

보안 과제( ), 일반 과제( ) / 공개( ), 비공개( ), 발간등록번호( )

발간등록번호

11-1543000-002384-01

# 사료비 절감, 사료자급율 개선을 위한 사료 대체원료 및 재조합 인공사료 개발 최종보고서

2018. 08. 13.

주관연구기관 / (주)농협사료  
협동연구기관 / 경상대학교 산학협력단  
협동연구기관 / 전북대학교 산학협력단  
협동연구기관 / 경남과학기술대학교 산학협력단

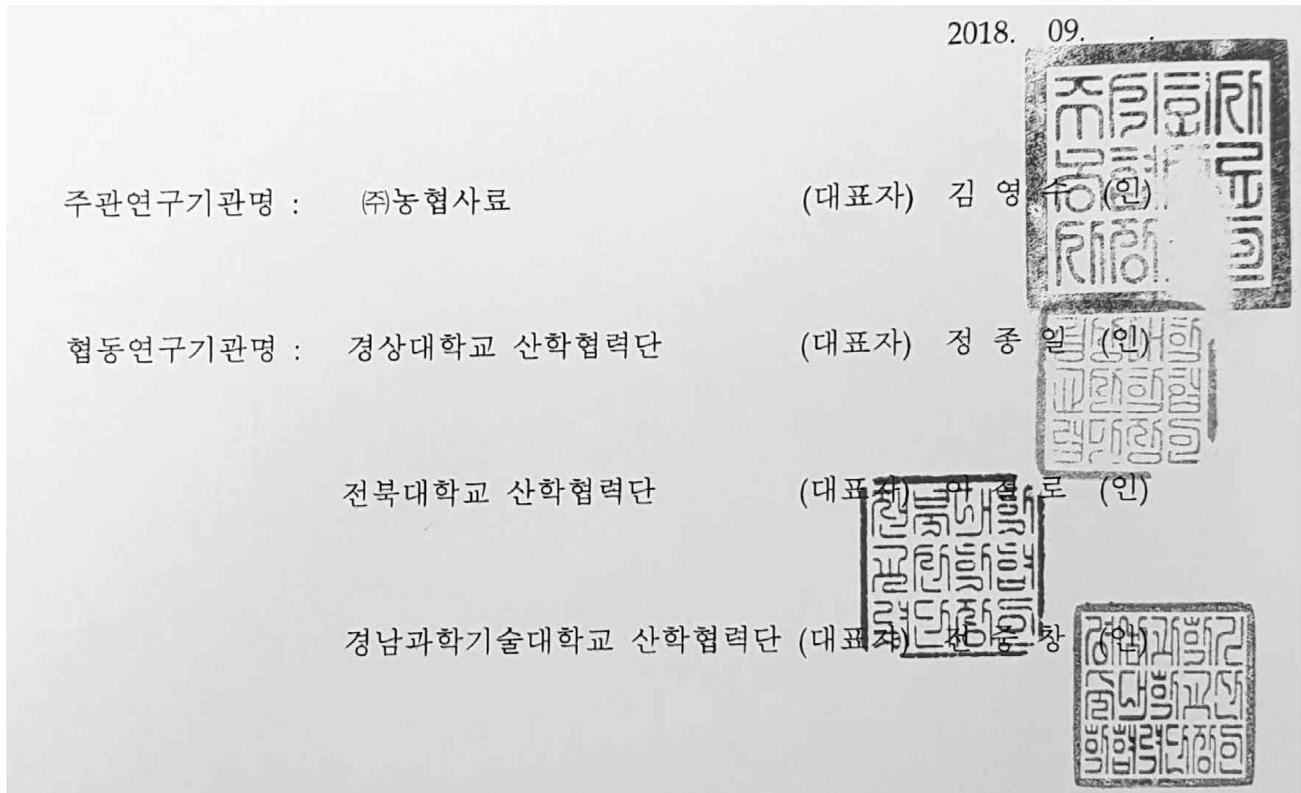
농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “사료비 절감, 사료자급율 개선을 위한 사료 대체원료 및 제조합 인공사료 개발”(연구개발 기간 : 2015.08.14. ~ 2018.08.13.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.



주관연구책임자 : 추교문

협동연구책임자 : 최양호, 김진욱, 최낙진,  
문여황, 이신자

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	315022-3	해당단계 연구기간	3	단계구분	3/3
연구사업명	단위사업	지정공모과제			
	사업명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대과제명	사료비 절감, 사료자급을 개선을 위한 사료 대체원료 및 재조합 인공사료 개발			
	세부 과제명	사료비 절감, 사료 자급률개선을 위한 사료대체원료 개발 및 산업화			
		가금사료용 대체가능 사료자원의 발굴, 성분 분석 평가 및 후보자원의 선정			
		국내외 양돈 사료 자원의 탐색 및 성분 분석 연구			
		착유우 사료로서 적정한 원료 대체사료 선발 및 평가			
		한우 비육우용 대체사료 개발			
반추가축용 섬유질 대체 인공사료 개발					
연구책임자	추교문	해당단계 참여연구원 수	총: 30 명 내부: 10 명 외부: 20 명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 150,000천원 계: 450,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 90 명 내부: 30 명 외부: 60 명	총 연구개발비	정부: 900,000천원 민간: 450,000천원 계: 1,350,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)농협사료 사료기술연구소			참여기업명	(주)농협사료 사료기술연구소
국제공동연구	해당사항 없음				
위탁연구	해당사항 없음				
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반등급 「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조4에 해당하지 않음				

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시 설·장비	기술요 약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

해당사항 없음

<p>요약</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 사료원료로 대체가 가능한 국내·외 대체원료 중 63종을 조사하였고, 그 중 11종(축우9종, 양돈·양계 3종)을 선택하여 사료자원으로서 가치를 평가 실시</li> <li>○ 수입산 혈장분말의 대체 가능한 자돈용 국내산 혈장분말 제조 실시</li> <li>○ 곤충단백은 성장개선 효과 있으며 밀웜은 어분을 일부 대체할 경우 어분 전량 사용보다 우수하지만, 어분의 전량 대체는 어려움</li> <li>○ 국내·외 가금대체 사료자원의 발굴 및 타당성 검토</li> <li>○ 국내외 원료사료 탐색 및 사료성분 분석</li> <li>○ <i>In vitro</i> 분석법을 이용한 양돈용 사료자원의 이용가치 평가</li> <li>○ 현장실험을 통한 양돈사료의 효율 및 이용성 검증</li> <li>○ 착유우 사료로서 적정한 원료 대체 사료 선정 및 평가</li> <li>○ 선발 사료자원을 이용한 착유우 전용 반추위 발효 성상 입증</li> <li>○ 사료적 가치 평가 및 사료자원의 경제성 평가</li> <li>○ 한우 비육우에 적합한 대체 원료 사료 선발 및 비육우 급여효과 검토</li> <li>○ 국내 원료자원을 이용한 섬유질 대체 인공사료의 탐색</li> <li>○ 섬유질 대체 인공사료의 시제품 제작</li> <li>○ 섬유질 대체 인공사료 디자인 및 형태 제작 및 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 <i>in vivo</i> 실험</li> </ul>	<p>보고서 면수</p> <p>210쪽</p>
--	---------------------------

**<요약문>**

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 사료비 절감, 사료자급을 개선을 위한 사료대체원료 개발 및 재조합 인공사료 개발</li> <li>- 국내 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재탐색 및 사료개발</li> <li>- 국내외 가금대체 자원의 발굴 및 타당성 검토</li> <li>- 국내외 양돈 사료자원의 탐색 및 사료성분 분석</li> <li>- 사료이용가치를 평가하기 위한 <i>in vitro</i> 소화율 측정법 개발 및 현장 검증</li> <li>- 착유우 사료로서 적절한 원료 대체사료 선발 및 평가</li> <li>- 한우 비육우에 적합한 대체 원료 사료 선발 및 비육우 급여효과</li> <li>- 반추가축용 섬유질 대체 인공사료 개발</li> </ul>
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 사료원료로 대체가 가능한 국내·외 사료대체원료 63종을 조사하였고, 그 중 11종(축우9종, 양돈·양계 3종)을 선택하여 사료대체원료로서의 가치평가 실시</li> <li>○ 국내에서 생산되는 일반 건조되는 혈분을 가수분해 전혈분말로 만들어 사료에 사용함으로써 현재 수입되는 혈장분말 대체 가능성 평가실시로 국내산 혈장분말의 자원화가 필요함</li> <li>○ 육계 사료대체원료로서 뽕잎은 2.5% 이하 사용이 가능함</li> <li>○ 밀웬 분말의 입자크기는 0.1mm 혹은 그 이하가 바람직함</li> <li>○ 육계사료에 밀웬 분말의 사용시에는 대두박 사용량의 25~50% 수준의 사용이 바람직함</li> <li>○ 양돈 사료자원으로 이용 가능한 국내외 사료자원을 탐색하고 각각 사료자원의 사료성분을 분석함</li> <li>○ 다중효소(Multi-enzyme)를 이용하여 <i>in vivo</i> 조건과 가장 유사한 <i>in vitro</i> 소화율 측정법을 개발함</li> <li>○ 양돈에서 옥수수 대체 사료자원으로 재고미의 이용가능성을 제시함</li> <li>○ 착유우 사료로서 적절한 원료 대체 사료 선정 및 평가함</li> <li>○ 선발 사료자원을 이용한 착유우 전용 반추위 발효 정상 입증함</li> <li>○ 사료적 가치 평가 및 사료자원의 경제성 평가함</li> <li>○ 한우 비육우용 사료자원의 화학적 성분 분석, 사료대체원료를 선발함</li> <li>○ 선발된 사료대체원료를 처리 및 가공하여 사료가치 분석, 저장성 및 안전성 등을 검사함</li> <li>○ 사료대체원료를 이용하여 개발된 시제품의 사료가치 평가를 위한 한우 비육우 급여효과를 제시함</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내 원료자원을 이용하여 섬유질 대체 인공사료를 탐색함</li> <li>○ 3D 프린터를 이용한 반추가축용 섬유질 대체 인공사료의 시제품을 제작함</li> <li>○ 섬유질 대체 인공사료 디자인, 형태, 제작 및 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물의 발효, 혈액 성상 및 경제성 분석 실시함</li> <li>○ 정량성과</li> </ul> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">구분</th> <th rowspan="2">특허출원</th> <th rowspan="2">기술이전</th> <th rowspan="2">제품화</th> <th colspan="2">논문</th> <th rowspan="2">학술발표</th> <th rowspan="2">교육실시</th> <th rowspan="2">홍보전시</th> </tr> <tr> <th>SCI</th> <th>비SCI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>실적</td> <td>4건</td> <td>2건</td> <td>7건</td> <td>1건</td> <td>4건</td> <td>15건</td> <td>2건</td> <td>5건</td> </tr> </tbody> </table>	구분	특허출원	기술이전	제품화	논문		학술발표	교육실시	홍보전시	SCI	비SCI	실적	4건	2건	7건	1건	4건	15건	2건	5건
구분	특허출원					기술이전	제품화				논문		학술발표	교육실시	홍보전시						
		SCI	비SCI																		
실적	4건	2건	7건	1건	4건	15건	2건	5건													
<p style="text-align: center;">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내·외에서 탐색한 사료 대체원료 11종을 (주)농협사료의 사료대체원료로 사용할 수 있는 기반 마련</li> <li>○ 국내산 혈장분말 제조단가가 수입산 혈장분말 제조단가 보다 저렴하여 농협중앙회에서 국내산 혈장분말 제조를 위한 사업 추진</li> <li>○ 국내산 혈장분말 생산시 수입산 혈장분말의 대체가 가능하여 자돈용 사료대체원료로 사용 가능</li> <li>○ 육계용 사료대체원료를 업체 및 농가에 사용을 권장할 수 있는 토대를 마련하는 동시에 학술논문 발표 및 정책건의에 활용이 가능함 - 밀웜분말을 육계사료 대체원료로 사용할 경우 입자도 0.1mm 이하로 건의가 가능함</li> <li>○ 양돈용 사료자원의 사료가치를 평가하는 <i>in vitro</i> 소화율 분석법을 확립하여 시간 및 비용을 절감하고 체계적인 사료가치 평가기준으로 활용 가능함</li> <li>○ 양돈사료에서 수입에 의존하는 주 에너지사료인 옥수수를 재고미로 대체 가능하여 생산비의 절감 및 안정화에 기여함</li> <li>○ 선발된 착유우용 사료대체원료를 통해 기존 사료자원의 공급문제 발생 시, 대체자원을 이용한 사료를 활용할 수 있을 것으로 판단됨</li> <li>○ 한우 사료용 대체 원료자원 개발에 대한 이화학성과 영양성분을 분석하여 사료 배합조성에 따른 대체사료 배합비 작성으로 사료비 절감 효과 기대됨</li> <li>○ 본 연구 결과를 활용하여 균일화된 영양성분을 통한 사료적 가치 증진과 한우 비육우용 제품화의 가능성을 기대됨</li> <li>○ 한우거세우를 이용하여 사양 실험을 통해 검증한 결과를 토대로 한우 사료대체원료로써 사료비 절감 효과로 소득증대 기대됨</li> </ul>																				

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 한우 사료용 대체 원료 자원 개발</li> <li>○ 다양한 사료자원의 사료적 활용 방법에 대한 체계적 기술 확립</li> <li>○ 인공사료의 개발로 사료자급률 제고 및 인공 사료의 판매</li> </ul>				
국문핵심어 (5개 이내)	축산사료	인공사료	대체원료	농후사료	사료자급률
영문핵심어 (5개 이내)	Livestock feedstuffs	artificial feed	alternative raw materials	concentrated fodder	fodder self-sufficiency rate

# 〈 목 차 〉

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	1
제 1 절 연구개발 목적 .....	1
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	1
제 3 절 연구개발 범위 .....	8
제 2 장 연구수행 내용 및 결과 .....	11
제 1 절 연구개발 전략 및 추진일정 .....	11
제 2 절 연구개발 성과 .....	14
제 3 절 사료비 절감, 사료 자급률 개선을 위한 사료 대체원료 개발 및 산업화	18
제 4 절 가금사료용 대체가능 사료자원의 발굴, 성분 분석 평가 및 후보자원의 선정	82
제 5 절 양돈용 국내·외 사료자원 개발 .....	94
제 6 절 착유우 사료로서 적정한 원료 대체사료 선발 및 평가 .....	118
제 7 절 한우 비육우용 대체사료 개발 .....	131
제 8 절 반추가축용 섬유질 대체 인공사료 개발 .....	165
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	199
제 1 절 목표 .....	199
제 2 절 목표달성 여부 .....	200
제 3 절 목표 미달성시 원인(사유) 및 차후대책(후속 연구의 필요성) 등 .....	202
제 4 장 연구개발의 활용 계획 등 .....	203
붙임. 참고문헌 .....	205
<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서	

# 제 1 장 연구개발의 개요

## 제 1 절 연구개발 목적

### 1. 국내 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색 및 사료 개발

- 가. 사료원료로 활용이 가능한 농산물과 부산물(툽밥배지 등) 탐색 및 수급량 조사
- 나. 주요 사료용 작물 대체원료의 사료가치 평가(안전성, 유해물질 등 분석)
- 다. 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 배합사료 내 대체원료 적정 첨가수준 연구 및 가공방법 연구

### 2. 해외 대체 사료자원 소재탐색 및 사료 개발

- 가. 해외 조달 대체원료의 소재탐색 및 수급량 조사
- 나. 해외 조달 대체원료의 사료가치 평가(안전성, 유해물질 등 분석)
- 다. 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 배합사료 내 대체원료 적정, 최적 첨가수준 연구 및 가공방법 연구

### 3. 국내 원료자원을 이용한 반추동물용 재조합 섬유질 대체 인공사료의 개발

- 가. 국내 원료자원을 이용한 재조합 인공사료 개발 및 사료 가치평가
- 나. 신규 사료자원의 특성 구명 및 이용효율 개선

### 4. 사료개발 및 이용률 향상을 위한 경제성 및 생산성 분석

## 제 2 절 연구개발의 필요성

- 우리나라는 이미 미국, 칠레, 싱가포르, 스위스, 노르웨이, 아이슬란드, 리히텐슈타인과 자유무역협정(FTA)을 체결하였고, 유럽과 칠레에서의 축산물 수입에 이어 한-미 FTA가 2010년에 추가협상을 거쳐 2012년 3월부터 발효되었음
- 특히 한-미 FTA가 발효됨에 따라 냉장 축산물(삼겹살, 목살 및 갈비)의 경우 향후 10년에 걸쳐 관세가 완전히 철폐되는 것으로 협약되어 있고, 이분도체 및 전지 및 후지 등의 냉장육에 대해서는 2014년에 관세철폐, 냉동육은 2016년에 관세가 전면적으로 철폐될 예정
- FTA에 따라 관세 철폐로 인하여 국내 축산물은 수입 축산물에 가격 경쟁력에서 밀리

게 되고, 가축분뇨 처리, 사료가격 폭등, 질병발생 등 삼중고로 인하여 축산농가에 있어 어느 때보다 극심한 피해가 확실시 되고 있음

- 또한, 상대적으로 낮은 가격의 외국산 수입육을 구입해 본 소비자가 동일한 소비 형태를 고착화 하지 않으리라는 보장이 없기 때문에 현시점에서 가격 경쟁력을 확보하려면 기호성 증가를 위한 국내산 축산물의 품질향상과 더불어 가축의 생산성의 개선이 매우 필요한 시기임
- 축산농가의 생산비 증가는 사료비용 증가가 주원인으로, 농가의 생산비 중 사료비용이 40~70% 정도를 차지하고 있는 동시에, 국제곡물가격의 상승으로 인한 사료비 인상으로 국내 축산농가의 생산비는 지속적으로 증가될 것으로 판단됨
- 이러한 위기를 극복하기 위해서는 불필요한 생산비 감소와 국내 축산 농가들이 축산 선진국 수준으로 생산성을 향상시키는 것만이 궁극적인 해결책이라는 것을 명심하여야 함
- 국내 축산농가의 가격경쟁력을 향상시키기 위한 방안은 이미 몇 년 전부터 많은 축산 종사자들을 통하여 제시되고 해마다 새로운 내용이 추가되어 왔음
- 하지만, 이러한 노력에도 국내 축산농가의 수익성은 특별하게 개선되지 않고 있는 실정이고, 물가상승율을 감안한다면 오히려 감소되었다고 해도 무방한 결과를 나타내었음
- 이러한 생산성 향상의 정체가 일어나는 이유는 국내 현장에 맞지 않는 미검증된 외국 의 사양관리 기술 도입과 여러 가지 사양기법 및 사육시스템이 무분별하게 사용되고 있는 원인도 있지만, 무엇보다 축산농가의 생산비 중 40~60%를 차지하는 사료비가 주된 원인임
- 따라서, 축산농가의 생산비 중 사료비를 절감할 수 있는 대체원료를 발굴하여, 축종별 (한우, 낙농, 양돈, 가금) 성장단계별 사료에 적용하여 원가를 절감하는 것이 무엇보다 중요함
- 배합사료 생산시 옥수수가 다량 사용되어 대체원료 이용한 사료개발 필요함
- 국제 곡물가격의 지속적인 상승으로 인해 증가된 생산비로 인한 축산산업의 침체됨
  - 낙농용 배합사료 가격('05년→'13년, 원/25kg) : 비유중기 6,002원→11,773원, 비유말기 6,273원→9,198원
  - 비육우용 배합사료 가격('05년→'13년, 원/25kg) : 비육전기 6,382원→10,710원, 비육후기 6,084원→11,212원
- 부족한 사료자원을 대체하기 위하여 농업 부산물 등의 활용이 강구되고 있음
- 농업 부산물을 실제 활용하기 위해서는 많은 어려움이 있고, 반추가축의 소화 생리 특성을 고려하여 사료자원의 일부를 화학 합성 섬유로 대체 할 수 있는 인공 섬유질에 대한 연구가 필요함
- 배합사료의 주원료인 옥수수, 소맥, 대두박 등의 75%이상 수입에 의존하고 있어 국내 자급률이 매우 낮음

- 곡물가격 상승, 시장 개방, 기후변화 등에 대응하고 안정적인 축산경영을 위해 사료비 부담을 줄이는 것이 필요함
- 자급이 가능한 대체 원료사료를 선별하고 사료가치 평가를 통해 영양적 과부족이 없는 적절한 사료배합을 하는 것은 경제적 이익과도 직접적으로 연관됨
- 가축을 사양하기 위해서는 사료의 영양적 가치를 올바르게 판단하는 것이 매우 중요하고 이를 위해서는 먼저 이용하는 원료사료의 가치평가가 정확하게 이루어져야 함
- 정확한 평가가 부족한 사료를 가축에게 급여시 영양소 결핍이나 과잉으로 사료의 손실, 가축의 생산성 저하, 대사성 질병의 증가 및 경제 수명단축으로 연결됨
- 농업 부산물을 실제 활용하기 위해서는 많은 어려움이 있으며, 반추 가축의 소화 생리 특성을 고려하여 사료자원의 일부를 화학 합성 섬유로 대체 할 수 있는 인공 섬유질에 대한 연구가 필요함

## 1. 국내·외 현황

### 가. 국내현황

- FTA 외에도 바이오 에너지 생산, 유가폭등, 기후변화, 중국의 식량수출 억제정책 등으로 인한 국제 곡물가격의 인상 및 배합사료 가격 인상은 축산농가의 소득 감소 및 사료 회사의 경영악화의 주요한 원인임
- 2005년까지 비교적 안정적이던 국제곡물 가격이 2006년부터 바이오에탄올 생산, 유가 폭등, 환율하락, 해상운임의 상승, 중국의 수출물량 제한 정책 등에 의해 급격히 국제곡물 가격이 상승하고 있고, 그 상승폭은 계속 유지되거나 더욱 증가할 것으로 예상됨
- 미국산 옥수수의 공업용(바이오에탄올) 사용이 1980년대 10% 내외에 불과하였으나, 2006년에는 약 60% 이상으로 옥수수가 바이오에탄올로 사용되는 비율이 폭등하는 동시에 곡물을 활용한 대체에너지 생산이라는 구조로 바뀌어서 가격이 지속적으로 상승되고 있음
- 사료원료 중 비교적 저가인 옥수수를 사용함으로써 사료원료 가격안정에 기여해 온 중국의 경우에도 곡물 원료사료에 대한 수요급증과 2006년 이후 옥수수 수출물량 제한으로 인해 국제 사료원료의 가격이 폭등됨
- 옥수수 가격의 상승에 따라 사료용 곡물인 소맥, 호밀, 보리, 수수 등은 물론 기타곡물 가공부산물인 소맥피, 대두박 등의 사료용 원료가격이 동반상승으로 이어져, 이로 인하여 사료원료용 유제품류의 가격마저 상승하면서 사료가격의 불안정을 초래함
- 국내 배합사료 제조비용 중 원료비의 비중이 약 80~90% 수준을 차지하고 있고, 국내 사료회사는 대부분의 원료를 수입에 의존하고 있으며, 축산농가의 생산비 중 40~60%를 차지하는 사료비를 감안할 때, 국제 곡물가격의 상승은 배합사료의 원가상승은 물론 축산농가의 생산비의 상승으로 나타남
- 실제로 사료원료의 폭등으로 배합사료 가격의 인상을 가져와 축산경영에 심각한 장애

#### 요인으로 작용

- 사료비 증가로 인하여 세계 각국 및 국내에서는 사료의 비용을 줄이기 위하여 사료의 영양소 이용율 증진 등의 연구가 지속적으로 진행되고 있으며, 특히 그 동안 관심 밖이던 부산물류에 대한 관심이 증대됨
- 축산의 피해를 최소화 시키면서 사료비 절감을 위한 대응방안의 연구가 필요함. 이러한 문제에 대한 해결책으로 다양한 방법이 있으나, 가장 현실적인 방법은 대체원료의 개발임. 특히 가축의 사료로 가장 많이 사용되는 옥수수, 대두박 등을 대체할 수 있는 사료원료 탐색 및 개발은 가장 현실적인 방안이며, 원료의 대부분을 수입하는 우리나라에서는 반드시 필요함
- 국내 사료에 사용하는 모든 사료원료들은 수급이 불안정하기 때문에 한가지의 대체원료에 대해 집중적으로 연구도 필요할 뿐만 아니라, 추가적으로 다양한 대체원료 대한 원료의 범위를 확대하는 것도 반드시 필요함
- 또한 그 동안 배합사료에 사용되지 않았던 저렴한 원료들이 배합사료의 생산에 적용될 수 있도록 사료가치 평가가 필요함
- 이와 더불어 고정적으로 배합사료 내에 사용되고 있던 고가의 원료의 함량을 감소시켰을 때 경제적인 원료로 대체가 가능한지의 여부도 대체원료를 통한 사료비 절감 목적에서 반드시 연구가 이루어져 산업화가 이루어진다고 판단됨
- 국내 양돈용 배합사료의 생산실적은 6,136천톤(2013년 기준)으로 2000년 5,215천톤에서 꾸준히 증가하는 추세를 나타내고 있으며 국내 자급율은 20% 미만으로 현저히 외국 수입사료 자원에 의존하고 있음
- 2014년 기준 사료곡물 공급량은 2013년 대비 9.7% 증가하여 곡물수급 여건은 양호하나 신흥경제국 및 바이오 연료 등의 곡물수요증가로 가격 상승이 지속될 것으로 전망함
- 2014년 3월 옥수수, 대두, 밀 선물가격은 톤당 190.3, 521.8, 249.2달러로 가격 강세를 보였던 2012년보다 각각 30.1%, 3.3%, 10.6% 낮은 수준이나 신흥개도국의 사료곡물 수요 증가에 따른 추가 상승 여력이 높아 앞으로 상승세로 전환될 것임
- 국내 보유 사료자원의 탐색하여 수입곡물 수요를 대체하고, 사료자원으로 활용하는 연구가 절실히 요구되며 기존에 사용하지 않은 국외의 신 사료자원을 탐색하여 사료가치를 평가하고 적정 사용량을 제시할 수 있는 근본적인 연구가 필요함
- 원료사료의 이용효율을 극대화 할 수 있는 다양한 첨가제의 효능과 안전성을 규명하여 사료효율을 개선할 필요가 있으며, 특히 최근에 양돈산업에서 문제가 되는 마이코톡신은 수태율저하, 증체저하, 출하일령 증가 등 경제적 피해가 심각하며 사료의 영양적 가치 및 풍미를 저하하는 직접적인 원인으로 간주되고 있음. 따라서 사료의 영양적 가치를 향상시키는 다각적인 연구가 필요함

#### 나. 국외현황

- 미국에서의 대체원료에 대한 연구는 옥수수를 에탄올로 가공하고 남은 옥수수를 가공하여 옥수수주정박(Dired Distiller's Grains with Solubles; DDGS)을 사료 내 사용함에 따라 이에 대한 첨가 수준 및 사료효율에 관한 연구가 진행되어, 현재 국내에서도 옥수수주정박을 수입하여 사용하고 있음
- 유럽에서의 대체원료에 대한 연구는 보리-밀 기반의 사료를 생산하여, 밀 가격 상승에 대한 대체원료를 찾는 것에 주를 이루어 연구가 진행되고 있음
- 유럽연합(EU)의 경우 배합사료의 원료로 소맥과 보리를 주로 사용하는데, 우리나라와 다르게 자국에서 생산하는 사료원료를 사용하고 있어 국제 곡물시세에 따른 영향을 우리나라 비해 덜 받고, 높은 가격경쟁력을 유지하고 있음
- 따라서 EU의 경우 우리나라 사료비용에 비해 현저히 사료가격이 낮으며, 국제 곡물가 변화에 영향을 덜 받음
- 동남아시아에서는 열대작물인 팜, 야자, 코코넛 등에서 기름을 추출하고 남은 박류를 동물사료로 이용하는 방법에 대한 연구가 진행되고 있으나, 결과가 뚜렷하게 나타나지 않음
- 국제적으로 볼 때, 이상기후, 대체 에너지 원료로서 사료의 전용, 정치적 및 경제학적인 이유 등으로 국제 농산물 시장에서의 원료사료 가격의 파동이 있어 왔음
- 국제곡물가격의 급격한 상승은 우리국민의 먹거리 가격의 상승과 직결될 뿐만 아니라, 가축생산원가의 60~70%를 차지하는 사료비의 상승에 기여하여 국내 축산농가 및 축산물의 생산원가 급격한 상승의 원인임

## 2. 기술적인 측면

- 채종박의 경우 단백질 함량과 아미노산 구성성분이 우수하고, 조단백질 함량이 34~38%로 높아 동물사료로 급여하는데 훌륭한 원료임. 또한 채종박의 경우 비전분성 다당류(non starch polysaccharide; NSP)를 많이 함유하고 있어 동물사료에 에너지원으로 적합함
- 하지만, 채종박을 사료원료로 이용하는데 있어서는 그 사용량이 매우 제한적인데, 그 이유는 높은 섬유소 함량 및 glucosinolates, erucic acid, phytic acid 및 phenol 등의 항영양인자를 포함하고 있기 때문에 일반적으로 사료 내 10% 이하로 사용되고 있음
- 야자박과 팜박(palm kernel meal)은 열대성 과일인 야자와 팜에서 기름을 추출하고 남은 부산물로, 원료의 가격이 옥수수나 대두박에 비해 월등히 낮고, 열대지방에서 대량으로 생산되는 부산물이라는 장점을 가지고 있으며, 영양소 조성도 우수해 곡류원료 사료 대체용 원료로 사용이 가능함
- 야자박의 경우 조단백질의 함량이 21~24%, 팜박은 13~18% 수준으로 함유되어 있어, 에너지 공급원인 옥수수에 비해 단백질의 함량이 높고, 단백질 공급원이 대두박에 비해 에너지 함량이 높아 야자박 및 팜박은 곡류원료의 대체원료로 사용이 가능함

- 또한 야자박과 팜박은 높은 섬유소 함량, 양돈에서의 기호성 감소, 필수 아미노산 부족, 높은 비전분성 다당류 함량 등으로 인해 반추동물의 사료원료로 사용이 가능함
- 한편으로 야자박과 팜박에 포함된 제한아미노산의 이용율을 높이는 연구가 최근에 발표되고 있고, 비전분성 다당류의 가치에 대한 재평가가 이루어지면서 새로운 가능성의 모색이 가능함
- 소맥은 옥수수에 비해 아미노산 조성이 우수하고 단백질 함량이 뛰어나 생체이용성이 높은 것으로 알려진 원료사료로서, 소맥을 높은 수준으로 첨가할 경우에 옥수수와 동등한 성장률을 나타내는 것으로 알려져 있음
- 유럽에서는 보리와 소맥을 위주로 하는 사료를 제조하여 사료비를 절감하고 있으며, 축산생산성은 우리나라에 비해 더 높은 수준임을 고려하였을 때, 소맥의 원료가치는 매우 우수하다고 판단됨
- 캐슈넛(cashew nut)은 지방, 단백질, 비타민 B1 등의 함량이 풍부한 동시에, 아연, 구리 및 철 등의 미네랄을 충분히 공급할 수 있는 특징을 가지고 있어 영양적 가치가 높아 가축사료에 활용가능성이 높음
- 카카오박은 영양적 가치가 높은 동시에 기호성이 우수하여 가축사료로 이용할 수 있는 가능성이 매우 높음
- 라이신박은 라이신 제조 공정에서 발생하는 부산물로 많은 양이 산업폐기물로 폐기되고 있지만, 라이신박은 조단백질 함량이 45% 이상으로 질소를 공급할 수 있는 대표적인 원료로 가축사료의 원료로 이용 가능성이 매우 높은 것으로 판단됨
- 사료가치 평가의 방법으로는 일반적으로 화학성분 평가법이 가장 널리 이용되고 있으며 사료적 가치 확보를 위해 일반성분(DM, CP, EE, CF, CA, NFE) 및 섬유소(NDF, ADF, hemicellulose) 등을 분석함
- 그 외에 반추위내 사료적 가치평가를 위해서는 *in vitro*, *in situ* 및 *in vivo*의 방법도 제시되고 있으며 이를 통해 반추가축에서의 영양소 소화율을 예측해 볼수 있음
- *In situ* 방법은 비교적 간편하고 한 번에 많은 양의 샘플을 측정 할 수 있기 때문에 사료의 소실율을 측정하는 중요한 방법으로 제시되고 국내외에서 이러한 연구가 진행되고 있음
- *In vitro* 방법은 변수를 쉽게 통제하며, 비교적 적은 비용으로 편리하게 실험 진행이 가능하여 동물실험의 한계를 극복할 수 있어 반추위내 사료가치평가연구에 이용되나, 아직은 국내에서 개발된 사료자원이 부족함. 따라서 경쟁력 있는 원료사료를 개발하고 평가하는 것이 본 연구에서 중요함
- 수행된 연구의 대부분은 보조사료(또는 사료첨가제)를 이용하여 가축과 가금 산물에 기능성을 더하거나 항생제의 대체제 또는 분뇨의 악취 저감제로서의 역할을 시험하는 것임
- 현재까지 국내에서 수행된 연구과제를 누리미디어에서 사료+육계, 사료+산란계, 사료+

오리, 사료+돼지라는 중심어로 검색해 보았을 때, 각각 388, 307, 96 및 183개의 자료가 발견되지만, 비반추 단위동물에서 사료비절감과 사료자급률 개선을 위해 사료 대체원료의 개발에 관한 연구는 극소수에 불과함

- 사료자원의 가치 평가는 기존에 *in vivo* 소화율 측정법을 이용하여 왔으나 시간 및 비용이 많이 소요되는 단점이 있음. 따라서 *in vitro* 분석법에 의한 사료가치 평가를 통해 효율적인 사료가치 평가의 필요성이 요구됨.

### 3. 경제·산업적인 측면

- 우리나라 축산 생산비 중 사료비가 차지하는 비중이 약 60~70%이며, 사료비의 상승은 생산비 자체를 증가시킬 뿐만 아니라 생산성 악화와 함께 축산농가의 수익감소 주원인임
- 현재 국제 곡물 시장에서의 사료용 곡물시세는 계속 상승하거나 상승한 후 유지되는 추세로 축산농가의 생산성 향상과 생산비 절감 없이는 국내 축산 산업이 지속되기 어려우며, FTA 시대에 도태될 수 있는 위기에 직면해 있는 상황임
- 현재와 같이 국내 일반 축산농가의 생산비 중 사료비 비중이 높게 유지될 경우 세계적으로 곡물가격 파동에 대한 국내 축산농가는 충격을 상대적으로 크게 받게 될 것임
- 따라서, 해외 축산선진국과 대결에서 더욱 불리해 질 것이므로 사료비 절감 방안이 매우 시급한 실정이며, 유럽의 사료비용 수준이 안되더라도 이에 준하는 사료비 절감을 해야만 FTA 시대에 경쟁력을 갖출 수 있을 것이 확실함
- 기존 사료에 옥수수과 대두박 대신에 야자박 및 팜박을 10% 대체원료로 사용할 경우 배합사료 1톤 당 23달러 정도의 사료비 절감효과를 나타냄. 국내의 배합사료 생산량은 약 400만톤 수준으로 이를 전체적으로 적용하면 8,000만 달러 이상 절감효과가 예상됨
- 따라서 대체원료의 사용으로 사료비가 약 20~40원/kg의 절감효과가 예상됨
- 축산사료 원료로서 대체원료를 효율적으로 사용할 수 있다면 원료사료의 수입에 사용되는 외화를 절감시키는 동시에 국내 축산사료의 생산비도 절감될 것으로 예상됨
- 이러한 사료비 절감에 따른 생산비 절감으로 농가의 수익성은 높아지며, 외국과의 가격경쟁에서도 동등한 경쟁력을 갖출 수 있을 것임
- 사료비의 절감 외에도 국제시장에서 국내 수입량이 차지하는 비중이 상당히 높은 점을 보면, 국내 곡물가격의 변화에 따른 이익을 기대할 수 있음
- 야자박, 팜박, 채종박, 소맥, 캐서넛, 카카오박, 라이신박 등의 대체원료를 이용하여 곡류 위주의 주원료를 대체할 수 있다면, 국내 사료원료 수입량 감소는 국제 수요와 수입 가격에 영향을 미쳐 국제 사료원료의 가격 하락을 유발할 수도 있을 것으로 판단됨
- 2013년도 기준 배합사료 수급율은 23% 수준임
  - 국내산 배합사료 4,407천톤/년, 수입산 배합사료 14,678천톤/년
  - 축우용 배합사료 생산량 : 낙농용 1,332천톤/년, 비육용 5,213천톤/년

- 배합사료 생산시 원료 곡물 사용량은 수입원료가 97%이상 차지함
  - 국산원료 267천톤/년, 수입원료 9,796천톤/년
  - 원료곡물 사용량 : 옥수수 6,776천톤/년, 기타곡물 3,020천톤/년
- 버섯 폐배지는 30원/kg 정도로 퇴비회사에서 일부 수거하나 방치 시 환경오염원임
- 사료개발 시, 한우농가의 생산비 절반에 이르는 사료비 절감 효과로 소득증대 기여

### 제 3 절 연구개발 범위

#### 1. 제1세부과제(농협사료 추교문)

- 국내에서 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재탐색 및 사료 개발(1차년도)
  - 사료원료로 활용이 가능한 농산물과 부산물 탐색 및 수급량 조사
  - 주요 사료용 작물 대체원료의 사료가치 평가(안전성, 유해물질, 항균성, 항산화성 등 분석)
  - 해외 조달 대체원료의 소재탐색 및 수급량 조사
  - 해외 조달 대체원료의 사료가치 평가(안전성, 유해물질 등 분석)
- 축종별 배합사료 내 대체원료 적정, 최적 첨가수준 연구 및 가공방법 연구(2차년도)
  - 국내 및 해외에서 탐색한 대체원료의 원료가치 평가(안전성, 유해물질, 항균성, 항산화성 등 분석)
  - 대체원료의 적정, 최적 첨가수준 연구
  - 대체원료의 이용성 증진을 위한 가공방법에 관한 연구
  - 대체원료의 적정 가공방법 및 첨가수준 설정으로 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 사용 비율 설정
- 발굴된 대체원료를 이용한 축종별 사료개발 및 산업화(3차년도)
  - 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금)에 대한 성장단계별 대체원료를 사용한 사료개발
  - 축종별에 대한 성장별 대체원료를 사용한 사료 제품화 및 산업화

#### 2. 제1협동과제(경상대학교 최양호)

- 국내외 가금용 대체 사료자원의 탐색, 성분평가 및 후보자원의 선정(1차년도)
  - 국내외 대체가능 사료자원의 선별하고 이들의 수급 동향 조사 및 후보군을 선정 및 시료를 확보
  - 선정된 사료자원의 일반성분, 아미노산 성분, 광물질 및 독성성분 분석
  - 가금용 대체가능 후보사료자원의 선정

- 가금용 후보 대체사료자원에 대한 이용성 분석(2차년도)
  - 후보 대체사료자원의 사료적 가치 평가는 *in vitro* 또는 *in vivo* 방법으로 수행
- 가금에 대한 이용성 시험 및 경제성 평가(3차년도)
  - 생산성, 기호성, 사료효율 조사, 장기무게 측정, 혈액검사, 경제성 분석

### 3. 제2협동과제(경상대학교 김진욱)

- 국내외 대체사료 자원의 탐색 및 성분분석(1차년도)
  - 국내에 이용 가능한 대체 사료자원 및 국외(중국, 인도, 인도네시아 및 필리핀 등) 사료자원을 확보하고 생산량 및 수습현황을 조사
  - 확보한 사료자원의 일반성분, 아미노산, 광물질, 비타민 및 마이코톡신 분석
- *In vitro* 분석법을 이용한 사료자원의 이용가치 평가(2차년도)
  - *In vitro* 소화율 측정을 위한 multi-enzyme 방법 개발
  - 배양시간, 사료입자에 따른 최적 *in vitro* 소화율 측정법 개발
- 대체 사료 자원을 이용한 양돈사료 개발 및 현장 검증(3차년도)
  - 기존 사용 에너지사료(옥수수, 소맥, 대맥)와 쌀(재고미)의 소화율 비교 검증
  - 육성비육돈 사양실험을 통한 쌀의 에너지사료 대체 가능성 제시

### 4. 제3협동과제(전북대학교 최낙진)

- 반추위내 발효특성을 조사하는 *in vitro* 시험을 통해 건물소화율, 휘발성지방산 생성량, 암모니아태 질소 생성량 등을 조사하고 상대적 성능지수를 통해 적절한 사료자원을 선발(1차년도)
- 영양소 소실률, 영양소 분해율 및 유효 분해도를 통해 반추위내 소화율을 조사(2차년도)
- TMR 안전성 향상을 위한 사료자원 발효조건 최적화 및 TMR 원료로서 사료자원의 첨가비율 및 사료적 가치 평가 및 발효성상 평가(2차년도)
- 착유우 *in vivo* 시험을 통한 사료적 가치 평가 및 사료자원의 경제성 평가(3차년도)

### 5. 제4협동과제(경남과학기술대학교 문여황)

- 대체가능 사료자원의 화학적 성분 분석(1차년도)
  - 해외 및 국내 부존사료자원에 대한 일반성분, 아미노산, 광물질 등
- 선별된 원료 사료를 이용하여 대체가능 사료 제조(혼합, 발효 등)(2차년도)
- 안전성 분석 : 아플라톡신과 오클라톡신 등 검사(2차년도)
- 제조된 시제품(혼합, 발효 등)의 최적 대체 원료사료비율 및 사료가치 평가(3차년도)
  - *In situ* DM, fiber, N의 soluble, degradable, undegradable fraction, 분해 속도 및 정도 평가

- 영양소 분해율 측정: DM, OM, CP, NDF의 *in vitro* 분해율 및 *in situ* 소실율 측정
- 한우 비육우 사양시험을 수행함으로써 개발된 시제품(혼합, 발효 등)의 기호성, 사료 섭취량, 증체량, 사료효율

## 6. 제5협동과제(경상대학교 이신자)

- 국내 원료자원을 이용한 섬유질 대체 인공사료의 탐색(1차년도)
  - 국내 원료자원별 물성조사를 통한 탐색 및 평가
  - 화분과 두과 그룹별 물성조사
  - 산과의 반응에 의한 검사
  - 신규 사료자원의 특성 구명을 통한 탐색 및 평가
  - 반추위 투여 후 사료자원의 물성검사
  - *in vitro* 반추위 물성 검사
  - 원료자원을 반추위 환경에 적용한 뒤 물리적인 성분을 검사하고, 원료자원의 성분 분석 및 변화에 대한 검사 실시(원료 성분에 대한 물성, 일반성분 검사를 실시함)
- 섬유질 대체 인공사료의 시제품 제작(2차년도)
  - 섬유질 대체 인공사료 재질 및 형태
  - 시제품 제작
- 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 *in vivo* 실험(3차년도)
  - 반추 및 저작활동 조사(조사료가치지수)
  - 반추위액 채취 및 분석

## 제 2 장 연구수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구개발 전략 및 추진일정

#### 1. 연구개발 전략

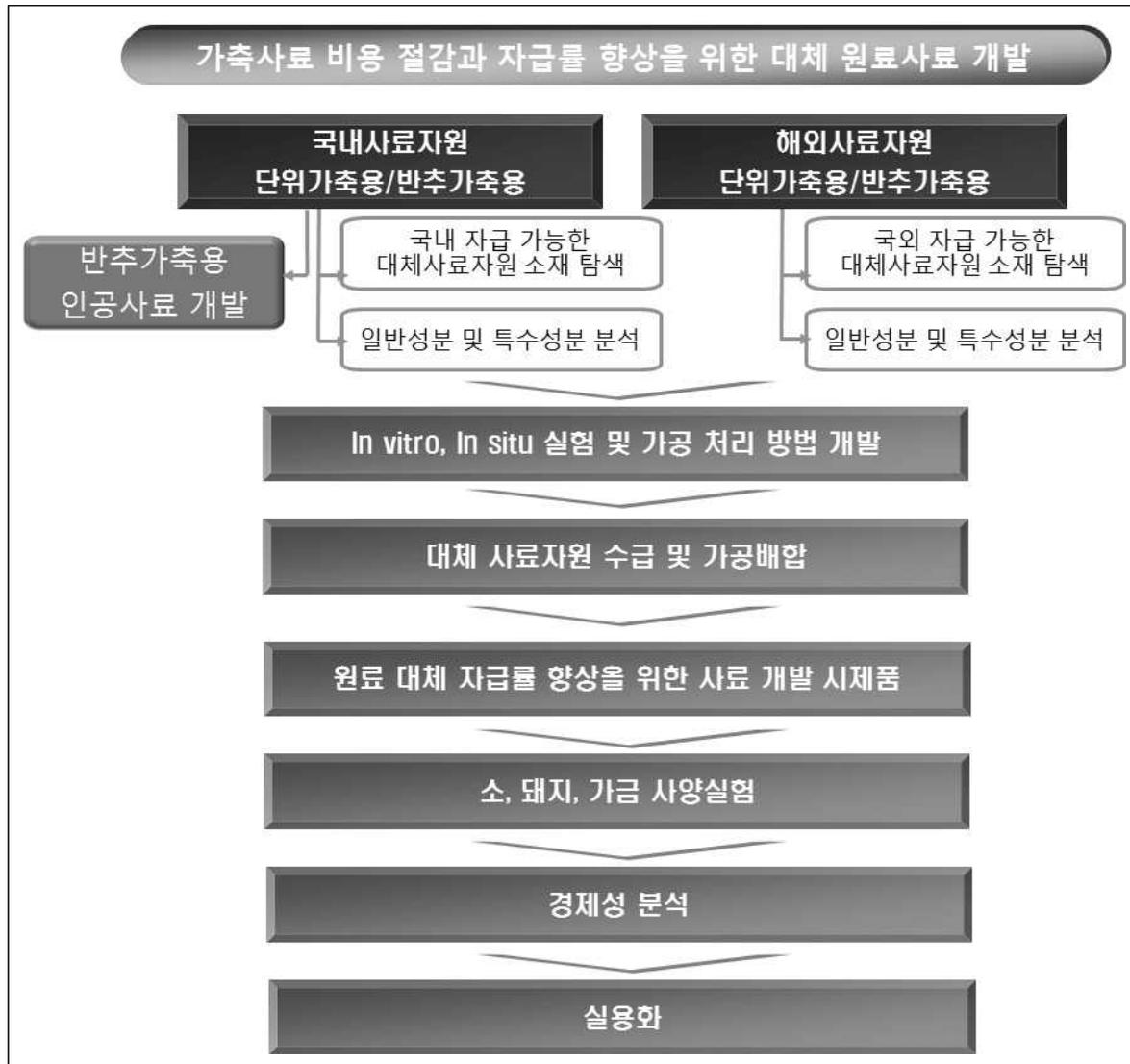
##### 가. 연구개발 추진전략·방법

- 기술정보 수집
  - 본 과제의 효율적 수행을 위해 국내외 현장조사 및 탐색을 통해 사료자원을 확보
- 전문가 확보
  - 연구과제 수행에 필요한 기본적인 지식 및 연구시설을 확보하고 있음
- 다른 기관과의 협조 방안
  - 효율적인 사료자원의 탐색 및 확보를 위해 주관기관인 농협사료를 비롯하여 기타 국내외 사료회사 및 수입업체와 연계하여 정보 및 사료자원을 확보

##### 나. 연구접근 방법

- 농협사료 사료기술연구소에서는 사료비를 절감할 수 있는 국내 및 해외에서 대체원료들을 탐색하여 이를 활용할 수 있게 영양소 성분분석 등을 실시 할 계획임. 또한 대체원료의 사료적 가치평가와 이를 활용하여 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금), 성장단계별 가격 경쟁력이 확보된 사료배합비를 작성
- 농협사료 사료기술연구소에서 대체원료를 이용한 사료를 축종별, 성장단계별로 시범 생산하여 각 세부과제에 사양시험을 할 수 있게 공급
- 최종적으로 농협사료 사료기술연구소에서는 사양시험의 결과를 바탕으로 대체원료를 바로 축종별, 성장단계별 시판사료, 주문사료에 적용하여 제품화 할 뿐만 아니라, 대체원료의 활용방안을 연구하여 신규원료로 활용한 대체원료로 사료의 학문적 탐구 및 실제 산업현장에서 적용할 수 있는 산업화를 목표로 연구개발을 추진
- 국내외 사료자원은 현장조사 및 탐색을 통해 확보할 계획이며 일반성분분석 및 미량성분분석은 농협사료의 협조에 의해 실시
- *In vitro* 분석법의 정확성을 위해 DaisyII incubator을 이용하여 분석오차를 최소화하고 효율적인 분석법을 확립
- 본 연구를 통해 개발된 한우, 젓소, 가금, 양돈사료는 현장실험을 통해 검증
- 현재까지 연구된 섬유질 사료를 중심으로 조사료와 비슷한 특징을 가진 인공 섬유질을 찾고, 반추동물용 재조합 섬유질 인공 사료를 개발하여 현장 실험을 통해 검증

다. 연구추진 체계



## 2. 연구개발 추진일정

구분	1차년도 (2015년)	2차년도 (2016년)	3차년도 (2017년)
제1세부	○ 국내에서 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재 탐색 및 사료 개발	○ 축종별 배합사료 내 대체원료 적정, 최적 첨가 수준 연구 및 가공방법 연구	○ 선발된 대체원료를 이용한 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 사료개발 및 산업화
제1협동	○ 가금용 대체 가능사료 자원의 발굴, 성분 분석 평가 및 후보자원의 선정	○ 가금용 대체가능 후보 사료자원에 대한 이용성 분석	○ 선발된 사료의 가금 사양 및 경제성 분석
제2협동	○ 국내외 양돈 사료자원의 탐색 및 성분분석 연구	○ <i>In vitro</i> 분석법을 이용한 양돈 사료가치 평가 연구	○ 대체 사료 자원을 이용한 양돈 사료 개발 및 현장 검증 연구
제3협동	○ 착유우 사료로서 적정한 원료 대체사료 선발 및 평가	○ 선발 사료자원을 이용한 착유우 전용 반추위 발효성장 입증	○ 착유우 <i>in vivo</i> 시험을 통한 사료적 가치 평가 및 적정 사료배합비율 구명
제4협동	○ 한우 비육육용 사료자원의 화학적 성분 분석 및 원료사료 안전성 분석평가	○ 대체원료의 처리 및 가공 방법별 한우 비육육용 사료적 가치 분석, 저장성 및 안전성 검사	○ 개발된 시제품(혼합, 발효 등)의 한우 비육육 급여효과
제5협동	○ 국내 원료자원을 이용한 섬유질 대체 인공사료의 탐색	○ 섬유질 대체 인공사료의 시제품 제작	○ 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 <i>in vivo</i> 실험

## 제 2 절 연구개발 성과

### 1. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사1업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인 력 양 성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI						
단위	건	건	건	건	원	건	원	원	명	원	건	건	건	건	명	건	건		
최종목표	3	1		3		11						5	6	13	3		1	2	
연구기간 내 목표	3	0		2		7						4	5	10	2		0	0	
연구기간 내 달성실적	4	100		2		7						1	4	15	2		0	5	
연구기간 대비 달성율 (%)	133	100		100		100						25	80	150	100		100	500	
최종목표 대비 달성율 (%)	133	0-		66		64						25	50	112	67		0	250	

### 가. 특허출원 성과

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	카카오박 또는 카사바 뿌리를 함유하는 반추동물 메탄 저감용 사료첨가제 조성물	대한민국	전북대학교 산학협력단	2017.08.11	10-2017-0101990				1/1
2	반추동물용 조사료 대체 인공사료	대한민국	경상대학교 산학협력단	2017.11.07.	10-2017-0147342				1/1
3	동물 인공사료(디자인)	대한민국	경상대학교 산학협력단	2017.12.11.	30-2017-0058372				1/1
4	가축사료(livestock feed), 동물용 사료, 발효사료, 배합사료, 애완동물용 사료, 합성동물사료, 혼합동물사료, 인공 사료(상표)	대한민국	경상대학교 산학협력단	2018.07.30.	40-2018-0104837				1/1

나. 기술이전 성과

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	직접실시	가금 사료용 대체 가능한 사료자원의 발굴과 이를 이용한 가금 브랜드 생산을 위한 기초자료	농업회사법인 안일농장	2018.07.20	0	0
2	직접실시	Hearty feed	그린그래스(주)	2018.09.17	0	0

다. 제품화 성과

No	사업화 방식	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
						국내	국외		
1	제품화	국내	카카오박을 활용한 축우사료 제품 생산	연구과제에서 선정된 대체사료 중 카카오박을 활용하여 한우 비육전기 제품 등 6종에 적용	(주)농협 사료	1,000 백만원	-	2016년	지속
2	제품화	국내	재고미를 한우 번식우 사료 생산에 적용	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 재고미를 한우 번식우 제품에 적용	(주)농협 사료	220 백만원	-	2017년	지속
3	제품화	국내	재고미를 한우 큰소 비육전기 사료생산에 적용	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 재고미를 한우 큰소 비육전기 제품에 적용	(주)농협 사료	200 백만원	-	2017년	지속
4	제품화	국내	대체사료 원료인 곤충단백질을 활용한 자돈제품 생산	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 곤충단백질을 감마밀 시리즈 1호에 적용	(주)농협 사료	350 백만원	-	2018년	지속
5	제품화	국내	대체사료 원료인 곤충단백질을 활용한 자돈제품 생산	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 곤충단백질을 감마밀 시리즈 2호에 적용	(주)농협 사료	1,080 백만원	-	2018년	지속
6	제품화	국내	대체사료 원료인 곤충단백질을 활용한 자돈제품 생산	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 곤충단백질을 감마밀 시리즈 2.5호에 적용	(주)농협 사료	1,260 백만원	-	2018년	지속
7	제품화	국내	대체사료 원료인 곤충단백질을 활용한 자돈제품 생산	연구과제에서 선정된 대체 사료자원인 곤충단백질을 감마밀 시리즈 중돈 3호에 적용	(주)농협 사료	400 백만원	-	2018년	지속

라. 논문 성과

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	미생물 발효처리가 황기( <i>Astragalus membranaceus</i> ) 부산물의 사료가치에 미치는 영향	동물자원연구	안준상	27(1)	대한민국	강원대학교 동물자원공동연구소	비SCI	2016.01	ISSN 1225-2964
2	방사 사육과 패터리 사육 산란계에서 난질 : 난가와 산란계 주령에 따른 난질의 비교	한국유기농업학회지	김대우	24(1)	대한민국	한국유기농업학회	비SCI	2016.02	ISSN 1229-3571
3	주요 조사료원과 썩, 녹차의 반추위 건물 및 조단백질 소화율에 대한 분석	농업생명과학연구	이신자	50(5)	대한민국	경상대학교 농업생명과학연구원	비SCI	2016.10.	ISSN 1598-5504
4	Effect of feeding system on growth performance, plasma biochemical components and hormones, and carcass characteristics in Hanwoo	Asian-Australian Journal of Animal Sciences	정찬성	30(8)	대한민국	AAAP	SCI	2017.08	ISSN 1001-2367
5	야자박과 팜박의 첨가 수준이 거세한우의 발육 및 도체특성에 미치는 영향	동물자원연구	박병기	29(2)	대한민국	강원대학교 동물자원공동연구소	비SCI	2018.07.	ISSN 1225-2964
6	돼지에서 <i>in vitro</i> 소화율 측정 및 평가	농업생명과학연구	강령인	심사중	대한민국	경상대학교 농업생명과학연구원	비SCI		
7	Effect of particle size and incubation time on <i>in vitro</i> dry matter digestibility of corn and soybean meal	Asian-Australian Journal of Animal Sciences	황수정	심사중	대한민국	AAAP	SCI		

마. 학술발표 성과

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	2015 동물자원과학회	최빛나	2015.08.26	건국대학교	대한민국
2	2016 동물자원과학회	황수정	2016.06.23	서울대학교	대한민국
3	2016 동물자원과학회	최빛나	2016.06.23	서울대학교	대한민국
4	The 17 <sup>th</sup> Asian-Australasian Association of Animal production Societies Animal Science Congress	최양호	2016.08.22.	후쿠오카	일본
5	The 17 <sup>th</sup> Asian-Australasian Association of Animal production Societies Animal Science Congress	신수진	2016.08.22.	후쿠오카	일본

6	The International Conference of KoSFA and 49th Annual Meeting	세멘스레쉬	2017.05.18.	천안	한국
7	The International Conference of KoSFA and 49th Annual Meeting	김현준	2017.05.18.	천안	한국
8	2017 동물자원과학회	문여황	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
9	2017 동물자원과학회	심재윤	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
10	2017 동물자원과학회	김민지	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
11	2017 동물자원과학회	우종민	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
12	2017 동물자원과학회	손기환	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
13	2017 동물자원과학회	박명선	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
14	2017 동물자원과학회	김범준	2017.06.29.	전남대학교	대한민국
15	2018 동물자원과학회	최유영	2018.06.26	중앙대학교	대한민국

바. 교육지도 성과

No	교육명	주요내용	실시일
1	2017년 농협인증 축산컨설팅트 핵심(한우) 과정	대체사료 원료의 한우적용 방향	2017.08.16
2	2018년 농협인증 축산컨설팅트 핵심(양돈) 과정	대체사료 원료의 양돈에 적용 방향	2018.02.22

사. 홍보전시 성과

No	홍보처	홍보내용	홍보일
1	축산신문	사료비 절감 자금률 개선 대규모 프로젝트 진행	2015.09.11
2	농수축산신문	농협사료, 대체원료 재조합 인공사료 개발 착수	2015.09.16
3	농민신문	인공사료 연구시동... 대체원료 개발 재조합 생산	2015.09.16
4	한국농어민신문	사료 대체원료 재조합 인공사료 개발 날개달다	2015.09.18
5	축산경제신문	사료 대체원료 인공사료 개발 협약	2015.09.18

### 제 3 절 사료비 절감, 사료자급을 개선을 위한 사료 대체원료 개발 및 산업화

#### 1. 국내 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재 탐색 및 사료개발

##### 가. 국내 일부 지역에서 사용하는 부산물의 탐색 및 사용량 조사

1) 국내 지역에서 생산되는 부산물은 일부 지역에서 지역별 축협 사료공장 및 지역에서 운영하는 TMR 사료에 일부에서 부산물을 사용하여 사료로 활용하고 있음

- 연구과제 수행 중 방문한 지역에서 사용하는 부산물의 종류 및 사용량은 각 사료공장 및 TMR공장에서 보안사항으로 파악하는데 상당한 어려움이 있었지만, 일부지역에서는 파악되었음

##### 가) 제주축협TMR 사료공장

- 지역에서 감귤즙(음료수)를 만들고 남은 감귤부산물을 50,000톤의 저장탱크에 저장한 다음 TMR사료 제조시 수분조절제로 배합비 내 10% 수준으로 사용하였음
- 감귤부산물은 지역 감귤즙을 생산하는 공장에 무료로 받고 있고, 50,000톤의 저장탱크도 지자체의 자금을 지원받아 운영하고 있음
- 감귤부산물의 향긋한 냄새 및 구연산 성분 등이 TMR의 기호성을 증가시키는 동시에 한우의 체중 증가 및 낙농의 유량 증가에 효과가 있다고 함

##### 나) 경주 천년한우 TMR 사료공장

- 경주 지역에서 관광상품으로 생산하는 “법주”를 생산하고 남은 부산물인 주정박을 사용하고 있음
- 주정박 내의 효모 및 미생물들이 발효를 촉진하는 역할을 하고 있으며, 너무 많은 양을 사용하였을 때는 알콜성분이 영향을 주기 때문에 배합비 내 3% 수준으로 사용되고 있음
- 경주 천년한우 TMR 사료공장은 주정박을 약 50원에 구매하여, 건조된 주정박 대비 원가절감을 상당히 하고 있음

##### 다) 김천지역 양과

- 김천지역에서 재배되는 양과의 경우 양과의 크기가 작아 상품가치가 없는 일명 “꼬다마”라 불리는 양과가 가공을 통해 단위가축 원료로 이용이 가능함
- 현재 김천지역에서 브랜드 제품으로 양과를 이용한 양과포크 돼지 브랜드가 있음
- 사료로 이용가능한 양은 현재 연간 3톤으로 미미하나 적극적으로 사료원료로 이용시 그 양은 늘리 수 있을 것임

##### 라) 강화지역 썩

○ 강화지역의 특산물인 썩은 강화썩이라 불리며, 강화에서 채취한 썩을 가공하여 상품으로 판매되고 있음

○ 강화썩을 제조하고 남은 부산물 일명 썩가루는 연간 3~4톤이 생산되며 대부분 섬유소로 가축의 섬유소 공급원으로 이용 가능한 원료로 사용됨

마) 거창지역 썩

○ 거창지역은 한우는 “애우” 및 양돈은 “애도니”라는 브랜드로 썩을 이용하여 축산물을 생산하여 전국적으로 판매가 되고 있음

○ 한우 및 양돈은 배합비 내 약 2% 수준으로 사용되고 있음

바) 기타

○ 전국적으로 분포되어 있는 많은 사료공장에서는 지역에서 생산되는 부산물을 사료원료로 사용되고 있는 것으로 보이나, 배합비 내 적용되는 비율 및 그 사용량을 알아보는 것은 각 공장의 보안사항이라고 조사하는데 어려움이 많았음

○ 이는 본 과제를 통해서 진행하는 것보다는 국가적인 차원에서 조사가 필요할 것으로 판단됨

**나. 연구과제에 사용할 원료 선정**

- '15. 10. 30. 과제 책임자의 입회하에서 선정

1) 원료 선정에 대한 중점사항

○ 국내에서 학술적으로 검증이 되지 않은 원료 선정

○ 현재 국내에서 사용되지 않거나 그 양이 미비한 원료 위주 진행

○ 기타 사용 가능성이 높다고 판단되는 원료

2) 조사한 원료(63종)

○ 카사바 뿌리(cassava root), 타피오카박, 비단백태질소화합물, 대두피, 카카오박, 면실피, 아몬드피, 주정박, 호두박, 포도박, 자두박, MTP, 맥근, 캐슈넛헐, 콘화이버(콘깍), 코팅면실, 과자박, 제면부산물, 소맥분, 말분, 가공왕겨, 국산소맥피, 미강, 국산단백피, 국산대두박, 추출팜박, 호마박, 임자박, 옥글루텐, 옥배아박, 옥수수주정박(25%), 옥수수주정박(38%), 소맥주정박(34%), 우모분, 가금도축부산물, 수지박, 비트펄프, 양돈용대용유, 루핀커널, 루핀, 전지대두, 아마종실, 카카오박(남아공산, 인도네시아산), 파인애플박(동남아시아산(특히 인도네시아산), 포도박(호주산; 주스부산물, 와인부산물 및 그 2가지 혼합형태), 왕라오지박, 참깨박, 혼합주정박, 카사바주정박, 밀짚, 단백피, 대두박, 땅콩피, 맥근, 면실박, 백주박, 아마박, 옥대펠렛, 완두분, 콘껍압축, 콘커벨렛, 밀웜박, 굼벵이분

3) 최종 선정 원료(11종)

○ 축우용(9종)

- 카사바 뿌리(140원/kg), 카카오박(295원/kg), 파인애플박(액상), 포도박(341원/kg), 왕라오지박(가격미정), 카사바주정박(140~150원/kg), 타피오카박, 백주박(150원/kg), 완두

분(200원/kg)

※ 왕라오지박 : 중국에서 가장 많이 마시는 차 부산물로 현재 공장에서 음료수로 다량 생산 됨

※ 백주박 : 중국의 대표적인 중국술로 술 1톤 생산시 약 200kg의 부산물이 발생

○ 양돈·가금용(3종)

- 조미료 부산물(MSG-CMS; 액상, 120원/kg), 밀웜박(1,200원/kg), 굼벵이분(550원/kg)

#### 다. 조사한 원료 및 최종 선정된 원료의 성분분석 실시

- 1) 74종의 원료를 농협사료의 “원료분석 항목성분”에 축종별 준하여 모든 성분의 분석을 실시하였음
  - 차후 선정된 원료는 농협사료의 신제품 개발에 반드시 사용할 것이기 때문에 원료평가 결과는 대외비로 본 보고서에 결과값을 공개는 하지 않음
  - 축우, 양돈, 양계 및 기타의 4개의 축종의 구분하여 일반조성분(유효성분) 분석, 미량 광물질 분석, 미생물 유해물질 및 기타 성분을 분석하였음

#### 라. 최종 선정된 원료의 지용성 비타민 함량 분석 실시

- 1) 재료 및 방법
  - 가) 비타민A 분석
    - Vitamin A 분석방법은 De Ritter와 Purcell(1981)와 David 등(2016)의 방법을 이용하여 분석하였음
    - 갈색등근바닥플라스크에 5g 시료를 100mg sodium L-ascorbate(>98%,sigma-aldrich, USA), 5mL 50% KOH(in D.W.)와 40mL ethyl alcohol(HPLC급)을 섞어 homogenized 한 이후 reflux관에서 75°C에서 30분간 가열함. 급냉 이후 분획깔데기에 40mL diethyl ether(sigma-aldrich, USA)와 100mL 증류수를 첨가한 이후 진탕한 이후 물층을 버림(3회 반복)
    - 여과지(Watman, No. 2, USA) 위에 무수황산나트륨( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )을 넣고 여과한 이후 용매를 갈색의 등근플라스크에 넣음. 이때 분획깔데기의 잔존물도 10mL diethyl ether로 씻어 등근라운드플라스크에 넣고 진공 농축함(evaporator, 45°C). 잔존물은 5mL chloroform 용액으로 녹인 이후 분석에 이용함
    - 추출물은 chloroform으로 0.2mL : 0.2mL로 섞은 후, 2mL  $\text{sbCl}_3$ (20%  $\text{sbCl}_3$  + 2% acetic acid mixture in chloroform)을 혼합하여 620nm에서 흡광도를 측정하여 분석함. 이때 표준물질은 vitamin A(vitamin A acetate, sigamaldrich, USA) 0, 5, 10, 15, 20, 40 IU/mL를 추출물과 동일한 방식으로 제조한 후, 검량선을 제작한 이후 분석에 이용하였음.

#### 나) 비타민D 분석

- Vitamin D 분석은 Keflie 등(2018)과 Ložnjak와 Jette Jakobsen(2018)의 방법에 의해 분석함. 비타민 D에는 D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>가 있는데, provitamin D는 동물성의 콜레스테롤과 식물성의 에르고스테롤로 존재함. 따라서 본 실험에서는 식물성 시료이기 때문에 vitamin D<sub>2</sub>(Ergocalciferol)를 분석하였음.
- 갈색등근바닥플라스크에 시료 5g과 20mL DMSO, 80mL ethyl ethanol을 첨가한 후, reflux관에서 75°C/1시간 진탕하였음. 이후 3,000 rpm에서 원심분리 후, PTFE 0.45µm filter(Millipore C, Bedford, MA)로 필터한 다음 HPLC로 분석함.
- 실험에 이용된 컬럼은 Resersed-phase colum(u-Bondapak C18 30×0.39cm), 검출기는 UV 325nm이었으며, 이동상은 Acetonitrile : MeOH : H<sub>2</sub>O = 88 : 10 : 2이었고, 유속은 0.5mL/분임.

#### 다) 비타민E 분석

- Vitamin E 분석은 Chung 등(2017)의 방법에 의해 분석하였음. 10mL 갈색 팔콘튜브에 2g 시료, 8mL aceton(>99%, HPLC grade, sigma-aldrich, USA), 1mL 50ug/mL α-tocopherol acetate(내부표준 물질), 5ul BHA(1mg/mL)을 넣은 이후, 3분간 vortex함.
- 이후 3,000rpm에서 10분간 원심분리한 다음, 상층액을 수거하여 옮긴 후, 다시 4mL 아세톤을 넣어 vortex한 이후 원심분리하여 상층액만을 수거하였음.
- 수거한 추출물은 methanol를 이용하여 총 부피가 20mL가 되게 하여 PTFE 0.45µm filter(Millipore C, Bedford, MA)로 필터하여 분석 샘플을 제작함. 표준물질인 α-tocopherol, β-tocopherol, δ-tocopherol(sigma-aldrich, USA)은 농도별로 20ug/mL BHT가 함유된 methanol(HPLC grade, sigma-aldrich, USA)에 녹인 이후, 표준품을 만들었으며, 내부물질인 α-tocopherol acetate도 표준물질처럼 동일한 방식으로 제작하였음.
- 모든 시료와 샘플은 사용전까지 -20°C에 보관하면서 분석함. 각 샘플은 HPLC, supelcosil column(C18, 150nm×4.6nm)을 이용하였으며, 이동상은 acetonitrile : methanol = 1 : 1이었으며, 유속은 1mL/분, 검출기는 JASCO FP-920 fluorescence(Jasco, Japan)로 자극은 295nm, 방출은 330nm을 사용하였음.

#### 라) 비타민K 분석

- Vitamin K는 Emily 등(2017) 방법을 변형하여 사용하였음.
- 갈색등근바닥플라스크에 1g 시료를 100mL 0.2% sodium hydrogen sulfite에 넣어 homogenized한 이후, reflux관에서 75°C에서 30분간 가열함. 급냉 이후 3,000rpm에서 20분간 원심분리 후, 상층액을 PTFE 0.45µm filter(Millipore C, Bedford, MA)로 필터하여 분석 샘플을 제작하였음.
- 이때 표준물질인 Vitamin K<sub>1</sub>(sigma-aldrich, USA)은 농도별로 methanol(HPLC grade, sigma-aldrich, USA)에 녹인 후 표준품을 만들어 사용하였음. 모든 시료와 샘플은 사용 전까지 -20°C에 보관하면서 분석하였음.

○ 각 샘플은 HPLC, column은 u-Bondapack C<sub>18</sub> 3.9mm×300mm×10um)을 이용하였으며, 이동상은 CH<sub>3</sub>CN : methanol = 1 : 1이었으며, 유속은 1mL/min, 검출기는UV detector 260nm을 사용하였음.

#### 나) 결과

○ 선정된 부산물에서는 지용성비타민(A,D,E,K)가 검출되지 않았음

### 마. 최종 선정된 원료의 항균성 및 항산화성 분석 실시

#### 1) 재료 및 방법

##### 가) 항균활성

○ 시료의 추출 : 본 실험에 이용된 시료는 카카오박, 카사바뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바주정박, 완두분, 밀웜박, 굽병이, MSG-CMS를 이용하였음 모든 시료는 50% 에탄올 용액으로 10배 첨가하여 7일간 상온에서 추출하여 수율을 조사하였으며, 추출된 추출물은 10ug/mL이 되도록 추출물을 제조하였음. 각 추출물은 여지디스크(8mm, Lot No D0811606, Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Japan)에 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 40, 60uL씩을 loading후 건조하였음.

○ 항균활성을 위한 미생물 배양 : 실험에 사용된 균주는 동결건조된 상태의 미생물을 한국생명공학연구원 미생물자원센터에서 구입하여 사용하였음. *Staphylococcus aureus subsp. aureus*(KCTC 1929), *Streptococcus pneumoniae*(KCTC 5412), *Escherichia coli*(KCTC 1682), *Salmonella typhimurium*(ATCC14028), *Bacillus cereus*(ATCC1178IFO), *Listeria monocytogenes*(ATCC 19114), *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*(KCTC 2208), *Aspergillus niger*(KCTC 6971), *Candida albicans*(KCTC 7678)을 균주를 분양받아 실험에 이용하였음. 균주의 배양은 준비된 trypticase soy agar(Difuco, USA)위에 streaking한 이후 37°C에서 24시간 배양(Model No. 137925, Barnstead/Thermolyne, USA)하여 2-4 개의 colony를 trypticase soy broth(Difuco, USA)에서 37°C 24시간 2대 계대 배양하여 log phase에 도달하였을 때 멸균배지로 10<sup>7</sup> CFU/mL(colony forming units/mL)로 희석하여 사용하였음. 준비된 균주는 trypticase soy Agar에 100uL씩 loading하여 도포하여 항균활성 평가에 이용하였음.

○ 항균활성 평가는 디스크 확산법을 이용하였음. 모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 농도 별로 처리된 여지디스크는 균이 도포된 trypticase soy Agar 표면에 올려놓은 이후 37°C에서 24시간 배양하여 각 미생물의 생육저해환의 직경을 측정하였음. 생육저해환의 평균 직경이 8.0mM은 '-'(활성 없음); 8.1~8.4mM는 '±'(미미한 활성); 8.5~9.0mM은 '+'(약한 활성); 9.0~9.4mM은 '++'(어느 정도 활성); 9.5~9.9mM은 '+++'(보통의 활성); 10.0~10.4mM '++++'(강한 활성); 10.5~10.9mM '+++++'(확연한 활성); 11.0~11.9mM '++++++'(매우 강한 활성); 12.0mM 이상은 '+++++++'(매우 탁월한 항균 활성)으로 표시하여 항균력을 비교하였음. 디스크 확산법의 결과판정을 위해 평판배지를 배

양기에서 꺼내어 실온에서 약 10분간 방치한 이후 관정하였음.

나) 수율측정 : 시험에 사용된 시료의 수율측정은 추출 전 시료 무게에 대한 추출 건물의 기준으로 측정하였음. 에탄올을 시료에 10배해당하는 용매를 넣고 7일간 상온에서 추출하여 추출물을 필터하고 evaporator로 1차 건조한 후 동결 건조하여 측정하였으며, 이를 다음 항산화 및 항균 시료로 이용하였음.

다) 지표물질 조사

○ Total phenols 함량 조사 : 총페놀 함량은 Peschel 등(Singleton and Rossi, 1965)의 방법에 의하여 측정하였음. 즉, 시료 용액(1,000ppm) 0.1mL에 증류수 7.9mL와 Folin-Ciocalteu's phenol 시약(Fluka, Seelze, Germany) 0.5mL를 가하였음. 2분후 20% 탄산나트륨 용액 1.5mL를 가하여 혼합하였고, 2시간 후 765nm에서 흡광도를 측정하였음. 총페놀 함량은 gallic acid(Sigma, St. Louis, Mo, USA)를 표준품으로 200-1000ug/L 농도로 검량선을 작성한 후 gallic acid equivalents(mg GAE acid/g 건조시료)로 나타내었음.

○ Flavonoid 함량 조사 : Perfetti(Bae와 Lee, 1990) 방법을 준하여 HPLC로 분리하여 분석하였음. 이때 이동상은 methanol : acetic acid(1000 : 5, v/v), 증류수 : acetic acid(1000 : 5, v/v)를 사용하였음.

라) 항산화물질 활성 조사

○ free radical 소거능 조사 : 전자공여능은 Brand-Williams 등(1995)의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하였음. 즉 일정농도의 시료 추출에 DPPH 용액을 가하여 10초간 잘 혼합한 다음 실온에서 20분간 방치시킨 후 525nm에서 흡광도를 측정하였음. 전자공여능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었음.

○ Hydroxyl radical 소거능 조사 : Halliwell 등(1987)의 방법에 따라 시험관에 1mM FeSO<sub>4</sub>/EDTA 용액 0.2mL, 10mM 2-deoxyribose 0.2mL, 시료 0.2mL, 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2mL 및 10mM H<sub>2</sub>O 0.2mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1mL를 가하고 95°C 수욕상에서 10분간 가열한 다음 급냉시킨 후 532nm에서 흡광도를 측정하였음.

- 시료의 hydroxyl 라디칼 소거능은 다음 식에 따라 계산하였음.

$$\cdot \text{Hydroxyl radical scavenging activity(\%)} = [1 - \{(A-O)/(B-O)\}] \times 100$$

· O: Absorbance of no treatment at 532nm.

· A: Absorbance of sample treatment at 532nm.

· B: Absorbance of control treatment at 532nm.

○ Superoxide anion radical 소거능 조사 : Superoxide anion 소거활성은 PMS/NADH system을 이용하여 생성된 superoxide anion 양을 NBT환원법으로 517nm에서 측정함 (Liu et al., 1997). 반응액은 각 시료 50uL와 125 uM NADH와 63 uM의 NBT를

PBS(pH 8.4) 150uL에서 준비함. 8uM의 PMS 100uL을 첨가하여 superoxide 생성을 유도하였음. superoxide anion 소거활성은 각각 생성된 superoxide의 흡광도를 시료를 가하지 않은 대조구와 비교하여 저해활성도(%)로 나타내었음. 대조구으로는 항산화제로 알려져있는 ascorbic acid를 사용하였음.

○ ABTS+ radical assay를 통한 총 항산화력 평가 : 총 항산화력의 측정은 Siddhuraju(2006) 방법에 의해서 측정하였음. ABST 7.4mM과 potassium persulphate 2.6mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABST·+을 형성시킨 후 이 용액을 735nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 물 흡광계수( $\epsilon=1.6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )를 이용하여 methanol로 희석하였음. 희석된 ABST·+용액 1mL에 추출액 50uL를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 30분 후에 측정하였음. Ascorbic acid를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화력(AEAC, ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)을 계산하였음.

○ FRAP활성 측정 : Benzie & Strainin(1996)의 방법을 응용하여 FRAP assay를 통해 각 추출물의 항산화능을 측정하였음. 이는 ferric ion이 ferrous로의 전환 과정을 통하여 시료의 항산화능을 측정하는 것이음. 실험 직전에 acetate buffer(pH 3.6, 300mM) : 10mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) : 20mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 10 : 1 : 1의 비율로 만들고, 이 혼합물의 1.5mL를 시험관에 첨가 후 추출물 혼합하여 4분간 37°C에서 incubation 후 590nm에서 흡광도를 측정하였음.

○ 아질산 저감화 실험(nitrite분해능 측정) : 자연적으로 nitric oxide radical( $\text{NO}\cdot$ )를 생성하는 물질인 sodium nitroprusside(SNP)를 사용하여 추출물의  $\text{NO}\cdot$  소거활성을 측정하였음. 즉 시료 0.5mL에 10mM sodium nitroprusside(SNP) 2mL와 pH 7.4 0.01M phosphate buffer를 첨가하여 25°C의 incubator에서 150분 반응한 후 반응물 중 0.5mL를 취하여 1mL의 sulfanilic acid(0.03% in 20% glacial acetic acid)와 혼합한 후 5분간 반응시켰음. 그 다음 0.1% Naphthylethylenediamine dihydrochloride를 1mL 첨가하고 실온에서 30분 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였음. Nitric oxide radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였음.

$$\text{- Nitric oxide radical 소거활성(\%)} = 1 - (\text{대조구흡광도} - \text{시료흡광도}) / \text{대조구흡광도} \times 100$$

## 2) 결과 및 고찰

### 가) 항균활성

○ Table 1-1은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 곰팡이, MSG-CMS에 대한 항균활성을 나타낸 것임.

○ *Staphylococcus aureus*(KCTC 1929), *Streptococcus pneumoniae*(KCTC 5412), *Escherichia coli*(KCTC 1682), *Salmonella typhimurium*(ATCC14028), *Bacillus cereus*(ATCC1178IFO), *Listeria monocytogenes*(ATCC 19114), *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*(KCTC

2208), *Aspergillus niger*(KCTC 6971), *Candida albicans*(KCTC 7678)에 대한 항균활성을 조사하였음.

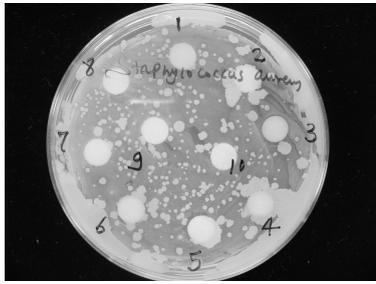
- 본 실험 결과 모든 시험구가 *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*에 대해서 항균활성을 보이지 않았음.
- 20mg/mL 시료를 20uL, 40uL, 60uL로 처리하였을 때 카사바 뿌리, 카사바 주정박, 굽병이 및 MSG-CMS 추출물은 실험에 사용된 10 종의 모든 균에 대해서 항균활성을 보이지 않았음.
- 20mg/mL 시료를 60uL로 처리하였을 때 카카오박 및 땅콩피은 *S. aureus*에 대해 각각 약한 항균 활성(+) 및 어느 정도 항균 활성(++)을 보였음. 완두분은 *S. pneumoniae*에 대해 어느 정도 항균 활성(++)을 보였음. 포도박, 맥주박, 밀월박은 *S. aureus* 및 *S. pneumoniae*의 두 균종에 대해 항균 활성이 나타났음. 포도박은 *S. aureus*에 대해 강한 항균 활성(++++)), *S. pneumoniae*에 대해선 확연한 항균 활성(++++)+)을 나타내었음. 맥주박은 *S. aureus*에 대해 어느 정도 항균 활성(++), *S. pneumoniae*에 대해 약한 항균 활성(+)을 나타내었음. 밀월박은 *S. aureus*에 대해 약한 항균 활성(+), *S. pneumoniae*에 대해 어느 정도 항균 활성(++)을 나타내었음.
- 이상의 결과, *S. aureus*에 대한 항균활성은 포도박 > 땅콩피, 맥주박 > 카카오박, 밀월박 순으로 나타났으며, *S. pneumoniae*에 대한 항균활성은 포도박 > 완두박, 밀월박 > 맥주박 순으로 나타났음. Figure 5-1은 모든 시료를 20mg/mL로 제조하여 40uL를 처리하였을 때 균에 대한 항균활성을 나타낸 것임. *S. aureus*와 *S. pneumoniae*에 대해 항균활성은 포도박, 완두박, 맥주박에서 우수한 결과를 나타내었음.

Table 1-1. 분석 시료의 항균활성 조사 결과

Samples	Load con.	Microorganism <sup>1)</sup>								
		STA	STR	ECO	SAL	BAC	LIS	KLE	CAN	ASP
Cacao	60	+ <sup>2)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cassava root	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grape pomace	60	++++	+++++	-	-	-	-	-	-	-
	40	++	+++	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Peanut oil meal	60	++	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Casasava pomace	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ruby	60	-	++	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wet brewer's grain	60	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mealworms byproduct	60	+	++	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clodhopper	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MSG-CMS	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1) STA, *Staphylococcus aureus*(KCTC 1929); STR, *Streptococcus pneumoniae*(KCTC 5412); ECO, *Escherichia coli*(KCTC 1682); SAL, *Salmonella typhimurium*(ATCC14028); BAC, *Bacillus cereus*(ATCC1178IFO); LIS, *Listeria monocytogenes*(ATCC 19114); KLE, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*(KCTC 2208); ASP, *Aspergillus niger*(KCTC 6971) and CAN, *Candida albicans*(KCTC 7678).

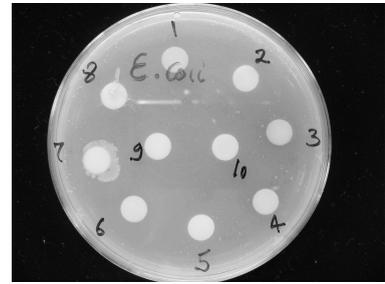
2) Zone diameter : 8.0mM, '-'; 8.1~8.4mM, '±'; 8.5~9.0mM, '+'; 9.0~9.4mM, '++'; 9.5~9.9mM, '+++'; 10.0~10.4mM, '++++'; 10.5~10.9mM, '+++++'; 11.0~11.9mM, '+++++' and 12.0mM = '+++++'.



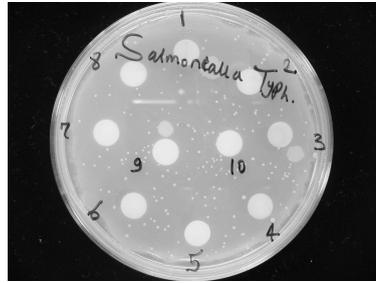
*Staphylococcus aureus*



*Streptococcus pneumoniae*



*Escherichia coli*



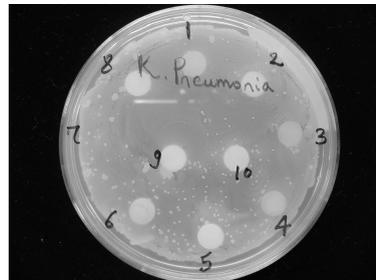
*Salmonella typhimurium*



*Bacillus cereus*



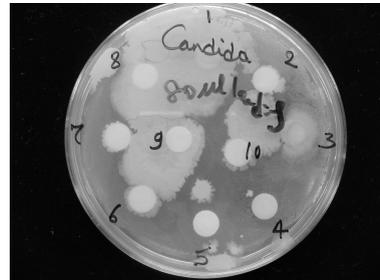
*Listeria monocytogenes*



*K. pneumoniae*



*Aspergillus niger*



*Candida albicans*

Figure 1-1. 분석시료 20mg/mL 농도에서 *Staphylococcus aureus*(KCTC 1929) 및 *Streptococcus pneumoniae*(KCTC 5412)의 항균성 결과

나) 수율측정

○ Table 1-2는 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 추출수율을 나타낸 것임. 추출수율의 경우 MSG-CMS가 가장 높게 나타났으며, 다음으로 카사바 뿌리로 나타났음( $P < 0.01$ ).

Table 1-2. 분석시료의 추출수율 함량 조사 결과

Samples	Extraction yield(%)
Cacao	5.80 ± 0.00 <sup>bcd</sup>
Cassava root	8.01 ± 0.08 <sup>b</sup>
Grape pomace	6.26 ± 0.09 <sup>bcd</sup>
Peanut oil meal	7.84 ± 0.03 <sup>bc</sup>
Casasava pomace	4.63 ± 0.33 <sup>cd</sup>
Ruby	7.87 ± 0.34 <sup>bc</sup>
Wet brewer's grain	4.35 ± 0.11 <sup>d</sup>
Mealworms byproduct	5.27 ± 0.34 <sup>bcd</sup>
Clodhopper	4.20 ± 0.33 <sup>d</sup>
MSG-CMS	16.96 ± 4.33 <sup>a</sup>
SEM	2.24
P	0.01

<sup>a-f</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

다) 지표물질 조사

○ Total phenols 함량 조사

- 페놀성 물질은 식물계에서 널리 분포되어 있는 2차대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가짐. 그 중 탄닌은 단백질과 결합하는 특성을 지닌 polyphenol을 총칭하는 것으로 탄닌 유래의 화합물과 단백질과의 결합은 탄닌의 hydroxyl기와 단백질의 활성 부위와의 공유결합 하는 성질로 인해, 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가지고 있음
- Table 1-3은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 총 폴리페놀함량을 나타낸 것임. 총 폴리페놀 분석을 위한 표준물질은 catechin을 이용하였음(Figure 1-2). 이는 catechin이 폴리페놀의 대표적인 물질이기 때문에 이를 이용하였음. 검량선은  $y = 0.0025x + 0.0027$ 로 나타내었음. 이를 토대로 분석한 결과는 다음과 같음. 즉, 포도박이 모든 시료 중에 가장 높은 함량인 4.48ug catechin/g extract로 나타났음(P<0.01). 폴리페놀함량은 포도박 > 땅콩피, 완두분 > 카카오 및 카사바뿌리 순으로 나타났음(P<0.01).

○ Flavonoid 함량 조사

- 체내에는 산화 촉진물질(prooxidants)과 산화 억제물질들(antioxidants)이 균형을 이루고 있으며, 이 균형이 깨어져 산화촉진 쪽으로 기울게 되면 세포에 해로운 영향을 끼치는 것으로 알려져 있고, 이러한 유해한 작용을 산화스트레스(oxidative stress)라고 부름. 천연 항산화제 중 flavonoid는 지질의 산화, 활성산소 제거 및 산화스트레스를 막는 역할을 함으로서 노화를 예방하거나 지연하는 효과가 있다고 보고되고 있음.

- Table 1-4는 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 곰팡이, MSG-CMS에 대한 총 flavonoid 함량을 나타낸 것임. 총 flavonoid 함량을 분석을 위한 표준물질은 quercetin을 이용하였음(Figure 1-3). 이는 quercetin이 flavonoid의 대표적인 물질이기 때문에 이를 이용하였음. 검량선은  $y = 0.0373x + 0.172$ 로 나타났음. 이를 토대로 분석한 결과는 다음과 같음. 즉, 맥주박이 모든 시료 중에 가장 높은 함량인 0.66ug quercetin/g extract로 나타났음( $P < 0.01$ ). 총 flavonoid 함량은 맥주박 > 완두박, 카카오박, 포도박 순으로 나타났음( $P < 0.01$ ).

Table 1-3. 분석시료의 총폴리페놀 함량 조사 결과

Samples	Concentration (ug Catechin /g extract)
Cacao	2.19±0.09 <sup>cd</sup>
Cassava root	1.95±0.39 <sup>cd</sup>
Grape pomace	4.48±0.24 <sup>a</sup>
Peanut oil meal	2.41±0.12 <sup>b</sup>
Casasava pomace	1.41±0.07 <sup>f</sup>
Ruby	2.36±0.03 <sup>b</sup>
Wet brewer's grain	1.88±0.09 <sup>d</sup>
Mealworms byproduct	1.49±0.05 <sup>ef</sup>
Clodhopper	1.75±0.10 <sup>de</sup>
MSG-CMS	1.43±0.20 <sup>f</sup>
SEM	0.10
P	0.01

<sup>a-f</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column( $P < 0.01$ ).

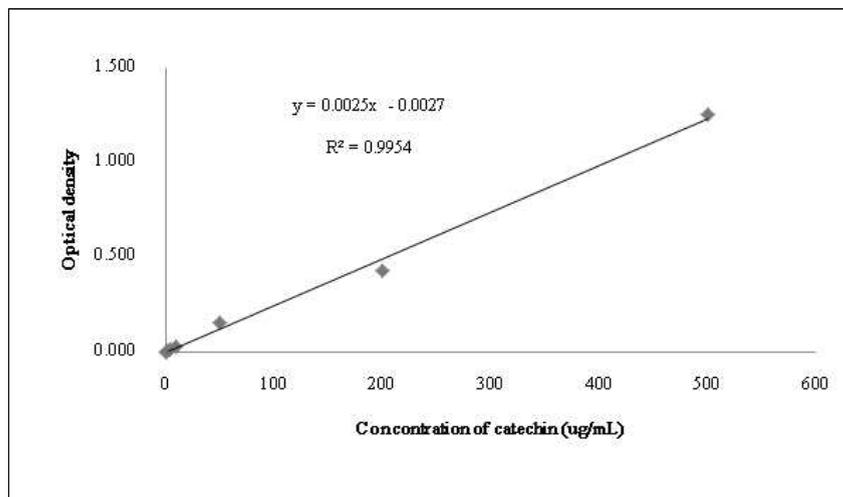


Figure 1-2. 총 폴리페놀함량의 정량을 위한 catechin 검량선

Table 1-4. 분석시료의 플라보노이드 함량 조사 결과

Samples	Concentration (ug Quercetin/g extract)
Cacao	0.54±0.03 <sup>cd</sup>
Cassava root	0.52±0.02 <sup>d</sup>
Grape pomace	0.61±0.05 <sup>abc</sup>
Peanut oil meal	0.53±0.01 <sup>d</sup>
Casasava pomace	0.54±0.04 <sup>cd</sup>
Ruby	0.62±0.02 <sup>ab</sup>
Wet brewer's grain	0.66±0.05 <sup>a</sup>
Mealworms byproduct	0.56±0.06 <sup>bcd</sup>
Clodhopper	0.58±0.05 <sup>bcd</sup>
MSG-CMS	0.60±0.05 <sup>abcd</sup>
SEM	0.02
P	0.01

<sup>a-d</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

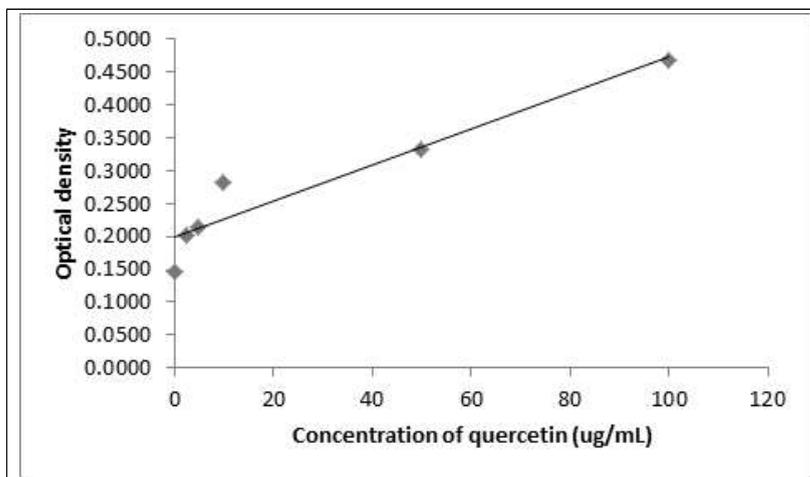


Figure 1-3. 총페놀함량의 정량을 위한 catechin 검량선

다) 항산화물질 활성 조사

○ Free radical 소거능 조사

- 안정적인 유리기 상태로 존재하는 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)는 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법임. DPPH alcohol 용액은 517nm에서 흡광도를 측정할 수 있으며, 실온에서 1시간 정도는 매우 안정한 유리 라디칼임. 전자공여체로부터 전자나 hydrogen radical을 받아 phenolxy radical을 생성하게 됨으로서 DPPH의 특이적인 흡수 band가 사라지게 됨. DPPH의 보라색은 안정해진 분자의 몰수에 비례하여 노란색으로 변하게 되므로 이 과정에서 흡광도의 감소를 측정하여 이의 항산화 활성을 측정할 수 있음.

- Figure 1-4은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 free radical 소거활성을 나타낸 결과임. 이 결과 중 시료 100 ug/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-5 및 Figure 1-6에 나타내었음.

- 분석결과는 합성항산화 물질인 BHA가 나타내는 활성결과와 시료를 비교하였음. 동일 농도에서 BHA는 73.81%의 활성을 나타내었으나, 대부분의 분석시료 매우 낮은 활성을 나타내었음. 하지만, 포도박은 76.03%로 매우 우수한 활성을 나타내었으며, 다음으로 완두분과 MSG-CMS가 각각 21.05% 및 18.14%로 상대적으로 우수한 결과를 나타내었음(P<0.01).

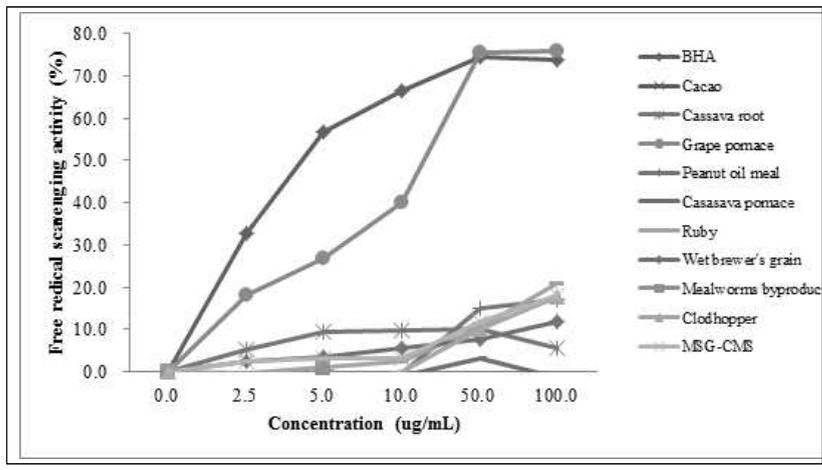


Figure 1-4. 농도별 분석시료의 DPPH free radical 소거능 측정 결과

Table 1-5. 분석시료 100ug/mL 농도에서의 DPPH free radical 소거능 측정 결과

Samples	Radical scavenging activity(%)
BHA	73.81±0.23 <sup>a</sup>
Cacao	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Cassava_root	5.64±1.45 <sup>d</sup>
Grape_pomace	76.03±0.14 <sup>a</sup>
Peanut_oil_meal	17.15±2.73 <sup>bc</sup>
Casasava_pomace	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Ruby	21.05±7.69 <sup>b</sup>
Wet_brewer's_grain	11.77±4.70 <sup>c</sup>
Mealworms_byproduct	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Clodhopper	17.76±5.62 <sup>bc</sup>
MSG-CMS	18.14±2.78 <sup>b</sup>
SEM	1.98
P	0.01

<sup>a-d</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

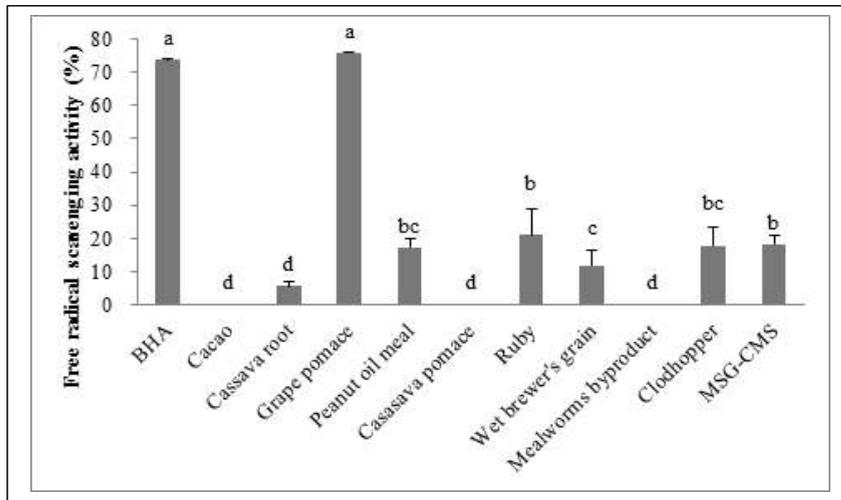


Figure 1-6. 분석시료 100ug/mL 농도에서의 free radical 소거능 분석 결과(P<0.01)  
(<sup>a-d</sup> are significantly different among the samples).

○ Hydroxyl radical 소거능 조사

- 인간을 비롯한 대부분의 호기성 생물체는 산소를 이용한 정상적인 대사 과정에서 superoxide anion( $\cdot\text{O}_2^-$ ), hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hydroxyl radical( $\cdot\text{OH}$ ), alkoxy radical( $\text{RO}\cdot$ ), alkoxy peroxy radical( $\text{ROO}\cdot$ )과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 부산물로 생성됨.

- 이들 ROS는 자유 라디칼(free radical) 중에서 가장 많은 부분을 차지하며, 비 공유전자(unpaired electron)를 갖고 있기 때문에 매우 불안정 하고 반응성이 높아 생체내 세포와 조직의 구성성분을 쉽게 공격한다고 알려져 있음. 그 중  $\cdot\text{OH}$  radical은 일반적으로 짧은 반감기 때문에 반응성이 매우 높고 강력한 산화력을 갖고 있음.

- 또한 생체 내에서 염증 관련 질환에 관여하는 nitric oxide( $\text{NO}\cdot$ )와  $\cdot\text{O}_2^-$ 가 반응하여 생성되는 peroxynitrite( $\text{ONOO}^-$ )는 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)으로서 반응속도가  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 수천배로 단시간 내에 급속하게 세포와 조직을 손상시키는 자유 라디칼로 알려져 있음. 이러한 ROS와 RNS는 세포내 여러 구성성분인 지질, 단백질, 핵산 그리고 DNA를 산화시켜 염증을 유발하고 여러 조직을 손상시키거나 암, 노화, 동맥 경화증, 심혈관질환, 당뇨병, 류마티스 관절염 등과 같은 여러 질환에 관여하는 중요한 인자로 잘 알려져 있음. 자유 라디칼 중에서도 가장 강한 독성을 나타내는 것으로 알려진  $\cdot\text{OH}$  radical은 반응성이 매우 크고 반응속도가 빠르며 지질의 산화 및 DNA에 손상을 주고 돌연변이를 유발함으로써 다양한 질환에 관여하는 것으로 알려져 있음.

- Table 1-7은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 hydroxyl radical 소거활성을 나타낸 결과임. 이 결과 중 시료 50ug/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-6 및 Figure 1-8에 나타내었음.

- 분석결과는 합성항산화 물질인 BHA가 나타내는 활성결과와 시료를 비교하였음. 대

부분의 분석시료 BHA보다 낮은 활성을 나타냈음( $P < 0.01$ ). 시료간 분석결과, 카사바주정박이 상대적으로 높게 나타났으며( $P < 0.01$ ), 다음으로 땅콩피가 높게 나타났음.

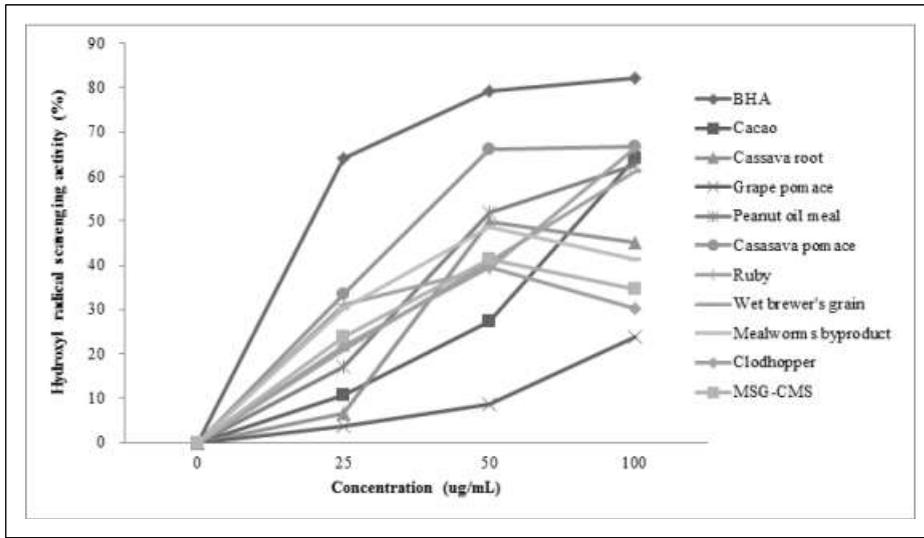


Figure 1-7. 농도별 분석시료의 hydroxyl radical 소거능 분석 결과

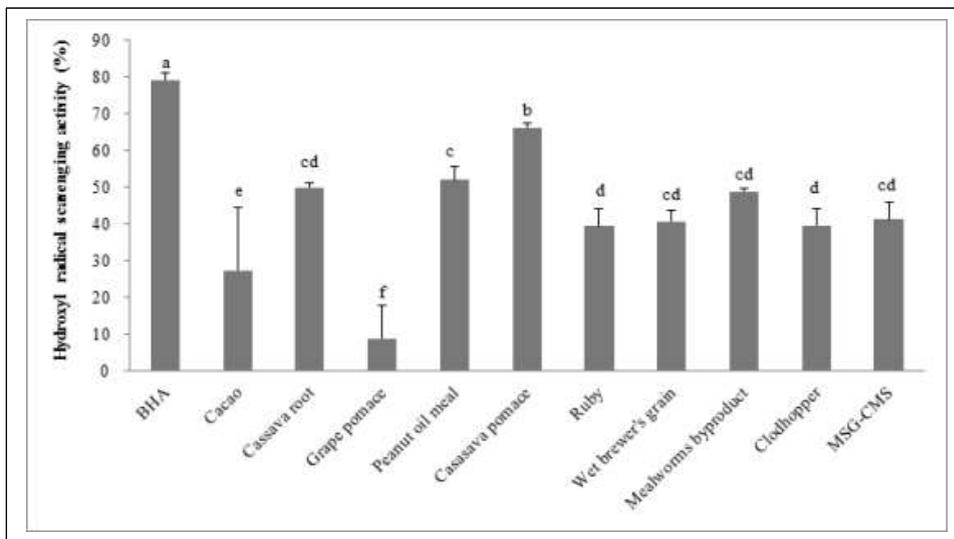


Figure 1-8. 분석시료 50g/mL 농도에서의 hydroxyl radical 소거능 분석 결과( $P < 0.01$ )  
(<sup>a-d</sup> are significantly different among the samples)

Table 1-6. 분석시료 50ug/mL 농도에서 hydroxyl radical 소거능 분석 결과

Samples	Hydroxyl radical scavenging activity(%)
BHA	79.13±1.79 <sup>a</sup>
Cacao	27.36±17.05 <sup>e</sup>
Cassava root	49.91±1.23 <sup>cd</sup>
Grape pomace	8.73±9.06 <sup>f</sup>
Peanut oil meal	51.98±3.46 <sup>c</sup>
Casasava pomace	66.14±1.10 <sup>b</sup>
Ruby	39.25±4.73 <sup>d</sup>
Wet brewer's grain	40.67±2.88 <sup>cd</sup>
Mealworms byproduct	48.73±0.77 <sup>cd</sup>
Clodhopper	39.52±4.66 <sup>d</sup>
MSG-CMS	41.26±4.54 <sup>cd</sup>
SEM	3.26
P	0.01

a-d Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

○ Superoxide anion radical 소거능 조사

- Superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)은 전자 환원에 의한 반응성이 매우 강하여 세포 독성을 일으켜 암을 유발시키거나 피부의 노화 등을 일으킬 수 있음. 이런 활성산소는 과식, 스트레스, 흡연, 지나친 운동으로 인한 과호흡 등에 의해 그 양이 증가하는데, 인체 내에서는 superoxide radical을 제거하기 위하여 superoxide dismutase(SOD)가 분비되어 세포에 유해한 superoxide radical을 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)와 정상상태의 산소로 전환시켜주는 반응(2O<sub>2</sub><sup>-</sup> + 2H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>)을 하는 것으로 알려져 있으며, SOD에 의해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 생체 조직을 산화시키기도 하고, peroxidase나 catalase에 의하여 자신은 분해하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환됨. SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemicals에 속하는 것으로 보고되어 있음.

- Figure 1-9는 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굽빵이, MSG-CMS에 대한 superoxide anion radical 소거활성을 나타낸 결과임. 이 결과 중 시료 100ug/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-7 및 Figure 1-10에 나타내었음.

- 분석결과는 대부분의 분석시료 BHA보다 낮은 활성을 나타내었음(P<0.01). 시료간 분석결과, 카사바뿌리, 땅콩피가 높게 나타났으며, 다음으로 포도박이 높게 나타났음(P<0.01).

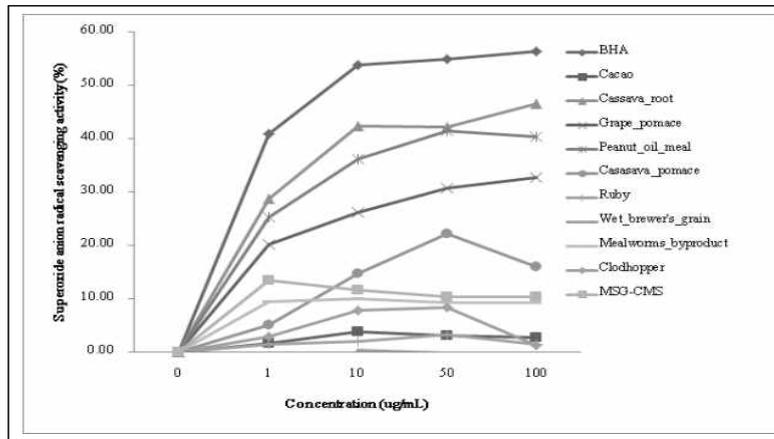


Figure 1-9. 농도별 분석시료의 superoxide anion radical 소거능 분석 결과

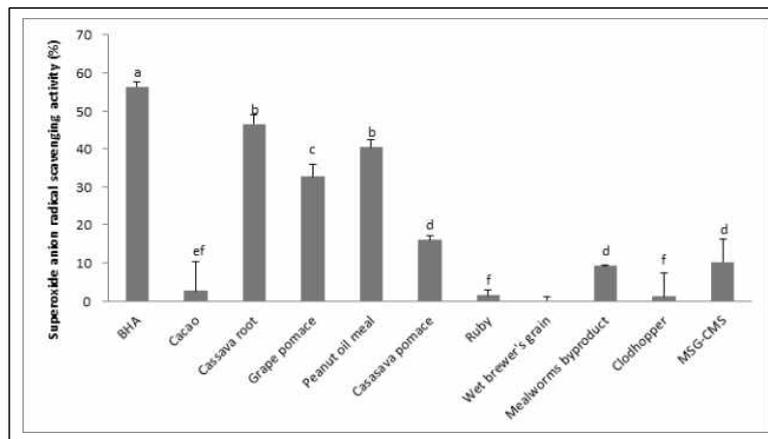


Figure 1-10. 분석시료 100µg/mL 농도에서의 superoxide anion radical 소거능 분석 결과(P<0.01) (a-d are significantly different among the samples).

Table 1-7. 분석시료 100µg/mL 농도에서의 superoxide anion radical 소거능 분석 결과

Samples	%
BHA	56.40±1.21 <sup>a</sup>
Cacao	2.62±7.85 <sup>ef</sup>
Cassava root	46.50±2.45 <sup>b</sup>
Grape pomace	32.68±3.20 <sup>c</sup>
Peanut oil meal	40.40±2.14 <sup>b</sup>
Casasava pomace	16.03±1.20 <sup>d</sup>
Ruby	1.46±1.38 <sup>f</sup>
Wet brewer's grain	0.00±2.33 <sup>f</sup>
Mealworms byproduct	9.16±0.20 <sup>d</sup>
Clodhopper	1.18±6.08 <sup>f</sup>
MSG-CMS	10.26±6.13 <sup>d</sup>

<sup>a-d</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

○ ABTS+ radical assay를 통한 총 항산화력 평가

- ABTS 항산화 측정법은 DPPH와 같은 radical 소거법에 의한 항산화능 측정법이라는 점에서는 같지만, 화학 반응을 통해 free radical이 유발된 용액에 시료를 넣어 항산화를 측정한다는 점에서 다름. 또한 free radical을 유발하여 용액을 준비할 때 시간이 소모되지만 항산화 측정 실험에서는 빠른 결과를 볼 수 있는 장점이 있음. DPPH는 pH, 빛 그리고 온도에 영향을 받는 반면에 ABTS는 pH의 변화에 민감하게 작용하지 않는 장점이 있음.

- ABTS법은 다른 간접적인 방법 중에서 가장 많이 사용되는 방법임. 이 방법은 Miller 등에 의해서 1993년에 처음으로 고안된 것으로 시료의 생리활성을 측정하기 위해 사용되었지만 이후 식품과 천연 수용성 페놀성 물질을 시험하기 위해 널리 응용되었음. 이 방법은 페놀성 화합물을 함유한 시료의 첨가로 인해 2,2'-azinobis(ABTS, 3-ethyl-benzothiaziline-6-sulfonate)가 산화되어 라디칼 양이온(radical cation)인 ABTS·+가 생성되고 이것의 분해를 측정하여 항산화 활성을 계산하는 방법임. ABTS는 600-750nm의 범위에서 강한 흡수를 보여주며 이로 인해 분광 분석으로 쉽게 측정할 수 있음. 페놀성 화합물이 없을 경우 ABTS는 비교적 안정하지만, 페놀성 화합물과 같은 수소공여체(H-donor)와는 강렬하게 반응하여 무색의 ABTS로 변환됨. 따라서 항산화 활성은 페놀성 화합물을 함유한 시료와 반응하여 소비된 ABTS의 양을 측정함.

- Figure 1-11은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 ABTS radical 소거활성을 나타낸 결과임.

- 그 결과 중 시료 50 ug/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-8 및 Figure 1-12에 나타내었음. 분석결과는 대부분의 분석시료 BHA보다 낮은 활성을 나타내었음( $P < 0.01$ ). 시료 간 분석결과, MSG-CMS가 상대적으로 ABTS radical 소거활성이 높게 나타남( $P < 0.01$ ).

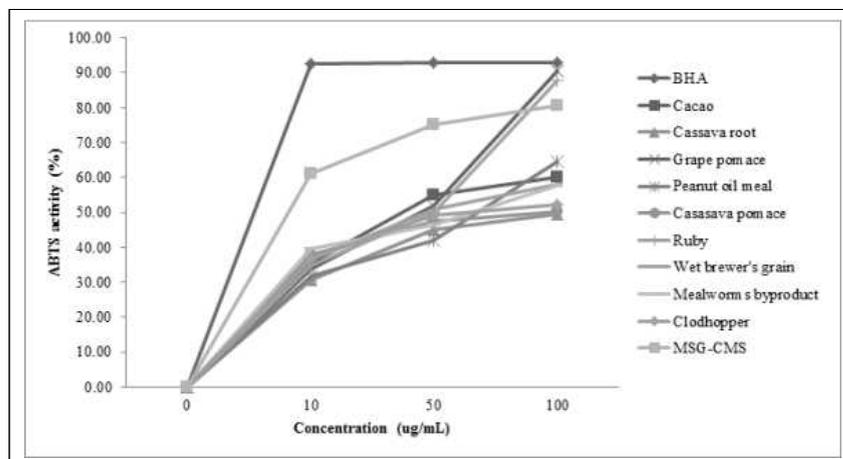


Figure 1-11. 농도별 시료의 ABTS radical 소거능 분석 결과

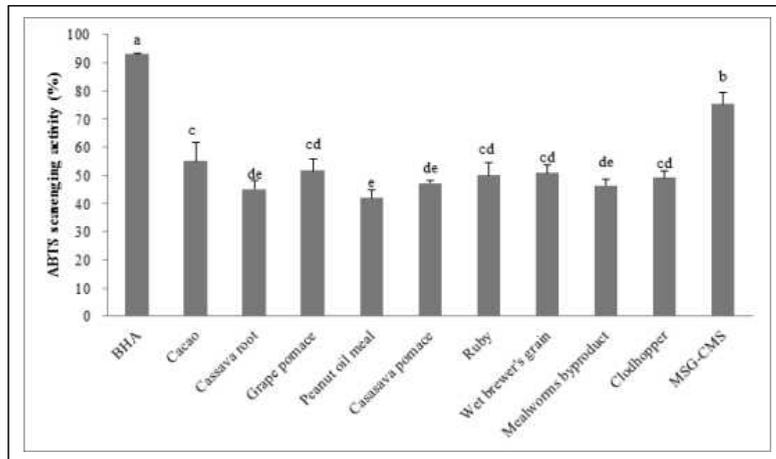


Figure 1-12. 분석시료 50ug/mL 농도에서의 ABTS radical 소거능 분석 결과 (<sup>a-d</sup> are significantly different among the samples(P<0.01)).

Table 1-8. 분석시료 50ug/mL 농도에서의 ABTS radical 소거능 분석 결과

Samples	ABTS activity
BHA	92.90±0.42 <sup>a</sup>
Cacao	54.98±6.90 <sup>c</sup>
Cassava root	45.15±3.04 <sup>de</sup>
Grape pomace	51.76±3.97 <sup>cd</sup>
Peanut oil meal	42.03±2.64 <sup>e</sup>
Casava pomace	47.29±1.11 <sup>de</sup>
Ruby	49.94±4.41 <sup>cd</sup>
Wet brewer's grain	50.91±2.76 <sup>cd</sup>
Mealworms byproduct	46.40±2.02 <sup>de</sup>
Clodhopper	49.09±2.54 <sup>cd</sup>
MSG-CMS	75.21±4.38 <sup>b</sup>
SEM	2.04
P	0.01

<sup>a-d</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

○ FRAP(ferric reducing antioxidant power)를 이용한 총항산화력 측정

- FRAP법은 전자공여 능력을 통해 시료의 항산화 활성을 검증하기 위해 많이 사용하는 방법 중 하나임. 낮은 pH에서 환원제에 의해 3가 철이 2가 철로 환원되는 원리를 기초로 고안되어진 방법이고 흡광도가 증가할수록 항산화 활성 이 높음을 의미함.
- Figure 1-13은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 FRAP(ferric reducing antioxidant power) 소거활성을 나타낸 결과임. 이 결과 중 시료 1mg/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-9 및 Figure 1-14에 나타내었음.

- 분석결과, 포도박이 가장 높은 FRAP radical 소거활성을 나타냈음( $P<0.01$ ). 다음으로 완두분이 상대적으로 높은 FRAP radical 소거활성의 활성이 높게 나타났음( $P<0.01$ ).

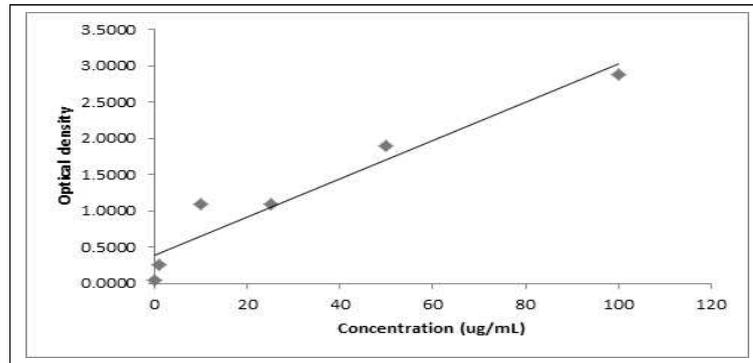


Figure 1-13. Fe(II)의 표준 곡선 변화도

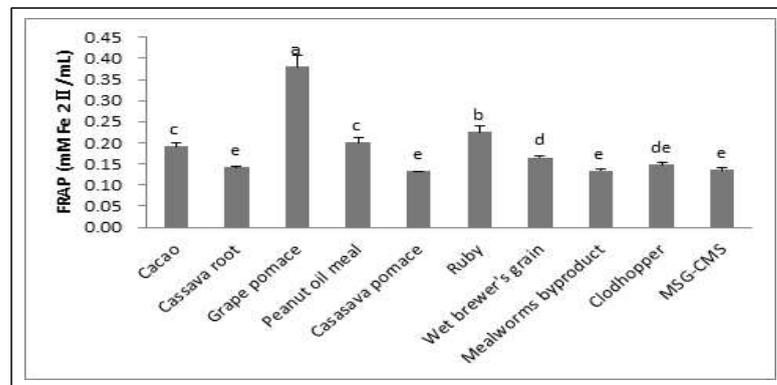


Figure 1-14. 분석시료 1mg/mL 농도에서의 FRAP radical 소거능 분석 결과 (<sup>a-d</sup> are significantly different among the samples( $P<0.01$ ))

Table 1-9. 분석시료 1mg/mL 농도에서의 FRAP radical 소거능 분석 결과

Samples	FRAP(%)
Cacao	0.19±0.01 <sup>c</sup>
Cassava root	0.14±0.00 <sup>e</sup>
Grape pomace	0.38±0.03 <sup>a</sup>
Peanut oil meal	0.20±0.01 <sup>c</sup>
Casasava pomace	0.13±0.00 <sup>e</sup>
Ruby	0.23±0.01 <sup>b</sup>
Wet brewer's grain	0.17±0.00 <sup>d</sup>
Mealworms byproduct	0.13±0.00 <sup>e</sup>
Clodhopper	0.15±0.00 <sup>de</sup>
MSG-CMS	0.14±0.01 <sup>e</sup>

<sup>a-d</sup> Means±S.D. were significantly different within the same column( $P<0.01$ ).

○ Nitric oxide radical 소거활성

- Nitric oxide는 생체내에서 NO synthase(NOS)라는 효소의 촉매작용을 통해 L-arginine로부터 생성되는 반응성이 강한 자유라디칼임. NO는 생리적인 현상인 혈압 조절과 신경전달 매개체와 작용하며, 면역반응에 중추적인 역할을 하고 있으며, 뼈를 형성하는 chondrocyte와 synoviocyte 같은 세포에서도 발견되고 있음. 발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite는 독성을 가지고 있고, nitrate도 체내, 체외에서 효소작용에 의해 nitrite로 환원되기 때문에 일정농도 이상 섭취할 경우, 식품내의 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하고, 또한 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있음.
- Figure 1-15은 카카오박, 카사바 뿌리, 포도박, 땅콩피, 카사바 주정박, 완두분, 맥주박, 밀웜박, 굼벵이, MSG-CMS에 대한 nitric oxide radical 소거활성을 나타낸 결과임. 이 결과 중 시료 100 ug/mL의 농도에서의 결과를 Table 1-10 및 Figure 1-16에 나타냈음. 분석결과, 카사바뿌리 가장 높은 nitric oxide radical 소거활성을 나타냈음( $P < 0.01$ ).

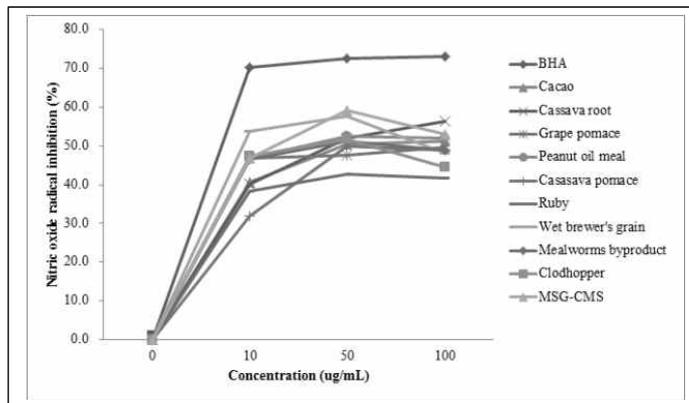


Figure 1-15. 농도별 시료의 nitric oxide radical 소거 활성에 대한 분석 결과

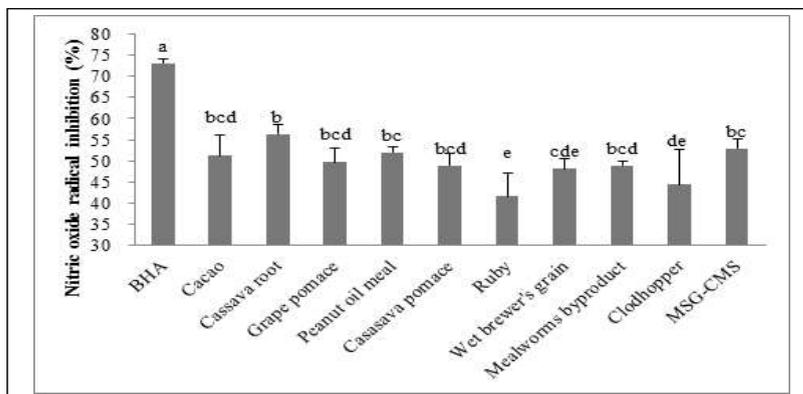


Figure 1-16. 분석시료 100ug/mL 농도에서의 nitric oxide radical 소거능 분석 결과( $P < 0.01$ )  
(<sup>a-d</sup> are significantly different among the samples.)

Table 1-10. 분석시료 100 ug/mL 농도에서의 nitric oxide radical 소거능 분석 결과

Samples	Nitric oxide radical inhibition(%)
BHA	73.05±1.22 <sup>a</sup>
Cacao	51.16±5.01 <sup>bcd</sup>
Cassava root	56.28±2.42 <sup>b</sup>
Grape pomace	49.64±3.23 <sup>bcd</sup>
Peanut oil meal	52.02±1.20 <sup>bc</sup>
Casasava pomace	48.90±2.70 <sup>bcd</sup>
Ruby	41.48±5.71 <sup>e</sup>
Wet brewer's grain	48.07±2.49 <sup>cde</sup>
Mealworms byproduct	48.86±1.05 <sup>bcd</sup>
Clodhopper	44.29±8.24 <sup>de</sup>
MSG-CMS	52.93±2.35 <sup>bc</sup>
SEM	2.24
P	0.01

a-d Means±S.D. were significantly different within the same column(P<0.01).

## 2. 국내 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재 탐색 및 사료개발

### 가. 국내 및 해외에서 탐색한 대체원료의 원료가치 평가

- 1) 해외 및 국내에서 검토한 원료 중 실용성 및 수급이 가능한 원료의 영양성분 분석을 통해 제품개발 시 활용가능토록 일반성분 및 아미노산 조성을 분석하고자 함.

Table 1-11. 선정된 원료의 일반성분 및 아미노산 분석

구분	카사마뿌리	카카오박	포도박	카사마주정박	조미료부산물 (MSG-CMS)
일반성분(%)					
수분	8.27	10.08	9.69	7.19	17.27
조지방	0.55	5.52	4.09	1.64	0.3
조섬유	13.25	16.72	36.1	16.68	-
조회분	5.02	6.94	5.68	12.7	3.13
칼슘	0.8	0.41	0.4	0.55	0.04
인	0.04	0.21	0.16	0.15	0.19
조단백질	2.42	11.56	8.77	12.83	43.6
총아미노산 함량(%)					
ASP	0.18	0.74	0.71	0.89	0.47
THR	0.11	0.37	0.31	0.55	0.14
SER	0.12	0.42	0.38	0.57	0.14
GLU	0.31	1.05	1.22	1.09	3.53
GLY	0.09	0.38	0.45	0.46	0.17
ALA	0.12	0.42	0.37	0.58	0.65
VAL	0.12	0.44	0.34	0.47	0.19
ILE	0.08	0.28	0.26	0.38	0.09
LEU	0.16	0.54	0.52	0.6	0.19
TYR	0.1	0.33	0.2	0.32	0.12
PHE	0.15	0.37	0.37	0.41	0.47
LYS	0.08	0.47	0.3	0.38	2.47
HIS	0.03	0.16	0.17	0.15	0.06
ARG	0.06	0.33	0.44	0.32	0.12
PRO	0.3	0.72	0.57	0.53	0.49
MET	0.02	0.11	0.11	0.13	0.07
CYS	0.03	0.15	0.13	0.12	0.1

Table 1-12. 선정된 원료의 일반성분 및 아미노산 분석

구분	밀웜박	젖은홍삼박1	젖은홍삼박2	젖은홍삼박3
Proximately analysis(%)				
Moisture	9.26	88.34	85.94	87.56
Crude fat	6.34	0.33	0.43	0.38
Crude fiber	2.16	23.47	22.03	24.24
Crude ash	8.31	0.53	0.53	0.59
Ca	0.71	0.09	0.1	0.08
P	0.57	0.04	0.04	0.03
Crude protein	73.97	1.49	1.74	1.54
Total amino acid(%)				
ASP	4.76	1.84	1.84	1.84
THR	2.47	0.79	0.79	0.79
SER	3.76	0.6	0.6	0.6
GLU	7.9	1.74	1.75	1.74
GLY	5.62	0.57	0.56	0.56
ALA	3.89	0.78	0.79	0.78
VAL	2.6	0.72	0.71	0.71
ILE	1.63	0.61	0.61	0.59
LEU	4.7	1.3	1.29	1.29
TYR	2.03	0.55	0.53	0.53
PHE	2.48	0.93	0.91	0.9
LYS	4.19	0.69	0.68	0.68
HIS	1.16	0.38	0.37	0.37
ARG	4.2	1.25	1.15	1.2
PRO	3.38	0.71	0.75	0.72
MET	0.99	0.28	0.3	0.3
CYS	1.19	0.26	0.28	0.27

나. 대체원료의 이용성 증진을 위한 가공방법

1) 가공방법

- 수입에 의존하고 있는 돼지 혈청분말(SDPP)을 대체할 국내 원료 탐색 및 안전성과 소화율증진을 위한 가공방법 연구
- 전혈분말의 가공방법을 통한 SDBM 및 FDBM 제품 안전성, 원료의 상품성 개선

가) 분말 혈분 원료 제조

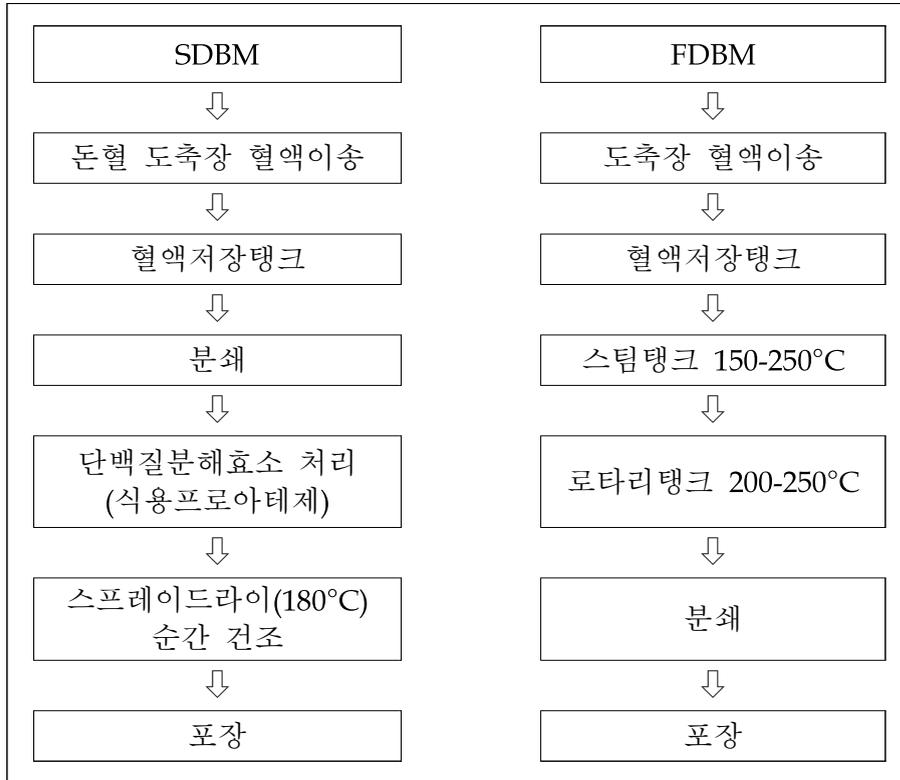


Figure 1-17 . 실험에 사용될 전혈분말(SDBM, Spray dried blood meal) 및 가수분해 전혈분말(FDBM, Flash dried blood meal) 제조과정.

○ 분말혈분의 제조는 위의 그림에 따라 제조하였음. 즉, 가수분해 전혈(FDBM)을 열풍 건조기를 이용하여 건조하고 분쇄기로 분쇄하였음. 분사건조 전혈(SDBM)은 Atomizer형 분사 건조기를 이용하여 20,000rpm에서 1.2L/시간으로 건조하였음.



Figure 1-18 . 실험에 사용될 전혈분말 모습  
(SDBM : 가수분해 전혈분말, FDBM : 열건조 전혈분말, SDPP : 수입혈장분말)

2) 결과

○ Table 1-13은 가수분해 전혈 분말(SDBM), 열건조 전혈분말(FDBM) 및 돼지혈청분말(SDPP)의 일반성분 및 미량성분 함량을 분석한 결과임.

Table 1-13. 전분분말(SDBM, FDBM)과 혈청분말(SDPP)제품의 일반성분 비교

Ingredients	SDBM	FDBM	SDPP	CV(%)	SEM
Moisture(%)	6.69 <sup>a</sup>	4.91 <sup>c</sup>	5.66 <sup>b</sup>	5.40	0.17
Crude protein(%)	91.18 <sup>b</sup>	96.88 <sup>a</sup>	84.92 <sup>c</sup>	1.43	0.74
Crude fat(%)	0.65 <sup>a</sup>	0.27 <sup>b</sup>	0.16 <sup>b</sup>	16.84	0.04
Crude fiber(%)	0.58 <sup>a</sup>	0.08 <sup>c</sup>	0.37 <sup>b</sup>	24.75	0.05
Crude ash(%)	4.36 <sup>a</sup>	1.69 <sup>b</sup>	0.23 <sup>c</sup>	2.65	0.03
Ca(%)	0.15	0.15	0.16	10.18	0.01
P(%)	0.26 <sup>b</sup>	0.12 <sup>c</sup>	0.92 <sup>a</sup>	8.01	0.02
Na(ppm)	9081.94 <sup>b</sup>	2703.39 <sup>c</sup>	19357.02 <sup>a</sup>	0.31	18.83
Mg(ppm)	312.77 <sup>a</sup>	203.91 <sup>c</sup>	239.36 <sup>b</sup>	1.17	1.69
Fe(ppm)	2246.13 <sup>a</sup>	2302.23 <sup>a</sup>	62.42 <sup>b</sup>	2.70	24.00

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

○ Table 1-14는 가수분해 전혈 분말(SDBM), 열건조 전혈 분말(FDBM) 및 돼지혈청분말(SDPP)의 아미노산 구성 성분을 비교 분석한 것임. 분석 결과, serine, proline, methionine에서는 시료 간 유의적인 차이가 나타나지 않았음. threonine, glutamic acid, isoleucine, tyrosine, cysteine은 SDBM와 FDBM가 SDPP보다 유의적으로 낮게 나타났으나(P<0.05), SDBM와 FDBM가 aspartic acid, glycine, alanine, valine, leucine, phenylalanine, histidine, lycine이 SDPP보다 유의적으로 높게 나타났음(P<0.05). 하지만 총 단백질의 경우에 FDBM가 상대적으로 높게 나타났으나 시료간 유의적인 차이는 나타나지 않았음.

Table 1-14. 전혈 분말과 혈청분말(SDPP)제품의 아미노산 구성성분 분석결과

Ingredients	SDBM	FDBM	SDPP	CV(%)	SEM
Aspartic acid	9.13 <sup>ab</sup>	10.45 <sup>a</sup>	8.11 <sup>b</sup>	7.69	0.41
Threonine	2.24 <sup>c</sup>	3.21 <sup>b</sup>	4.60 <sup>a</sup>	5.02	0.10
Serin	2.80 <sup>b</sup>	4.22 <sup>a</sup>	4.27 <sup>a</sup>	8.80	0.19
Glutamic acid	8.43 <sup>b</sup>	8.70 <sup>b</sup>	11.92 <sup>a</sup>	9.67	0.54
Proline	3.84	3.93	4.22	9.89	0.23
Glycine	3.90 <sup>a</sup>	4.09 <sup>a</sup>	3.13 <sup>b</sup>	8.71	0.19
Alanine	7.22 <sup>a</sup>	7.29 <sup>a</sup>	4.38 <sup>b</sup>	3.74	0.14
Valine	8.10 <sup>a</sup>	7.10 <sup>b</sup>	5.23 <sup>c</sup>	3.27	0.13
Isoleucine	0.99 <sup>b</sup>	0.99 <sup>b</sup>	2.95 <sup>a</sup>	7.67	0.07
Leucine	10.90 <sup>a</sup>	11.33 <sup>a</sup>	6.91 <sup>b</sup>	10.80	0.61
Tyrosine	1.73 <sup>c</sup>	2.17 <sup>b</sup>	3.43 <sup>a</sup>	6.80	0.10
Phenylalanine	5.60 <sup>a</sup>	5.93 <sup>a</sup>	4.41 <sup>b</sup>	9.87	0.30
Histidine	6.70 <sup>a</sup>	6.72 <sup>a</sup>	3.50 <sup>b</sup>	6.79	0.22
Lysine	7.90 <sup>a</sup>	8.28 <sup>a</sup>	7.12 <sup>b</sup>	2.96	0.13
Arginine	2.99 <sup>b</sup>	3.97 <sup>a</sup>	4.01 <sup>a</sup>	8.49	0.18
Cystine	1.67 <sup>b</sup>	1.71 <sup>b</sup>	5.23 <sup>a</sup>	10.42	0.17
Methionine	0.61	0.64	0.65	12.35	0.05
Total	84.76	90.72	84.07	6.50	3.25

<sup>a,b,c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

○ Table 1-15은 가수분해 전혈분말(SDBM), 열건조 전혈분말(FDBM) 및 돼지 혈청분말(SDPP)의 병원성 미생물을 분석한 결과임. 분석결과 *E. coli spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.* 및 Yeast와 Mold는 모든 시료에서 음성으로 나타났음.

Table 1-15. 전혈분말(SDBM, FDBM)과 혈청분말(SDPP)제품의 병원성 분석결과

Items	SDBM	FDBM	SDPP
Total bacteria	Negative	Negative	Negative
<i>E. coli spp.</i>	Negative	Negative	Negative
<i>Salmonella spp.</i>	Negative	Negative	Negative
<i>Listeria spp.</i>	Negative	Negative	Negative
<i>Staphylococcus spp.</i>	Negative	Negative	Negative
<i>Bacillus spp.</i>	Negative	Negative	Negative
Yeast and Mold	Negative	Negative	Negative

○ Table 1-16는 가수분해 전혈분말(SDBM), 열건조 전혈분말(FDBM) 및 돼지혈청분말(SDPP)의 바이러스를 분석한 것임. 분석결과 PRRS(돼지생식기호흡기증후군), PCV2(돼지썩코바이러스), JEV(일본뇌염바이러스), EMCV(뇌심근염바이러스), SIV(돼지인플루엔자바이러스), AD(오제스키병), PPV(돼지과보바이러스), PCMV(돼지싸이토메갈로바이러스), HEV(E형 간염바이러스 병), CSFV(돼지열병바이러스), Porcine delta-coronavirus(돼지델타코로나바이러스), PED(돼지유행성설사병), TGE(돼지전염성위장염)은 모든 시료에서 음성으로 나타났음.

Table 1-16. 혈분분말(SDBM, FDBM)과 혈청분말(SDPP)제품의 바이러스 분석결과

Items	SDBM	FDBM	SDPP
PRRS	Negative	Negative	Negative
PCV2	Negative	Negative	Negative
JEV	Negative	Negative	Negative
EMCV	Negative	Negative	Negative
SIV	Negative	Negative	Negative
AD	Negative	Negative	Negative
PPV	Negative	Negative	Negative
PCMV	Negative	Negative	Negative
HEV	Negative	Negative	Negative
CSFV	Negative	Negative	Negative
Porcine delta-coronavirus	Negative	Negative	Negative
PED	Negative	Negative	Negative
TGE	Negative	Negative	Negative

○ Table 1-17은 가수분해 전혈 분말(SDBM), 열건조 전혈분말(FDBM) 및 돼지혈청분말(SDPP)의 분말의 색상, 액상 상태에서의 색깔 및 pH를 측정된 결과를 나타내었음.

○ Table 1-18은 가수분해 전혈 분말(SDBM), 열건조 전혈 분말(FDBM) 및 돼지혈청분말(SDPP)의 펩신소화율을 분석한 것임. 분석결과 FDBM 및 SDPP가 각각 93.46% 및 90.15%로 SDBM의 83.35%보다 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 이상의 결과 모든 시료의 펩신소화율이 80% 이상으로 매우 우수한 단백질 공급원으로 평가되었음.

Table 1-17. 전혈 분말(SDBM, FDBM)과 혈청분말(SDPP)제품의 분말 및 액상 상태에서의 색깔비교 및 pH 특성

Items	SDBM	FDBM	SDPP	CV(%)	SEM
Color of powder					
CIE L	42.07 <sup>b</sup>	41.84 <sup>b</sup>	75.72 <sup>a</sup>	1.77	0.54
CIE a	4.06 <sup>a</sup>	2.24 <sup>b</sup>	3.94 <sup>a</sup>	5.93	0.12
CIE b	2.56 <sup>b</sup>	0.48 <sup>c</sup>	12.38 <sup>a</sup>	7.49	0.22
chroma	4.79 <sup>b</sup>	2.29 <sup>c</sup>	12.99 <sup>a</sup>	6.19	0.24
hue angle	32.20 <sup>b</sup>	11.93 <sup>c</sup>	72.40 <sup>a</sup>	7.54	1.69
Color of liquid					
CIE L	29.2 <sup>b</sup>	27.1 <sup>b</sup>	51.5 <sup>a</sup>	19.93	4.13
CIE a	3.5 <sup>a</sup>	1.5 <sup>b</sup>	0.1 <sup>b</sup>	45.52	0.45
CIE b	1.6 <sup>ab</sup>	0.3 <sup>b</sup>	6.8 <sup>a</sup>	99.45	1.68
chroma	3.9	1.5	6.9	72.03	1.70
hue angle	24.7 <sup>b</sup>	13.2 <sup>c</sup>	93.4 <sup>a</sup>	12.81	3.23
pH	6.36 <sup>c</sup>	7.73 <sup>a</sup>	7.18 <sup>b</sup>	0.12	0.01

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

Table 1-18. 전혈분말(SDBM, FDBM)과 혈청분말(SDPP)제품의 펩신소화율 분석결과

Items	SDBM	FDBM	SDPP	CV(%)	SEM
Pepsin digestibility	83.35 <sup>b</sup>	93.46 <sup>a</sup>	90.15 <sup>a</sup>	15.32	0.78

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

#### 다. 대체원료의 이용성 증진을 위한 가공방법과 대체원료의 적정, 최적 첨가수준 연구

- 수입산 혈청분말(SDPP)과 어분을 전혈분말(SDBM, FDBM)로 대체 가능한 적정 첨가수준 연구

##### 1) 재료 및 방법

- 실험동물 : 단계별 사료 내 적정 영양소 수준을 알아보기 위해 이유자돈(L×Y×D, 25±2 일령) 330두를 공시하였으며, 각 실험별로 실험1은 150두, 실험2는 90두, 실험3은 90두로 공시하여 연속이 아닌 별개로 사양실험을 진행하였음.

○ Table 1-19. 이유전기 사료 SDPP 대체 혈분분말의 자돈의 성장특성에 미치는 영향(실험1)

Ingredients	Dietary treatments <sup>1)</sup>				
	SDPP	SDPP+SDBM	SDBM	SDPP+FDBM	FDBM
SDPP	4.00	2.00	0.00	2.00	0.00
SDBM	0.00	2.00	4.00	0.00	0.00
FDBM	0.00	0.00	0.00	2.00	4.00
이하 원료 생략	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup> SDPP, 100% SDPP; SDPP+SDBM, 50% SDPP and 50% SDBM; SDPP+FDBM, 50% SDPP and 50% FDBM; FDBM, 100% FDBM.

○ Table 1-20. 이유후기 사료 어분 대체 혈분분말의 자돈의 성장특성에 미치는 영향(실험2)

Ingredients	Dietary treatments <sup>1)</sup>		
	FM	FM+SDBM 0.5%	FM+SDBM 1%
Fishmeal	4.00	2.00	0.44
SDBM	0.00	0.50	1.00
이하 원료 생략	-	-	-

<sup>1)</sup> FM, Fish meal; FM+SDBM 0.5%; 50% FM and 50% SDBM; FM+SDBM 1%, 11% FM and 89% SDBM.

○ Table 1-21. 이유후기 혈분분말의 첨가 수준에 따른 자돈의 성장특성에 미치는 영향(실험3)

Ingredients	Dietary treatments <sup>1)</sup>		
	CON	0.1%FDBM	0.1%SDBM
SDBM	0.00	0.00	0.10
FDBM	0.00	0.10	0.00
이하 원료 생략	-	-	-

<sup>1)</sup> CON, Control diet; FDBM, add 0.1% FDBM to CON; SDBM, add 0.1% SDBM to CON.

## 2) 결과

### 가) 실험1. 이유전기 사료 SDPP 대체 혈분분말의 자돈의 성장특성에 미치는 영향

○ Table 1-22와 같이 분석결과, 전기사료 기간 중 초기체중, 최종체중, 일당증체량 및 사료섭취량의 경우 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 통계적인 차이가 나타나지 않았으나, 일당증체량의 경우 SDPP가 상대적으로 높았으며, 사료섭취량은 FDBM이 상대적으로 높게 나타났음. 이상의 결과는 혈분 분말을 이용하여 SDPP 대체한 자돈사

료 급여시 SDPP와 유의적인 성장특성에 영향을 미치지 않아 혈분 분말이 단백질원으로 사용 가능한 것으로 나타났음.

Table 1-22. 실험1의 전기사료 급여기간 중의 자돈의 성장특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>					CV(%)	SEM
	SDPP	SDPP+SDBM	SDBM	SDPP+FDBM	FDBM		
Body wt(kg)							
Initial	6.93	6.90	6.88	6.72	6.99	10.10	0.28
Final	11.46	11.37	10.60	11.03	11.13	15.65	0.17
ADG(g)	323	319	266	308	295	30.04	37.07
ADFI(g)	322	323	310	309	332	10.41	20.74
Gain/feed	1.00	0.99	0.86	0.99	0.89	30.05	0.11

<sup>1)</sup> SDPP, 100% SDPP; SDPP+SDBM, 50% SDPP and 50% SDBM; SDPP+FDBM, 50% SDPP and 50% FDBM; FDBM, 100% FDBM.

○ Table 1-23과 같이 분석결과 처리구간별 총호기성 미생물, *Lactobacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *E. coli*의 유의적인 차이는 나타내지 않았음. 모든 처리구에서 총호기성 미생물은 8.18-8.71 CFU/g, *Lactobacillus spp.*는 5.16-5.71 CFU/g, *Clostridium spp.*는 3.36-3.92 CFU/g 및 *E. coli*는 6.20-6.89 CFU/g 으로 나타났음.

Table 1-23. 실험 I 의 전기사료 급여기간 중의 자돈 분의 미생물학적 특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>					CV (%)	SEM
	SDPP	SDPP+SDBM	SDBM	SDPP+FDBM	FDBM		
Total anaerobic bacteria	8.18	8.30	8.52	8.71	8.40	6.04	0.28
<i>Lactobacillus spp.</i>	5.16	5.39	5.71	5.41	5.70	9.39	0.27
<i>Clostridium spp.</i>	3.36	3.63	3.71	3.95	3.92	13.87	0.26
<i>E. coli</i>	6.89	6.60	6.29	6.60	6.20	7.76	0.29

<sup>1)</sup> SDPP, 100% SDPP; SDPP+SDBM, 50% SDPP and 50% SDBM; SDPP+FDBM, 50% SDPP and 50% FDBM; FDBM, 100% FDBM.

○ Table 1-24과 같이 본 실험의 결과 모든 시험구의 BUN수치가 3.30-6.50수준으로 정상 수준으로 나타났음. 적혈구의 경우엔 SDPP+FDBM처리구가 가장 높은 수치를 나타내었으며, SDPP가 가장 낮은 적혈구수를 나타내었음. 이러한 결과는 혈청분말에 상대적으로 적은 철분성분 때문에 낮게 나타난 것으로 판단되며, 전혈분말에 상대적으로 높은 철분성분 때문에 적혈구의 성분에 영향을 미친 것으로 판단됨.

Table 1-24. 전기사료시기의 자돈의 혈액특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>					CV (%)	SEM
	SDPP	SDPP+SDBM	SDBM	SDPP+FDBM	FDBM		
BUN(mg/dL)	6.50	3.30	6.33	4.83	4.50	38.79	0.82
RBC	5.21 <sup>c</sup>	5.99 <sup>b</sup>	5.90 <sup>bc</sup>	7.20 <sup>a</sup>	6.14 <sup>b</sup>	9.46	0.24
WBC	20.27 <sup>b</sup>	21.07 <sup>b</sup>	31.03 <sup>a</sup>	24.16 <sup>ab</sup>	22.47 <sup>b</sup>	24.60	2.40
Hct	30.93 <sup>c</sup>	35.10 <sup>b</sup>	32.58 <sup>bc</sup>	39.22 <sup>a</sup>	34.68 <sup>b</sup>	6.95	0.97
Hb	9.23 <sup>c</sup>	10.76 <sup>b</sup>	10.43 <sup>b</sup>	11.58 <sup>a</sup>	10.52 <sup>b</sup>	5.91	0.25
Platelet	397.17 <sup>b</sup>	691.60 <sup>a</sup>	465.67 <sup>b</sup>	529.50 <sup>b</sup>	460.67 <sup>b</sup>	24.96	51.22
IgA	467.75	537.95	436.12	427.25	451.98	40.54	76.40
IgG	7915.86	9693.73	9469.79	6101.43	7543.66	29.39	970.82
IgM	846.07	1096.17	857.14	747.07	852.02	38.35	136.55
TNF- $\alpha$ /TNFSF2	117.29 <sup>ab</sup>	109.44 <sup>ab</sup>	93.20 <sup>b</sup>	97.29 <sup>b</sup>	134.62 <sup>a</sup>	20.19	9.10
Neutrophil	38.87 <sup>bc</sup>	31.52 <sup>c</sup>	49.20 <sup>a</sup>	36.12 <sup>bc</sup>	42.83 <sup>ab</sup>	14.42	2.35
Lymphocyte	54.27 <sup>ab</sup>	57.56 <sup>a</sup>	44.82 <sup>b</sup>	57.87 <sup>a</sup>	51.03 <sup>ab</sup>	14.08	3.05
Monocyte	3.62	3.36	1.98	5.47	3.43	98.67	1.44
Eosinophil	3.05 <sup>ab</sup>	1.77 <sup>c</sup>	3.62 <sup>a</sup>	2.23 <sup>bc</sup>	2.83 <sup>ab</sup>	26.88	0.29
Basophil	0.35	0.44	0.38	0.48	0.48	40.84	0.07

<sup>1)</sup> SDPP, 100% SDPP; SDPP+SDBM, 50% SDPP and 50% SDBM; SDPP+FDBM, 50% SDPP and 50% FDBM; FDBM, 100% FDBM.

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

나) 실험2. 이유후기 사료 어분 대체 혈분분말의 자돈의 성장특성에 미치는 영향

○ Table 1-25와 같이 이유후 자돈의 후기사료(2-4주간)에 어분함량 대비 50% 가수분해 전혈 분말(SDBM)과 열건조 전혈 분말(FDBM)의 대체에 따른 일당증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 대한 결과를 나타낸 것임. FM은 어분처리구이며, FM + 0.5 SDBM 처리구는 SDBM를 0.5% 첨가하여 어분을 50% 대체하였으며, FM+1.0 SDBM 처리구는 SDBM를 1.0% 첨가하여 어분을 89% 대체한 실험을 실시하였음. 분석결과 일당증체량, 사료섭취량의 경우 시험구간 유의적인 차이를 나타내지 않았음(P<0.05). 이상의 결과 혈분분말이 어분의 50%까지 대체하여도 시험구의 성장특성에는 유의적인 차이가 나타나지 않는 것으로 나타났음.

Table 1-25. 실험2의 후기사료 급여기간 중 자돈의 성장특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	FM	FM+SDBM 0.5%	FM+SDBM 1%		
Body wt(kg)					
Initial	11.46	11.37	10.60	15.21	0.69
Final	19.74	19.33	17.34	14.26	1.10
ADG(g)	592	569	482	23.93	53.49
ADFI(g)	866	877	825	10.66	13.29
Gain/feed	0.68	0.65	0.58	23.73	0.06

<sup>1)</sup> FM, Fish meal; FM+SDBM 0.5%; 50% FM and 50% SDBM; FM+SDBM 1%, 11% FM and 89% SDBM.

○ Table 1-26은 분 중의 미생물의 수를 분석한 결과를 나타내었음. 처리구간별 총호기성 미생물, *Lactobacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *E. coli*의 유의적인 차이는 나타내지 않았음. 모든 처리구에서 총호기성 미생물은 8.32-8.62 CFU/g, *Lactobacillus spp.*는 5.01-5.09 CFU/g, *Clostridium spp.*는 3.21-3.62 CFU/g 및 *E. coli*는 6.38-6.62 CFU/g으로 나타났음.

Table 1-26. 실험2의 후기사료 급여기간 중 분 특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	FM	FM+SDBM0.5%	FM+SDBM1%		
Total anaerobic bacteria	8.32	8.62	8.37	6.12	0.45
<i>Lactobacillus spp.</i>	5.08	5.01	5.09	9.58	0.35
<i>Clostridium spp.</i>	3.23	3.62	3.21	13.89	0.62
<i>E. coli</i>	6.38	6.62	6.77	7.12	0.28

<sup>1)</sup> FM, Fish meal; FM+SDBM 0.5%; 50% FM and 50% SDBM; FM+SDBM 1%, 11% FM and 89% SDBM.

○ Table 1-27는 후기사료 급여기간 중 자돈의 혈액특성을 분석한 결과를 나타내었음. 이 유 후 자돈의 후기사료 급여기간(2 및 4주간)에 어분함량 대비 50% 가수분해 전혈 분말(SDBM)과 열건조 전혈 분말(FDBM)의 대체에 자돈의 혈액특성을 나타낸 결과임.

Table 1-27. 실험2의 후기사료 급여기간 중 자돈의 혈액특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	FM	FM+SDBM0.5%	FM+SDBM1%		
BUN	9.67 <sup>a</sup>	6.67 <sup>b</sup>	7.00 <sup>b</sup>	20.64	0.66
RBC	6.43	6.33	6.14	10.93	0.28
WBC	21.74	16.15	17.56	26.15	1.97
Hct	38.80	38.42	36.18	11.51	1.78
Hb	12.27	12.10	11.05	11.11	0.53
Platelet	622.67	573.00	606.67	18.29	44.86
IgA	553.46	359.08	410.53	53.77	96.81
IgG	9120.91	9136.37	8522.82	30.25	1102.53
IgM	1048.96	556.27	676.56	42.12	130.79
TNF- $\alpha$ /TNFSF2	189.03	153.46	211.69	35.31	26.63
Neutrophil	30.82	37.32	37.20	25.23	3.62
Lymphocyte	64.90	58.23	56.08	15.47	3.78
Monocyte	2.13	2.13	3.43	56.67	0.59
Eosinophil	1.43 <sup>b</sup>	1.98 <sup>b</sup>	2.87 <sup>a</sup>	6.27	0.28
Basophil	0.72 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.42 <sup>b</sup>	45.74	0.09

<sup>1)</sup> FM, Fish meal; FM+SDBM 0.5%; 50% FM and 50% SDBM; FM+SDBM 1%, 11% FM and 89% SDBM.

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

다) 실험3. 이유후기사료 혈분분말의 첨가 수준에 따른 자돈의 성장특성에 미치는 영향

○ Table 1-28은 가수분해 전혈 분말(SDBM)과 열건조 전혈 분말(FDBM)의 첨가가 이유 후 자돈의 후기사료(2-4주간)기간의 자돈의 일당증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 대한 결과를 나타낸 결과임. 처리구 구분은 대조구 대비 SDBM, FDBM를 각각 0.1%첨가하여 사양실험을 실시하였음. 분석결과 후기사료 기간 중 일당증체량 및 사료급여량은 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았음. 하지만, 통계적으로는 차이가 나타나지 않았으나, 일당증체량의 경우엔 대조구와 SDBM이 FDBM보다 상대적으로 높았으며, 일당사료 섭취량의 경우에도 대조구와 SDBM이 FDBM보다 다소 높게 나타났음. 이상의 결과 일반사료에 SDBM을 처리할 경우 사료효율 증가하는 것으로 판단됨. 이에 혈분분말을 사료에 첨가할 때 사료효율을 높일 것으로 판단됨.

Table 1-28. 실험3의 후기사료 급여기간 중 자돈의 성장특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	CON	FDBM	SDBM		
Body wt(kg)					
Initial	11.43	11.03	11.13	15.16	0.70
Final	19.74	17.77	19.28	15.88	1.23
ADG(g)	592	482	582	26.08	58.75
ADFI(g)	866	768	858	10.72	3.47
Gain/feed	0.68	0.63	0.68	26.11	1.07

<sup>1)</sup> CON, Control diet; FDBM, add 0.1% FDBM to CON; SDBM, add 0.1% SDBM to CON.

○ Table 1-29과 같이 분석결과 처리구간별 총호기성 미생물, *Lactobacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *E. coli*의 유의적인 차이는 나타내지 않았음. 모든 처리구에서 총호기성 미생물은 8.46-8.82 CFU/g, *Lactobacillus spp.*는 5.13-5.96 CFU/g, *Clostridium spp.*는 3.19-3.91 CFU/g 및 *E. coli*는 6.27-6.46 CFU/g로 나타났음.

Table 1-29. 실험3의 후기사료 급여기간 중 분 특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	CON	FDBM	SDBM		
Total anaerobic bacteria	8.66	8.82	8.46	6.18	0.98
<i>Lactobacillus spp.</i>	5.96	5.37	5.13	9.25	0.78
<i>Clostridium spp.</i>	3.91	3.19	3.79	13.05	0.95
<i>E. coli</i>	6.46	6.28	6.27	7.78	0.67

<sup>1)</sup> CON, Control diet; FDBM, add 0.1% FDBM to CON; SDBM, add 0.1% SDBM to CON.

○ Table 1-30은 가수분해 전혈 분말(SDBM)과 열건조 전혈 분말(FDBM)의 첨가가 이유후 자돈의 후기사료 급여기간(2 및 4주간)의 자돈의 혈액특성을 나타낸 결과임.

○ 분석결과 BUN(Plasma urea nitrogen), RBC(Red blood cells count), WBC(white blood cells count), Hct(헤마토크릿; 혈중 적혈구용적/백혈구용적), Platelet(혈소), IgA, IgG, IgM, TNF- $\alpha$ /TNFSF2, Neutrophil(호중구), Lymphocyte(림프구), Monocyte(단핵구)의 변화에 유의적인 변이를 보이지 않았음. 하지만, 헤모글로빈의 경우 SDBM을 첨가한 처리구의 수치가 유의적으로 높았음(P<0.05). 또한 단핵구, 호산구 및 호염구의 시험구간 차이를 나타내었음(P<0.05). 즉, 단핵구의 경우엔 SDBM처리구보다 다른 시험구보다 유

의적으로 높게 나타났고, 호산구는 FDBM처리구가 상대적으로 높게 나타났으며, 호염구의 경우엔 대조구보다 유의적으로 높게 나타났음(P<0.05).

Table 1-30. 실험3의 후기사료 급여기간 중 혈액특성 분석 결과

Items	Dietary treatments <sup>1)</sup>			CV (%)	SEM
	CON	FDBM	SDBM		
BUN	10.33	7.50	6.83	26.59	0.86
RBC	5.87	6.25	6.69	8.17	0.21
WBC	16.73	24.13	24.34	26.93	2.57
Hct	34.27	36.63	41.77	8.46	1.35
Hb	11.17 <sup>ab</sup>	10.75 <sup>b</sup>	12.25 <sup>a</sup>	8.66	00.41
Platelet	522.67	609.50	471.50	29.04	67.34
IgA	395.09	386.17	420.77	63.21	117.02
IgG	8004.73	6524.52	7439.31	43.51	1366.69
IgM	764.69	682.77	686.00	58.81	193.47
TNF- $\alpha$ /TNFSF2	171.96	193.58	163.24	28.73	21.39
Neutrophil	31.67	42.00	26.70	41.30	5.59
Lymphocyte	64.93	53.23	67.68	21.28	5.38
Monocyte	1.10 <sup>b</sup>	2.07 <sup>b</sup>	3.60 <sup>a</sup>	40.59	0.43
Eosinophil	1.57 <sup>b</sup>	2.33 <sup>a</sup>	1.48 <sup>b</sup>	36.72	0.26
Basophil	0.73 <sup>a</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.53 <sup>ab</sup>	38.18	0.08

<sup>1)</sup> CON, Control diet; FDBM, add 0.1% FDBM to CON; SDBM, add 0.1% SDBM to CON.

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

## 라. 한우 비육우에서 재고미의 사료자원화에 관한 연구

### 1) 연구목적

- 국내산 재고미를 이용을 통한 수입 곡류사료 대체효과 및 생산성 향상
  - 거세한우 사양시험을 통한 재고미의 급여효과 검증
  - 수입 단미원료인 소맥, 옥수수 등의 대체효과 검토 : 생산성
- 한우에 대한 재고미의 사료자원으로서 가능성 평가
  - 재고미를 이용한 비육우 사료의 기호성 및 급여효과 검증
  - 사양시험 모니터링을 통한 발육특성

### 2) 실험설계

- 거세한우 사양실험
  - 시험장소 : 강원도 축산기술연구소

- 공시동물 : 비육전기(대조구 7두 VS 처리구 7두)
- 조사항목 : 육성성적(증체량, 사료섭취량 및 사료요구율), 혈액성상(영양, 질병, 면역 관련 성분 분석), 발효특성(시험 사료별 pH, 암모니아, 휘발성 지방산 및 미생물 성장률), 영양소 분해율(시험 사료별 건물, 단백질 및 전분 분해율)

○ *In situ* 및 *in vitro* 반추위 영양소 분해율 실험

- 시험장소 : 강원도 반추영양학 실험실 및 부속목장
- 주요곡물 : 재고미, 옥수수, 소맥
- 배합사료 : 관행 배합사료, 재고미 5% 첨가 배합사료
- 공시동물 : 반추위 fistula가 장착된 한우 암소 3두
- 조사항목 : 반추위 배양 시간별 건물, 조단백질, 전분 분해율

### 3) 실험 결과

- 재고미 급여가 거세한우의 성장에 미치는 영향 대한 결과는 Table 1-31에 나타내었음. 육성기의 개시체중은 비슷한 수준이었지만, 종료체중은 대조구에 비해 처리구에서 4.5% 증가되는 경향을 나타내었음. 또한, 육성기의 일당증체량은 대조구에 비해 처리구에서 13.4% 증가됨.
- 비육전기의 일당증체량, 배합사료 섭취량 및 사료요구율은 대조구에 비해 처리구에서 개선되는 경향을 보였지만, 통계적인 유의차는 나타나지 않았으며, 비육후기의 처리간 사료섭취량의 차이가 없었으나, 처리구에 비해 대조구에서 일당증체량 및 사료요구율이 감소되는 경향을 나타내었음.
- 재고미 급여가 거세한우의 성장에 미치는 영향 대한 결과는 Figure 1-19에 나타내었음. 육성기 및 비육전기 동안 전반적인 혈중 대사물질 농도는 처리간 유사한 수준이었지만, 비육전기 혈중 NEFA농도는 재고미의 첨가로 감소되었음.
- 비육후기의 혈중 BUN, Cholesterol 수치는 재고미의 첨가로 인해 각각 21.61, 26.53% 증가 되었으나, 간 기능 관련 혈중 대사물질 수치는 재고미의 첨가로 감소되는 경향을 나타내었음.
- 재고미 급여가 비육후기 거세한우의 초음파 육질진단 성적은 Figure 1-20에 나타내었음. 재고미의 첨가로 초음파 측정된 근내지방도와 등지방두께는 증가되는 경향을 보였지만, 등심단면적은 처리간 유사한 수준으로 결과를 나타내었음.
- 재고미의 *in situ* 반추위 영양소 분해율 실험 결과는 Figure 1-21에 나타내었음. 주요곡물의 *in situ* 반추위 건물 분해율은 0시간에 소맥, 옥수수 및 쌀 순으로 낮아지는 경향을 보였지만, 3시간부터 24시간까지는 유사한 경향을 나타내었고, 배합사료의 *in situ* 반추위 건물 분해율은 처리간 유사함
- 주요 곡물 및 배합사료의 반추위조단백질 분해율은 전반적으로 처리간 유사하였고,

주요 곡물의 반추위 전분 분해율은 처리간 유사, 배합사료는 재고미 처리구에서 전반적으로 높은 경향을 나타내었음.

- 재고미의 *in vitro* 반추위 영양소 분해율 실험 결과는 Figure 1-21에 나타내었음. 주요 곡물별 pH는 배양 후 3시간에 재고미가 가장 높았으며, 배합사료의 pH는 처리간 유사한 수준이었음.
- 또한, 주요 곡물 및 배합사료별 미생물 성장도는 전체 배양시간 동안 처리간 유사한 수준을 나타냈었고, 주요 곡물 및 배합사료의 암모니아 생성량은 대부분의 배양시간에서 처리간 유사한 수준을 나타내었으며, 주요 곡류 및 배합사료의 휘발성 지방산 생성량은 대부분의 배양시간에서 처리간 유사한 수준을 나타내었음.

Table. 1-31. 재고미 급여가 한우거세우의 성장에 미치는 영향

Items	Control	Treatment	P
Total(0~123 days)			
Initial body weight(kg)	262.43±31.99	263.86±30.16	0.8854
Final body weight(kg)	382.14±30.81	399.29±23.72	0.2661
Total gain(kg)	119.71±14.14	135.43±13.39	0.0846
Average daily gain(kg)	0.97±0.11	1.10±0.11	0.0610
Feed intake(DM kg/day/head)	9.30±0.33	9.40±0.12	-
Formula feed	7.87±0.24	7.97±0.12	-
Rice straw	1.43±0.14	1.43±0.14	-
Feed conversion ratio	9.66±1.03	8.61±0.84	0.0582
Total(123~410 days)			
Initial body weight(kg)	382.14±30.81	399.29±23.72	0.2661
Final body weight(kg)	548.71±40.84	577.57±43.74	0.2261
Total gain(kg)	166.57±55.49	178.28±54.17	0.6966
Average daily gain(kg)	0.58±0.19	0.62±0.19	0.6966
Feed intake(DM kg/day/head)	9.08±0.23	9.15±0.08	-
Formula feed	7.48±0.17	7.55±0.08	-
Rice straw	1.60±0.10	1.60±0.10	-
Feed conversion ratio	16.85±5.10	15.97±5.74	0.7662
1st(410~498 days)			
Months of age	25.57±0.53	26.00±0.58	-
Initial body weight(kg)	548.71±40.84	577.57±43.74	0.2261
Final body weight(kg)	591.29±37.11	612.57±40.13	0.3232
Total gain(kg)	42.57±7.91	35.00±9.64	0.1343
Average daily gain(kg)	0.48±0.09	0.39±0.11	0.1343
Feed intake(DM kg/day/head)	8.58±0.00	8.58±0.00	-
Formula feed	6.58±0.00	6.58±0.00	-
Rice straw	2.00±0.00	1.98±0.00	-
Feed conversion ratio	18.49±3.53	23.64±8.10	0.1492

Division	Item	1st (0 day)			2nd (82 days)			3rd (123 days)		
		Control	Treatment	P-value	Control	Treatment	P-value	Control	Treatment	P-value
Energy	GLU <sup>1)</sup> (mg/dL)	63.43±3.60	64.57±4.16	0.5925	64.57±4.65	66.71±2.69	0.3120	66.14±2.27	64.86±5.05	0.5502
	NEFA <sup>2)</sup> (uEq/l)	183.29±31.63	208.14±38.83	0.2137	193.71±41.29	204.57±32.89	0.5963	202.43±28.65	197.43±48.52	0.8184
Lipid	CHOL <sup>3)</sup> (mg/dL)	121.43±3.99	122.71±3.59	0.5385	121.71±2.50	121.29±3.90	0.8108	122.57±6.08	124.14±9.10	0.7106
	TG <sup>4)</sup> (mg/dL)	22.86±0.90	22.71±1.25	0.8106	22.86±0.69	22.71±0.76	0.7184	22.86±1.57	21.14±1.77	0.0799
Protein	TP <sup>5)</sup> (g/dL)	7.96±0.26	7.99±0.24	0.8360	8.07±0.28	8.03±0.26	0.7682	8.03±0.31	7.87±0.38	0.4040
	BUN <sup>6)</sup> (mg/dL)	10.94±0.70	11.11±0.76	0.6695	11.06±0.52	11.46±0.33	0.1085	11.47±0.40	11.41±0.58	0.8338
	ALB <sup>7)</sup> (g/dL)	3.93±0.21	3.96±0.29	0.8366	4.00±0.29	3.93±0.23	0.6215	3.94±0.19	4.13±0.50	0.3757
	CRE <sup>8)</sup> (mg/dL)	1.06±0.13	1.10±0.06	0.4329	1.07±0.10	1.07±0.05	0.9999	1.06±0.10	1.09±0.18	0.7153
Liver	AST <sup>9)</sup> (U/l)	85.00±15.64	90.86±14.78	0.4853	86.86±10.06	89.57±14.73	0.6943	82.29±11.19	88.57±17.19	0.4333
	ALT <sup>10)</sup> (U/l)	21.43±5.44	22.43±4.58	0.7163	22.57±4.69	22.43±4.28	0.9535	22.43±5.59	19.86±2.27	0.2817
	GGT <sup>11)</sup> (U/l)	33.57±5.97	33.00±6.43	0.8660	34.14±6.31	32.43±5.74	0.6046	32.43±4.76	34.29±4.35	0.4505
Mineral	Ca <sup>12)</sup> (mg/dL)	8.87±0.16	8.99±0.25	0.3346	9.01±0.27	8.96±0.24	0.6872	9.01±0.25	8.87±0.57	0.5565
	Mg <sup>13)</sup> (mg/dL)	3.01±0.16	3.06±0.17	0.6353	2.99±0.16	2.99±0.13	0.9990	3.03±0.17	2.90±0.21	0.2301
	P <sup>14)</sup> (mg/dL)	7.14±0.69	7.29±0.49	0.6627	7.29±0.49	7.14±0.38	0.5517	7.43±0.79	7.43±0.53	0.9999

Division	Item	1st (123 days)			2nd (923 days)			3rd (410 days)		
		Control	Treatment	P-value	Control	Treatment	P-value	Control	Treatment	P-value
Energy	GLU <sup>1)</sup> (mg/dL)	66.14±2.27	64.86±5.05	0.5502	32.86±16.41	24.71±12.72	0.3022	70.00±6.83	74.29±3.99	0.1773
	NEFA <sup>2)</sup> (uEq/l)	202.43±28.65	197.43±48.52	0.8184	454.43±236.97	522.00±207.51	0.5808	135.14±61.08 <sup>a</sup>	59.71±21.05 <sup>b</sup>	0.0164
Lipid	CHOL <sup>3)</sup> (mg/dL)	122.57±6.08	124.14±9.10	0.7106	40.14±7.49	41.57±6.75	0.7144	121.43±29.55	123.71±12.50	0.8536
	TG <sup>4)</sup> (mg/dL)	22.86±1.57	21.14±1.77	0.0799	23.14±5.15	26.14±4.22	0.2560	21.43±6.95	21.86±5.18	0.8981
Protein	TP <sup>5)</sup> (g/dL)	8.03±0.31	7.87±0.38	0.4040	7.30±0.69	7.23±0.32	0.7843	7.51±0.36	7.43±0.64	0.7623
	BUN <sup>6)</sup> (mg/dL)	11.47±0.40	11.41±0.58	0.8338	16.00±5.28	14.56±5.68	0.6317	13.63±3.11	15.53±1.53	0.1730
	ALB <sup>7)</sup> (g/dL)	3.94±0.19	4.13±0.50	0.3757	4.20±0.48	4.20±0.47	1.0000	3.87±0.20	3.66±0.24	0.0911
	CRE <sup>8)</sup> (mg/dL)	1.06±0.10	1.09±0.18	0.7153	1.43±0.08	1.34±0.21	0.3238	1.37±0.28	1.44±0.22	0.6078
Liver	AST <sup>9)</sup> (U/l)	82.29±11.19	88.57±17.19	0.4333	83.43±19.42	75.43±7.83	0.3419	85.86±21.33	66.29±17.79	0.0869
	ALT <sup>10)</sup> (U/l)	22.43±5.59	19.86±2.27	0.2817	22.43±3.82	25.57±6.90	0.3126	19.86±2.73	17.86±2.41	0.1722
	GGT <sup>11)</sup> (U/l)	32.43±4.76	34.29±4.35	0.4905	43.86±26.64	30.29±8.20	0.2379	38.71±9.66	30.29±4.35	0.0570
Mineral	Ca <sup>12)</sup> (mg/dL)	9.01±0.25	8.87±0.57	0.5565	8.97±0.97	9.13±1.49	0.8187	8.49±0.34	8.43±0.33	0.7548
	Mg <sup>13)</sup> (mg/dL)	3.03±0.17	2.90±0.21	0.2301	2.53±0.14	2.76±0.30	0.0958	2.51±0.12	2.63±0.27	0.3259
	P <sup>14)</sup> (mg/dL)	7.43±0.79	7.43±0.53	0.9999	7.36±2.15	8.96±1.13	0.1065	7.69±0.67	7.76±0.75	0.8541

Division	Item	1st (410 days)			2nd (498 days)		
		Control	Treatment	P-value	Control	Treatment	P-value
Energy	GLU <sup>1)</sup> (mg/dL)	70.00±6.83	74.29±3.99	0.1773	71.71±13.97	73.71±5.96	0.7336
	NEFA <sup>2)</sup> (uEq/l)	135.14±61.08 <sup>a</sup>	59.71±21.05 <sup>b</sup>	0.0164	84.86±36.26	93.43±20.98	0.5982
Lipid	CHOL <sup>3)</sup> (mg/dL)	121.43±29.55	123.71±12.50	0.8536	149.14±26.74 <sup>a</sup>	188.71±36.06 <sup>b</sup>	0.0379
	TG <sup>4)</sup> (mg/dL)	21.43±6.95	21.86±5.18	0.8981	28.00±14.06	21.86±5.93	0.3078
Protein	TP <sup>5)</sup> (g/dL)	7.51±0.36	7.43±0.64	0.7623	8.06±0.68	8.23±0.55	0.6135
	BUN <sup>6)</sup> (mg/dL)	13.63±3.11	15.53±1.53	0.1730	14.23±1.77 <sup>b</sup>	17.31±1.36 <sup>a</sup>	0.0033
	ALB <sup>7)</sup> (g/dL)	3.87±0.20	3.66±0.24	0.0911	4.10±0.12	4.07±0.20	0.7469
	CRE <sup>8)</sup> (mg/dL)	1.37±0.28	1.44±0.22	0.6078	1.50±0.14	1.67±0.26	0.1544
Liver	AST <sup>9)</sup> (U/l)	85.86±21.33	66.29±17.79	0.0869	91.00±28.48	72.71±6.90	0.1447
	ALT <sup>10)</sup> (U/l)	19.86±2.73	17.86±2.41	0.1722	24.14±1.07 <sup>a</sup>	20.43±0.98 <sup>b</sup>	0.0001
	GGT <sup>11)</sup> (U/l)	38.71±9.66	30.29±4.35	0.0570	47.86±18.60	38.57±7.70	0.2570
Mineral	Ca <sup>12)</sup> (mg/dL)	8.49±0.34	8.43±0.33	0.7548	8.99±0.21	8.97±0.30	0.9204
	Mg <sup>13)</sup> (mg/dL)	2.51±0.12	2.63±0.27	0.3259	2.56±0.08	2.69±0.20	0.7288
	P <sup>14)</sup> (mg/dL)	7.69±0.67	7.76±0.75	0.8541	7.86±0.87	7.70±0.84	0.7361

Figure 1-19. 재고미 급여가 한우거세우의 혈액성상에 미치는 영향

Item	Control	Treatment	P-value
Months of age	25.57±0.53	26.00±0.58	-
Back fat thickness (mm)	6.80±2.70	8.58±2.94	0.309
Rib-eye area (cm <sup>2</sup> )	84.0±3.20	83.33±5.28	0.796
Marbling score	2.83±1.33	3.00±1.79	0.858

Figure 1-20. 재고미 급여가 한우거세우의 초음파 육질진단에 미치는 영향

표 15. 주요 곡물의 반추위 건물 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Fodderrice	23.87±1.13 <sup>a</sup>	36.40±5.21	46.77±2.76	59.26±5.28	68.05±5.03	84.84±4.52
Corn grain	24.74±1.14 <sup>ab</sup>	36.86±6.94	42.15±6.33	57.93±3.26	66.01±7.39	79.37±2.61
Wheat grain	26.33±1.58 <sup>a</sup>	34.21±2.44	47.40±3.36	60.58±5.03	65.63±2.96	82.10±7.60
P-value	0.018	0.650	0.115	0.623	0.715	0.238

표 16. 배합사료의 반추위 건물 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Formula feed I	33.26±3.43	46.14±3.10	47.08±2.46	52.77±1.74	63.73±2.91	71.30±3.22
Formula feed II	31.13±3.40	46.87±3.50	46.95±1.65	52.62±2.98	65.08±1.25	72.91±2.01
P-value	0.305	0.710	0.913	0.922	0.321	0.323

표 17. 주요 곡물의 반추위 조단백질 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Fodderrice	8.57±1.04 <sup>a</sup>	11.98±6.03	12.56±3.66	21.65±7.68	26.89±8.24	45.65±8.62
Corn grain	5.50±1.25 <sup>b</sup>	10.08±8.08	13.15±7.70	21.57±4.62	28.02±11.34	44.89±4.32
Wheat grain	8.94±1.58 <sup>a</sup>	9.97±2.74	14.45±4.29	22.52±7.42	29.96±4.29	48.90±12.89
P-value	0.001	0.813	0.833	0.964	0.819	0.734

표 18. 배합사료의 반추위 조단백질 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Formula feed I	16.84±3.46	20.86±3.35	24.94±2.61	32.77±1.81	40.74±3.50	56.47±3.31
Formula feed II	14.95±3.53	23.02±4.23	26.67±1.75	33.05±3.36	44.27±1.39	54.29±2.35
P-value	0.372	0.349	0.209	0.862	0.044	0.218

표 19. 주요 곡물의 반추위 진분 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Fodderrice	19.53±0.92	29.52±4.83	36.02±2.68	48.53±5.04	57.12±4.83	71.51±4.52
Corn grain	18.60±1.08	27.73±6.49	32.23±6.01	48.16±3.05	54.19±7.22	67.81±2.52
Wheat grain	19.82±1.39	26.76±2.23	36.48±3.19	47.92±4.99	55.63±2.72	67.59±8.18
P-value	0.189	0.617	0.195	0.972	0.636	0.415

표 20. 배합사료의 반추위 진분 분해율 (%)

Item	Time(hr)					
	0	3	6	9	12	24
Formula feed I	20.45±3.31	31.31±2.91	39.06±2.12	44.13±1.50	57.69±2.50	66.47±2.35
Formula feed II	18.95±3.37	31.06±3.79	37.28±1.50	43.29±2.85	56.62±1.08	63.82±1.86
P-value	0.456	0.901	0.123	0.538	0.358	0.066

Figure 1-21. 재고미의 *in situ* 반추위 분해율에 측정 결과

- 재고미 급여가 한우거세우 사양시험 최종결과, 5% 재고미 대체 시험사료 급여시 기호성 향상에 따른 사료섭취량과 일당증체량 개선효과를 나타내었음.
- 현재('18년 8월 기준) 옥수수 가격 270원/kg, 재고미 가격 206원/kg으로 kg 당 약 60원의 차이를 보이며, 재고미를 옥수수 대체 10% 사용하였을 때, 사료비 절감효과는 6원/kg으로 재고미는 옥수수의 대체원료로 경제성이 충분히 있다고 판단됨.
- 반추위 *in vitro* 및 *in situ* 시험에서 재고미와 시험사료는 타 곡물사료 및 관행사료와 비교하여 반추위 소화율 차이가 유사하여 결과적으로 옥수수와 소맥원료의 일부 대체가 가능할 것으로 판단됨. 향후 사양시험에서 비육후기 발육성적과 도체성적을 평가하여 종합적인 결과 도출이 필요할 것으로 판단됨.

<b>표 21. 주요 곡물의 반추위 pH 변화</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>6.81±0.01</td> <td>6.73±0.02<sup>a</sup></td> <td>6.51±0.02<sup>b</sup></td> <td>6.29±0.03<sup>c</sup></td> <td>5.79±0.11<sup>d</sup></td> <td>5.74±0.02<sup>e</sup></td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>6.82±0.01</td> <td>6.65±0.05<sup>a</sup></td> <td>6.52±0.02<sup>b</sup></td> <td>6.45±0.01<sup>a</sup></td> <td>6.12±0.05<sup>c</sup></td> <td>6.04±0.03<sup>c</sup></td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>6.81±0.01</td> <td>6.56±0.05<sup>a</sup></td> <td>6.58±0.04<sup>a</sup></td> <td>6.49±0.02<sup>a</sup></td> <td>6.16±0.06<sup>c</sup></td> <td>5.91±0.05<sup>d</sup></td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.460</td> <td>0.001</td> <td>0.016</td> <td>0.001</td> <td>0.001</td> <td>0.001</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	6.81±0.01	6.73±0.02 <sup>a</sup>	6.51±0.02 <sup>b</sup>	6.29±0.03 <sup>c</sup>	5.79±0.11 <sup>d</sup>	5.74±0.02 <sup>e</sup>	Corn grain	6.82±0.01	6.65±0.05 <sup>a</sup>	6.52±0.02 <sup>b</sup>	6.45±0.01 <sup>a</sup>	6.12±0.05 <sup>c</sup>	6.04±0.03 <sup>c</sup>	Wheat grain	6.81±0.01	6.56±0.05 <sup>a</sup>	6.58±0.04 <sup>a</sup>	6.49±0.02 <sup>a</sup>	6.16±0.06 <sup>c</sup>	5.91±0.05 <sup>d</sup>	P-value	0.460	0.001	0.016	0.001	0.001	0.001	<b>표 22. 배합사료의 반추위 pH 변화</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>6.82±0.01</td> <td>6.68±0.03</td> <td>6.07±0.04</td> <td>5.72±0.07</td> <td>5.11±0.05</td> <td>5.68±0.04</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>6.81±0.01</td> <td>6.69±0.06</td> <td>6.01±0.09</td> <td>5.60±0.09</td> <td>5.11±0.16</td> <td>5.75±0.10</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.791</td> <td>0.838</td> <td>0.265</td> <td>0.099</td> <td>0.977</td> <td>0.238</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	6.82±0.01	6.68±0.03	6.07±0.04	5.72±0.07	5.11±0.05	5.68±0.04	Formula feed II	6.81±0.01	6.69±0.06	6.01±0.09	5.60±0.09	5.11±0.16	5.75±0.10	P-value	0.791	0.838	0.265	0.099	0.977	0.238
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	6.81±0.01	6.73±0.02 <sup>a</sup>	6.51±0.02 <sup>b</sup>	6.29±0.03 <sup>c</sup>	5.79±0.11 <sup>d</sup>	5.74±0.02 <sup>e</sup>																																																																																		
Corn grain	6.82±0.01	6.65±0.05 <sup>a</sup>	6.52±0.02 <sup>b</sup>	6.45±0.01 <sup>a</sup>	6.12±0.05 <sup>c</sup>	6.04±0.03 <sup>c</sup>																																																																																		
Wheat grain	6.81±0.01	6.56±0.05 <sup>a</sup>	6.58±0.04 <sup>a</sup>	6.49±0.02 <sup>a</sup>	6.16±0.06 <sup>c</sup>	5.91±0.05 <sup>d</sup>																																																																																		
P-value	0.460	0.001	0.016	0.001	0.001	0.001																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	6.82±0.01	6.68±0.03	6.07±0.04	5.72±0.07	5.11±0.05	5.68±0.04																																																																																		
Formula feed II	6.81±0.01	6.69±0.06	6.01±0.09	5.60±0.09	5.11±0.16	5.75±0.10																																																																																		
P-value	0.791	0.838	0.265	0.099	0.977	0.238																																																																																		
<b>표 23. 주요 곡물의 반추위 미생물 성장도</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>0.48±0.02</td> <td>0.50±0.04</td> <td>0.53±0.14</td> <td>0.59±0.02</td> <td>0.78±0.04</td> <td>0.87±0.03</td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>0.48±0.02</td> <td>0.52±0.04</td> <td>0.54±0.04</td> <td>0.59±0.04</td> <td>0.75±0.06</td> <td>0.85±0.02</td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>0.47±0.02</td> <td>0.51±0.04</td> <td>0.56±0.06</td> <td>0.61±0.05</td> <td>0.77±0.05</td> <td>0.92±0.07</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.561</td> <td>0.806</td> <td>0.866</td> <td>0.698</td> <td>0.797</td> <td>0.101</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	0.48±0.02	0.50±0.04	0.53±0.14	0.59±0.02	0.78±0.04	0.87±0.03	Corn grain	0.48±0.02	0.52±0.04	0.54±0.04	0.59±0.04	0.75±0.06	0.85±0.02	Wheat grain	0.47±0.02	0.51±0.04	0.56±0.06	0.61±0.05	0.77±0.05	0.92±0.07	P-value	0.561	0.806	0.866	0.698	0.797	0.101	<b>표 24. 배합사료의 반추위 미생물 성장도</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>0.47±0.02</td> <td>0.52±0.06</td> <td>0.75±0.03</td> <td>0.94±0.02</td> <td>1.01±0.07</td> <td>0.88±0.04</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>0.48±0.01</td> <td>0.54±0.04</td> <td>0.81±0.03</td> <td>0.88±0.12</td> <td>0.99±0.10</td> <td>0.90±0.03</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.168</td> <td>0.732</td> <td>0.017</td> <td>0.426</td> <td>0.824</td> <td>0.530</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	0.47±0.02	0.52±0.06	0.75±0.03	0.94±0.02	1.01±0.07	0.88±0.04	Formula feed II	0.48±0.01	0.54±0.04	0.81±0.03	0.88±0.12	0.99±0.10	0.90±0.03	P-value	0.168	0.732	0.017	0.426	0.824	0.530
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	0.48±0.02	0.50±0.04	0.53±0.14	0.59±0.02	0.78±0.04	0.87±0.03																																																																																		
Corn grain	0.48±0.02	0.52±0.04	0.54±0.04	0.59±0.04	0.75±0.06	0.85±0.02																																																																																		
Wheat grain	0.47±0.02	0.51±0.04	0.56±0.06	0.61±0.05	0.77±0.05	0.92±0.07																																																																																		
P-value	0.561	0.806	0.866	0.698	0.797	0.101																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	0.47±0.02	0.52±0.06	0.75±0.03	0.94±0.02	1.01±0.07	0.88±0.04																																																																																		
Formula feed II	0.48±0.01	0.54±0.04	0.81±0.03	0.88±0.12	0.99±0.10	0.90±0.03																																																																																		
P-value	0.168	0.732	0.017	0.426	0.824	0.530																																																																																		
<b>표 25. 주요 곡물의 반추위 암모니아 생성량 (ppm)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>23.09±1.15</td> <td>33.95±6.28</td> <td>48.32±8.52</td> <td>54.37±3.20</td> <td>55.72±6.74</td> <td>73.67±16.80</td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>23.17±0.86</td> <td>31.40±7.26</td> <td>48.28±25.02</td> <td>52.35±15.97</td> <td>55.02±11.82</td> <td>66.22±24.63</td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>21.40±1.04</td> <td>28.69±0.61</td> <td>37.29±10.27</td> <td>54.82±5.65</td> <td>59.10±4.61</td> <td>75.44±7.25</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.133</td> <td>0.544</td> <td>0.656</td> <td>0.949</td> <td>0.819</td> <td>0.802</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	23.09±1.15	33.95±6.28	48.32±8.52	54.37±3.20	55.72±6.74	73.67±16.80	Corn grain	23.17±0.86	31.40±7.26	48.28±25.02	52.35±15.97	55.02±11.82	66.22±24.63	Wheat grain	21.40±1.04	28.69±0.61	37.29±10.27	54.82±5.65	59.10±4.61	75.44±7.25	P-value	0.133	0.544	0.656	0.949	0.819	0.802	<b>표 26. 배합사료의 반추위 암모니아 생성량 (ppm)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>20.87±2.49<sup>b</sup></td> <td>21.98±1.36<sup>b</sup></td> <td>37.21±4.99</td> <td>54.82±10.65</td> <td>66.42±7.70</td> <td>87.78±8.40</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>25.93±0.07<sup>a</sup></td> <td>30.91±0.93<sup>a</sup></td> <td>34.86±6.35</td> <td>50.66±4.30</td> <td>67.45±7.79</td> <td>83.67±3.42</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.072</td> <td>0.001</td> <td>0.642</td> <td>0.565</td> <td>0.879</td> <td>0.476</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	20.87±2.49 <sup>b</sup>	21.98±1.36 <sup>b</sup>	37.21±4.99	54.82±10.65	66.42±7.70	87.78±8.40	Formula feed II	25.93±0.07 <sup>a</sup>	30.91±0.93 <sup>a</sup>	34.86±6.35	50.66±4.30	67.45±7.79	83.67±3.42	P-value	0.072	0.001	0.642	0.565	0.879	0.476
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	23.09±1.15	33.95±6.28	48.32±8.52	54.37±3.20	55.72±6.74	73.67±16.80																																																																																		
Corn grain	23.17±0.86	31.40±7.26	48.28±25.02	52.35±15.97	55.02±11.82	66.22±24.63																																																																																		
Wheat grain	21.40±1.04	28.69±0.61	37.29±10.27	54.82±5.65	59.10±4.61	75.44±7.25																																																																																		
P-value	0.133	0.544	0.656	0.949	0.819	0.802																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	20.87±2.49 <sup>b</sup>	21.98±1.36 <sup>b</sup>	37.21±4.99	54.82±10.65	66.42±7.70	87.78±8.40																																																																																		
Formula feed II	25.93±0.07 <sup>a</sup>	30.91±0.93 <sup>a</sup>	34.86±6.35	50.66±4.30	67.45±7.79	83.67±3.42																																																																																		
P-value	0.072	0.001	0.642	0.565	0.879	0.476																																																																																		
<b>표 27. 주요 곡물의 반추위 아세트산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>49.00±1.09<sup>a</sup></td> <td>66.46±3.45</td> <td>106.49±4.44</td> <td>116.47±11.50</td> <td>130.30±6.07</td> <td>198.04±13.42</td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>56.23±1.07<sup>a</sup></td> <td>63.73±1.86</td> <td>106.31±8.55</td> <td>118.80±1.00</td> <td>138.92±12.07</td> <td>195.77±12.33</td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>53.26±3.39<sup>a</sup></td> <td>71.44±3.51</td> <td>109.61±10.28</td> <td>133.45±4.84</td> <td>159.70±18.07</td> <td>219.82±10.48</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.017</td> <td>0.053</td> <td>0.859</td> <td>0.055</td> <td>0.078</td> <td>0.094</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	49.00±1.09 <sup>a</sup>	66.46±3.45	106.49±4.44	116.47±11.50	130.30±6.07	198.04±13.42	Corn grain	56.23±1.07 <sup>a</sup>	63.73±1.86	106.31±8.55	118.80±1.00	138.92±12.07	195.77±12.33	Wheat grain	53.26±3.39 <sup>a</sup>	71.44±3.51	109.61±10.28	133.45±4.84	159.70±18.07	219.82±10.48	P-value	0.017	0.053	0.859	0.055	0.078	0.094	<b>표 28. 배합사료의 반추위 아세트산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>53.93±3.64</td> <td>84.91±3.33</td> <td>144.41±2.94</td> <td>168.22±7.85</td> <td>220.56±10.49</td> <td>204.36±19.56</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>50.97±2.46</td> <td>86.42±5.08</td> <td>145.73±6.09</td> <td>162.09±8.93</td> <td>207.42±7.49</td> <td>203.21±21.79</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.309</td> <td>0.690</td> <td>0.753</td> <td>0.423</td> <td>0.152</td> <td>0.949</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	53.93±3.64	84.91±3.33	144.41±2.94	168.22±7.85	220.56±10.49	204.36±19.56	Formula feed II	50.97±2.46	86.42±5.08	145.73±6.09	162.09±8.93	207.42±7.49	203.21±21.79	P-value	0.309	0.690	0.753	0.423	0.152	0.949
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	49.00±1.09 <sup>a</sup>	66.46±3.45	106.49±4.44	116.47±11.50	130.30±6.07	198.04±13.42																																																																																		
Corn grain	56.23±1.07 <sup>a</sup>	63.73±1.86	106.31±8.55	118.80±1.00	138.92±12.07	195.77±12.33																																																																																		
Wheat grain	53.26±3.39 <sup>a</sup>	71.44±3.51	109.61±10.28	133.45±4.84	159.70±18.07	219.82±10.48																																																																																		
P-value	0.017	0.053	0.859	0.055	0.078	0.094																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	53.93±3.64	84.91±3.33	144.41±2.94	168.22±7.85	220.56±10.49	204.36±19.56																																																																																		
Formula feed II	50.97±2.46	86.42±5.08	145.73±6.09	162.09±8.93	207.42±7.49	203.21±21.79																																																																																		
P-value	0.309	0.690	0.753	0.423	0.152	0.949																																																																																		
<b>표 29. 주요 곡물의 반추위 프로피온산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>28.57±0.43</td> <td>35.17±1.37</td> <td>53.78±5.01</td> <td>86.56±0.57<sup>a</sup></td> <td>97.80±13.96</td> <td>172.93±37.35</td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>28.68±0.16</td> <td>33.49±6.27</td> <td>56.78±5.97</td> <td>75.02±1.33<sup>b</sup></td> <td>92.60±12.64</td> <td>160.94±43.20</td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>26.22±2.04</td> <td>31.01±1.71</td> <td>56.54±1.98</td> <td>76.64±0.46<sup>b</sup></td> <td>88.73±7.49</td> <td>176.54±37.57</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.079</td> <td>0.458</td> <td>0.695</td> <td>0.001</td> <td>0.655</td> <td>0.882</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	28.57±0.43	35.17±1.37	53.78±5.01	86.56±0.57 <sup>a</sup>	97.80±13.96	172.93±37.35	Corn grain	28.68±0.16	33.49±6.27	56.78±5.97	75.02±1.33 <sup>b</sup>	92.60±12.64	160.94±43.20	Wheat grain	26.22±2.04	31.01±1.71	56.54±1.98	76.64±0.46 <sup>b</sup>	88.73±7.49	176.54±37.57	P-value	0.079	0.458	0.695	0.001	0.655	0.882	<b>표 30. 배합사료의 반추위 프로피온산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>25.52±0.70</td> <td>29.11±4.47</td> <td>50.69±0.64<sup>b</sup></td> <td>72.46±8.50</td> <td>103.15±9.15</td> <td>121.48±21.96</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>25.06±0.79</td> <td>32.22±3.64</td> <td>56.50±1.42<sup>b</sup></td> <td>78.27±2.36</td> <td>105.85±3.76</td> <td>133.17±26.06</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.497</td> <td>0.403</td> <td>0.003</td> <td>0.317</td> <td>0.662</td> <td>0.584</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	25.52±0.70	29.11±4.47	50.69±0.64 <sup>b</sup>	72.46±8.50	103.15±9.15	121.48±21.96	Formula feed II	25.06±0.79	32.22±3.64	56.50±1.42 <sup>b</sup>	78.27±2.36	105.85±3.76	133.17±26.06	P-value	0.497	0.403	0.003	0.317	0.662	0.584
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	28.57±0.43	35.17±1.37	53.78±5.01	86.56±0.57 <sup>a</sup>	97.80±13.96	172.93±37.35																																																																																		
Corn grain	28.68±0.16	33.49±6.27	56.78±5.97	75.02±1.33 <sup>b</sup>	92.60±12.64	160.94±43.20																																																																																		
Wheat grain	26.22±2.04	31.01±1.71	56.54±1.98	76.64±0.46 <sup>b</sup>	88.73±7.49	176.54±37.57																																																																																		
P-value	0.079	0.458	0.695	0.001	0.655	0.882																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	25.52±0.70	29.11±4.47	50.69±0.64 <sup>b</sup>	72.46±8.50	103.15±9.15	121.48±21.96																																																																																		
Formula feed II	25.06±0.79	32.22±3.64	56.50±1.42 <sup>b</sup>	78.27±2.36	105.85±3.76	133.17±26.06																																																																																		
P-value	0.497	0.403	0.003	0.317	0.662	0.584																																																																																		
<b>표 31. 주요 곡물의 반추위 뷰티릭산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>12.80±0.32<sup>a</sup></td> <td>13.61±0.08</td> <td>20.93±3.70</td> <td>35.01±2.95</td> <td>35.03±6.33</td> <td>69.44±6.42<sup>b</sup></td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>12.46±0.07<sup>a</sup></td> <td>13.35±1.07</td> <td>24.58±4.10</td> <td>30.94±1.12</td> <td>32.34±4.17</td> <td>74.21±5.07<sup>b</sup></td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>10.97±0.87<sup>b</sup></td> <td>14.59±1.46</td> <td>26.76±1.83</td> <td>32.88±2.71</td> <td>37.24±4.61</td> <td>59.60±4.61<sup>b</sup></td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.013</td> <td>0.377</td> <td>0.181</td> <td>0.198</td> <td>0.538</td> <td>0.042</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	12.80±0.32 <sup>a</sup>	13.61±0.08	20.93±3.70	35.01±2.95	35.03±6.33	69.44±6.42 <sup>b</sup>	Corn grain	12.46±0.07 <sup>a</sup>	13.35±1.07	24.58±4.10	30.94±1.12	32.34±4.17	74.21±5.07 <sup>b</sup>	Wheat grain	10.97±0.87 <sup>b</sup>	14.59±1.46	26.76±1.83	32.88±2.71	37.24±4.61	59.60±4.61 <sup>b</sup>	P-value	0.013	0.377	0.181	0.198	0.538	0.042	<b>표 32. 배합사료의 반추위 뷰티릭산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>10.95±0.36</td> <td>11.06±1.44</td> <td>22.28±0.74<sup>b</sup></td> <td>29.52±3.37</td> <td>50.60±2.20<sup>c</sup></td> <td>59.07±6.98</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>10.52±0.38</td> <td>14.25±1.58</td> <td>24.99±0.59<sup>b</sup></td> <td>34.19±3.37</td> <td>43.21±2.47<sup>b</sup></td> <td>63.50±4.19</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.225</td> <td>0.060</td> <td>0.008</td> <td>0.165</td> <td>0.018</td> <td>0.399</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	10.95±0.36	11.06±1.44	22.28±0.74 <sup>b</sup>	29.52±3.37	50.60±2.20 <sup>c</sup>	59.07±6.98	Formula feed II	10.52±0.38	14.25±1.58	24.99±0.59 <sup>b</sup>	34.19±3.37	43.21±2.47 <sup>b</sup>	63.50±4.19	P-value	0.225	0.060	0.008	0.165	0.018	0.399
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	12.80±0.32 <sup>a</sup>	13.61±0.08	20.93±3.70	35.01±2.95	35.03±6.33	69.44±6.42 <sup>b</sup>																																																																																		
Corn grain	12.46±0.07 <sup>a</sup>	13.35±1.07	24.58±4.10	30.94±1.12	32.34±4.17	74.21±5.07 <sup>b</sup>																																																																																		
Wheat grain	10.97±0.87 <sup>b</sup>	14.59±1.46	26.76±1.83	32.88±2.71	37.24±4.61	59.60±4.61 <sup>b</sup>																																																																																		
P-value	0.013	0.377	0.181	0.198	0.538	0.042																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	10.95±0.36	11.06±1.44	22.28±0.74 <sup>b</sup>	29.52±3.37	50.60±2.20 <sup>c</sup>	59.07±6.98																																																																																		
Formula feed II	10.52±0.38	14.25±1.58	24.99±0.59 <sup>b</sup>	34.19±3.37	43.21±2.47 <sup>b</sup>	63.50±4.19																																																																																		
P-value	0.225	0.060	0.008	0.165	0.018	0.399																																																																																		
<b>표 33. 주요 곡물의 반추위 총 휘발성 지방산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fodderrice</td> <td>90.37±1.05</td> <td>115.24±2.27</td> <td>181.20±12.68</td> <td>238.03±11.60</td> <td>263.14±14.66</td> <td>440.41±37.76</td> </tr> <tr> <td>Corn grain</td> <td>97.37±1.29</td> <td>110.57±4.73</td> <td>187.67±15.86</td> <td>224.75±1.87</td> <td>263.85±25.25</td> <td>430.92±37.04</td> </tr> <tr> <td>Wheat grain</td> <td>90.45±6.17</td> <td>117.04±1.88</td> <td>192.91±13.52</td> <td>242.97±7.72</td> <td>285.68±22.16</td> <td>455.95±34.82</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.096</td> <td>0.112</td> <td>0.619</td> <td>0.077</td> <td>0.392</td> <td>0.713</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Fodderrice	90.37±1.05	115.24±2.27	181.20±12.68	238.03±11.60	263.14±14.66	440.41±37.76	Corn grain	97.37±1.29	110.57±4.73	187.67±15.86	224.75±1.87	263.85±25.25	430.92±37.04	Wheat grain	90.45±6.17	117.04±1.88	192.91±13.52	242.97±7.72	285.68±22.16	455.95±34.82	P-value	0.096	0.112	0.619	0.077	0.392	0.713	<b>표 34. 배합사료의 반추위 총 휘발성 지방산 생성량 (ml/d)</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Item</th> <th colspan="6">Time(hr)</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>3</th> <th>6</th> <th>9</th> <th>12</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Formula feed I</td> <td>90.39±2.64</td> <td>125.07±6.66</td> <td>217.38±4.27</td> <td>270.20±19.07</td> <td>374.31±3.44<sup>a</sup></td> <td>384.90±22.63</td> </tr> <tr> <td>Formula feed II</td> <td>86.55±3.23</td> <td>132.88±9.31</td> <td>227.22±6.34</td> <td>274.56±13.88</td> <td>356.48±9.66<sup>b</sup></td> <td>399.88±15.26</td> </tr> <tr> <td>P-value</td> <td>0.186</td> <td>0.303</td> <td>0.090</td> <td>0.765</td> <td>0.040</td> <td>0.396</td> </tr> </tbody> </table>							Item	Time(hr)						0	3	6	9	12	24	Formula feed I	90.39±2.64	125.07±6.66	217.38±4.27	270.20±19.07	374.31±3.44 <sup>a</sup>	384.90±22.63	Formula feed II	86.55±3.23	132.88±9.31	227.22±6.34	274.56±13.88	356.48±9.66 <sup>b</sup>	399.88±15.26	P-value	0.186	0.303	0.090	0.765	0.040	0.396
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Fodderrice	90.37±1.05	115.24±2.27	181.20±12.68	238.03±11.60	263.14±14.66	440.41±37.76																																																																																		
Corn grain	97.37±1.29	110.57±4.73	187.67±15.86	224.75±1.87	263.85±25.25	430.92±37.04																																																																																		
Wheat grain	90.45±6.17	117.04±1.88	192.91±13.52	242.97±7.72	285.68±22.16	455.95±34.82																																																																																		
P-value	0.096	0.112	0.619	0.077	0.392	0.713																																																																																		
Item	Time(hr)																																																																																							
	0	3	6	9	12	24																																																																																		
Formula feed I	90.39±2.64	125.07±6.66	217.38±4.27	270.20±19.07	374.31±3.44 <sup>a</sup>	384.90±22.63																																																																																		
Formula feed II	86.55±3.23	132.88±9.31	227.22±6.34	274.56±13.88	356.48±9.66 <sup>b</sup>	399.88±15.26																																																																																		
P-value	0.186	0.303	0.090	0.765	0.040	0.396																																																																																		

Figure 1-22. 재고미의 *in vitro* 반추위 분해율에 측정 결과

### 3. 발굴된 대체원료를 이용한 축종별 사료개발 및 산업화

#### 가. 자돈에 있어서 곤충의 사료적 가치 평가에 관한 연구

##### 1) 연구의 개요와 목적

- 돼지의 사료 중 단백질 원료사료는 가격적인 면에서 비중이 약 60%~70%를 차지하고 있는 실정임(Veldkamp 등, 2012). 돼지의 생체 아미노산조성은 식물성 단백질 보다는 동물성 단백질 아미노산 조성에 더 가까워서 돼지의 단백질 공급원으로 동물성 단백질 사료가 더 적합함. 동물성 단백질 사료 중 어분은 생선을 가공하면서 나오는 부산물을 건조하여 만든 것으로 생산지, 어종 등에 따라서 영양소 조성이 크게 달라짐. 어분은 가격이 비교적 저렴하고 아미노산 조성이 좋아서 가축의 단백질 공급원으로 많이 사용되어 왔으나, 최근에 여러 가지 원인에 의해 생산량이 감소하고 가격도 크게 상승하는 중임.
- 곤충은 어류나 포유류에 비해 성장률이 빨라서 단위 시간당 단백질 등 주요 영양소의 축적이 매우 높고, 곤충 사육에 소요되는 영양소 공급을 위한 비용이 저렴하기 때문에 최근에 단백질 대체제 등으로써 주목을 받기 시작하고 있음. 또한 지구상의 농경지는 제한되어 있고 날로 증가하는 인구와 축산물의 소비로 인하여 식품과 사료 생산을 위한 식량 자원의 수요와 공급 불균형은 갈수록 심화되고 있음. 이에 세계 각국에서는 곤충을 중요한 미래의 산업자원으로 주목하고 있으며, 곤충산업 발전을 위하여 법과 다양한 제도를 마련하고 있음. 특히 미국이나 유럽을 중심으로 곤충을 자원화 및 상품화하기 위한 많은 노력을 하고 있는 상황임(Jang, 2014). 또한 최근 국제식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)에서는 지구의 식량 수급 문제의 해결방안으로 곤충을 미래 일류의 단백질 공급 식품으로 지목함(Berg, 등 2017).
- 곤충의 단백질함량은 곤충의 종류에 따라 다양하게 나타나는데 대략 건물기준으로 40~75%를 차지하며, 이것은 쇠고기나 돼지고기와 같은 육류에 버금가는 영양소들을 함유하고 있음(Van Huis 등, 2013). 뿐만 아니라 곤충체에는 칼슘, 아연 등의 광물질 및 지방질과 같은 영양소가 풍부하게 함유되어 있는 것으로 보고되어 있음(Van Huis 등, 2013).
- 국내 사료관리법에 따라 사용가능한 곤충은 밀웜, 귀뚜라미, 메뚜기, 동애등에 유충, 번데기, 장구벌레, 구더기, 벼메뚜기가 있음. 국내에서 곤충을 이용한 가축사료화 시도가 있었지만, 왕귀뚜라미, 파리유충, 누에동충하초 및 동애등에 등 일부 곤충만이 이용되고 있음.
- Ballitoc과 Sun(2013)은 거저리를 육계에 급여하여도 사료섭취량, 성장 및 육질에 부정적인 영향이 나타나지 않았다고 보고했음. Ramos-Elorduy와 Gonzalez(2002)은 거저리를 육계사료에 10% 수준까지 첨가하였을 경우 사양성적이 대조구와 차이가 나타나지

않았다고 보고했음. 또한 이유자돈 사료에 밀웜(거저리 유충)을 1.5, 3, 4.5 및 6%를 첨가하여 5주간 자유채식 시킨 결과 곤충박 첨가군에서 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율 등이 개선되었다고 보고됨(Jin 등, 2016). 하지만 동애등에 곤충박의 경우 어분에 비하여 함유량 아미노산의 함량이 낮아 어분을 1 : 1로 대체할 경우 필수아미노산의 균형에 유의해야 한다고 보고됨(Veldkamp와 Bosch, 2015).

- 곤충을 이용한 사료는 안전하고 저가의 고품질 단백질 사료의 생산을 가능하게 할 수 있으며, 대량생산체계를 구축함으로써 품질 및 공급을 안정시킬 경우 대두박 및 어분을 대체할 수 있는 단백질사료로 여겨서 사료비 절감에 기여할 수 있을 것임. 하지만 아직까지 곤충을 사료로 이용하기 위한 연구가 매우 부족한 실정임.
- 따라서 본 연구에서는 이유자돈에서 곤충박의 사료적 가치를 알아보고자 구멍하기 위하여 다음과 같은 시험을 실시하였음.
  - 자돈에서 곤충사료의 아미노산 회장소화율 측정 : 자돈에게 T-cannula를 설치(Figure 1-23)하여 동애등에와 밀웜(거저리 유충)의 외관상 및 표준 아미노산 회장소화율을 측정함.
  - 이유자돈의 사료 원료로서 동애등에의 가치평가 : 이유자돈 사료 내 동애등에 0, 1, 2, 3%를 첨가하여 사양시험을 수행한 후 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향에 대한 분석을 실시함.
  - 이유자돈 사료에서 밀웜의 어분 대체 효과 검증 : 이유자돈 사료에 0, 2.5, 5%를 첨가하여 어분의 대체효과 검증하기 위하여 사양시험을 수행한 후 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향에 대한 분석을 실시함.

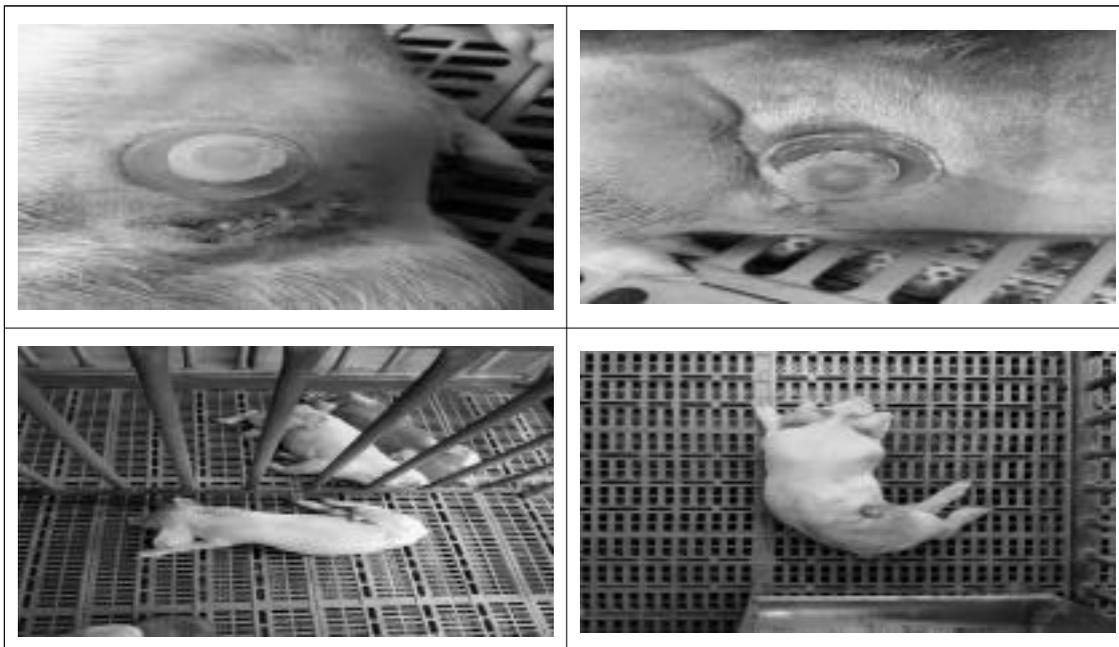


Figure 1-23. T-cannula를 설치한 자돈의 모습

나. 자돈에서 곤충사료의 아미노산 회장소화율 측정

- 1) 연구 목적 : 본 연구는 T-cannula를 설치한 돼지에서, 동애등애와 밀웜(거저리 유충)의 영양소 함량, 외관상회장 소화율 및 표준 회장소화율을 측정하여 이용률을 규명하는데 그 목적이 있음.
- 2) 재료 및 방법
  - 동애등애와 밀웜의 아미노산 회장소화율을 측정하기 위해 김 등(2001)의 방법에 따라 T-cannula를 설치한 자돈(Landrace × Yorkshire × Duroc, 30±3일령, 14.4±0.35kg) 4두를 공시하여 4×4 라틴스퀘어 설계법을 이용해 회장내용물을 채취하여 측정하였음.
  - 아미노산 회장소화율 측정을 위한 시험사료 중 자돈의 시험사료는 무질소 사료(N-free diet)와 단백질 공급원으로 동애등애와 밀웜 및 어분을 사용한 기본 사료로서, 에너지와 아미노산 요구량을 제외한 NRC(2012)에 제시된 요구량을 충족시키도록 배합함(Table 1-32, Table 1-33, Table 1-34).

Table 1-32. Ingredient composition of experimental diets

Ingredients(%)	nitrogen-free	Dried mealworm(%)		
		0	5	5
Corn-starch	76.77	66.77	66.77	66.77
Fish meal	-	10.00	-	-
Mealworm	-	-	10.00	-
Black soldier fly	-	-	-	10.00
Sucrose	15.00	15.00	15.00	15.00
Cellulose	4.00	4.00	4.00	4.00
Limestone	1.56	1.56	1.56	1.56
MCP	1.57	1.57	1.57	1.57
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
Mineral premix	0.15	0.15	0.15	0.15
Vitamin premix	0.15	0.15	0.15	0.15
Chrome-oxide	0.50	0.50	0.50	0.50
Total	100	100	100	100

Table 1-33. Analyzed nutrient composition(as-fed basis) of experimental diets containing fish meal, mealworm, black soldier fly(BSF)

Item(%)	Diet			
	Fish meal	Mealworm	BSF	N-free
Dry matter	95.25	96.54	95.55	96.98
Crude protein	7.62	8.06	5.75	0.97
Essential amino acids				
Arg	0.348	0.197	0.127	0.001
His	0.135	0.148	0.109	0.005
Ile	0.222	0.218	0.064	0.002
Leu	0.437	0.397	0.139	0.006
Lys	0.437	0.260	0.083	0.024
Met	0.118	0.076	0.052	0.006
Phe	0.145	0.094	0.113	0.001
Thr	0.13	0.158	0.079	0.008
Val	0.132	0.127	0.124	0.005
Non-essential amino acid				
Ala	0.325	0.441	0.297	0.013
Asp	0.32	0.17	0.258	0.003
Cys	0.034	0.039	0.068	0.041
Glu	0.864	1.032	0.997	0.005
Gly	0.136	0.384	0.264	0.005
Pro	0.119	0.161	0.188	0.015
Ser	0.126	0.231	0.111	0.006
Tyr	0.124	0.327	0.276	0.004

Table 1-34. Analyzed nutrient composition(as-fed basis) of fish meal, mealworm, black soldier fly(BSF)

Item	Diet		
	Fish meal	Mealworm	BSF
Dry matter, %	95.46	96.25	97.22
Gross energy, kcal/kg	3890.78	4666.95	4832.44
Crude protein, %	58.06	71.36	41.03
Ether extract, %	4.17	5.20	1.43
Ca, %	19.41	3.81	33.91
P, %	2.78	0.43	0.84
Essential amino acids, %			
Arg	3.98	1.37	1.58
His	1.51	1.18	1.82
Ile	2.91	2.07	2.12
Leu	4.58	3.82	2.97
Lys	4.78	2.49	2.7
Met	1.64	0.79	0.85
Phe	1.54	0.84	1.62
Thr	1.47	1.15	1.63
Val	1.1	1.57	1.69
Non-essential amino acid, %			
Ala	3.91	3.12	2.89
Asp	3.15	1.88	2.37
Cys	0.34	0.31	0.35
Glu	9.36	10.12	10.14
Gly	1.67	3.62	2.17
Pro	1.45	1.88	1.37
Ser	1.83	2.02	1.84
Tyr	1.9	3.52	2.96

- 사양관리 및 시료채취 : 동애등애와 밀웜의 아미노산 회장소화율 측정을 하기 위하여 자돈에게 시험사료 900g을 4시간 간격으로 1일 3회로 나누어 300g씩 적당량의 물을 첨가하여 반죽 형태로 급여하였음. 시험사료의 적응기간 5일이 지난 후 6일째와 7일째 이들 동안 회장 내용물을 채취함(Nongyao 등, 1990). 회장 내용물은T-cannula 부위에 폴리에틸렌 백을 고정했으며, 채취시간을 10:00, 13:00, 16:00, 19:00로 나누어 3시간 간격으로 채취하였음.
- 화학적 분석 : 시료와 채취 시료의 일반성분은 AOAC(2007)의 방법에 따라 분석하였으며, 에너지는 열량측정기(Model 1241, Parr Instrument Co., Molin, IL)로 측정하였으며, 산화크롬( $Cr_2O_3$ )은 acid digestion method(Han 등, 1987)에 의하여 Spectrophotometer(Model V-550, Jasco Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 아미노산 분석은 시료를 24시간 동안 105°C에서 6N HCl 용액으로 가수분해 시킨 후 HPLC(Waters 486, USA)를 사용하여 분석하였으며, 황 함유아미노산은 24시간 동안 가수분해 시킨 후 cold performic acid 용액으로 산화 처리하여 분석하였음(Moore, 1963).
- 소화율 계산 : 모든 시료의 아미노산 소화율의 산출 공식은 산화크롬을 지시제로 사용한 간접 측정법으로 계산하였음. 회장 내용물과 분 시료에서 측정된 아미노산 외관상 회장소화율과 아미노산 표준회장소화율은 Stein 등(2007)에 제시된 방법으로 계산하였음.
- 통계 분석 : 시험의 모든 자료는 SAS 9.3(2012)을 이용하여 일원분류 분산분석(one-way ANOVA)을 하였고, 평균간 비교는 Tukey의 다중검정을 실시하였음.

### 3) 결과 및 고찰

#### ○ 외관상 회장소화율(AID, apparent ileal digestibility)

어분, 밀웜, 동애등애의 외관상 회장소화율은 Table 1-35과 같음. 필수아미노산 회장소화율에서는 leucine, methionine 및 phenylalanine에서 어분이 곤충원료에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), arginine, leucine, methionine 및 threonine에서는 곤충원료가 어분에 비하여 유의적으로 높게 나타났음( $P < 0.05$ ). 하지만 histidine, isoleucine 및 valine에서는 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았음( $P > 0.05$ ). 비필수 아미노산에서는 cystine에서 어분이 유의적으로 높게 나타났으나( $P < 0.05$ ), proline과 tyrosine에서는 곤충원료가 어분에 비하여 유의적으로 높게 나타났음( $P < 0.05$ ).

Table 1-35. Apparent ileal digestibility(AID) of amino acids in fish meal, mealworm and black soldier fly(BSF) by growing pigs

Item(%)	Diet			SEM	P
	Fish meal	Mealworm	BSF		
Essential amino acids					
Arginine	82.70 <sup>b</sup>	86.14 <sup>a</sup>	83.77 <sup>ab</sup>	0.72	0.022
Histidine	79.79	81.25	82.25	1.24	0.408
Isoleucine	81.43	80.27	81.92	4.34	0.963
Leucine	83.77 <sup>a</sup>	84.15 <sup>a</sup>	81.31 <sup>b</sup>	0.46	0.004
Lysine	80.46	82.42	81.87	2.07	0.793
Methionine	84.98 <sup>a</sup>	83.77 <sup>a</sup>	81.18 <sup>b</sup>	0.66	0.008
Phenylalanine	86.81 <sup>a</sup>	84.27 <sup>a</sup>	77.48 <sup>b</sup>	0.74	0.001
Threonine	77.24 <sup>b</sup>	84.64 <sup>a</sup>	82.75 <sup>a</sup>	3.19	0.285
Valine	86.67	83.44	85.06	3.20	0.779
Non-essential amino acid					
Alanine	78.73	75.77	76.99	3.15	0.804
Aspartic acid	82.29	82.62	81.17	1.82	0.842
Cysteine	86.03 <sup>a</sup>	83.28 <sup>b</sup>	83.24 <sup>b</sup>	0.33	0.001
Glutamic acid	81.60	82.82	84.30	1.10	0.274
Glycine	85.10	83.76	85.02	1.68	0.822
Proline	79.76 <sup>b</sup>	84.90 <sup>a</sup>	83.03 <sup>a</sup>	0.73	0.002
Serine	84.32	87.94	87.45	1.08	0.084
Tyrosine	81.70 <sup>b</sup>	83.25 <sup>b</sup>	87.85 <sup>a</sup>	0.64	0.001

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

○ 표준 회장소화율(SID, apparent ileal digestibility)

어분, 밀웜, 동애등에의 표준 회장소화율은 Table 1-36와 같음. 필수아미노산 회장소화율에서 arginine에서 밀웜이 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높은 것으로 나타났으며 (P<0.05), leucine, methionine 및 phenylalanine에서는 어분이 곤충원료에 비하여 유의적으로 높게 나타났음(P<0.05). 비필수 아미노산 회장 소화율에서는 어분이 곤충원료에 비하여 alanine에서 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), glutamic acid와 tyrosine에서는 동애등에가 다른 원료에 비하여 유의적으로 개선하는 것으로 나타났음(P<0.05). 하지만 histidine, isoleucine, threonine, valine, aspartic acid cysteine glycine proline 및 serine에서는 처리구간의 유의적인 차이는 발견되지 않았음(P>0.05).

Table 1-36. Standardized ileal digestibility(SID) of amino acids in fish meal, mealworm and black soldier fly(BSF) by growing pigs

Item(%)	Diet			SEM	P
	Fish meal	Mealworm	BSF		
Essential amino acids					
Arginine	84.89 <sup>b</sup>	87.02 <sup>a</sup>	84.19 <sup>b</sup>	0.39	0.002
Histidine	84.26	83.03	86.07	0.88	0.098
Isoleucine	83.85	80.83	82.05	4.26	0.882
Leucine	86.46 <sup>a</sup>	84.80 <sup>ab</sup>	82.17 <sup>b</sup>	0.88	0.022
Lysine	81.43	83.01	82.14	2.25	0.884
Methionine	85.97 <sup>a</sup>	83.85 <sup>b</sup>	81.26 <sup>c</sup>	0.49	0.001
Phenylalanine	89.25 <sup>a</sup>	85.40 <sup>b</sup>	78.32 <sup>c</sup>	0.98	0.001
Threonine	79.77	85.77	83.33	3.17	0.439
Valine	90.26	84.33	85.32	3.22	0.414
Non-essential amino acid					
Alanine	83.97 <sup>a</sup>	77.11 <sup>b</sup>	77.25 <sup>b</sup>	1.27	0.006
Aspartic acid	85.28	84.20	82.06	2.01	0.538
Cysteine	88.06	84.69	84.52	1.38	0.178
Glutamic acid	82.17 <sup>b</sup>	83.20 <sup>b</sup>	87.71 <sup>a</sup>	1.09	0.013
Glycine	87.21	84.26	86.02	1.73	0.507
Proline	84.49	85.76	83.77	5.42	0.966
Serine	92.73	89.64	88.24	1.92	0.287
Tyrosine	83.92 <sup>b</sup>	83.51 <sup>b</sup>	90.52 <sup>a</sup>	1.37	0.009

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

#### 다. 이유자돈 사료 내 동애등에 급여가 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향

- 1) 연구 목적 : 본 시험에서는 이유자돈에게 동애등에의 수준별 급여가 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향을 조사하여 동애등에의 가치를 평가하기 위하여 실시하였음.
- 2) 재료 및 방법
  - 시험설계, 시험동물 및 시험사료 : 배합사료 원료로서 동애등에의 가치를 평가하기 위하여 이유자돈(Landrace x Yorkshire x Duroc, 21±2일령, 6.51±0.15kg) 192두를 공시하여 4처리 6반복(반복 당 8두)으로 완전임의 배치하였으며, 시험은 4주간 실시하였음. 시험사료는 NRC(2012)에 제시된 표준 회장소화율기준과 영양소 요구량을 충족하거나 초과하도록 배합함(Table 1-37, Table 1-38, Table 1-39).

Table 1-37. Experimental design

Items	Black soldier fly(%)			
	0	1	2	3
Heads/Rep.	8	8	8	8
Replicate	6	6	6	6
Sub-total	48	48	48	48
Total	192			

Table 1-38. Ingredient and chemical composition of experimental diets(phase I, d 0 to 14)

Item	Black soldier fly(%)			
	0	1	2	3
Ingredients(%, as fed basis)				
Corn	26.00	26.77	27.53	28.27
SBM(45%)	26.03	24.80	23.60	22.40
Black soldier fly	-	1.00	2.00	3.00
Whey powder	15.00	15.00	15.00	15.00
Lactose	12.00	12.00	12.00	12.00
SDPP	5.00	5.00	5.00	5.00
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00
Soy oil	6.34	5.99	5.63	5.28
L-Lysine(78%)	0.14	0.16	0.18	0.19
DL-Methionine(100%)	0.11	0.11	0.11	0.11
L-Tryptophan(10%)	0.38	0.29	0.20	0.12
Limestone	1.10	1.10	1.10	1.10
MCP	1.04	0.92	0.79	0.67
Salt	0.23	0.23	0.23	0.23
ZnO	0.30	0.30	0.30	0.30
Vitamin premix	0.11	0.11	0.11	0.11
Mineral premix	0.22	0.22	0.22	0.22
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Chemical composition(%)				
ME(kcal/kg)	3,490	3,490	3,490	3,490
CP	21.00	20.98	20.99	20.99
Ca	0.85	0.85	0.85	0.85
Total P	0.69	0.67	0.64	0.61
Lysine	1.40	1.40	1.40	1.40
Met + Cys	0.84	0.84	0.83	0.83

Table 1-39. Ingredient and chemical composition of experimental diets(phase II, d 15 to 28)

Item	Black soldier fly(%)			
	0	1	2	3
Ingredients(%, as fed basis)				
Corn	44.87	45.50	46.03	46.67
SBM(45%)	25.90	24.70	23.60	22.40
Black soldier fly	-	1.00	2.00	3.00
Whey powder	10.00	10.00	10.00	10.00
Lactose	6.00	6.00	6.00	6.00
SDPP	2.00	2.00	2.00	2.00
Sugar	4.00	4.00	4.00	4.00
Soy oil	3.37	3.13	2.90	2.66
L-Lysine(78%)	0.16	0.18	0.19	0.21
DL-Methionine(100%)	0.08	0.09	0.09	0.09
L-Tryptophan(10%)	0.38	0.29	0.29	0.29
Limestone	1.10	1.10	1.10	1.10
MCP	1.19	1.06	0.94	0.81
Salt	0.32	0.32	0.32	0.32
ZnO	0.30	0.30	0.30	0.30
Vitamin premix	0.11	0.11	0.11	0.11
Mineral premix	0.22	0.22	0.22	0.22
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Chemical composition(%)				
ME(kcal/kg)	3,350	3,350	3,350	3,350
CP	18.99	18.98	19.02	19.02
Ca	0.85	0.85	0.85	0.85
Total P	0.73	0.71	0.68	0.65
Lysine	1.20	1.20	1.20	1.20
Met + Cys	0.71	0.72	0.72	0.71

○ 사양성적 : 시험을 개시하여 시험사료를 28일간 급여한 후 종료되는 시점에서 체중을 측정하여 일당증체량(ADG, average daily gain)을 계산하였으며, 사료섭취량을 측정하기 위하여 종료 체중 측정 시 사료 급이통에서 사료잔량의 무게를 측정하였음. 사양시험에서 얻어진 체중과 사료섭취량으로 일당증체량, 일일사료섭취량(average daily feed intake) 그리고 사료요구율(FCR, feed conversion ratio)을 산출하였음.

○ 영양소 소화율 : 영양소 소화율을 측정하기 위하여 Phase I(d 0~14)과 Phase II(d 15~28) 종료 일주일 전부터 불소화지시제인 산화크롬( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )을 시험사료 내 0.25%로 첨가하여 급여하였음. 분 채취는  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 을 첨가한 사료를 급여한 후 각 시험기간 종료 3일 전부터 각 돈방에서 분을 채취하였음. 채취한 분을 혼합하여 60°C의 열풍건조기에서 72

시간동안 건조시켜 1mm screen wiley mill로 분쇄 후 일반성분 분석을 실시하였음. 영양소 소화율은 다음의 계산식에 의하여 산출하였음.

$$\text{영양소 소화율(\%)} = \{1 - (\text{사료 중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 함량\%} \times \text{분 중의 영양소함량\%}) / (\text{분 중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 함량\%} \times \text{사료 중의 영양소함량\%})\} \times 100$$

- 화학적 분석 : 사료와 분의 일반성분 분석은 AOAC(2007)의 방법에 따라 분석하였으며, 에너지는 열량측정기(Model 1241, Parr Instrument Co., Molin IL)로 측정하였고,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 을 acid digestion method(Han 등, 1987)에 의하여 Spectrophotometer(Model V-550, Jasco Co., Japan)를 이용하여 측정하였음.
- 혈액 성상 및 cytokine 분비량 분석 : 사양시험 종료 시(d 28) 반복당 1두씩 선별하여, wing vein에서 EDTA가 처리된 진공 채혈관(vacutainer)과 아무처리가 되어있지 않은 채혈관에 각각 5mL씩 담고 EDTA에 수집한 혈액은 24시간 안에 혈구 분석기(HEMAVET, Drew Scientific Inc., Oxford, CT)를 이용하여 WBC(white blood cell), HB(hemoglobin), LY(lymphocytes), MO(monocytes), EO(eosinophils)을 측정하였고, 혈액 내 cytokine분비량을 측정하기 위하여 porcine IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$  kit(BD biosciences, USA)를 이용하였음. Capture antibody(anti-porcine IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$ )를 coating buffer(0.1M carbonate, PH 9.5)로 희석한 후, 96 well microplate에 100uL씩 넣고 4°C에서 12시간동안 반응시켰음. 코팅된 96 well microplate 각 well의 coating buffer를 제거하고 wash buffer(0.05% Tween20, PBS)로 3회 세척한 후, blocking buffer(1% BSA, PBS) 200uL씩을 넣고 실온에서 1~2시간 동안 방치하였음. 이를 다시 3회 세척한 후, sample diluent solution(1% BSA, 0.05% Tween 20, PBS)으로 희석된 혈청을 200uL씩 넣고 실온에서 2~4시간동안 반응시키고 4회 세척하였음. 이어서 working detector(detection antibody+Avidin-HRP)100uL씩 넣고 실온에서 1시간 반응시키고 세척한 후 substrate(TMB substrate)를 100uL 넣고 어두운 곳에서 30분 동안 반응시켰음. 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣고 반응을 정지시킨 후, microplate reader(Benchmarkplus, Bio-Rad Laboratories, USA)로 450nm에서 흡광도를 측정하고 작성된 표준곡선을 이용하여 IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$ 의 함량을 구하였음.
- 소장 morphology : 소장내 용모의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 실험 종료 시 처리별로 6두(총 24두)씩 도살 한 후 회장말단부위로부터 상단 15cm부분을 적출하여 식염수로 세척한 다음 10% formalin 용액에 침지하여 전자현미경으로 관찰할 때까지 냉장 보관하였음. 용모 높이와 용와 깊이를 측정하기 위하여 10% formalin 용액에 보존되어 있던 시료를 paraffin으로 고정시킨 후 6 $\mu$ m크기로 절단하여 azure A와 eosine으로 염색하였음. 염색한 시료는 40배 배율에서 전자현미경으로 측정함(Cera 등, 1988). 용모높이와 용와깊이의 비율은 두 수치를 나누어 산출하였음.

- 설사 발생률 : 설사지수 측정은 실험개시 후 매일 2회 오전 9시와 오후 9시에 실험돈을 대상으로 실시하였으며, 각 돈방별 자돈들을 대상으로 전 실험기간 동안 설사 지수를 측정하였음. 분변의 굳기에 따라 0~4의 점수를 부여했으며, 매우 딱딱함(0), 딱딱함(1), 무름(2), 매우 무름(3), 액상(4)로 돈방 당 8두의 평균을 감안하여 측정하였음. 모든 설사지수의 측정은 최대한 객관성을 유지하기 위하여 한 담당자에 의해 수행되었음.
- 통계 분석 : 본 시험에서 얻은 자료에 대한 통계 분석은 SAS 9.3(2012) 프로그램의 GLM(general linear model) 절차를 이용하여 동애등에 첨가수준에 대한 linear와 quadratic 효과를 조사하였음.

### 3) 결과 및 고찰

- 사양성적 : 이유자돈 사료에 동애등에의 수준별 급여에 따른 사양성적 결과는 Table 1-40와 같음. 일당증체량(ADG)의 경우 Phase I, II에서 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). 하지만 전체기간에서 동애등에의 첨가수준이 증가함에 따라 일당증체량이 개선되는 것으로 나타남( $P<0.05$ ). 일일사료섭취량(ADFI)과 사료효율(G:F)에서는 처리구간에 유의적인 차이가 없었음( $P>0.05$ ). Jin 등(2016)은 이유자돈 사료에 곤충박을 수준별 첨가한 결과 사양성적이 개선되었다는 보고와 유사한 결과가 나타났음.

Table 1-40. Effects of dietary supplementation of dried black soldier fly on growth performance of weaned pigs

Item	Black soldier fly(%)				SEM	P	
	0	1	2	3		Lin.	Quad.
Phase 1(d 0-14)							
ADG(g/d)	256	263	265	268	12.05	0.496	0.873
ADFI(g/d)	368	365	370	372	11.19	0.749	0.808
G:F(g/kg)	696	722	716	720	27.41	0.605	0.690
Phase 2(d 15-28)							
ADG(g/d)	425	431	444	441	13.55	0.127	0.924
ADFI(g/d)	698	704	712	715	12.09	0.281	0.906
G:F(g/kg)	609	611	625	633	19.16	0.334	0.894
Overall(d 0-28)							
ADG(g/d)	340	347	354	354	6.95	0.044	0.964
ADFI(g/d)	533	535	541	544	8.85	0.348	0.942
G:F(g/kg)	640	649	656	663	14.26	0.251	0.929

○ 영양소 소화율 : 이유자돈 사료에 동애등에의 수준별 급여에 따른 영양소 소화율 결과는 Table 1-41과 같음. 전기에서는 동애등에의 수준별 급여에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). 하지만 후기에서는 동애등에의 수준별 급여에 따라 건물의 소화율이 유의적으로 개선되는 것으로 나타났음( $P<0.05$ ).

Table 1-41. Effects of dietary supplementation of dried black soldier fly on apparent total tract digestibility(%) of nutrients in weaned pigs

Item	Black soldier fly(%)				SEM	P	
	0	1	2	3		Lin.	Quad.
Phase 1(d 14)							
Dry matter	86.99	86.84	87.35	87.54	0.32	0.147	0.604
Gross energy	84.62	84.49	85.01	84.59	0.40	0.816	0.728
Crude protein	82.51	82.99	82.72	82.80	0.57	0.817	0.728
Calcium	53.20	53.49	54.37	54.48	0.97	0.287	0.931
Phosphorus	47.87	48.70	47.99	47.75	1.11	0.835	0.637
Phase 2(d 28)							
Dry matter	83.81	84.48	84.76	84.94	0.27	0.006	0.370
Gross energy	82.01	82.65	82.56	82.68	0.53	0.465	0.744
Crude protein	79.56	79.75	80.50	80.07	0.55	0.370	0.577
Calcium	46.36	45.68	46.91	46.87	0.72	0.405	0.657
Phosphorus	43.14	44.12	43.53	43.71	0.71	0.733	0.578

○ 혈액 내 혈구 분석 : 이유자돈 사료에 동애등에 수준별 급여에 따른 혈액성상의 결과는 Table 1-42과 같음. 혈액성상 결과 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). 하지만 적혈구(RBC) 수치가 낮아지는 경향이 나타남( $P=0.080$ ). 이러한 결과는 Marono 등(2017)이 동애등에를 사료에 첨가하였을 때 혈액성상에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다는 보고와 일치함.

○ 혈액 내 cytokine분비량 분석 : 이유자돈 사료에 동애등에의 수준별 급여가 친염증 사이토카인, 면역글로블린 및 설사지수에 미치는 영향은 Table 1-43에 나타내었음. 혈액 내 사이토카인(IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6)의 경우 처리구간의 유의적 차이는 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). 하지만 종양괴사인자(TNF- $\alpha$ )의 경우 수치가 낮아지는 경향이 나타났음( $P=0.067$ ). 면역글로블린(IgG)의 경우 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). 설사지수에서는 동애등에의 첨가 수준이 증가할수록 감소하는 경향이 나타났

음(P=0.058). 사이토카인 중에서 친염증 사이토카인은 감염부위에 면역세포 작용을 활성화시키는 유전자로서 IL1- $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  등이 존재함. iNOS는 산화질소(NO)를 생산하는데 여러 원인에 의해 과다 생성 시 면역세포에서 ROS를 발생시켜 친염증 사이토카인과의 상호작용을 통해 세포를 손상시키는 것으로 알려져 있음(Guzik et al., 2003). 이러한 면역반응 과정에서 염증발생 기전은 활성산소와 지질 과산화 작용에 따른 스트레스가 중요한 원인 중의 하나로서 알려져 있음(Macdonald 등, 2003). 따라서 다양한 면역물질을 함유하고 있는 곤충을 이유자돈에게 급여할 경우 산화스트레스를 억제하여 사이토카인 등과 같은 면역작용에 영향을 미칠 수 있는 것으로 사료됨.

Table 1-42. Effects of dietary supplementation of dried black soldier fly on haematological traits of nutrients in weaned pigs

Items	Black soldier fly(%)				SEM	P	
	0	1	2	3		Lin.	Quad.
WBC( $10^3$ /ul)	27.72	23.92	22.67	24.68	1.54	0.148	0.074
RBC( $10^6$ /ul)	6.49	5.81	5.61	5.66	0.33	0.080	0.279
Hb(g/dL)	10.13	8.92	9.11	9.12	0.43	0.156	0.173
Lymphocyte(%)	60.39	61.84	62.36	62.16	2.60	0.622	0.755
Monocyte(%)	2.73 <sup>b</sup>	4.12 <sup>ab</sup>	5.08 <sup>a</sup>	5.03 <sup>a</sup>	0.48	0.001	0.147
Eosinophil(%)	1.40	1.88	1.97	2.02	0.18	0.025	0.651

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

Table 1-43. Effects of dietary supplementation of dried black soldier fly on immune response and fecal score of weaned pigs

Items	Black soldier fly(%)				SEM	P	
	0	1	2	3		Lin.	Quad.
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	15.05	13.37	13.67	14.79	1.11	0.927	0.223
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	171.20	167.24	154.38	162.87	4.37	0.067	0.170
IL-6(pg/mL)	3.63	4.33	3.55	3.15	1.13	0.632	0.706
IgG(ng/mL)	22.58	21.84	23.99	21.73	2.75	0.975	0.784
Fecal score	2.70	2.43	2.29	2.31	0.15	0.058	0.338

○ 소장 morphology : 이유자돈 사료에 동애등애의 수준별 첨가가 소장 모폴로지에 미치는 영향은 Table 1-44과 같음. 융모길이(villus height)의 경우 십이지장에서 동애등애의 첨가수준이 증가할수록 유의적으로 개선되는 것으로 나타났음( $P<0.05$ ). 하지만 융와깊이와 융모길이/융와깊이의 비율에서는 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았음( $P>0.05$ ). Velten 등(2018)은 육계 사료 내 동애등애를 첨가한 결과 십이지장의 융모길이 개선된다고 보고하였으며, 본 시험 또한 유사한 결과가 나타났음.

Table 1-44. Effects of dietary supplementation of dried black soldier fly on small intestinal morphology in weaning pigs

Item	Black soldier fly(%)				SEM	P	
	0	1	2	3		Lin.	Quad.
Villus height, um							
Duodenum	655	677	670	686	8.50	0.033	0.728
Jejunum	552	564	537	542	26.80	0.643	0.887
Ileum	474	419	444	412	38.57	0.363	0.759
Crypt depth, um							
Duodenum	324	327	336	317	15.95	0.856	0.489
Jejunum	283	260	264	256	8.45	0.057	0.374
Ileum	239	236	245	252	14.63	0.473	0.720
VH/CD							
Duodenum	2.02	2.09	2.10	2.15	0.12	0.294	0.478
Jejunum	1.97	2.04	2.16	2.28	0.13	0.640	0.570
Ileum	2.04	1.91	1.93	1.97	0.19	0.210	0.501

라. 이유자돈 사료 내 밀웜 사용에 따른 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향

1) 연구 목적 : 본 시험에서는 이유자돈에게 밀웜의 수준별 급여가 사양성적, 영양소 소화율 및 면역에 미치는 영향을 조사하여 밀웜의 어분대체 가능성을 평가하기 위하여 실시하였음.

2) 재료 및 방법

○ 배합사료 원료로서 밀웜의 가치를 평가하기 위하여 이유자돈(Landrace × Yorkshire × Duroc, 21±2일령, 6.27±0.15kg) 180두를 공시하여 3처리 6반복(반복 당 10두)으로 완전 임의 배치(Table 1-28)하였으며, 시험은 4주간 실시하였음. 시험사료는 NRC(2012)에 제시된 표준 회장소화율기준과 영양소 요구량을 충족하거나 초과하도록 배합하였다(Table

1-45, Table 1-46, Table 1-47).

Table 1-45. Experimental design

Items	Mealworm(%)		
	0	2.5	5
Heads/Rep.	10	10	10
Replicate	6	6	6
Sub-total	60	60	60
Total	180		

Table 1-46. Ingredient and chemical composition of experimental diets(phase; d 0 to 14)

Items	Mealworm(%)		
	0	2.5	5
Ingredients(%, as fed basis)			
Corn	30.46	29.97	29.39
SBM(45%)	18.20	18.10	18.10
Mealworm	-	2.50	5.00
Fish meal	5.00	2.50	-
Whey powder	15.00	15.00	15.00
Lactose	12.00	12.00	12.00
SDPP	5.00	5.00	5.00
Sugar	6.00	6.00	6.00
Soy oil	5.58	5.57	5.56
L-Lysine(78%)	0.08	0.13	0.17
DL-Methionine(100%)	0.05	0.07	0.08
L-Tryptophan(10%)	0.45	0.52	0.59
Limestone	1.10	1.10	1.10
MCP	0.34	0.75	1.16
Salt	0.11	0.16	0.22
ZnO	0.30	0.30	0.30
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.11	0.11	0.11
Mineral premix <sup>2</sup>	0.22	0.22	0.22
Total	100.00	100.00	100.00
Chemical composition(%)			
ME(kcal/kg)	3,490	3,490	3,490
CP	21.01	20.98	20.99
Ca	0.85	0.85	0.85
Total P	0.61	0.65	0.70
Lysine	1.40	1.40	1.40
Met + Cys	0.82	0.82	0.82

Table 1-47. Ingredient and chemical composition of experimental diets(phase II; d 15 to 28)

Item	Mealworm(%)		
	0	2.5	5
Ingredients(%, as fed basis)			
Corn	48.24	47.90	47.55
SBM(45%)	21.10	21.10	21.10
Mealworm	-	1.50	3.00
Fish meal	3.00	1.50	-
Whey powder	10.00	10.00	10.00
Lactose	6.00	6.00	6.00
SDPP	2.00	2.00	2.00
Sugar	4.00	4.00	4.00
Soy oil	2.30	2.30	2.29
L-Lysine(78%)	0.13	0.15	0.18
DL-Methionine(100%)	0.06	0.06	0.07
L-Tryptophan(10%)	0.42	0.47	0.51
Limestone	1.10	1.10	1.10
MCP	0.77	1.01	1.26
Salt	0.25	0.28	0.31
ZnO	0.30	0.30	0.30
Vitamin premix	0.11	0.11	0.11
Mineral premix	0.22	0.22	0.22
Total	100.00	100.00	100.00
Chemical composition(%)			
ME(kcal/kg)	3,350	3,350	3,350
CP	19.01	19.01	19.02
Ca	0.85	0.85	0.85
Total P	0.68	0.71	0.74
Lysine	1.20	1.20	1.20
Met + Cys	0.71	0.71	0.71

○ 사양성적 : 시험을 개시하여 시험사료를 28일간 급여한 후 종료되는 시점에서 체중을 측정하여 일당증체량(ADG, average daily gain)을 계산하였으며, 사료섭취량을 측정하기 위하여 종료 체중 측정 시 사료 급이통에서 사료잔량의 무게를 측정하였음. 사양시험에서 얻어진 체중과 사료섭취량으로 일당증체량, 일일사료섭취량(average daily feed intake) 그리고 사료요구율(FCR, feed conversion ratio)을 산출하였음.

○ 영양소 소화율을 측정하기 위하여 Phase I (d 0~14)과 Phase II (d 15~28) 종료 일주일

전부터 불소화지시제인 산화크롬( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )을 시험사료 내 0.25%로 첨가하여 급여하였음. 분 채취는  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 을 첨가한 사료를 급여한 후 각 시험기간 종료 3일 전부터 각 돈방에서 분을 채취하였음. 채취한 분을 혼합하여  $60^\circ\text{C}$ 의 열풍건조기에서 72시간동안 건조시켜 1mm screen wiley mill로 분쇄 후 일반성분 분석을 실시하였음.

- 사료와 분의 일반성분분석은 AOAC(2007)의 방법에 준하여 분석하였고, 에너지는 열량측정기(Model 1241 Parr Instrument Co., Molin, IL)로 측정하였음. 영양소 소화율은  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 의 acid digestion method(한 등, 1987)에 의하여 Spectrophotometer(Model V-550, Jasco Co., Japan)를 이용하여 측정하였음. 영양소 소화율은 다음의 계산식에 의하여 산출하였음.

$$\text{영양소 소화율(\%)} = \{1 - (\text{사료 중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 함량\%} \times \text{분 중의 영양소 함량\%}) / (\text{분 중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 함량\%} \times \text{사료 중의 영양소 함량\%})\} \times 100$$

- 혈액 성분 및 cytokine분비량 분석 : 사양시험 종료 시(d 28) 반복당 1두씩 선별하여, wing vein에서 EDTA가 처리된 진공 채혈관(vacutainer)과 아무처리가 되어있지 않은 채혈관에 각각 5mL씩 담고 EDTA에 수집한 혈액은 24시간 안에 혈구 분석기(HEMAVET, Drew Scientific Inc., Oxford, CT)를 이용하여 WBC(white blood cell), HB(hemoglobin), LY(lymphocytes), MO(monocytes), EO(eosinophils)을 측정하였고, 혈액 내 cytokine분비량을 측정하기 위하여 porcine IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$  kit(BD biosciences, USA)를 이용하였음. Capture antibody(anti-porcine IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$ )를 coating buffer(0.1M carbonate, pH 9.5)로 희석한 후, 96 well microplate에 100uL씩 넣고  $4^\circ\text{C}$ 에서 12시간동안 반응시켰음. 코팅된 96 well microplate 각 well의 coating buffer를 제거하고 wash buffer(0.05% Tween 20, PBS)로 3회 세척한 후, blocking buffer(1% BSA, PBS) 200uL씩을 넣고 실온에서 1~2시간 동안 방치하였음. 이를 다시 3회 세척한 후, sample diluent solution(1% BSA, 0.05% Tween 20, PBS)으로 희석된 혈청을 200uL씩 넣고 실온에서 2~4시간동안 반응시키고 4회 세척하였음. 이어서 working detector(detection antibody+Avidin-HRP)100uL씩 넣고 실온에서 1시간 반응시키고 세척한 후 substrate(TMB substrate)를 100uL 넣고 어두운 곳에서 30분 동안 반응시켰음. 2N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 넣고 반응을 정지시킨 후, microplate reader(Benchmarkplus, Bio-Rad Laboratories, USA)로 450nm에서 흡광도를 측정하고 작성된 표준곡선을 이용하여 IL-1 $\beta$ , IL-6, IgG TNF- $\alpha$ 의 함량을 구하였음.
- 소장 morphology : 소장내 용모의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 실험 종료 시 처리별로 6두(총 24두)씩 도살 한 후 회장말단부위로부터 상단 15cm부분을 적출하여 식염수로 세척한 다음 10% formalin 용액에 침지하여 전자현미경으로 관찰할 때까지

냉장 보관하였음. 용모 높이와 용와 깊이를 측정하기 위하여 10% formalin 용액에 보존되어 있던 시료를 paraffin으로 고정시킨 후 6um크기로 절단하여 azure A와 eosine으로 염색하였음. 염색한 시료는 40배 배율에서 전자현미경으로 측정함(Cera 등, 1988). 용모높이와 용와깊이의 비율은 두 수치를 나누어 산출하였음.

- 설사 발생률 : 설사지수 측정은 실험개시 후 매일 2회 오전 9시와 오후 9시에 실험돈을 대상으로 실시하였으며, 각 돈방별 자돈들을 대상으로 전 실험기간 동안 설사 지수를 측정하였음. 분변의 굳기에 따라 0~4의 점수를 부여했으며, 매우 딱딱함(0), 딱딱함(1), 무름(2), 매우 무름(3), 액상(4)로 돈방 당 8두의 평균을 감안하여 측정하였음. 모든 설사지수의 측정은 최대한 객관성을 유지하기 위하여 한 담당자에 의해 수행되었음.
- 통계 분석 : 본 시험에서 얻은 자료에 대한 통계 분석은 SAS 9.3(2012) 프로그램의 GLM(general linear model) 절차를 이용하여 동애등에 첨가수준에 대한 linear와 quadratic 효과를 조사하였음.

### 3) 결과 및 고찰

- 사양성적 : 이유자돈 사료에 밀웜의 수준별 급여에 따른 사양성적 결과는 Table 1-48과 같음. 전기와 후기 밀웜의 2.5% 첨가는 다른 처리구에 비해 일당증체량이 개선되는 경향이 나타났음(P=0.095). 또한 전체 기간에서도 어분의 2.5%를 대체한 처리구에서 다른 처리구에 비해 일당증체량이 유의적으로 개선되는 것으로 나타났음(P<0.05). 이는 밀웜이 어분을 부분적으로 대체할 수 있을 것으로 판단됨.

Table 1-48. Effects of dried mealworm larvae supplementation replacing fish meal in diet on growth performance of weaned pigs

Items	Mealworm(%)			SEM	P
	0	2.5	5		
Phase 1(d 0-14)					
ADG(g/d)	244	256	241	4.92	0.095
ADFI(g/d)	368	376	368	7.73	0.676
G:F(g/kg)	663 <sup>ab</sup>	681 <sup>a</sup>	655 <sup>b</sup>	6.12	0.024
Phase 2(d 15-28)					
ADG(g/d)	436	442	417	7.19	0.069
ADFI(g/d)	715	711	676	16.06	0.211
G:F(g/kg)	611	624	617	14.72	0.814
Overall(d 0-28)					
ADG(g/d)	340 <sup>ab</sup>	349 <sup>a</sup>	329 <sup>b</sup>	3.98	0.010
ADFI(g/d)	541	543	522	7.92	0.149
G:F(g/kg)	628	643	631	11.82	0.644

<sup>a-b</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

○ 영양소 소화율 : 이유자돈 사료 내 밀웜의 첨가가 영양소 소화율 결과는 Table 1-49에 나타내었음. 밀웜의 첨가에 의한 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않음( $P>0.05$ ). 하지만 전기 건물(DM)과 에너지(GE) 소화율이 개선되는 경향이 나타남(DM,  $P=0.081$ ; GE,  $P=0.078$ ).

Table 1-49. Effects of dried mealworm larvae supplementation replacing fish meal in diet on nutrient digestibility of weaned pigs

Items	Mealworm(%)			SEM	P
	0	2.5	5		
Phase 1(d 14)					
DM	85.51	87.03	85.80	0.47	0.081
GE	84.57	86.57	84.94	0.61	0.078
CP	83.07	83.26	82.28	0.35	0.146
Phase 2(d 28)					
DM	87.11	86.15	87.43	0.52	0.226
GE	83.44	83.08	82.45	0.63	0.549
CP	81.46	81.87	81.38	0.99	0.933

○ 혈액 내 혈구 분석 : 사료 내 밀웜의 첨가가 혈액 내 혈구에 미치는 영향은 Table 1-50와 같음. 밀웜의 첨가는 전기와 후기 혈액 성상의 경우 처리구간의 유의적인 차이는 발견되지 않았음( $P>0.05$ )

Table 1-50. Effects of dried mealworm larvae supplementation replacing fish meal in diet on haematological traits of weaned pigs

Items	Mealworm(%)			SEM	P
	0	2.5	5		
Phase 1(d 14)					
WBC( $10^3$ /ul)	19.26	19.83	19.43	1.32	0.831
RBC( $10^6$ /ul)	6.26	6.01	6.22	0.15	0.453
Lymphocyte(%)	55.27	56.62	61.06	2.01	0.138
Monocyte(%)	4.92	4.87	4.83	0.48	0.992
Phase 2(d 28)					
WBC( $10^3$ /ul)	21.28	20.32	21.21	1.68	0.469
RBC( $10^6$ /ul)	6.55	6.60	6.11	0.17	0.122
Lymphocyte(%)	58.30	60.25	57.68	4.33	0.909
Monocyte(%)	4.45	4.35	5.93	0.52	0.085

○ 혈액 내 cytokine 분비량 및 설사 지수 : 이유자돈 사료 내 밀웜의 첨가가 혈액 내 cytokine 분비량과 설사지수에 미치는 영향은 Table 1-51에 나타내었음. 사료 내 밀웜의 첨가는 혈중 IgG 수치를 유의적으로 개선하는 것으로 나타났고(P<0.05), 전기 IL-6 감소하는 경향이 나타났음(P=0.052).

Table 1-51. Effects of dried mealworm larvae supplementation replacing fish meal in diet on immune response and fecal score of weaned pigs

Item	Mealworm(%)			SEM	P
	0	2.5	5		
Phase 1(d 14)					
IL-1β(pg/mL)	14.10	14.27	14.23	0.64	0.980
TNF-α(pg/mL)	123.14	112.85	121.79	14.08	0.855
IL-6(pg/mL)	5.05	2.34	3.94	0.72	0.052
IgG(ng/mL)	10.85 <sup>b</sup>	17.75 <sup>a</sup>	14.95 <sup>a</sup>	1.79	0.048
Fecal score	2.64	2.61	2.28	0.25	0.530
Phase 2(d 28)					
IL-1β(pg/mL)	10.53	9.30	10.29	2.08	0.906
TNF-α(pg/mL)	161.36	140.20	150.49	14.82	0.611
IL-6(pg/mL)	3.35	2.63	3.47	0.91	0.782
IgG(ng/mL)	18.37	25.70	26.86	3.82	0.264

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

○ 소장 morphology : 이유자돈 사료에 밀웜의 첨가가 소장 모폴로지에 미치는 영향은 Table 1-52와 같음. 밀웜의 급여에 따른 용모길이, 용와깊이 및 용모길이/용와깊이 비율에서 처리구간의 유의적인 차이는 발견되지 않았음(P>0.05).

○ 밀웜의 경제성 : 현재('18년 9월 기준) 어분 가격은 2,500/kg, 밀웜의 가격은 1,900/kg으로 약 600/kg의 가격 차이가 발생함. 밀웜을 자돈사료에 어분을 대체하여 5% 사용하였을 때, 자돈사료 가격은 30원/kg의 절감효과가 발생하여, 밀웜은 자돈사료에 사용되는 어분을 충분히 대체가 가능한 원료라고 판단됨.

Table 1-52. Effects of dried mealworm larvae supplementation replacing fish meal in diet on small intestinal morphology of weaned pigs

Items	Mealworm(%)			SEM	P
	0	2.5	5		
Villus height, $\mu\text{m}$					
Duodenum	584	579	578	13.23	0.952
Jejunum	521	541	539	18.50	0.718
Ileum	445	426	467	19.34	0.350
Crypt depth, $\mu\text{m}$					
Duodenum	324	317	330	14.47	0.816
Jejunum	330	355	349	14.64	0.473
Ileum	265	270	268	12.63	0.964
VH/CD					
Duodenum	1.82	1.86	1.76	0.10	0.783
Jejunum	1.64	1.53	1.55	0.11	0.788
Ileum	1.73	1.58	1.74	0.07	0.270

## 제 4 절 가금사료용 대체가능 사료자원의 발굴, 성분 분석 평가 및 후보자원의 선정

### 1. 가금용 대체가능 사료자원의 발굴, 성분분석 평가 및 후보자원의 선정

#### 가. 연구수행 내용

- 1) 부존자원 뽕잎A, 뽕잎C, 부레옥잠뿌리, 부레옥잠, 밀웜박, 굼뱅이박 등의 일반성분 분석 결과는 Table 2-1과 같음.
  - 채취한 원료사료의 조지방(CP)함량이 높게 나타난 순서는 뽕잎A > 뽕잎C > 밀웜박 > 굼뱅이박 > 부레옥잠 > 부레옥잠 뿌리 순으로 나타났는데, 이중 뽕잎A이 8.37%로서 높았음.
  - 조단백이 많이 함유된 순으로 밀웜박 > 굼뱅이박 > 뽕잎C > 뽕잎A > 부레옥잠 > 부레옥잠 뿌리 순으로 조사되었는데, 이중 밀웜박과 굼뱅이박은 조단백 함량이 60%이상 수준으로 에너지사료로서의 이용가치는 높다고 볼 수 있음.
  - 한편 섬유질 원료사료중에서는 부레옥잠과 부레옥잠 뿌리가 조사료로서의 대체가능성이 높게 평가됨.

Table 2-1. 사료자원 후보군의 일반성분 분석 결과(%)

	뽕잎A	뽕잎C	부레옥잠뿌리	부레옥잠	밀웜박	굼뱅이박
수분	62.9	62.87	95	88.7	-	-
CP	13.8	14.2	5.4	7.4	83.0	62.0
EE	8.37	8.11	0.56	1.05	7.81	4.49
Ash	12.6	11.9	8.1	7.4	9.1	19.0
NDF	30.5	35.3	76.7	58.8	43.9	40.7
ADF	16.1	17.2	35.9	27.6	32.7	30.8

- 본 연구는 국내에 수입원료 의존도를 줄이고 보편화된 배합사료 형태로부터 벗어나기 위해 아직 사료원료로 사용되지 않았으며, 기존의 배합사료를 대체하여 대량생산이 가능한 저렴하고 영양적 가치가 뛰어난 부존자원을 적극적으로 연구개발하여 농가생산비를 절감하고자 필요한 기초자료를 제공하기 위해 문헌조사를 실시.

- 연구목표는 부존사료자원의 조사연구와 현지재배 및 수급 가능성에 대한 예비조사를 시행했으며, 기초자료의 확보와 각 원료의 샘플 수집, 수집된 원료에 대한 성분분석을 통한 영양가치 평가 및 현지 재배에 대한 기존연구의 검토함.
- 다음의 연구개발 목표는 수집한 대체원료의 일반성분 분석 결과와 수급 품질로 부존자 원료로 활용 가능한 원료에 대해 안전성검사를 통해 유해성을 판단하고 경제성이 높은 원료를 얼마나 기존배합사료 대비 사용 가능한 수준을 파악할 수 있을 것임.

Table 2-2. 문헌 검색을 통한 후보군 자료

Items (%)	Sweet potato vine (sun-cured)	Sweet potato vine (dried)	Potato stem (sun-cured)	Sweet potato leaves	Rice white	Guar meal	Guar korma
Moisture	84.86	-	81.90	82.2	87.7	5.38	7.28
CP	12.63	23.1	23.59	24.9	8.90	44.27	57.86
EE	3.30	5.3	4.42	4.90	1.08	4.46	5.75
Ash	12.04	13.4	17.65	11.1	3.24	6.18	5.98
NDF	47.11	41.4	30.20	-	-	-	-
ADF	24.93	-	24.13	-	-	-	-
CF	-	16.0	-	7.20	7.64	12.30	4.05
Reference	2012, RDA	Ly et al., 2010	2012, RDA	Antia et al., 2006	Kim et al., 2016	Vohra& Kratzer., 1964	

## 2. 뽕잎 첨가사료가 육계의 생산성에 미치는 영향

### 가. 뽕잎을 이용한 사양시험 추진

- 가금용 대체 사료원료 개발을 위한 1잎, 부레옥잠 뿌리, 부레옥잠, 밀웜박 및 굼벵이박 등의 대체사료 원료를 선정하여 분석을 실시하였는데 그 결과, 뽕잎의 조지방 함량이 다른 원료에 비해 가장 높았고, 뽕잎의 조단백질 함량은 밀웜박, 굼벵이박 등의 동물성 원료를 다음으로 가장 높았음.
- 따라서 배합사료의 주원료(옥수수, 대두박 및 소맥)을 대체가능성을 확인하기 위하여 뽕잎을 육계에 급여하여 경제적인 효과를 밝히기 위하여 시행함.

## 나. 동물사양실험

- 일령의 아바에이커(Arbor Acres) 초생추(200수)를 구매한 후, 12개의 펜에 16~17수씩 배치함. 7일령에 각 처리구 사이에 평균체중이 균등하도록 병아리를 재배치 한 다음, 무작위로 3펜씩 선정하여 0%, 1%, 2.5% 및 5% 빵잎 분말을 첨가한 사료를 3주 동안 급여하였음
- 사육실은 입식 당일 온도 35°C 및 상대습도 70%로 유지된 후 단계적으로 감소시켜, 21일령부터는 21°C 및 60%가 되도록 설정하였음. 실험기간 동안 일일 점등시간은 오전 1시부터 자정까지 23시간, 소등은 자정부터 1시간이었음. 펜의 깔짚으로 톱밥이 사용되었음.
- 사양실험에서 육계 8일령부터 21일령까지 육계전기사료를 22일부터 28일까지 육계후기 사료(농협)를 기초사료로 사용하였음. 실험기간 동안 사료와 물은 무제한으로 급여하였고, 펜의 넓이는 사료통을 포함하여 1.1m<sup>2</sup> 이며 실험시작 시 사육밀도는 4주령 기준으로 16 kg/m<sup>2</sup>로 맞추었음. 사양기간 동안 온도, 상대습도 그리고 폐사율은 매일, 사료섭취량, 체중은 매주 측정되었음. 매주 측정된 체중으로 각 개체별 주간 증체량을 계산하였음. 주간 사료효율은 각 개체별 주간 증체량에서 각 펜스별 주간 사료섭취량을 나누었음.
- 장기무게와 길이 측정 등 생체 시료를 채취하기 위하여, 28일령에 처리구당 7수씩 선발하였음. 먼저, 육계의 익하정맥에서 채혈한 후 단두하고 방혈하였음. 그 후 개복하여 심장, 간, 비장을 적출하여 혈액등 수분을 제거한 다음 바로 무게를 측정하였고, 근위, 대장(맹장, 직장) 및 소장(십이지장, 공장, 회장)에서는 장관 내 이물질들을 물로 세척하고 조심스레 물기를 제거 한 후 무게와 길이를 측정하였음.
- 채취된 혈액에서 혈장을 얻기 위하여 원심 분리 후, 상층 혈장을 분주하여 성분 분석 시까지 냉동 보관하였고, ELISA를 이용하여 성분을 분석하였음.
- 본 실험에 얻어진 자료는 SAS(v. 9.3, SAS Institute, Inc, Carry, Nc)의 일반선형모형 (general linear model)을 이용하여 빵잎에 대해 분석하였음.

## 다. 실험결과

- Figure 2-1은 사료 섭취량을 나타낸 것임. 사료 섭취량은 2주 동안 차이 없었지만, 3주 및 4주째에 변화가 있었음. 3주째에 1% 및 5%에서 그리고 4주째에 빵잎 첨가량에 비례하여 유의적으로 증가하였음(P<0.05).

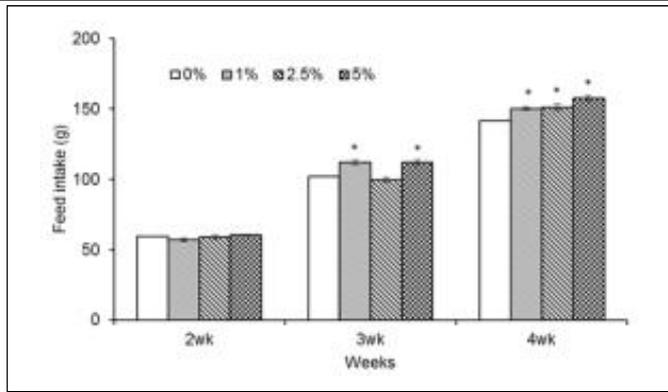


Figure 2-1. Feed intake(g) in broilers(P<0.05).

(Feeds were supplemented with mulberry leaf's powder at 0, 1, 2.5 and 5%)

- 뽕잎이 첨가된 사료를 3 주간 급여한 후, 육계의 혈장을 분석한 결과를 Table 2-3에 제시하였음. 뽕잎의 첨가량과 함께 중성지방이 현저히 감소하였음(P<0.05). 이 결과는 복강 지방의 감소와 일치하며 추가적인 연구가 필요하다고 판단됨. Aspartate aminotransferase의 함량은 1%에서 증가하였지만 나머지는 대조구와 차이 없었음. 혈중 creatine은 사료에 뽕잎이 첨가됨에 따라 전 처리구에서 유의적으로 감소하였음(P<0.05).

Table 2-3. Effects of dietary supplementation of mulberry leaf's powder on biochemicals in plasma of broilers provided for 3 weeks

Blood parameters	Dietary mulberry leaf's powder			
	0%	1%	2.5%	5%
Glucose(mg/dL)	218.6±31.0	209.8±16.6	212.3±11.3	186.4±10.5
Triglyceride(mg/dL)	31.9±1.7 <sup>a</sup>	34.8±3.3 <sup>a</sup>	28.9±4.1 <sup>ab</sup>	20.3±1.3 <sup>b</sup>
Albumin(g/dL)	1.2±0.0	1.2±0.0	1.2±0.0	1.1±0.0
Total protein(g/dL)	3.4±0.1	3.5±0.1	3.2±0.1	3.3±0.1
Phosphorus(mg/dL)	6.7±0.1	6.9±0.2	6.6±0.3	6.7±0.1
Aspartate aminotransferase(U/L)	226.3±0.1 <sup>b</sup>	338.6±0.2 <sup>a</sup>	203.9±0.3 <sup>b</sup>	225.0±0.1 <sup>b</sup>
Calcium(mg/dL)	10.9±0.1	10.6±0.2	10.5±0.2	10.8±0.2
Uric acid(mg/dL)	3.9±0.2	4.6±0.5	4.1±0.5	3.9±0.3
Globuline(g/dL)	2.1±0.1	2.2±0.1	2.0±0.1	2.2±0.0
Cholesterol(g/dL)	156.9±5.5	146.6±7.4	164.6±9.2	144.9±5.8
Creatine(mg/dL)	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.01±0.01 <sup>ab</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
Ammonia(umol/L)	353.7±18.9	342.1±25.9	308.2±16.1	295.8±15.1
Amylase(U/L)	359.3±31.0	460.0±33.1	360.4±45.4	382.1±33.9

- Figure 2-2는 체중변화를 나타낸 것임. 육계의 체중은 실험을 통하여 전 기간 동안 처리구 사이에 차이가 없었음. 단지, 예외적으로 4주째에는 5%의 처리구에서 대조구에 비해 유의적으로 낮았음( $P<0.05$ ).

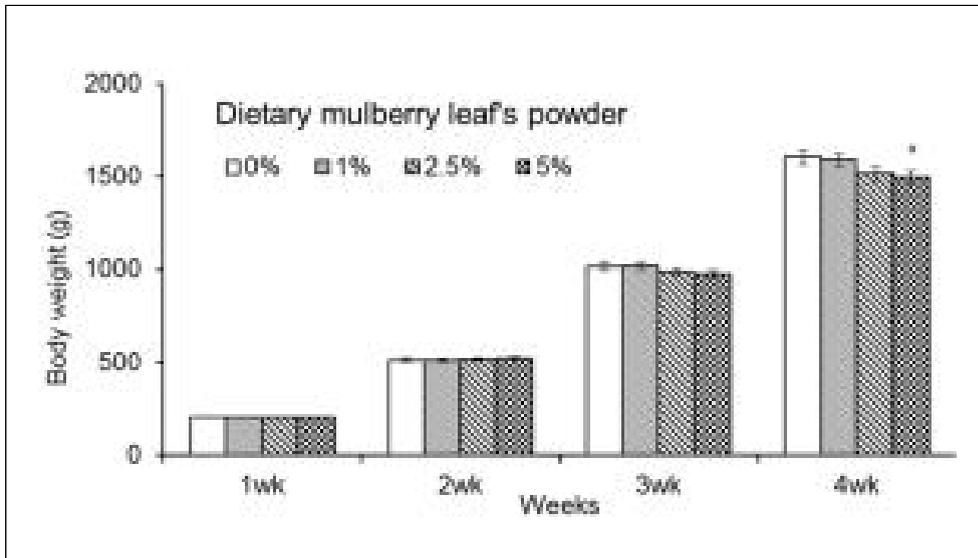


Figure 2-2. Body weight(g) intake in broilers( $P<0.05$ ).

(Feeds were supplemented with mulberry leaf's powder at 0, 1, 2.5 and 5%.)

- 체중 100g 당 장기의 무게와 길이에도 변화가 있었음. 심장, 간, 비장, 췌장, 근위, 직장, 가슴육, 가슴육 제외 및 포함 도체의 무게에 유의적인 차이가 없었음. 그러나 공장, 회장 맹장 및 십이지장( $P<0.06$ )의 무게는 빵잎첨가량과 더불어 증가하였으나, 복강지방의 무게는 감소하였음( $P<0.05$ )(Figure 2-3).
- 사료 빵잎함량과 더불어 십이지장( $P<0.065$ ), 공장( $P<0.054$ ) 및 회장( $P<0.062$ )의 상대 길이가 증가하였지만( $P<0.05$ ), 맹장과 직장의 길이에서는 유의적인 차이가 없었음(Figure 2-4).

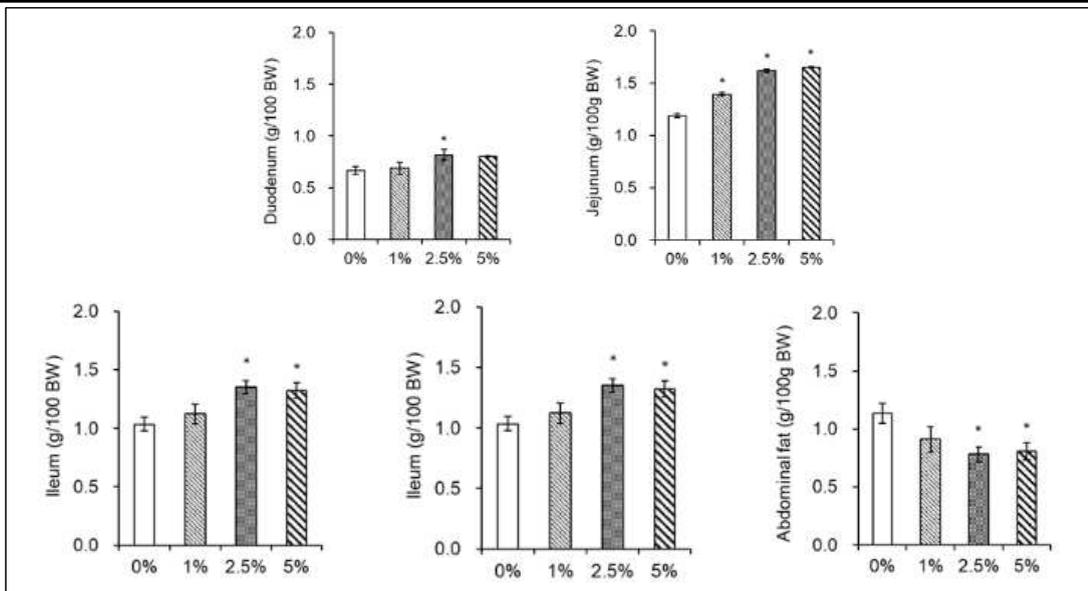


Figure 2-3. Relative weights of duodenum, jejunum, ileum, cecal and abdominal fat in broilers fed diets supplemented with mulberry leaf's powder at 0, 1, 2.5 and 5%(P<0.05).

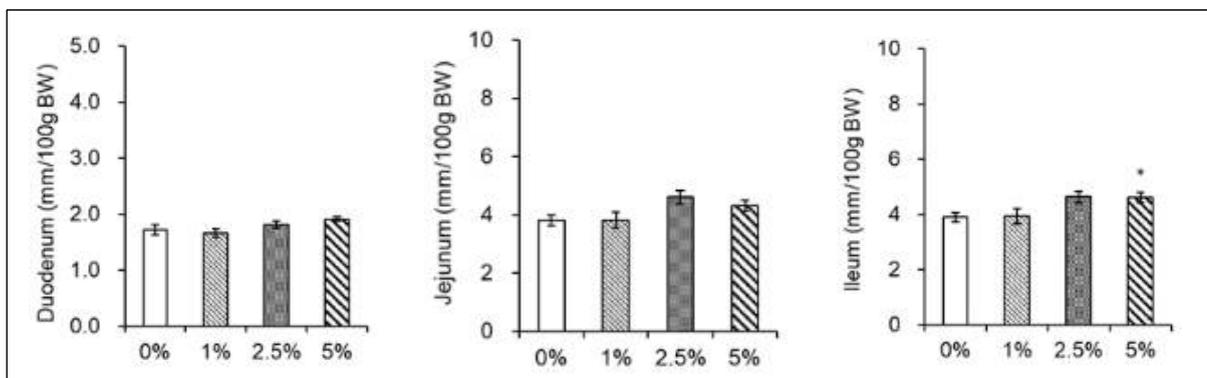


Figure 2-4. Relative length of duodenum, jejunum, and ileum in broilers fed diets supplemented with mulberry leaf's powder at 0, 1, 2.5 and 5%(P<0.05).

### 3. 육계사료에서 밀웜의 대두박 대체효과 결정

#### 가. 밀웜의 성분분석

- 동물실험에 사용하기 전에 먼저, 구매된 밀웜분말의 성분분석이 수행되었음. 밀웜분말에는 수분 7.5%, 조단백질 68.0%, 조지방 4.8%, 조섬유 2.7%, 조회분 2.5% 및 열량 4936cal/g이 분석됨. 카드뮴, 수은과 같은 중금속은 검출되지 않았으며, 조질소의 함량

을 높일 수 있는 멜라닌, 그리고 독성을 유발할 수 있는 농약, 곰팡이 독소 또한 검출되지 않았음(Table 2-4, Table 2-5).

Table 2-4. 밀웜분말 일반성분 및 아미노산 분석결과

구분	단위	분석결과	구분	단위	분석결과
수분	%	7.52	시스테인(Cys)	%	1.344
조단백질	%	68.03	메치오닌(Met)	%	1.061
조지방	%	4.84	아스파르트산(Asp)	%	4.251
조섬유	%	2.69	트레오닌(Thr)	%	2.407
조회분	%	2.49	세린(Ser)	%	3.742
열량	cal/g	4,936.00	글루탐산(Glu)	%	8.572
칼슘	mg/kg	6,842.33	글리신(Gly)	%	3.264
구리	mg/kg	28.31	알라닌(Ala)	%	3.267
철	mg/kg	1,405.88	발린(Val)	%	2.328
칼륨	mg/kg	4,316.51	이소루신(Ile)	%	1.590
마그네슘	mg/kg	1,827.18	루신(Leu)	%	4.859
망간	mg/kg	51.76	타이로신(Tyr)	%	2.030
나트륨	mg/kg	4,219.17	페닐알라닌(Phe)	%	2.170
인	mg/kg	4,539.82	라이신(Lys)	%	3.451
아연	mg/kg	92.90	히스티딘(His)	%	0.981
토사	%	2.17	아르기닌(Arg)	%	4.088
펩신소화율	%	67.12	프롤린(Pro)	%	3.456
NDF	%	25.91			
ADF	%	9.57			
셀룰로스	%	1.03			
휘발성염기태질소	%	0.49			

Table 2-5. 밀웜분말 유해물질 및 잔류농약 분석결과

구분	단위	분석결과	구분	단위	분석결과
카드늄	mg/kg	불검출	디크로보스	mg/kg	불검출
수은	mg/kg	불검출	크레속심-메틸	mg/kg	불검출
멜라민	mg/kg	불검출	퍼메트린	mg/kg	불검출
아플라톡신	mcg/kg	불검출	클로르피리포트	mcg/kg	불검출
오클라톡신	mcg/kg	불검출	클로르피리포트-메틸	mcg/kg	불검출
알드린+디엘드린	mg/kg	불검출	다이아지논	mg/kg	불검출
디디티	mg/kg	불검출	디메토에이트	mg/kg	불검출
헵타클로르	mg/kg	불검출	페니트로티온	mg/kg	불검출
프로클로라즈	mg/kg	불검출	펜티온	mg/kg	불검출
프로피코나졸	mg/kg	불검출	펜토에이트	mg/kg	불검출
퀸토젠	mg/kg	불검출	피리미포스-메틸	mg/kg	불검출
비펜트린	mg/kg	불검출	터브포스	mg/kg	불검출
사이퍼메트린	mg/kg	불검출			

나. 밀웜분말의 *in vitro* 소화율 결정

- 두 번째로, 동물 실험을 수행하기에 앞서 사용될 밀웜분말의 *in vitro* 소화율의 분석을 수행하였음. 대두박이 *in vitro* 소화율실험에서 표준 시료로 사용되었고, 입자의 크기에 따른 소화율의 변화가 분석되었음. 분석에 이용된 입자의 크기는 두 시료의 구매 당시 성상이 분말상태이고 입자의 크기가 제한되어 있기 때문에 공통적으로 이용 가능한 입자의 크기 내에서 결정되었고 이들은 0.1mm, 0.3mm 및 0.5mm 였음.
- 입자의 크기가 0.5mm에서 0.3mm로 작아짐에 따라, 대두박의 소화율은 거의 증가하지 않았지만, 0.1mm일 때는 소폭 증가(6.2%)하였음. 밀웜분말 또한 0.3mm 크기까지 대두박과 유사한 경향을 보였지만, 입자가 0.1mm로 감소되었을 때 소화율이 17.3%까지 증가되어 74.7%까지 증가되었음(Table 2-6). 이러한 결과는 대두박과 달리 밀웜분말은 0.1mm 또는 그 이하의 입자 크기로 사료에 첨가되는 것이 바람직하다는 것을 시사됨. 특히 입자도가 큰 밀웜분말은 소화율이 현저히 감소될 가능성이 있다는 것을 시사함. 그러나 실제로 동물실험에서는 구매한 그대로의 밀웜분말이 사용되어야 하므로, 입자도 나눔 없이 분석된 소화율은 67%였음.

Table 2-6. 밀웜분말의 *in vitro* 소화율 분석

Feed sources	Particle size(mm)		
	0.1	0.3	0.5
Soybean meal	88.5	82.3	81.2
Mealworm	74.7	57.4	57.7

다. 동물시험

- 밀웜분말의 성분분석 및 *in vitro* 소화율 결과를 바탕으로 옥수수과 대두박 중심의 기초사료를 제조하였음. 여기에 대두박의 첨가량을 100%로 간주했을 때, 밀웜분말을 0%(MW00)(기초사료), 25%(MW25), 50%(MW50), 75%(MW75) 및 100%(MW100) 대체하는 총 5개의 사료 처리구를 제조하여 5주간 동물실험을 수행하였음.
- 일당증체량은 MW25구에서 대조구에 상당하는 정도를 보였음(Table 2-7).

Table 2-7. 밀웜분말 급여가 육계의 일당증체량(g)에 미치는 영향

Periods	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100	SEM
8-14d	16.65	16.58	18.60	16.15	10.53	3.04
14-21d	31.91	36.35	36.69	33.34	18.43	7.49
21-28d	62.64	64.58	56.56	39.82	20.00	18.78
28-35d	107.93	98.50	97.32	65.76	42.80	27.29

- 5주간의 사료요구율은 MW25구에서 0.02 그리고 MW50구에서는 0.07로 대조구(MW00)와 비슷하였지만, 대두박 대체율이 75% 이상 증가할 때는 급격히 증가하였음(Table 2-8).

Table 2-8. 밀웜분말 급여가 육계의 사료요구율(kg/kg)에 미치는 영향

Periods	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100
d4-7	1.9 <sup>a</sup>	1.21 <sup>b</sup>	1.12 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	1.07 <sup>b</sup>
d8-14	1.86 <sup>bc</sup>	1.67 <sup>c</sup>	1.68 <sup>c</sup>	2.00 <sup>b</sup>	3.15 <sup>a</sup>
d15-21	1.64 <sup>c</sup>	1.68 <sup>bc</sup>	1.78 <sup>bc</sup>	1.94 <sup>b</sup>	2.64 <sup>a</sup>
d22-29	1.57 <sup>b</sup>	1.57 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>	2.33 <sup>b</sup>	3.96 <sup>a</sup>
d30-36	1.57 <sup>b</sup>	1.77 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>	2.52 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>
d4-36	1.63 <sup>c</sup>	1.65 <sup>c</sup>	1.70 <sup>c</sup>	2.14 <sup>b</sup>	2.85 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

- 또한 평균 장기의 무게(Table 2-9)와 길이(Table 2-10) 또한 MW25%에서 대조구인 무첨가구의 결과에 상당하였음.
- 따라서 위의 결과로부터, 적어도 밀웜은 대두박을 25% 대체가능하며, 밀웜분말은 입자가 작은 것이 소화율을 높이는데 기여하는 것으로 나타남.

Table 2-9. 밀웜분말 급여가 35일령 육계의 장기무게(g)에 미치는 영향

Items	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100	SEM
Proventriculus	6.58	6.70	6.50	6.25	4.98	0.70
Gizzard	30.90	33.58	30.43	25.48	23.65	4.11
Duodenum	11.13	13.13	12.52	10.93	9.03	1.59
Pencreas	4.83	4.88	4.53	3.85	3.13	0.75
Jejunum	19.72	25.18	26.18	22.18	16.53	3.96
Ileum	16.18	17.07	18.72	16.28	11.50	2.69
Spleen	2.20	1.53	1.65	1.28	0.97	0.46
Ceca	2.92	3.22	2.76	2.57	2.38	0.32

Table 2-10. 밀웜분말 급여가 35일령 육계의 장기 길이(mm)에 미치는 영향

Items	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100	SEM
Duodenum	286.7	307.8	290.8	298.3	297.5	8.06
Pencreas	118.3	109	108.8	99	108.3	6.83
Jejunum	637.5	718	707.5	737.5	614.2	53.85
Ileum	680	732	760	744.2	645	48.10
Ceca	142.9	162.4	150.4	135.85	124.6	14.32

- 밀웜분말을 급여하였을 때, 35일령의 육계 혈액성분에 미치는 영향을 Table 2-11에 나타내었음.

Table 2-11. 밀웜분말 급여가 35일령 육계의 혈액성상에 미치는 영향

Items	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100	SEM	P
LDH	2800.0 <sup>a</sup>	2436.3 <sup>ab</sup>	2800.0 <sup>a</sup>	1545.0 <sup>b</sup>	1464.8 <sup>b</sup>	169.93	<.001
GLU	272.0 <sup>b</sup>	278.5 <sup>ab</sup>	285.5 <sup>ab</sup>	317.3 <sup>ab</sup>	326.0 <sup>a</sup>	7.86	0.096
ALB	1.42 <sup>a</sup>	1.45 <sup>a</sup>	1.28 <sup>b</sup>	1.35 <sup>ab</sup>	1.28 <sup>b</sup>	0.0212	0.024
TP	3.87 <sup>a</sup>	3.92 <sup>a</sup>	3.37 <sup>b</sup>	3.65 <sup>ab</sup>	3.33 <sup>b</sup>	0.069	0.006
PHOS	7.02	6.58	6.60	6.92	7.40	0.134	0.293
Ca	10.10 <sup>ab</sup>	10.60 <sup>a</sup>	9.52 <sup>b</sup>	10.80 <sup>a</sup>	9.98 <sup>ab</sup>	0.174	0.013
URIC	3.83	4.20	3.50	4.60	4.97	0.302	0.517
AST	184.0 <sup>a</sup>	216.0 <sup>a</sup>	203.7 <sup>a</sup>	171.5 <sup>ab</sup>	136.0 <sup>b</sup>	7.82	0.005
TRIG	47.0	48.0	47.5	71.2	67.8	4.038	0.116
GLOB	2.47 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a</sup>	2.10 <sup>b</sup>	2.30 <sup>ab</sup>	2.05 <sup>b</sup>	0.053	0.017
CK	2036	2036	2000	1561	1511	136.66	0.376
AMYL	269.50	299.33	176.33	202.33	154.50	32.75	0.310
CHOL	122.17 <sup>b</sup>	150.83 <sup>a</sup>	133.33 <sup>b</sup>	150.33 <sup>a</sup>	131.33 <sup>b</sup>	2.808	<.001
NH <sub>3</sub>	461.33	417.67	397.50	510.67	524.17	19.8	0.174

<sup>a-c</sup> Means within a row with different superscript differ(P<0.05).

#### 라. 사료의 원가분석

- 육계사양실험에 사용된 사료의 원가를 분석했을 때, 대두박만으로 제조된 사료(MW00)에 비해, 밀웜함량이 증가함에 따라 MW25, MW50, MW75 및 MW100 사료에서 전기 사료는 27%, 54%, 81% 및 108%, 후기사료는 24%, 48%, 72% 및 96% 각각 원가가 증가하였음(Table 2-12).
- 따라서 현재의 분석 결과만을 고려한다면, 가공사료에 밀웜분말을 사용하는 것은 가격 경쟁력이 없다고 할 수 있음. 그러나 이러한 단가는 실험을 위해 소량 단품으로 구매하여 사용했을 경우에 발생하는 비용이 고려된 것이며, 사료회사가 대량으로 구매하여 사용할 경우에는 단가의 저하 가능성이 충분히 예상됨.

Table 2-12. 육계 사양실험에 사용된 밀웜분말 사료의 원가 분석(원/kg)

Feed	MW00	MW25	MW50	MW75	MW100
Broiler Grower(1~3wk)	573	728	883	1038	1192
Broiler Finisher(3wk~)	552	685	817	950	1083

#### 마. 결론

- 원가가 고려되지 않는다면 육계사료에 밀웜분말은 약 50%까지 대두박을 대체가능할 것

으로 사료됨. 그러나 밀웜분말의 사용은 상당한 원가상승요인이 됨으로, 원가가 현재의 가격 이하로 현저하게 저하되지 않는다면 실질적으로 산업현장에서 밀웜분말의 사용에는 한계가 있다고 사료됨. 또한, 사료 입자의 크기는 소화율에 영향을 미칠 수 있기 때문에 밀웜분말의 사용시에 입자의 크기는 충분히 고려되어야 할 사항이며, 축종에 따른 변수 또한 충분히 고려되어야 할 사항이라 사료됨.

## 제 5 절 양돈용 국내·외 사료자원 개발

### 1. 국내·외 양돈 사료자원의 탐색 및 성분분석

#### 가. 국내·외 원료사료 탐색 및 사료성분 분석

##### 1) 에너지 사료자원의 성분분석

- 양돈사료의 대표적이면서 기본적인 에너지 사료자원인 옥수수는 미국산, 중국산 및 인도산으로 탐색하였으며 각각의 일반성분, 광물질 및 비타민은 Table 3-1에 제시하였음.
- 원산지별 옥수수의 NFE 함량 간에는 큰 차이가 없었으며 대체적으로 71% 내외를 나타냈음.
- 원산지별 옥수수의 조단백질 함량은 인도산이 8.44%로 가장 높았고 다음으로 중국산(7.77%), 마지막으로 미국산(7.50%)으로 나타났음.
- 옥수수의 대체 가능 에너지 사료자원으로 대맥, 소맥, 타피오카의 일반성분, 광물질 및 비타민의 함량을 조사하였으며, 각각의 NFE 함량은 67-68%내외로 큰 차이가 없었으며 조단백질 함량이 대맥과 소맥에서 각각 11/12%, 13.30%로 옥수수보다 높았고, 타피오카는 2.23%로 낮았음.
- 광물질과 비타민 함량에는 에너지 사료자원별로 큰 차이가 없었음.
- 전체적으로 살펴보면 옥수수를 대체할 에너지 사료자원으로 대맥, 소맥, 타피오카는 사용 가능할 것으로 사료됨.

##### 2) 단백질 사료자원의 성분분석

- 양돈용 사료의 대표적인 단백질 사료자원인 대두박은 미국산, 중국산 및 인도산별 일반성분, 광물질 및 아미노산의 함량을 분석하였으며 미국산이 중국산 및 인도산에 비해 단백질 함량이 다소 많았으나 전체적으로 큰 차이는 보이지 않았고 아미노산도 유사한 함량을 보였음(Table 3-2).
- 대두박의 사용을 일부 대체할 사료자원으로 밀웜박(중국산), 옥수수글루텐밀(국산), 발효대두단백(국산)의 일반성분, 광물질(Ca, P) 및 아미노산의 함량을 분석하였음.
- 밀웜박은 곤충인 밀웜은 애완동물의 먹이로 널리 사용되고 있으며 질량대비 단백질 함량이 높고 중국, 남미 및 동남아시아 일부에서는 식용으로도 사용되고 있음. 밀웜을 건조, 분쇄한 중국산 제품으로 조단백질 함량이 67.82%로 우수하며 아미노산의 모든 조성이 대두박대비 우수하고 특히 제한 아미노산인 lysine(3.96%), methionine(1.41%),

threonine(2.79%)의 조성도 우수함.

- 옥수수글루텐밀 및 발효대두단백의 조단백질 함량은 각각 63.4%, 55.31%로 대두박대 비 우수하며 아미노산 조성도 대체적으로 우수하나 lysine 함량이 각각 1.98%, 1.54%로 대두박에 비해 낮은 것으로 나타남.
- 종합적으로 살펴보면, 대두박을 주로 사용하는 단백질 사료자원에 밀웜박, 옥수수글루텐밀, 발효대두단백이 일부 대체 가능할 것으로 사료되며, 2년차 소화율 연구에서 구체적인 가능성을 도출해 낼 수 있을 것임.

Table 3-1. 에너지 사료자원의 성분분석

분석항목	옥수수 (미국산)	옥수수 (중국산)	옥수수 (인도산)	대맥 (중국산)	소맥 (중국산)	타피오카 (태국산)
일반성분(%)						
수분	14.01	13.70	12.37	12.73	12.91	12.30
조단백질	7.50	7.77	8.44	11.12	13.30	2.23
조지방	3.48	3.60	3.51	1.84	1.41	0.82
NFE	71.68	71.10	71.56	67.05	68.10	68.46
조섬유	2.20	2.70	2.89	5.04	2.52	10.77
조회분	1.13	1.13	1.23	2.22	1.70	5.42
광물질(%)						
Ca	0.02	0.03	0.03	0.07	0.05	0.33
P	0.31	0.28	0.35	0.38	0.44	0.14
K	0.40	0.39	0.50	0.62	0.62	0.68
Na	0.03	0.03	0.02	0.02	0.15	0.03
mg	0.12	0.10	0.17	0.16	0.16	0.12
Cl	-	-	-	0.17	-	-
S	-	-	-	0.17	-	-
Fe(mg/kg)	102	100	134	158	91.9	1050
비타민(mg/kg)						
Carotin	5.51	5.42	4.98	-	-	-
Vit. E	29.90	27.05	25.67	7.85	-	-
Vit. B1	4.90	4.93	5.01	7.43	6.42	-
Vit. B2	1.45	1.20	1.15	0.77	0.64	-
Niacin	31.06	30.33	31.04	60.22	-	-
Vit. B6	9.77	9.45	8.99	3.71	-	-

\*광물질, 비타민의 함량은 건물기준

Table 3-2. 단백질 사료자원의 성분분석

분석항목	대두박 (미국산)	대두박 (중국산)	대두박 (중국산)	밀웜박 (중국산)	옥수수글루텐밀 (국산)	발효대두단백 (국산)
일반성분(%)						
수분	11.27	13.40	11.16	7.90	7.95	7.89
조단백질	46.24	44.78	45.30	67.82	63.40	55.31
조지방	1.51	1.37	1.20	6.60	1.46	0.89
NFE	29.28	29.50	28.58	2.80	21.92	24.84
조섬유	5.16	1.25	6.30	4.08	1.39	4.04
조회분	6.54	1.70	7.46	10.80	3.88	6.95
광물질(%)						
Ca	0.53	0.14	0.78	1.15	0.11	0.27
P	0.86	0.67	0.93	0.50	0.50	0.65
아미노산(%)						
Cysteine	0.65	0.74	0.62	1.20	0.74	0.73
Methionine	0.59	0.77	0.58	1.41	1.83	1.30
Asparate	5.26	5.19	5.33	5.21	3.79	3.02
Threonine	1.83	1.69	1.81	2.79	2.11	1.61
Serine	2.32	2.20	2.30	4.20	3.22	2.52
Glutamate	8.40	8.66	8.61	9.15	15.28	11.51
Proline	2.54	2.40	2.26	3.98	6.40	5.75
Glycine	1.97	1.88	1.99	4.16	1.67	1.23
Alanine	2.01	1.95	2.01	3.33	5.85	4.16
Valine	2.08	2.02	2.15	3.25	2.86	2.32
Isoleucine	2.00	2.03	2.06	2.32	2.58	1.92
Leucine	3.51	3.44	3.54	4.81	10.43	7.79
Tyrosine	1.59	1.48	1.65	2.32	3.27	2.41
Phenylalanine	2.30	2.24	2.36	2.54	4.07	3.02
Lysine	2.78	2.83	2.84	3.96	1.98	1.54
Histidine	1.18	1.64	1.20	1.01	1.26	1.58
Arginine	3.28	3.64	3.36	4.09	1.80	2.45

\*광물질, 아미노산의 함량은 건물기준

## 2) 기타 사료자원의 성분분석

- 기타 사료자원으로 야자박, 팜박, 포도박, 카카오박, 파인애플박, 단백질의 일반성분 및 광물질(칼슘 및 인) 함량을 분석하였음(Table 3-3).
- 야자박, 팜박, 카카오박, 단백질의 조단백질 함량은 각각 21.09%, 14.47%, 16.80%, 18.87%로 일부 단백질 사료자원으로 사용이 가능할 것으로 사료됨.
- 포도박과 파인애플박은 수분함량이 각각 89.21%, 65%로 높았음. 포도박의 경우 조단백질(1.41%) 및 NFE(4.45%) 함량이 낮았고, 파인애플박의 경우는 조단백질(1.50%)은 낮았으나 NFE(16.5%) 및 조섬유(14.6%) 함량은 다소 함유하고 있어 강피류사료의 대체로 일부 사용이 가능할 것으로 사료됨.

Table 3-3. 기타 사료자원의 성분분석

분석항목	야자박 (필리핀)	팜박 (인도네시아)	포도박 (국산)	카카오박 (인도네시아)	파인애플박 (국산)	단백피 (국산)
일반성분(%)						
수분	10.17	8.49	89.21	10.00	65.00	9.20
조단백질	21.09	14.47	1.41	16.80	1.50	18.87
조지방	3.77	9.56	0.96	7.80	0.70	3.52
NFE	44.51	47.79	4.45	42.20	16.50	51.89
조섬유	13.99	15.64	3.43	16.00	14.60	11.44
조회분	6.47	4.05	0.81	7.20	1.70	5.08
광물질(%)						
Ca	0.13	0.34	0.28	0.26	0.11	0.05
P	0.66	0.57	0.19	0.51	0.03	0.46

\*광물질의 함량은 건물기준

## 나. *In vitro* 소화율 시스템 개발 및 사료가치 분석

### 1) 재료 및 방법

- DaisyII incubator(Ankom, Ny, USA)을 이용하여 2 step(ileal digestibility), 3 step(fecal digestibility) 배양시스템을 기초로 사료입자(0.5mm, 1.0mm, 2.0mm 및 3.0mm) 및 배양시간에 따른 옥수수의 소화율을 측정하였음(Table 3-4).
- 실험방법 및 각 step별 처리는 Figure 3-1에 요약되어 있음.

Table 3-4. 소화율 측정을 위한 2 및 3 step의 배양조건

	Treatments			
	T1	T2	T3	T4
2 Step(ileal)	4~6 hours	4~18 hours	6~6 hours	6~18 hours
3 Step(fecal)	4~6~18 hours	4~18~18 hours	6~6~18 hours	6~18~18 hours

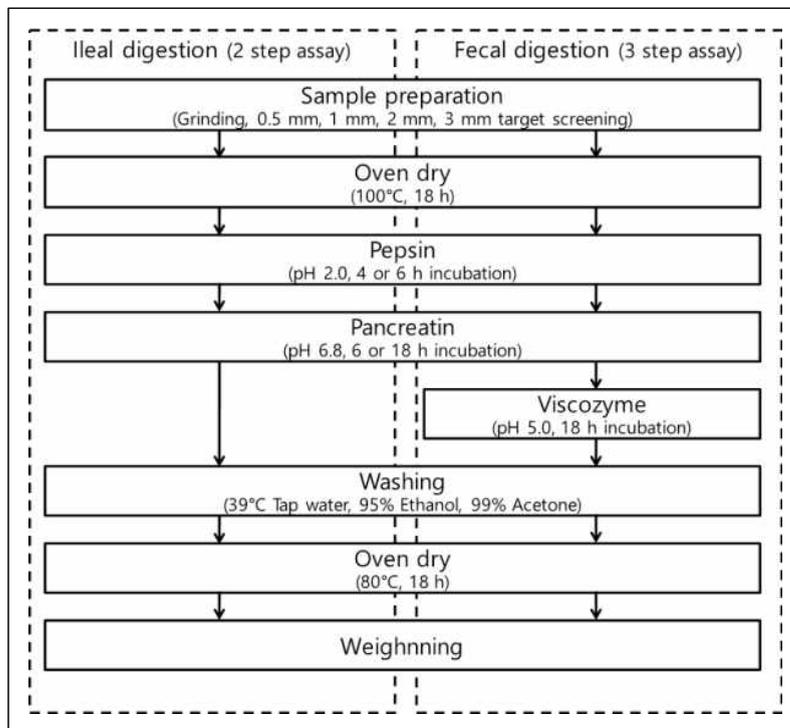


Figure 3-1. *In vitro* 소화율 분석방법

2) 결과 및 고찰

○ T1 처리구에서 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 61.84%, 1.0mm일 때 53.01%, 2.0mm일 때 36.35%, 3.0mm일 때 28.35%의 소화율을 나타내었으며, 분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 89.08%, 1.0mm일 때 85.26%, 2.0mm일 때 68.38%, 3.0mm일 때 59.14%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 분소화율 모두 높게 나타났음(Figure 3-2).

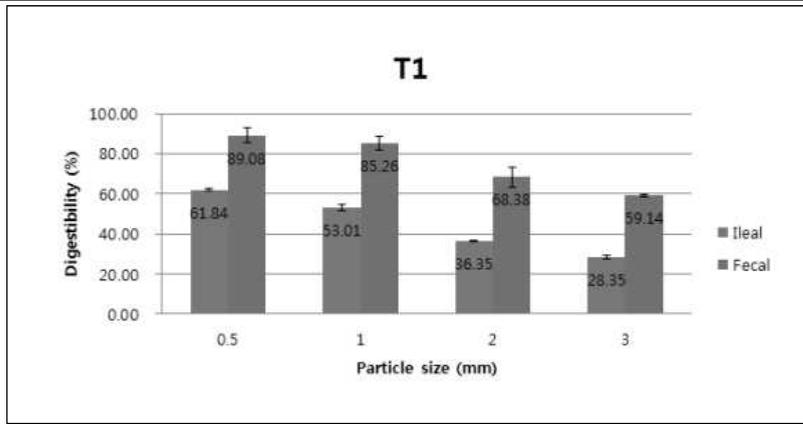


Figure 3-2. 옥수수 *in vitro* 건물 소화율(배양조건 : 4시간~6시간~18시간)

○ T2 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 67.74%, 1.0mm일 때 58.07%, 2.0mm일 때 45.59%, 3.0mm일 때 31.42%의 소화율을 나타내었으며, 분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.82%, 1.0mm일 때 86.00%, 2.0mm일 때 82.44%, 3.0mm일 때 65.15%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 분소화율 모두 높게 나타났음(Figure 3-3).

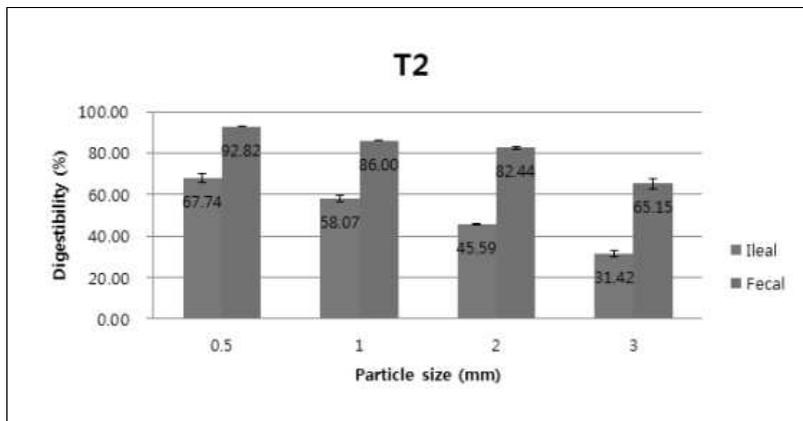


Figure 3-4. 옥수수 *in vitro* 건물 소화율(배양조건 : 4시간~18시간~18시간)

○ T3 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 66.68%, 1.0mm일 때 59.35%, 2.0mm일 때 44.40%, 3.0mm일 때 34.21%의 소화율을 나타내었으며, 분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.53%, 1.0mm일 때 85.64%, 2.0mm일 때 77.39%, 3.0mm일 때 63.11%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 분소화율 모두 높게 나타났음(Figure 3-4).

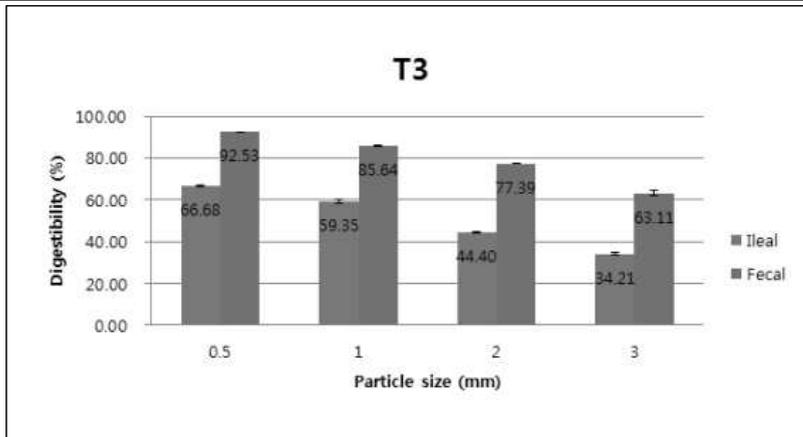


Figure 3-4. 옥수수 *in vitro* 건물 소화율(배양조건: 6시간~6시간~18시간)

○ T4 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 66.14%, 1.0mm일 때 61.43%, 2.0mm일 때 50.68%, 3.0mm일 때 39.39%의 소화율을 나타내었으며, 분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.95%, 1.0mm일 때 87.45%, 2.0mm일 때 82.14%, 3.0mm일 때 66.45%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 분 소화율 모두 높게 나타났음(Figure 3-5).

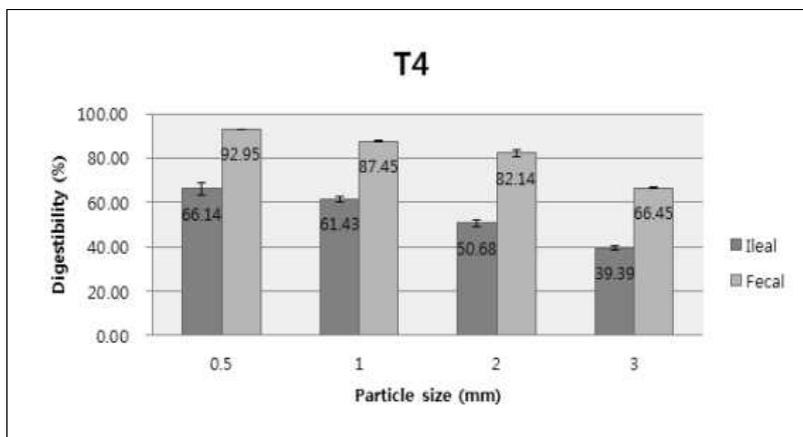


Figure 3-5. 옥수수 *in vitro* 건물 소화율(배양조건: 6시간~18시간~18시간)

○ 종합적으로 살펴보면, 모든 조건에서 분 소화율이 회장소화율보다 높은 경향으로 보였으며 이러한 결과는 기존에 알려진 *in vivo* 소화율과 유사하였음. 또한, 모든 배양조건에서 사료의 입자가 작을수록 소화율은 증가하는 것으로 나타나 배양조건의 확립에서 사료입자의 크기가 중요한 요인으로 작용할 수 있다고 판단됨. 동일한 입자크기에서는 배양시간이 증가할수록 소화율은 증가하는 것으로 나타났으며, 입자크기별로 소화율의 증가는 차이가 있음을 확인하였음.

○ 본 실험은 *in vitro* 소화율 측정을 위한 기초실험으로 대두박도 동일한 조건에서 실시할 예정이며 *in vivo* 실험결과와의 상관관계를 분석하여 최적 사료입자의 크기 및 배양 조건을 확립하고 탐색된 대체 사료자원의 소화율도 측정할 것임.

## 2. *In vitro* 분석법을 이용한 양돈용 사료자원의 이용가치 평가

### 가. *In vitro* 장관 소화율 분석법 개발

- 돼지의 소화기관의 소화작용과 유사한 시스템을 개발하기 위해 사용이 용이하고 실험간의 오차를 줄이기 위해 Daisy II incubator(Ankom, Technology, Fairport, NY, USA)를 사용하여 *in vivo* 소화환경과 유사한 조건을 확립함(Figure 3-6).
- 위~소장~대장까지의 소화작용은 3 step, 위~소장은 2 step으로 사료의 분석을 실시하여 각각 전분(fecal) 및 회장(ileal) 소화율을 측정함. 위 소화조건에서는 Pepsin(powder,  $\geq 250$  units/mg, P7000, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 pH를 2.0으로 조정하였으며, 소장 조건에서는 pancreatin(4 × USP specifications, P1750, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며 소화액의 pH는 6.8로 조정하였고, 대장의 조건에서는 Viscozyme(Viscozyme® L, V2010, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였는데, 이 복합효소는 arabanase, cellulase, hemicellulase,  $\beta$ -glucanase, and xylanase 등을 포함하고 있으며, pH는 4.8로 조정하였음. 사료의 소화조건은 Figure 3-2에 따라 순차적으로 적용하였으며 전분소화율은 3 step를 거친 후에 시료를 채취하였고, 회장 소화율은 2 step 후에 시료를 채취하여 분석하였음.



Figure 3-6. Daisy II incubator system

○ Figure 3-1의 *in vitro* 소화율 분석방법에 의한 건물 소화율(DM digestibility)은 다음과 같은 공식에 의해 계산을 수행하였음.

$$\text{IVID or IVFD of DM(\%)} = \frac{(\text{DM}_t - \text{DM}_r)}{\text{DM}_t} \times 100$$

- IVID : *In vitro* ileal digestibility
- IVFD : *In vitro* fecal digestibility
- DM : Dry matter
- DM<sub>t</sub> : Weight of the dry matter before *in vitro* digestion
- DM<sub>r</sub> : Weight of the dry matter residues after *in vitro* digestion

○ 사료의 입자크기에 의한 소화율의 영향을 분석하기 위해 사료의 입자를 0.5mm, 1.0mm, 2.0mm 및 3.0mm로 조정하여 처리구로 구분함. 사료를 헤머밀로 분쇄 후 크기 별로 구분하여 사용함(Figure 3-7).

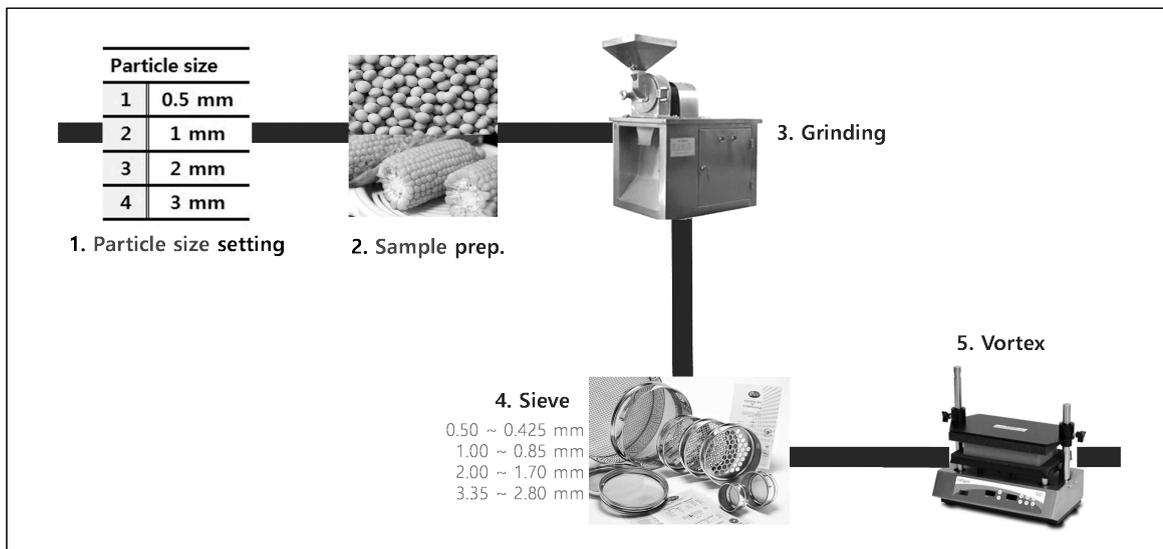


Figure 3-7. 사료의 입자크기 구분 방법

○ 공시사료로는 돼지의 사료로 가장 많이 사용되는 옥수수(에너지사료) 및 대두박(단백질사료)를 사용하였으며 위의 방법에 의해 준비된 사료를 F57 bag에 담고 무게를 측정하여 조건별 배양을 실시함.

- 본 연구는 양돈의 배합사료의 주원료(옥수수, 대두박, 소맥)에 대한 대체원료를 탐색하는 것을 목적으로 진행하였음.

#### 나. 배양조건 및 사료입자가 *in vitro* 소화율에 미치는 영향

- T1 처리구에서 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 61.84%, 1.0mm일 때 53.01%, 2.0mm일 때 36.35%, 3.0mm일 때 28.35%의 소화율을 나타내었으며, 전분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 89.08%, 1.0mm일 때 85.26%, 2.0mm일 때 68.38%, 3.0mm일 때 59.14%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 전분 소화율 모두 높게 나타났음.
- T2 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 67.74%, 1.0mm일 때 58.07%, 2.0mm일 때 45.59%, 3.0mm일 때 31.42%의 소화율을 나타내었으며, 전분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.82%, 1.0mm일 때 86.00%, 2.0mm일 때 82.44%, 3.0mm일 때 65.15%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 전분소화율 모두 높게 나타났음.
- T3 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 66.68%, 1.0mm일 때 59.35%, 2.0mm일 때 44.40%, 3.0mm일 때 34.21%의 소화율을 나타내었으며, 전분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.53%, 1.0mm일 때 85.64%, 2.0mm일 때 77.39%, 3.0mm일 때 63.11%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 전분 소화율 모두 높게 나타났음.
- T4 처리구의 건물 소화율을 확인하였을 때, 회장 소화율은 입자의 크기에 따라 0.5mm일 때 66.14%, 1.0mm일 때 61.43%, 2.0mm일 때 50.68%, 3.0mm일 때 39.39%의 소화율을 나타내었으며, 전분 소화율은 입자 크기에 따라 0.5mm일 때 92.95%, 1.0mm일 때 87.45%, 2.0mm일 때 82.14%, 3.0mm일 때 66.45%의 소화율을 보였음. 전체적으로 회장 소화를 거쳤을 때보다 분 소화를 거쳤을 때 소화율이 높게 나타났으며, 입자크기가 적을수록 회장 및 분소화율 모두 높게 나타났음(Figure 3-8, Figure 3-9).
- 대두박의 회장 소화율은 65~82%를 나타내었는데 배양시간이 길수록, 사료의 입자크기가 작을수록 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈음. 옥수수과 비교해 보면, 전체적으로 높은 소화율 값을 보여 본 실험에서 제시한 배양 조건에서 대두박이 옥수수보다 분해가 잘되는 것으로 판단됨. 이러한 결과는 일반적인 현상으로 옥수수의 외피 구조에 기인한 것으로 사료됨.
- 대두박의 전분 소화율은 88~96%를 보였음. 모든 조건에서 회장 소화율 보다 높은 값을 보였으며 배양시간이 길수록, 사료입자가 작을수록 유의적으로 증가하는 경향을 보였음. 또한 옥수수의 전분 소화율보다 모든 조건에서 높은 값을 나타냈음(Figure 3-10, Figure 3-11).

○ 종합적으로 살펴보면, 모든 조건에서 전분 소화율이 회장 소화율보다 높은 경향으로 보였으며 이러한 결과는 기존에 알려진 *in vivo* 소화율과 유사하였음. 또한, 모든 배양 조건에서 사료의 입자가 작을수록 소화율은 증가하는 것으로 나타나 배양조건의 확립에서 사료입자의 크기가 중요한 요인으로 작용할 수 있다고 판단됨. 동일한 입자크기에서는 배양시간이 증가할수록 소화율은 증가하는 것으로 나타났으며, 입자크기별로 소화율의 증가는 차이가 있음을 확인하였음. 따라서, 옥수수류의 경우 배양조건은 T1(위 4시간, 소장 6시간 및 대장 18시간) 및 사료입자 1.0mm으로 설정시 옥수수류의 건물소화율에 이용이 가능할 것으로 사료되며, 대두박의 경우에는 T1 및 1~2mm 정도로 설정하면 소화율 분석에 사용이 가능하리라 사료됨.

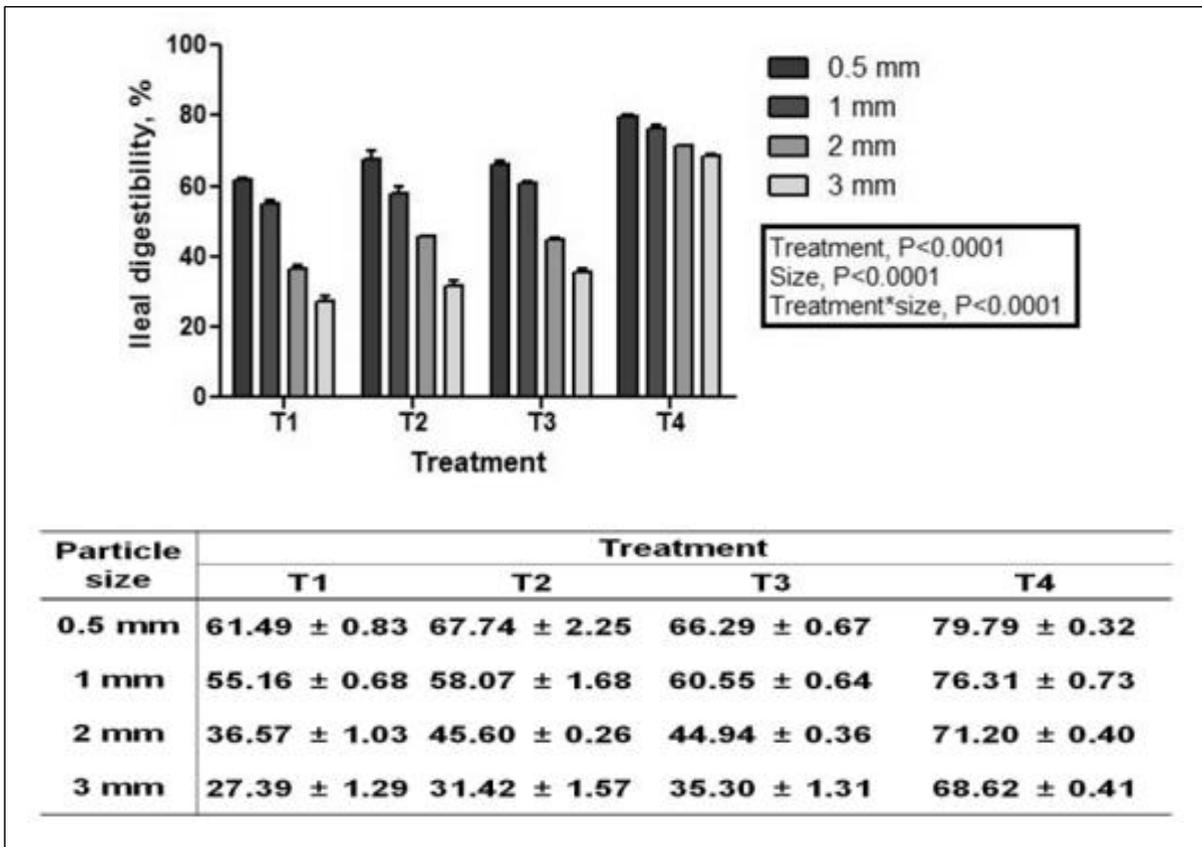
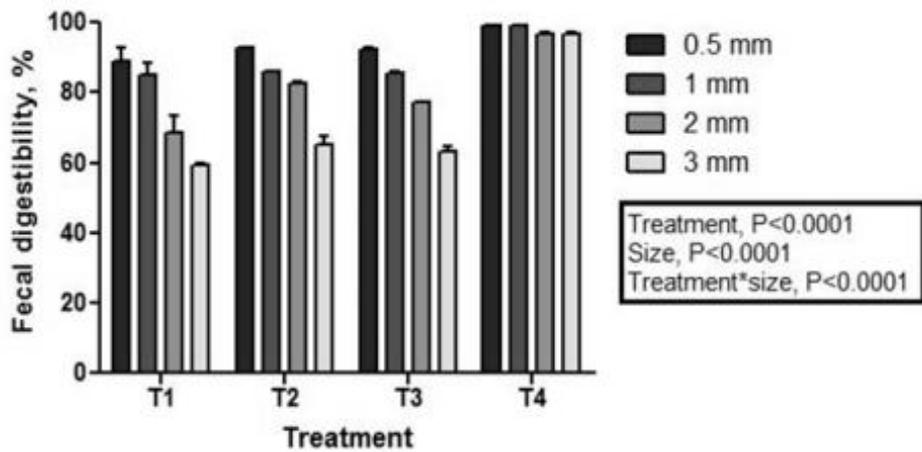
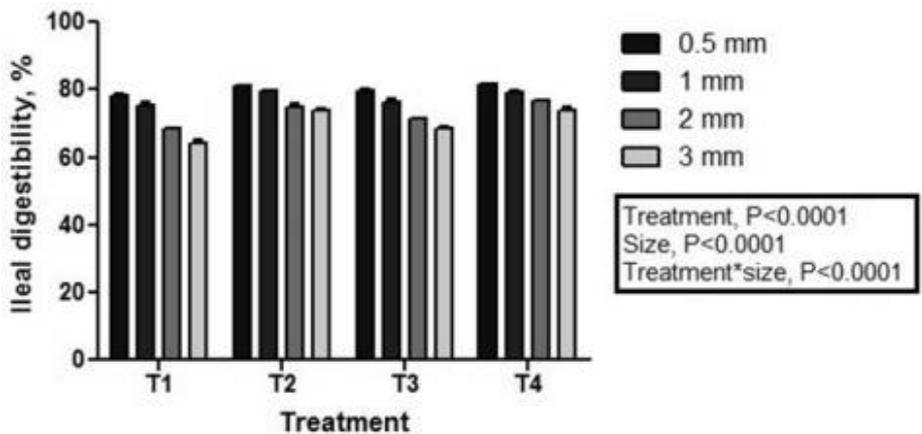


Figure 3-8. 옥수수류의 회장(ileal) 소화율



Particle size	Treatment			
	T1	T2	T3	T4
0.5 mm	89.08 ± 3.83	92.82 ± 0.12	92.53 ± 0.05	98.98 ± 0.16
1 mm	85.26 ± 3.22	86 ± 0.09	85.64 ± 0.36	98.89 ± 0.39
2 mm	68.38 ± 4.87	82.44 ± 0.46	77.39 ± 0.02	96.64 ± 0.49
3 mm	59.15 ± 0.54	65.15 ± 2.32	63.11 ± 1.38	96.58 ± 0.55

Figure 3-9. 옥수수수의 전분(fecal) 소화율



Particle size	Treatment			
	T1	T2	T3	T4
0.5 mm	78.35 ± 0.37	81.16 ± 0.12	79.79 ± 0.32	81.59 ± 0.22
1 mm	75.31 ± 0.96	79.74 ± 0.01	76.31 ± 0.73	79.19 ± 0.34
2 mm	68.49 ± 0.27	74.85 ± 1.01	71.2 ± 0.40	76.75 ± 0.18
3 mm	64.31 ± 0.59	73.8 ± 0.47	68.62 ± 0.41	73.75 ± 1.12

Figure 3-10. 대두박의 회장(ileal) 소화율

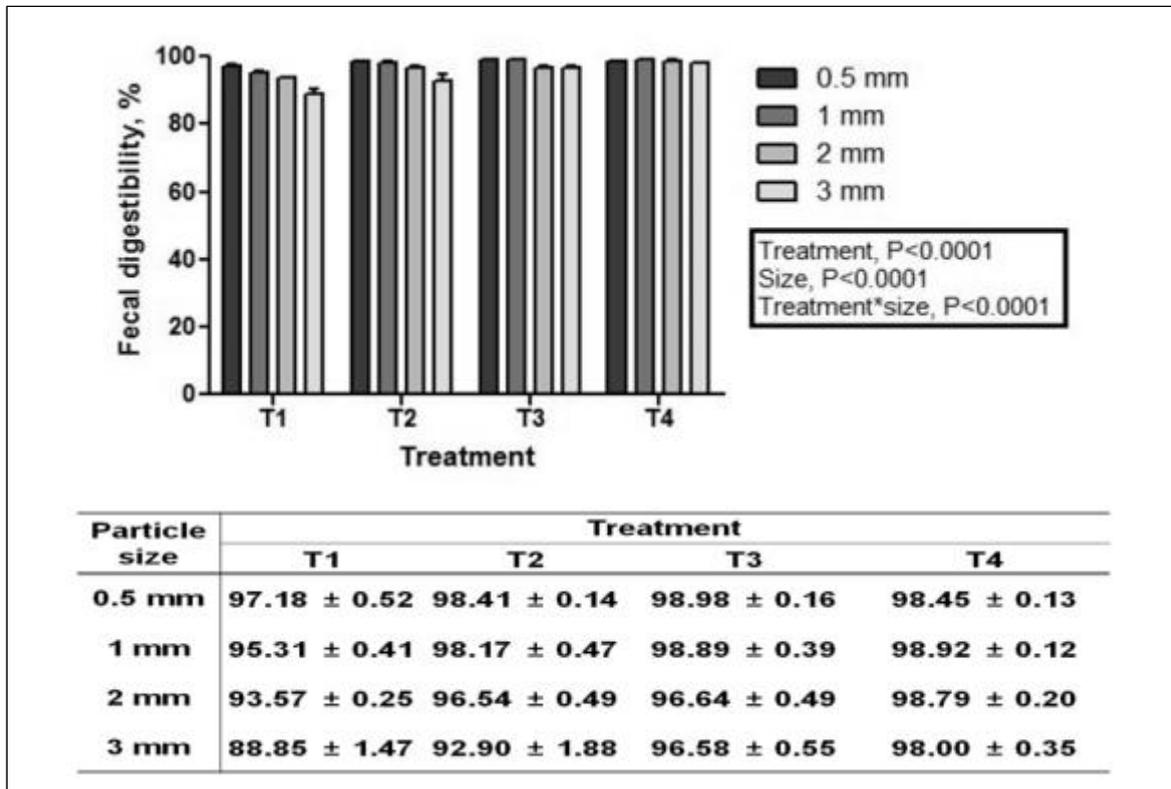


Figure 3-11. 대두박의 전분(fecal) 소화율

### 3. 현장실험을 통한 양돈사료의 효율 및 이용성 검증

#### 가. 재고미의 *in vitro* 건물소화율 측정 및 곡류사료(옥수수, 소맥, 대맥)와의 비교 분석

##### 1) 재료 및 방법

○ 시료는 옥수수, 재고미, 대맥 및 소맥을 건조기에 100°C에서 18시간 건조함. F57 filter bag(fiber filter bag 25m porosity, Ankom Technology, USA)은 acetone(99%)로 세척하여 준비한 후 시료 0.5g를 넣고 밀봉하였음. 시료는 시료무게, filter bag무게 및 시료를 포함한 filter bag무게를 측정하였음. 시료의 입자크기는 실험용체 (Standard Test Sieves, Chunggye, South Korea)를 이용하여 1.0mm (0.850~1.000mm) 및 2.0mm (1.700~2.000mm)의 크기로 준비하였음. 배양기(Daisy II incubator, Ankom Technology, USA)는 39°C가 유지되도록 하였음. 처리구는 원료사료(옥수수, 재고미, 소맥 및 대맥), 입자크기(1.0mm 및 2.0mm), 소화단계(회장 및 전분)으로 구분하며 각각의 처리구별 12 반복으로 filter bag를 준비하였음.

- *In vitro* 건물 소화율을 측정하기 위해 배양시간은 위~소장~대장의 단계별로 처리하였음. 따라서, 회장소화율(2 step)은 위-소장으로 4~6시간이며, 소화율은 위~소장~대장으로 4시간~6시간~18시간 이었음. 위, 소장 및 대장 소화단계에 사용된 완충용액은 각각 0.1M에서 pH 6.0, 0.2M에서 pH 6.8 및 0.1M에서 pH 4.8이었음. Handersen-Hasselbach equation을 이용하여 약산( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )과 짝염기( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )로 구성된 완충용액을 제조하였음. 예를 들면, 위의 소화단계에서 필요한  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 는 0.094M,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 는 0.0058M이며, 약산용액을 넣은 후 짝염기용액을 천천히 넣으며 1M NaOH 또는 1M HCl을 넣어 pH 6.0으로 조절하였음. 소장 및 대장에 사용된 완충용액도 같은 방법으로 계산하여 몰농도를 구한 후에 각각의 농도와 pH에 맞게 제조하였음.
- 위의 소화에 사용된 배양액은 4L incubation jar에 600mL 완충용액(0.1M, pH 6.0)을 넣고 240mL의 0.2M HCl을 첨가하였음. 그 후에 1M HCl 또는 1M NaOH를 이용하여 pH 2.0으로 조정하였음. Incubation jar를 배양기에 넣고 39°C에서 30분간 데운 후에 0.6g pepsin(250 units/mg, P7000, Sigma Aldrich, USA)과 12mL(0.5g/100mL ethanol) chloramphenicol(HPLC grade, C0378, Sigma Aldrich, USA)를 첨가하였음. 시료가 들어 있는 filter bag을 jar에 넣은 후 4시간 배양하였음.
- 소장의 소화에 사용된 배양액은 240mL 완충용액(0.2 M, pH 6.8)에 120mL, 0.6M NaOH를 첨가하고 pH 6.8로 조정한 후에 2.4g pancreatin(porcine grade IV, Sigma Aldrich, USA)를 넣고 6시간 배양하였음. 배양이 종료된 후에 filter bag를 꺼내고 39°C의 따뜻한 물로 세척한 후에 95% ethanol과 99% acetone으로 각각 5분씩 세척한 후 80°C 건조기에서 18시간 건조시킨 후, 무게를 측정하여 회장 소화율을 계산하였음.
- 기존의 배양액은 버리고 대장 소화에 필요한 배양은 다음과 같이 제조하였음. 대장의 소화에 사용된 배양액은 750mL 완충용액(0.1M, pH 4.8)을 넣은 후 배양기에서 39°C에 배양하였음. 그 후에 12mL Viscozyme(Viscozyme L, V2010, sigma Aldrich, USA)와 filter bag을 넣고 18시간 배양하였음. 배양이 종료된 후에 위에 언급한 방법과 동일하게 filter bag를 처리한 후 무게를 측정하여 전분소화율을 계산하였음.
- 통계분석은 Graphpad Prism(version 5.03)을 이용하여 Two-way 분산분석(ANOVA)을 실시하였음. 각각의 factor로는 입자크기(1.0mm 및 2.0mm)와 소화율(ileal, fecal)로 설정하여(2×2 ANOVA) 유의차(P<0.05)검정하였고, 소화율 내에서 입자크기에 따른 유의차를 확인하기 위해 Bonferroni post-test를 실시하였음. 각각의 원료사료(옥수수, 채고미, 소맥 및 대맥)에 따른 회장 및 전분소화율의 유의차를 분석하기 위해 원료사료와 소화율을 각각의 factor로 설정하였으며(4×2 ANOVA), 원료사료 내 입자크기에 따른 유의차를 확인하기 위해 Bonferroni post-test를 실시하였음.

## 2) 곡류사료의 *in vitro* 건물소화율 분석

- 돼지의 에너지사료로 널리 사용되고 있는 옥수수, 소맥 및 대맥을 포함하여 최근에

우리나라에서 사료화가 추진중인 재고미의 건물 소화율을 분석하였음(Figure 3-12, Figure 3-13).

- 모든 처리구에서 전분 건물소화율이 회장 건물소화율보다 유의적으로( $P<0.001$ ) 높게 나타났으며, 입자크기가 클수록(1.0mm vs. 2.0mm) 건물소화율은 유의적으로( $P<0.001$ ) 낮게 나타났음(Figure 3-3). 이러한 결과는 대장의 소화환경에서 섬유소 분해효소에 의해 소장까지의 미분해 성분이 대장의 조건에서 분해된 것으로 판단되며, 또한 입자크기가 작을수록 사료입자의 표면적이 커지므로 작은 입자크기(1.0mm)에서 건물소화율이 높게 나온 것으로 사료됨.
- 재고미에서 최대값의 회장 및 전분 건물소화율을 보였으며, 각각 93.39(1.0mm), 87.86(2.0mm) 및 97.44(1.0mm), 95.63(2.0mm) 이었음(Figure 3-2). 최소값의 건물소화율은 회장소화율의 경우 대맥으로 58.53(1.0mm)와 41.75(2.0mm)이며, 전분소화율의 경우에는 옥수수 90.74(1.0mm), 87.60(2.0mm) 이었음. 재고미의 일반성분을 살펴보면 NFE 및 조섬유의 함량이 각각 84.97% 및 1.32%이며 본 실험에서 사용한 다른 곡류사료보다 높은 값을 보였으며 이로 인해 소화가 더 용이한 것으로 사료됨.
- 대맥의 경우에는 NFE 및 조섬유의 함량이 77.14% 및 5.75%로 다른 곡류사료에 비해 가장 높은 값을 보여 회장소화율이 낮게 나타난 것으로 사료되며, 옥수수의 경우에는 NFE(81.72%) 및 조섬유의 함량(2.94%)이 대맥보다는 높으나 전분소화율은 낮게 보인 것은 아마도 옥수수 피(corm hull)에 의해 대장에서 분해가 지연된 것으로 사료됨.
- 소맥의 회장 및 전분소화율은 재고미 보다는 낮으나 옥수수 및 대맥보다는 유의적으로 높게 나타났음. 옥수수, 소맥 및 대맥에 대한 건물소화율을 측정된 다른 연구결과에 의하면 회장소화율의 경우는 75~84%, 전분소화율의 경우는 85~90%의 범위에 해당했으며, 소맥의 회장 및 전분소화율이 가장 높은 값을 나타냈고 그 다음으로 옥수수이며, 대맥이 가장 낮은 값을 보여 본 연구결과와는 다소의 차이가 있었음(Kong et al., 2015; Park et al., 2016). 이러한 결과는 곡류사료의 일반성분, 실험방법 등에 따른 차이로 인한 것으로 사료됨.
- 종합적으로 살펴보면, 재고미는 다른 곡류사료에 비해 회장 및 전분 건물소화율이 상당히 우수한 것으로 나타났으며 기존 곡류사료를 대체하여 사용하는데 큰 문제는 없으며, 동일한 양으로 대체시에 더 높은 이용가능성이 있다고 사료됨.

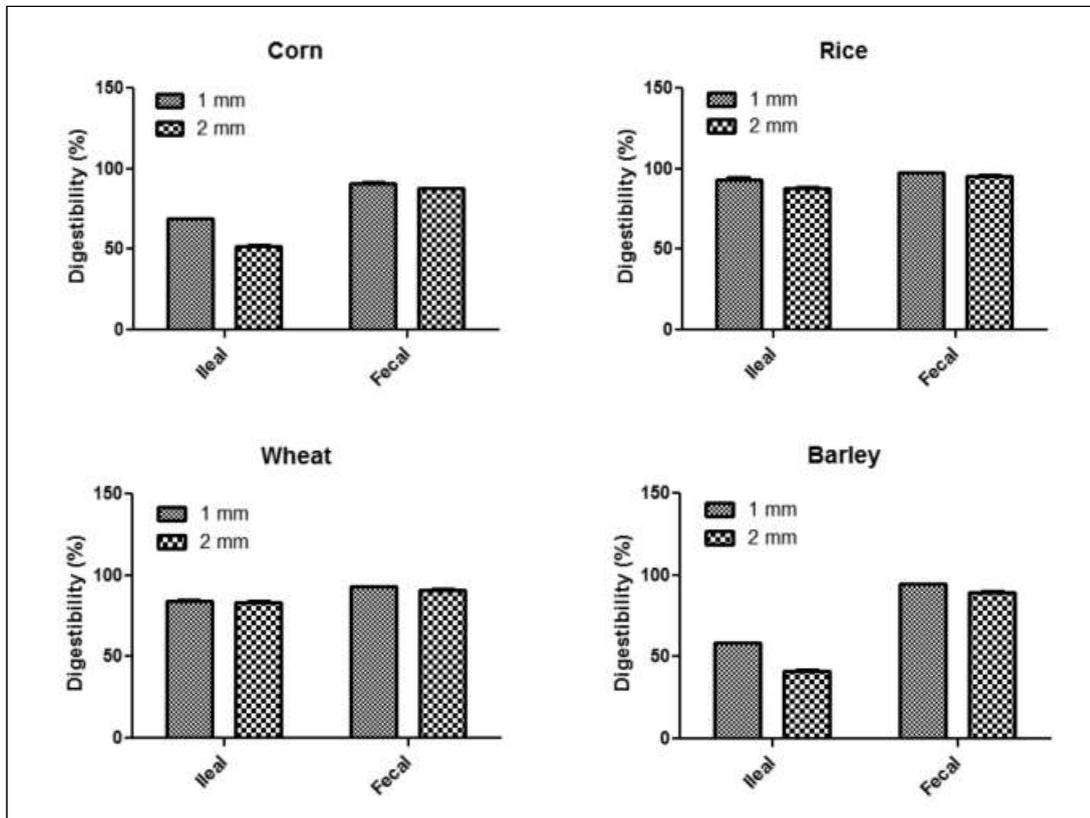


Figure 3-12. 곡류사료의 *in vitro* 회장(ileal) 및 전분(fecal) 건물소화율 비교( $P < 0.01$ )

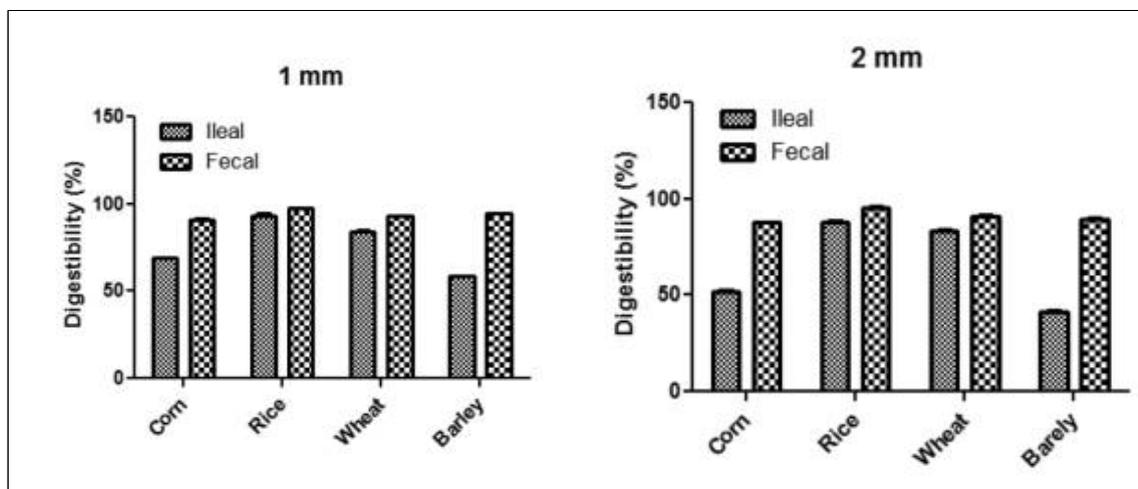


Figure 3-13. 곡류사료의 입자크기에 따른 *in vitro* 회장 및 전분 건물소화율 비교( $P < 0.01$ )

## 나. 육성비육돈에서 재고미의 사료자원화 연구

### 1) 연구의 필요성

- 쌀은 우리 민족의 주식으로 2000년도 이전 만 하더라도 쌀밥을 우리 국민모두에게 먹게 하는 것이 농업 정책의 목표일 정도로 귀중한 식량자산 중의 하나임. 하지만, 수입개방으로 인해 값싼 수입쌀의 수입량이 증가되어 상대적으로 국내산 쌀의 가격 경쟁력이 떨어지는 동시에 재고량이 증가되고 있음.
- 쌀 재고량은 2015년 12월 기준 약 190만톤으로 적정기준의 약 2배를 초과하는 상황임. 2018년 현재 국내 쌀 재고 136만톤은 유엔식량농업기구가 제시한 적정규모 80만톤보다 약 56만톤이 많은 실정이며, 쌀 1만 톤 당 보관료는 14억원으로 쌀 재고량 관리비도 증가되고 있음. 또한, 3년 이상 보관된 재고미는 품질저하로 인하여 식용으로 사용될 수 없어 이에 따른 폐기 비용도 발생되고 있는 현실임.
- 이와 같은 문제를 해결하기 위하여 농림축산식품부는 '16년부터 재고미 10만톤을 사료공장으로 저렴한 가격으로 보급하여 배합사료 원료로 사용하고 있으나, 쌀을 활용한 양돈용 사료의 가치와 첨가수준 및 사양성적에 미치는 영향에 대한 연구는 미약한 실정임.
- 1999년도산 쌀의 사료적 가치 평가 결과 옥수수에 비해 단백질, 지방, 섬유질 함량이 다소 낮으나 전분함량이라 할 수 있는 NFE(가용무기질소)함량은 유사한 것으로 보고되었음.

Table 3-5. 일반성분 함량(수분 외 성분은 건물, %)

구 분	수 분	조단백질	조지방	조섬유	NFE
현미(A)	13.72	8.17	2.36	1.38	86.76
옥수수(B)	14.11	8.91	4.33	3.06	86.46
지수(A/B)	-	92	55	45	100

- 한편 축종별 영양가 분석결과, 한우, 돼지, 닭의 소화율을 측정하여 비교한 결과, 한우에서는 현미의 영양가가 옥수수보다 다소 낮았으나 돼지와 닭에서는 옥수수보다 높게 나타났음.

Table 3-6. 축종별 영양가(건물 기준)

구 분	한우(500kg)			돼지(85kg)			닭(9주령)
	DCP (%)	TDN (%)	DE (Mcal/kg)	DCP (%)	TDN (%)	DE (Mcal/kg)	ME (Mcal/kg)
현미(A)	5.76	91.6	3.69	7.03	97.8	4.26	3.42
옥수수(B)	6.18	92.3	3.66	7.92	93.2	4.00	3.35
지수(A)/(B)	93	99	101	89	105	107	102

○ 반추동물에 대한 쌀의 급여 효과를 분석한 결과, 홀스타인 비육우 36두를 이용하여 6개월간 시험한 결과 현미를 20% 대체하였을 때 일당증체량과 근내 지방도가 증가하는 경향을 보여 비육우에 대한 배합사료 중 20%까지도 쌀을 대체할 수 있다고 보고되었음. 자돈의 경우엔 자돈 60두를 이용하여 이유 후 28일간 시험한 결과, 옥수수 대신 현미 5% 대체 시 증체량이 12%, 15% 대체 시 13%, 30% 대체 시 6.8% 증가하였다고 보고되었음.

Table 3-7. 자돈에서 옥수수 대체 재고미 급여수준에 따른 생산성 비교

처리별	대조구	현미 5%	현미 10%	현미 15%	현미 30%
일당증체(kg)	0.647	0.726	0.725	0.733	0.691
일당사료섭취량(kg)	1.196	1.333	1.439	1.328	1.320
사료효율(G/F)	0.550	0.550	0.504	0.552	0.523

○ 비육돈의 경우, 50두를 이용하여 출하 전 40일간 시험한 결과 자돈과 같이 옥수수 대신 현미 5% 대체 시 일당증체량이 개선되었으나, 현미 30% 대체시 증체량이 약 8% 감소하는 결과를 보였음. 한편 육질에 있어서는 현미 30% 대체 시 지방 침착도가 높게 나타났다고 보고되었음. 또한, 재고미 50%까지 배합하여 급여하였을 때 발육이 가장 양호하였고, 60% 정도까지 급여할 수 있다고 보고되었으며, 일본 동북 농업시험장('01)에서는 생체 중 65kg부터 50일 동안 비육돈 사료에 현미를 옥수수 대신 83%까지 급여했을 때 현미 급여 돼지가 옥수수를 급여구보다 사료섭취량이 많아 증체량도 높았다고 하였음.

○ 이상의 국내외 연구결과를 종합해 볼 때 배합사료 원료의 95% 이상을 수입하는 우리나라의 축산 현실을 감안할 때 재고미의 사료화는 긍정적으로 검토돼야 할 것으로 보여짐. 하지만 기존의 옥수수 위주의 배합사료 생산 현실에서 재고미를 사료로 이용하기 위해서는 생산 공정의 운송 및 가공 설비 등의 보강이 필요할 것으로 보이기 때문에 재고미 공급가격 결정에 있어 정부에서의 옥수수 대체에 대한 적절한 지원책이 필요할 것으로 사료됨. 또한 배합사료는 가축의 생산성과 직접적인 연관이 있기 때문에 일정한 품질관리가 필요함.

○ 따라서, 국내 양돈 생산비 중 가장 큰 비중을 차지하는 사료비 절감을 위해서 현재 국내에서 재고미를 이용한 사료자원 개발에 관한 필요성이 있어, 이에 따라 재고미를 이용한 양돈용 사료자원 개발에 관한 연구 과제를 진행하고자 함. 본 연구를 통해 재고미를 이용한 양돈용 사료자원 개발시 재고미 급여가 비육돈의 성장효과 미치는 효과와

도체특성 및 육질특성에 미치는 영향을 조사하여 경제성을 분석하고 적절한 사료용 살의 첨가수준을 알아보기 위해 실시하였음.

2) 재료 및 방법

○ 본 연구는 2018년 5월 4일부터 2018년 7월 23일까지 80일간 실험하였음. 사료 내 옥수수대체 쌀의 비율을 대조구(T1)는 재고미 0% 대체구, T2는 재고미 10% 대체구, T3은 재고미 20% 대체구, T4는 재고미 40%로 대체구로 함. 육성비육돈(L×Y×D, 35.92 ±3.09kg)을 각 대체 수준별로 처리구별(4처리구)로 12두씩 4처리구 3반복으로 나누어 총 48두를 완전임의 배치로 배치하여 사양실험을 진행하였음. 각 시험구별 사료의 첨가수준은 Table 3-8, 시험사료의 성분분석 결과는 Table 3-9와 같음.

Table 3-8. 시험사료의 배합비(단위 : %)

사료명	대조구(0%)	처리1구(10%)	처리2구(20%)	처리3구(40%)
수입옥수수	73.321	63.019	52.716	32.111
수입대두박	22.107	21.966	21.825	21.538
동물성유지	2.543	2.983	3.424	4.305
제3인산칼슘(TCP)	1.105	1.072	1.047	0.998
가공염	0.300	0.300	0.300	0.300
석회석	0.185	0.196	0.199	0.205
라이신(78.8%)	0.185	0.192	0.199	0.214
비타민 프리믹스	0.100	0.100	0.100	0.100
미네랄 프리믹스	0.100	0.100	0.100	0.100
DL-메치오닌(98%)	0.039	0.049	0.059	0.079
트레오닌(98.5%)	0.014	0.022	0.031	0.050
재고미	0.000	10.000	20.000	40.000
원재료비(원/kg)	288.48	289.79	291.13	293.85

Table 3-9. 시험사료의 성분분석

성분명	대조구(0%)	처리1구(10%)	처리2구(20%)	처리3구(40%)
Dry matter	87.28	87.25	87.22	87.17
DE(swine)_kor	3503	3533	3563	3623
ME(swine)_user	3390	3380	3369	3348
NE(swine)_user	2480	2480	2480	2480
Crude Protein	16.00	16.00	16.00	16.00
dCP_kor	13.47	13.55	13.62	13.77
Fat	5.52	5.85	6.17	6.81
Ash	3.78	3.66	3.55	3.32
Calcium	0.55	0.55	0.55	0.55
Phosphorus	0.50	0.50	0.50	0.51
Available Phosphorus	0.22	0.22	0.22	0.22
Crude Fiber	2.83	2.70	2.56	2.30
Lysine	0.95	0.95	0.95	0.95
Methionine	0.30	0.30	0.31	0.32
Met + cys	0.57	0.57	0.57	0.57
Threonine	0.61	0.61	0.61	0.61
Tryptophan	0.17	0.18	0.18	0.19
Valine	0.76	0.77	0.79	0.82

- 사양성적을 조사하기 위하여 실험개시 후 각 단계별 사양시험이 종료되는 시점에 체중을 측정하였으며, 체중 측정 시 사료 급이통의 잔량을 측정하여 사료 섭취량을 기록하였음. 사양시험에서 얻어진 데이터를 이용하여 일당증체량(average daily gain, ADG)과 일당사료섭취량(average daily feed intake)을 산출하였음. 사료효율은 일당증체량을 일당사료 섭취량에서 나누어 계산하였음.
- 도체특성은 도축된 돼지의 도체중, 등지방두께 및 등급결과를 정리하였으며, 도축후 48시간 이후에 pH는 세절한 시료 10g을 증류수 90mL와 함께 균질기(T25B, IKA Sdn., Bhd., Malaysia)로 13,500rpm에서 20초간 균질하여 pH메타(8603, Metrohm, Swiss)로 측정하였음. 가열감량(cooking loss)은 시료를 일정한 두께(3cm)로 절단하여 지퍼백에 포장하고 80°C 항온수조에서 1시간 가열(심부온도가 65°C) 후 물기를 제거하고 4°C에서 2시간 방치 후에 초기 무게에 대한 가열시의 감량의 비율을 계산하였음.

- 전단가는 Instron 3343(WarnerBratzler shear force) Instron 3343(US/MX50, AD Co., USA)을 이용하여 측정하였음. 근육방향으로  $\phi 2.0 \times 2.0$ cm knife plunger를 이용하여 절단하여 측정하였음. 이때 측정 조건은 load cell 10kg , adapter area 30mm<sup>2</sup>이었음.
- 조직감(Texture profiles)은 0.20cm 직경의 plunger가 장착된 Instron 3343(US/MX50, A&D Co., USA)을 이용하여 시료를 일정크기로(높이 2cm) 절단후 compression strain 이 70%가 되도록 하여 측정하였음. 조직감은 Bourne(1978), Szczeniak(1963) 그리고 Texture Technologies(2003)의 방법에 의해 경도(hardness, kg), 표면경도(surface hardness, kg), 부착성(adhesiveness, kg), 응집성(cohesiveness, ratio), 탄력성(springiness, ratio), 겹성(gumminess, kg) 및 씹힘성(chewiness, kg)을 대상으로 7회 이상 측정하였음.
- 이화학적 특성을 조사하기 위해 육색은 절단육을 30분간 실온에 방치한 후 색차계 (CR-400, Minolta Co., Japan)를 사용하여 동일한 방법으로 5회 반복하여 명도(lightness, CIE L\*), 적색도(redness, CIE a\*) 황색도(yellowness, CIE b\*)를 측정하였음. 이때 표준색판은 L\*=89.2, a\*=0.921, b\* = 0.783으로 하였음.
- 조리육의 관능평가는 두께가 5 cm인 등심을 95°C에서 1시간 가열이후(중심온도 75°C)에 냉각한 이후 일정 크기로 절단한 이후 관능검사에 이용하였음. 제공된 시료는 두께(1.50 cm), 가로(3.00 cm), 세로(3.00 cm)를 일정하게 절단하여 난수표를 이용하여 시료를 분류하여 제공하였음. 관능검사 대상으로는 대구대학교 학생, 연구원 및 교직원을 대상으로 실시하였으며, 8명을 대상으로 5점 척도법으로 조사하였음. 1점은 매우 나쁘거나 낮음, 5점은 매우 좋거나 강함으로 표시하게 하여 관능평가를 실시하였음.
- 본 실험에서 얻은 자료에 대한 통계 분석은 SAS(2018)를 이용하여 일원분류 분산분석(one-way ANOVA)을 하였고, 평균간 비교는 Tukey 다중검정을 실시하였음. 실험에 의해 얻어진 모든 데이터는 GLM(general linear model)을 이용하여 분산 분석한 후 Duncan의 다중검증법에 의하여 분석하였음.

### 3) 결과 및 고찰

- Table 3-10은 옥수수 대체 재고미의 급여수준에 따른 육성-비육돈의 사양성적을 나타낸 것임. 초기 공시체중과 최종 생체중은 처리구간별 유의적인 차이를 나타내지 않았지만(P>0.05). 전반적으로 최종 생체중은 T3 및 T4처리구가 T1처리구보다 높은 결과를 나타내었음.
- 일당증체량(ADG)의 경우에도 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았으나, T1처리구가 T3 및 T4 시험구보다 낮은 값을 나타내었음(P>0.05).
- 일당 사료 섭취량(ADFI)의 경우, T4가 가장 높게 나타났으며, T1가 가장 낮은 값을 나타내었으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았음(P>0.05).
- 사료효율(feed conversion ratio, grain:feed)은 T4가 가장 높게 나타났으나, 처리구간

유의적인 차이는 보이지 않았음( $P>0.05$ ).

- 이상의 결과 재고미의 대체수준이 돼지의 성장특성에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

Table 3-10. 옥수수 대체 재고미의 급여수준에 따른 육성-비육돈의 성장 특성

Items	Dietary treatments				P	SEM
	T1	T2	T3	T4		
Initial weight(kg)	35.92	35.58	35.17	35.33	0.98	1.35
Final weight(kg)	110.25	106.92	114.58	115.67	0.30	3.54
Avg daily gain(kg)	0.93	0.89	0.99	1.00	0.14	0.04
Avg daily feed(kg)	1.56	1.61	1.66	1.66	0.52	4.56
Gain/feed(kg/kg)	0.60	0.56	0.60	0.61	0.56	0.03

- Table 3-11은 옥수수 대체 재고미의 첨가수준에 따른 육성비육돈의 도체 성적결과를 나타낸 것임. 분석결과, 도체중의 경우 T3 및 T4가 가장 높은 도체중을 나타내었으나, 유의적인 차이는 보이지 않았음( $P>0.05$ ).
- 등지방 두께의 경우, T1처리구가 다른 시험구보다 다소 높은 수치를 나타내었으나, 시험구간 유의적인 차이는 보이지 않았음( $P>0.05$ ). 또한, 도체 등급의 경우에 T3가 가장 높은 등급을 나타내었으나, 시험구간 유의적인 차이는 보이지 않았음.

Table 3-11. 옥수수 대체 재고미의 급여 수준에 따른 육성-비육돈의 도체 특성 결과

Items	Dietary treatments				P	SEM
	T1	T2	T3	T4		
Carcass weight(kg)	80.67	78.83	84.00	84.83	0.47	3.01
Backfat thickness(mm)	20.83	18.17	18.33	19.83	0.79	2.16
Quality grade <sup>1)</sup>	3.67	3.50	4.33	3.83	0.45	0.38

<sup>1)</sup> Score used in this study 5 = grade 1+, 4 = grade 1, 3 = grade 2.

- Table 3-12는 옥수수 대체 재고미의 첨가수준에 따른 육성비육돈의 육질특성 결과를 나타낸 것임. 분석결과, pH 결과 값은 T1 및 T2가 T3 및 T4보다 다소 높은 값을 보였으나, 유의적인 차이는 보이지 않았음( $P>0.05$ ).
- 가열감량, 드립감량 및 보수력(WHC) 결과에서도 처리구간 유의적인 차이를 보이지

않았음( $P>0.05$ ). 보수력의 경우에도 대조구와 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았음 ( $P>0.05$ ).

Table 3-12. 옥수수 대체 재고미의 급여 수준에 따른 돼지의 육질특성 결과

Items	Dietary treatments				p	SEM
	T1	T2	T3	T4		
pH	5.52	5.56	5.48	5.46	0.80	0.08
Cooking loss(%)	85.80	76.85	102.35	85.22	0.14	7.20
Drip loss(%)	9.39	10.18	9.26	7.42	0.55	1.34
WHC(%)	25.90	22.46	23.54	25.90	0.41	2.93

- Table 3-13는 옥수수 대체 재고미의 첨가수준에 따른 육성비육돈 돈육의 육색특성 결과를 나타낸 것임.
- 명도를 나타내는 수치  $L^*$ 는 영어로는 Lightness로서  $L^*=100$ 은 흰색(흰색이라기 보다는 광원의 색에 가까움)이고  $L^*=0$ 은 검은색임.  $a^*=80$ 은  $a^*=50$ 보다 더 붉게 보이며  $b^*=50$ 은  $b^*=20$ 보다 훨씬 Yellow가 많게 보임. 이 공간에서 색의 차이란 구에 가까운 색 공간에서의 두 색의 위치간의 입체적인 거리라고 할 수 있음. 입체적으로 거리가 서로 멀면 색 차이가 많이 나는 것이고 거리가 거의 차이가 없으면 동일한 색으로 인지 됨.
- 육색 측정결과 밝기의 경우 T1이 다른 시험구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었음 ( $P<0.01$ ). 적색도의 경우엔, 모든 처리구가 대조구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었음. 또한 황색도의 경우엔, 모든 처리구가 대조구보다 낮은 황색도를 나타내었음 ( $P<0.01$ ).

Table 3-13. 옥수수 대체 재고미의 급여 수준에 따른 돈육의 육색특성 결과

Items	Dietary treatments				p	SEM
	T1	T2	T3	T4		
Meat surface color						
$L^*$	54.72 <sup>a</sup>	52.56 <sup>b</sup>	53.85 <sup>ab</sup>	52.84 <sup>b</sup>	0.01	0.42
$a^*$	6.79 <sup>b</sup>	8.36 <sup>a</sup>	7.05 <sup>ab</sup>	8.07 <sup>a</sup>	0.01	0.28
$b^*$	2.46 <sup>a</sup>	1.19 <sup>b</sup>	1.41 <sup>b</sup>	1.59 <sup>b</sup>	0.01	0.13

<sup>a-b</sup> Means within a row with different superscript differ( $P<0.05$ ).

- Table 3-14는 옥수수 대체 재고미의 첨가수준에 따른 육성비육돈 돈육의 전단가, 조직감 및 관능특성 결과를 나타낸 것임.
- 전단가 및 조직감 측정결과 시험구간 유의적인 차이를 나타내지 않았음( $P>0.05$ ). 관능 특성 조사의 경우, 육색, 다즙성, 풍미, 및 종합적인 기호도 면에서 시험구간 유의적 차이를 나타내지 않았음( $P>0.05$ ).
- 이상의 육질특성 결과 옥수수 대체 재고미의 급여수준이 돼지의 육색을 제외한 다른 이화학적 및 관능적 특성의 변화를 가져오지 않았음.

Table 3-14. 옥수수 대체 재고미의 급여 수준에 따른 돈육의 육질 및 전단력 특성 결과

Items	Dietary treatments				p	SEM
	T1	T2	T3	T4		
Shear Force(kg, f)	5257.07	5495.50	4318.48	4610.15	0.07	220.84
Texture analysis profiles						
Hardness(gf)	11414.52	14775.08	14812.43	12217.15	0.45	3328.17
Adhesion Force(gf)	90.23	62.76	103.43	107.57	0.93	63.21
Springiness(ratio)	0.95	0.95	0.94	0.93	0.64	0.01
Gumminess(gf)	5879.89	7648.32	8030.45	6848.23	0.37	1683.44
Chewiness(gf)	5543.59	7261.52	7475.72	6452.78	0.36	1581.50
Cohesiveness	0.47	0.45	0.48	0.54	0.47	0.04
Sensory evaluation						
Color	3.50	2.88	3.63	3.38	0.18	0.40
Juiciness	3.38	3.05	3.25	3.38	0.08	0.35
Texture	3.63	3.25	3.38	3.63	0.42	0.34
Flavor	3.38	3.13	3.50	3.75	0.61	0.34
Total acceptability	3.38	3.00	3.63	4.00	0.12	0.29

## 제 6 절 착유우 사료로서 적절한 원료 대체사료 선발 및 평가

### 1. 착유우 사료로서 적절한 원료 대체 사료 선정 및 평가

#### 가. 후보 사료자원들의 *in vitro* 발효특성 조사

- 반추위 발효 pH 조사 결과, 모든 처리구들에서 pH가 반추위 발효 적정 범위인 5.8 - 7.2(Hiltner and Dehority, 1983)에 속하는 것으로 나타남에 따라, 시험에 사용된 사료자원들은 반추위 발효에 부(-)의 영향을 주지 않는 것으로 판단되었음(Table 4-1).

Table 4-1. Effect of different feed ingredients on ruminal pH

Time	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	과인애플박	SEM
6 h	6.80±0.02	6.80±0.01	6.80±0.01	6.80±0.01	6.85±0.00	6.91±0.01	0.010
24 h	6.71±0.02	6.63±0.00	6.69±0.02	6.68±0.02	6.78±0.02	6.87±0.01	0.019

- 암모니아태 질소(ammonia nitrogen)는 반추위 분해 단백질 양을 예측할 수 있는 척도임. 사료자원별 반추위 발효 암모니아태 질소 측정 결과, 발효 6 및 24시간에서 포도박, 과인애플박에서 벼짚과 티모시보다 높은 수치를 보였음. 모든 시험구에서 반추위 내 암모니아태 질소 적정범위보다 낮은 수치를 보였지만 Ryu(2015)에 의하면 미생물의 성장이 왕성할 경우 그 농도가 낮아진다고 보고됨. 따라서 미생물의 질소대사가 활발히 진행된 것으로 판단됨(Table 4-2).

Table 4-2. Effect of different feed ingredients on ruminal ammonia nitrogen(mg/100mL)

Time	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	과인애플박	SEM
6 h	0.48±1.32	0.65±1.36	0.33±1.41	0.01±1.45	1.68±1.45	3.08±1.55	0.251
24 h	1.06±1.55	0.73±1.70	0.44±1.87	0.03±2.03	1.44±1.73	4.59±0.19	0.365

- *In vitro* 건물소화율(IVDMD, *In vitro* dry matter digestibility) 분석결과, 발효 24시간 기준으로, T1과 T2의 경우 벼짚보다 높은 소화율을 나타내었으나, 티모시보다는 낮은 소화율을 나타냈음(Table 4-3). 그러나 포도박의 경우, 건물소화율이 매우 낮은 것을 알 수 있었음. 과인애플박의 경우, 시료 자체의 고형물이 낮아 건물소화율 측정에 의미가

없었음.

Table 4-3. Effect of different feed ingredients on ruminal dry matter digestibility(%)

Time	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	파인애플박	SEM
0 h	13.30±1.61	17.62±1.60	4.06±0.69	20.51±1.15	7.64±0.57	37.27±0.98	3.092
6 h	17.05±0.42	19.52±0.75	12.99±0.84	18.81±0.78	9.05±2.17	71.70±5.39	5.229
24 h	25.53±2.35	39.96±2.53	25.97±0.38	28.64±0.32	17.10±1.63	127.38±0.49	9.231

○ 총 가스 생성량(total gas production)은 분해율 평가의 간접적 지표로 알려져 있음. 배양 6시간대에는 T1, T2 처리구에서 대조구보다 비슷하거나 높은 수치를 나타내었고 24 시간대서는 카사바뿌리, 카카오박 처리구에서 벼짚보다는 높고 티모시보다는 낮은 수치를 나타냈음. Hydrogen의 결과 6 및 24시간에 대조구 대비 카사바뿌리에서 높은 수치 보였음. Methane 결과 6 시간대 카사바뿌리, 카카오박에서 대조구들과 비슷한 수치를 나타냈음. 24 시간대에서는 카사바뿌리 및 카카오박에서 벼짚보다는 낮고 티모시보다는 높은 수치를 보였음(Table 4-4).

Table 4-4. Effect of different feed ingredients on ruminal total gas, hydrogen and methane

Time	Content	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	파인애플박	SEM
6 h	Total gas (mL)	21.00±1.00	20.00±1.00	21.33±0.58	21.00±3.61	7.00±1.00	0.00±0.00	2.136
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.11±0.02	0.07±0.01	0.15±0.02	0.06±0.01	0.06±0.01	0.00±0.00	0.009
	Mathane (mL/VFA mM)	0.34±0.05	0.32±0.02	0.39±0.04	0.40±0.13	0.46±0.09	0.00±0.00	0.021
24 h	Total gas (mL)	37.00±1.00	52.67±1.15	43.67±0.58	41.00±1.73	16.33±1.53	0.00±0.00	4.365
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.02±0.00	0.00±0.00	0.04±0.00	0.00±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.003
	Mathane (mL/VFA mM)	0.37±0.02	0.19±0.01	0.26±0.01	0.28±0.02	0.51±0.08	0.00±0.00	0.028

○ 반추위 휘발성 지방산 생성량은 Table 4-5에서 보는 것과 같음. T1과 T2의 총 휘발성 지방산의 경우, 발효 6시간과 24시간 모두에서 벼짚보다는 높게 나타났으나, 티모시보다는 낮게 나타났음. 포도박의 경우, 건물소화율과 마찬가지로 모든 대조구에 비하여 낮은 휘발성 지방산 생성량을 나타냈음. 파인애플박의 경우, 정상적인 휘발성 지방산 생성이 이루어졌다고 볼 수 없을 정도로 낮은 생산량을 나타냈음.

Table 4-5. Effect of different feed ingredients on ruminal volatile fatty acid

Time	Content, mM	벚짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	과인애플박	SEM
6 h	Total VFAs	26.83±0.07	29.05±0.29	27.97±0.78	25.96±0.23	22.17±0.56	19.17±0.03	0.840
	Acetate	15.85±0.02	17.78±0.17	16.47±0.51	16.65±0.12	13.72±0.32	12.42±0.04	0.448
	Propionate	6.61±0.04	7.23±0.07	6.66±0.16	5.58±0.08	5.27±0.11	4.03±0.00	0.260
	iso-Butyrate	0.14±0.01	0.19±0.00	0.18±0.00	0.16±0.00	0.15±0.03	0.20±0.00	0.006
	n-Butyrate	3.66±0.00	3.27±0.04	4.08±0.09	3.06±0.05	2.52±0.05	1.89±0.01	0.175
	iso-Valerate	0.31±0.00	0.32±0.00	0.33±0.00	0.26±0.00	0.29±0.03	0.39±0.00	0.010
	n-Valerate	0.26±0.00	0.25±0.00	0.26±0.01	0.25±0.01	0.23±0.03	0.23±0.00	0.005
	A/P ratio	2.40±0.01	2.46±0.00	2.47±0.02	2.98±0.03	2.60±0.01	3.08±0.01	0.065
24 h	Total VFAs	33.75±2.13	46.74±1.51	44.89±0.34	43.94±0.52	31.95±0.15	23.26±0.56	2.062
	Acetate	19.74±1.38	27.70±0.88	24.92±0.17	27.85±0.34	19.64±0.15	15.48±0.37	1.124
	Propionate	7.29±0.79	11.79±0.66	11.50±0.07	10.42±0.15	8.34±0.02	4.42±0.11	0.634
	iso-Butyrate	0.21±0.00	0.34±0.02	0.35±0.01	0.27±0.03	0.19±0.00	0.29±0.01	0.015
	n-Butyrate	5.55±0.05	5.42±0.24	6.83±0.12	4.36±0.07	3.00±0.02	2.12±0.05	0.388
	iso-Valerate	0.45±0.01	0.63±0.03	0.74±0.02	0.50±0.03	0.33±0.00	0.58±0.02	0.033
	n-Valerate	0.51±0.01	0.88±0.05	0.54±0.01	0.56±0.03	0.46±0.01	0.40±0.01	0.038
	A/P ratio	2.71±0.11	2.36±0.11	2.17±0.00	2.67±0.01	2.36±0.01	3.49±0.00	0.106

나. 후보 사료자원들의 상대적 성능지수(Relative performance index, RPI) 조사

- 각 후보 사료자원들을 대상으로 한 RPI 분석 결과, 반추위 발효 6 시간대에서는 티모시가 모든 시험구들 중에서 가장 높은 효과를 보였으며, 다음으로는 카사바뿌리, 벚짚 및 카카오박의 순서로 나타났음. 본 분석에서 과인애플박은 이상치(outlier)로 간주하여 제외하였음. 24 시간대에서도 티모시가 가장 높은 수치를 나타내었고, 다음으로는 카사바뿌리, 카카오박, 벚짚 및 포도박의 순서로 높게 나타났음(Table 4-6).
- 1차 후보 사료자원 특성 분석 결과, 포도박은 건물소화율 및 휘발성지방산 생성량이 낮게 나타나 사료로 사용하기 부족할 것으로 판단됨. 또한 과인애플박은 액상제제로 반추위 발효 및 상대적 성능지수를 측정하기 어려웠으므로 분말제제를 사용하여 다시 측

정할 필요가 있음. 현재 1차 후보 사료자원 중에는 카사바뿌리 및 카카오박이 반추동물 사료로서 유리할 것으로 판단됨

Table 4-6. Effect of relative performance index on *in vitro* result

Time(h)	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	SEM
0	6.59±1.98	4.95±0.64	12.14±1.28	14.22±0.21	12.09±0.38	0.983
6	12.97±0.30	16.20±0.51	13.68±1.29	11.18±0.49	5.97±3.29	0.936
24	8.22±1.40	16.36±1.08	14.60±0.34	13.18±0.31	7.64±0.47	0.945

## 2. 선발 사료자원을 이용한 착유우 전용 반추위 발효 정상 입증

가. 후보 사료자원들의 분석 : 후보 사료자원의 성분은 Table 4-7과 같음.

Table 4-7. Chemical compositions of different feed sources(% DM)

Content	벼짚	티모시	포도박	과인애플박	카사바뿌리	카카오박	미역박	대추분말
DM	91.02	88.80	90.22	2.89	85.29	91.18	89.89	89.40
CP	3.80	10.52	11.08	21.06	9.49	13.18	22.21	7.00
EE	1.96	2.48	8.40	12.27	0.84	6.76	2.51	0.40
Ash	22.39	9.30	5.64	12.67	0.47	7.48	18.81	10.10
NDF	64.32	67.86	63.43	21.40	24.13	28.05	45.38	30.00
ADF	40.47	41.39	48.21	18.29	18.32	30.30	26.53	25.00

### 나. 2차 후보 사료자원들의 *in vitro* 발효특성 조사

- 반추위 발효 pH 조사 결과, 모든 처리구들에서 pH가 반추위 발효 적정 범위인 5.8~7.2(Hiltner and Dehority, 1983)에 속하는 것으로 나타남에 따라, 시험에 사용된 사료자원들은 반추위 발효에 부(-)의 영향을 주지 않는 것으로 판단됨(Table 4-8).

Table 4-8. Effect of different feed ingredients on ruminal pH

Time	벼짚	대추분	미역박	SEM	P
6 h	6.84 <sup>b</sup>	6.78 <sup>a</sup>	6.90 <sup>c</sup>	0.02	0.002
24 h	6.71 <sup>a</sup>	6.70 <sup>a</sup>	6.79 <sup>b</sup>	0.02	0.006

<sup>a-c</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

- 암모니아태 질소(ammonia nitrogen)는 반추위 분해 단백질 양을 예측할 수 있는 척도임. 사료자원별 반추위 발효 암모니아태 질소 측정 결과, 발효 6 및 24시간에서 미역박에서 볏짚보다 높은 수치를 보였음( $P<0.05$ , Table 4-9). 모든 시험구에서 반추위 내 암모니아태 질소 적정범위보다 낮은 수치를 보였음

Table 4-9. Effect of different feed ingredients on ruminal ammonia nitrogen(mg/100mL)

Time	볍짚	대추분	미역박	SEM	P
6 h	0.45 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	5.87 <sup>b</sup>	1.14	<0.001
24 h	0.67 <sup>a</sup>	1.24 <sup>b</sup>	9.03 <sup>c</sup>	1.63	<0.001

<sup>a-c</sup> Different superscript in same row means significantly different( $P<0.05$ ).

- *In vitro* 건물소화율(*in vitro* dry matter digestibility, IVDMD) 분석결과, 발효 24시간 기준으로 미역박의 경우 볏짚보다 유의적으로 높은 소화율을 나타냈음(Table 4-10).

Table 4-10. Effect of different feed ingredients on ruminal dry matter digestibility(%)

Time	볍짚	대추분	미역박	SEM	P
0 h	7.87 <sup>a</sup>	9.54 <sup>b</sup>	19.92 <sup>c</sup>	2.13	<0.001
6 h	10.43 <sup>a</sup>	11.44 <sup>a</sup>	25.46 <sup>b</sup>	2.44	<0.001
24 h	29.13 <sup>b</sup>	24.48 <sup>a</sup>	47.89 <sup>c</sup>	3.60	<0.001

<sup>a-c</sup> Different superscript in same row means significantly different( $P<0.05$ ).

- 반추위 휘발성 지방산 생성량은 Table 4-11에서 보는 바와 같음. 발효 6시간과 24시간 볏짚보다 미역박에서 총 휘발성지방산의 생성량이 유의적으로 높았음( $P<0.05$ ). 미역에 다량 함유되어 있는 다당류는 alginic acid, fucoidan, laminaran 등 화학적으로 견고한 결합 형태로 존재하고 그 중 alginic acid는 분자량이 5만~20만의 고분자 섬유질로서 D-mannuronic acid와 L-guluronic acid의 이질다당류로 이루어져 있음. 이러한 물질은 갈조류 세포벽의 대부분 차지함(Beresford 등, 2000; Klinkenberg 등, 2001).
- 탄수화물들은 반추동물에서는 반추위 미생물에 의해 발효가 일어나고, 반추가축에게 주요 에너지원인 VFA 생성량의 증가에 영향을 미치게 됨(Greenwood 등, 1983; Beresford 등, 1999).
- 본 연구결과에서도 미역박에서의 휘발성 지방산 생성량이 가장 높게 나타났음.

Table 4-11. Effect of different feed ingredients on ruminal volatile fatty acid

Time	Content (mM)	벚짚	대추분	미역박	SEM	P
6 h	Total VFAs	14.47 <sup>a</sup>	19.00 <sup>b</sup>	47.66 <sup>c</sup>	3.18	<0.001
	Acetate	8.67 <sup>a</sup>	11.10 <sup>b</sup>	28.62 <sup>c</sup>	2.03	<0.001
	Propionate	2.92 <sup>a</sup>	3.93 <sup>b</sup>	10.95 <sup>c</sup>	0.84	<0.001
	Butyrate	2.24 <sup>a</sup>	3.05 <sup>b</sup>	6.02 <sup>c</sup>	0.27	<0.001
	Valerate	0.65 <sup>a</sup>	0.92 <sup>a</sup>	2.07 <sup>b</sup>	0.11	<0.001
	A/P ratio	2.97 <sup>c</sup>	2.83 <sup>b</sup>	2.61 <sup>a</sup>	0.03	<0.001
24 h	Total VFAs	26.95 <sup>a</sup>	30.17 <sup>a</sup>	74.58 <sup>b</sup>	8.33	<0.001
	Acetate	15.89 <sup>a</sup>	17.52 <sup>a</sup>	42.69 <sup>b</sup>	4.49	<0.001
	Propionate	5.95 <sup>a</sup>	6.32 <sup>a</sup>	18.87 <sup>b</sup>	2.26	<0.001
	Butyrate	3.47 <sup>a</sup>	4.57 <sup>b</sup>	8.85 <sup>c</sup>	1.00	<0.001
	Valerate	1.36 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>	4.18 <sup>b</sup>	0.59	<0.001
	A/P ratio <sup>1)</sup>	2.67 <sup>b</sup>	2.77 <sup>c</sup>	2.26 <sup>a</sup>	0.13	<0.001

<sup>1)</sup> A/P ratio, acetate/propionate ratio.

<sup>a-c</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

○ 총 가스 생성량(total gas production)은 반추위내 사료 분해율 평가의 간접적 지표로 알려져 있음. 총 가스 생성량은 6, 24 시간대 모두 대추분과 미역박에서 대조구보다 유의적으로 높은 수치를 나타냈음(P<0.05). Hydrogen의 생성량은 발효 6 및 24시간에 대조구 대비 대추분과 미역박에서 낮게 나타났음. Methane 가스 생성량은 발효 6 시간대에서 대조구가 가장 높게 나타났고, 24 시간대에서는 대추분에서 가장 높게 나타났음. 결과적으로 대추분은 반추위 발효를 억제하지 않는 선에서 메탄 생성을 감소시킨 것을 확인하였음(Table 4-12)

Table 4-12. Effect of different feed ingredients on ruminal total gas, hydrogen and methane

Time	Content	벚짚	대추분	미역박	SEM	P
6 h	Total gas (mL)	10.00 <sup>a</sup>	19.50 <sup>b</sup>	19.67 <sup>b</sup>	1.53	0.001
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.003 <sup>b</sup>	0.001 <sup>a</sup>	0.001 <sup>a</sup>	0.001	<0.001
	Mathane (mL/VFA mM)	2.140 <sup>c</sup>	1.770 <sup>b</sup>	0.080 <sup>a</sup>	0.100	<0.001
24 h	Total gas (mL)	41.500 <sup>a</sup>	44.500 <sup>b</sup>	59.670 <sup>c</sup>	2.630	<0.001
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.006 <sup>c</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.002 <sup>a</sup>	0.001	<0.001
	Mathane (mL/VFA mM)	5.690 <sup>b</sup>	6.720 <sup>c</sup>	0.130 <sup>a</sup>	1.250	<0.001

<sup>a-c</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

#### 다. 선발 사료자원의 반추위내 소화율 조사(*in situ*)

- 공시동물 사양관리 : 충청남도 부여군에 소재한 목장에서 반추위 cannula를 장착한 Holstein 2두(체중 700±50kg)를 공시하였음. 사료 급여량은 큰 송아지 배합사료 3kg와 볏짚 10kg를 1일 제한 급여하였으며 미네랄 블록 및 물은 자유 급여하였음.
- 시험사료는 카사바뿌리, 카카오박, 포도박, 대추분 및 미역박으로 선발하였고 시험구는 대조구인 볏짚과 티모시를 포함해 총 7개로 설정하였음.
- 각 시료는 2mm sieve가 장착된 실험용 분쇄기로 세절하여 nylon bag(80×150mm; 45 um pore size)에 5g씩 넣고 열로 봉합하였음. 준비된 nylon bag을 실험 수행 20 분 전부터 39-40°C의 미온수에 담가 빠르게 용해되는 수용성 영양분의 함량을 조사하였음.
- nylon bag은 공시동물의 오전사료 급여와 동시에 반추위에 넣었으며 3 반복으로 진행하였음. 분해시간은 0, 4, 8, 12, 24, 48 및 72시간이었고, 분해가 종료된 nylon bag은 반추위에서 즉시 꺼내어 미생물의 성장을 억제시키기 위해 얼음물에 침지하고 흐르는 맑은 물로 충분히 세척하였음. 세척이 완료된 nylon bag은 60°C 환류 건조기에서 48 시간 동안 건조 후, 30분간 desiccator에서 식힌 후에 무게를 측정 하여 결과를 계산하였음(Van Keuren and Heineman, 1962).
- 건물 분해율 및 유효분해도
  - 건물분해율 : 반추위 *in situ* 소실을 측정을 통하여 얻어진 반추위 내 발효 시간대 별 건물 분해율을 바탕으로 하여 다음의 Ørskov and McDonald(1979)의 방법을 이용하여 산출하였음.

$$P = a+b(1-e^{-ct})$$

P: 시간 t 경과 시의 반추위내 건물분해율

a: 신속하게 분해되는 부분

b: 분획 a를 제외하고 잠재적으로 분해될 수 있는 부분

c: b의 시간당 분해상수

t: 반추위 내 발효시간

- 건물의 유효분해도 : 반추위 내 건물의 유효분해도(Effective ruminal degradability, ED)는 반추위 내 사료의 통과속도를 시간 당 2%로 가정하여 추정하였음

$$ED = a+b\{c/(c+r)\}$$

ED: 건물의 유효분해도

a, b, c: 건물 분해율 상수

r: 사료의 반추위 통과속도(*passage rate*)로서 시간 당 2%로 가정

## 2) 시험 결과

- 반추위 건물분해율 및 유효분해도는 Ørskov and McDonald(1979)의 방법에 따라 *in situ* 반추위 소실율로부터 계산됨. 반추위내 건물 분해상수는 배양시간별 건물 분해율을 기초로 계산되었으며 그 결과는 Table 4-13과 Figure 4-1에서 보는 것과 같음
- 건물분해도 및 유효분해도의 분해상수 “a” 값은 수용성의 함량을 나타내는 지표로서 활용될 수 있으며, 화학적으로 수용성 특징을 가지거나, 물리적으로 그 입자가 매우 작아서 실험에 사용된 nylon bag을 그냥 통과한 물질들을 나타냄. 반추위의 생리적 기능을 고려할 경우, 반추위 발효를 거치지 않고 통과하는 부분이 될 수 있음. 분해상수 “a” 값은 카사바 뿌리가 약 49.819%로 전 처리구 중 가장 높았고, 미역박에서 19.495%로 대조구인 볏짚보다 낮은 결과를 보임
- 반추위 내에서 미생물에 의해 직접적으로 분해되는 값인 “b” 값 부분은 포도박이 약 13.699%로 가장 낮았으며 미역박이 약 61.417%으로 가장 높게 나타남. 반추위 내 시간당 분해상수인 “c” 값은 카사바 뿌리가 0.015로 가장 낮게 나타났음. 본 연구의 분해상수들은 반추위내 통과 속도를 고려하지 않고 나타낸 수치임. 이에 각 시료들의 반추위 통과속도를 2%정도 가정하여 산출된 반추위내 유효분해도(ED)로 처리구들을 비교할 경우, 유효분해도 값은 카사바뿌리의 값이 약 66.598%로서 가장 높았으며, 카사바뿌리>카카오박>미역박>대추분>티모시>포도박>볏짚 순으로 높게 조사됨. 유효 분해도 결과 카사바 뿌리와 카카오박, 미역박 및 대추분에서 양질의 조사료원으로 알려진 티모시보다 높은 수치를 나타내는 것으로 보아 착유우 대체사료로서의 가능성이 있다고 판단 됨.

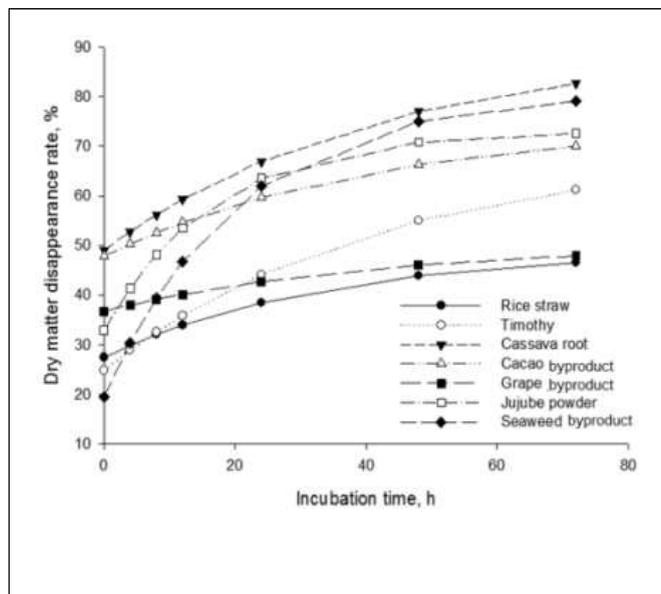


Figure 4-1. *in situ* dry matter disappearance rate of Alternative feed source

Table 4-13. Ruminal *in situ* dry matter degradation and effective degradability of alternative feed source

Degradation Parameters	벼짚	티모시	카사바뿌리	카카오박	포도박	대추박	미역박	SEM
a(%)	25.068	24.819	49.819	47.19	36.714	32.865	19.495	4.383
b(%)	29.667	44.222	40.897	27.091	13.699	40.242	61.417	5.708
a+b(%)	54.734	69.041	89.968	74.908	50.413	73.106	80.912	5.273
c	0.024	0.021	0.015	0.026	0.023	0.060	0.049	0.006
ED <sup>1)</sup> (%)	41.249	47.469	66.598	63.129	44.041	63.046	63.110	4.068

<sup>1)</sup> Calculated according to Ørskov and McDonald(1979) with a rumen outflow rate of 2% for all feeds.

### 3. 착유우 *in vivo* 시험을 통한 사료적 가치 평가 및 사료자원의 경제성 평가

#### 가. 후보사료 자원(카카오박)의 생리활성 평가

##### 1) 시험방법

- 추출물의 제조 : 카카오박과 증류수를 1:10의 비율로 혼합한 후에 90°C의 항온수조에서 1시간동안 열수추출을 진행하였음. 추출이 완료된 현탁액은 여과지(Whatman No 541)를 이용하여 여과한 후, 그 여과액을 분석에 사용하였음.
- 총 폴리페놀 함량은 Follin Ciocalteus phenol(Sigma, USA)를 이용한 비색정량법으로 분석하였음. 추출이 완료된 시료 0.1mL와 phenol reagent 1.0mL를 혼합한 후에 상온에서 3분간 반응시킨 후, 다시 1N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.3mL를 첨가하였고 혼합액을 상온에서 90분간 반응시킨후 720nm의 분광광도계(Optizen, Korea)에서 흡광도를 측정하였음. 총 폴리페놀함량은 gallic acid(Sigma, USA)을 표준물질로하여 정량하였음.
- 시험사료는 조단백질과 전분함량을 기준으로 총 3가지 종류의 시험사료를 제작하였음 (Table 4-14).
- 시험사료 3종과 폴리페놀 첨가수준 4가지(0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%)로 설정하였음.
- 반추위액은 케놀라가 장착된 홀스타인 육우 2두에서 채취하였고, 4겹의 거즈에 걸러서 보온용기에 담아 이동하였음. 시험 전 반추위액의 사료입자를 제거하기 위해서 2겹의 거즈로 다시 걸러내었음. 반추위액을 McDougall's buffer(McDougall, 1948)와 1 : 4 비율로 희석하여 CO<sub>2</sub>를 분사하여 혐기상태로 만들고, Tilley와 Terry(1963)의 방법에 따라 3반복으로 시험을 수행하였음.

Table 4-14. Information of diet used in experiment

구분	Diet A	Diet B	Diet C
조단백질(% DM)	16	16	18
전분(% DM)	40	30	30
원료(% DM)			
대두박	10	8	17
단백피	10	12	0
파옥쇄	40	15	15
연맥	20	35	40
알팔파	20	30	28
합계	100.00	100.00	100.00
CP	16.37	16.479	18.5
NDF	31.91	44.836	43.9
EE	2.91	2.429	2.3
Ash	5.12	6.71	6.8
NFE	43.69	29.546	28.4
Starch	40.136	29.3285	29.6

- 반추위 pH 변화 측정 : 반추위 pH는 배양이 종료된 시험병의 반추위액을 50mL의 tube로 옮겨서 pH meter(S20 Seven Eazy™, Mettler-Toledo)를 이용하여 배양이 종료된 후에 측정하였음.
- 총 가스 발생량, 메탄 및 수소 측정 : 배양이 종료된 시험병을 15분의 방냉을 거친 후 100mL의 유리주사기를 이용하여 측정하였고, 유리주사기 안의 가스들은 가스팩에 포집하였음. 포집한 가스는 Carboxen™, fused silica capillary column(0.53mm I.d. × 30m length, SUPELCO, USA)가 장착되고, 조건이 oven 100°C, injector 150°C 및 TCD 150°C로 설정되어 있는 gas chromatography(HP7890, Agilent, CA. USA)를 이용하여 분석하였음.
- 반추위액 내 암모니아(NH<sub>3</sub>-N) 함량은 Chaney와 Marbach(1962)의 방법에 따라 수행하였음. 반추위액을 4,000rpm으로 원심 분리하여 상등액 20 μL에 phenol color reagent 1mL와 alkali-hypochlorite reagent 1mL를 완전히 혼합하는 전처리 과정을 수행하였음. 전처리한 시료는 37°C의 항온수조기에서 15 분간 반응 한 후 spectrophotometer(Optizen UV2120, Mecasis, Korea)를 이용하여 630nm에서 OD(optical density) 값을 측정하였음.
- 반추위액 내 휘발성지방산(volatile fatty acid, VFA)은 Erwin 등(1961)의 방법에 따라 수행하였음. 지방산 조성의 분석은 Nukol™, fused silica capillary column(0.25mm

I.d.×0.25um film×30m length, SUPELCO, USA)이 장착된 GC(HP7890, Agilent, CA. USA)로 분석하였음. 조건은 각각 oven 180°C, 220°C의 injector와 200°C의 detector로 설정한 후 분석하였음.

- 건물과 조단백질 소화율 평가 : 발효가 완료된 반추위액의 사료 입자들을 nylon bag 에 통과시켜 분리하였고, 60°C에서 48시간 동안 건조시킨 후에 소화되고 남은 건물을 측정하였음. 발효 전후 건조 중량의 차이를 이용하여 건물소화율을 평가하였고, 사료와 발효 후 남은 사료의 조단백질을 분석하여 그 차이를 이용하여 조단백질 소화율을 평가하였음.
- 수용성단백질의 측정 : 추위액에 잔류하는 수용성단백질(유리단백질) 함량은 Bradford 방법(Bradford, 1976)에 따라서 측정하였음. 원심분리(10,000rpm, 5분, 4°C)를 통하여 얻어진 반추위액 상등액을 이용하여 수용성 단백질을 측정하였음.
- 통계분석 : 요인들의 효과분석은 선형모형(Linear model)을 이용하여 분석하였으며, 이원분산분석(two-way analysis of variance)으로 요인들의 주효과(main effect)와 상호 효과(interaction)를 분석하였음. 통계분석은 R program(version 3.4.4)의 'lm' model을 사용하였음(R Development Core Team, 2010).

## 2) 연구결과

### ○ 카카오박의 총 폴리페놀 함량

- 2년차 연구결과에서 카카오박은 반추위내 암모니아태 질소 생성량을 현저히 낮추었음. 또한 측쇄지방산 중 하나인 뷰틸산의 생성량을 현저히 낮추는 효과를 가진 것으로 나타났다. 반추위내 암모니아태 질소와 측쇄지방산인 뷰틸산의 생성은 반추위내 단백질 분해와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있음. 즉 카카오박은 반추위내 단백질 분해를 저감에 효과가 있는 것을 알 수 있었으며, 이러한 특징은 카카오박의 폴리페놀에서 기인하는 것으로 판단되었음. 착유우 대체 사료 자원으로 선발된 카카오박의 폴리페놀 함량을 조사하였음. 그 결과 총 0.3g/kg으로 상당히 많은 양의 폴리페놀이 함유된 것을 확인되었음.

### ○ 반추위 발효 특징

- 폴리페놀과 사료 영양성분이 반추위 발효에 미치는 효과를 분석한 결과, 반추위 pH, 발효가스, 뷰틸산 생성량 및 건물소화율에 있어서 사료 영양성분의 유의적인 효과가 관찰되었음. 폴리페놀의 첨가 효과는 반추위 pH, 발효가스, 프로피온산, 뷰틸산 생성량 및 건물소화율에서 유의적인 효과가 관찰되었고, 초산생성량에 대하여 경향성이 확인되었음(Table 4-15).

### ○ 사료 영양소 수준과 폴리페놀 첨가수준이 반추위 암모니아태 질소 생성량에 미치는

영향은 Figure 4-2에서 보는 것과 같음. 반추위 암모니아태 질소 함량은 사료내 조단백질 함량이 증가할수록 증가하였고(Figure 4-2A), 폴리페놀 첨가수준이 증가함에 따라서 감소하였음(Figure 4-2B)

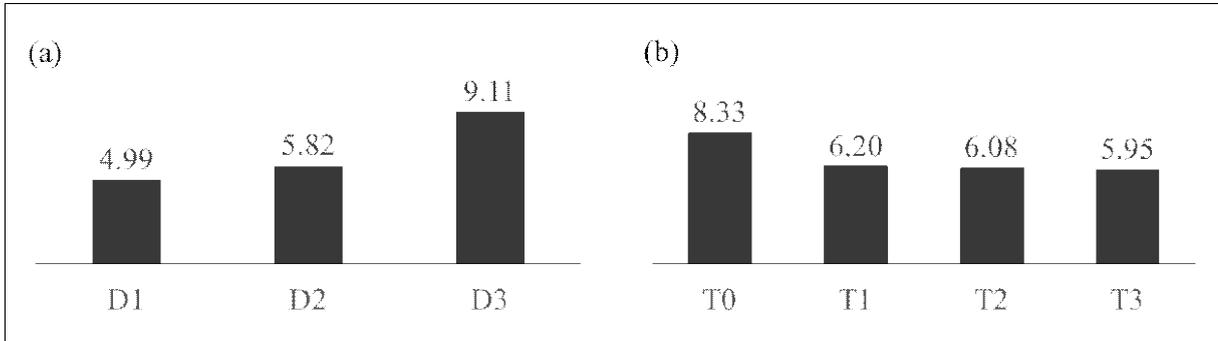


Figure 4-2. Effect of dietary polyphenol, crude protein and starch content in diet on ammonia nitrogen content(mg/dL) of rumen *in vitro* rumen fermentation.

○ 사료 영양소 수준과 폴리페놀 첨가수준이 반추위 수용성 단백질 함량에 미치는 효과는 Figure 4-3에서 보는 것과 같음. 조단백질 수준이 증가함에 따라서 수용성 단백질 함량이 증가하였고(Figure 4-3A), 폴리페놀의 첨가수준이 증가함에 따라서 수용성 단백질 함량이 증가하였음(Figure 4-3B).

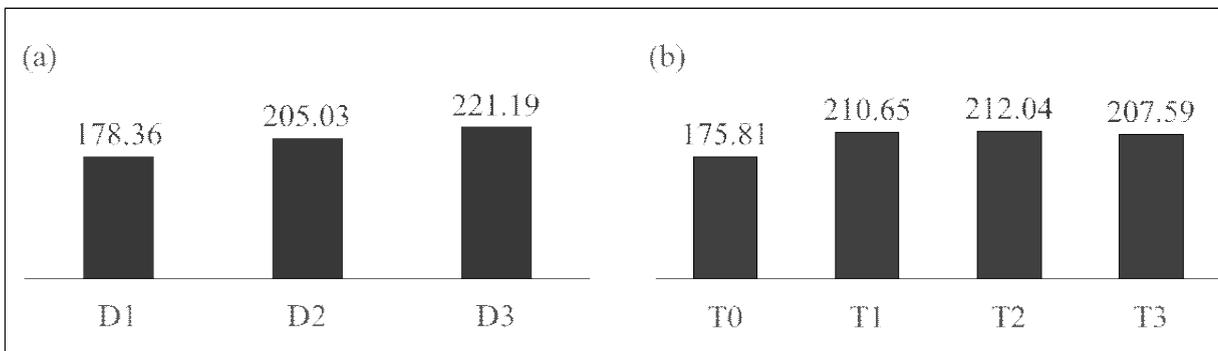


Figure 4-3. Effect of dietary polyphenol, crude protein and starch content in diet on soluble protein content(mg/dL) of rumen *in vitro* rumen fermentation.

Table 4-15. Effect of different diet supplemented tannin dose on rumen fermentation

Contents	Treatment <sup>1)</sup>												SEM	P		
	D1				D2				D3					D	T	D*T
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3				
pH	6.07	5.92	5.92	5.94	6.13	6.05	6.04	6.04	6.11	6.1	6.1	6.12	0.01	<0.05	<0.05	<0.05
Total gas(mL)	138.67	112.33	117.00	117.00	135.67	112.33	112.33	115	114.33	112.33	114.67	111.00	1.58	<0.05	<0.05	<0.05
Total VFA(mM)	91.01	89.14	87.61	81.43	86.06	86.91	96.53	86.88	89.71	86.74	92.31	89.42	2.57	0.648	0.209	0.437
Acetate	53.02	51.09	47.12	42.73	53.38	46.76	56.71	50.15	53.8	49.86	52	51.37	1.95	0.166	0.09	0.183
Propionate	20.93	22.34	22.46	20.92	19.5	22.61	24.32	22.04	22.48	22.17	23.85	22.69	0.55	0.188	<0.05	0.322
Butyrate	13.99	12.33	13.84	13.52	10.35	13.3	12.12	11.42	9.98	11.15	12.43	11.64	0.55	<0.05	<0.05	<0.05
IVDMD(% of DM)	53.3	54.94	53.72	52.9	55.01	52.46	51.46	52.13	52.21	50.67	50.78	50.19	0.30	<0.05	<0.05	0.05

<sup>1)</sup>D1, 40% starch with 16% CP; D2, 29% starch and 16% CP; D3, 29% starch with 18% CP; T0, No supplementation; T1, polyphenol 0.05%; T2, polyphenol 0.10%; T3, polyphenol 0.15%

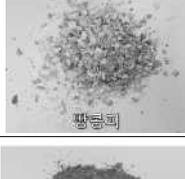
## 제 7 절 한우 비육우용 대체사료 개발

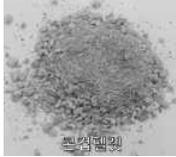
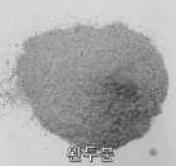
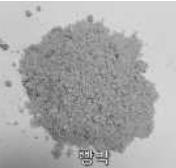
### 1. 한우 비육우용 사료자원의 화학적 성분분석 및 원료사료 안전성 분석평가

#### 가. 한우 비육우용 해외 부존자원 탐색

- 본 연구는 세계적으로 보편화된 수입원료의 의존도가 높은 국내의 배합사료 형태로부터 벗어나기 위하여 아직 사료원료로 사용되지 않았으나 대량생산이 가능하며 영양적인 면과 경제적인 면에서 사료적 가치가 있는 해외의 부존자원을 적극적으로 연구개발하여 다소나마 사료비를 절감하고 원료수급의 안정화를 마련할 수 있도록 하는데 필요한 기초자료를 제공하기 위하여 수행하였음.
- 1차년도 연구개발 목표는 해외 부존사료자원의 조사연구와 현지재배 및 반입 가능성에 대한 예비조사로서 부존자원에 대한 기초자료 확보와 각 원료의 샘플 수집, 수집된 원료에 대한 성분분석을 통한 영양가치 평가하여 검토하였음.
- 2차년도 연구개발 목표는 1차년도에 수집하여 성분분석 결과를 통해 수량이나 품질로 보아 국내에서 사료원료로 이용가능하다고 판단되는 해당원료에 대하여 중요한 다량광물질, 미량광물질 및 독성광물질의 분석으로 축우사료로서 안전성을 평가하고, 대체가능성이 높은 원료를 동물실험을 통하여 사료분해율을 평가하였음.
- 마지막 3차년도에는 선발된 몇 가지 부존원료의 보관성과 이용성을 높이기 위하여 적절히 처리하여 한우 비육우에게 사양시험을 수행함으로써 이들 원료의 실질적인 사료가치를 측정하는 것에 목표를 두었음.
- 본 연구를 통하여 한우 비육우용으로 이용할 수 있는 해외 부존자원을 탐색하고 수집한 시료는 Table 5-1과 같음. 본 연구에서 해외부존원료 18종의 원료(왕라오지박, 참깨박, 혼합주정박, 카사바주정박, 땅콩피, 자일리톨, 면실박, 백주박, 콘킵펠렛, 완두분, 미역박, 아마익스트루전, 스테비아원물, 스테비아잎, 대추분, 빵박, 이스트컬쳐, 규산염)를 수집하였음.

Table 5-1. 한우 비육우용 해외 부존자원 탐색

순번	원료명	원료 사료 분쇄 전·후 사진		가격 (USD)	주산지 (생산지)
		분쇄전	분쇄후		
1	왕라오지박			100/ton	중국 전역
2	참깨박			180/ton	중국 강소성
3	혼합주정박			150/ton	중국 전역
4	카사바주정박			140-150/ton	중국 강소성
5	땅콩피			80/ton	중국 전역
6	자일리톨박			125/ton	중국 하북성
7	면실박			180/ton	중국 하북성
8	백주박			150/ton	중국 강소성

9	콘칩펠렛		 콘칩펠렛	200/ton	중국 리요닝 바이유
10	완두분		 완두분	200/ton	중국 전역
12	미역박		 미역박(미역/다치미)	330/ton	중국 연운항
13	아마익스트루전		 아미(amixstrotion)	220/ton	중국 강소성
14	스테비아(원물)		 스테비아원물	500/ton	중국 강소성
15	스테비아(잎)		 스테비아(잎)	300/ton	중국 강소성
16	대추분		 대추분	700/ton	중국 연운항
17	빵박		 빵박	500/ton	중국 강소성
18	Yeast culture		 Yeast culture	250/ton	중국 강소성
19	규산염		 규산염(미네랄)	300/ton	중국 강소성

## 나. 한우 비육우용 부존자원의 화학적 성분분석

### 1) 설계 및 방법

- 시료 5g을 105°C에 24시간 동안 건조시켜 수분을 측정하였음(OF-22GW, JEIO TECH, South Korea). 조단백질 함량은 Kjeldahl법(B-324, 412, 435 and 719Titrino, BUCHI, Germany), 조지방 함량은 Soxhlet법(OB-25E, JeioTech, South Korea)을 이용하여 AOAC(1990)에 준하여 분석하였음. 조회분 함량은 550°C 가열로(muffle furnace)에서 4시간 동안 가열하여 분석하였음. NDF와 ADF함량은 Ankom 200 fiber analyzer(Ankom Technology, Macedon, NY)를 이용하여 Van Soest(1991)법에 준하여 분석을 실시하였음.

### 2) 결과 및 고찰

- 한우 비육우에 적합한 대체 원료 사료의 일반성분 분석 결과는 Table 5-2와 같음. 일반적으로 종실류의 원료는 조지방의 함량이 높은 경향이 있으며, 특히 본 연구에서 수집한 아마익스트루전의 경우는 상업적으로 유통되는 압착박의 조지방 함량보다 높은 경향을 보였는데(Bath 등, 1995), 이것은 조사 대상국의 제품생산 공정이 완전하지 않은 것으로 사료됨. 종실류의 원료는 조지방 함량이 높아 수송과 보관 과정에서의 산패 문제를 보완한다면 사료의 에너지 수준을 높게 유지할 수 있어 곡류 대체 효과가 있을 것으로 사료됨.
- 조단백질 함량은 유박류인 완두분에서 52% 이상으로 나타났으며, 면실박의 경우 조단백질의 함량이 41% 이상으로 나타났음. 국립축산과학원 사료성분표(2017)과 비교하면 현재 중국에서 수입하여 사용 중인 원료보다 조단백질의 함량이 약 7% 높은 경향을 보여 경제적 가치가 높은 것으로 추정됨. 사료성분표(2017)에 의하면 원산지에 따라 사료성분의 변화폭이 큰 것으로 나타나며, 면실박의 조단백질 함량은 29.85~48.71%의 변화폭을 보였음. 한편, 양질의 섬유질 공급 원료로서 중국에서 수입한 곡물 부산물인 땅콩피는 벧짚대체재로 사용하거나 펠렛형태로 가공하여 유통될 수 있게 상업화 되어 있음.
- 결론적으로 같은 이름의 원료라고 하더라도 국가나 지역에 따라서 일반성분의 함량에 많은 차이가 나타났으며, 우리나라에서 이러한 원료를 대체재로 이용할 경우에 균일한 품질의 원료를 확보하는 것이 시급함. 이를 해결하기 위해 대체 원료의 품질 표준화를 위한 대책이 사전에 필요할 것으로 사료됨.

Table 5-2. Chemical compositions of experimental feedstuff

Sample name	Chemical composition							
	건물, %	조단백질 (%DM)	조지방 (%DM)	조섬유 (%DM)	조회분 (%DM)	NDF (%DM)	ADF (%DM)	TDN* (%DM)
왕라오지박	90.4	6.4	2.9	33.4	14.5	33.4	13.1	72.1
참깨박	88.7	39.4	4.1	14.9	12.0	32.2	21.1	69.6
혼합주정박	85.4	15.7	1.3	57.8	27.5	56.7	47.8	61.4
카사바주정박	85.3	9.5	0.8	35.9	0.5	24.1	18.3	70.5
땅콩피	91.9	8.0	1.4	78.9	11.7	79.1	68.6	55.0
자일리톨	89.1	24.1	2.6	29.8	6.8	42.4	12.7	72.2
면실박	90.5	41.4	2.0	24.2	7.7	51.4	34.0	65.7
백주박	88.4	10.0	1.1	41.7	10.0	38.9	22.7	69.1
콘킵펠렛	86.2	2.2	1.2	31.5	3.7	69.3	38.2	64.4
완두분	89.8	52.3	6.1	25.3	4.9	29.0	15.3	71.4
미역박	89.9	22.2	2.5	39.0	18.8	45.4	26.5	68.0
아마익스트루전	93.5	22.2	46.0	38.5	3.1	49.2	20.6	69.8
스테비아원물	91.6	17.1	2.0	49.5	10.7	56.5	37.5	64.6
스테비아잎	89.5	24.6	3.3	44.5	14.8	50.7	33.4	65.8
대추분	87.1	5.9	2.1	28.5	11.8	30.0	25.0	68.4
빵박	68.1	9.8	3.2	0.3	1.3	28.5	18.9	70.3
이스트컬처	88.9	22.0	3.4	20.2	11.1	-	-	-
규산염	89.3	0.1	-	0.7	81.0	-	-	-

\* Calculated value; TDN% = 4.898+(89.796 × NEL), NEL = 0.7936-(0.00344 × ADF) 공식 이용

#### 다. 한우 비육우용 부존자원의 다량광물질, 미량광물질 및 독성중금속 평가

##### 1) 설계 및 방법

- 원료 시료 0.5g과 질산 8mL을 Microwave vessel에 첨가한 후, 마이크로웨이브 분해장치(Perkin Elmer Titan MPS, USA)내에서 15분 동안 180°C로 가온하고, 600W 에너지를 가하여 분해함. 분해된 시료액을 50ml polypropylene sample tube로 옮기고 초순수 증류수를 표선까지 채우고 0.45um filter로 시료를 필터링 한 후 분석용 시료로 사용하였

음.

- 다량광물질 미량광물질 및 독성중금속 평가는 유도결합플라즈마 방출분광기(Perkin Elmer ICP-OES 5000DV, USA)를 이용하여 시료 중 다량광물질, 미량광물질 및 독성중금속 함량을 분석하였음.

## 2) 결과 및 고찰

- 다량광물질 및 미량광물질의 분석결과는 Table 5-3, Table 5-4와 같음. 칼슘과 인은 골격의 유지를 위해 필수적으로 공급되어야 하므로 생체 내에서 가장 많이 존재하는 무기물로서 칼슘은 일반적으로 체중의 1.6~2.0%, 인은 1% 정도 함유되어 있음. 그리고 칼슘과 인은 골격의 유지를 위해 필수적으로 공급되어야 함.
- 본 연구결과에서 미역박, 왕라오지박 및 자일리톨박 등이 칼슘과 인을 동시에 공급할 수 있는 원료사료라고 판단됨.
- 칼륨과 나트륨은 세포내의 산과 염기의 밸런스와 삼투압 조절에 있어서 영향을 미치는 무기물이며, 본 연구결과에서 조사된 주요 후보사료들의 함량이, 우리나라에서 주로 이용하고 있는 원료사료들과 비슷한 수준으로 함유되어 있었음.
- 마그네슘은 일반적으로 동물의 약 0.05% 함량 수준으로 골격의 구성물질과 신경계통의 전달물질의 활성화에 관여한다고 알려져 있으며, 현재 우리나라에서 이용되는 원료들과 수집한 원료의 마그네슘 함량의 큰 차이는 없는 것으로 나타났음.
- 최근 중국의 산업기술이 가속화됨에 따라 환경오염과 기술발달로 인한 환경 폐기물들은 주위환경을 오염시키며, 더불어 중금속이 대기 중에도 존재할 수준까지 오염도가 심각한 수준임. 대부분 수입 원료가 중국산이라는 점에 그 동식물을 섭취하는 사람의 건강에도 치명적인 요소로 작용할 수 있음. 가축이 중금속에 오염된 사료를 섭취하게 되면, 여러 가지 중독증상을 나타내게 됨. 동물체가 중금속에 중독되는 경로는 사료나 물 외에 호흡기나 피부 등을 통해서도 가능한데, 특별히 중금속에 오염되어 있는 지역이 아니면 주로 사료에 의한 중독이 대부분임. 따라서 대상국가의 원료를 수입하여 부존자원에 대한 기초자료를 확보하고 원료의 샘플을 수집하였고, 수집된 원료의 광물질의 함량과 독성중금속 물질을 분석하여 가축원료로써 안전성을 평가하여 이용 가능한 안전수준을 파악하는 기초자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였음.
- 반추가축이 이용할 원료자원의 중금속 중독 위험성을 방지하고 해외부존 원료사료들의 이용가치를 확인하기 위해서 후보원료의 중금속함량은 Table 5-5와 같음.
- 크롬의 경우, 아마익스트루전과 카사바주정박이 함량이 30ppm 이상 높게 나타나 원료로써의 이용가치가 다소 낮게 평가된 것을 제외하고, 대부분의 원료사료들은 중금속 함유량이 많지 않은 것으로 나타났음. 그리고 우리나라에서는 사료별 크롬 허용기준은 설정해놓고 있는데, 배합사료의 경우 300ppm, 배합사료 이외의 배합사료는 500ppm 까지 허용가능한 것으로 조사되었음.

○ 한편 왕라오지박의 경우 납이 18.9ppm으로 검출되어 기준 허용치인 10ppm을 보다 높은 것으로 조사되어 원료자원으로써 사용되기는 어려운 것으로 판단됨.

Table 5-3. Contents of macro minerals of experimental feedstuff

Feedstuff	Macro minerals(mg/kg)						
	Ca	P	Mg	K	Na	Cl	S
왕라오지박	13271.1	1432.3	3850.2	5485.7	83.9	6.9	12715.7
참깨박	341.2	1814.1	2551.7	229.1	-	0.9	181.0
혼합주정박	21.1	1321.1	1245.4	5238.1	-	0.3	2354.1
카사바주정박	7340.2	1944.8	1075.2	4253.0	237.2	7.4	4846.6
땅콩피	3836.3	918.4	1662.4	5885.0	98.7	4.6	5804.3
자일리톨	490.5	10308.9	4627.6	18144.3	1668.4	0.5	13066.0
면실박	1550.4	1891.1	795.1	445.2	189.5	4.5	-
백주박	3117.3	1825.6	1701.9	4221.0	61.0	2.4	4554.1
콘킵 펠렛	789.0	211.9	442.5	933.4	-	2.1	1392.0
완두분	7392.1	5098.8	2283.6	16251.7	132.7	7.4	14135.5
미역박	18246.8	918.4	1662.4	5885.0	4321.2	4.6	0.2
아마익스트루전	440.2	1944.8	1075.2	4253.0	237.2	7.4	-
스테비아원물	490.5	808.9	4627.6	1144.3	1043.1	0.5	0.4
스테비아잎	397.3	350.2	3748.3	469.9	844.9	0.3	0.2
대추분	3117.3	1825.6	1701.9	2321.2	61.0	2.4	6.7
빵박	117.3	825.6	701.9	521.1	2872.2	0.4	-
이스트컬처	5248.4	3620.2	1621.3	538.7	86.3	5.3	106.2
규산염	1555.2	3814.1	19232.1	8538.7	3421.7	240.7	1036.2

Table 5-4. Contents of micro minerals of experimental feedstuff

Feedstuff	Micro minerals(mg/kg)							
	Co	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Se	Zn
왕라오지박	1.5	16.3	13294.7	759.9	1.7	6.9	-	95.3
참깨박	-	12.1	221.3	-	-	-	-	11.1
혼합주정박	2.1	13.1	227.19	-	-	-	-	12.9
카사바주정박	1.1	5.5	3694.6	76.1	0.5	8.4	-	32.9
땅콩피	3.5	8.8	2367.1	146.0	0.7	9.3	-	23.1
자일리톨	1.1	2.0	158.4	26.0	3.1	2.8	-	87.1
면실박	-	-	-	-	-	-	-	-
백주박	0.9	4.1	2439.4	126.0	0.7	3.4	-	29.8
콘킵펠렛	-	-	-	-	-	-	-	-
완두분	3.3	10.2	4329.7	187.1	2.5	5.2	-	46.4
미역박	2.7	1.3	1367.1	146.0	0.7	3.3	-	55.2
아마익스트루전	0.9	1.0	675.6	76.1	0.5	4.4	-	32.9
스테비아원물	1.5	0.7	143.2	26.0	3.1	0.8	-	87.1
스테비아잎	0.1	0.2	34.5	-	-	-	-	-
대추분	-	2.2	529.4	126.0	0.7	3.4	-	29.8
빵박	0.1	-	39.3	77.2	-	-	-	-
이스트킬처	0.1	10.2	4329.7	187.1	1.0	0.2	-	-
규산염	4.5	15.6	3321.2	643.5	6.2	0.0	-	98.2

Table 5-5. Contents of heavy metals of experimental feedstuff

Feedstuff	Heavy metals(mg/kg)											
	Al	As	F	Cr	Pb	Ag	Cd	Be	Ga	Ge	Sb	Tl
왕라오지박	1946.4	-	11.2	17.7	18.9	-	3.2	-	185.4	396.0	1.4	66.2
참깨박	-	0.1	4.1	-	5.5	-	1.9	-	-	-	-	-
혼합주정박	7721.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
카사바주정박	4077.2	0.3	3.0	31.4	-	-	-	-	131.6	-	-	42.2
땅콩피	1969.1	-	1.8	19.3	-	-	0.2	-	35.6	-	-	58.5
자일리톨	48.2	-	2.2	-	-	-	-	-	12.6	-	0.3	1.1
면실박	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
백주박	605.1	-	2.3	-	-	-	-	-	35.7	-	-	8.9
콘킵펠렛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
완두분	549.8	-	4.7	-	-	-	-	-	12.7	-	-	1.4
미역박	39.1	-	0.2	1.3	-	-	-	-	-	-	-	-
아마익스트루전	2077.2	0.2	3.0	35.9	-	-	-	-	-	-	-	42.2
스테비아원물	22.3	-	1.1	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-
스테비아잎	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
대추분	24.1	-	0.5	-	-	-	-	-	1.3	-	-	8.9
빵박	5.1	-	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	8.9
이스트컬처	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4
규산염	65.1	0.0	0.4	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-

라. 한우 비육우용 부존자원의 병원성 미생물 검사

1) 설계 및 방법

- 일반 세균의 분리: 시료를 균질화한 뒤 25g을 취해서 buffered peptone water(Difco Co., Detroit, MI, USA) 225mL이 담긴 멸균 stomacher bag에 넣은 후 stomacher(easyMIX, AES CHEMUNEX, France)로 2분 동안 균질화 하였음. 균질화된 시료는 9mL의 buffered peptone water(Difco)를 이용하여 10배씩 연속 희석하였음. 이

때 각 시료는 증균 과정 없이 직접 petrifilm TM(3M, St. Paul, MN, USA)에 1mL을 분주한 후 37°C에서 24시간 배양 후 생성된 집락수를 계수하고 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 균수를 산출하였음.

- 일반세균수의 측정을 위해서 각각의 희석된 시료 1mL을 petrifilm Total Bacteria plate(3M)위에 분주하여 30°C에서 배양하였으며, 배양 후 petrifilm위에 형성된 균체(colony)를 계수하여 colony-forming unit(CFU)/g으로 나타내었음.
- 황색포도상구균의 측정을 위해서 petrifilm *Staphylococcus aureus* plate(3M)에 위의 시료 1mL을 분주하여 37°C에서 배양하였음. 배양 후 파란색 균체를 황색포도상구균으로 간주하여 계수하였음.
- 대장균군 및 대장균의 측정을 위해서 petrifilm *E. coli/coliform* count plate(3M)에 위에서 준비한 시료 1mL을 분주하여 37°C에서 24-48시간 배양하였음. 배양 후 기포를 가진 파란색 균체를 대장균양성으로, 기포를 가진 붉은색 균체와 기포를 가진 파란색 균체를 대장균군 양성으로 간주하여 계수하였음.
- 환경성 리스테리아의 측정은 petrifilm *listeria* plate(3M)에 위의 준비한 시료 1mL을 분주하여 37°C에서 배양하였음. 배양 후 붉은색 균체를 리스테리아 양성으로 간주하여 계수하였음.
- 효모 및 곰팡이의 측정을 위해서 petrifilm *yeast/molds* count plate(3M)에 위에서 준비한 시료 1mL을 분주하여 37°C에서 배양하였음. 배양 후 녹색의 균체를 효모 및 곰팡이의 양성으로 간주하여 계수하였음.

## 2) 결과 및 고찰

- 원료사료 보관중 증식한 병원성 미생물 검사에 대한 평가 항목은 일반세균수, 황색포도상구균수, 대장균/군, 환경성 리스테리아 및 효모/곰팡이에 대한 병원성 미생물 검사를 실시하였음. 본 연구에서 수집한 원료사료의 병원성 미생물의 오염수준 조사 결과는 Table 5-6과 같음.
- 본 연구에서 수집한 시료 18점 중 17점(94%)의 시료가 일반세균이 검출되었으며, 오염된 집락 검출범위는 0.2~13.0 cfu/g×10<sup>-3</sup> 수준이었음. 일반세균수가 1.0 cfu/g×10<sup>-3</sup> 이상 검출된 시료는 이스트컬처, 땅콩피, 아마익스트루전, 빵박, 왕라오지박, 미역박, 자일리톨, 참깨박 순으로 나타났음.
- 황색포도상구균의 경우, 본연구에서 수집한 시료 18점 중 4점(22%)의 시료가 오염된 것으로 나타났으며, 집락수는 0.1~0.9 cfu/g×10<sup>-3</sup> 수준이었음.
- 본 연구에서 수집한 시료 18점 중 2점(11%)의 시료가 E. Coli/Coliform이 검출되었으며, 오염도가 높은 순서는 미역박, 아마익스트루전 순으로 나타났음. 본 연구에서 수집한 시료 18점 중 리스테리아에 감염된 원료사료는 없는 것으로 나타났음.
- 본 연구에서 수집한 시료 18점 중 5점(27%)의 시료가 효모균에 오염된 것으로 나타났

으며, 집락수는 0.2~29.0 cfu/g×10<sup>-3</sup> 범위였음. 특히 빵박의 경우 집락범위가 29.0 cfu/g×10<sup>-3</sup> 수준으로 높게 나타나 보관상에 문제가 있을 것으로 판단됨.

Table 5-6. Microbial distribution in experimental feedstuff

Feedstuff	Microbial				
	Total Bacteria (CFU/g×10 <sup>-3</sup> )	Staphylococcus aureus (CFU/g×10 <sup>-3</sup> )	E. Coli (CFU/g×10 <sup>-3</sup> )	Listeria (CFU/g×10 <sup>-3</sup> )	Yeast&Mold (CFU/g×10 <sup>-3</sup> )
왕라오지박	3.0	0.1	ND	ND	ND
참깨박	1.1	ND	ND	ND	ND
혼합주정박	0.4	ND	ND	ND	ND
카사바주정박	0.2	ND	ND	ND	ND
땅콩피	7.4	0.3	ND	ND	0.2
자일리톨	1.7	ND	ND	ND	ND
면실박	0.8	ND	ND	ND	ND
백주박	0.2	ND	ND	ND	ND
콘킴펠렛	0.6	ND	ND	ND	ND
완두분	0.4	ND	ND	ND	ND
미역박	2.1	0.2	0.2	ND	0.6
아마익스트루전	7.4	ND	0.1	ND	0.2
스테비아원물	0.1	ND	ND	ND	ND
스테비아잎	0.1	ND	ND	ND	ND
대추분	0.7	ND	ND	ND	ND
빵박	5.0	0.9	ND	ND	1.3
이스트컬처	13.0	ND	ND	ND	29
규산염	ND	ND	ND	ND	ND

#### 마. 한우 비육우용 부존자원의 곰팡이 독소 검사

##### 1) 설계 및 방법

- 표준용액은 methanol/glacial acetic acid(98:2, v/v)와 물을 1:1(v/v)로 혼합한 용액을 사용하여 표준품을 약 1000배 희석하여 stock solution을 제조한 후 Ochratoxin A 표준용액으로 사용하였음. Aflatoxin B1, Aflatoxin B2, Aflatoxin G1, Aflatoxin G2 표준용액으로는 aflatoxin mix 표준품을 methanol로 약 50배 희석하여 stock solution을 제조한 후 Aflatoxins의 표준용액으로 사용하였음.
- 사료 중 Ochratoxin A를 검출하기 위하여 약 250g의 시료를 입자크기 600um 정도가 되도록 시료분쇄기로 분쇄하여 25g을 칭량한 후 Acetonitrile/water(60:40, v/v)추출용액 100mL를 넣고 Ochratoxin A가 추출되도록 homogenizer로 10,000rpm에서 2분간 추출하였음. 추출액을 여과지(Whatman No.4)로 여과한 후 상등액 4mL를 취하여 50mL conical tube에 옮겨 담고 여기에 PBS-buffer(pH 7.4, SIGMA) 44mL를 추가하여 넣어 교반기에서 혼합 한 후 침전물을 제거하기 위하여 원심분리기로 10,000rpm에서 2분간 원심분리 하였음. 이후 용액 전량을 Immunoaffinity column에 2~3mL/min의 유속으로 통과 시킨 후 20mL PBS-buffer(pH 7.4, SIGMA)로 column을 세척하여 1.5mL methanol/glacial acetic acid(98:2v/v)로 back flushing을 3회 실시하면서 Ochratoxin A를 유출시켰음. 1.5mL의 물로 Immunoaffinity column을 통과시켜 vial에 담아서 총 3mL로 만들었음. 이 시료용액을 교반기에서 혼합한 후 0.22um syringe filter로 여과한 후 시액으로 사용하였음(Entwisle et al., 2001).
- 사료 중 Aflatoxins를 검출하기 위하여 약 250g의 시료를 입자크기 600um 정도가 되도록 시료분쇄기로 분쇄하여 25g을 칭량한 후 methanol/water(60:40, v/v)추출용액 125mL를 넣고 NaCl 2g을 첨가하여 Aflatoxins이 추출되도록 Homoginizer로 10,000rpm에서 2분간 추출 하였음. 여기에 증류수 125mL를 첨가하여 10초간 혼합한 후 여과지(Whatman No.4)로 여과한 후 여과용액 20mL를 취하여 Immunoaffinity column에 2~3mL/min의 유속으로 통과시켰음. 10mL 증류수로 column을 2회 세척한 후 1mL methanol로 back flushing을 3회 실시하면서 Aflatoxins를 유출시켜 시액으로 사용하였음(Worner et al., 1992).
- Ochratoxin A와 Aflatoxins의 정량분석을 위한 HPLC는 Perkinelmer series 200를 사용하였음.
- Ochratoxin A 분석을 위한 컬럼으로 Agilent Extend-C<sub>18</sub> column(reversed-phased column, I.D. 4.6×150mm, particle size 5um)을 사용하여 40°C에서 10분간 분석하였음. acetonitrile : water : aceticacid(51:47:2, v/v/v)를 제조하여 이동상으로 사용하였고, 유속은 1.0mL/min로 설정하였음.
- Aflatoxins를 분석하기 위하여 C<sub>18</sub> column(reversed-phased column I.D. 4.6×150mm ,

particle size 3.5um)과 guard column(C18, 5um)을 사용하였고, 35°C에서 10분간 분석하였음. methanol : water(50:50, v/v)를 제조하여 이동상으로 사용하였고 유속은 1.0 mL/min로 설정하였음.

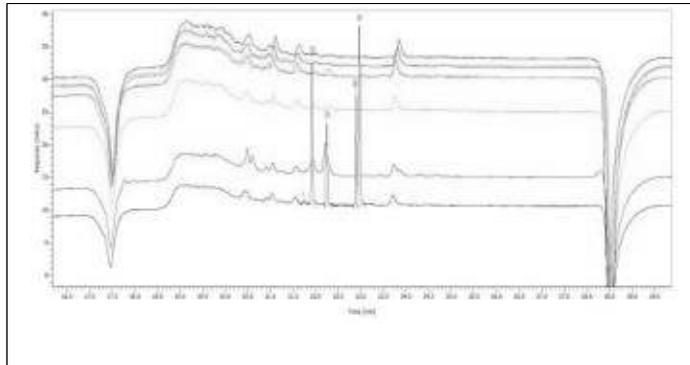


Figure 5-1. Chromatograms of aflatoxin and aflatoxins standard solutions in feeds

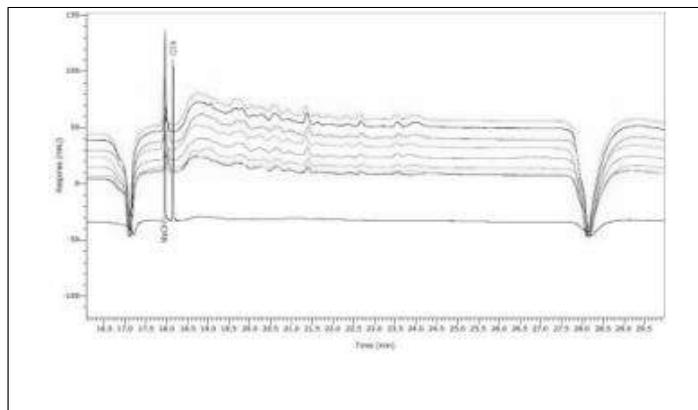


Figure 5-2. Chromatograms of ochratoxin A and ochratoxin standard solutions in feeds

## 2) 결과 및 고찰

- 원료사료 중에 증식한 곰팡이에 의해 생성된 유독성 곰팡이독소에 대한 평가 항목은 aflatoxin B1, B2, G1, G2 및 ochratoxin A에 대한 안전성평가를 실시하였음. 본 연구에서 수집한 원료사료의 곰팡이 독소 오염수준조사 결과는 Table 5-7과 같음.
- 우리나라는 곡류·및 견과류에 대해 10ppb로 설정하고 있으며 사료에 대해서도 원료사료는 50ppb, 배합사료는 10~20ppb로 규정하고 있음. 분석한 시료 18점 중 1점(5.6%)의 시료가 aflatoxin G1에 오염된 것으로 나타났음. 빵박의 aflatoxin G1 오염 농도수준은 1.1ppb 수준이었으며, 허용기준치에는 못 미치는 것으로 나타났음. 하지만 곰팡이는 온도와 습도가 적당하면 급격히 번식하기 때문에 우리나라에서의 운송, 보관, 가공처리, 사료 배합과정 및 유통 중에 곰팡이 독소의 증가가 우려되는바 대체원료로써 이용되기에는 부적합하다고 판단됨.

- Aflatoxin B1의 국가별 허용 기준을 보면, 미국은 모든 식품과 사료에 대해 aflatoxin B1 총량으로서 20ppb로 제한하고 있으며, 유럽연합(The European Union, EU)은 사료에만 기준을 적용하여 가축에 따라 5~200ppb로 제한적 허용을 하고 있음. 우리나라는 곡류·및 견과류에 대해 10ppb로 설정하고 있으며 사료에 대해서도 원료 사료는 50ppb, 배합사료는 10~20ppb로 규정하고 있음. 분석한 시료 18점 중 4점(22.2%)의 시료가 aflatoxin B1에 오염된 것으로 나타났음. Aflatoxin B1에 오염된 농도범위는 0.21~5.56ppb 범위였으며, Aflatoxin B1에 오염된 시료의 농도가 높은 순서는 카사바주정박, 땅콩피, 자일리톨 순으로 나타났음.
- Ochratoxin A의 국가별 허용기준은 주로 유럽국가에서 많은 규제가 이루어져 있음. 식품은 주로 쌀·보리 등 곡류에 대해 5~50ppb의 범위로 규제하고 있으며 사료는 5~30ppb의 기준을 설정하여 규제하고 있음. Ochratoxin A에 대한 우리나라 허용기준은 200ppb로서 다른 국가들에 비해 다소 높게 설정되어 있음. 본 연구에서는 수집된 부준 원료에서는 ochratoxin A가 검출되지 않았음.

Table 5-7. Occurrence of mycotoxin residues in experimental feedstuff

Feedstuff	Mycotoxin				
	Aflatoxin B1 (ppb/g)	Aflatoxin B2 (ppb/g)	Aflatoxin G1 (ppb/g)	Aflatoxin G2 (ppb/g)	Ochratoxin A (ppb/g)
왕라오지박	ND	ND	ND	ND	ND
참깨박	ND	ND	ND	ND	ND
혼합주정박	ND	ND	ND	ND	ND
카사바주정박	5.56	ND	ND	ND	ND
땅콩피	5.44	ND	ND	ND	ND
자일리톨	1.61	ND	ND	ND	ND
면실박	ND	ND	ND	ND	ND
백주박	ND	ND	ND	ND	ND
콘컵펠렛	ND	ND	ND	ND	ND
완두분	ND	ND	ND	ND	ND
미역박	ND	ND	ND	ND	ND
아마익스트루전	0.21	ND	ND	ND	ND
스테비아원물	ND	ND	ND	ND	ND
스테비아잎	ND	ND	ND	ND	ND
대추분	ND	ND	ND	ND	ND
빵박	ND	ND	1.1	ND	ND
이스트컬처	ND	ND	ND	ND	ND
규산염	ND	ND	ND	ND	ND

## 2. 대체원료의 처리 및 가공방법별 한우 비육우 사료적 가치 분석

### 가. 한우 비육우용 부존자원의 *in vitro* 반추위 발효특성

#### 1) 실험 설계 및 방법

- 반추위 cannula가 장착된 한우(체중 450kg±30kg)로부터 *in vitro* 반추위 발효 시험을 위한 시험용 위액을 채취하였음. 공시동물의 사료는 농후사료와 조사료(timothy)를 40:60으로 하여 체중의 2%를 1일 2회(09:00 및 17:00) 분할 급여하였고, 물과 미네랄 블록은 자유섭취토록 하였음.
- 공시재료는 65°C dry oven에서 24시간 건조시킨 시료를 2mm screen으로 분쇄 한 후 3cm×3.5cm 크기로 자체 제작한 nylon bag(Ankom Forage bag: R1020)에 시료 0.5g을 칭량하여 heat sealing한 다음 사용하였음. 시험용 위액 준비는 오전 사료 급여 시간 전에 반추위에 장착된 cannula를 통하여 채취하였고, 4겹의 cheese cloth에 걸러서 O<sub>2</sub>-free N<sub>2</sub>가 충전된 보온용기에 담아 실험실로 운반하였음. 잔여 사료 입자를 제거하기 위해 cheese cloth로 다시 걸러 낸 반추위액과 McDougall's buffer를 1:2의 비율로 혼합한 배양액을 0.3g timothy와 시료가 담긴 50mL serum bottle에 혐기상태(O<sub>2</sub>-free N<sub>2</sub>)로 15mL를 분주하고, butyl rubber stopper와 aluminum cap으로 밀봉하였음. 각 처리구별 배양은 39°C의 120rpm shaking incubator(Jeio Tech, SI-900R, Daejeon, Korea)에서 시간대별(0, 6 및 24시간)로 3반복으로 수행하였음.
- 가스 발생량 측정 및 가스분석을 위해 포집 한 후, Weaton decapper(Weaton Co., USA)를 이용하여 serum bottle의 aluminum cap 및 butyl rubber를 제거하고 배양액의 pH를 pH meter(Mettler Toledo, MP230, Columbus, Ohio, USA)를 이용하여 측정하였음.
- 암모니아 측정을 위해 phenol color reagent와 alkali-hypochlorite reagent로 배양액의 암모니아를 발색한 후 spectrophotometer(BIO-RAD, Model 680, California, USA)를 이용하여 630nm에서 O.D.(Optical density) 값을 구하여 측정하였음(Chaney & Marbach, 1962).
- 배양 상등액 채취 후 nylon bag을 수거하여 물을 채운 수조에 넣고 Heidolphs Rotamax 120(Heidolph Instrument, Germany)를 이용하여 100rpm으로 30분씩 2회 세척 후 65°C의 dry oven(Jeio tech, Daejeon, Korea)에서 약 24시간 건조시켜 건물 잔량을 측정하였음. 건물 소화율은 투입한 기질량과의 차이를 구하고, 이 차이를 투입한 기질량의 백분율로 환산하여 구하였음.
- Serum bottle을 shaking incubator에서 꺼낸 후, serum bottle의 head space에 있는 가스 발생량을 detachable pressure transducer 및 digital read-out voltmeter(Laurel Electronics, Inc., CA, USA)를 사용하여 측정하였고(Theodorou et al.,1994), 9mL 진공 시험관(Vacutainer)에 가스를 포집하여 GC(HP 5890 Gas Chromatography, Wilmington, Delaware, USA)를 사용하여 가스 내 메탄 함량 및 수소 함량을 측정하였음.

○ 총 휘발성 지방산 측정을 위하여 배양액을 1.5mL E-tube에 채취하여 3,000rpm 에서 3분간 원심 분리하여 사료입자를 제거하고, 상등액을 0.20um syringe filter로 여과 후 HPLC(High Performance Liquid Chromatography, Agilent-1200, Germany)를 이용하여 분석하였음. 시료의 주입량은 20uL이고, 이동상 용액은 0.0085N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 사용하였으며, 유속은 0.6mL/min 이었음. Column은 300mm×7.8mm I.d. MetaCarb 87H(Varian, Palo Alto, San Francisco, USA)를 사용 하였으며, 온도는 35°C에서 사용하였음.

## 2) 결과 및 고찰

○ 후보 원료사료들의 pH 변화는 Table 5-8에 나타내었음. 본 연구에서 벃짚과 티모시를 대조구로 하여 수집한 시료 중 4종(카사바주정박, 땅콩피, 백주박, 완두분)을 24시간 발효시킨 결과 pH는 6.63~7.26 범위로 나타났음. pH의 변화는 발효 6시간부터 감소하기 시작하여 발효 24시간까지 감소하는 경향이었고, 전체 발효시간동안 대조구의 pH 수준은 수집한 시료에 비해 pH가 낮은 수준이었음.

Table 5-8. The pH level of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs

Incubation time, h	Feedstuff						SEM
	벃짚	티모시	카사바주정박	땅콩피	백주박	완두분	
0	7.21	7.20	7.21	7.26	7.10	7.26	0.014
6	6.80	6.80	6.81	6.88	6.76	6.82	0.009
24	6.71	6.63	6.72	6.82	6.71	6.79	0.015

○ 후보 원료사료의 발효 24시간 동안 암모니아태 질소(ammonia nitrogen)의 변화는 Table 5-9에 나타내었음. 전체 처리구에서 NH<sub>3</sub>-N수준이 발효 6시간대에 급격히 감소하였으며, 발효 24시간대에 다소 증가하는 경향이었음. 본 연구에서 대조구에 비해 땅콩피, 백주박 및 완두분의 NH<sub>3</sub>-N 함량이 높은 수준이었으며, 이는 사료 내 RDP 함량이 증가됨에 따라 반추위 내 미생물 합성량과 분해율이 증가하여 NH<sub>3</sub>-N 증가된다고 보고된 바가 있음(Hristov 등, 2000).

Table 5-9. Concentrations of ammonia nitrogen of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs(mg/100mL)

Incubation time, h	Feedstuff						SEM
	벃짚	티모시	카사바주정박	땅콩피	백주박	완두분	
0	1.96	1.96	2.15	1.43	3.44	1.51	0.654
6	0.48	0.65	0.60	2.62	2.88	2.57	0.258
24	1.06	0.73	0.06	3.89	4.26	12.73	1.044

○ 후보 원료의 발효 24시간 동안 *in vitro* 건물소화율은 Table 5-10에 나타내었음. 모든 처리구에서 건물소화율은 발효시부터 시험 종료 24시간대까지 증가하는 경향을 나타내었고, 본 연구의 발효 24시간대의 대조구의 평균 건물소화율은 32.65% 수준으로 나타나 본 연구에서 수집한 부존원료 보다 높은 수준으로 나타났음.

Table 5-10. Dry matter digestibility of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs(%)

Incubation time, h	Feedstuff						SEM
	벚짚	티모시	카사마 주정박	땅콩피	백주박	완두분	
0	13.30	17.62	20.83	2.48	0.51	10.90	1.836
6	17.05	19.52	6.64	5.66	17.85	14.15	1.324
24	25.53	39.96	19.13	10.53	28.25	28.82	2.218

○ 후보 원료의 발효 24시간 동안 *in vitro* 총 가스 생성량은 Table 5-11에 나타내었음. 모든 처리구에서 발효시부터 시험종료 24시간대까지 증가하는 경향을 나타내었고, 본 연구의 발효 24시간대의 대조구의 평균 총가스 생성량은 약 44.9% 수준으로 나타나 본 연구에서 수집한 부존원료 약 30.1% 보다 높은 수준으로 나타났음.

Table 5-11. Amounts of production of total gas, hydrogen and methane during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs

Incubation time(h)	Content	Feedstuff						SEM
		벚짚	티모시	카사마 주정박	땅콩피	백주박	완두분	
6	Total gas (mL)	21.0	20.0	16.3	8.00	19.3	16.0	1.071
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.11	0.07	0.15	0.09	0.07	0.24	0.015
	Mathane (mL/VFA mM)	0.34	0.32	0.50	0.51	0.50	0.48	0.024
24	Total gas (mL)	37.0	52.7	39.0	13.0	34.3	34.3	3.014
	Hydrogen (mL/VFA mM)	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00	0.02	0.002
	Mathane (mL/VFA mM)	0.37	0.19	0.32	0.79	0.24	0.32	0.049

○ 반추위 휘발성 지방산 생성량은 Table 5-12에서 보는 것과 같음. 모든 처리구에서 발효 시부터 시험종료 24시간대까지 증가하는 경향을 나타내었고, 발효 24시간대에 백주박의 총 휘발성 지방산의 생성량이 약 48.4%로 높은 경향이었음.

Table 5-12. Concentrations of volatile fatty acids of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs(mM/100mL)

Incubation time, h	Content	Feedstuff						SEM
		벚짚	티모시	카사바 주정박	땅콩피	백주박	완두분	
0	Total VFAs	15.25	14.56	14.56	16.35	17.35	17.22	0.287
	Acetate(A)	10.02	9.54	9.54	10.46	11.21	11.09	0.168
	Propionate(P)	3.25	3.11	3.13	3.53	3.69	3.68	0.060
	iso-Butyrate	0.11	0.10	0.10	0.11	0.12	0.12	0.003
	n-Butyrate	1.52	1.47	1.45	1.74	1.82	1.84	0.040
	iso-Valerate	0.23	0.22	0.23	0.33	0.33	0.32	0.012
	n-Valerate	0.13	0.12	0.12	0.19	0.19	0.17	0.007
	A/P ratio	3.09	3.06	3.05	2.97	3.04	3.01	0.010
6	Total VFAs	26.83	29.05	25.91	21.16	21.96	25.85	0.693
	Acetate(A)	15.85	17.78	16.03	13.36	12.50	15.47	0.441
	Propionate(P)	6.61	7.23	5.67	4.78	5.16	5.78	0.206
	iso-Butyrate	0.14	0.19	0.21	0.19	0.17	0.14	0.007
	n-Butyrate	3.66	3.27	3.29	2.16	3.29	3.80	0.133
	iso-Valerate	0.31	0.32	0.36	0.38	0.37	0.36	0.007
	n-Valerate	0.26	0.25	0.34	0.29	0.30	0.29	0.008
	A/P ratio	2.40	2.46	2.83	2.79	2.42	2.68	0.043
24	Total VFAs	33.75	46.74	37.07	26.50	48.37	43.24	1.882
	Acetate(A)	19.74	27.70	22.82	16.72	26.88	24.22	0.949
	Propionate(P)	7.29	11.78	8.18	5.82	12.32	10.04	0.580
	iso-Butyrate	0.21	0.34	0.30	0.27	0.37	0.49	0.022
	n-Butyrate	5.55	5.42	4.58	2.59	6.78	5.98	0.322
	iso-Valerate	0.45	0.63	0.64	0.55	0.78	1.26	0.064
	n-Valerate	0.51	0.88	0.55	0.55	1.24	1.24	0.077
	A/P ratio	2.71	2.36	2.79	2.87	2.18	2.41	0.063

- 2차후보 사료자원들의 반추위 발효 pH 조사 결과, 선정된 부존자원들의 pH가 반추위 발효 적정 범위인 5.8 - 7.2 에 속하는 것으로 나타남에 따라, 시험에 사용된 사료자원 들은 반추위 발효에 부(-)의 영향을 주지 않는 것으로 나타났음(Table 5-13).
- 반추위내 분해 단백질 양을 예측할 수 있는 암모니아태 질소(ammonia nitrogen)는 측정결과는 Table 5-14와 같음. 발효 6 및 24시간에서 스테비아잎이 가장 높았음(P<0.05).
- *In vitro* 건물소화율(*in vitro* dry matter digestibility, IVDMD) 분석결과는 Table 5-15와 같음. 발효 0, 6 및 24시간 기준으로 스테비아원물이 가장 높았음(P<0.05).

Table 5-13. The pH level of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs

Incubation time, h	Feedstuff				SEM
	벧짚	아마익스트루전	스테비아원물	스테비아잎	
6	6.84 <sup>c</sup>	6.90 <sup>a</sup>	6.86 <sup>bc</sup>	6.88 <sup>b</sup>	0.02
24	6.71 <sup>c</sup>	6.84 <sup>a</sup>	6.76 <sup>b</sup>	6.79 <sup>b</sup>	0.02

<sup>a-d</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

Table 5-14. Concentrations of ammonia nitrogen of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs(mg/100mL)

Incubation time, h	Feedstuff				SEM
	벧짚	아마익스트루전	스테비아원물	스테비아잎	
6	0.45 <sup>d</sup>	3.44 <sup>c</sup>	4.82 <sup>b</sup>	10.47 <sup>a</sup>	1.14
24	0.67 <sup>d</sup>	10.01 <sup>b</sup>	7.26 <sup>c</sup>	11.68 <sup>a</sup>	1.63

<sup>a-d</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

Table 5-15. Dry matter digestibility of experimental feedstuffs during the ruminal incubation *in vitro*(%)

Incubation time, h	Feedstuff				SEM
	벧짚	아마익스트루전	스테비아원물	스테비아잎	
0	7.87 <sup>b</sup>	7.77 <sup>b</sup>	16.16 <sup>a</sup>	14.60 <sup>a</sup>	2.13
6	10.43 <sup>c</sup>	12.44 <sup>c</sup>	21.45 <sup>a</sup>	16.34 <sup>b</sup>	2.44
24	29.13 <sup>c</sup>	27.85 <sup>c</sup>	44.52 <sup>a</sup>	37.17 <sup>b</sup>	3.60

<sup>a-d</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

- 반추위 휘발성 지방산 생성량은 Table 5-16에서 보는 것과 같음. 총휘발성 지방산의 생성량은 발효 24시간대에 스테비아원물에서 높은 것으로 나타났음(P<0.05). 발효시간 6, 24시간대에서 스테비아원물에서 Propionate의 생성량이 높은 것으로 나타났음(P<0.05).

Table 5-16. Concentrations of volatile fatty acids of culture fluids during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs(mM/100mL)

Incubation time, h	Content	Feedstuff				SEM
		벼짚	아마익스트루전	스테비아원물	스테비아잎	
0	Total VFAs	23.32 <sup>a</sup>	21.78 <sup>ab</sup>	21.19 <sup>ab</sup>	18.66 <sup>b</sup>	4.09
	Acetate(A)	14.07	13.32	13.33	12.21	1.67
	Propionate(P)	3.80	4.07	3.89	3.31	0.15
	iso-Butyrate	0.43 <sup>a</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.29 <sup>b</sup>	0.22 <sup>c</sup>	0.01
	n-Butyrate	3.09 <sup>a</sup>	2.98 <sup>a</sup>	2.65 <sup>ab</sup>	2.14 <sup>b</sup>	0.09
	iso-Valerate	0.89 <sup>a</sup>	0.63 <sup>b</sup>	0.61 <sup>b</sup>	0.44 <sup>c</sup>	0.01
	n-Valerate	1.03 <sup>a</sup>	0.47 <sup>b</sup>	0.42 <sup>b</sup>	0.34 <sup>b</sup>	0.03
	A/P ratio	3.70 <sup>a</sup>	3.28 <sup>b</sup>	3.43 <sup>b</sup>	3.69 <sup>a</sup>	0.01
6	Total VFAs	36.89	36.79	39.26	36.25	6.65
	Acetate(A)	23.48 <sup>a</sup>	18.58 <sup>b</sup>	20.21 <sup>b</sup>	19.31 <sup>b</sup>	2.61
	Propionate(P)	7.66 <sup>c</sup>	9.85 <sup>b</sup>	11.07 <sup>a</sup>	9.58 <sup>b</sup>	0.38
	iso-Butyrate	0.46 <sup>ab</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.38 <sup>b</sup>	0.01
	n-Butyrate	4.07 <sup>b</sup>	5.52 <sup>a</sup>	5.49 <sup>a</sup>	5.09 <sup>a</sup>	0.12
	iso-Valerate	0.58 <sup>c</sup>	1.35 <sup>a</sup>	1.06 <sup>b</sup>	0.93 <sup>b</sup>	0.01
	n-Valerate	0.63 <sup>b</sup>	0.98 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>	0.01
	A/P ratio	3.06 <sup>a</sup>	1.89 <sup>c</sup>	1.83 <sup>c</sup>	2.02 <sup>b</sup>	0.01
24	Total VFAs	50.12 <sup>c</sup>	49.58 <sup>c</sup>	62.26 <sup>a</sup>	56.06 <sup>b</sup>	4.471
	Acetate(A)	30.54 <sup>b</sup>	27.94 <sup>b</sup>	37.19 <sup>a</sup>	34.75 <sup>a</sup>	1.96
	Propionate(P)	11.62 <sup>b</sup>	11.96 <sup>b</sup>	14.74 <sup>a</sup>	12.41 <sup>b</sup>	0.26
	iso-Butyrate	0.48 <sup>c</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.69 <sup>a</sup>	0.61 <sup>b</sup>	0.01
	n-Butyrate	5.66 <sup>ab</sup>	5.49 <sup>b</sup>	6.00 <sup>a</sup>	5.48 <sup>b</sup>	0.06
	iso-Valerate	0.89 <sup>d</sup>	1.76 <sup>a</sup>	1.53 <sup>b</sup>	1.32 <sup>c</sup>	0.01
	n-Valerate	0.93 <sup>d</sup>	1.67 <sup>b</sup>	2.10 <sup>a</sup>	1.49 <sup>c</sup>	0.01
	A/P ratio	2.63 <sup>b</sup>	2.34 <sup>d</sup>	2.52 <sup>c</sup>	2.80 <sup>a</sup>	0.01

<sup>a-d</sup> Different superscript in same row means significantly different(P<0.05).

- 총 가스 생성량(total gas production)은 반추위내 사료 분해율 평가의 간접적 지표로 알려져 있음. 총 가스 생성량은 6, 24 시간대에서 스테비아원물이 약 43%로 나타나 높은 경향이었음(Table 5-17). Hydrogen의 생성량에서 발효 6시간경과 후 스테비아 원물과 스테비아 잎은 발생하지 않았음.
- Methane 가스 생성량은 발효 6, 24시간대에서 아마익스트루전이 가장 높게 나타났고, 발효 24 시간대에서는 벗짚이 높은 것으로 나타났음. 결과적으로 스테비아원물과 스테비아 잎은 반추위 발효를 억제하지 않는 선에서 메탄 생성을 저감시킨 것으로 나타났음.

Table 5-17. Amounts of production of total gas, hydrogen and methane during the ruminal incubation *in vitro* of experimental feedstuffs

Incubation time, h	Content	Feedstuff				SEM
		벗짚	아마익스트루전	스테비아원물	스테비아잎	
6	Total gas, mL	16.67	7.00	11.33	5.67	1.53
	Hydrogen, mL/VFA mM	0.02	0.02	0.00	0.00	0.001
	Mathane, mL/VFA mM	0.32	0.49	0.23	0.45	0.100
24	Total gas, mL	40.33	36.33	56.00	43.00	2.630
	Hydrogen, mL/VFA mM	0.00	0.00	0.00	0.00	0.001
	Mathane, mL/VFA mM	0.30	0.27	0.17	0.20	0.050

#### 나. 원료사료의 효율성 향상을 위한 혼합 발효사료 제조

##### 1) 공시재료 및 시험설계

- 선행된 연구결과(Table 5-18)를 바탕으로 발효에 적절한 땅콩피, 대추분, 자일리톨을 선 발하였고, 에너지원으로서 스테비아원물을 원물기준(w/w)으로 0%(Control), 30%(T1) 및 60%(T2)씩 혼합하여 총 3처리구를 두었음. 부패방지 및 수분조절 및 수용성 탄수화물의 함량이 부족한 것을 보완하기 위하여 당밀 5%와 액상믹스 25%(생균제1%포함)를 첨가한 후, 밀폐가 가능한 플라스틱통 내부에 비닐팩을 이용하여 혼합된 사료를 채워 4주간 혐기 발효시켜 발효사료를 제조하였음(Table 5-19, Figure 5-3).

Table 5-18. 후보 원료사료 선정에 위한 자료분석

구분	가격(USD)				정성적 평가				종합 순위*	최종 선정
	DM	CP	TDN	순위*	안전성	공급 지속성	균일성	순위*		
왕라오지박	0.9	0.1	0.7	16	20	30	20	16	17	
참깨박	0.5	21.9	0.4	3	20	20	20	17	10	
혼합주정박	0.6	10.5	0.4	6	20	30	20	10	11	
카사바주정박	0.6	6.6	0.5	10	20	30	20	14	15	
땅콩피	1.1	10.0	0.7	5	30	50	30	3	3	*
자일리톨박	0.7	19.3	0.6	4	50	50	30	2	2	*
면실박	0.5	23.0	0.4	2	20	30	20	9	8	
백주박	0.6	6.7	0.5	9	20	30	20	13	14	
큰킴펠렛	0.4	1.1	0.3	15	30	20	20	15	16	
완두분	0.4	26.2	0.4	1	20	30	30	7	6	
미역박	0.3	6.7	0.2	11	30	50	20	5	5	
아마익스트루전	0.4	10.1	0.3	7	20	30	20	11	12	
스테비아(원물)	0.2	3.4	0.1	12	50	30	30	4	4	*
스테비아(잎)	0.1	3.1	0.1	13	30	20	30	8	9	
대추분	0.1	0.8	0.1	17	50	50	50	1	1	*
빵박	0.1	2.0	0.1	14	20	20	20	18	18	
Yeast culture	0.4	8.8	-	8	20	30	20	12	13	
규산염	0.3	0.0	-	18	50	30	20	6	7	

\* 순위 평가기준

- ① 각 항목(가격, 정성적 평가)별로 상(50점), 중(30점), 하(20점)로 구분함.
- ② 가격의 순위결정에서 부가되는 비율은 CP(45%), TDN(45%), 건물(10%) 순으로 책정함.
- ③ 정성적 평가에서는 안전성, 공급지속성, 균일성을 동일하게 책정함.
- ④ 종합순위 결정을 위한 평가는 가격+정성적평가로 책정함.

## 2) 시험결과

- 사료의 저장성을 높이기 위한 가공방법에는 물리적, 화학적, 생물학적 등 다양한 방법이 적용될 수 있음. 물리적 처리 방법으로는 건조법이 있으며, 이는 사료의 저장성을 향상시킬 수 있는 가장 이상적인 방법이지만 건조에 필요한 비용이 많이 든다는 단점이 있음. 화학적 처리 방법은 사료를 pH를 산성화시켜서 병원성 미생물과 곰팡이 생육을 억제하는 방법으로 특히, 축우의 사일리지 제조에 많이 이용됨. 생물학적 처리는 혐기발효 방법이 주로 이용되며, 이는 미생물을 접종 후 밀봉하여 발효시키는 방법으로 노동력과 밀봉이 필요하다는 단점이 있으나 산소가 억제되어 혐기상태가 유지되므로 곰팡이 생육이 어렵고 저장성이 매우 향상된다는 장점이 있음.
- 따라서 본 실험에서는 미생물과 개미산을 처리한 발효혐기 방법으로 저장한 다음 축우용 사료를 제조하는데 미치는 영향을 조사함으로써 부존자원 사료화에 적합한 저장법을 제시하고자 함.

Table 5-19. Ingredients and chemical composition of fermentation feed

Items	Treatments <sup>1)</sup>		
	T1	T2	T3
Ingredients	----- % -----		
Peanut hulls	30.0	30.0	30.0
Xylitol	60.0	30.0	0.0
Stevia	0.0	30.0	60.0
Jujube powder	5.0	5.0	5.0
Molasses	5.0	5.0	5.0
Chemical composition	----- % -----		
Dry matter	90.0	90.7	91.5
Crude protein, %DM	18.4	16.3	14.2
Ether extract, %DM	2.1	2.0	1.8
Crude fiber, %DM	48.5	52.5	56.6
Crude ash, %DM	8.4	96.6	10.8
Neutral detergent fiber, %DM	52.8	57.0	61.3
Acid detergent fiber, %DM	30.1	37.5	45.0

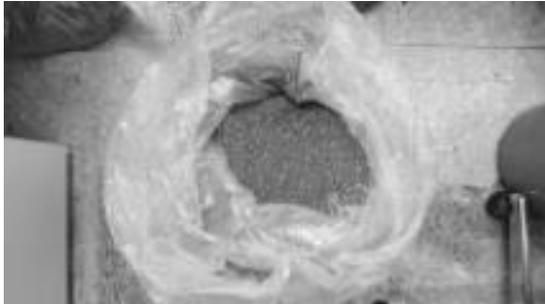
<sup>1)</sup> Additive: liquid feed 25%



▲ 원료사료 준비



▲ 원료사료 계량



▲ 원료사료 혼합



▲ 액상믹스 계량



▲ 혼합된 원료사료에 액상믹스 추가



▲ 혼합과정



▲ 발효기간별 용기 준비



▲ 분류된 용기에 저장



▲ 발효



Figure 5-3. 발효사료 제조과정

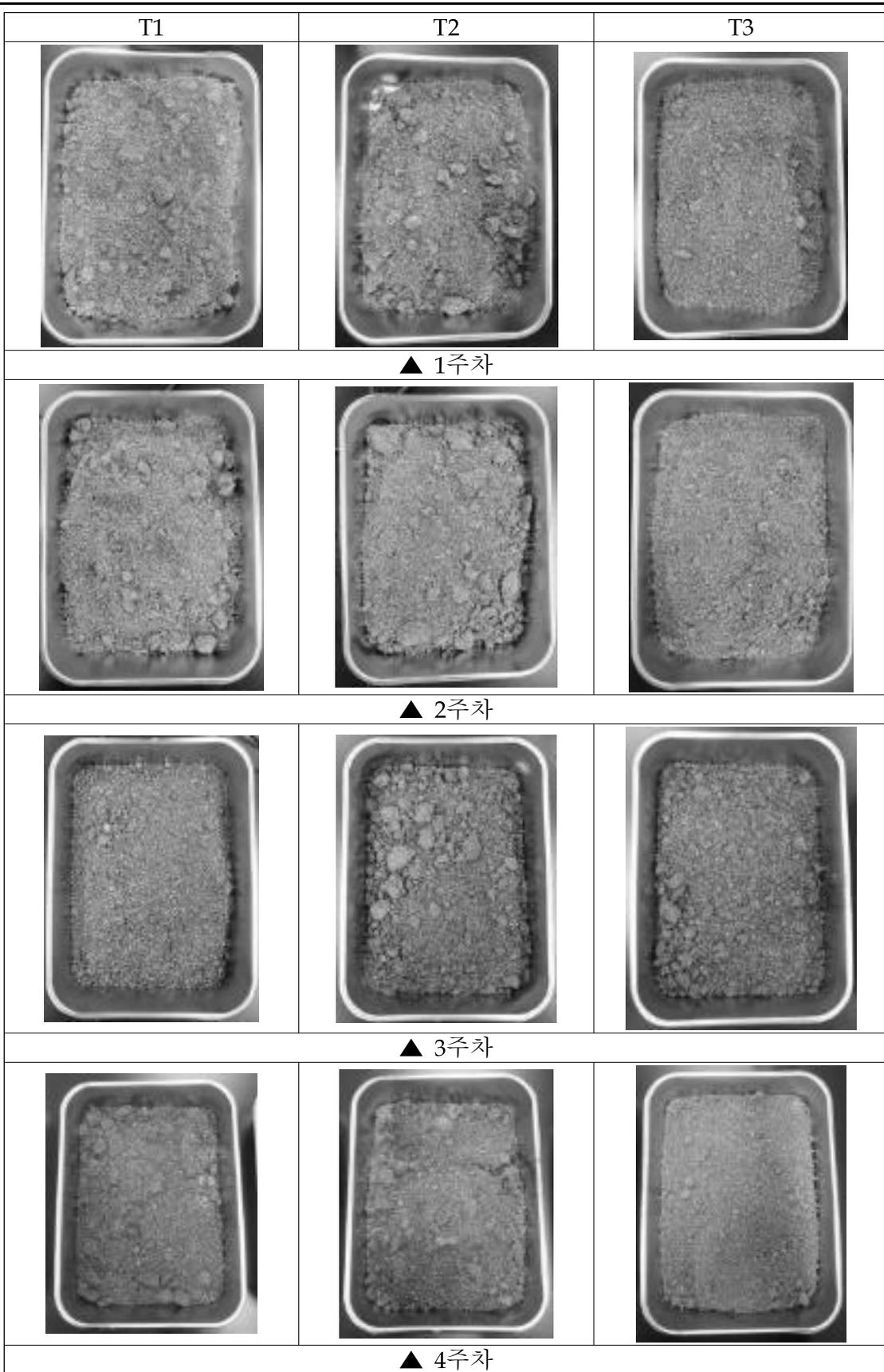


Figure 5-4. 발효사료 제조 결과

#### 다. 선발 사료자원의 반추위내 *in situ* 분해율

##### 1) 시험방법

- 반추위 cannula를 장착한 Holstein 2 두(체중 700 ± 50 kg)를 공시하였음. 사료 급여량은 배합사료 3 kg와 볏짚 10 kg를 1일 제한 급여하였으며, 미네랄 블록 및 물은 자유 채식시켰음.
- 원료사료는 땅콩피, 자일리톨 및 스테비아를 선발하였으며, 시험구는 대조구인 볏짚을 포함해 총 4개로 설정하였음. 각 시료는 2 mm sieve가 장착된 실험용 분쇄기로 세절하여 nylon bag(80×150mm; 45 um pore size)에 5 g씩 넣고 실링하였음.
- 준비된 nylon bag을 실험 수행 20 분 전부터 39-40°C의 미온수에 담가 빠르게 용해되는 수용성 영양분의 함량을 조사하였음. nylon bag은 공시동물의 오전사료 급여와 동시에 반추위에 넣었으며 3 반복으로 진행하였음. 분해 시간은 0, 4, 8, 12, 24, 48 및 72 시간이며, 분해가 종료된 nylon bag은 반추위에서 즉시 꺼내어 미생물의 성장을 억제시키기 위해 얼음물에 침지하고 흐르는 맑은 물로 충분히 세척하였음. 세척이 완료된 nylon bag은 60°C 환류 건조기에서 48시간 동안 건조 후 30분간 desiccator에서 식힌 후에 무게를 측정 하여 결과를 계산하였음(Van Keuren and Heineman, 1962).
- 건물 분해율 및 유효분해도
  - 건물분해율 : 반추위 *in situ* 소실을 측정을 통하여 얻어진 반추위 내 발효 시간대 별 건물 분해율을 바탕으로 하여 다음의 Ørskov and McDonald(1979)의 방법을 이용하여 산출함

$$P = a+b(1-e^{-ct})$$

P: 시간 t 경과 시의 반추위내 건물분해율

a: 신속하게 분해되는 부분

b: 분획 a를 제외하고 잠재적으로 분해될 수 있는 부분

c: b의 시간당 분해상수

t: 반추위 내 발효시간

- 건물의 유효분해도 : 반추위 내 건물의 유효분해도(Effective ruminal degradability, ED)는 반추위 내 사료의 통과속도를 시간 당 2%로 가정하여 추정함

$$ED = a+b\{c/(c+r)\}$$

ED: 건물의 유효분해도

a, b, c: 건물 분해율 상수

r: 사료의 반추위 통과속도(passage rate)로서 시간 당 2%로 가정

2) 시험 결과

- 반추위 건물분해율 및 유효분해도는 Ørskov and McDonald(1979)의 방법에 따라 *in situ* 반추위 소실율로부터 계산됨. 반추위내 건물 분해상수는 배양시간별 건물 분해율을 기초로 계산하였음(Table 5-20, Figure 5-5)
- 건물분해도 및 유효분해도의 분해상수 “a” 값은 수용성의 함량을 나타내는 지표로서 활용될 수 있으며, 화학적으로 수용성 특징을 가지거나, 물리적으로 그 입자가 매우 작아서 실험에 사용된 nylon bag을 그냥 통과한 물질들을 나타냄. 반추위의 생리적 기능을 고려할 경우, 반추위 발효를 거치지 않고 통과하는 부분이 될 수 있음. 분해상수 “a” 값은 자일리톨이 약 32.9%로 높았으며, 땅콩피에서 약 9%로 나타났음.
- 반추위 내에서 미생물에 의해 직접적으로 분해되는 값인 “b” 값 부분은 땅콩피가 약 5.4%로 가장 낮았으며, 자일리톨이 약 40.2%로 가장 높게 나타났음. 반추위 내 시간당 분해상수인 “c” 값은 자일리톨이 약 0.06%로 나타나 다른 부존자원보다 높은 것으로 나타났음.
- 본 연구의 분해상수들은 반추위내 통과 속도를 고려하지 않고 나타낸 수치임. 이에 각 시료들의 반추위 통과속도를 2% 수준으로 가정하여 산출된 반추위내 유효분해도(ED)로 부존원료사료들을 비교한 결과, 유효분해도 값은 자일리톨, 스테비아, 볏짚, 땅콩피 순으로 높은 것으로 나타났음. 유효분해도 결과를 바탕으로 부존원료사료인 자일리톨과 스테비아에서 대조구인 볏짚보다 유효분해도가 높은 것으로 나타나 대체사료 원료로써의 가능성이 있다고 판단된다.

Table 5-20. Ruminal *in situ* dry matter degradation and effective degradability of experimental feedstuff

Degradation Parameters	Rice straw	Peanut hulls	Xylitol	Stevia	SEM
a(%)	27.48	9.060	32.865	31.653	3.203
b(%)	21.562	5.364	40.242	29.410	4.488
a+b(%)	49.000	14.424	73.106	61.064	7.577
c	0.030	0.047	0.058	0.041	0.004
Effective degradability <sup>1)</sup> (%)	40.375	12.822	62.788	51.421	11.507

<sup>1)</sup> Calculated according to Ørskov and McDonald(1979) with a rumen outflow rate of 2% for all feeds.

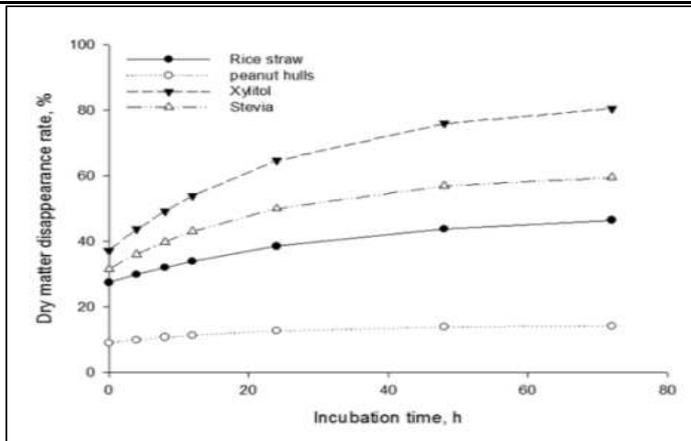


Figure 5-5. Dry matter disappearance rate of experimental feedstuff(*in situ*)

### 3. 개발된 시제품의 한우 비육우 급여효과 검증

#### 가. 시험방법 및 설계

- 사양시험은 부산사료(주) 생축장(경남 의령군 의령읍, 대표 김지은)에서 수행하였고. 시험 기간은 2017년 12월 2일부터 2018년 5월 30일까지 실시하였음.

Table 5-21. 시험설계

항목	처리구							
	대조구		T1		T2		T3	
반복, 군	2		2		2		2	
공시축, 두	5	5	5	5	5	5	5	5
시작월령	12~13		12~13		12~13		12~13	
시작체중	평균 330kg		평균 324kg		평균 364kg		평균 333kg	

- 한우거세우 40두(평균 337.9kg, 평균 12.7개월령)를 이용하여 총 6개월간 사양시험을 실시하였으며, 각 처리구별 공시축의 조건은 Table 5-22와 같음.
- 사양관리는 4.5×8m 웬스가 설치된 우사에 공시축을 5두씩 수용하였으며, 시험사료와 물 및 미네랄블록은 자유채식토록 하였음. 사료섭취량은 급여량에서 잔량을 공제하여 매일 측정하였고, 체중은 1개월 간격으로 오전 11시에 측정하였음. 시험에 사용된 사료의 일반성분인 건물, 조단백질, 조지방, 조회분, 조섬유는 AOAC(1990)법에 준하여 측정하였고 NDF(neutral detergent fiber)와 ADF(acid detergent fiber)는 Van Soest(1991)의 방법에 따라 분석하였음.
- 한우 거세우용으로 육성기용으로 TMR(습식)을 제조하였으며, 배합비율과 화학적 조성은 Table 5-23와 같음.

Table 5-22. 공시축의 조건

구분	번호	생년월일	개시월령	개시체중		
대조구	1	1368	2017-02-04	11.7	319	
	1	2	1151	2017-01-30	11.9	338
		3	1251	2017-01-25	12.0	343
		4	1187	2017-01-28	11.9	364
		5	1274	2017-02-04	11.7	336
		6	0713	2017-01-27	12.0	396
	2	7	1239	2017-01-27	12.0	336
		8	0656	2017-01-26	12.0	302
		9	0980	2017-02-04	11.7	295
		10	8512	2017-01-31	11.8	278
평균			11.9	330.7		
T1	11	1511	2017-01-27	12.0	286	
	3	12	7474	2017-01-31	11.8	313
		13	0696	2017-01-04	12.7	301
		14	7060	2017-01-27	12.0	293
		15	7464	2017-01-25	12.0	331
		16	8382	2017-01-01	12.8	358
	4	17	8428	2017-01-04	12.7	356
		18	0775	2017-01-30	11.9	307
		19	8299	2017-01-06	12.7	341
		20	8254	2017-01-05	12.7	358
평균			12.3	327.7		
T2	21	7118	2016-06-20	19.3	488	
	5	22	1260	2017-01-26	12.0	288
		23	0982	2017-01-26	12.0	359
		24	7466	2016-12-03	13.8	482
		25	8385	2017-01-05	12.7	361
		26	9429	2017-01-03	12.8	362
	6	27	4497	2016-12-19	13.3	303
		28	4443	2017-01-05	12.7	361
		29	6323	2017-01-11	12.5	302
		30	4158	2016-12-27	13.0	332
평균			13.4	339.0		
T3	31	0703	2017-02-03	11.7	250	
	7	32	7408	2017-02-02	11.8	311
		33	1233	2016-12-23	13.1	518
		34	1234	2016-12-23	13.1	295
		35	0997	2016-08-03	17.9	296
		36	9182	2017-01-08	12.6	367
	8	37	2092	2016-12-05	13.7	382
		38	4438	2016-12-22	13.2	340
		39	6267	2017-01-16	12.3	261
		40	6068	2017-01-20	12.2	306
평균			13.2	337.5		

Table 5-23. 시험사료의 배합비율 및 조성분 함량

구분	처리구			
	대조구 <sup>1)</sup>	T1 <sup>2)</sup>	T2 <sup>3)</sup>	T3 <sup>4)</sup>
배합비율, %				
시험사료	-	10.0	10.0	10.0
Base-3 <sup>5)</sup>	26.0	26.0	26.0	26.0
액상효모	25.8	25.8	25.8	25.8
발효믹서	10.0	-	-	-
옥수수(Flake)	5.0	5.0	5.0	5.0
콘글루텐피드	4.0	4.0	4.0	4.0
면실피	4.0	4.0	4.0	4.0
소맥피	5.0	5.0	5.0	5.0
매실박	0.7	0.7	0.7	0.7
이탈리안라이그라스	8.0	8.0	8.0	8.0
톨페스큐	3.5	3.5	3.5	3.5
알팔파 건초	3.0	3.0	3.0	3.0
연맥건초	5.0	5.0	5.0	5.0
화학조성, % DM				
건물	61.27	62.41	61.06	65.55
조단백질	14.70	14.56	12.90	13.10
조지방	2.93	2.61	3.61	3.44
조섬유	12.59	12.67	11.70	11.42
조회분	6.12	5.93	4.69	5.79
NDF	31.88	35.08	34.77	46.18
ADF	16.13	17.71	18.09	18.77
TDN <sup>6)</sup>	71.18	70.69	70.57	70.36

1) 사료공장의 기존 배합비율.

2) 땅콩피, 30%; 자일리톨, 60%; 스테비아원물, 0%; 대추분 5%; 당밀, 5%.

3) 땅콩피, 30%; 자일리톨, 30%; 스테비아원물, 30%; 대추분 5%; 당밀, 5%.

4) 땅콩피, 30%; 자일리톨, 0%; 스테비아원물, 60%; 대추분 5%; 당밀, 5%.

5) Corn, 34.8%; Wheat, 7.4%; Tapioca, 5.0%; Wheat bran, 16.0%; Soybean meal, 4.0%; Coconut meal, 20.0%; Palm kernel cake, 9.0%; Vitamin/mineral premix, 3.8%(Contained per kg diet: Vitamin A, 18,000 IU; Vitamin D3, 3,600 IU; Vitamin E, 1,500 IU; Fe, 120mg; Mn, 135mg; Zn, 135mg; Cu, 30mg; Co, 0.3mg).

6) TDN 함량은  $4.898 + (89.796 \times NEL)$ ,  $NEL = 0.7936 - (0.00344 \times ADF)$  공식을 이용.

## 나. 시험결과 및 고찰

- 한우 거세우의 월령별 처리구간 사료섭취량은 Table 5-24에 나타내었음. 공시축에게 배합비율과 영양수준이 다른 사료를 대조구(TDN 77.18%, CP 14.70%), T1구(TDN 70.69%, CP 14.56%), T2구(TDN 70.57%, CP 12.90%) 및 T3구(TDN 70.36%, CP 13.10%)를 각각 급여하였을 때, 사료섭취량은 시작 시부터 종료 시까지 일일 약 13.01~14.93 kg를 섭취하였음.

Table 5-24. 공시축의 처리별 사료섭취량(원물기준)

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
12	13.11±0.09 <sup>b</sup>	13.01±0.09 <sup>b</sup>	13.91±0.12 <sup>a</sup>	14.12±0.15 <sup>a</sup>
13	13.45±0.09 <sup>b</sup>	13.35±0.11 <sup>b</sup>	14.14±0.23 <sup>a</sup>	14.51±0.11 <sup>a</sup>
14	14.84±0.10	14.78±0.10	14.65±0.18	14.93±0.13
15	14.09±0.13 <sup>a</sup>	13.45±0.09 <sup>b</sup>	13.53±0.07 <sup>b</sup>	13.70±0.07 <sup>b</sup>
16	14.59±0.08	14.61±0.09	14.69±0.09	14.53±0.09
17	14.26±0.10	14.06±0.10	14.12±0.09	14.24±0.10
Mean	14.37±0.05 <sup>a</sup>	14.18±0.05 <sup>b</sup>	14.27±0.06 <sup>ab</sup>	14.4±0.05 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Means with different superscripts in the same row significantly differ(P<0.05).

- 한우 거세우의 월령별 처리구간 건물섭취량은 Table 5-25에 나타내었음. 개체별로 일일 약 8.07~9.49 kg을 섭취하였으며, 시험 전기간 동안 T3구가 다른 처리구에 비해 섭취량이 많았음(P<0.05).
- 농촌진흥청 축산과학원 한우사양표준(2017)의 거세우 육성, 비육에 필요한 영양소 요구량표에서 성장단계별 건물섭취량을 비교했을 때 육성기(체중 350kg, 일일증체량 0.8kg/일), 비육전기(체중 450kg, 일일증체량 0.8kg/일) 비육후기(체중 550kg, 일일증체량 0.8kg/일)의 건물섭취량은 각각 7.7kg, 8.6kg 및 8.9kg이라고 하였는데 본 시험에서는 이 체중대(Table 5-27 참고)에 각각 약 8.4kg, 9.2kg, 8.8kg 수준으로 본 시험에서 일일 건물섭취량이 많았음.

Table 5-25. 공시축의 처리별 건물섭취량(kg/day, 건물기준)

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
12	8.07±0.08 <sup>c</sup>	8.12±0.07 <sup>c</sup>	8.53±0.14 <sup>b</sup>	8.97±0.09 <sup>a</sup>
13	8.24±0.05 <sup>c</sup>	8.33±0.07 <sup>c</sup>	8.64±0.14 <sup>b</sup>	9.22±0.07 <sup>a</sup>
14	9.09±0.06 <sup>bc</sup>	9.22±0.06 <sup>bc</sup>	8.95±0.11 <sup>c</sup>	9.49±0.08 <sup>a</sup>
15	8.63±0.08 <sup>a</sup>	8.39±0.05 <sup>b</sup>	8.26±0.04 <sup>b</sup>	8.71±0.05 <sup>a</sup>
16	8.94±0.05 <sup>c</sup>	9.12±0.06 <sup>ab</sup>	8.97±0.06 <sup>bc</sup>	9.23±0.06 <sup>a</sup>
17	8.74±0.06 <sup>b</sup>	8.78±0.06 <sup>b</sup>	8.62±0.06 <sup>b</sup>	9.05±0.06 <sup>a</sup>
Mean	8.8±0.03 <sup>bc</sup>	8.85±0.03 <sup>b</sup>	8.71±0.04 <sup>c</sup>	9.15±0.03 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Means with different superscripts in the same row significantly differ(P<0.05).

- 한우 거세우 성장단계별 TDN 섭취량(Table 5-26)은 일일 약 5.57~6.67kg로서 에너지 섭취량이 많은 시기는 14개월령으로 나타났으며, 15개월령 부터는 섭취량이 줄어들었음.
- 농촌진흥청 축산과학원 한우사양표준(2017)의 거세우 육성, 비육에 필요한 영양소 요구량표에서 성장단계별 일일 TDN 섭취량을 비교했을 때 육성기(체중 350kg, 일당증체량 0.8kg/일), 비육전기(체중 450kg, 일당증체량 0.8kg/일) 비육후기(체중 550kg, 일당증체량 0.8kg/일)의 TDN섭취량은 각각 5.30kg, 6.03kg 및 6.08kg이라고 하였는데 본 시험에서는 이 체중대(Table 5-28 참고)에 각각 약 5.94kg, 6.49kg, 6.21kg 수준으로 나타나 전체 성장단계에서(350~550kg 체중대) 일일 TDN섭취량이 높은 수준이었음.

Table 5-26. 공시축의 처리별 TDN섭취량(kg/day, 건물기준)

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
12	5.72±0.05 <sup>c</sup>	5.74±0.06 <sup>c</sup>	6.02±0.11 <sup>b</sup>	6.31±0.06 <sup>a</sup>
13	5.87±0.04 <sup>c</sup>	5.89±0.05 <sup>c</sup>	6.09±0.10 <sup>b</sup>	6.49±0.05 <sup>a</sup>
14	6.47±0.04 <sup>bc</sup>	6.52±0.04 <sup>ab</sup>	6.31±0.08 <sup>c</sup>	6.67±0.06 <sup>a</sup>
15	6.15±0.06 <sup>a</sup>	5.93±0.04 <sup>b</sup>	5.83±0.03 <sup>b</sup>	6.13±0.03 <sup>a</sup>
16	6.36±0.04 <sup>bc</sup>	6.45±0.04 <sup>ab</sup>	6.33±0.04 <sup>c</sup>	6.50±0.04 <sup>a</sup>
17	6.22±0.04 <sup>b</sup>	6.20±0.04 <sup>b</sup>	6.08±0.04 <sup>c</sup>	6.37±0.04 <sup>a</sup>
Mean	6.27±0.02 <sup>b</sup>	6.26±0.02 <sup>b</sup>	6.15±0.03 <sup>c</sup>	6.44±0.02 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Means with different superscripts in the same row significantly differ(P<0.05).

- 한우 거세우 성장단계별 조단백질 섭취량(Table 5-27)은 일일 1.10~1.34 kg 수준으로서 조단백질 섭취량이 많은 시기는 14개월령 이었으며, 15개월령 이후로는 줄어들었음.
- 농촌진흥청 축산과학원 한우사양표준(2017)의 거세우 육성, 비육에 필요한 영양소 요구량표에서 성장단계별 일일 조단백질 섭취량을 비교했을 때 육성기(체중 350kg, 일당증체량 0.8kg/일), 비육전기(체중 450kg, 일당증체량 0.8kg/일) 비육후기(체중 550kg, 일당증체량 0.8kg/일)의 조단백질 요구량은 각각 0.84kg, 0.99kg 및 1.07kg이라고 하였는데 본 시험에서는 이 체중대(Table 25 참고)에 각각 약 1.16kg, 1.27kg, 1.21kg 수준으로 본 시험구에서 전체 성장단계(350~550kg 체중대)에서 더 많은 조단백질을 섭취하였음.

Table 5-27. 공시축의 처리별 조단백질 섭취량(kg/일, 건물기준)

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
12	1.18±0.02	1.18±0.02	1.10±0.02	1.18±0.02
13	1.21±0.01	1.21±0.01	1.11±0.02	1.21±0.01
14	1.34±0.01	1.34±0.01	1.15±0.01	1.24±0.01
15	1.27±0.01	1.22±0.01	1.07±0.01	1.14±0.01
16	1.31±0.01	1.33±0.01	1.16±0.01	1.21±0.01
17	1.28±0.01	1.28±0.01	1.11±0.01	1.19±0.01
Mean	1.29±0.01	1.29±0.01	1.12±0.01	1.20±0.01

- 시험 시작 개월령인 12개월령에 대조구, T1구, T2구 및 T3구는 각각 369.5kg, 361.8kg, 397.9kg 및 374.5kg로 나타났음. 시험 종료 개월령인 17개월령에는 대조구, T1구, T2구 및 T3구는 각각 547.3kg, 523.4kg, 558.2kg 및 533.8kg 로 나타났으며, 처리구별 체중변화는 대조구와 부존자원 첨가 처리구(T1, T2, T3) 사이에 큰 차이가 없었음.
- 따라서 본 연구에서 수집한 부존원료를 기존 육성우용 TMR에 약 10%를 대체 하여도 한우거세우의 성장에는 문제가 없는 것으로 판단됨.

Table 5-28. 한우거세우의 처리별 체중변화

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
시작체중	330.7±10.9	324.4±8.8	363.8±22.1	332.6±24.5
12	369.5±14.0	361.8±10.0	397.9±25.0	374.5±28.1
13	411.5±14.5	402.8±10.2	438.2±25.5	412.6±25.2
14	436.8±14.6	427.2±10.8	456.9±25.3	434.7±24.4
15	471.1±16.5	459.2±11.5	491.7±25.7	467.2±23.4
16	504.7±16.7	486.9±11.7	521.7±24.5	496.7±22.4
17	547.3±18.5	523.4±12.5	558.2±26.2	533.8±20.7

- 한우 거세우의 처리별 일일증체량은 Table 5-29에 나타내었음. 대체로 월령별 증체량이 처리구에 따라 다르게 나타났으며, 한우 거세우의 월령이 낮을수록 증체량의 월령별 변화폭이 큰 것으로 나타났음. 13개월령 이후는 일일증체량이 낮아지는 경향이었음.
- 한우거세우의 12~17개월령 동안 평균 증체량은 대조구, T1구, T2구 및 T3구에서 각각 0.92, 0.84, 0.82 및 0.85kg으로 나타났으며, 처리구별 일일증체량은 대조구와 부존자원 첨가 처리구(T1, T2, T3) 사이에 큰 차이가 없는 것으로 나타났음.

Table 5-29. 한우거세우의 처리별 일일증체량(kg/일)

월령	처리구			
	대조구	T1	T2	T3
12	0.97±0.10	0.94±0.08	0.85±0.13	1.05±0.15
13	1.05±0.05	1.03±0.06	1.01±0.02	0.95±0.10
14	0.70±0.04	0.68±0.05	0.52±0.07	0.61±0.10
15	0.86±0.08	0.80±0.07	0.87±0.05	0.81±0.06
16	0.84±0.04	0.69±0.05	0.75±0.09	0.74±0.10
17	1.07±0.07	0.91±0.05	0.91±0.08	0.93±0.12

## 제 8 절 반추가축용 섬유질 대체 인공사료 개발

### 1. 국내 원료자원을 이용한 섬유질 대체 인공사료의 탐색

가. 국내 원료자원별 물성조사를 통한 탐색 및 평가(*In vitro* 반추위 소화율 및 화분과 두과의 그룹별 물성조사)

#### 1) 공시재료 및 *in vitro* 시험설계

- 공시재료는 65°C dry oven(Jeio tach, Korea)에서 24시간 건조시킨 벃짚(Rice straw), 티모시(Timothy), 툴페스큐(Tall fescue) 및 알팔파(Alfalfa)를 2~3cm으로 세절하여 사용하였음(Table 6-1).

Table 6-1. Chemical composition of experimental feedstuff used as a substrate for *in vitro* incubation

Chemical Composition	Rice straw	Timothy	Tall fescue	Alfalfa
Moisture(%)	12.29	11.32	11.52	14.62
Crude protein(% DM)	4.45	9.79	5.33	14.86
Ether extracts(% DM)	1.74	1.63	1.33	2.06
Crude fiber(% DM)	28.10	27.75	29.28	35.56
Crude ash(% DM)	14.68	7.24	47.59	24.43
NFE(% DM)	38.74	27.75	4.95	8.52

- 시험용 반추위액은 김해 주촌 도축장에서 채취하였으며, 4겹의 cheese cloth에 걸러서 O<sub>2</sub>-free N<sub>2</sub>가 충전된 보온용기에 담아 실험실로 운반하였음. 잔여 사료 입자를 제거하기 위해 2겹의 cheese cloth로 다시 걸러낸 반추위액과 McDougall's buffer(Table 6-2)<sup>1)</sup>를 1:2의 비율로 혼합한 배양액을 300g의 기질이 담긴 8L bottle에 혐기상태(O<sub>2</sub>-free-N<sub>2</sub>)로 4.5L 분주하고, 뚜껑을 닫은 후 parafilm M(PM-996, Whatman, USA)으로 밀봉하였음.
- 각 처리구별 배양은 39°C의 shaking incubator(Jeio Tech, SI-900R; 120rpm)에서 4시간(12, 24, 48, 72 h) 3반복으로 수행하였음.

Table 6-2. The chemical composition of McDougall's buffer

Ingredient	Amount(g/L D.W.)
NaHCO <sub>3</sub>	9.80
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4.62
KCl	0.57
NaCl	0.47
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.12
4% CaCl <sub>2</sub> solution(mL) <sup>1)</sup>	1.00

<sup>1)</sup> 4% CaCl<sub>2</sub> solution: CaCl<sub>2</sub> 4g/dL D.W.

- pH 분석 : 각 배양 시간대 별 pH meter(Mettler Toledo, MP230)를 이용하여 측정함.
- VFA 분석
  - 배양액을 1.5mL E-tube에 채취하여 12,000rpm에서 3분간 원심 분리하여 사료입자를 제거하고, 상등액을 0.20um syringe filter로 여과 후 HPLC(Agilent-1200, Germany)를 이용하여 분석하였음.
  - 시료의 주입량은 10uL이었고, 이동상 용액은 0.0085N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 사용하였으며, 유속은 0.6mL/min이었고, Column은 300mm×7.8mm I.d. MetaCarb 87H(Varian, USA)를 사용하였으며, 온도는 35°C에서 사용하였음.
- 일반성분 분석
  - 일반성분 분석 시료는 65°C dry oven(Jeio tech, Korea)에서 3일간 건조시킨 후, 1.00mm screen이 부착된 실용용 분쇄기(hammer mill)를 이용하여 분쇄한 후 분석시료로 사용하였음.
  - 실험사료와 각 배양 시간별 분석용 시료의 건물(AOAC 930.15), 조회분(AOAC 942.05), 조단백질(AOAC 984.13, model Tecator Kjeltac 1030 Analyzer), 조섬유(AOAC 2002.04, model Tecator Fibertec System M6)의 분석은 AOAC 방법에 준함. NDF(Neutral detergent fiber)와 ADF(Acid detergent fiber)는 Van Soest 등의 방법에 의해 분석하였음.
- 물성검사(경도검사)
  - 각 배양 시간별(12, 24, 48 및 72시간) 채취한 시료를 수거하여 물을 채운 수조에 넣고 Heidolphs Rotamax 120(Hidolph Instrument, Germany)를 이용하여 100rpm으로 30분씩 2회 씻은 후 65°C dry oven(Jeio tech, Korea)에서 3일간 건조시킨 후 사료용 Hardness Tester(NN750, Nano Hi-Tech, Korea)를 이용하여 경도를 측정하였음.
- 통계처리
  - 통계처리는 SAS package program의 General Linear Model(GLM) procedure에 따라

처리하였으며, 각 처리구간의 유의성 검증을 위해 분산분석을 실시 후, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검정하였음( $P < 0.05$ ).

## 2) 결과 및 고찰

### ○ pH

- 반추위 pH는 정상 범위(5.0~7.8)를 유지 하고 있으나 섬유소 분해로 생성된 VFA, 완충작용을 하는 타액 및 암모니아의 수준에 의해 pH가 결정됨. 농후사료나 쉽게 분해가 가능한 탄수화물을 급여하면 pH가 5.0까지 떨어짐. 이것은 쉽게 분해가 가능한 탄수화물에 의해 유산이 생성되고, 저작 작용이 감소되면서 타액 분비가 저하 되어 생기는 현상임.
- 또한 pH가 산성이나 혐기성으로 치우치게 되면 반추위 미생물의 활력이 떨어져 소화력이 떨어짐. 본 실험에서는 12시간대 Rice Straw에서 pH 8.15로 pH가 일반적인 수치를 넘어섬. 이것은 McDougall's buffer를 제조할 때 사용 하였던 증류수의 문제로 사료되며, 같은 조건으로 실험을 진행하여 조사료간의 비교는 가능할 것으로 판단됨.
- 12시간대 Rice Straw를 제외하고 반추위 정상 pH 범위를 유지하였음(Table 6-3).

Table 6-3. pH Value according to the type of feed

Times (h)	Treatments				SEM	P	Mean
	Rice Straw	Tall fescue	Timothy	Alfalfa			
12	8.15 <sup>a</sup>	6.99 <sup>b</sup>	6.59 <sup>c</sup>	6.44 <sup>d</sup>	0.02	<.0001	7.04
24	7.35 <sup>a</sup>	6.65 <sup>b</sup>	5.67 <sup>d</sup>	5.71 <sup>c</sup>	0.01	<.0001	6.35
48	6.92 <sup>a</sup>	5.65 <sup>b</sup>	5.67 <sup>b</sup>	5.48 <sup>c</sup>	0.01	<.0001	5.93
72	6.24 <sup>a</sup>	5.43 <sup>c</sup>	5.47 <sup>b</sup>	5.44 <sup>c</sup>	0.00	<.0001	5.64

<sup>abcd</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly( $P < 0.05$ ).

### ○ 일반성분 분석

- 상대적 사료가치(RFV)는 Alfalfa에서 가장 높게 나타났으며, 이것은 단백질의 함량이 높아서 나타난 것으로 생각됨
- 모든 처리구에서 시간의 흐름에 따라 화학적 소화가 이루어지는 것을 확인 할 수 있었으며, 일반적인 반추동물의 *in vitro* 소화율과 비슷한 양상으로 나타났음(Table 6-4).

Table 6-4. Proximately analysis according to the type of feed

Incubation (hr)	Treatments				SEM	P	Mean
	Timothy	Tall fescue	Alfalfa	Rice straw			
Moisture							
12	12.71 <sup>a</sup>	10.69 <sup>b</sup>	4.33 <sup>c</sup>	4.74 <sup>c</sup>	0.47	<.0001	8.12
24	6.96 <sup>b</sup>	8.27 <sup>ab</sup>	1.19 <sup>c</sup>	11.64 <sup>a</sup>	1.23	0.0022	7.02
48	7.18 <sup>b</sup>	6.33 <sup>b</sup>	5.40 <sup>b</sup>	11.38 <sup>a</sup>	0.93	0.0083	7.57
72	5.26 <sup>b</sup>	11.68 <sup>a</sup>	2.51 <sup>b</sup>	8.65 <sup>a</sup>	0.95	0.0007	7.03
Crude protein							
12	6.43 <sup>a</sup>	3.92 <sup>b</sup>	6.72 <sup>a</sup>	2.71 <sup>b</sup>	0.41	0.0003	4.95
24	4.85 <sup>a</sup>	3.66 <sup>ab</sup>	2.63 <sup>bc</sup>	1.32 <sup>c</sup>	0.56	0.012	3.11
48	4.29 <sup>a</sup>	3.09 <sup>a</sup>	0.82 <sup>b</sup>	1.24 <sup>b</sup>	0.45	0.0019	2.36
72	3.44 <sup>a</sup>	0.45 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.92 <sup>b</sup>	0.16	<.0001	1.33
Crude ash							
12	2.39 <sup>c</sup>	7.07 <sup>a</sup>	3.99 <sup>b</sup>	6.71 <sup>a</sup>	0.32	<.0001	5.04
24	2.03 <sup>c</sup>	3.77 <sup>b</sup>	1.60 <sup>c</sup>	6.46 <sup>a</sup>	0.24	<.0001	3.47
48	1.75 <sup>b</sup>	1.88 <sup>b</sup>	1.38 <sup>b</sup>	5.78 <sup>a</sup>	0.24	<.0001	2.70
72	1.07 <sup>b</sup>	1.81 <sup>b</sup>	1.28 <sup>b</sup>	3.54 <sup>a</sup>	0.52	0.0352	1.92
Relative feed value(RFV)							
12	45.75 <sup>b</sup>	53.58 <sup>a</sup>	44.19 <sup>b</sup>	52.14 <sup>a</sup>	1.32	0.0022	48.91
24	52.24 <sup>a</sup>	54.32 <sup>a</sup>	45.98 <sup>b</sup>	52.81 <sup>a</sup>	1.11	0.0033	51.34
48	51.92 <sup>c</sup>	57.87 <sup>ab</sup>	60.84 <sup>a</sup>	54.30 <sup>bc</sup>	1.51	0.0137	56.23
72	53.86 <sup>b</sup>	58.29 <sup>b</sup>	76.86 <sup>a</sup>	56.06 <sup>b</sup>	2.07	0.0002	61.27
Neutral detergent fiber(NDF)							
12	81.60 <sup>a</sup>	76.33 <sup>b</sup>	82.55 <sup>a</sup>	77.86 <sup>b</sup>	0.97	0.0054	79.58
24	76.32 <sup>a</sup>	76.19 <sup>a</sup>	80.84 <sup>a</sup>	77.05 <sup>a</sup>	1.48	0.1659	77.60
48	77.80 <sup>a</sup>	73.72 <sup>bc</sup>	70.61 <sup>c</sup>	74.94 <sup>ab</sup>	1.03	0.0077	74.27
72	77.77 <sup>a</sup>	73.27 <sup>b</sup>	63.11 <sup>c</sup>	74.49 <sup>ab</sup>	1.05	<.0001	72.16
Acid detergent fiber(ADF)							
12	62.64 <sup>a</sup>	57.69 <sup>b</sup>	63.83 <sup>a</sup>	58.13 <sup>b</sup>	0.96	0.0037	60.57
24	59.20 <sup>b</sup>	57.01 <sup>c</sup>	62.86 <sup>a</sup>	58.02 <sup>c</sup>	0.35	<.0001	59.27
48	58.38 <sup>a</sup>	55.26 <sup>b</sup>	54.97 <sup>b</sup>	57.96 <sup>a</sup>	0.82	0.0366	56.65
72	56.32 <sup>a</sup>	55.21 <sup>a</sup>	47.32 <sup>b</sup>	56.55 <sup>a</sup>	1.11	0.001	53.85

<sup>abc</sup>Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

○ 물성검사(경도검사)



- 배양시간별 물성(경도)검사는 Table 6-5와 Table 6-6과 같음. 12시간대 모든 조사료에서 유의적인( $P < 0.05$ ) 차이가 없었음. 24시간 배양 후에는 Rice straw, Tall fescue에서 유의적으로 낮았으며, 48시간대에는 Rice straw에서 유의적으로 낮았음.
- 72시간대는 Rice straw, Tall fescue, Alfalfa에서 유의적( $P < 0.05$ )으로 낮았음. 사료별로 배양시간별 물성(경도)검사를 살펴보면 Rice straw에서는 48시간, Tall fescue와 Alfalfa는 72시간대에 물성(경도)검사 차이를 나타냈으며, Timothy는 유의적( $P < 0.05$ )인 차이가 없었음.
- 물성(경도) 검사의 오차값이 높은 이유는 샘플의 조직이 일정하지 않았기 때문으로 생각됨. 조사료의 특성상 아래쪽 straw 부분은 구성상 리그닌과 큐틴으로 이루어져 있으며, 분해가 잘 이루어지지 않음. 또한 조사료의 원 줄기에서 윗부분은 가늘고, 조직 구성상 잎에 가까운 조직이기에 오차의 범위가 넓었을 것으로 판단됨.
- 유의적( $P < 0.05$ )인 차이는 없으나 Alfalfa가 다른 조사료들에 비해 72시간대 낮은 수치를 보이는 것은 상대적으로 두과 작물인 알팔파가 화분과 작물인 Rice straw, Timothy, Tall fescue 보다 조단백과 조지방이 많이 함유되어 분해가 이루어졌을 것으로 생각됨
- Timothy를 제외한 모든 조사료에서 48시간 이후에 물성(경도)검사 차이를 보이는 것으로 나타났음. 이것 또한 조섬유의 분해가 48시간 이후부터 이루어지기 때문인 것으로 사료됨.

Table 6-5. Incubation time physical properties(hardness) test

Incubation times(h)	Treatments				SEM	P value	Mean
	Rice Straw	Tall fescue	Timothy	Alfalfa			
12	5.52 <sup>a</sup>	3.94 <sup>a</sup>	4.82 <sup>a</sup>	6.51 <sup>a</sup>	9.02	0.4472	5.20
24	3.70 <sup>b</sup>	3.20 <sup>b</sup>	4.23 <sup>ab</sup>	5.77 <sup>a</sup>	2.09	0.0167	4.23
48	2.34 <sup>c</sup>	2.58 <sup>bc</sup>	4.08 <sup>ab</sup>	5.44 <sup>a</sup>	2.11	0.0016	3.61
72	2.26 <sup>b</sup>	2.09 <sup>b</sup>	3.91 <sup>a</sup>	1.19 <sup>b</sup>	1.34	0.0019	2.36

<sup>abc</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly( $P < 0.05$ ).

Table 6-6. Physical properties(hardness) Analysis of Forage

Treatments	Incubation times(h)				SEM	P value	Mean
	12	24	48	72			
Rice Straw	5.52 <sup>a</sup>	3.70 <sup>ab</sup>	2.34 <sup>b</sup>	2.26 <sup>b</sup>	3.19	0.0069	3.45
Tall fescue	3.94 <sup>a</sup>	3.20 <sup>ab</sup>	2.58 <sup>ab</sup>	2.08 <sup>b</sup>	1.55	0.0563	2.95
Timothy	4.82 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>	4.08 <sup>a</sup>	3.91 <sup>a</sup>	3.79	0.8304	4.26
Alfalfa	6.51 <sup>a</sup>	5.77 <sup>a</sup>	5.44 <sup>a</sup>	1.19 <sup>b</sup>	6.04	0.0019	4.73

<sup>ab</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly( $P < 0.05$ ).

○ VFA 생성량

- 본 실험에서 VFA의 생성량은 Table 6-7과 같음. VFA는 반추동물이 섭취하는 사료 에너지의 약 70~80%가 VFA로 전환되고, 반추동물의 에너지의 역할을 하는 중요한 요인이기도 함. 이 처럼 반추동물의 조사료와 VFA는 밀접한 관계가 있음.
- 본 실험에서는 시간의 흐름에 따라 모든 처리구에서 총 VFA의 량이 증가하는 경향을 나타냈으며, Tall fescue에서 유의적( $P < 0.05$ )으로 높게 나타났음. Acetic acid는 시간의 흐름에 따라 감소하는 경향을 나타냈으며, Propionic acid는 시간의 흐름에 따라 증가하는 경향을 나타냈음. 본 실험에서 VFA의 생성량은 시간의 흐름에 따라 발효가 잘 이루어지고 있음을 간접적으로 보여줌.

Table 6-7. Effects of feeding type on VFA concentration in the time-dependent fermentation(mM/g)

Incubation time(h)	Treatments				SEM
	Timothy	Tall fescue	Alfalfa	Rice Straw	
Total VFA					
12	93.62 <sup>a</sup>	78.76 <sup>a</sup>	54.09 <sup>b</sup>	76.38 <sup>a</sup>	2.56
24	151.75 <sup>b</sup>	180.67 <sup>a</sup>	112.25 <sup>c</sup>	65.84 <sup>d</sup>	2.81
48	150.82 <sup>c</sup>	218.63 <sup>a</sup>	169.41 <sup>b</sup>	100.27 <sup>d</sup>	2.12
72	187.78 <sup>b</sup>	221.80 <sup>a</sup>	153.16 <sup>c</sup>	129.16 <sup>d</sup>	1.51
Acetic acid					
12	58.09 <sup>b</sup>	60.89 <sup>b</sup>	68.87 <sup>a</sup>	67.45 <sup>a</sup>	0.40
24	55.81 <sup>c</sup>	59.24 <sup>bc</sup>	63.64 <sup>a</sup>	61.39 <sup>ab</sup>	0.46
48	45.80 <sup>b</sup>	56.62 <sup>a</sup>	58.55 <sup>a</sup>	57.68 <sup>a</sup>	0.35
72	56.10 <sup>ab</sup>	53.38 <sup>b</sup>	41.39 <sup>c</sup>	57.16 <sup>a</sup>	0.39
Propionic acid					
12	27.95 <sup>a</sup>	25.38 <sup>a</sup>	23.97 <sup>a</sup>	24.62 <sup>a</sup>	0.64
24	23.89 <sup>a</sup>	25.67 <sup>a</sup>	24.36 <sup>a</sup>	23.51 <sup>a</sup>	0.51
48	42.03 <sup>a</sup>	29.78 <sup>b</sup>	31.21 <sup>b</sup>	26.49 <sup>c</sup>	0.37
72	30.19 <sup>c</sup>	32.44 <sup>bc</sup>	40.84 <sup>a</sup>	34.49 <sup>b</sup>	0.40
Butyric acid					
12	4.49 <sup>a</sup>	5.10 <sup>a</sup>	3.24 <sup>b</sup>	3.38 <sup>b</sup>	0.11
24	12.11 <sup>a</sup>	8.93 <sup>b</sup>	5.91 <sup>c</sup>	7.57 <sup>bc</sup>	0.23
48	6.40 <sup>a</sup>	2.79 <sup>b</sup>	6.14 <sup>a</sup>	6.06 <sup>a</sup>	0.12
72	7.13 <sup>ab</sup>	6.48 <sup>bc</sup>	8.63 <sup>a</sup>	5.17 <sup>c</sup>	0.21
Iso-butyric acid					
12	1.26 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a</sup>	0.59 <sup>b</sup>	0.392 <sup>b</sup>	0.05
24	0.78 <sup>a</sup>	1.32 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	1.357 <sup>a</sup>	0.10
48	3.22 <sup>b</sup>	5.71 <sup>a</sup>	0.28 <sup>d</sup>	1.237 <sup>c</sup>	0.09
72	0.47 <sup>c</sup>	5.50 <sup>a</sup>	4.51 <sup>b</sup>	0.468 <sup>c</sup>	0.01
Valeric acid					
12	1.61 <sup>a</sup>	1.55 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.64 <sup>a</sup>	0.18
24	3.48 <sup>a</sup>	1.88 <sup>b</sup>	1.99 <sup>b</sup>	1.71 <sup>b</sup>	0.18
48	1.87 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>	1.67 <sup>a</sup>	1.96 <sup>a</sup>	0.12
72	2.16 <sup>b</sup>	1.16 <sup>c</sup>	3.02 <sup>a</sup>	0.49 <sup>d</sup>	0.07
Iso-valeric acid					
12	6.61 <sup>a</sup>	5.80 <sup>a</sup>	2.80 <sup>b</sup>	3.52 <sup>b</sup>	0.15
24	3.93 <sup>a</sup>	2.97 <sup>a</sup>	3.33 <sup>a</sup>	4.46 <sup>a</sup>	0.22
48	0.68 <sup>d</sup>	3.39 <sup>a</sup>	2.43 <sup>c</sup>	3.02 <sup>b</sup>	0.02
72	3.56 <sup>a</sup>	1.03 <sup>c</sup>	1.61 <sup>b</sup>	1.16 <sup>c</sup>	0.05
A/P ratio					
12	2.08 <sup>c</sup>	2.40 <sup>bc</sup>	2.87 <sup>a</sup>	2.74 <sup>ab</sup>	0.06
24	2.34 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>	2.62 <sup>a</sup>	2.61 <sup>a</sup>	0.07
48	1.09 <sup>c</sup>	1.90 <sup>b</sup>	1.88 <sup>b</sup>	2.18 <sup>a</sup>	0.03
72	1.86 <sup>a</sup>	1.65 <sup>a</sup>	1.01 <sup>b</sup>	1.66 <sup>a</sup>	0.04

<sup>abc</sup>Means with different superscripts in the same column differ significantly( $P < 0.05$ ).

## 나. 산과 반응에 의한 검사(*In vitro* 반추위 소화율 실험[pH 3])

### 1) 재료 및 방법

#### ○ 공시축 및 사양관리

- 국립 경상대학교 야생동물보호센터에서 사육중인 반추위 cannula가 장착된 한우(체중 450 kg±30 kg)로부터 *in vitro* 반추위 발효 시험을 위한 시험용 위액을 채취하였음
- 공시동물의 사료는 농후사료와 조사료(Timothy)를 40:60으로 하여 체중의 2% 를 1일 2회(09:00 및 17:00) 분할 급여하였고, 물과 미네랄 블록은 자유섭취토록 하였음

#### ○ 공시재료 및 *in vitro* 시험설계

- 공시재료는 Timothy를 2 mm screen으로 분쇄 한 후 5 L bottle에 넣어 다음 시험 기질로 사용하였고 AOAC법으로 분석한 기질의 화학적 조성 결과는 Table 6-8과 같음
- 시험용 위액 준비는 오전 사료 급여 시간 전에 반추위에 장착된 cannula를 통하여 채취하였고, 4겹의 cheese cloth에 걸러서 O<sub>2</sub>-free N<sub>2</sub>가 충전 된 보온용기에 담아 실험실로 운반하였음. 실험을 수행하기 전 반추 위액은 잔여 사료 입자를 제거하기 위해 2겹의 cheese cloth로 한 번 더 걸렀고, 시험에 사용된 McDougall's buffer는 pH 3으로 맞추기 위해 HCl(35%)을 투입하였음(Table 6-9).
- 반추위액과 buffer를 1:2의 비율로 혼합한 후 200 g의 기질이 담긴 5 L bottle에 혐기상태(O<sub>2</sub>-free-N<sub>2</sub>)로 3 L 분주한 후 뚜껑을 닫아 밀봉하였음. 각 처리구별 배양은 39°C의 shaking incubator(Jeio Tech, SI-900R; 120rpm)에서 4시간(12, 24, 48, 72 h) 3반복으로 수행하였음

#### ○ pH 측정

- 각 배양 시간대 별 pH meter(Mettler Toledo, MP230)를 이용하여 측정하였음

#### ○ 미생물 성장량

- pH 측정 후, 배양액을 1.5mL E-tube에 채취하여 사료입자를 제거하기 위해 3,000rpm에서 3분간 원심분리 하였음.
- 상등액을 취하여 14,000rpm에서 3분간 재 원심 분리하여 미생물 pellet을 침전시킨 후, 상등액은 제거하고 pellet에 sodium phosphate buffer(pH 6.5)를 1mL 첨가하여 vortex로 교반시키는 세척 과정을 3회 반복 후 spectrophotometer(BIO-RAD, Model 680)를 이용하여 550nm에서 O.D.(optical density)값을 구하여 미생물 성장량을 측정하였음

Table 6-8. Chemical composition of experimental feedstuff used as a substrate for *in vitro* incubation

Chemical composition	Content
Moisture(%)	8.87
Crude Protein(% DM)	13.37
Ether extracts(% DM)	2.25
Crude Fiber(% DM)	21.87
Crude Ash(% DM)	8.62
NDF(% DM)	53.18
ADF(% DM)	30.57
Hemicellulose(% DM)	22.61

Table 6-9. The chemical composition of McDougall's buffer

Ingredient	Amount(g/L D.W.)
NaHCO <sub>3</sub>	9.80
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4.62
KCl	0.57
NaCl	0.47
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.12
4% CaCl <sub>2</sub> solution(mL) <sup>1)</sup>	1.00

<sup>1)</sup>4% CaCl<sub>2</sub> solution: CaCl<sub>2</sub> 4g /dL D.W.

The HCl(35%) to prepare pH 3 was added to the buffer.

○ 암모니아 분석

- Chaney와 Marbac의 방법에 의해 phenol color reagent와 alkali-hypochlorite reagent로 위액중의 암모니아를 발색한 후 spectrophotometer(BIO-RAD Model 680)를 이용하여 630 nm에서 O.D(Optical density)값을 구하여 측정하였음

○ 단백질 분석

- Bradford<sup>2)</sup>의 방법에 의해 Comassie Brilliant Blue G-250 염색액을 이용하여 배양액 중의 순 단백질을 발색 후 spectrophotometer(BIO-RAD Model 680)를 이용하여 595nm에서 O.D(Optical density)값을 구하여 측정하였음

○ Glucose 농도 측정

- 배양액을 1.5 mL E-tube에 채취하여 사료입자를 제거하기 위해 3,000rpm에서 3분간 원심분리한 후, test tube에 상등액 200uL와 DNS 용액 600uL를 분주한 후 vortex하였음. 항온수조 100°C에 5분간 배양 후 즉시 4°C에서 10분 식힘.

- Microtiter plate에 400uL 분주 후 Spectrophotometer(BIO-RAD, Model 680)를 이용하여 595 nm에서 O.D.(Optical density) 값을 구하여 측정하였음

○ VFA 측정

- 배양액을 1.5 mL E-tube에 채취하여 12,000 rpm에서 3분간 원심 분리하여 사료입자를 제거하고, 상등액을 0.20um syringe filter로 여과 후 HPLC(Agilent-1200, Germany)를 이용하여 분석하였음

- 시료의 주입량은 10uL였고, 이동상 용액은 0.0085N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 사용하였고, 유속은 0.6mL/min이었으며, Column은 300mm × 7.8mm I.d. MetaCarb 87H(Varian, USA)를 사용하였으며, 온도는 35°C에서 사용하였음

○ 일반성분분석

- 수분, 조단백, 조회분은 AOAC법으로, NDF와 ADF 함량은 Georing과 VanSoest법에 의해 분석하였음

- ADF와 NDF 함량으로부터 RFV(Relative feed value)는 Linn과 Martin 등의 계산식에 의해 구하였음

○ 통계처리

- 통계처리는 SAS package program의 General Linear Model(GLM) procedure에 따라 처리하였으며, 각 처리구간의 유의성 검증을 위해 분산분석을 실시 후, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검정하였음(P<0.05).

## 2) 결과 및 고찰

○ 반추위 발효성상(pH, 미생물 성장량, Glucose, Ammonia, Protein)

- pH는 강산성 pH 3에 고정하여 실험하였기에 시간의 흐름에 따라 큰 변화 없이 평균 pH 3.88로 나타났음

- 미생물 성장량에서 나타난 미생물들은 산 이용 박테리아 *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*와 내산성을 띄는 *Bacillus*균으로 추정되며 본 과제 이외의 실험으로 더 연구할 가치가 있다고 보여짐

- Glucose, Ammonia, Protein 모두 유의적(P<0.05)인 차이가 없었음. 이것은 단백질이나 지방이 많은 농후사료가 아니라 조사료이기 때문인 것으로 생각됨(Table 6-10)

Table 6-10. Ruminal fermentation characteristics of the feed incubated in pH 3.

Item	Incubation(hr)					SEM	P value	Mean
	12	24	48	72				
pH	4.236 <sup>a</sup>	3.791 <sup>b</sup>	3.776 <sup>c</sup>	3.735 <sup>d</sup>	0.004	<.0001	3.884	
Rumen microbial growth rate(OD at 550nm)	0.129 <sup>b</sup>	0.133 <sup>a</sup>	0.147 <sup>c</sup>	0.177 <sup>c</sup>	0.015	0.1888	0.150	
Glucose(mL/mg)	0.410 <sup>a</sup>	0.490 <sup>a</sup>	0.752 <sup>a</sup>	1.023 <sup>a</sup>	0.026	<.0001	0.670	
Ammonia(mL/dL)	1.827 <sup>a</sup>	1.928 <sup>a</sup>	2.369 <sup>a</sup>	3.835 <sup>a</sup>	0.689	0.2231	2.490	
Protein(mL/mg)	0.010 <sup>a</sup>	0.016 <sup>a</sup>	0.017 <sup>a</sup>	0.017 <sup>a</sup>	0.006	0.8111	0.010	

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

○ 일반성분 분석

- 강 산성(pH 3)의 조건에서 시간별 조사료의 화학적 조성은 Table 6-11과 같음
- 반추위 pH를 3으로 고정 시킨 후 Timothy의 화학적 조성은 정상적인 pH의 범위일 때 보다 모든 성분 수치가 높게 나타났으며, 이것은 산성에 치우친 buffer로 인해 화학적 분해가 일어났기 때문으로 사료됨.
- 72시간대 정상 범위 pH로 소화 된 것과 수치를 비교해 보면 Crude protein이 3.44로 나타났는데 pH 3에서는 9.00로 나타났고, RFV도 53.86에서 70.68로 나타났음. 강산성의 조건일 때 예상과 같이 더 많은 양의 성분이 분해되고, 반추동물의 미생물과 관련한 여러 생태계에서는 지속적인 강산성의 유지는 문제가 발생하기에 본 연구에서는 각 조사료의 분해 정도와 대체 조사료를 선정 할 때의 산성분 테스트의 비교 데이터로 활용을 하려고 함.

Table 6-11. Proximate analysis of the feed incubated in pH 3

Item	Incubation(hr)					SEM	P	Mean
	12	24	48	72				
Moisture	8.480 <sup>a</sup>	8.210 <sup>a</sup>	8.137 <sup>a</sup>	3.600 <sup>b</sup>	0.403	<.0001	7.107	
Crude protein	11.466 <sup>a</sup>	11.100 <sup>a</sup>	10.283 <sup>b</sup>	9.000 <sup>c</sup>	0.196	<.0001	10.463	
Crude ash	4.000 <sup>a</sup>	3.740 <sup>a</sup>	3.283 <sup>b</sup>	2.520 <sup>c</sup>	0.135	0.0003	3.386	
Relative feed value(RFV)	77.283 <sup>a</sup>	69.187 <sup>b</sup>	78.697 <sup>a</sup>	70.687 <sup>b</sup>	1.059	0.0005	73.963	
Neutral detergent fiber(NDF)	68.327 <sup>a</sup>	67.523 <sup>a</sup>	65.150 <sup>b</sup>	64.553 <sup>b</sup>	0.320	<.0001	66.388	
Acid detergent fiber(ADF)	49.510 <sup>a</sup>	48.893 <sup>a</sup>	46.173 <sup>b</sup>	45.570 <sup>b</sup>	0.398	0.0002	47.537	

<sup>abc</sup>Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

○ VFA 분석

- VFA는 일반적으로 보여지는 양상과 많은 차이가 있었는데, Acetic acid와 Propionic acid가 시간의 흐름에 따라 감소하였고, 수치도 일반적인 발효보다 감소하였음(Table 6-12).
- 보통 반추위액에서 나타나지 않는 Lactic acid가 나타났으며, 일반적인 VFA의 조성을 나타내지 않는 것으로 보아, 반추위 발효가 정상적이지 않았음을 짐작할 수 있음
- 본 연구는 인위적으로 반추위 조건을 pH 3에 맞추어 실험을 진행하였으므로 충분히 나올 수 있는 결과라고 생각되며, 각각의 수치 비교를 통해 다음 실험에 쓰일 소재를 선택하는데 기본 데이터로 참고 할 예정임.

Table 6-12. VFA concentration of the feed incubated in pH 3(mM/L)

Item	Incubation(hr)				SEM	P value	Mean
	12	24	48	72			
Total VFA	111.15 <sup>a</sup>	71.68 <sup>b</sup>	62.53 <sup>c</sup>	55.43 <sup>d</sup>	0.95	<.0001	75.20
Acetic acid	13.18 <sup>d</sup>	20.93 <sup>a</sup>	20.21 <sup>b</sup>	16.67 <sup>c</sup>	0.18	<.0001	17.75
Propionic acid	32.18 <sup>a</sup>	17.08 <sup>b</sup>	2.28 <sup>c</sup>	2.29 <sup>c</sup>	0.20	<.0001	13.46
Lactic acid	65.79 <sup>a</sup>	33.67 <sup>d</sup>	40.04 <sup>b</sup>	36.47 <sup>c</sup>	0.62	<.0001	43.99
A/P ratio	0.41 <sup>d</sup>	1.23 <sup>c</sup>	8.86 <sup>a</sup>	7.33 <sup>b</sup>	0.24	<.0001	4.46

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly( $P < 0.05$ ).

## 2. 섬유질 대체 인공사료의 시제품 제작

### 가. 3D 프린터 기법

- 3D 프린터는 최근 발달되고 있는 기술로서 다양한 형태뿐만 아니라 다양한 소재를 이용할 수 있음.
- 3D 프린터는 금형이 필요하지 않아 간편하게 몰드를 제작할 수 있음.
- 또한 현재의 3D 프린터 기술을 이용하여 제품 개발을 하고자 하였음.

#### 가-1. 3D 프린팅 개요

##### 1) 3D 프린팅 개요개념

- 디지털 디자인 데이터를 이용, 소재를 적층하여 3차원 물체를 제조하는 프로세스임.
- 3D프린팅 공정은 모델링, 프린팅, 후처리의 3단계로 구성되어 있음.
- CAD 등 디자인 SW 또는 3D스캐너를 통한 3차원 디지털 도면제작(모델링)

- 서포터 제거, 연마, 염색, 표면재료 증착 등 최종 상품화를 위한 후 공정(후처리)

## 2) 3D 프린팅 방식 및 소재

○ 재료에 따라 크게 액체, 파우더, 고체의 3가지 방식으로 구분가능.

- 액체 : 액체수지를 레이저로 경화하여 높은 정밀도와 빠른 속도가 장점
- 파우더 : 분말을 레이저로 소결하여 금속 등 재료의 다양성과 견고성이 장점
- 고체 : 필라멘트원료를 녹여 적층하는 방식으로 낮은 제조단가와 높은 강도, 내습성이 장점

## 3) 3D 프린팅의 활용 장점

- 금형이 불필요하여 제작 시간과 비용을 획기적으로 절감
- 고부가 개인 맞춤형 디자인 생산가능
- 개인화된 소비 취향에 대응한 맞춤형 니치상품 생산가능
- 고가 디자인 대중화 가능
- 생산비용의 증가 없이 구조가 복잡한 제품을 생산가능
- 제품별 생산라인이 불필요
- 소비지에서 직접 출력하여 유통 간소화
- 필요한 만큼의 소재 사용으로 낭비 절감
- 일반인도 생산 활동에 참여 가능
- 휴대가 가능한 생산방식

## 4) 3D 프린팅의 경제·사회적 파급효과

- 주력산업을 고부가 가치화하고 제조경쟁력을 강화
- 신규 일자리 창출 및 중소기업 신 성장기회 제공

## 가-2. 재료 및 방법

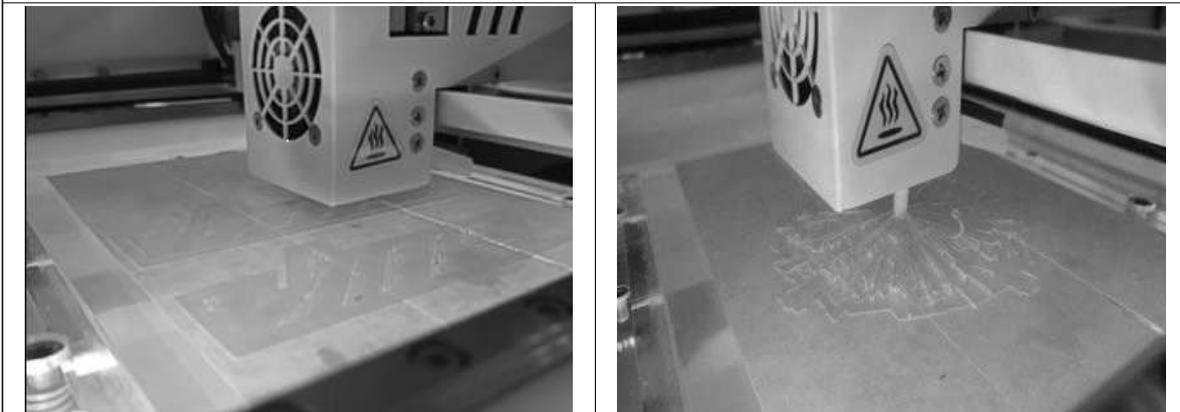
- 1) 필라멘트 주입 : LCD 메뉴 창에서 Preheat PLA/ABS를 선택하여 노출의 온도를 210°C~240°C으로 설정함. 노출 온도 부분이 220°C에 도달 하였는지 확인 후 필라멘트를 넣어 헤드 위쪽부터 아래의 노출까지 나오도록 밀어 넣음. 필라멘트가 흘러나오는 것을 확인 후 헤드 팔 부분을 렌치를 이용하여 고정함.
- 2) 출력물 파일 저장 : 디자인 된 출력물 파일을 STL 파일로 저장함. 변환프로그램(CURA)을 연 후 STL 파일을 불러 온 후 변환프로그램(CURA)에서 STL 파일을 G-Code 파일로 변경함. 최종적으로 변환된 파일을 SD 카드로 저장함.
- 3) 3D 프린터 출력 : 3D 프린터의 전원을 켜 후 출력물이 담긴 SD 카트를 SD 카드 슬롯에 삽입 후 초기 LCD 화면에서 컨트롤 버튼을 눌러가며 init SD-card를 선택하고, 다시 컨트롤 버튼을 눌러 print from SD를 선택한 후 실행버튼 클릭함. 원하는 파일을 선택하여 실행 버튼을 눌러 프린팅을 하는데, 프린팅을 바로 시작되는 것이 아니라 온도가 세팅 값에 맞추어 지고 XYZ축이 0점을 맞춘 후 프린팅이 진행됨. 인쇄가 완료 되면 프

린터기 정면 커버를 열고 Bed 고정나사를 풀어 준 후 베드를 분리하여 베드에서 출력물을 떼어냄.

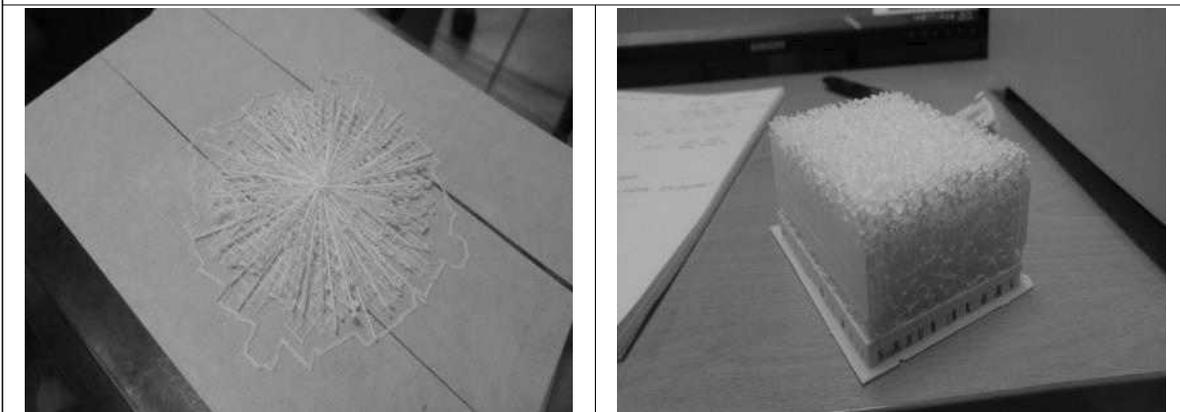
- 4) Bed Taping : 시계방향으로 풀어 베드를 분리 하고, 동봉되어 있는 내열 마스킹 테이프를 베드에 붙이고 칼로 정리. 베드를 끼워 넣고 잠금장치를 반시계방향으로 돌려 베드를 고정.



CAD 프로그램으로 출력물을 디자인 후 출력물을 CURA 프로그램으로 확인



3D 프린터에서 필라멘트가 나와 디자인 된 출력물을 출력 중



3D 프린터로부터 출력이 완성되고 출력물을 베드에서 떼어낸 모습

Figure 6-1. 3D 프린터를 이용한 출력물 제작과정

### 가-3. 결과

- 3D 프린터기를 이용하여 만들 수 있는 인공사료의 형태는 많음. 하지만 3D 프린터의 특징처럼 밑에서 쌓아 올려야 하기 때문에 생각 했던 것 보다 다양한 각도로 시도 하기에 어려움이 있었음.
- 원래 계획하였던 모양의 형태 보다는 다소 다른 경향이 있으나, 다음 스텝을 진행하기 위해 꼭 필요한 제작이었음.
- 3D 프린터기를 이용하여 인공사료 자체를 제작하기 보다는 다양한 형태의 몰드를 제작하고 다양한 소재를 찾는 것이 바람직하다고 판단됨. 따라서 다음 스텝은 3D 프린터기를 이용하여 몰드를 제작하고자 함.

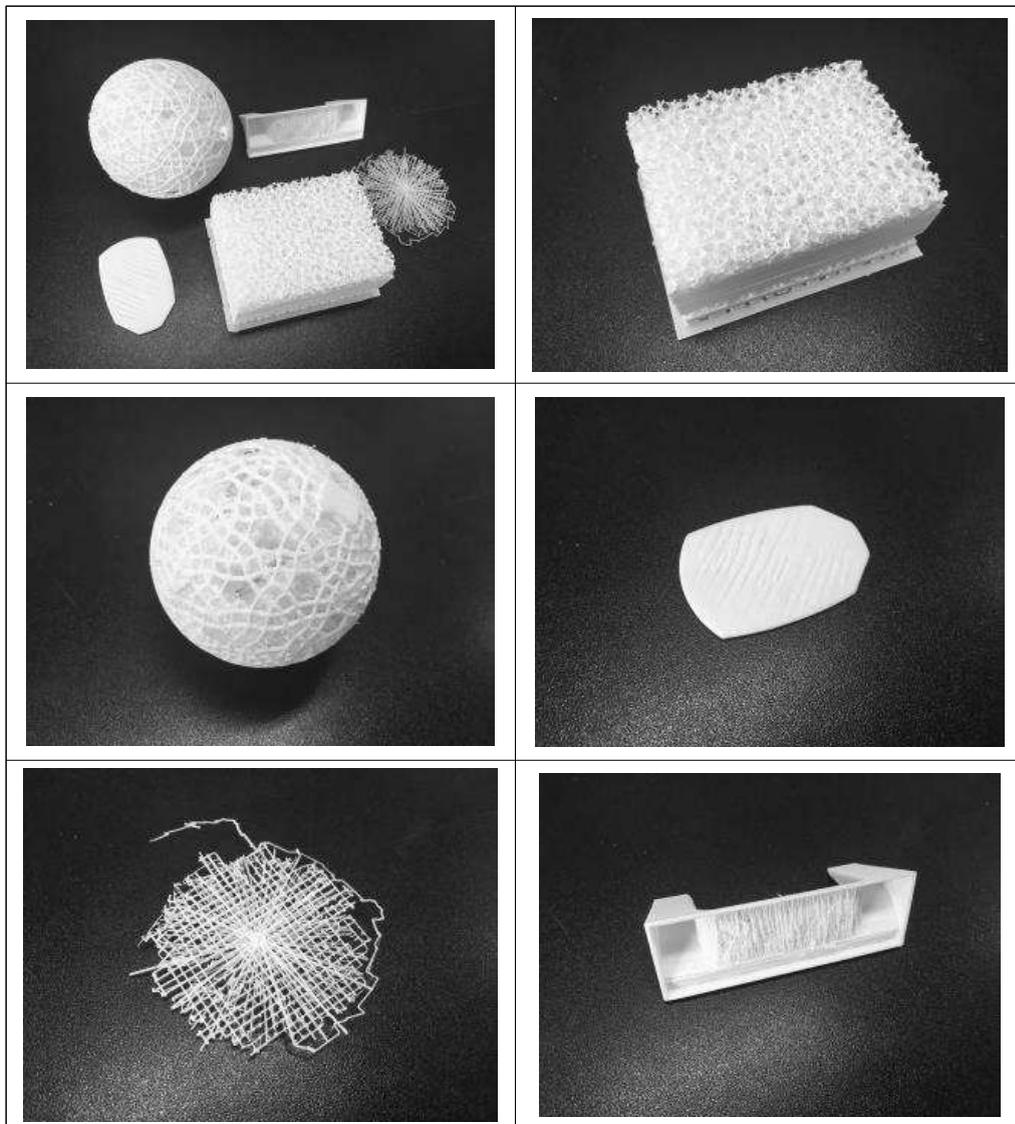


Figure 6-2. 3D 프린터를 이용한 여러가지 인공사료 형태 제작

나. 인공사료 형태 제작

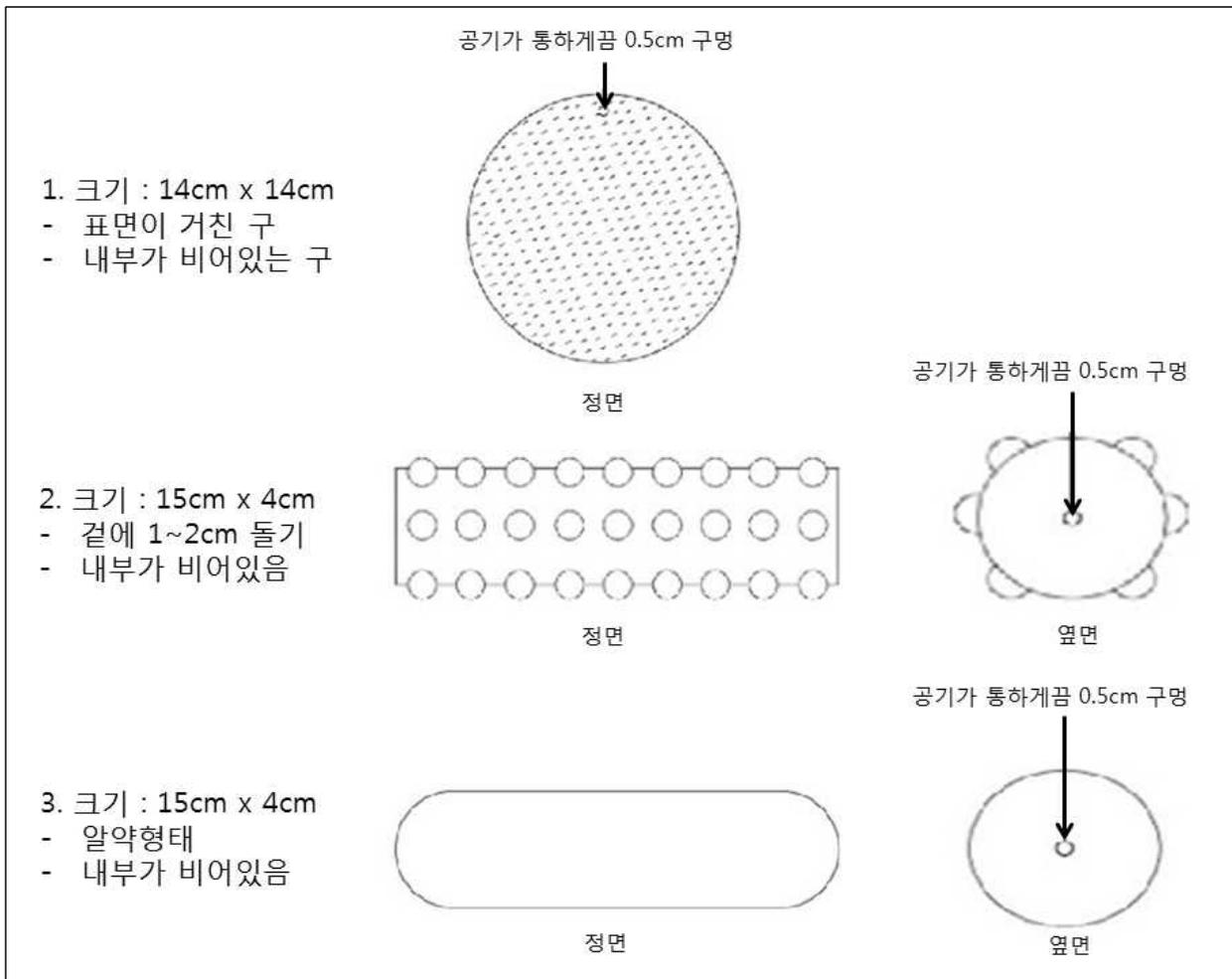


Figure 6-3. 3D 프린터 제작 전 예비 도안 그리기

다. 인공사료 소재 선택

- 3D 프린터를 이용하여 형태를 제작한 몰드에 여러 가지 소재를 이용하여 가장 적합한 인공사료의 소재를 찾고자 하였음. 이미 넘치는 에너지를 충족하는 소재보다는 부피나 용적을 차지하는 소재를 찾는 것으로 방향을 설정함.

○ 재료

종 류	장 점	단 점
 <p>플라스틱 점토 (Plastic Clay, Resin Clay)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 굳으면서 탄성력이 좋음.</li> <li>2. 굳은 후에도 절단 및 미세성형이 가능.</li> <li>3. 점력이 높음.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 수지점토는 수분으로 만들어져 계절별 온도차에 의해 질감이 약간 다르게 느껴짐.</li> <li>2. 질량이 무거워 인공사료로 사용 시 반추위에서 조사료들과 엉켜 가라앉을 가능성이 큼.</li> <li>3. 기존 인공사료는 폴리폴렌의 성분으로 플라스틱에 가까운 성분.</li> </ol>
 <p>액상 실리콘(Liquid Silicon)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 고가의 금형을 제작하지 않고도 모형을 제작할 수 있음.</li> <li>2. 약간의 교육을 받으면 누구나 사용가능</li> <li>3. 열에 강함.</li> <li>4. 실리콘과 경화제를 혼합하여서 사용하여야 하므로 경화제 비율에 따라 실리콘의 점성 조절이 가능.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 액상실리콘은 경화제와 혼합 후 20분후부터 굳기 시작하므로 작업 시간이 20분 내외로 짧음.</li> <li>2. 개봉 후 유통기한이 짧음.</li> <li>3. 실리콘을 굳히는 시간이 깊(25°C에서 8시간, 경화제에 양에 따라 달라짐).</li> </ol>
 <p>석고가루(Gypsum)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 물만 있다면 간편하게 사용가능.</li> <li>2. 상대적으로 가격이 저렴함.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 금형이 제대로 이루어졌는지 확인하기 위해 사용할 수는 있으나, 인공사료로는 사용이 불가능(3D 프린터로 제작한 몰드가 불량인지 파악하는 용도)</li> <li>2. 충격에 약함.</li> </ol>

Figure 6-4. 인공사료 제작을 위한 재료의 특색

○ 결과 : 액상실리콘이 시간과 비용 그리고 환경 호르몬의 영향을 가장 덜 받는 것으로 나타남. 따라서 액상실리콘을 이용하여 시제품을 만들.

라. 3D 인공사료 제작

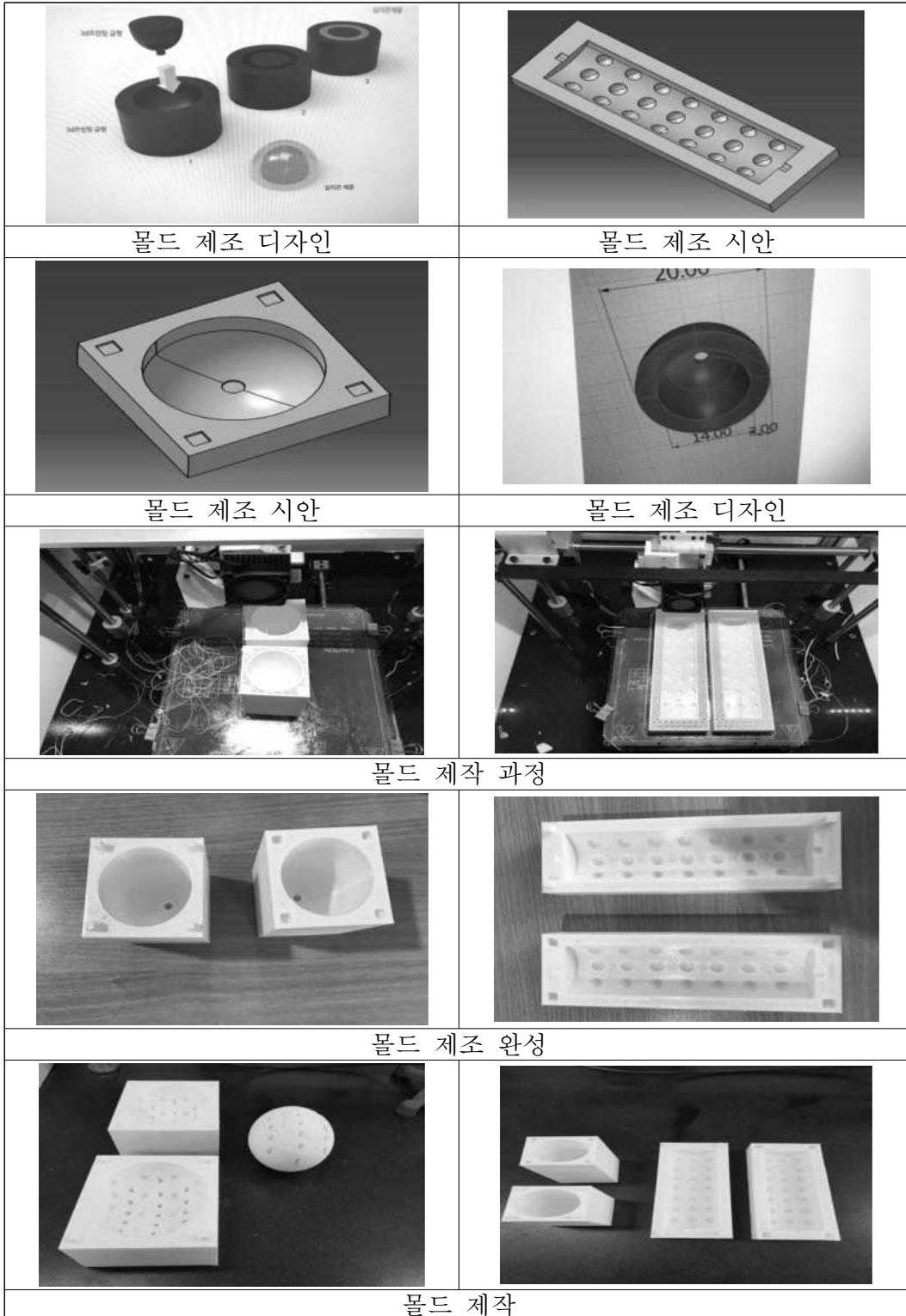


Figure 6-5. 3D 프린터를 이용한 몰드 제작 과정

마. 인공사료 시제품

마-1. 제작 과정

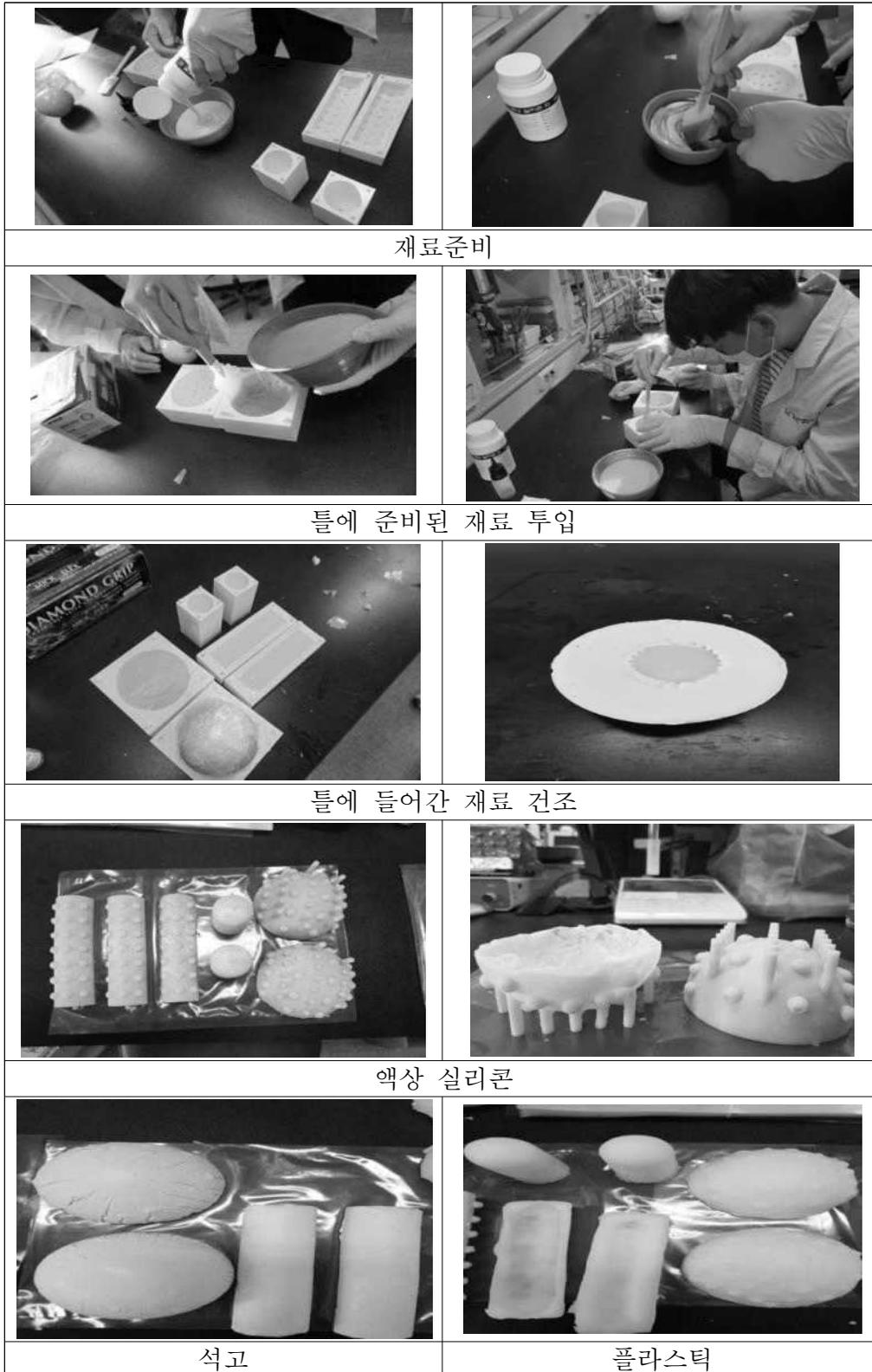
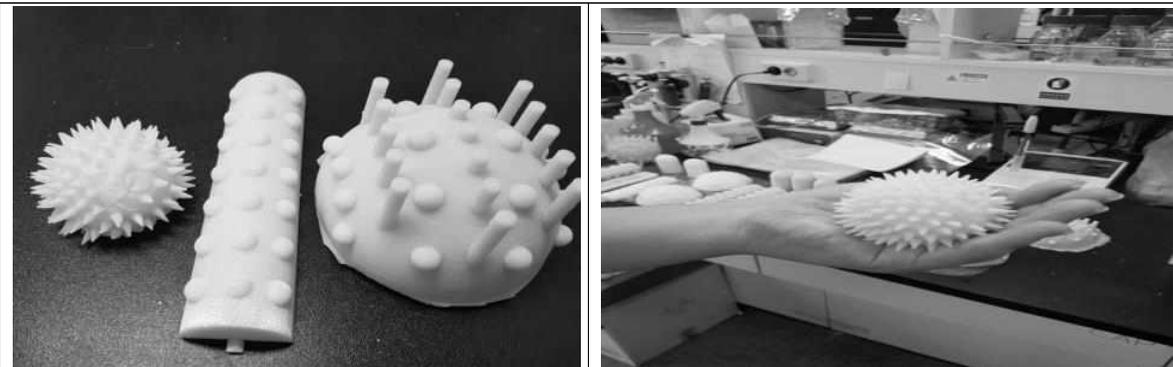


Figure 6-6. 3D 프린터를 이용한 인공사료 시제품 제작 과정



Figure 6-7. 3D 몰드에서 제작한 전체 제작물

마-2 비교실험



돌기형태 비교

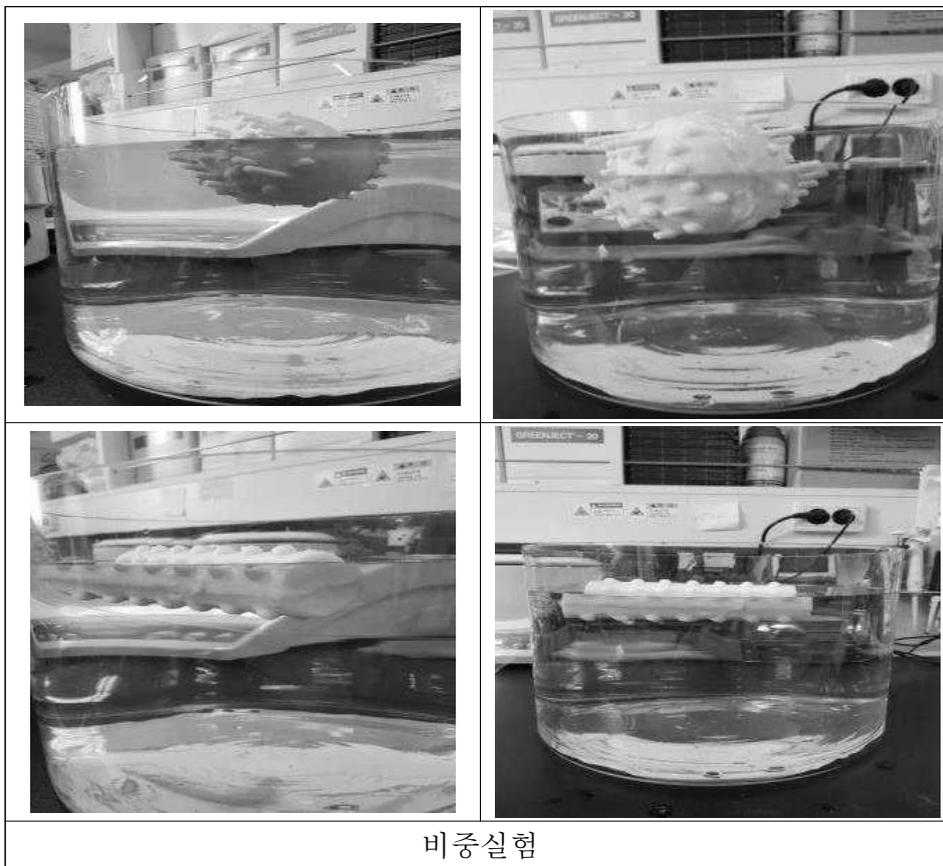


Figure 6-8. 3D 프린터에서 제작한 제작물의 비교시험

#### 바. 결과



Figure 6-9. 3D 프린터에서 제작한 제작물의 최종시안

- 인공사료의 소재로는 실리콘을 선택 하였고, 비중을 고려하여 안을 비우는 구조로 제작을 하였음. 바깥부분은 용모의 발달을 도우기 위해, 자극을 줄 수 있는 돌기 형태를 여러 가지 방법으로 고안하였고, 개체별 사이즈를 생각하여 여러 가지 사이즈를 고려해 제작을 하고자 하며, '17년 8월까지 몇 가지 형태를 더 시도하였음.

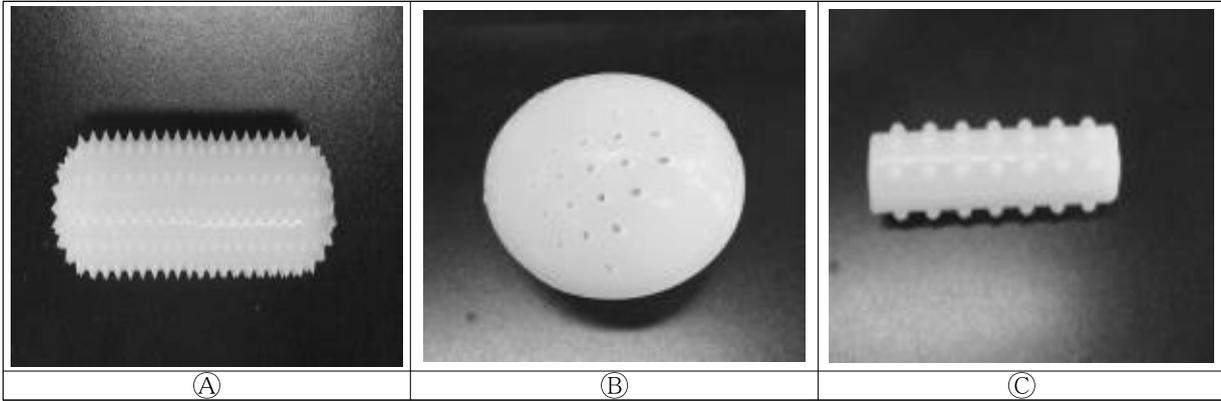


Figure 6-10. 3D 프린터로 제작한 완성시제품

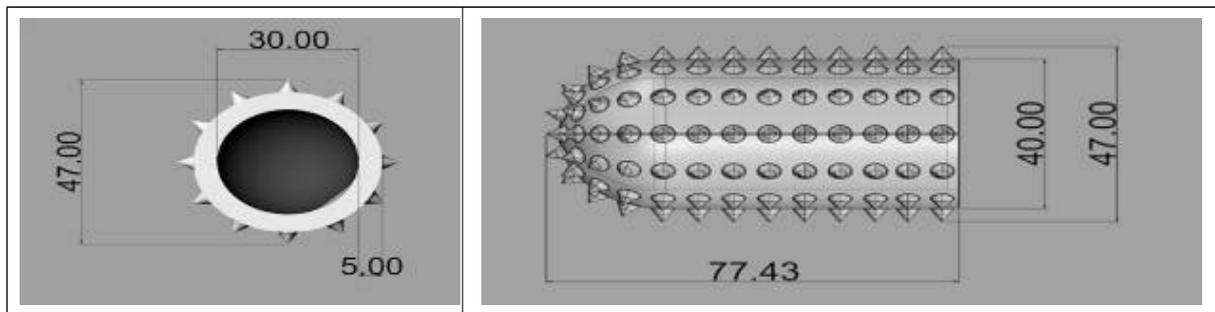


Figure 6-11. 완성 시제품 도안

- ㉠시제품을 최종시제품으로 선택하였음. 관행적 방법인 경구투여 형태로 *in vivo* 실험을 진행하기 위해 두께 0.3 cm, 길이 15.5 × 4.7cm(가로 × 세로)로 제작함. 경우에 따라 소가축용 인공사료를 위해 7.7 × 4.7 cm(가로 × 세로)사이즈도 함께 제작하였음. 3년차 실험을 위해 완성시제품 30개를 우선 제작함.

### 3. 섬유질 대체 인공사료 디자인 및 형태 제작 및 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 *in vivo* 시험

#### 가. *In vivo* 시험 설계

- 공시동물은 경상대학교 야생동물보호센터에서 사육중인 cannula가 시술된 한우 암소 (451 kg)를 이용하였고, 급여사료는 조사료 클라인(Klein grass hay)과 시중에서 판매중인 농후사료(해피드, 펠렛, 제 BBVMRO 158호)였으며, 조사료와 농후사료를 6:2 비율로 체중의 2%를 매일 2회 분할 급여 하였으며 미네랄 블록과 물은 자유 섭취토록 하였음.

○ 급여사료는 시험 전 채집하여 일반성분분석을 먼저 진행하였음(Table 6-13). 조사료 대체제로 사용될 섬유질 대체 사료는 2차년도 연구결과를 바탕으로 디자인을 보완하여 157.58×47.00×40.00mm의 크기, 95±0.3g의 무게로 제작하여 사용하였음(Figure 6-12). 소재는 가축에게 부정적인 영향을 주지 않고 반영구적으로 사용할 수 있는 실리콘을 사용하였음. 제작된 섬유질 대체사료 약 1kg(10개)을 투여하여 시험을 진행하였음. 섬유질 대체사료의 양은 사전에 반복 시험에서 섬유질 대체사료를 투입한 후 사료 섭취량을 확인 하여 사료 잔량의 평균값을 계산하여 시험에 활용하였음. 급여 사료량은 시험기간 시작 후 조사료 2kg과 농후사료 1kg을 1일 2회 급여하였음. 급여 시 바구니를 통하여 잔여사료 발생량을 확인하면서 진행하였으나 섬유질 대체사료를 투입 후 사료 잔량은 발생하지 않았음. 시험기간은 섬유질 대체사료를 급여 후 14일 간 진행하였음.

Table 6-13. The chemical composition of experiment roughage and concentrate

Item	Klein grass hay	Concentrate
Dry matter	92.05	-
Crude protein(%)	11.13	12.00
Ether extract(%)	1.57	1.50
Crude ash(%)	8.56	12.00
Crude fiber(%)	29.17	15.00
Ca(%)	0.35	0.75
P(%)	0.23	0.90
Mg(%)	0.34	-
K(%)	0.10	-
NDF(%) <sup>1)</sup>	67.69	-
ADF(%) <sup>2)</sup>	35.08	-

<sup>1)</sup>NDF: Neutral detergent insoluble fiber, <sup>2)</sup>ADF: Acid detergent insoluble fiber.

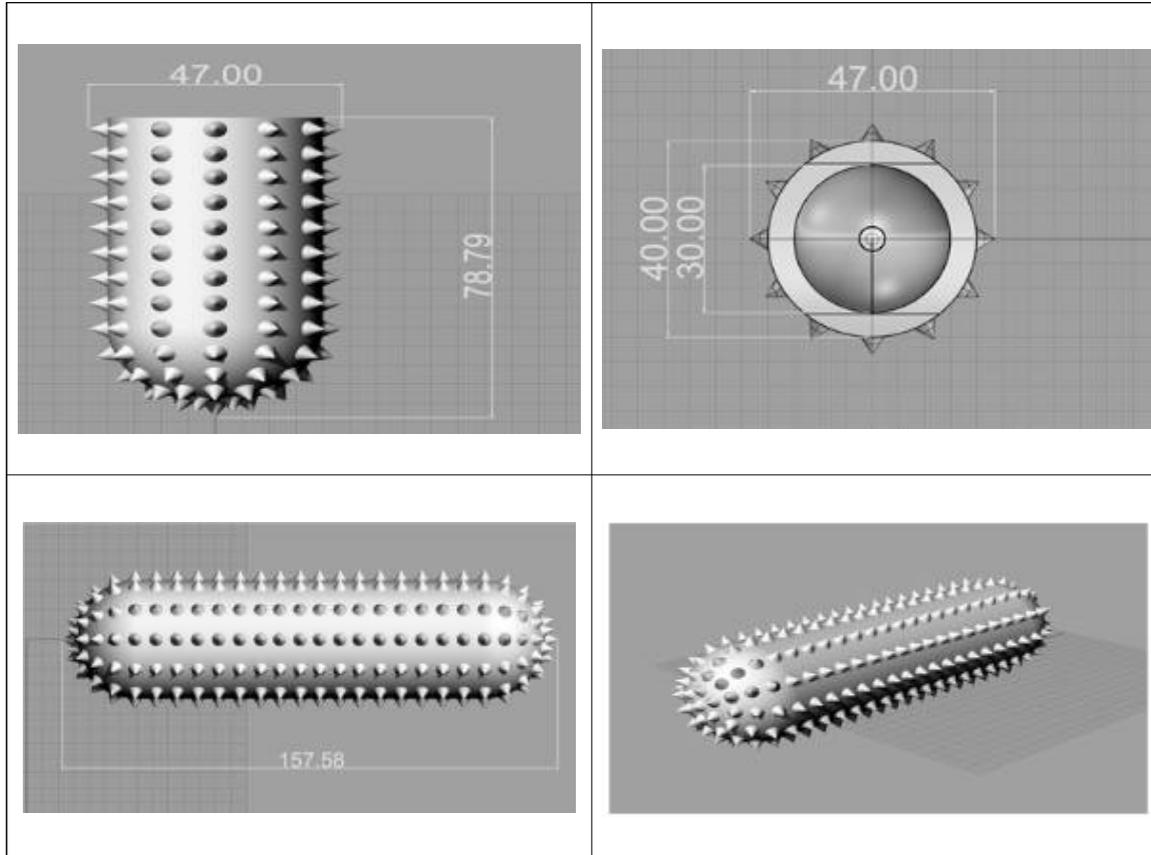


Figure 6-12. *In vivo* 실험에 사용된 섬유질 대체 사료 디자인

- 샘플 채취는 반추위에 시술된 cannula를 통하여 반추위액을 채취하여 여러 겹의 cheese cloth를 이용하여 부유물을 걸러낸 후 3,000rpm으로 15분의 원심분리를 통하여 분석 전까지 -80°C에 보관하였음. 혈액은 경정맥 채혈법을 통하여 SST tube에 채취 후, 바로 3,000rpm으로 10분 간 원심분리 하여 상등액인 혈청을 1.5mL eppendorf tube에 1 mL씩 채취하여 분석 전까지 -80°C에 보관하였음.

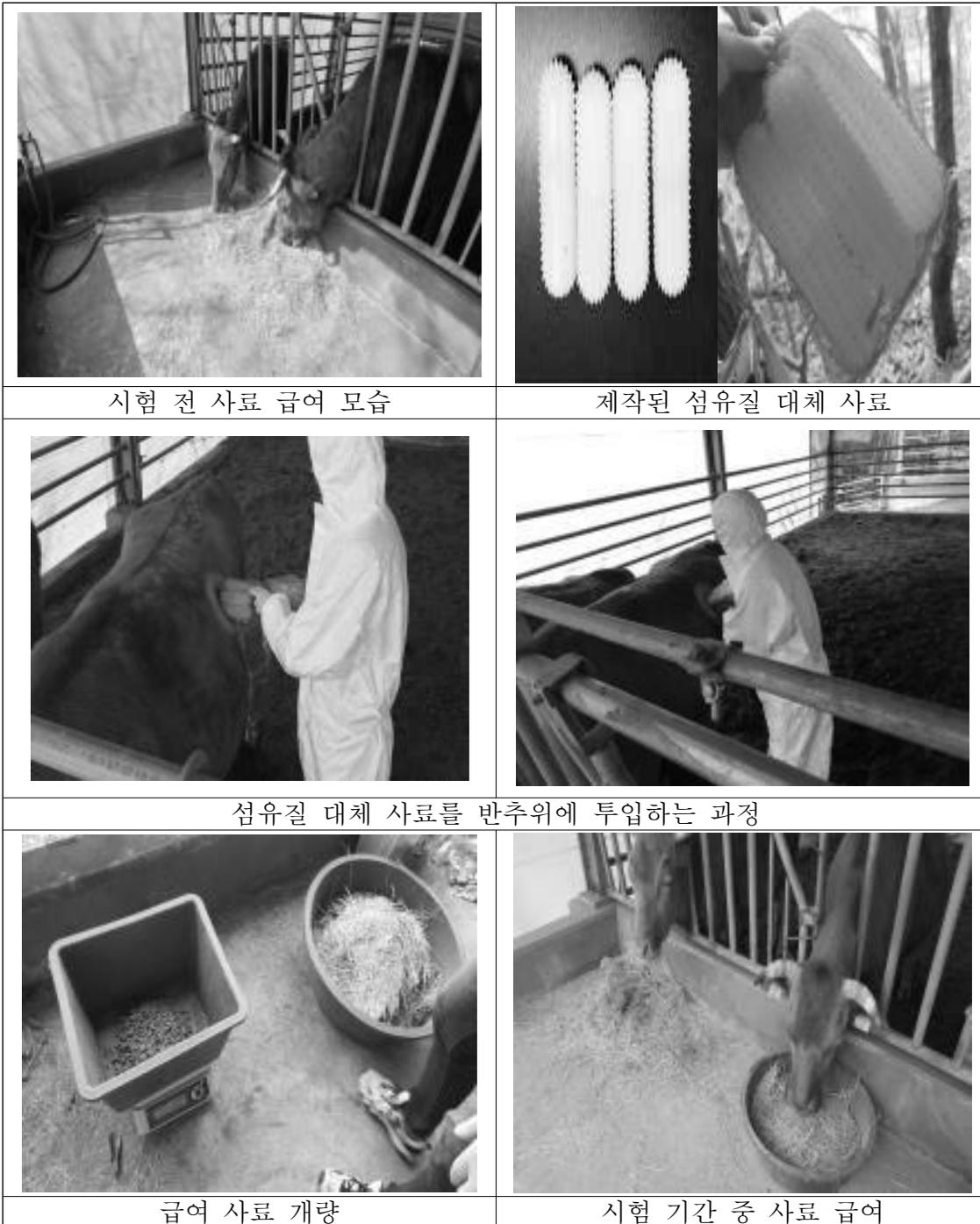


Figure 6-13. *In vivo* 시험기간 시작 전, 후 사료 급여



시험동물 채액 채취(반추위액, 혈액)



수집된 반추위액 및 혈액의 모습



시험기간 후 제거한 섬유질 대체 사료

분석기기(NMR)

Figure 6-14. 반추위액 및 혈액 샘플링

#### 나. 연구수행 내용

##### 1) 시료 분석 및 조사항목

- 채취한 반추위액 샘플은 pH meter(Lab 850)를 이용하여 섬유질 대체사료 급여 전후 샘플을 측정하였음.

- <sup>1</sup>H-NMR분석을 위한 반추위액의 전처리는 1.5mL E-tube에 반추위액을 1mL 씩 옮겨 담아 3,000rpm으로 10분을 원심분리 하여 부유중인 사료입자를 제거한 후 12,000rpm으로 10분을 다시 돌려 상등액 300uL를 취함. NMR분석의 기준물질로 사용된 TSP는 D<sub>2</sub>O solvent에 녹여 0.4mM로 만들어서 300uL를 취해 반추위액과 혼합하여 총액 내 TSP농도를 0.2mM로 만듦. 그 후 5mm NMR tube에 옮겨 담아 SPE-800 MHz NMR-MS Spectrometer(Bruker BioSpin AG)를 이용하여 대사물질 분석을 실시하였음.
- 혈액 분석은 -80°C에 보관중인 serum 샘플을 혈액 분석 전문기관인 (주)녹십자 랩셀을 통하여 albumin, ALP(Alkaline phosphatase), ALT(Alanine aminotransferase), AST(Aspartate aminotransferase), total bilirubin, BUN(Blood urea nitrogen), total cholesterol, free fatty acid, globulin, glucose, HDL(High-density lipoprotein) cholesterol, CRP(C-reactive protein), inorganic-phosphorus, insulin, LDH(Lactate dehydrogenase), LDL(Low-density lipoprotein) cholesterol, total protein, triglyceride, γ-GTP(Glutamyl transpeptidase) 등 19항목에 대하여 Cobas 8000을 이용하여 분석을 진행하였음(Table 6-14).

Table 6-14. Analysis methods of change in serum parameter in hanwoo on feeding artificial feed

Contents	Analysis methods
Albumin	Colorimetry(BCG Method)
ALP	IFCC(Colorimetry with PNPP)
ALT(SGPT)	Modified IFCC UV(without pyridoxal phosphate without sample blank)
AST(SGOT)	Modified IFCC UV(without pyridoxal phosphate without sample blank)
Bilirubin, total	Colorimetry(Diazo Reagent)
BUN	Kinetic UV Assay
Cholesterol,total	Enzymatic Colorimetric Assay
Free fatty acid	ACS-ACOD(Colorimetry)
Globulin	Calculation
Glucose(S)	Enzymatic reference method with hexokinase
HDL Cholesterol	Homogeneous Enzymatic Colorimetric Assay
CRP(HS)	Immunoturbidimetric Assay
Inorganic-Phosphorus	Phosphomolybdate &UV(Ultraviolet Spectrophotometry)
LDH	UV-Assay(L→P)
LDL Cholesterol	Homogeneous Enzymatic Colorimetric Assay
Protein,total	Colorimetry
Triglyceride	Enzymatic Colorimetric Assay
γ-GTP	Enzymatic Colorimetric Assay
Insulin	ECLIA(Electrochemiluminescence Immunoassay)

- 통계처리는 SAS package program의 General Linear Model(GLM) procedure에 따라 처리하였으며, 각 처리구간의 유의성 검증을 위해 분산분석을 실시 후, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검정하였음( $P < 0.05$ ).

**다. *In vivo* 시험 샘플 분석 결과**

**1) 반추위액 pH**

- 섬유질 대체사료 투여 전(F1) 반추위 pH는 6.55에서 시험기간이 끝난 후 5.74로 감소하였지만 정상범위(5.5~7.5)를 유지하였음(Figure 6-15). 반추위 pH는 급여하는 사료의 종류 및 비율에 따라 변화하며, 사료 급여 후 반추위 내 미생물들의 분해과정을 통해 휘발성지방산과 타액에 의해 변화함. 급여하는 조사료의 양이 감소하면 저작활동이 감소로 인한 타액 분비가 저하되어 반추위 pH가 감소된다고 함. 섬유질 대체 사료 투여 후(F2) 반추위 pH가 낮아진 것은 앞서 언급하였던 반추위환경에 의한 것으로 사료됨.
- 섭취한 인공사료 부피만큼 조사료를 약 1kg 덜 섭취하게 되어 반추위 내 pH가 낮아진 것으로, 이러한 결과는 대사성 질병 예방에 도움이 될 것으로 판단됨

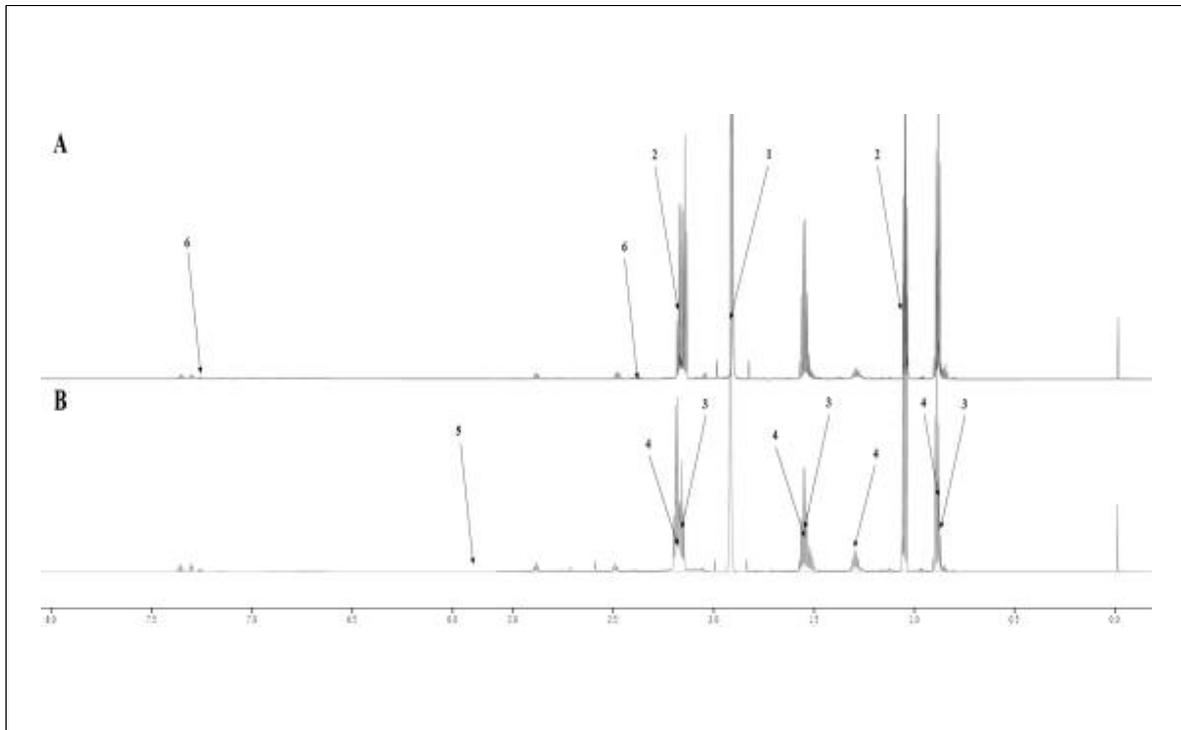


Figure 6-15. Representative  $^1\text{H}$  - 800 NMR spectra of 'after feeding artificial feed' (A) and 'before feeding artificial feed' (B) on *in vivo* rumen fluid.

(The spectra were constructed using TSP at  $\delta$  0.00 ppm as a reference and were unnecessary excluded at  $\delta$  3.00 to  $\delta$  5.00. Spectra number-1: acetate, 2: propionate, 3: butyrate, 4: valerate, 5: urea, 6: p-resol)

2) 반추위액의 대사물질 분석

- <sup>1</sup>H-NMR을 이용하여 반추위액을 분석한 결과는 Table 6-15-1,2와 같으며 NMR spectrum은 Figure 6-15와 같음. 섬유질 대체사료를 급여 후인 F2에서 acetate, propionate, butyrate와 같은 휘발성지방산 생성량이 급여 전 보다 유의적( $P<0.05$ )으로 높았으며 alanin, ribose, 3-indoxylsulfate, caffeine, fucose, melatonin이 유의적( $P<0.05$ )으로 높았음. 급여 전인 F1에서는 histidine,  $\pi$ -Methylhistidine, N-Acetylcysteine, Urocanate, 3,5-Dibromotyrosine, Carnosine이 유의적( $P<0.05$ )으로 높았음.
- 휘발성 지방산은 반추위 발효에 대한 기본적인 지표이며 섭취한 사료 에너지가 전화되는 중요한 발효산물임. 또한 비육우에 대해서는 체중 증가와 착유우에 대해서는 유지방 생성에 관련된 전구물질임. F2에서 반추위액 내 휘발성 지방산 생성량이 유의적( $P<0.05$ )으로 높았던 것은 급여된 사료의 양은 적었으나, 섬유질 대체 사료가 반추위벽을 자극하여 반추위액 분비가 촉진 되었으며 반추위 미생물이 작용할 수 있는 사료의 양은 제한적이기 때문인 것으로 사료됨.

Table 6-15-1. Analysis of VFA on rumen fluid using <sup>1</sup>H-NMR(mM/L)

Items	Treatments <sup>1)</sup>		SEM	P value	Mean
	F1	F2			
Acetate	16.6353 <sup>b</sup>	26.8188 <sup>a</sup>	0.6296	0.0003	21.7271
Propionate	4.8995 <sup>b</sup>	5.7074 <sup>a</sup>	0.1880	0.0384	5.3034
Butyrate	3.0769 <sup>b</sup>	6.3423 <sup>a</sup>	0.1428	<.0001	4.7096
Valerate	1.6764 <sup>a</sup>	0.6496 <sup>b</sup>	0.0079	<.0001	1.1630

<sup>ab</sup>Means with the different superscripts in the same column differ significantly( $P<0.05$ )

<sup>1)</sup>F1: Before feeding artificial feed, F2: After feeding artificial feed

Table 6-15-2. Analysis of metabolites on rumen fluid using <sup>1</sup>H-NMR(mM/L)

Items	Treatments <sup>1)</sup>		SEM	P value	Mean
	F1	F2			
Isopropanol	0.0107	0.0106	0.0003	0.8629	0.0107
Urea	0.0425	0.0549	0.0060	0.2845	0.0475
Histamine	0.0137	0.0110	0.0015	0.2677	0.0124
Serotonin	0.0045	0.0085	0.0025	0.3215	0.0065
Histidine	0.0088 <sup>a</sup>	0.0073 <sup>b</sup>	0.0002	0.0087	0.0079
$\pi$ -Methylhistidine	0.0114 <sup>a</sup>	0.0054 <sup>b</sup>	0.0001	<.0001	0.0084
Alanine	0.0095 <sup>b</sup>	0.0207 <sup>a</sup>	0.0010	0.0012	0.0151

o-Cresol	0.0065	0.0055	0.0017	0.7179	0.0060
p-Cresol	0.0116	0.0107	0.0024	0.7935	0.0112
Fructose	0.0076	0.0149	0.0050	0.4232	0.0105
Glucose	0.0110	0.0097	0.0010	0.4708	0.0105
Glutathione	0.0131	0.0045	0.0050	0.3547	0.0096
Lactulose	0.0134	0.0068	0.0059	0.5303	0.0108
Ribose	0.0233 <sup>b</sup>	0.0302 <sup>a</sup>	0.0012	0.0358	0.0261
Sucrose	0.0027	0.0038	0.0018	0.6872	0.0032
Xylitol	0.0087	0.0038	0.0018	0.1866	0.0067
3-Hydroxyisovalerate	0.0074	0.0105	0.0018	0.2806	0.0090
Malonate	0.0153	0.0188	0.0026	0.3855	0.0170
N-Acetylaspartate	0.0160	0.0102	0.0021	0.1249	0.0131
N-Acetylcysteine	0.0219 <sup>a</sup>	0.0109 <sup>b</sup>	0.0018	0.0124	0.0164
N-Acetylglutamine	0.0087	0.0144	0.0022	0.139	0.0116
N-Acetylglycine	0.0089 <sup>b</sup>	0.0283 <sup>a</sup>	0.0041	0.0289	0.0186
N-Acetylorithine	0.0102	0.0079	0.0007	0.0684	0.0091
N-Acetylserotonin	0.0078	0.0080	0.0026	0.9526	0.0079
N-Acetyltyrosine	0.0080	0.0090	0.0014	0.6243	0.0085
N-Phenylacetylphenylalanine	0.0089	0.0085	0.0020	0.8826	0.0087
N $\alpha$ -Acetyllysine	0.0097	0.0108	0.0014	0.5944	0.0103
Imidazole	0.0038	0.0050	0.0018	0.6292	0.0045
Urocanate	0.0103 <sup>a</sup>	0.0028 <sup>b</sup>	0.0002	0.0002	0.0073
3-Indoxylsulfate	0.0023 <sup>b</sup>	0.0138 <sup>a</sup>	0.0001	<.0001	0.0081
5-Hydroxyindole-3-acetate	0.0036	0.0040	0.0012	0.828	0.0038
3,5-Dibromotyrosine	0.0539 <sup>a</sup>	0.0030 <sup>b</sup>	0.0005	<.0001	0.0234
3-Methylglutarate	0.0901	0.0444	0.0142	0.0857	0.0857
Cholate	0.0017	0.0011	0.0004	0.4585	0.0015
Glycocholate	0.0016	0.0023	0.0007	0.574	0.0019
Guanosine	0.0013	0.0012	0.0001	0.8982	0.0012
NAD <sup>+</sup>	0.0012	0.0013	0.0001	0.5528	0.0013
NADH	0.0022	0.0026	0.0008	0.7245	0.0024
UDP-N-Acetylglucosamine	0.0008	0.0019	0.0008	0.3745	0.0013

Xanthine	0.0128	0.0082	0.0033	0.3807	0.0105
Benzoate	0.0102	0.0072	0.0009	0.137	0.0090
Gluconate	0.0047	0.0028	0.0020	0.5725	0.0037
2-Hydroxyphenylacetate	0.0047	0.0022	0.0010	0.1398	0.0032
Arabinose	0.0118	0.0086	0.0021	0.4016	0.0105
Caffeine	0.0058 <sup>b</sup>	0.0046 <sup>a</sup>	0.0002	0.0067	0.0052
Carnosine	0.0100 <sup>a</sup>	0.0049 <sup>b</sup>	0.0010	0.0209	0.0075
Dimethyl sulfone	0.0018	0.0009	0.0003	0.1079	0.0014
Fucose	0.0059 <sup>b</sup>	0.0129 <sup>a</sup>	0.0015	0.0387	0.0101
Indole-3-acetate	0.0096	0.0088	0.0029	0.8589	0.0092
Melatonin	0.0016 <sup>b</sup>	0.0056 <sup>a</sup>	0.0002	0.0001	0.0036

<sup>ab</sup>Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ )

<sup>1)</sup>F1: Before feeding artificial feed, F2: After feeding artificial feed.

### 3) 혈액 분석

○ 급여 전, 후의 혈액을 분석한 결과는 Table 6-16과 같음. 섬유질 대체사료 급여 후 처리구인 F2에서 ALP, globulin, glucose, insulin, total protein, triglyceride, inorganic-phosphorus가 급여 전 보다 유의적( $P < 0.05$ )으로 높았음. ALP(alkaline phosphatase)는 혈액 내에서 phosphoric acid ester를 가수분해 시켜서 무기인산을 생산시키는 효소이며 골격 성장을 촉진하는 작용을 한다고 알려져 있으며, insulin은 성장에 직접적으로 관련되어 있지 않으며 지방대사에 관여하는 호르몬으로 알려져 있음. 혈액 내 농도가 높으면 지방세포에서 glucose의 이용률을 높여 지방산의 합성을 촉진시키며 지방합성을 촉진시켜 도체지방이 높아진다고 함. Albumin과 globulin은 혈장 단백질의 주요 성분이며 단백질 대사상태를 나타내는 지표이며 단백질 결핍이나 전분질사료 과잉섭취에 의해 감소됨.

○ 섬유질 대체사료 급여 후 처리구인 F1에서 Albumin, BUN(Blood urea nitrogen), total cholesterol, free fatty acid, cholesterol은 유의적( $P < 0.05$ )으로 높았음. BUN은 단기 간의 단백질대사상태를 평가하는 지표로서 저에너지의 사료를 급여되면 체내 단백질 합성을 위한 가용에너지 감소로 인해 혈중 농도가 높아진다고 알려져 있음. Total cholesterol의 경우 사료섭취량과 에너지의 상관관계가 있으며 사료 에너지 섭취량이 많을수록 혈액 내 농도가 높아진다고 알려져 있음. 시험기간 내 급여하는 사료양이 감소하였기에 분석결과 급여 후 처리구인 F2에서 낮아진 것으로 사료 됨. ALT와 AST는 간의 건강상태에 관한 지표로서 급여 전 후의 유의적( $P < 0.05$ )인 차이가 없어 섬유질 대체사료 급여가 가축의 건강에 부정적인 영향을 주지 않은 것으로 사료됨.

Table 6-16. Change of serum parameter of hanwoo according to feeding artificial feed

Items	Unit	Treatments <sup>1)</sup>		SEM	P value	Mean
		F1	F2			
Albumin	g/dL	4.10 <sup>a</sup>	3.87 <sup>b</sup>	0.03	0.0132	3.97
ALP	U/L	51.00 <sup>b</sup>	57.33 <sup>a</sup>	0.62	0.0020	54.17
ALT(SGPT)	U/L	20.33	20.33	0.33	1	20.33
AST(SGOT)	U/L	50.33	47.00	0.94	0.0668	48.67
BUN	mg/dL	27.47 <sup>a</sup>	22.23 <sup>b</sup>	0.17	<.0001	24.85
Total cholesterol	mg/dL	159.33 <sup>a</sup>	147.67 <sup>b</sup>	0.78	0.0005	153.50
Free fatty acid	μEq/L	221.33 <sup>a</sup>	73.67 <sup>b</sup>	0.67	<.0001	147.50
Globulin	g/dL	3.90 <sup>b</sup>	4.33 <sup>a</sup>	0.05	0.0029	4.12
Glucose(S)	mg/dL	66.00 <sup>b</sup>	68.67 <sup>a</sup>	0.24	0.0013	67.33
Inorganic-Phosphorus	mg/dL	4.70 <sup>b</sup>	5.80 <sup>a</sup>	0.00	<.0001	5.25
Insulin	μU/mL	0.53 <sup>b</sup>	3.27 <sup>a</sup>	0.10	<.0001	1.90
LDL Cholesterol	mg/dL	69.67 <sup>a</sup>	67.33 <sup>b</sup>	0.33	0.0078	68.50
Total protein	g/dL	7.97 <sup>b</sup>	8.20 <sup>a</sup>	0.05	0.0249	8.08
Triglyceride	mg/dL	17.67 <sup>b</sup>	32.33 <sup>a</sup>	0.67	<.0001	25.00
γ-GTP	U/L	14.67	11.00	1.11	0.0789	12.83
Bilirubin,total	mg/dL	<0.1	<0.1	-	-	-
HDLCholesterol	mg/dL	>120	>120	-	-	-
CRP(HS)	mg/L	<0.2	<0.2	-	-	-
LDH	U/L	>1000	>1000	-	-	-

<sup>ab</sup>Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $P < 0.05$ )

<sup>1)</sup>F1: Before feeding artificial feed, F2: After feeding artificial feed

#### 4) 경제성 분석

- 섬유질 대체 사료 투여가 미치는 영향에 대한 경제성 분석은 Table 6-17과 같음. 시험 기간 동안 제한적인 사료 급여량으로 평가하였으며, 섬유질 대체 사료 가격은 제작 및 생산에 대한 예상가격을 제시하여 평가하였음. 실제 시험기간 내 경제성 평가를 진행한 결과, 섬유질 대체 사료 가격에 대하여 실질적인 평가가 되지 않아 비육시기에 따른 150일과 360일에 대한 기간별 평가를 진행하였음.
- 전체 사료가격에 대한 결과에서는 150일 급여 시 11% 절감효과가 예상되었으며, 360일 급여 시 15%의 절감효과가 예상되었음. 시험기간 내에 체액 샘플을 분석한 결과와 비교하여 가축에게 부정적인 영향을 주지 않으면서 생산성에 동일한 결과를 나타낸다면

사료비 절감에 대해서는 충분한 대체제로서 가능성이 있다고 사료됨.

Table 6-17. Feed cost of feeding artificial feed in hanwoo

Items	Treatments <sup>1)</sup>	
	F1	F2
Feed cost		
Feed intake, kg as-fed basis	112.0	84.0
Roughage intake	84.0	56.0
Concentrate intake	28.0	28.0
Insert artificial feed <sup>2)</sup>	-	1.0
Daily feed intake, kg/head	8.0	6.0
Feed cost, Won/14days/head	145,600	220,400
Roughage cost	75,600	50,400
Concentrate cost	70,000	70,000
Artificial feed cost	-	100,000
Daily feed cost, won/head	10,400	15,742.86
Index(%)	100	151.37
Feed cost, Won/150days/head	1,560,000	1,390,000
Roughage cost	810,000	540,000
Concentrate cost	750,000	750,000
Artificial feed cost	-	100,000
Daily feed cost, won/head	10,400	9,266.67
Index(%)	100	89.10
Feed cost, Won/360days/head	3,744,000	3,196,000
Roughage cost	1,944,000	1,296,000
Concentrate cost	1,800,000	1,800,000
Artificial feed cost	-	100,000
Daily feed cost, won/head	10,400	8,877.78
Index(%)	100	85.36

<sup>1)</sup>F1: Before feeding artificial feed, F2: After feeding artificial feed

<sup>2)</sup>10,000 won/ea(expected price)

#### 라. *In vivo* 시험 결론

- 섬유질 대체사료의 원료는 가축에게 투여하였을 때 부정적인 영향을 주지 않으며 또한 사람에게도 영향을 주지 않는 재료인 실리콘을 활용하여 진행하였음

- 혈액 분석 결과, 도체량과 간접적 관련이 있는 insulin과 glucose는 섬유질 대체사료 투여 후 높아졌으며 ALT와 AST는 간의 건강상태를 나타내는 지표로서 섬유질 대체사료 투여 전·후 차이를 나타내지 않아 긍정적인 결과를 보였음.
- 섬유질 대체사료 투여 후 반추위액 내 휘발성지방산 생산량은 투입 전보다 높아졌음
- 그러나 섬유질 대체사료 투여 후 시험기간 내 반추위액 pH를 측정하였을 때 적정 범위 안에 속해 있었지만 투여기간이 지남에 따라 감소하는 것으로 보아 산중독증과 같은 질병을 야기 시킬 수 있을 것으로 사료됨.
- 따라서 시험 결과를 보았을 때, 여러 가지 증상으로 인해 지속적으로는 섬유질 대체사료를 이용하는 것은 아직까지 바람직하지 못한 것으로 판단됨.
- 그러나 국내의 소재 개발 산업이 활발하게 발달되고 있어 앞서 언급되었던 시험결과를 반영하여 지속적으로 이용할 수 있는 섬유질 대체사료 개발 가능성이 충분하며, 나아가 반추위 내에서 녹을 수 있는 소재를 사용한다면 사육시기별 또는 질병이 있는 가축에게 적용 할 수 있을 것으로 판단됨.

### 제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 제 1 절 목표

과제	1차년도	2차년도	3차년도
제 1 세 부	○ 국내에서 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료자원 소재탐색 및 사료 개발	○ 국내 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료개발 및 해외 대체 사료자원 소재탐색 및 사료개발	○ 선발된 대체원료를 이용한 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 사료개발 및 산업화
제 1 협 동	○ 가금용 국내·외 이용 대체가능 사료자원의 탐색 및 선정 ○ 가금용으로 선정된 사료 자원의 영양성분 및 독성 분석	○ 가금용으로 선정된 사료 자원의 영양성분 분석 및 사양시험	○ 선발된 사료의 가금 사양 및 경제성 분석
제 2 협 동	○ 양돈용으로 대체 가능사료의 사료가치 평가를 위한 일반성분 및 미량성분 분석 ○ 양돈용 대체사료자원의 대체 함량 예측을 위한 옥수수 및 대두박의 <i>in vitro</i> 소화율 평가 시스템 개발	○ 양돈용 대체사료자원의 대체 함량 예측을 위한 <i>in vitro</i> 소화율 평가 시스템 개발	○ 대체 사료 자원을 이용한 양돈 사료 개발 및 현장 검증 연구
제 3 협 동	○ 착유우 대체 원료사료 선발의 결과에 대한 학술 발표 1건 추진	○ 착유우 대체 원료사료 선발의 결과에 대한 학술 발표 1건 및 특허출원 1건 추진	○ 착유우 <i>in vivo</i> 시험을 통한 사료적 가치 평가 및 적정 사료배합비율 구명
제 4 협 동	○ 한우 비육우용 해외부존 자원 탐색 ○ 한우 비육우용 원료사료의 성분분석 및 안전성 평가	○ 한우 비육우용 해외부존 자원 탐색 및 시제품 제조	○ 개발된 시제품(혼합, 발효 등)의 한우 비육우 급여효과
제 5 협 동	○ 국내 원료자원을 이용한 섬유질 대체 인공사료의 탐색	○ 3D프린터를 이용한 섬유질 대체 인공사료의 형태와 제작가능여부 탐색	○ 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 <i>in vivo</i> 실험

## 제 2 절 목표 달성여부

### 1. 1차년도 목표 달성여부

연구목표	연구수행 결과	달성율 (%)
○ 국내에서 자급이 가능한 대체 사료자원 소재 탐색, 사료 개발 및 해외 대체 사료 자원 소재탐색 및 사료 개발	○ 국내 일부 지역에서 사용하는 부산물의 탐색 및 사용량 조사 ○ 안전성, 유해물질, 항균성, 항산화성 등 분석 ○ 해외에서 국내로 조달되는 소재 탐색 ○ 안전성, 유해물질 등 분석	100
○ 국내·외 이용 대체가능 사료자원의 탐색 및 선정	○ 부레옥잠, 뽕잎, 곰팡이, 밀웜박, 구아박, 재고미, 고구마 부산물 등의 선정	100
○ 사료자원의 일반성분, 광물질, 아미노산 및 독성성분 분석	○ 일반 성분 분석 완료 ○ 물질 아미노산 및 독성성분 분석	100
○ 국내외 사료자원 탐색	○ 옥수수(에너지) 및 대두박(단백질) 대체가능 사료자원으로 대맥, 소맥, 타피오카에 대한 수입 지역별 가능성 분석 ○ 기타 사료자원으로 팜박, 야자박, 카카오박, 파인애플박, 포도박, 단백질의 이용성 분석	100
○ 양돈용 대체사료 자원의 일반성분 분석	○ 조단백질, 조지방, 조회분, 수분, NFE, 조섬유의 함량 분석	100
○ 대체사료자원의 미량성분 분석	○ 아미노산, 광물질 및 비타민 함량 분석	100
○ <i>In vitro</i> 소화율 시스템 개발 및 사료가치 분석	○ <i>In vitro</i> 회장 및 분 건물소화율 측정 ○ 사료입자 및 배양시간에 따른 소화율 분석	100
○ 후보 사료자원의 <i>in vitro</i> 발효특성 조사	○ 카사바뿌리와 카카오박은 볏짚과 비교하였을 때 반추위 발효를 저해하지 않아 착유우 대체 사료자원으로서 가능성이 있음 ○ 포도박과 파인애플박은 반추위 발효를 저해하여 착유우 대체사료자원으로 활용하기 어려울 것으로 예상됨	100
○ 상대적 성능지수를 이용한 사료자원 선발	○ 카사바뿌리와 카카오박은 볏짚보다 높은 결과를 보여 착유우 대체 자원으로서의 가능성을 확인.	100
○ 국내외 대체가능한 사료자원의 탐색 및 후보선정	○ 카카오박, 포도박, 땅콩피, 카사바주정박, 카사바뿌리, 왕라오지박, 자일리톨박, 곰팡이분, 밀웜분, MSG-CMS 선정	100
○ 원료사료 성분분석을 통한 가능성 탐색	○ 후보 원료사료 중 중금속, 광물질, 병원성 미생물, 곰팡이 독소는 대부분 허용치내에 있음	100
○ 국내 원료자원을 이용한 섭	○ 티모시를 제외한 모든 조사료에서 48시간 이	100

유질 대체 인공사료의 탐색	<p>후에 물성(경도)검사 차이를 보임</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정상 범위의 반추위 pH보다 모든 분석 수치가 높아 산성의 화학적 소화로 사료됨.</li> <li>○ <i>In vitro</i> 반추위 소화율 실험 중 신규 자원으로 이용 가능한 몇가지 재료를 예비 실험 진행</li> <li>○ CON과 비교하여 반추위 위액 투여 후 사료의 물성검사 및 성분은 감소하는 경향이 있음.</li> <li>○ 성분 분석 및 변화에 대한 검사를 실시하였음</li> </ul>	
----------------	--	--

## 2. 2차년도 목표 달성여부

연구목표	연구수행 결과	달성율 (%)
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내에서 사용가능한 사료 원료 탐색</li> <li>- 탐색한 원료의 사료자원 가능성 확보</li> <li>- 외국산 원료의 대체 가능한 여부 확보</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내에서 사용가능한 사료 원료 탐색 : 다양한 원료의 영양성분 분석</li> <li>○ 탐색한 원료의 사료자원 가능성 평가 : 원료의 병원균 등 위해요인 분석</li> <li>○ 외국산 원료 대체 가능 여부 평가 : 수입원료의 대체 가능성을 위한 탐색원료로의 대체 실험 실시</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 사료자원의 육계성상에 미치는 영향조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 육계사료에 뽕잎을 0, 1, 2.5 및 5% 첨가하여 8일령부터 3주간 사양실험 수행</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 돼지의 소화기관(위, 소장, 대장)과 유사한 배양조건을 확립</li> <li>○ 소화기관별 배양시간 및 사료입자의 크기로 처리구를 구분하여 정밀한 <i>in vitro</i> 소화율 측정법 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 각 소화기관별 소화효소(pH 및 배양액 조정)를 이용한 사료의 분해</li> <li>○ 회장 및 전분 소화율을 분리하여 분석</li> <li>○ 돼지에서 가장 많이 사용되는 옥수수 및 대두박사료의 소화율 분석</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선발 사료자원을 이용한 반추동물용 사료배합 조건 구명</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 사료자원 활용 반추동물 전용사료의 반추위 발효 특성 조사(<i>in vitro</i>)</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 대체원료의 성분분석</li> <li>○ <i>in vitro</i> 반추위 발효시험</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 일반성분, 광물질, 중금속 및 안전성 평가</li> <li>○ pH 변화, 총 가스, 메탄, 수소, 암모니아태 질소, VFA, 건물소화율의 측정</li> <li>○ 선행된 연구결과를 바탕으로 발효에 적절한 땅콩피, 대추분, 자일리톨 스테비아원물을 선발해 발효사료 제조</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 섬유질 대체 인공사료 재질 및 형태</li> <li>○ 시제품 제작</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 인공사료 소재 선택 및 사료 사이즈와 형태 고안</li> <li>○ 인공 사료 사이즈에 따른 시제품 제작 및 인공 사료 형태에 따른 시제품 제작</li> </ul>	100

### 3. 3차년도 목표 달성여부

연구목표	연구수행 결과	달성율 (%)
○ 선발된 대체원료를 이용한 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 사양시험을 통한 사료 개발 및 산업화	○ 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금) 대체원료를 사용한 사료 제품화 및 산업화	100
○ 가금용 후보 대체사료자원에 대한 이용성 분석	○ 국내외 대체가능 자원의 발굴, 성분 분석 평가 및 후보 자원의 선정 ○ 가금용 대체가능 후보사료자원에 대한 이용성 분석 및 선발된 사료자원의 가금사양 실험수행	100
○ <i>in vitro</i> 분석법을 이용한 양돈의 사료자원의 가치평가 및 현장 검증 연구	○ 재고미의 사료적 가치 평가 ○ 쌀의 <i>in vitro</i> 건물 소화율 분석 및 옥수수 대비 사료적 가치 평가 ○ 옥수수 대체 에너지원으로써 쌀의 적정 첨가량 제시 ○ 자돈의 <i>in vivo</i> 실험(증체량, 사료섭취량, 사료효율)을 통한 대체 효과 평가	100
○ <i>in vitro</i> 시험을 통한 착유우의 적정 사료배합 비율	○ 선발 사료자원(땅콩피, 스테비아 원물, 자일리톨박, 미역박, 대추분 등)의 적정 배합비율 구명 ○ <i>In vivo</i> 사양시험 처리구는 관행사료(대조구)와 제작된 시험사료(처리구)로 구성 ○ 공시축은 처리구별 10두씩, 총 20두 시험 실시 ○ 농장 2곳 선정, 시험설계는 crossover design으로 진행	100
○ 한우 비육우의 <i>in vivo</i> 시험	○ 대체 가능사료의 적정비율 연구	100
○ 섬유질 대체 인공사료를 이용한 반추동물 <i>in vivo</i> 실험	○ 조사료 가치 지수 측정 ○ 반추위액 채취 및 분석	100

### 제 3 절 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성) 등

- 연구내용 및 정량적 성과(논문 제외)는 계획서의 내용대로 달성 또는 초과달성 하였으나, 정량성과 중 SCI 논문 3건 및 비SCI 논문 1건은 미달성하였음.
- 현재('18년 9월 기준) SCI 논문 5건, 비SCI 논문 2건은 심사중에 있어 논문 성과 달성에는 지장이 없을 것으로 판단됨

## 제 4 장 연구개발의 활용계획 등

### 1. 연구개발의 활용분야

- 대체원료를 활용한 사료개발로 FTA 및 국제 곡물가격 상승에 대비
- 대체원료를 이용한 축종별, 성장단계별 사료의 개발로 농가의 소득 증대 및 생산비 절감, 사료 제조원가 100~200원/kg(최소 15% 이상) 절감 효과 기대
- 대체원료를 활용한 사양관리 시스템 구축으로 축산농가의 생산비 감소 및 생산성 증대로 가격 경쟁력 확보
- 사료비 절감 효과를 최소 15% 이상의 수준으로 감소시켜 FTA 시대 축산선진국 대비 경쟁력 확보
- 국내에서 부족한 조사료 자원의 확보를 통한 사료비 절감
- 수입조사료의 대체효과를 통하여 축산물 생산비 절감
- 양질의 조사료 자원 확보와 과학적 평가 기술 확보를 통하여 수입 의존형 착유우사료 산업의 구조개선과 부가가치 개선
- 저탄소 축산물 생산을 통하여 우리나라 축산물의 국제 경쟁력 확보
- 녹색 축산업 기반 구축을 통하여 우리나라 녹색산업 발전의 근간 구축

### 2. 연구개발의 활용방안

- 국내 현황에 맞는 사료비 절감 배합비 개발
- 대체원료를 활용한 축종별(한우, 낙농, 양돈, 가금), 성장별 제품화 및 산업화
- 다양한 사료자원의 사료적 가치 평가 자료를 기반으로 잠재적 가능 사료자원들의 활용 가능성 도출에 활용함
- 다양한 사료자원의 사료적 가치 향상을 위한 영양학적 기술개발
- 다양한 사료자원을 이용한 반추동물 사양 지침서 활용
- 가금 사료의 자급률 향상
  - 주요 사료원료 외 원료 이용비율 향상
  - 보다 저렴하고 안정적인 원료사료 수급
  - 학술논문 발표 및 인력양성
- 본 연구를 통해 양돈 배합사료 제조를 위한 국내외 사료자원을 확보하고, 특허출원과 함께 관련 업체로의 기술 이전을 포함한 산업화, 실용화를 추진함으로써, 축산사료의 자급률 향상 및 사료제조 단가의 절감을 꾀할 수 있음
- 한우 사료용 대체 원료 자원 개발
- 재조합 인공사료의 개발로 사료자급률 제고 및 인공 사료의 수출
- 본 연구를 통해 양돈 배합사료 제조를 위한 국내외 사료자원을 확보하고, 특허출원과

함께 관련 업체로의 기술 이전을 포함한 산업화, 실용화를 추진함으로써, 양돈사료의 자급률 향상 및 사료제조 단가의 절감을 꾀할 수 있음

3. 추가 연구의 필요성 및 타 연구에서 활용방안 : 해당사항 없음

#### 4. 연구개발의 기업화(산업화) 추진방향

가. 국내 제품생산 및 시장 현황

- 국내 축산업의 생산액은 꾸준히 증가하여 농업 총 생산액의 약 36.2%인 140,909억원 (2011년 기준)을 차지함
- 2014년도 기준 국내사료 생산량은 약 500만톤 으로 사료는 국내 농업의 큰 비중을 차지함
- 축사농가의 생산비 중 사료비용이 40~60%를 차지하고 있어, 국제 곡물가격 상승으로 인한 원료사료의 가격이 상승되고 있으며, 이는 축사농가의 생산비 증가로 이어짐
- 하지만, 높은 생산비에도 불구하고, 축산생산성은 낮아 농가의 수익성은 점점 낮아짐

나. 연구개발의 산업화 방향

- 대체원료를 이용한 저가 배합사료의 개발은, 높은 사료가격으로 수익성이 나지 않는 축사농가들의 사료비 절감 효과를 가져 올 수 있으며, 사료비 절감효과에 따른 생산비 감소로, 양돈농가의 수익성이 향상될 것으로 예상됨
- 산업화를 통한 기대효과
  - 사료원료의 대체원료를 개발되어, 사료원료를 대체가 가능하고, 농협사료에서 판매되는 사료 중 10%를 대체한다면 연간 사료비 6,000억의 절감효과 등의 경제적 파급효과가 나타날 것으로 예상됨

다. 기술이전 기술

- 현재의 사료원료 대체원료 개발은 각각의 원료사료 및 첨가제 제조방법에 분야에 치중되고 있어, 본 연구과제에서는 대체원료를 이용한 사료비 절감 및 대체원료를 활용한 사료배합비를 연구방향으로 연구를 추진하여 대체원료를 이용한 사료비 절감 방안을 사료회사 또는 대군농가 쪽으로 기술이전이 가능함
- 연구성으로 대체원료를 이용한 기술이전은 상당히 어려울 것으로 예상되지만, 대체원료를 특성을 잘 파악하여 기술이전을 실시할 계획임

## 붙임 참고문헌

- Agrawal PK. 1989. Carbon-13nmR of flavonoids, Studies on organic chemistry. 1<sup>st</sup> ed. Elsevier science publisher, Amsterdam.(no. 39). pp. 283-364.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed. Methods 932.06, 925.09, 985.29, 923.03. Association of official analytical chemists. Arlington, VA, USA.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis, Association of Analytical Chemists. 18<sup>th</sup>ed. Washington DC., U. S. A.
- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 19th Edition.
- Ballitoc DA and Sun S. 2013. Ground yellow mealworms(*Tenebrio molitor* L.) feed supplementation improves growth performance and carcass yield characteristics in broilers. Open Sci. Reposit. Agric. doi : 10.7392 / open access. 23050425.
- Bath D, Dunbar J, King J, Berry S and Olbrich S. 1995. Byproducts and unusual feedstuffs. Feedstuffs, 71(31).
- Bonardi S, Brindani F, Pizzin G, Lucidi L, D’Incau M, Liebana E and Morabito S. 2003. Detection of *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. Int. J. Food Microbiol. 85:101-110.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol. 28: 25-30.
- BradfordmM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- Branen A, Davidson PM and Salminen S. 1990. Food additive. 2<sup>nd</sup> NewYork : Markel Dekker. USA. pp. 139-193.
- Chaney AL and Marbach WEP. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clinical chemistry, 8(2), 130-132.
- Cho YM, Park BK, Kwon EG, Lee WS, Choe CY, Son SK and Hong SK. 2009. Effects of ruminally inserted artificial fiber on growth performance, feed intake and carcass characteristics of Hanwoo steers. J. Anim. Sci. & Technol. Kor. 51(3): 225-230.

- Chung IM, Kim JK, Yang JH, Lee JH, Park SK, Son NY and Kim SH. 2017. Effects of soil type and organic fertilizers on fatty acids and vitamin E in Korean ginseng(*Panax ginseng* Meyer). *Food Research International*. 102: 265-273.
- Conway EJ. 1950. *Microdiffusion and volumetric error*. 3<sup>rd</sup> ed. Crosby Lockwood and Son Ltd, London, UK. pp. 87-107.
- David C. Woollard, Bensch A, Indyk H and McMahon A. 2016. Determination of vitamin A and vitamin E esters in infant formulae and fortified milk powders by HPLC: Use of internal standardisation. *Food Chemistry*, 197: 456-465.
- De Ritter E and Purcell AE. 1981. Carotenoid analytical methods. J.C Bauernfeind(Ed.), *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*, Academic Press, Orlando), pp. 883-916.
- Emily G. Finnan, Stephanie G. Harshman, David B. Haytowitz, Sarah L. Booth. 2017. Mixed dishes are an unexpected source of dietary vitamin K. *ournal of Food Composition and Analysis*, 64: 127-131.
- Entwistle N, McCune, V and Walker P. 2001. Conceptions, styles, and approaches within higher education: Analytic abstractions and everyday experience. *Perspectives on thinking, learning, and cognitive styles*, 103-136.
- Ha JK, Lee SS, Moon YS, Kim CH, Seo SW, Beak MK, Lee SS, Lee SY, Lee WS, Jang JS, and Choi NJ. 2013. *Ruminant nutrition and physiology*. Seoul National University.
- Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW and Riechel TL. 1998. High molecular weight plant polyphenolics(tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1887-1892.
- Hatakka M, Björkroth KJ, Asplund K, Mäki-Petäys N and Korkeala HJ. 2000. Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *J. Food Prot.* 63: 1487-1491.
- Hristov AN, McAllister TA and Cheng KJ. 2000. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. *J. Anim. Sci.* 78:477-487.
- Jin X, Heo P, Hong J, Kim N and Kim Y, 2016. Supplementation of mealworm(*Tenebrio*

molitor larva) on growth performance, nutrient digestibility and blood profiles in weaning pigs. Asian Australas. J. Anim. 29: 979 - 986.

Jorgensen JH and Ferraro MJ. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Clin. Infect. Dis. 49: 1749–1755.

Keflie TS, Nölle N, Lambert C, Nohr D and Biesalski HK. 2018. Impact of the natural resource of UVB on the content of vitamin D2 in oyster mushroom(*Pleurotus ostreatus*) under subtropical settings. Saudi Journal of Biological Sciences, Available online 1 August 2018.

Khawiwora E, Adsul VB, Kulkarni M, Deshpande NR and Kashalkar RV. 2010. Spectroscopic determination of total phenol and flavonoid contents of *Ipomoea carnea*. Int. J. ChemTech Res. 2: 1698 - 1701.

Kong C, Park CS and Kim BG. 2015. Effects of an enzyme complex on *in vitro* dry matter digestibility of feed ingredients for pigs. SpringerPlus. 4: 261-264.

Korean Food & Drug Administration. 2002. Korea Food Sanitation Act. Food Code 2002. Moonyoungsa. Seoul. pp. 220.

Lin JY and Tang CY. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. Food Chem. 101: 140–147.

Linn JG and Martin NP. 1989. Forage quality tests and interpretation. AG-FO-2637. Minnesota Extension, USA.

Ložnjak P and Jakobsen J. 2018. Stability of vitamin D3 and vitamin D2 in oil, fish and mushrooms after household cooking. Food Chemistry, 254: 144-149.

Lu YR and Yeap Foo L. 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage(*Salvia officinalis*). Food Chem. 75: 197–202.

Maeng WJ. 1998. Ruminant nutrition. pp 21. Hyangmunsa. Seoul. Korea.

McShane TM, Schillo KK, Boling JA, Bradley NW, and Hall J. 1989. Effects of recombinant DNA-derived somatotropin and dietary energy intake on development of beef heifers: I. Growth and puberty. J. Anim. Sci. 67(9): 2230-2236.

National Research Council(NRC). 2012. Nutrient Requirements of swine. National

Academy Press, Washington, DC.

Oomah BD, Cardador-Martinez A and Loarca-Pina G. 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans. *J. Sci. Food Agric.* 85: 935–942.

Ørskov ER and McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2): 499-503.

Park KR, Park CS and Kim BG. 2016. An enzyme complex increases *in vitro* dry matter digestibility of corn and wheat in pigs. *SpringerPlus.* 5: 598-604.

Pikul J, Leszcynski DE and Kummerow FA. 1989. Evaluation of tree modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1309–1313.

Pontis JA, Alves da Costa LAM, Reis da Silva SJ and Flach A. 2014. Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima. *Brazil Food Sci. Technol.(Campinas).* 34: 69–73.

Porto CD, Calligaris S, Celloti E and Nicoli MC. 2000. Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH test. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4241–4245.

Ramos-Elorduy J, Gonzalez EA, Hernandez AR and Pino JM. 2002. Use of *Tenebrio molitor*(Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95: 214 - 220.

Robert RE, Pellegrini M, Proteggente A, Pannala A and Yang M. 1999. Rice-Evans C Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231–1237.

Saeed N, Khan MR and Shabbir M. 2012. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement. Altern. Med.* 12: 221–233.

Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP and Rice-Evans C. 1995. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 322: 339–346.

Sherwin FR. 1990. Antioxidants. In *Food Additives*, Branen R(ed.), Marcel Dekker, NY,

U.S.A. pp. 139-193.

Singleton VL and Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158.

Sohaib M, Butt MS, Shabbir MA and Shahid M. 2015. Lipid stability, antioxidant potential and fatty acid composition of broilers breast meat as influenced by quercetin in combination with  $\alpha$ -tocopherol enriched diets. *Lipids Health Dis.* 14: 1-15.

Stewart CS, Flint HJ and Bryant MP. 1997. The rumen bacteria. In: Hobson, P. N. and C. S. Stewart editors. *The Rumen Microbial Ecosystem*. 2nd ed. Blackie academic and professional; London, UK: pp 10-72.

Tanih NF, Sekwadi E, Ndip RN and Bessong PO. 2015. Detection of Pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from Cattle and Pigs Slaughtered in Abattoirs in Vhembe District, South Africa. *Sci. World J.* 2015: 1-8.

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB and France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal feed science and technology*, 48: 185-197.

Van Huis A, 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security *Annu. Rev. Entomol.*, 58, pp. 563-583.

Van Keuren RW and Heinemann WW. 1962. Study of a Nylon Bag Technique for *In Vivo* Estimation of Forage Digestibility 1. *Journal of Animal Science*, 21(2): 340-345.

Van Soest PV, Robertson JB and Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, 74(10): 3583-3597.

Veldkamp T and Bosch G. 2015. Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Animal Frontiers* 5: 45 - 50.

Viuda-Martos M, Mohamady MA, Fernández-López J, Abd Elrazik KA, Omer EA, Pérez-Alvarez JA and Sendra E. 2011. *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control.* 22: 1715-1722.

Vorster SM, Greebe RP and Nortje GL. 1994. Incidence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Ground Beef, Broilers and Processed Meats in Pretoria, South Africa. *J. Food Prot.* 57: 305–310.

Warner SAJ, Scott R and Draper J. 1992. Characterization of a wound-induced transcript from the monocot asparagus that shares similarity with a class of intracellular pathogenesis-related(PR) proteins. *Plant Mol. Biol.* 19: 555–561.

Yang JH, Lin HC and Mau JL. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem.* 77: 229–235.

Yıldırım HK, Akçay YD, Güvenç U, Altındışlı A and Sözmen EY. 2005. Antioxidant activities of organic grape, pomace, juice, must, wine and their correlation with phenolic content. *Int. J. Food Sci. Technol.* 40: 133–142.

농촌진흥청, 축산과학원, 2017. 한국표준사료성분표.

농촌진흥청, 축산과학원, 2017. 한우사양표준.

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.