 과산화물 농도와 혈장과 적혈구세포액의 과산화물 분해효소 활성에 미치는 콩추출물 함유 미역사료의 영향을 나타내었다.

정상병아리에서 기초사료에 비해서 미역사료와 콩추출물 함유 미역사료는 혈장

과산화물 농도($p < 0.31$)와 혈장($p < 0.14$)과 적혈구 세포액($p < 0.001$)의 과산화물 분해효소 활성을 감소시켰다. 타고난 면역반응이 활성화한 병아리에서 콩추출물 함유 미역사료는 미역사료에 비해서 혈장과산화물 농도를 유의하게($p < 0.05$) 높였고 혈장과 적혈세포액의 과산화물 분해효소의 활성을 유의하게($p < 0.05$) 감소시켰다.

마. 혈장 Ovotransferrin과 TNF- α 의 농도 그리고 PBMC의 증식도 및 배양 상등액 중의 IL-1농도.

Table 7-6. Interaction of dietary brown seaweed with bean extract on ovotransferrin and TNF- α levels in plasma of 2 week old broiler chicks activated the innate immune response

Diet		Basal	BSW	BSW+Bean Extracts
Ovotransferrin	Non	0.94±0.12	1.00±0.09	1.03±0.20
ug/0.5uL Plasma	LPS	1.20±0.15	1.21±0.22	1.13±0.23
TNF- α	Non	11.4±1.2	4.9±3.4	0.8±7.3
ug/0.5uL Plasma	LPS	29.8±5.1 ^{a*}	21.3±2.5 ^{a*}	1.3±7.7 ^b

Values are mean \pm SD of three replicates(birds).

a[~]b: Means in a row and * : means between LPS and Con in a column with no common superscript differ significantly at $p < 0.05$.

혈장 Ovotransferrin의 농도 : Table 7-6에는 기초사료, 미역제품사료 또는 콩추출물함유 미역제품사료를 급여한 2주령 육계 병아리에 LPS를 주입하여 타고난 면역반응을 활성화 했을때의 혈장 Ovotransferrin과 TNF- α 의 농도를 표시하였다.

타고난 면역반응의 활성화는 혈장중의 오보트랜스페린과 TNF- α 농도를 사료중 미역제품의 농도에 관계없이 높였다. 오보트랜스페린의 농도는 정상병아리에서는 미역사료급여로 높아지는 경향이 있었고, 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리에서는 미역사료에 콩추출물이 함유되면 낮아지는 경향을 보였다. TNF- α 농도는 미역사료를 급여하면 낮아졌으며, 타고난 면역반응이 활성화한 육계 병아리에서는 미역에 콩추출물이 함유되면 미역 사료를 급여한 것에 비해서 유의하게($p < 0.05$) 낮아졌다. 트랜스페린은 철 운반단백질로서 항산화 단백질중의 하나이다. 본 성적은 급성기 반응중에 프리라디컬의 생성이 많아진다는 것을 나타내고 있다.

Table 7-7에는 기초사료, 미역사료 또는 콩추출물함유 미역사료를 섭취하고 2주령에 타고난 면역반응을 활성화한 뒤에 4주령까지 사육한 육계 병아리에서 PBMC 증식도와 상등액중의 IL-1의 활성을 표시하였다.

PBMC 증식도와 IL-1의 활성은 기초사료를 급여한것에 비해서 미역사료를 급여하면 낮아지는 경향이 있었으나 콩추출물이 함유된 미역사료는 미역사료를 급여한것에 비해서 PBMC 증식도와 IL-1 활성을 유의하게($p < 0.05$) 높였다.

Table 7-7. Interaction of dietary brown seaweed with bean extract on PBMC proliferation of 4 week-old birds and IL-1 levels in the supernatant of PBMC incubation.

Diet	Basal	BSW	BSW+Bean Extracts
PBMC	100.0±6.7 ^b	94.1±7.7 ^b	146.8±8.6 ^a
IL-1	171.3±10.4 ^b	142.4±7.2 ^c	196.5±12.7 ^a

Values are mean ± SD of six replicates.

a^ab: Means in a row with no common superscript differ significantly at $p < 0.05$.

4. 적요

타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 타고난 면역반응활성화로 감소된 사료섭취량을 높이고, 뇨산태 질소의 배설량(체단백질분해량)을 감소시켜 단백질 축적량을 높였다. 특히 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 4주령 체중을 회복시켰다. 타고난 면역반응 시에 콩추출물함유 미역제품 2.0% 사료는 혈장 과산화물 농도를 높이거나 혈장 적혈구세포액의 과산화물 분해효소의 활성을 감소시켰고, 오보트랜스헤린과 TNF- α 농도는 감소시켰다. 사료중 콩추출물함유 미역은 항산화제와 친 염증성 사이토카인 생산에 영향을 미쳐서 육계병아리의 단백질 분해량을 감소시켜 생산성을 증가시킬 수 있었다.

제8절 산란계의 영양소 이용성, 계란 생산성, 난질 및 향산화계에 미치는 산란계 사료중 미역과 발효미역의 영향

1. 서론 및 목적

가. 미역(*Undaria pinnatifida*)의 가용성 섬유소는 구류로닉산(L-Guluronic acid)에 대한 매뉴로닉산(D-Manuronic acid)의 비율(M/G)이 높은 알긴산(Alginic acid)을 함유한다(Lee 등, 1998). 알긴산 중의 매뉴로닉산은 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등 친염증성 사이토카인 생산을 자극하는 활성 다당 구조이며, 상대적으로 구류로닉산의 양이 많으면 면역억제 작용이 있다(Otterlei 등, 1991).

나. 제5절 (고 등, 2005)에서 이러한 미역 중 알긴산의 면역반응 조절작용이 존재하는지 조사되었다. 타고난 면역반응이 활성화된 육계 병아리에서 미역 제품의 수준을 달리한 사료의 급여가 생산성, 단백질과 에너지대사에 미치는 영향에 관한 실험을 하였다. 그 결과 타고난 면역반응 (급성기 반응) 활성화시에는 미역 사료는 타고난 면역반응과 상호 작용하여 생산성을 감소시켰다. 이것은 미역내의 어떤 성분과 타고난 면역반응의 활성화와 상호작용하는 결과라고 추론하였다. 왜냐하면 정상 병아리에서는 미역제품 2.0% 사료 급여시의 생산성(증체)을 높였고, 이것은 단백질 축적량의 향상에 의한 것이었다. 단백질 축적량의 증가는 체단백질 분해량을 감소시키는 미역제품중의 어떤 성분에 의한다고 생각되었다. 따라서 타고난 면역반응 활성화와 미역제품 내의 상호 작용하는 물질, 그리고 정상 병아리에서 체단백질의 분해를 감소시키는 물질이 혈액의 향산화 균형과 관계가 있는지 확인하기 위한 실험이 계속되었다.

다. 제6절 (이 등, 2005)에서 타고난 면역반응 활성화시에 급여한 미역제품 사료는 향산화계와 향산화 효소 활성화에 영향을 미친다는 것을 발견하였다. 그리고 미역 2.0% 사료를 급여한 육계 병아리의 생산성 증가는 혈액 향산화계의 변화와 상호작용이 있었다.

라. 제7절에서는 타고난 면역 활성화한 육계 병아리에서 미역제품 2.0% 사료는 혈장 과산화 농도를 높이나 혈장 적혈구세포액의 과산화물 분해효소의 활성을 감소시켰고, TNF- α 농도를 감소시켰다. 사료중 미역은 항산화계와 친염증성 사이토카인 생산에 영향을 미쳐서 육계병아리의 단백질 분해량을 감소시켜 생산성을 증가시키고 있다고 생각된다.

마. 본 연구의 목적 : 위에서 설명한 실험에서 육계병아리의 단백질 분해량을 감소시켜 생산성을 증가시키고 사료중 미역의 항산화계와 친염증성 사이토카인 생산에 영향을 미치는 것은 미역이 육계 병아리의 질병 저항성에 영향을 미치고 있다고 생각된다. 질병저항성의 평가는 항생물질의 작용과 비교하는 것이 적당하다고 생각된다. 그리고 발효미역은 젖소에서 생산성을 향상시켰다. 산란계에 관한 연구는 실시되지 않았다.

따라서 본 연구는 산란계의 번식생리에 미치는 미역제품들의 영향을 조사하기 위하여, 미역 2.0% 함유 사료와 젖소에서 생산성에 영향을 미치는 발효미역(제1절)이 산란계의 산란계의 단백질과 에너지 대사, 산란 생산성과, 계란 품질과 계란항산화계 및 혈액의 항산화계에 미치는 영향을 항생물질인 벵코마이신과 비교하였다.

2. 재료 및 방법

가. 공시동물, 실험사료, 실험설계 및 사육

50주령의 산란계를 이용하여 Table 8-1의 기초사료와 기초사료 중 중 밀기울 대신 2.0 %의 미역제품 또는 발효미역이 함유된 사료와 기초사료중 10ppm의 Vancomycin(벵코마이신)이 함유된 사료를 각각 대치한 네종류의 실험사료에 각각 42수씩 배분하였다. 실험사료의 효과를 평가하기 위하여 산란계는 실험전 3주(1회) 그리고 실험사료를 급여하여 3주단위로 4회에 걸친 12 주 및 실험 사육후 3주간(1회)을 사육하였다. 따라서 실험요인은 실험사료 4종류 \times 실험기간 6회의 2원 배치하였으며 반복수는 3회(주)이다. 미역제품은 우리나라 남해안에서 양식하는 미역 (*Undaria pinnatifida*)을 건조 분말화한것으로 수분 12.2, 조단백 13.6, 조지방 0.9, 조섬유 4.0 및 조회분 38.9%과 GE 2570kcal/kgDM 함유하였다. 그리고 발효미역은

DS-01균을 접종하여 발효하고 건조한 분말이다. 기초사료는 NRC 사양표준(1994)에서 추천한 참고사료(Reference diet)에 따라 조제되었다. 산란계는 케이지당 1수씩 개체별로 관리되었으며 온도가 조절되고 환기를 조절하는 사육실에서 14시간 명시간과 10시간 암시간으로 사육하였다. 물과 사료는 자유로 섭취하게 하였다.

나. 에너지 및 단백질 대사

실험 사료 급여 후 2주째 단백질과 에너지 이용성을 확인하기 위하여 질소 밸런스(NB)와 에너지 밸런스(ME) 및 뇨산태질소(UAN)배설량을 측정하였다. 에너지 대사와 단백질대사의 측정방법과 계산방법은 제2절 1항의 육계 병아리의 단백질 대사와 에너지대사를 측정하는 방법과 같다.

다. 혈액의 채취 및 과산화물과 항산화 효소계의 측정

실험 사육 5주째에 산란계가 최대한 안정한 상태에서 해파린 처리한 주사기로 익하 정맥의 혈액을 취했다. 산란계가 스트레스를 받았다고 생각되는 경우는 혈액채취를 중지하였다. 채취한 혈액을 원심 분리하여 혈장과 적혈구를 분리 하였다. 침전된 적혈구는 상층의 백혈구 층을 완전히 제거하고 탈이온수에 현탁하여 냉동 및 해동으로 세포막을 파괴하고 원심분리하여 적혈구세포액을 얻었다.

적혈구 세포액의 MnSOD(EC1.15.1.1) 와 CuZnSOD(EC 1.15.1.1) 그리고 계란 난황의 CuZnSOD 활성은 Koh등(1996)의 방법으로 각각 측정 하였다. SOD활성은 적혈구세포액단백질 (Lowry 등,1951) mg당 또는 혈장 mL당 단위 (U)로 표시하였다. 혈장중의 총과산화물(Total peroxide) 함량과 과산화물 분해효소(Peroxidase)의 활성은 제2절 2항(이등,2005)에 사용한 방법과 같다.

라. PBMC 증식도

혈장 항산화계 균형의 평가와는 별도로 채취한 혈액을 PBS(pH 7.4)로 2배 희석한 후 동량의 비중 분리액위에 혈액을 얹고 2000rpm에서 30분간 원심분리하여 중간의 Buffy층을 취하였다. 부착 세포를 얻은 다음 20시간 배양하고 Alama blue를 첨가하여 4 시간 더 배양하여 Alama blue 환원량(570nm 와 600nm에서서의 OD차)을 측정하여 증식도를 평가하였다.

마. 통계처리

실험 데이터는 실험기간과 실험사료의 2원 배치 분산분석을 SAS(SAS Institute, Cary,NC) 프로그램(V6,2)의 GLM법으로 주 효과 및 상호관계를 조사하였다. 평균 사이의 유의차는 SAS의 최소유의차 값 또는 Student's t 값으로 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 단백질 대사

1) **질소 균형** : Table 8-1에는 사료 g, 체중 100g 또는 대사체중(kg^{0.75})당 질소균형(NB)을 나타내었다. 미역 사료와 발효미역 사료를 급여한 산란계의 사료 g, 체중 100g 또는 kg^{0.75}당 NB)은 기초사료를 급여한 것 보다 낮고 방코마이신 사료를 급여한 것 보다 높았었다. 사료 g당 NB는 방코마이신사료에서 기초사료의 NB보다 유의하게(p<0.05) 낮았고, 체중 100g 또는 kg^{0.75}당 NB는 발효미역 또는 방코마이신 함유 사료를 급여하면 기초사료의 이들 값보다 유의하게(p<0.05) 낮았다.

2) **요산태 질소 배설** : Table 8-2에는 산란계 하루 일수당, 질소섭취량(NI) 당, 사료섭취량(FI)당 또는 kg^{0.75}당 요산태질소(UAN)배설량을 나타내었다. 미역사료, 발효미역사료 또는 방코마이신사료는 산란계의 기초사료에 비해서 요산 태 질소 배설량을 감소시켰다. 한편 미역발효사료를 급여한 산란계는 기초사료를 섭취한것에 비해서 하루일수당, 사료 또는 질소 섭취량당 또는 kg^{0.75}당 UAN 배설량을 유의하게(p<0.05) 감소시켰고, 미역사료와 방코마이신 사료에 비해서는 낮아지는 경향을 보였다.

나. 에너지 대사

Table 8-3에는 사료 g, 체중 100g 또는 kg^{0.75} 당 대사에너지(ME) 또는 질소보정 대사에너지(MEn) 이용성을 나타내었다. 미역사료 g 당 ME 및 MEn 함량은 발효 미역사료의 이들 값보다 유의하게 낮았다. 그러나 기초사료, 발효미역사료 및 방코마이신 사료당 ME값사이에는 유의차가 없었다. 그러나 미역, 발효미역 또는 방코마이신 함유사료를 급여한 산란계의 체중 100g 또는 kg^{0.75}당 ME 이용성은 기초사료를 급여한 것에 비해서 낮아졌다.

Table 8-1. Effect of dietary brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin on the nitrogen balance in layer

Diet	NB/diet	NB/100g BW	NB/kg ^{0.75}
	mg/g diet	mg/100g B.W	mg/kg ^{0.75}
Basal	12.7±1.2 ^a	83.3±10.4 ^a	953.9±107.4 ^a
Brown Seaweed	12.0±1.5 ^{ab}	76.2±19.1 ^{ab}	890.2±191.0 ^{ab}
Fermented brown seaweed	11.8±2.2 ^{ab}	70.9±10.0 ^b	838.0±120.7 ^b
Antibiotics ¹⁾	9.5±1.0 ^b	57.4±4.0 ^c	677.2±49.6 ^c

Values are mean ± SD of 5 replicates. ¹⁾ Diet containing 10 ppm of vancomycin
 NB : nitrogen Balance. BW : Body weight. kg^{0.75} : Metabolic body weight.
 a~c Means in a column without common superscript differ significantly at p<0.05.

Table 8-2. Effect of dietary brown seaweed on the Uric acid in layer.

Diet	UAN	UAN/NI	UAN/FI	UAN/kg ^{0.75}
	mg/bird/day	%	mg/g	%
Basal	867.4±152.0 ^a	29.0±4.4	7.65±1.2 ^a	573.7±87.0 ^a
Brown Seaweed	826.0±203.3 ^{ab}	26.9±6.7	6.95±1.7 ^{ab}	502.1±102.5 ^{ab}
Fermented brown seaweed	705.0±186.4 ^b	24.0±6.0	5.97±1.5 ^b	426.3±108.1 ^b
Antibiotics ¹⁾	814.7±200.3 ^{ab}	30.6±7.4	6.93±1.7 ^{ab}	502.0±144.8 ^{ab}

Values are mean ± SD of 5 replicates. ¹⁾ Basal diet containing 10 ppm of vancomycin. UAN : Uric acid nitrogen. NI : Nitrogen intake. FI : Feed intake. kg^{0.75} : Metabolic body weight.
 a~b Means in a column without common superscript differ significantly at p<0.05.

에너지와 단백질 대사에 관한 고찰

미역, 발효미역 또는 벵코마이신 함유사료를 급여했을 때 질소밸런스와 질소 배설량이 낮아졌다. 질소배설량은 단백질 축적량을 나타내고 UAN배설량은 단백질의 체내 분해량을 나타낸다. 이때 단백질 분해량이 낮아지면 단백질 축적량(NB)는 높아져야 하나 단백질 축적량이 낮아졌다. 따라서 단백질 축적량이 낮아지는 것은 단백질의 흡수량이 낮아져서 단백질이 축적되는 절대량이 적어 졌다는 것을 의미하는 것 같다. 한편 체중 100g 또는 kg^{0.75}당 이용되는 대사에너지도 낮아지므로 미역, 발효미역 또는 벵코마이신 함유사료는 에너지와 단백질흡수에 영향을 미치고 있다고 생각된다. 이것은 미역에 함유되는 비흡수성 섬유소의 영향에 따르는 것으로 생각된다 (고 등, 2005).

Table 8-3. Effect of dietary brown seaweed , fermented brown seaweed and vancomycin on the energy balance in layer.

Diet	ME	MEn	MEn	ME
	cal/g diet	cal/g diet	kcal/100g BW	kcal/kg ^{0.75}
Basal	2953.4±69.1 ^{ab}	2849.0±59.7 ^{ab}	18.7±1.8	222.1±18.3
Brown Seaweed	2863.9±56.5 ^b	2764.9±45.2 ^b	17.4±2.6	210.6±24.6
Fermented brown seaweed	2990.0±96.6 ^a	2892.5±79.8 ^a	17.4±1.3	212.9±9.9
Antibiotics ¹⁾	2929.3±91.7 ^{ab}	2851.5±87.2 ^{ab}	17.4±1.2	210.4±11.7

Values are mean ± SD of 5 replicates. 1)Basal diet containing 10 ppm of vancomycin. ME : Metabolizable Energy. MEn : Nitrogen collected metabolizable energy.kg^{0.75}: Metabolic body weight. a~b Means in a column without common superscript differ significantly at p<0.05.

다. 생산성

Table 8-4, 5, 6, 7 및 8에는 일당 일수의 사료섭취량(g/bird/day), 산란율(%), 난중(g/egg), 산란일량(g/bird/day) 및 사료요구율(산란일량/사료섭취량)을 실험사육전 (Before 1st 3week), 실험사육중(During 1st, 2nd, 3rd, and 4th 3 week) 및 실험사육 후 (After 1st 3week)로 각각 나누어 표시하였다.

1) 사료섭취량(Table 8-4) 산란계의 사료섭취량에 미치는 실험사육 기간 (p,<0.001), 실험 사료 또는 실험사육기간과 실험사료의 상호작용은 유의하였다. 실험사육기간의 경과에 따라 사료섭취량은 점차감소하였다. 미역 또는 발효미역 함유 사료를 급여한 산란계의 사료섭취량은 기초사료 또는 벵코마이신 함유사료를 급여한 것에 비해서 높았다.

Table 8-4. Feed consumption before, during and after experimental period in laying hen fed on dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
Before	1st	111.0±1.2 ^{bA}	117.6±0.5 ^{aA}	115.7±0.7 ^{aA}	116.5±0.8 ^{aA}
	During	1st	111.4±0.8 ^{cA}	118.9±0.1 ^{aA}	116.1±0.9 ^{bA}
	2nd	102.3±4.2 ^{dB}	118.3±0.2 ^{aA}	116.1±0.8 ^{bA}	113.9±2.8 ^{cB}
	3rd	103.9±1.2 ^{cB}	116.8±2.1 ^{aA}	114.8±0.7 ^{aAB}	110.4±1.3 ^{bC}
	4th	98.8±4.1 ^{dC}	114.6±0.6 ^{aB}	114.8±0.7 ^{aAB}	101.7±3.2 ^{cD}
After	1st	88.7±5.6 ^{cD}	111.0±1.2 ^{aC}	105.8±5.5 ^{bD}	87.8±8.8 ^{cE}

Value are means± SD of 3 replicate(3 weeks) Layer 42 birds per diet
a~d: Mean in a row among diets and A~D: mean in a column among periods with no common superscript differ significantly at p<0.05
BSW: Brown seaweed waste.

Table 8-5. Egg production before, during and after experimental period in laying hen fed on dietary brown sea weed, fermented brown seaweard and vancomycin

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
Before	1st	89.5±1.6 ^A	91.4±2.9 ^A	92.4±1.7 ^A	91.4±4.9 ^A
During	1st	88.6±5.0 ^{aA}	84.8±3.3 ^{abBD}	82.1±9.5 ^{bB}	88.6±2.9 ^{aAB}
	2nd	86.7±3.3 ^{AB}	87.6±5.9 ^{AB}	88.1±10.9 ^A	88.6±2.9 ^{AB}
	3rd	82.9±5.8 ^{BD}	81.6±10.0 ^D	79.8±5.4 ^B	83.8±5.9 ^B
	4th	78.1±10.8 ^{aD}	68.3±12.7 ^{bC}	80.9±8.3 ^{aB}	77.2±4.9 ^{aC}
After	1st	60.9±14.1 ^{aE}	51.4±10.3 ^{bE}	54.0±14.8 ^{bC}	60.0±14.8 ^{aD}

Value are means± SD of 3 replicate(3 weeks) Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

BSW: Brown seaweed waste.

2) 산란율 : 산란율은 실험사육기간(p<0.001)과 실험사료의 종류(p=0.006)에 따라 유의한 영향을 받았다. 산란율은 실험사육기간의 경과에 따라 점차 낮아졌으며, 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 산란율이 높았다.

3) 난중 : 실험 사육기간은 난중에 유의한 영향을 미치지 않았으나(p=0.28), 실험사료는 난중에 유의한(p<0.001)영향을 미쳤으며, 난중에 미치는 실험사육기간과 실험사료의 상호작용은 유의(p=0.004)하였다. 미역제품과 발효미역함유사료는 기초사료와 벵코마이신 함유사료에 비해서 난중을 유의하게 증가시켰다. 한편 실험사육기간의 경과에 따라 기초사료와 벵코마이신 사료는 난중을 점차 감소시키나, 미역이나 발효미역 함유사료는 난중을 점차 증가시켰다.

Table 8-6. Egg weight before, during and after experimental feeding period in laying hen fed on dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
Before	1st	64.9±0.59 ^{bA}	67.6±0.2 ^{aC}	65.6±0.5 ^{bC}	65.6±0.9 ^{bB}
During	1st	65.2±0.8 ^{cA}	68.3±0.7 ^{aBC}	62.6±6.7 ^{dE}	66.8±0.9 ^{bA}
	2nd	65.0±1.4 ^{cA}	69.8±0.7 ^{aA}	67.8±0.9 ^{bA}	65.6±0.9 ^{cB}
	3rd	63.6±0.7 ^{dB}	68.7±1.7 ^{aB}	66.7±1.6 ^{bB}	65.1±0.8 ^{cB}
	4th	62.8±0.4 ^{cC}	69.7±1.5 ^{aA}	64.6±0.9 ^{dD}	63.8±0.9 ^{bC}
After	1st	62.2±1.2 ^{dC}	70.2±0.9 ^{aA}	67.2±0.8 ^{bC}	63.4±2.0 ^{cC}

Value are means± SD of 3 replicate(3 weeks) Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

BSW: Brown seaweed waste.

4) 산란일량 : 산란일량은 사료중 미역제품 또는 벵코마이신의 함유여부에 관계 없이 실험 사육기간이 경과에 따라 유의하게($p < 0.001$) 감소하였다. 한편 실험사료는 실험사육기간의 경과에 관계 없이 산란일량의 변화에 유의한($p=0.002$) 영향을 미쳤다. 산란일량에 미치는 실험 사육기간과 실험 사료는 상호작용이 존재하는 경향($p=0.16$)이 있었다.

Table 8-7. Daily egg mass per bird before, during and after experimental period in laying hen fed on dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
Before	1st	58.0±1.5 ^{bA}	61.6±2.1 ^{aA}	60.5±0.6 ^{cabA}	60.0±4.1 ^{abA}
During	1st	57.7±3.5 ^A	57.9±2.5 ^{BC}	55.1±7.0 ^B	57.9±7.8 ^A
	2nd	56.3±3.01 ^{bA}	61.0±4.8 ^{aAB}	59.5±8.5 ^{abA}	58.0±2.3 ^{abA}
	3rd	52.6±4.3 ^{abB}	55.8±6.0 ^{aC}	52.2±3.3 ^{bB}	54.3±4.3 ^{abB}
	4th	49.1±6.9 ^{abC}	46.9±8.9 ^{bD}	52.1±5.0 ^{aB}	48.9±2.9 ^{abC}
After	1st	38.3±8.9 ^D	35.6±7.4 ^E	35.6±9.3 ^C	38.0±9.9 ^D

Value are means± SD of 3 replicate(3 weeks) Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at $p < 0.05$

BSW: Brown seaweed waste.

Table 8-8. Feed efficiency before, during and after experimental period in laying hen fed on the experimental diets

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
Before	1st	0.524±0.01 ^B	0.524±0.02 ^A	0.523±0.01 ^A	0.524±0.03 ^A
During	1st	0.517±0.03 ^{abB}	0.487±0.02 ^{bB}	0.477±0.06 ^{bC}	0.498±0.06 ^{abAB}
	2nd	0.551±0.00 ^{aA}	0.516±0.04 ^{bAB}	0.517±0.07 ^{bAB}	0.508±0.02 ^{bA}
	3rd	0.501±0.04 ^{aBC}	0.469±0.05 ^{bB}	0.465±0.03 ^{bC}	0.491±0.03 ^{abB}
	4th	0.493±0.05 ^{aC}	0.399±0.07 ^{bC}	0.496±0.05 ^{aB}	0.478±0.01 ^{aB}
After	1st	0.421±0.08 ^{bD}	0.314±0.07 ^{cdD}	0.496±0.05 ^{aB}	0.425±0.08 ^{aC}

Value are mean± SD of 3 replicate(3 weeks) before, during and after experimental feeding period of 18 weeks. Layers are 42 birds per diet

Value are means± SD of 3 replicate(3 weeks) Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at $p < 0.05$

BSW: Brown seaweed waste.

Table 4,5,6,7, and 8. p values of feed consumption , egg production, egg weight, egg mass and feed consumption

	Feed consumption	Egg production	Egg weight	Egg mass	Feed efficiency
SEM	0.81	1.21	0.23	0.83	0.007
LSD p<0.05					
Period	2.2	5.1	0.98	3.4	0.03
Diet	2.2	5.1	0.95	3.4	0.03
p values					
Period	<0.001	<0.001	0.28	<0.001	<0.001
Diet	<0.001	0.006	<0.001	0.002	<0.001
Period x Diet	<0.001	0.27	0.004	0.16	0.14

5)사료 효율 : 사료효율은 사료중 미역제품 또는 벵코마이신의 함유여부에 관계 없이 실험 사육기간의 경과에 따라 유의하게(p <0.001) 감소하였다. 한편 산란 실험 사료는 실험사육기간의 경과에 관계 없이 사료효율의 변화에 유의한(p <0.001) 영향을 미쳤다. 기초사료를 급여한 산란계의 사료효율에 비해서 미역제품이나 벵코마이신이 함유된 사료를 급여하면 유의하게(p<0.05) 낮은 사료효율을 나타내었다.

6)난질

Table 8-9, 10 및 11에는 실험사육중(During 1st, 2nd, 3rd, and 4th 3 week) 의 호우유니트(HU), 난각두께(mm) 및 난황색상(로쉬 칼라펜지수)을 나타내었다.

가) 호우 유니트(HU)(Table 8-9) : HU는 수양화 지수라고도 하며 난중과 난백고의 상관관계를 나타낸다. 미역사료를 급여한 산란계의 계란의 HU는 실험사육 기간에 걸쳐서 발효미역과 벵코마이신 함유사료를 급여한것에 비해서 유의하게(p<0.001) 높았다. 실험 두 번째 및 3번째 3주동안은 기초사료를 급여한 것에 비해서 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란에서 HU가 유의하게 낮았다. 한편 벵코마이신 함유사료를 급여하면 다른 실험사료를 급여한 것에 비해서 HU는 전 실험사육 기간에 가장 낮은 HU를 가진 계란을 생산하였다.

Table 8-9. Haugh unit(HU) of eggs in laying hen fed on dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin during experimental period

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
During	1st	70.7±6.2 ^b	76.9±7.6 ^a	75.1±4.1 ^{aA}	65.3±23.2 ^{cC}
	2nd	73.1±5.3 ^a	78.2±6.5 ^a	63.7±9.4 ^{cD}	66.0±18.7 ^{bC}
	3rd	71.4±5.4 ^b	75.1±9.9 ^a	68.2±8.2 ^{cC}	70.4±15.8 ^{bBC}
	4th	73.0±5.4 ^b	75.6±10.4 ^a	72.4±5.8 ^{bAB}	72.0±14.3 ^{bA}

Value are mean ± SD of 3 replicate(3 weeks) during 12 weeks of experimental feeding period. Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

나) 난각두께(Table 8-10) 난각두께에 미치는 실험기간(p<0.001) 과 사료(p<0.001)의 영향은 유의하였다. 난각두께는 발효미역을 급여한 산란계가 산란한 계란에서 가장 얇았으며, 미역사료와 벵코마이신 사료에서는 실험사육기간의 경과에 따라 점점 얇아졌다.

Table 8-10. Egg shell thickness of eggs during experimental period in laying hen fed dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
-----mm-----					
During	1st	0.35±0.03 ^{bA}	0.35±0.03 ^{bA}	0.33±0.02 ^{cA}	0.37±0.02 ^{aA}
	2nd	0.33±0.03 ^{cB}	0.35±0.03 ^{aA}	0.33±0.02 ^{cA}	0.34±0.02 ^{bB}
	3rd	0.33±0.03 ^{bB}	0.34±0.02 ^{aB}	0.31±0.03 ^{cB}	0.34±0.02 ^{aB}
	4th	0.33±0.03 ^{bB}	0.33±0.03 ^{bC}	0.31±0.03 ^{cB}	0.35±0.02 ^{aC}

Value are mean ± SD of 3 replicate(3 weeks) during 12 weeks of experimental feeding periods. Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

다) 난황색상(Table 8-11) 난황색상에 미치는 실험기간(p<0.001)과 사료(p<0.001)의 영향은 유의하였다. 실험사료중에는 발효미역을 급여하면 난황생상이 다른 사료를 급여한 닭들이 산란한 계란에 비해서 유의하게 진했으며, 실험사육기간의 경과에 따라 유의하게 진해졌다.

Table 8-11. Yolk color(Rosh Color Fan) of eggs in layer fed dietary brown sea weed, fermented brown seaweed and vancomycin during experimental period

Period	3 WK	Basal	BSW	Fermented BSW	Vancomycin
During	1st	6.5±0.6 ^{cC}	6.5±0.5 ^{dD}	7.3±0.8 ^{dD}	6.7±0.8 ^{dD}
	2nd	7.1±0.4 ^{bB}	7.0±0.4 ^{cC}	7.8±0.7 ^{cC}	7.5±0.7 ^{bB}
	3rd	7.9±0.5 ^{aA}	7.5±0.8 ^{aA}	8.7±0.6 ^{aA}	8.5±0.8 ^{aA}
	4th	7.1±0.5 ^{bB}	7.3±0.8 ^{bB}	8.1±1.4 ^{bB}	7.1±0.5 ^{cC}

Value are mean ± SD of 3 replicate(3 weeks) during 12 weeks of experimental feeding periods.Layer 42 birds per diet

a~d: Mean in a row and A~D: mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

Table 9, 10 and 11. p values

	Haugh unit	Eggshell thickness	Yolk color
SEM	0.58	0.0016	0.05
LSD p<0.05			
Period	3.11	0.0008	0.20
Diet	3.81	0.01	0.24
p values			
Period	0.87	<0.001	<0.001
Diet	<0.001	<0.001	<0.001
Period x Diet	0.35	0.90	0.41

7) 혈장과 난백의 항산화제와 난황의 콜레스테롤 함량

가) 난백 CuZnSOD 활성과 난황 콜레스테롤 함량(Table 8-12)

난백 CuZnSOD활성 과 HU는 미역사료를 급여한 산란계의 계란에서 가장 높고, 발효미역사료를 급여한 것에서 가장 낮았다. HU값과 난백 CuZnSOD활성의 상관관계는 유의하여(r=0.53, n=27, p<0.01) HU값과 난백 CuZnSOD활성은 상호작용하였다. 난황의 콜레스테롤 함량은 실험사료 사이에 유의차가 없었으나, 벵코마이신을 급여했을때 가장 높은값을 나타내었다. 발효미역과 벵코마이신 함유 사료를 급여하면 리놀산함량은 낮아지고 Docosahexaenoic acid의함량은 증가하였다.

Table 8-12. Effect of dietary brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin on CuZnSOD activity in egg white and Haugh unit of eggs in layer

	Egg white	Whole egg	Egg Yolk		
	CuZnSOD	Haugh unit	Cholesterol	18:2	22:6
	U/mg	Unit	mg/g	%	%
Basal	13.8±2.2 ^{ab}	55.8±11.2 ^{ab}	8.9±0.6	17.4±1.0 ^a	2.5±0.4 ^b
BSW	14.3±0.5 ^a	62.0±4.0 ^a	9.0±1.3	17.3±0.9 ^{ab}	2.8±0.3 ^{ab}
FBSW	14.3±0.5 ^a	41.8±11.6 ^b	9.1±0.2	16.6±0.4 ^{ab}	3.2±0.6
Vancomycin	11.9±1.4 ^{bc}	57.2±10.5 ^{ab}	9.2±0.3	15.6±1.5 ^b	3.2±0.5

Values are mean ± SD of 5 replicates(eggs)

18:2 : Linoleic acid, 22:6 : Docosaehxaenoic acid

a~b: Mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

나) 적혈구세포액의 SOD와 과산화물분해효소의 활성(Table 8-13)

미역사료를 급여한 산란계 적혈구의 MnSOD활성은 실험사료중에서 가장 높았으며, 발효미역, 및 벵코마이신 함유사료 순으로 점차 낮아졌다. 한편 CuZnSOD활성은 미역사료를 급여한 것에서 가장높고 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란 난백에서 유의하게 낮았다. 그리고 과산화물 분해효소의 활성은 CuZnSOD활성과 반대로 미역사료를 급여한 산란계의 적혈구에서 가장 낮고 발효미역사료와 벵코마이신사료를 급여한 산란계의 계란 난백에서 낮았다.

Table 8-13. Effect of dietary brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin on activity of MnSOD, Cu/ZnSOD and peroxidase in erythrocyte cytosols

Diet	MnSOD	CuZnSOD	Peroxidase
	U/mg	U/mg	mU/ug
Basal	55.6±2.1 ^b	7.9±1.5 ^a	1.20±0.29
BSW	61.9±1.5 ^a	7.9±1.8 ^{ab}	1.17±0.09
FBSW	61.9±1.5 ^a	6.0±0.8 ^b	1.33±0.18
Vancomycin	43.7±6.8 ^c	6.8±1.6 ^{ab}	1.33±0.26

Value are mean ± SD of 3 replicates(layers)

a~c: Mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

Table 8-14. Effect of dietary brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin on peroxide levels and peroxidase activity in plasma of layer during experimental feeding period

Diet	Peroxide	Peroxidase
	M	mU/mL
Basal	2.78± 0.28 ^a	0.74± 0.59 ^b
BSW	2.12± 0.60 ^{ab}	1.33± 1.07 ^{ab}
FBSW	1.67± 0.15 ^b	2.15± 0.58 ^a
Vancomycin	2.77± 1.04 ^{ab}	0.52± 0.69 ^b

Value are mean ± SD of 3 replicates(birds)

a~b: Mean in a column with no common superscript differ significantly at p<0.05

Table 8-15. Effect of dietary brown seaweed, fermented brown seaweed and vancomycin on proliferation PBMC sensitized with LPA and PHA-p in layer.

Diet	Basal	BSW	FBSW	Vancomycin
Control	141.1± 42.5	152.0± 45.3	152.1±57.6	157.4± 71.6
LPS	173.2± 71.6	172.2± 70.1	176.9±76.7	181.7± 87.5
PHA-P	150.3± 37.9	161.7± 50.3	173.0±63.9	177.5± 77.4

Value are means± SD of 4 replicate(layer 4 birds per diet)

다)혈장의 과산화물 농도와 과산화물 분해효소 활성 및 PBMC 증식도

혈장의 과산화물 농도는 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 낮고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 유의하게 높았다. 한편 혈장 과산화물 분해효소의 활성은 과산화물 농도와 반대로 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 높고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 유의하게 낮았다.

PBMC 증식도는 마이토젠으로 자극하지 않으면 기초사료에 비해서 미역 및 발효미역에서 높아지고 벵코마이신이 함유되면 더 높아졌다. LPS로 자극하면 벵코마이신 함유사료에서 높아졌고, PHA-p로 자극하면 미역사료에서 높아지나, 발효미역 과 벵코마이신함유사료 급여시 더 높은 증식도를 나타내었다.

5. 적요

본 연구는 육계병아리에서의 연구 성적을 기초로 산란계에서의 미역과 발효미역의 항산화 및 질병저항기능성을 평가하기 위하여 산란계의 에너지와 단백질 대사, 생산성, 계란 품질 및 혈액 항산화계에 미치는 영향을 벵코마이신 함유사료와 비교

하였다. 산란계 168수를 사료당 각각 42수씩 배분하여 기초사료, 기초사료의 밀기울 대신 2.0%의 미역 또는 발효미역 대치사료 및 10ppm의 방코마이신(Vancomycin) 함유 기초사료의 네가지 실험사료를 급여하여 실험 전 3주(1회), 실험 사료급여 3주씩 4회 그리고 실험 후 3주(1회)를 급여하였다.

1) 영양소 이용성: 미역 또는 발효미역 사료를 급여한 산란계의 체중 또는 대사 체중 당(kg0.75) 질소 균형(NB)은 방코마이신 함유사료를 급여한 것보다 유의하게 ($p<0.05$) 높았다. 발효미역 사료를 급여한 산란계의 요산태 질소 배설은 미역 또는 방코마이신 사료를 급여한 것보다 낮아지는 경향을 보였다. 발효미역사료의 g당 대사에너지(ME) 값은 미역사료의 값보다 유의하게 높아지나, 체중 당 또는 대사 체중 (kg0.75) 당 ME 이용성은 유사하였다.

2) 생산성 : 산란계의 사료섭취량은 실험사육 기간($p<0.001$)의 경과에 따라 점차 감소하였고, 산란계는 미역 또는 발효미역 함유사료를 기초사료 또는 방코마이신 함유사료보다 더 많이 섭취하였다. 산란율은 실험사육기간($p<0.001$)의 경과에 따라 점차 낮아졌으며, 기초사료와 방코마이신사료를 급여한 것에서 산란율이 높았다 ($p=0.006$). 난중에 미치는 실험사육기간과 실험사료의 상호작용은 유의($p=0.004$)하여, 실험사육기간의 경과에 따라 미역이나 발효미역 함유사료는 난중을 점차 높이거나 기초사료와 방코마이신 사료는 난중을 점차 낮추었다($p<0.001$). 산란일량($p <0.001$) 과 사료효율($p <0.001$) 은 실험 사육기간의 경과에 따라 유의하게 감소하였고, 실험 사료는 산란일량($p=0.002$) 과 사료효율($p <0.001$)의 변화에 유의한 영향을 미쳤다. 미역, 발효미역 및 방코마이신이 함유 사료 급여한 산란계의 사료효율은 기초사료보다 유의하게($p<0.05$) 낮았다.

3) 난질 : 미역사료를 급여한 산란계가 낳은 계란의 호우 유닛(HU)은 실험사육 전 기간에 걸쳐서 발효미역과 방코마이신 함유사료를 급여한 것에 비해서 유의하게 ($p<0.001$) 높았다. 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란의 HU는 실험 두 번째 3주 및 3번째 3주 동안은 기초사료를 급여한것에 비해서 유의하게 낮았다. 실험사육기간($p<0.001$)과 사료($p<0.001$)는 난각두께 와 난황색상에 유의한 영향을 미쳤다. 난각 두께는 발효미역을 급여한 산란계가 산란한 계란에서 가장 얇았으며, 미역사료와 방코마이신 사료에서는 실험사육기간의 경과에 따라 점점 얇어졌다. 난황색상은 실험 사육기간의 경과에 따라($p<0.001$)는 유의하게 진하였으며, 발효미역을 급여한 산란계

가 낮은 계란의 난황색상은 미역이나 벵코마이신 사료 보다 유의하게 농후하였다.

4) 혈장과 난백의 항산화제와 난황의 콜레스테롤 함량

가) 난백 CuZnSOD 활성과 난황 콜레스테롤 함량 : 난백 CuZnSOD활성과 HU는 미역사료를 급여한 산란계의 계란에서 가장 높고, 발효미역사료를 급여한 것에 가장 낮았다. HU값과 난백 CuZnSOD활성의 상관관계는 유의하여($r=0.53$, $n=27$, $p<0.01$) HU값과 난백 CuZnSOD활성은 상호작용하였다. 난황의 콜레스테롤 함량은 실험사료 사이에 유의차가 없었으나, 벵코마이신을 급여했을 때 가장 높은 값을 나타내었다.

나) 적혈구세포액의 SOD와 과산화물분해효소의 활성 : 미역사료를 급여한 산란계 적혈구의 MnSOD활성은 실험사료 중에서 가장 높았으며, 발효미역, 및 벵코마이신 함유사료 순으로 점차 낮아졌다. 한편 CuZnSOD활성은 미역사료를 급여한 것에 가장 높고 발효미역사료를 급여한 산란계의 계란 난백에서 유의하게 낮았다. 그리고 미역사료는 산란계의 적혈구의 과산화물 분해효소의 활성을 CuZnSOD활성과 반대로 발효미역사료와 벵코마이신사료를 급여한 산란계보다 유의하게 낮추었다.

다) 혈장의 과산화물 농도와 과산화물 분해효소 활성 : 혈장의 과산화물 농도는 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 낮고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에 유의하게 높았다. 한편 혈장 과산화물 분해효소의 활성은 과산화물 농도와 반대로 발효미역사료를 급여한 산란계에서 가장 높고 기초사료와 벵코마이신사료를 급여한 것에서 유의하게 낮았다.

Key Word: 미역, 벵코마이신, 단백질과 대사 에너지, 요산 배설량, 산란 생산성, 계란품질, 계란 항산화제, 혈액 항산화제

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

본연구과제의 최종 목표는 양식 폐미역의 젖소 및 가금의 생산성, 면역반응 및 생리반응에 미치는 영향을 보다 면밀히 조사하고, 이들의 원가절감형 저장성 확보 기술 개발을 통한 가축의 사료화의 가능성을 검토한 후 이들 발효 폐미역을 젖소 및 가금용 기능성 사료자원으로 이용하고자 본과제가 수행되었다.

단계별 수행된 세부연구별 목표달성도와 관련분야에의 기여도는 다음과 같다.

1. 폐미역을 이용한 젖소용 사료 개발 (계획 대비 100%달성)

양식 미역 채취 과정에서 바다에 폐기 되어지는 미역 폐기물을 젖소 및 가금에서의 사료로써의 이용가능성 및 생리활성, 면역증진 및 생산성 향상에 이용 가능한 사료 개발을 목표로 연구 수행한 결과 4% 첨가수준이 반추위 발효성상 및 유성적에 효과적임이 확인되었다. 아울러 육성기와 비육기의 시험결과들을 종합하여 보면 미역부산물의 첨가로 인하여 체내 호르몬의 분비양상이 비육에 유익한 측면으로 변화하는 양상을 나타내었으며 육성임신기의 성장성적과 기타 혈중 대사산물에는 영향을 미치지 않았고 비육우에서는 유생산능력을 향상시키는 결과가 증명되었다. 이와 같은 결과들은 바다에 버려져 해양 환경을 파괴하는 폐미역을 보다 효율적으로 고기능성 가축용 사료로의 이용을 가능하게 한 좋은 예를 보여주는 것으로 이후 환경오염 예방과 더불어 부존자원의 재활용을 통한 가축의 사료자원 확보에 크게 기여되어질 수 있을 것으로 사료된다.

2. 미역 분해 미생물을 이용한 폐미역의 저장성 확보 및 젖소용 기능성 사료 개발 (계획 대비 100%달성)

미역의 저장성 확보 및 반추동물의 사료로서의 이용가능성을 확인하기 위하여 DS-01균주의 접종에 의한 미역폐기물의 분해정도, 영양소함량의 변화 및 지표미생물과 병원성 유해 미생물을 12개월 동안 확인한 결과를 통하여 DS-01균주의 접종에 의한 미역부산물의 발효가 안전함이 증명되었고 반추위발효성상에서 반추위 pH, 암

모니아태 질소, 휘발성 지방산의 생성량 등 측면에서 대조구와 유사하거나 대조구보다 우월한 성적이 확인되었다. 이러한 DS-01 발효 폐미역을 직접 짓소사료에 첨가하여 급여한 결과 혈중 유분비관련 호르몬이 유의한 방향으로 전환함이 확인되고 혈중 건강지표들인 혈구성분과 혈중 간 기능 관련 효소들의 변화양상에서 발효 미역의 첨가가 안전함이 증명되고 유생산능력의 향상가능성이 나타났다. 이와같은 결과는 미역폐미물에 DS-01과 같은 균주의 접종은 건조 내지는 냉동보관을 하지 않고도 사료로의 이용이 가능하게 함이 증명됨으로 관련 미역양식업 및 사료 산업에 크게 기여 되었다.

3. 브로일러의 생산성과 면역반응성에 미치는 미역제품의 영향 (계획 대비 100%달성)

브로일러의 생산성과 면역반응성, 면역세포인 마크로파지 자극 면역스트레스시의 생산성과 면역반응 조사 한 결과 생산성에서 에너지 밸런스, 질소 밸런스 및 노산 배설량 평가를 계획대로 진행되었다. 아울러 혈액중 급성기단백질, 오보트랜스웨린 농도 측정, 혈액중 친염증성 사이토카인 TNF- α 분비량을 측정함으로 면역 반응성을 조사한 결과 긍정적인 결과를 얻을 수 있었다. 이와같은 결과는 브로일러에 있어서 폐미역이 항생제 대체제로써 이용에 대한 충분한 기초자료가 되고 실제이용시 좋은 근거자료로 이용될수있는등 그 학문적 기술적 기여도가 크다.

4. 산란계의 생산성과 계란의 품질과 기능성계란생산가능성(계획 대비 100%달성)

산란계의 생산성과 면역반응 생산성 과 면역반응에 미치는 미역제품의 영향을 평가하기 위하여 산란율, 난중, 사료효율, 면역반응 및 계란의 품질을 조사한 결과 브로일러와 같이 생산성 및 면역반응에 긍정적인 결과를 가져왔다. 아울러 계란중 기능성물질의 함량이 증가되는 등 기능성 계란생산에도 효과가 있음이 확인되었다. 따라서 이들 결과를 활용한다면 산란계의 면역력증가 및 기능성 난생산용 사료개발에 기여되어질 수 있다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 연구성과 활용실적 -국내 저명학술지 4편 게재

- 가. 이홍구, 홍중산, 이철호, 허성웅, 김 훈, 김명국, 이현준, 최낙진, 고태송, 최윤재. 2005. 미역부산물의 첨가가 홀스타인 비유우의 비유성적과 내분비생리에 미치는 영향, 한국 동물자원 과학회지 47(4) 1-10.
- 나. 고태송, 임진택, 박인경, 이혜정, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 2005. 급성기 반응을 활성화한 육계 병아리에서 사료중 미역 제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향, 한국 동물자원 과학회지47(3) : 379-390.
- 다. 이혜정, 박인경, 임진택, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 고태송, 2005. 미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 혈액 항산화균형에 미치는 영향. 동물자원과학회지 47(1): 29-38.
- 라. 고태송, 임진택, 박인경, 이혜정, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 2005. 육계 병아리의 급성기 반응 중 생산성 과 단백질 및 에너지대사에 미치는 사료 중 미역 제품 수준의 영향, 한국 동물자원 과학회지: 47: 인쇄중

2. 연구성과 활용계획

- 가. 항생제 대체사료 개발에 이용 - 산업화 유도
- 나. 해조 폐기물 처리에 활용
- 다. 요석증 예방 사료 개발에 활용
- 라. 한우 번식우 사료 및 습식 TMR 사료 개발에 이용
- 마. 특허 또는 기술이전 등 실용화(2005-6년도) : 1건 이상
- 바. 국내 저명학술지(3편) 및 SCI(E)급 논문 1편이상 투고

3. 과제를 통해 얻어진 연구결과를 토대로 추가연구 실시

- 가. 구강 투여 미역 제품의 항산화균형 평가에 의한 항생제 대체 효과와 산업적 이용성의 실험
 - 실험내용: 육계 병아리와 산란계의 항산화계 균형(혈청, 적혈구 및 간장의 SOD 활성, peroxide함량, peroxidase 활성, TNF-알파, Transferrin,

Ceuroloplasmin 활성). 구강 투여 바이러스, 구강 병원성 살모넬라 접종 맹장내
미생물 군락조사 및 구강투여 미역제품과 항생제(Vancomycin, Avilamycin)
의 비교

나. 자돈혈액의 항산화계 균형에 관한 실험이 필요-구강투여 바이러스의
Anti-virus-IgG의 affinity

제 6 장 참고문헌

Allen. V. G., Pont. K. R., Saker. K. E., Fontenot. J. P., Bagley. C. P., Ivy. R. L., Evans. R. R., Schmidt. R. E., Fike. J. H., Zhang. X., Ayad. J. Y., Brown. C. P., Miller. M. F., Montgomery. J. L., Mahan. J., Wester. D. B. and Melton. C. 2001. Tasco: Influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock-A review. *J. Anim. Sci.* 79(E. Suppl.):E21-E31.

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis* 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Bae, T. J., Kwak, J. M., Kim, H. S. and Kim, K. S. 2002. Processing of leaflike and powder ta using sea tangle. *Korean J. Life Science.* 12:16-25(in Korean).

Baker, L. D., Ferguson, J. D. and Chalupa, W. 1995. Protein of Milk to Different Responses in Urea and True Protein Feeding Schemes for Dairy Cows. *J. Dairy Sci* 78:2424-2434.

Bargo, F., Rearte, D. H., Santini, F. J. and Muller, L. D. 2001. Ruminant Digestion by Dairy Cows Grazing Winter Oats Pasture Supplemented with Different Levels and Sources of Protein. *J. Dairy Sci.* 84:2260-2272.

Beresford, N. A., Mayes, R. W., Colgrove, P. M., Barnett, C. L., Bryce, L., Dodd, B. A. and Lamb, C. S. 2000. A comparative assessment of the potential use of alginates and dietary calcium manipulation as countermeasures to reduce the transfer of radiostrontium to the milk of dairy animals. *J. Environ. Radioactivity.* 51:321-334.

Beresford, N. A., Mayes, R. W., MacEachern, P. J., Dodd, B. A. and Lamb, C. S. 1999. The effectiveness of Ca-alginate to reduce the transfer of radiostrontium to

the goatsmilk. *J. Environ. Radioactivity*. 44:43-54.

Brumby, P. E., Storry, J. E. and Sutton, J. D. 1972. Metabolism of cod-liver oil in relation to milk fat secretion. *J. Dairy Res.* 39:167-182.

Bryant, M. P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32:1809.

Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Biochem.* 8: 130-132.

Channon J. Y. and Leslie C. C. 1990. A calcium-dependent mechanism for associating a soluble arachidonoyl- hydrolyzing phospholipase A2 with membrane in the macrophage cell line RAW 264.7 *J. Biol. Chem.*, Vol. 265(10) 5409-5413.

Chu, K. H., Hashim, M. A., Phang, S. M. and Samuel, V. B. 1996. Water science and technology proceedings of the 1996 1st international specialized conference on adsorption in the water environment and treatment process. Shirahama, Japan, November.p5-8.

Cohick. W.S.1998. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *J Dairy Sci.* 81(6):1769-77.

Costa, A. C. A., L. M. S de Mesquita and Tornovsky. 1996. Batch and continuous heavy metals biosorption by a brown seaweed from a zinc-producing plant. *Minerals Engineering.* 9(8):811-816.

Daughaday W. H., Mariz I. K., and Blethen S. L. 1980. Inhibition of assess of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: A comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and

acid-ethanol extraction serum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 781-788.

De Visser, H. 1993. Characterization of carbohydrates in concentrates for dairy cows : In recent advances in animal nutrition 1993, pp. 19-38. Edited by P. C. Garnsworthy and D. J. A. Cole. Nottingham. Univ. Press.

Del Rio, M., G. Ruedas, S. Medina, V.M. Victor, M. De la Fuente, 1998. Improvement by several antioxidants of macrophage function *in vitro*. Life Sci. 63:871-881.

DiSilvestro, R.A., David, E.A. and Collignon, C., 1991. Interleukin-1 slowly increases lung fibroblast Cu-Zn superoxide dismutase activity levels. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 197:197-200.

Dumelod, B. D., Ramirez, R. P. Tiangson C. L. Barrios, E. B. and Panlasigui, L. N. 1999. Carbohydrate availability of arroz caldo with lambda-carrageenan. Int J Food Sci Nutr. 50(4):283-289.

Erwin, E. S., Marco, S. J. and Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44:1768-1771.

Franklin, S. T., Martin, K. R., Baer, R. J., Schingoethe, D. J. and Hippen A. R. 1999. Dietary Marine Algae (*Schizochytrium sp.*) Increases Concentrations of Conjugated Linoleic, Docosahexaenoic and Transvaccenic Acids in Milk of Dairy Cows. J. Nutr. 129:2048-2054.

Greenwood, U., Hall, F. J., Orpen, C. G. and Paterson, I. W. 1983b. Microbiology of seaweed digestion in Orkney sheep. Proc. Physiol. Soc. 343:121.

Greenwood, U., Orpen, C. G. and Paterson, I. W. 1983a. Digestibility of seaweed

in Orkney sheep. Proc. Physiol. Soc. 343:120.

Hadley, Mac. E. 1996. Endocrinology(Fourthedition). Prentice-Hall International , Inc.

Halliwell, B and John M.C. Gutteridge, 2000. Exercise : an oxidative stress. In 'Free Radicals in Biology and Medicine' Third Ed. Oxford University Press, New York.

Harmon, B.G. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. Poultry Science 77: 972-977.

Herrera Saldana, R. E., Huber, J. T. and Poore, M. H. 1990. Dry matter crade protein and starch degradability of five cereal grains. J. Dairy Sci. 3:2386-2393.

HOLDEN, L. A., MULLER, L. D VARGA,G. A. and HILLARDI, P. J. 1988. Ruminal Digestion and Duodenal Nutrient Flows in Dairy Cows Consuming Grass as Pasture, Hay, or Silage. J. Dairy Sci. 77:3034-3042.

Hoover, W. H. and Stokes, S. R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. J. Dairy Sci. 74:3630-3644.

Hoover, W. H. and Stokes, S. R. 1991. Blancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. J. Dairy Sci. 77:3034-3042.

Hutjens, M. F. 1995. Feeding applications for the high producing cow. p. 34. In Proc. Comell Nutr Cont. Cont. for feed Manufactures.

Ikegami, S. and Innami, S. 1990. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-billary secretion and digestive organs in rats. J. Nutr. 120:353-360.

Iwamoto, Y., Xu, X., Tamura, T., Oda, T. and Muramatsu, T. 2002. Enzymatically depolymerized Alginate Oligomers that cause cytotoxic cytokine production in Human Mononuclear cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 67(2): 258-263.

Jasaitis, D. K., Wohlt, J. E. and Evans, J. L. 1987. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 70: 1391

Jenssen, Y.M. W., B. Van Houten, P.J.A.Borm, and B.T.Mossman, 1993. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.* 69: 261-274.

Keys, A., Grande, F. and Anderson, J.T. 1961. Fibers and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. *Proceeding of the society of experimental biological medicine.* 106:555-558.

Kimura, T. and Tsuji. K. 1993. Effects of the primary structure of alginate on fecal excretion of sodium in rats. *Nippon Suisan Gakkaichi.* 67(8):1177-1183.

Kimura, Y., Watanabe, K. and Okuda, H. 1996. Effect of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 54(1996):47-54.

Klasing, K.C. and D.R. Korver, 1997. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. *J. Anim. Sci.* 75(Suppl,2):58-67p.

Kogut, M.H., C.Holtzapple, V.K. Lowry, K. Genovese and L.H. Stanker, 1998. Functional responses of neonatal chicken and turkey heterophils following stimulation by inflammatory agonists. *American Journal of Veterinary Research* 59:1404-1408.

Koh,T.S., Im, J.T., Park,I.K. and Kim,J.H.,2004 a. Effect of dietary krill meal on the performance of broiler chicks during the acute phase response. J. Anim. Sci & Technol. 46(2) :173-182. (in Korean)

Koh,T.S., R.K.Peng, and K.C. Klasing, 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. Poultry. Sci.,75(7) : 867-872.

Kooijman, R., Rijkers, G. T. and Zegers, B. J. 1996. IGF-1 potentiates IL-2 production in human peripheral T cell. Journal of Endocrinology. 149: 351-356.

Korver, D. R., and K. C. Klasing, 1997. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune response, J. Nutr. 2039-2046. Lam, K.M.1997. Myeloperoxidase activity in chicken heterophils and adherent cells. Veterinary Immunology and Immunopathology 3-4:327-335

Lee, D.S., H.R. Kim., D.M. Cho, T.J. Nam, and J.H. Pyeun, 1998. Uronate compositions of alginates from the edible brown algaer. Han'guk Susan Hakhoechi , 31(1), 1-7.(in Korean)

Lee, H. G., Choi, Y. J., Lee, S. R., Kuwayama, H., Hidari, H. and You S. K. 2005. Effects of dietary protein and growth hormone-releasing peptide(GHRP-2) on plasma IGF-1 and IGFBPs in Holstein steers. Domestic Animal Endocrinology. 28, 134-146.

Lee, H. G., Vega, L. T., Phung, L. T., Matsunaga, N., Kuwayama, H. and Hidari, H. 2000. The effect of growth hormone-releasing peptide-2(KP102) administration on plasma insulin-like growth factor(IGF)-1 and IGF-binding proteins in Holstein steers on different planes of nutrition. Domestic Animal Endocrinology. 18:293-308.

Lina Yonekura., Hiroo Suzuki. 2003. Some polysaccharides improve zinc bioavailability in rats fed a phytic acid-containing diet. *Nutrition Research*. 23(2003):343-355.

Lowry,O.H., Rosebrough,N.J.,Farr,A.L. & Randall,R.J.(1954) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.* 193:265-275.

McCord, J.M. and Fridovich,I.,1969. Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyte (hemocuperin). *J. Biol. Chem.* 244: 6049-6055.

Montserrat, G. U. and Isabel, G. 2002. Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori(*Porphyra tenera*) and Wakame(*Undaria pinnatifida*), as a source of dietary fiber. *Food Chemistry*. 76:281-286.

Murata, M., K. Ishihara and H. Saito, 1999. Hepatic fatty acid oxidation enzyme activities are stimulated in rats fed the brown seaweed, *Undaria pinnatifida* (wakame). *J. Nutr.* Vol. 132: 742-747.

Nishino T, Yamauchi T, Horie M, Nagumo T, Suzuki H. 2000. Effects of a fucoidan on the activation of plasminogen by u-PA and t-PA. *Thromb Res.* 99(6):623-34.

Nishino. T., Fukuda, A., Nagumo, T., Fujihara, M. and Kaji, E. 1999. Inhibition of the generation of thrombin and factor Xa by a fucoidan from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Thromb Res.* 96(1):37-49.

Nocek, J. E. and Russell, J. B. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070-2107.

NRC 2001. Nutrient requirements of dairy cattle 7th revised edition. National academy press, Washington, DC.

NRC, 1994. National Research Council, Nutrient Requirement of Poultry, 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, D.C.

Nrc. 2000. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington. DC.

Otterlei, M., K. Ostggard, G. Skjaek-Break, O.Smidsrod,, P.Soon-Shiong and T.Espevik, 1991. Induction of cytokine production from human monocytes stimulated with alginate. J. Immunother. 10: 286-291.

Park, I. K., J.H. Kim, J.T. Im, and T.S. Koh, 2004.Effect of the acute phase response on the performance and superoxide dismutase activity in broiler chicks fed on dietary krill meal J. Anim. Sci & Technol. 46(3) :183-192. (in korean)

Pattanaik. A. K., Khan. S. A., Varshney. V. P. and Bedi. S. P. S. 2001. Effect of iodine level in mustard(*Brassica juncea*) cake-based concentrate supplement on nutrient utilization and serum thyroid hormones of goats. Small Ruminant Research. 41(2001)51-59.

Pennington, J. A. and Davis, C. L. 1975. Effects of intraruminal and intraabonasal additions of cod-liver oil on milk fat production in the cow. J. Dairy Sci. 58: 49-55.

R. J. GRANT. R. J. and MERTENS, D. R. 1992. Influence of Buffer pH and Raw Corn Starch Addition on *In Vitro* Fiber Digestion Kinetics. J. Dairy Sci. 75:2762-2768.

Robert, J. and Van S. 2000. Blood profiles as indicators of nutritional status. <http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2000/Chapter33.htm>.

Roseler, D. K., Ferguson, J. D., Sniffen, C. J. and Herrema, J. 1993. Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen In Holstein Cows. *J Dairy Sci* 76:525-534.

Russell, J. B. and Sniffen, C. J. 1984. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 67:987-994.

Russell, J. B. and Sniffen, C. J. 1984. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria *in vitro*. *J Dairy Sci* 67:987.

Russell, J. B., O'Connor, J. D., Fox, D. G., Van Soest, P. J. and Sniffen, C. J. 1992. Anet carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets : I. Ruminant fermentation . *J. Anim. Sci.* 70:3551-3561.

SAS Institute Inc., 1990. SAS/STAT User's Guide Version 6, Fourth ed. Volume 2, Cary NC: SAS Institute Inc., 891 pp.

Schwartz Y., Goodman H. M. and Yamaguchi H. 1991. Refractoriness to Growth Hormone is Associated with Increased Intracellular Calcium in Rat Adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 6790-6794.

Sethi V, Kapil U. 2004. Iodine deficiency and development of brain. *Indian J. Pediatr.* 71(4):325-9.

Smith, Robert. J. 1989. Biological actions and interactions insulin and glucagon. Wisconsin Univ.

Son, E.H., E.Y.Moon, D.K. Rhee and S.Pyo, 2001. Stimulation of various functions in murine peritoneal macrophages by high mannuronic acid-containing alginate(HMA) exposure *in vivo*. International Immunopharmacology. 1 :147-154.

Steel, J. W. and Leng, R. A. 1973. Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep. The kinetics of glucose metabolism. The British J. nutrition. 30:451-473.

Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics. 2nd eds. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.

Suzuki, T., Nakai, K. and Hirano, T. 1993a. Effects of sodium alginates rich in guluronic and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol -fed rats. Nippon Suisan Gakkaichi. 59(3):545-551.

Suzuki, T., Nakai, K. and Hirano, T. 1993b. Digestibility of dietary fiber in brown alga, kombu, by rats. Nippon Suisan Gakkaichi. 59(5):879-884.

Takahashi, K. Y. Watanuki, M. Yamazki and S. Abe. 1988. Local induction of a cytotoxic factor in a murine tumor by systemic administration of an antitumor polysacchrhide, MGA. Br. J. Cancer 57: 170-173.

Tatzber, F., S. Griebenow, W. Wonisxh, and R. Winker, 2003. Dual method for the determination of peroxidase activity and total peroxides?iodide leads to a significant increase of peroxidase activity in human sera. Analytical Biochemistry 316:147-153.

Thissen. J.P., Ketelslegers. J.M. and Louis E. Underwood. 1994. Nutritional Regulation of the Insulin-Like Growth Factors. Endocrine Reviews. 1994.

15:80-101.

Thompson, M. J., Briegel, J. R. and Adams, N. R. 2004. Effect of glucose or amino acid infusion during pregnancy in ewes with different wool growth responsiveness to nutrition. *Australian J. Agricultural Research*. 55: 47-55.

Tizard, L. R. 1999. *Veterinary immunology an introduction*(sixth edition). W.B.SAUNDERS COMPANY.p139-143.

Tollet P, Enberg B, and Mode A. 1990. Growthhormone (GH) regulation of cytochrome P-450IIC12, insulin-like growth factor-I (IGF-I), and GH receptor messenger RNA expression in primary rat hepatocytes: a hormonal interplay with insulin, IGF-I, and thyroid hormone. *Mol Endocrinol* 4:1934-1942.

Tollet P., Hamberg M., Gustafsson J. A. and Mode A. 1995. Growth hormone signaling leading to CYP2C12 gene expression in rat hepatocytes involves phospholipase A2. *J Biol Chem*. 21:1256-1277.

Tsuji, K., Oshima, S., Tsuji-Matsusaki, E., Nakamura, A., Inami, T. and Suzuki, S. 1968. Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism. *Elyougaku Zasshi*(in Jamanese). 26:113-122.

Tsuji, K., Tsuji-Matsusaki, E. and Suzuki, S. 1977. Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism. IV. Effects of various polysaccharide derivatives, lignin, and synthetic polymers on serum and liver cholesterol levels in rats. *Elyougaku Zasshi*(in Jamanese). 35:227-234.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy. Sci*. 74:3583-3597.

Visner,G.A., Dougall,W.C., Wilson,J.M., Burr,I.A. and Nick,H.S. 1990. Regulation of manganese superoxide dismutase by lipopolysaccharide, interleukin-1, and tumor necrosis factor. role in the acute inflammatory response. *J.Biol.Chem.* 265 : 2856-2864.

Williams, C. J. and Edyvean. 1997. Ion exchange in nickel biosorption by seaweed materials. *Biotechnol. Prog.* 13:424-429.

Wolf M, Ingbar SH, and Moses AC. 1989. Thyroidhormone and growthhormone interact to regulate insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid and circulating levels in the rat. *Endocrinology*, 125:2905-2914.

Wong, G, H. and D.V. Gooddel, 1988. Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor. *Cell* 58:923-931.

Xie, H., Rath, N.C., Huff, G.R., Huff, W.E., and Balog, J.M., 2000, Effects of *Salmonella typhimurium* lipopolysacchride on broiler chickens. *Poultry Science*, 79:33-40.

Yamamoto, I, Takahashi, M., Suzuki, T., Seino, H. and Mori, H. 1984. Antitumor effect of seaweeds. IV. Enhancement of antitumor activity by sulfation of a crude fucoidan fraction from *Sargassum kjellmanianum*. *Jpn J Exp Med.* 54(4):143-151.

Yonekura, L. and Suzuki, H. 2003. Some polysaccharides improve zinc bioavailability in rats fed a phytic acid-containing diet. *Nutrition Research* 23:343-355.

Zhao, W., Han, Y., Zhao,B., Horota,S., Hou,J. and Xin,W., 1998. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta* 1381:77-88.

Zhao,W., Han, Y., Zhao,B., Horota,S., Hou,J. and Xin,W., 1998. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta* 1381:77-88.

Zhuang C., Itoh H., Mizuno T.and Ito H. 1995. Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, umitoranoo (*Sargassum thunbergii*). *Biosci Biotechnol Biochem.* 59(4): 563-567.

강대진. 1964. 育成豚에 對한 모자반의 飼料的 價値試驗. *한국축산학회지.* 6:65-70.

강수원, 조창연, 김준식, 안병석, 정하연, 서국현, 2002. 한우 수송아지에 대한 황토, 일라이트, 올리고당, 활성탄 및 크롬 급여가 성장발육 및 면역기능에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지.* 44(5):531-540.

강중호. 2001. 약식 미역산업의 가격안전지지제도 개선을 위한 정책방향. *한국해양수산개발원.* p11.

경선이. 1991. 해조류(미역, 김)의 섭취가 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. *동덕여자대학교 석사학위논문.*

고태송, 임진택, 박인경 이혜정, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 2005. 육계 병아리의 급성기 반응 중 생산성 과 단백질 및 에너지대사에 미치는 사료 중 미역 제품 수준의 영향, *한국 동물자원 과학회지:* 47: 인쇄중

고태송, 임진택, 박인경 이혜정, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 2005.급성기 반응을 활성화한 육계 병아리에서 사료중 미역 제품 수준이 단백질과 에너지대사에 미치는 영향, *한국 동물자원 과학회지*47(3) : 379-390.

김경균. 1974. 初生雛에 있어서 海藻粉末의 飼料價値試驗. *한국축산학회지.* 16(4):

330-335.

김선희, 김우현, 김응국, 김인산, 김정희, 나도선, 박길홍, 백형환, 이기영 공역. 2002. 생화학(Lehninger Principles of biochemistry). 서울외국서적. 서울.

김정기, 장국현, 김태종, 윤화중. 1989. 강원도지역 한우의 혈액상에 관한 연구. 대한수의사회지. 25(2): 102.

劉永鋼. 1992. 用海藻作飼料. 臺灣飼料營養雜誌. 1992(4):19-25.

박권필, 김태희, 김영숙. 2003. 미역폐기물로부터 알기네이트의 추출 및 다알기네이트의 이용. 한국환경과학회지. 12(1):63-68.

박원기. 1968. 非食用海藻의 飼料效果 增進에 關한 研究(제1보, 유추의 사료가치 시험). 한국수산학회지. 1(2):121-127.

박원기. 1970. 非食用海藻의 飼料效果 增進에 關한 研究(제2보, 중추 및 대추의 사료가치시험). 한국수산학회지. 3(3):172-176.

박인경, 임진택, 최도열, 최준영, 이해정, 이범규, 이호연, 박재우, 2005. 에너지와 단백질대사에 미치는 산란계 사료중 미역의 영향. 동물자원과학회 학술발표회, 2005, 6월 23-24, 전주 전북대학교.

백인규, 맹원재, 이성훈, 이흥구, 이상락, 하종규, 이성실, 황주환. 2004. 미역부산물 첨가가 *In vitro* 발효성상과 젖소의 산유량 및 유성분에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 46(3):373-386.

안성준, 김영숙, 박권필. 2004. 미생물을 이용한 미역폐기물의 저장 및 알긴산염 저분자화. 한국환경과학회지. 13(3):313-318.

양일석, 1996. 가축생리학. 광일문화사.

이남호, 오기림. 2000. 해조류 라디칼 소거활성검색. 제주생명과학연구. 3(3):95-100.

이빈환, 김승찬. 1976. 제주도 사료자원 개발에 관한 연구. 한국축산학회지. 18(3):255-263.

이빈환. 1977. 사료자원개발을 위한 해조류 싸이레지의 사료가치에 관한 연구. 한국축산학회지. 19(2):91-94.

이성훈, 김현진, 조익환, 안종호, 장문백, 맹원재. 2001. 가용성 탄수화물이 반추위 발효특성과 미생물 성장에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 43(5):695-706.

이영호, 장영진. 1994. 조피볼락, *Sebastes schlegeli* 어린 시기의 성장 및 체성분조성에 미치는 미역첨가 사료의 생리적 효과. 한국수산학회지. 27(1): 69-82.

이용필, 강서영. 2002. 한국산 해조류의 목록. 제주대학교 출판사.

이혜정, 박인경, 임진택, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 고태송, 2005. 미역제품 급여 수준이 타고난 면역반응이 활성화한 육계병아리의 혈액 항산화균형에 미치는 영향. 동물자원과학회지 47(1): 29-38.

정길생, 맹원재, 정영채, 이규승, 박형균, 한홍율, 1980. 비유생리학, 건국대학교출판부.

조성식, 윤화중, 이원창, 김태중. 1988. 도축우의 혈액화학치에 관한 연구. 대한수의학회지. 24(10):632.

최진호, 김대익, 박수현, 김동우, 백영호, 김창목. 2000. 미역(*Undaria pinnatifida*)국수의 투여가 랫트 간장중의 활성산소 및 제거효소에 미치는 영향. 한국수산학회지. 33(2):87-92.

하정기, 송우준, 고영두. 1975. 병아리飼料에 밀기울代替로서 말(柳藻:*Potamogeton oxyphyllus* Mig.)의 效果. 한국축산학회지. 17(2):144-148.

한인규, 이봉덕, 윤덕진, 백인기. 1975. 사료자원 개발을 위한 연구: 브로일러에 대한 해조분의 사료적 가치에 관한 연구. 한국축산학회지. 17(3): 207-213.

해양수산부. 2000. 벤처 산업화를 지향한 젤리형 해조면류 가공기술의 개발. p. 12.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.