

316036-3

농식품기술개발사업 제3차 연도 최종 보고서

발간등록번호  
11-1543000-002606-01

닭의  
생산성을  
저해하는  
스트레스  
요인  
구명  
및  
생산성  
기술개발  
최종보고서

# 닭의 생산성을 저해하는 스트레스 요인 구명 및 생산성 향상 기술개발

## 최종보고서

2019. 02. 12.

주관연구기관 / 경상대학교  
협동연구기관 / (주)셀텍

**농 립 축 산 식 품 부**  
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

2019

농림식품기술기획평가원

농림축산식품부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “닭의 생산성을 저해하는 스트레스 요인 구명 및 생산성 향상 기술개발” (개발기간: 2016. 05. 19 - 2018. 12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 02. 12

주관연구기관명 : 경상대학교 산학협력단 (대표자) 정중일

협동연구기관명 : (주)셀텍 (대표자) 문병현

참여기관명 : (주)우캉이엔지 (대표자) 임영일

주관연구책임자 : 장흥희

협동연구책임자 : 문병현

참여기관책임자 : 임영일

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	316036-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2016-05-19 ~ 2018-12-31	단 계 구 분	3차년도/3차년도
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	닭의 생산성을 저해하는 스트레스 요인 구명 및 생산성 향상 기술개발			
연구책임자	장흥희	해당단계 참여연구원 수	총: 30명 내부: 24명 외부: 6명	해당단계 연구개발비	정부 : 400,000천원 민간 : 133,334천원 계 : 533,334천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 42명 내부: 27명 외부: 15명	총 연구개발비	정부 : 1,070,000천원 민간 : 356,668천원 계 : 1,426,668천원
연구기관명 및 소속부서명	경상대학교 산학협력단			참여기업명 : (주)우창이엔지	
국제공동연구	상대국명: -			상대국 연구기관명: -	
위탁연구	연구기관명 : 건국대학교			연구책임자: 이경우	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
----------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정 보	생물자 원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장 비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약 : 닭의 환경 스트레스 저감을 위하여 닭의 반응과 스트레스 요인을 연구하여 환경 스트레스를 조기에 진단하고자 하며 환경 스트레스에 따른 영양소 요구량을 설정하여 가금사양표준을 확립하고 환경 스트레스 저감형 사료 첨가제를 생산 및 사업화 하였음.

보고서 면수 : 216쪽

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>[산란계 및 육계 맞춤형 환경 스트레스 저감형 사육시스템 개발]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 육계 및 산란계의 중요한 환경 스트레스 요인 분석 및 인덱스 개발</li> <li>○ 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 요인 및 인덱스 측정 기술 개발</li> <li>○ 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 저감 환경제어 기술 개발</li> <li>○ 스트레스 예방 산란계 및 육계 사료첨가제 개발</li> <li>○ 환경 스트레스 저감용 산란계 전용 사료 개발</li> <li>○ 환경 스트레스 저감용 육계 전용 사료 개발</li> <li>○ 육계 및 산란계 환경스트레스 저감형 사육전략 매뉴얼 도출</li> </ul>				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ ○ 육계 및 산란계의 중요한 환경 스트레스 요인 분석 및 인덱스 개발 완료</li> <li>○ 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 요인 및 인덱스 측정 기술 개발 완료</li> <li>○ 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 저감 환경제어 기술 개발 완료</li> <li>○ 스트레스 예방 산란계 및 육계 사료첨가제 개발 완료</li> <li>○ 환경 스트레스 저감용 산란계 전용 사료 개발 완료</li> <li>○ 환경 스트레스 저감용 육계 전용 사료 개발 완료</li> <li>○ 육계 및 산란계 환경스트레스 저감형 사육전략 매뉴얼 개발 완료</li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 스트레스 상황에서 급격하게 떨어지는 사료섭취량과 우리나라의 환경에서 자주 발생하는 스트레스 반응에 효율적으로 대응할 수 있도록 스트레스 저감 환경제어 기술과 기능성 아미노산의 요구량을 도출하여 스트레스 저감용 사료를 개발·활용</li> <li>○ 스트레스 저감 환경제어 기술과 기능성이 가미된 환경스트레스 완화제/저감제를 개발하여 보급하면 농가의 소득증대, 닭의 복지 증진, 이상육 발생저하를 통하여 축산업의 경쟁력 및 소비자 만족도 증가를 이루어 친환경 가금산업의 육성이 가능</li> </ul>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>환경스트레스</p>	<p>생산성</p>	<p>닭</p>	<p>사료</p>	<p>사료첨가제</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Environmental stress</p>	<p>Productivity</p>	<p>Poultry</p>	<p>Feed</p>	<p>Feed additives</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 ..... 7  
2. 연구수행 내용 및 결과 ..... 24  
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 ..... 202  
4. 연구결과의 활용 계획 등 ..... 205  
붙임. 참고 문헌 ..... 206

- <별첨 1> 연구개발보고서 초록
- <별첨 2> 자체평가의견서
- <별첨 3> 연구성과 활용계획서

<뒷면지>

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

가. 육계 및 산란계의 생산성을 저하시키는 환경 스트레스 요인에 대한 인덱스를 개발하고 이에 근거하여 IT 기술, 사료 및 사료첨가제를 활용한 환경 스트레스 저감 기술 개발

## 1-2. 연구개발의 필요성

가. 양계산업 현황

- (1) 전 세계 인구는 2050년도에 약 90억 명에 도달할 것으로 예상하며, 이러한 인구증가 및 소득 증가는 결국 고단백질인 육류의 수요 증가로 이어질 것으로 세계농업학자들은 전망하고 있음.
- (2) 2010년 “Science” 에 발표한 논문에서 인구증가는 축산물 섭취량, 특히 가금육 생산량의 가파른 상승하고 있는 것으로 발표함.
- (3) 생산량을 높이는 것은 단지 사료원료와 닭을 사육할 수 있는 토지를 넓히는 방법으로 해결책을 제시할 수 없는데, 이는 전 세계적으로 볼 때 사료작물을 재배하고 닭을 생산할 수 있는 토지는 이미 포화하였기 때문임.
- (4) 생산부문에 효율의 중요성, 즉 같은 사료를 급여한 생산성을 높이는 방법이 식량 안보를 해결하는 전략을 간주하고 있음.
- (5) 육종기술의 변화, 사료 영양학의 발달로 닭의 생산성을 향상시킬 수 있는 기술은 개발되었지만, 또 다른 한편으로 닭의 사육환경에서 존재하고 있는 환경 스트레스와 같은 닭의 생산성을 극도로 떨어뜨리는 요인을 제거하지 않고서는 생산성의 효율을 높일 수 없음.

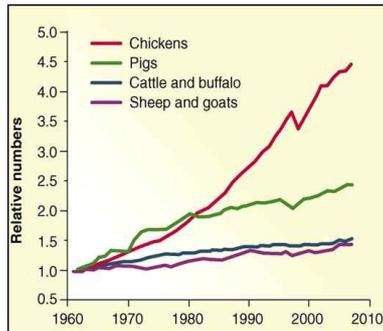


그림 1-1. 세계 축산물의 생산량 변화 추이. (출처 : Godfray et al., 2010)

## 나. 국내 가금 산업의 특징

- (1) 국내 육계 산업은 외국의 산업과 마찬가지로 계열화 형태를 나타내고 있으나, 외국과 비교하여 닭고기 소비 특성상 출하 체중은 1.5kg 수준으로 낮게 머물러 있음.
  - 닭고기 생산은 대부분 계열업체와 농가 간 계약에 의한 생산됨.
    - 약 21개 계열업체가 국내 닭고기 총생산량의 90% 이상을 생산하고 있음.
  - 국가별 육계 출하 체중은 일본(2.9kg), 중국(2.6kg), 미국(2.6kg)으로 국내 육계 생산방식은

1.5kg 수준에 머물러 있음.

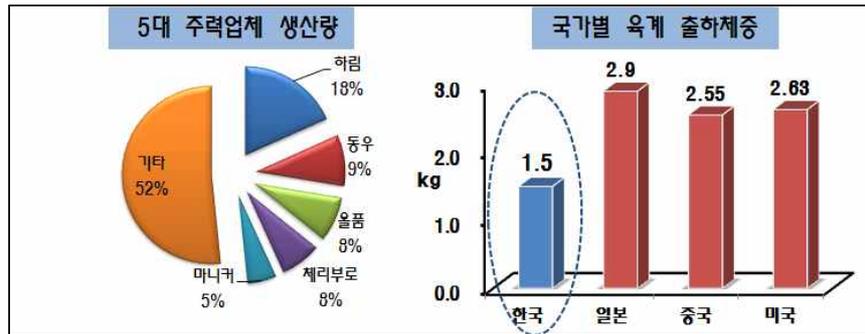


그림 1-2. 국내 육계 산업의 특징. (출처 : 농촌진흥청 축산과학원)

- (2) 산란계 산업은 육계와는 다르게 계열화 형태는 없으며, 대부분 전업 규모 이상으로 백만 수 내외의 양계단지는 20여 개 존재하고 있음.
- (3) 육계 및 산란계 산업의 생산 규모는 꾸준히 규모화가 진행되고 있음
  - 산란계: 사육 수수('07년 5천 6백만수 → '14년 6천 8백만수), 사육 농가('07년 1,831 농가 → '14년 1,170 농가)
  - 육계: 사육 수수('07년 5천 6백만수 → '14년 7천 8백만수), 사육 농가('07년 1,370 농가 → '14년 1,517 농가)
- (4) 지역별로 산란계 및 육계 산업은 특정 지역에 편중된 것이 특징임.

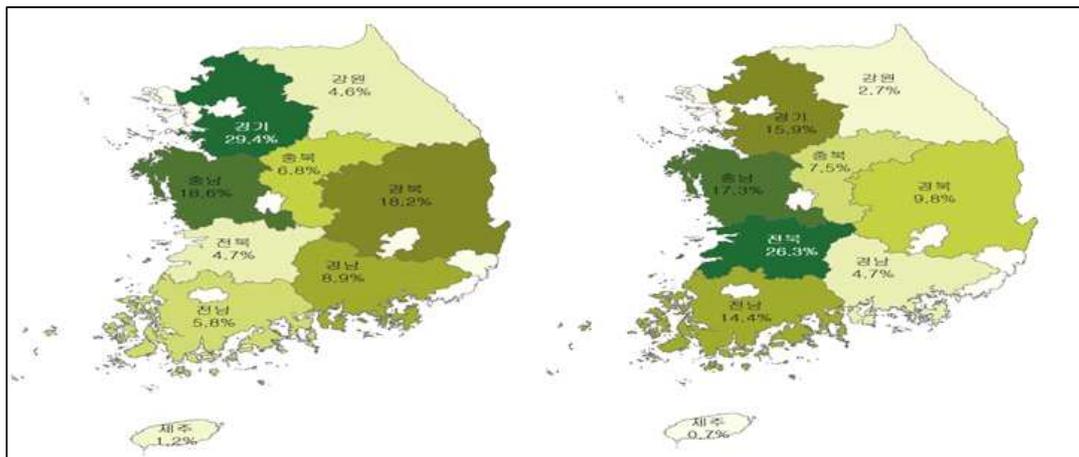


그림 1-3. 육계 및 산란계 산업의 지역별 현황(GIS 분석)

#### 다. 환경 스트레스 요인

##### (1) 스트레스의 정의

- 스트레스(stress)는 생체가 정상적인 생체 기능에 영향을 미치는 유·무형의 위해요소에 노출되었을 때 생체에서 일어나는 반응임.

- 동물에게 생리적 행동적인 반응을 유도하는 외부요인을 위해요소/스트레스 요인(Stressor) 이라고 정의할 수 있음.
- 생물체는 여러 경로를 통해 사육환경의 변화를 인지하고 반응하게 되며, 이러한 변화는 동물체의 항상성을 유지하는 데 나쁜 영향을 미칠 수 있음.
- 외부요인의 강도, 지속시간 및 빈도에 따라 동물은 행동, 생리, 면역계에 일시적인 반응을 보인 후 회복하거나, 적응하게 되며, 또는 이들의 이상으로 생산성이 저하되고 질병에 걸리기 쉬우며 심한 경우 폐사하게 됨.
- 부적절한 사육 환경(환경 온·습도, 사육밀도, 조명, 환기, 유해가스, 소음, 수질, 사료의 양과 질, 환우 등)은 닭의 스트레스 요인이 되어 생산성에 큰 영향을 미칠 수 있음.

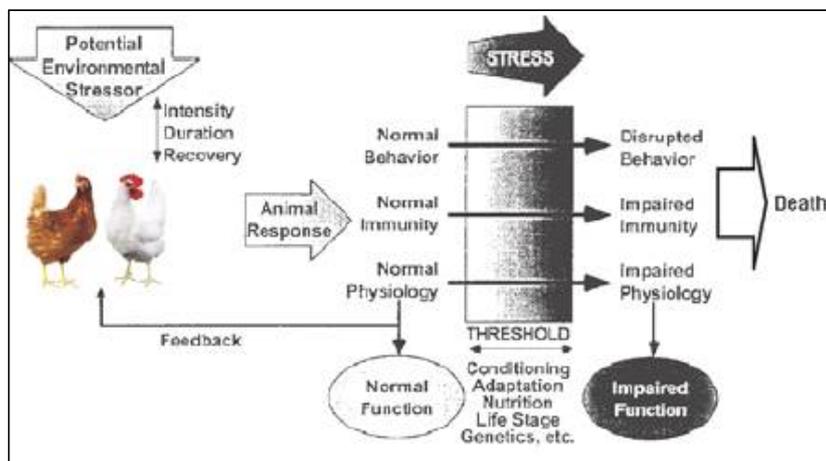


그림 1-4. 잠재적인 환경적인 위해요소에 대한 닭의 반응.

(출처 : Modified from Nienaber et al., 1999)

## (2) 사육밀도

- 국내 가축사육시설 단위면적당 적정 가축사육기준을 정하고 있음
  - 육계는 무창계사 기준으로 39kg/m<sup>2</sup>를 적정 사육밀도로 설정하고 있음
  - 우리나라 평균 사육 일령은 32.3일, 생체중은 1.56kg으로 추정하면, 적정사육기준인 39kg/m<sup>2</sup>는 약 25수/m<sup>2</sup>로 계산됨
  - 외국의 경우, 대형닭(2.5kg 출하 체중) 생산방식으로 국내 적정사육기준인 39kg/m<sup>2</sup>를 적용하면, 약 16수/m<sup>2</sup>로 계산되기 때문에, 국내의 사육밀도가 더 높은 것을 알 수 있음.
- 축산과학원에서 발표한 결과(2004년)에 따르면 국내 육계 농장의 사육밀도는 평당 45~70 수 정도 큰 차이를 나타냄.
  - 육계 산업이 규모화가 진행됨에 따라 사육 수수가 꾸준히 증가하고 있음.
  - 가축사육기준에는 부합하지만, 대형닭 생산방식의 외국과 비교하면 국내 육계 사육밀도는 아주 높다고 할 수 있음.
- 평사에서 주로 사육하는 육계와는 다르게, 산란계는 케이지 사육형태가 대부분을 차지하

고 있음

- 산란계의 사육밀도는 ‘13년 2월부터 산란계 적정 사육기준을 변경 → 수당 500cm<sup>2</sup> 증가함.

표 1-1. 국내 가축사육시설 단위면적당 적정 가축사육기준

구분	시설형태	소요면적	비고	
산란계	케이지	0.05m <sup>2</sup> /수		
	평사	9수/m <sup>2</sup>	(0.11m <sup>2</sup> /수)	
산란 육성계	케이지	0.025m <sup>2</sup> /수	100일령까지 사육	
육계	무창계사		39kg/m <sup>2</sup>	25수/m <sup>2</sup> (400cm <sup>2</sup> /수)
	개방계사	강제환기	36kg/m <sup>2</sup>	23수/m <sup>2</sup> (434cm <sup>2</sup> /수)
		자연환기	33kg/m <sup>2</sup>	21수/m <sup>2</sup> (476cm <sup>2</sup> /수)
	케이지		0.046m <sup>2</sup> /수	

(3) 기후변화 및 히트 스트레스

- 우리나라 기상연구소에 발표한 한반도 기온변화를 보면 지난 100년간 기온이 상승추세에 있는 것을 알 수 있음.
  - 세로축의 “0” 을 20세기 기온의 평균선이라고 놓고 보았을 때 1987년 이후 연평균 기온이 상승하고 있음을 확인할 수 있음.
- 미국의 경우 고온 스트레스 하나의 요인으로 매년 2조 4천억 원의 피해 발생.
  - 우리나라에서 2015년도 고온 스트레스로 인한 가금의 폐사는 243만 수에 달함.
  - 가금의 폐사율은 온난화가 가속화됨에 따라 증가할 것으로 예측되나, 국내에서 가금에 관한 (고온) 스트레스 대응 연구는 시작단계에 불과함.
  - 가금은 높은 대사열, 땀샘이 없고 깃털로 덮여있기 때문에 여름철 고온 스트레스로 인한 폐사율 증가, 닭고기의 품질 저하, 오·파란울 증가 및 계란 품질의 저하로 경제적 피해 규모는 상당할 것으로 추측되어 이에 관한 대응 연구가 필요함.
  - 고온 스트레스뿐만 아니라 사육과정에서 발생할 수 있는 각종 환경 스트레스는 가금의 양적 질적인 생산성이 저하되며, 그 결과는 생산자뿐만 아니라 소비자도 영향을 미치기 때문에 직·간접적인 경제적 손실은 천문학적일 것으로 예상함.

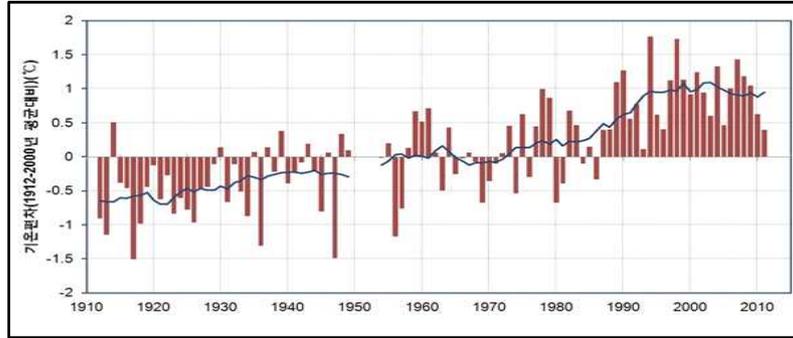


그림 1-5. 우리나라 기온변화(1912~2011년)

- 가금의 환경에 가장 영향을 미치는 국내 계사의 형태는 일반적으로 간이 계사(vinyl house type), 유창 계사(open sided house), 무창 계사(windowless house) 3종류가 있으며, 국내 계사의 약 48%가 유창 계사로 가장 많으며, 무창계사 32%, 그리고 간이 계사가 약 20% 정도를 차지하고 있음.
  - 간이 계사와 유창 계사는 계사 구조 및 재질의 특성상 여름철과 겨울철 모두 계사 내 온도조절이 쉽지 않기 때문에 닭은 고온 또는 추위에 쉽게 노출될 수 있음.
- 무창계사는 일반적으로 환경조절계사로 알려져 외부온도의 변화에 민감하게 변화하지 않는 특성이 있으나, 우리나라와 같은 고온다습한 환경에서 닭의 히트 스트레스를 완벽하게 차단하지 못하는 것으로 알려져 있음.
- 무창 및 개방 계사의 계절별 계사 내부온도 조사에 따르면 외부 온도변화에 많은 영향을 받는 것으로 조사됨.
  - 단열이 좋은 계사는 여름철은 외부온도보다 높지 않아야 하며, 겨울철은 외부온도보다 높아야 함.
  - 환경조절계사인 무창계사도 항상 온도조절이 잘 되는 것은 아님.
  - 무창계사 5번 계사는 개방계사보다 여름철 내·외부 온도 차이가 더 큼
  - 무창계사 2번, 4번 계사는 개방계사보다 겨울철 내·외부 온도 차이가 더 큼

표 1-2. 계절별·계사별 계사 내부온도 조사 결과

계사별		외부온도와의 온도 차이	
		여름	겨울
무창계사	1	+0.3	+24.8
	2	0	+13.5
	3	+0.7	+24.8
	4	0	+19.3
	5	+5.4	+22.7
	6	+0.6	+21.4

개방계사	1	0	+16.7
	2	+0.2	+20.5

(출처 : 양계단지 종합컨설팅 매뉴얼, 2011)

○ 계사 환경과 열량지수

- 닭은 온혈동물로서 체온을 일정하게 유지해야 하는데, 포유동물과 다르게 땀샘이 없어 개구호흡(panting, 헐떡거림)을 통하여 체온조절을 수행함.
- 개구호흡은 그 자체로서 에너지 소비 운동으로 대사열이 발생하기 때문에 체온상승의 요인으로 작용하고 있으며, 환경에 습도가 높은 환경(특히, 우리나라의 환경)에서는 개구호흡에 의한 체온감소 효과가 극히 떨어짐.
- 따라서, 더운 여름철, 닭의 히트 스트레스는 상대습도에 따라서 결정된다고 할 수 있는데, 이는 국내의 고온 다습한 환경이 닭에 있어 상대한 스트레스를 증폭시키는 인자로 작용함.
- 외국의 경우, 여름철은 고온이지만 상대적으로 습도가 낮아서 고온 스트레스 요인이 우리나라와 비교하여 낮은 편이라 할 수 있음.
- 열량지수는 온도×상대습도로 계산되며, 일반적으로 닭이 쾌적함을 느끼는 열량지수는 900~1330임.
- 여름철 닭의 체온을 낮추기 위하여 안개 분무 시 국내의 상황에서는 계사 내 습도를 높이기 때문에 생산성에 나쁜 영향을 미침.

표 1-3. 열량지수에 따른 닭의 섭취 변화 및 행동 양상.

열량지수	300~500	500~900	900~1300	1300~1800	1800~2300
상황	보온필요	사료섭취량 증가	쾌적	더위감지/ 사료섭취량 감소	개구호흡 (panting)/ 사료섭취량 및 생산성 감소

(4) 계사 내 유해가스

- 계사 내 발생하는 유해가스(암모니아, 황화수소 등)도 스트레스 요인으로 작용할 수 있음.
- 계사 내 대표적인 유해가스는 암모니아로서 무창형 계사의 암모니아 농도는 여름철 4.3~6.3 ppm, 겨울철 3.5~16ppm으로 보고됨.
- 계사 내 황화수소는 검출되지 않거나 ppb 수준으로 낮게 검출되고 있음.
- 암모니아 농도는 대부분 낮 동안에 측정된 결과로서, 유해가스(암모니아, 이산화탄소)는

낮보다는 밤에 높은 수준으로 발생하고 있음.

- 유해가스를 조절하기 위해서 유해가스 발생량을 측정과 더불어 밤 동안에 환기의 필요성이 대두됨.
- 이산화탄소는 주로 닭의 호흡과 가스 육추기(gas heater)에 의해 발생하기 때문에, 계사 내 이산화탄소 수준은 여름철보다는 겨울철에 높게 조사되고 있음.
- 계사 내 이산화탄소는 환기를 통해 감소시킬 수 있음.

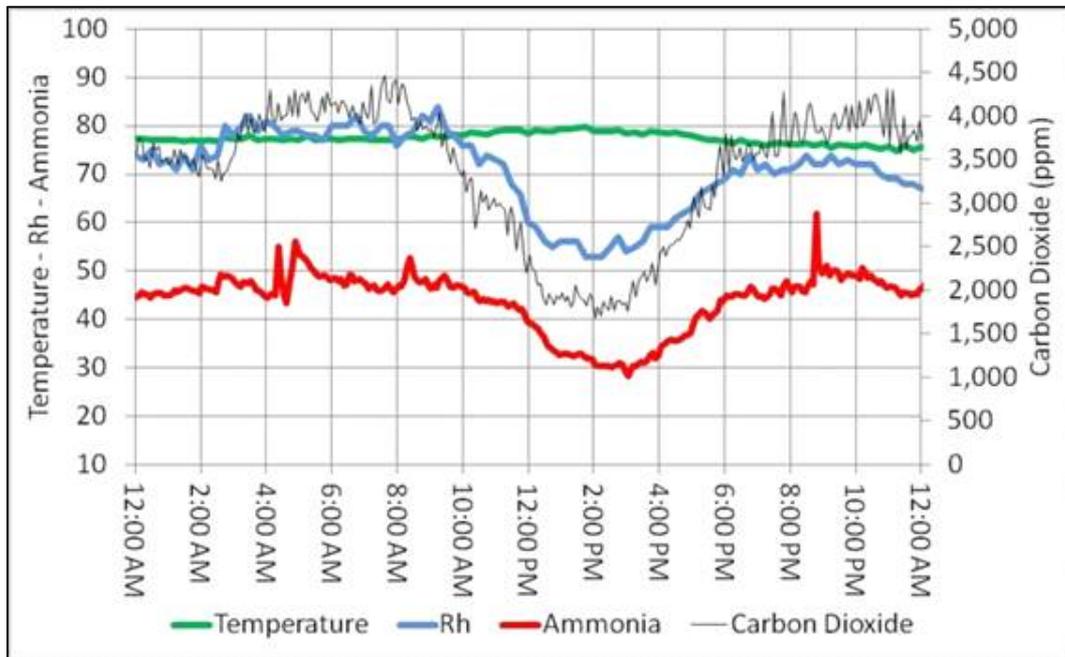


그림 1-6. 계사 내 유해가스(암모니아, 이산화탄소) 농도. (출처 : Poultry Informed Professional)

(5) 사료 내 항영양 인자

- 사료 내 마이코톡신 오염은 전 세계적으로 발생하고 있으며, 일반적으로 마이코톡신이 오염되지 않은 사료는 없는 것으로 알려짐.
- 마이코톡신에 의한 부정적인 측면은 면역반응을 낮추고, 독성 유발, 골격에 심각한 영향을 끼침. 또한, 계란으로의 이행이 가능하므로 공중보건에도 영향을 미치고, 육계에서는 이상육 발생을 촉발함.
- 마이코톡신은 사료 유래 가장 중요한 스트레스 요인으로 정의함(Surai and Dvorska, 2005)
- 국내에서는 외국의 문헌 자료와 비교하여 산란계와 육계의 생산성에 영향을 미치는 위해 요인(마이코톡신, 히트 스트레스 등)에 대해 조사·연구가 미흡한 실정임. 배합사료 내 마이코톡신의 허용기준은 aflatoxin B1 20ppb, ochratoxin A 200ppb로 정하고 있음.
  - 마이코톡신은 종류에 따라서 간 및 신장 독성을 유발하고, 난중 및 사료섭취량 감소, 산란율 감소 및 사료요구율 증가 등 생산성을 낮추고 생산비를 높이는 원인으로 작용함.
  - 마이코톡신에 의한 경제적 피해 규모는 파악되지 않고 있으나, '05년에 발표한 외국자

- 료에 따르면 aflatoxin에 의한 닭의 손실액은 10억 원에 이를 것으로 추정된 바 있음.
- 국내에서는 농장에서의 마이코톡신 오염수준에 대해 조사 자료가 없는 실정이며, 농산물 품질관리원에서 배합사료에서의 마이코톡신 오염수준 조사 정도만 보고되고 있음.
  - Aflatoxin의 오염수준은 중추 사료 0.61ppb, 산란 사료 0.82ppb로 조사되어 모두 허용수준 이하로 나타남.
  - Ochratoxin 역시 중추 사료 0.79ppb, 산란 사료 0.82ppb로 분석되어 허용수준 이하로 조사되었음.
  - 그 외 *Fusarium* 속 마이코톡신은 산란 사료에 deoxynivalenol 438ppb, T-2 toxin 19ppb, zearalenone 94ppb 수준으로 오염되어 있는 것으로 조사되었으며, fumonisin B1은 중추 사료 760ppb, 산란 사료 2,240ppb 수준으로 검출됨.
  - 마이코톡신의 오염수준은 산란계와 육계에 부정적인 영향을 미칠 정도의 수준은 아닌 것으로 파악되지만, 이러한 다양한 마이코톡신의 총량이 산란계와 육계에 어떠한 영향을 미칠지에 대한 조사는 없는 실정임.
  - 95% 이상의 사료원료를 수입에 의존하는 우리나라는 3개월 이상이 소용되는 운송 기간에 곰팡이 오염에 따른 마이코톡신 오염이 예상될 수 있으며, 비록 낮은 수준으로 존재한다고 해서 육계와 산란계에 미치는 영향이 없다고 할 수 없음.
  - 또한, 농장의 사료급여 단계를 볼 때, 사료 빈보다는 급이기에서 마이코톡신의 오염수준이 높다는 보고가 있어서 농장 수준에서의 오염도 조사가 필요한 실정임.

표 1-4. 배합사료에서 아플라톡신 오염수준 조사.

사료	Fumonisin B1 (ng/kg)	Aflatoxin B1 (ug/kg)	Ochratoxin A (ug/kg)
중추	343~1,190	0.45~1.08	0.46~1.34
산란	73~12,800	0.43~2.54	0.21~2.02

(출처 : 한국식품위생안전성학회, 2007)

표 1-5. 배합사료 내 *Fusarium* 속 곰팡이 독소 오염도(ug/kg) 조사 결과.

사료	Nivalenol	Deoxynivalenol	T-2 toxin	Zearalenone
초생추	0.0	207.9	5.8	23.3
중추	1.3	403.5	6.7	39.0
산란	0.0	437.6	19.4	93.7

(출처 : 한국식품위생안전성학회, 2011)

라. IT기술을 활용한 환경 스트레스 요인 측정 및 제어기술 현황

- 2004년부터 현재까지 IT 기술을 활용한 환경 스트레스 계측 및 환경제어에 관한 논문들을 분석한 결과는 아래와 같았으며, 이들 논문의 내용을 종합하면 온도, 습도 및 유해가스 농도 정도를 측정하고 제어할 수 있는 기술임.
- 따라서 본 과제에서는 온도, 습도 및 유해가스 농도뿐만 아니라 먼지 농도, 조도, 풍속, 호흡량, 배설물 및 행동 변화 등을 측정해야 하는데, 먼지 농도, 조도, 풍속, 호흡량, 배설물 및 행동 변화 등을 종합적으로 계측하고 제어할 수 있는 기술이 제시되거나 개발되어 있지 않음.
- 또한, 이들 논문의 연구 기간이 매우 짧았거나 개략도를 제시하는 정도이었으므로, 계사 내부의 열악한 환경에서 장기간 기능 또는 성능을 유지할 수 있는지를 판단하기 위한 장기간의 현장 실증 연구가 필요한 실정임.

표 1-5. IT 기술 관련 연구 현황.

논문명(계재년도)	측정 축사	측정 항목	특징
인터넷 및 네트워크 환경에서의 육계사의 환기관리 및 증체관리 시스템 개발 (2004)	육계사	온도, 습도, 가스(암모니아), 체중	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 육계의 체중, 온도, 습도 및 육계사 내부의 암모니아 가스에 대한 측정 장치를 인터넷 네트워크에 연결하여 계측하는 시스템을 개발하기 위한 연구를 수행했다.</li> <li>- 문제점 : 온도, 습도의 측정은 비교적 용이했다. 하지만, 암모니아 가스의 농도를 측정하는 데 있어 반도체식 센서의 내구성에 문제가 있었으며, 체중의 경우 인디게이터의 문제로 인하여 제대로 된 측정이 이루어질 수 없었다.</li> </ul>
무선 센서 네트워크를 이용한 계사 모니터링 시스템 설계 (2007)	계사	온도, 습도, 조도, 생체 데이터	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 바이오센서와 미세 기상 센서, 카메라를 이용하여 닭 생체 데이터와 계사 내·외부의 환경 정보를 수집하여 사용자에게 언제 어디서나 모니터링하고 제어할 수 있는 기능을 제공하여 최적의 계사 환경을 제공하기 위한 시스템이다.</li> <li>- 문제점 : 농장에서의 유효성 검증이 이루어지지 않았으며, 환경요인 중 온도, 습도, 조도만을 고려하여 설계가 이루어졌고, 환경제어방법이 구체적으로 명시되어있지 않다.</li> </ul>
RFID/USN 기반	돈사	온도, 습도, 가	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : RFID/USN 기반의 돈사 모니터</li> </ul>

<p>돈사 환경 및 생체정보 모니터링 시스템 설계 (2009)</p>		<p>스(암모니아), 조도, 생체정보 (체온, 활동량)</p>	<p>링 시스템을 개발하여 돈사의 환경정보와 돼지의 생체정보를 수집하고 수집된 정보를 DB에 저장한다. 또한, 정보를 GUI를 통해 생산자에게 전달함으로써 생산자가 돈사시설을 원격 제어 할 수 있도록 한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 문제점 : 설계 시스템의 실증분석이 이루어지지 않았으며, 열화상카메라 운용을 위한 별도의 설비가 필요하고 농장의 환경에 따라 열화상카메라를 사용할 수 없는 경우도 있다.</li> </ul>
<p>대규모 유비쿼터스 축사 모니터링 시스템 설계 (2009)</p>	-	<p>온도, 습도, 가스, 조도</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 센서에서 감지된 환경데이터는 유무선 통신망을 통하여 축사 관리 장치로 전송되며, 전송된 정보는 축사 관리 장치에서 전송축사, 전송시각, 감지정보, 전송 값 등으로 정리되어 DB에 저장된다. 전송된 환경데이터가 환경 기준 데이터와 상이할 경우 경고 메시지와 함께 이동식 단말기로 전송되어 관리자가 신속하게 축사에 발생한 문제를 확인할 수 있다.</li> <li>- 문제점 : 설계 시스템의 유효성에 대한 실증분석이 이루어지지 않았으며, 시스템 운용을 위해 특정 이동식 단말기가 필요하다.</li> </ul>
<p>대단위 축사 환경에서의 센서 네트워크 데이터 수집에 관한 연구(2009)</p>	우사	<p>온도, 습도, 가스, 생체정보</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 대단위 우사에서의 환경정보와 가축의 생체정보를 수집하기 위해 센서노드의 데이터 수신율을 고려하여, 축사 센서 네트워크에서의 데이터 수집 장치의 위치 및 규모에 대한 성능 분석을 연구하였다.</li> <li>- 문제점 : 대단위 실내 축사에서의 효율적인 데이터 수집을 위해서는 싱크노드의 위치 및 규모를 분석해야한다. 이를 위해 환경 센서노드를 일정 구역에 배치하고 생체 센서노드를 소의 체내에 이식하여 싱크노드의 설치 기준을 마련하기 위한 연구를 수행했으나, 생체 센서노드를 닭의 체내에 이식하는 것은 현실적으로 어려움이 있기 때문에 본 연구로부터 도출된 데이터를 계사에 적용하기는 힘들 것으로 판단된다.</li> </ul>
<p>유비쿼터스 돈사 모니터링 시스템</p>	돈사	<p>온도, 습도, 가스, 조도</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 센서와 카메라를 통하여 돈사 내부의 환경정보와 영상정보를 수집</li> </ul>

설계 및 구현 (2009)			<p>하고 실시간 GUI를 통하여 돈사의 상태를 모니터링하고 제어한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 문제점 : 가축의 스트레스를 유발할 수 있는 환경인자 중 풍속, 먼지농도를 측정하는 것이 제외됐으며, 가축의 스트레스 정도를 파악할 수 있는 행동변화, 배설물의 형태, 호흡량 등을 자동으로 분석할 수 있는 기술이 포함하고 있지 않다. 또한, 관리자용 GUI를 WEB환경으로 개발했기 때문에 스마트폰에서는 사용할 수 없는 단점이 있다.</li> </ul>
유비쿼터스 농업 환경에서의 돈사 통합관리 시스템 구현(2010)	돈사	온도, 습도, 가스(암모니아), 조도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 돼지의 생육환경에 관련된 정보를 수집하는 USN 환경 센서와 CCTV를 양돈장 내·외부에 설치하고, 양돈장 환경을 모니터링한다. 이 시스템은 외부에서 양돈장 시설을 원격으로 제어하고 모니터링할 수 있을 뿐 아니라, 장기간에 얻어진 생육환경 데이터를 통하여 최적의 생육조건을 조성한다.</li> <li>- 문제점 : 환경요인 중 먼지농도와 풍속을 고려하지 않았으며, 유효성 검증을 위해 약 4일 동안 환경정보를 측정했는데, 열악한 돈사 환경에서 장치의 내구성을 판단하기에 실험기간이 다소 짧다고 판단된다.</li> </ul>
무선 센서네트워크를 이용한 원격 돈사 관리 시스템 구현(2011)	돈사	온도, 습도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 무선 센서 네트워크를 이용해서 축사내 환경을 모니터링하고 최적의 환경을 유지하기 위해 축사내 환경조절 장치를 원격으로 제어하는 시스템을 구현한다.</li> <li>- 문제점 : 환경정보를 단순히 온도와 습도만 측정하여 다른 인자에 대한 고려가 이루어지지 않았으며, PC가 아닌 스마트폰을 이용한 제어가 불가능하다.</li> </ul>
스마트폰을 이용한 무선 센서 네트워크 기반 유비쿼터스 축사 관리 시스템에 관한 연구(2011)	-	온도, 습도, 가스, 조도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 축사시설(조명, 가습기, 에어컨, 환풍기)의 제어는 자동과 수동으로 이루어지며 자동제어의 경우 사용자가 iPad용 애플리케이션을 이용하여 축사 환경 기준값을 입력하면 축사 데이터베이스에 이를 저장하고 실시간으로 센서를 통해 수집되는 환경데이터와 비교하여 환경 기준값을 초과</li> </ul>

			<p>하거나 미달하면 그에 맞게 측사시설을 제어한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 문제점 : 논문에서 제안하는 유비쿼터스 측사 관리시스템을 검증하기 위하여 측사모형에 대한 테스트만 진행했으며, 실제 농장에 대한 테스트는 수행되지 않았다.</li> </ul>
IT기반의 측사 관리 시스템을 위한 통신 프로토콜 설계(2011)	-	온도, 습도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 본 측사관리시스템은 환경조절을 위한 안개분무기를 포함하며, 무선 센서 노드가 온도와 습도를 센싱하기 위해 설치되어 있다. 각 센서 노드가 센싱한 온도와 습도는 제어기의 싱크노드로 전송되며 제어기는 싱크노드가 수집한 데이터르 분석하여 환경 조절장치를 구동시킨다. 제어기는 수집한 데이터를 다시 서버로 전송하게 되고 이를 PC를 통해 사용자에게 제공한다. 또한, 사용자 인터페이스에서는 사용자가 제어기의 설정을 변경할 수 있으며 변경된 설정정보는 제어기로 전달되도록 설계하였다.</li> <li>- 문제점 : 환경정보를 단순히 온도와 습도만 측정하여 다른 인자에 대한 고려가 이루어지지 않았으며, PC가 아닌 스마트폰을 이용한 제어가 불가능하다.</li> </ul>
유비쿼터스 측사 구현을 위한 스마트폰 어플리케이션 개발(2012)	-	온도, 습도, 가스, 조도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 무선 센서 네트워크 기반 유비쿼터스 측사에서 수집된 측사의 환경정보 및 영상정보를 사용자가 스마트폰을 활용하여 실시간으로 측사를 모니터링 할 수 있으며, 언제 어디서나 스마트폰을 이용하여 측사시설을 제어할 수 있는 기술에 대해 연구를 수행했다.</li> <li>- 문제점 : 가축의 스트레스를 유발할 수 있는 환경인자 중 풍속, 먼지농도를 측정하는 것이 제외됐으며, 가축의 스트레스 정도를 파악할 수 있는 행동변화, 배설물의 형태, 호흡량 등을 자동으로 분석할 수 있는 기술이 포함하고 있지 않다.</li> </ul>
바이오 및 환경 센서를 활용한 무선센서 네트워크 기반의 측사	-	온도, 습도, 가스(이산화탄소, 휘발성유기화합물, 암모니	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 측사의 무선 환경정보 수집 노드, 환경개선 노드, 측사 게이트웨이, 서버로 구성되어 대규모 측산산업 환경 모니터링과 환경개선이 가능하여</li> </ul>

관리 시스템 (2013)		아, 황화수소), 먼지, 풍향, 풍속	<p>상황에 따른 능동적인 대응 및 가축의 최적 생활 조건과 질병발생시 환경에 따른 정보의 실시간 수집 및 최적 환경제어가 가능한 시스템을 제안하고 있다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 문제점 : 환경정보 중 조도 측정이 제외됐으며, 축사에서 진행했던 실험기간이 너무 짧았기 때문에 시스템의 유효성을 검증하기에는 다소 무리가 있는 것으로 판단된다.</li> </ul>
유비쿼터스 기반의 축사 환경관리 시스템 연구 (2014)	-	온도, 습도, 가스(이산화탄소, 암모니아), 소음	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 동물복지 차원에서 가축에게 쾌적한 환경을 제공하기 위해서 온도, 습도, 이산화탄소 등을 자동으로 측정하고, 센싱된 값을 이용하여 팬 등의 시설물을 자동으로 작동시킨다.</li> <li>- 문제점 : 가축의 스트레스를 유발할 수 있는 환경인자 중 풍속, 먼지농도, 조도를 측정하는 것이 제외됐으며, 가축의 스트레스 정도를 파악할 수 있는 행동변화, 배설물의 형태, 호흡량 등을 자동으로 분석할 수 있는 기술이 포함하고 있지 않다. 또한, 제어할 수 있는 축사시설이 팬에 국한됨으로써 제대로 된 환경관리가 힘들 것으로 판단된다.</li> </ul>
사물인터넷(IoT) 기반 축사 관리 시스템 제안 (2014)	-	온도, 습도, 가스(이산화탄소), 조도, 체온, 운동량	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 축산농가에 사물인터넷 기술을 적용 시키고자 정보를 수집하는 센서 장치를 통해 축사환경 센서, 가축 생체정보 인식 센서, 영상정보 인식 센서, 급이 시설 시스템 센서, 화재감지 센서에서 얻는 데이터를 수집하고 분석 시스템을 통해 가축의 질병 예방 및 관리의 효율성을 높이기 위한 사물인터넷기반 축사 관리 시스템을 제안하고 있다.</li> <li>- 문제점 : 단순히 사물인터넷기반 축사 관리 시스템에 대해 제안하는 것에 그침으로써 농장에서의 실증분석을 실시하지 않았다.</li> </ul>
한우 행동특성에 기반한 축사 모니터링 시스템 (2014)	우사	온도, 습도, 가스(이산화탄소), 운동량, 군집도	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 요약 : 과학적 사양관리를 위해 축사 환경 정보뿐만 아니라 RFID 태그를 가축에게 적용함으로써 가축의 행동 특성 정보까지 모니터링하여 가축의 이상상태를 신속히 포착할 수 있는 시스템을 제안하고 있다.</li> </ul>

			- 문제점 : 환경정보를 단순히 온도, 습도, 가스(이산화탄소)만 측정하여 다른 인자에 대한 고려가 이루어지지 않았으며, 닭의 경우 RFID 태그를 장착하는 것이 현실상 불가능하여 이 시스템을 계사에서 이용할 수 없을 것으로 판단된다.
THI를 이용한 축사 환경 자동 제어 시스템 설계 (2015)	유우사	온도, 습도	- 요약 : 센서네트워크를 이용한 축사의 온습도를 실시간 모니터링하고 착유우의 고온스트레스지수인 THI(Temperature-Humidity Index)를 산출하여 이를 기준으로 축사 환경을 자동으로 제어하는 시스템을 설계하였다. - 문제점 : 환경정보를 단순히 온도와 습도만 측정하여 다른 인자에 대한 고려가 이루어지지 않았으며, PC가 아닌 스마트폰을 이용한 제어가 불가능하다. 또한 습도의 조절이 이루어지지 않았고 농장에서의 실증분석 또한 수행되지 않았기 때문에 이를 계사에 적용할 수 없을 것으로 판단된다.

마. 사료 및 사료첨가제를 활용한 환경 스트레스 저감기술 현황

- 환경 스트레스를 낮추기 위하여 다양한 영양학적 접근방법이 제시되고 있으나, 아직 뚜렷하게 효과적인 방법은 없는 실정임.
- 외국에서는 다양한 사료와 사료첨가제를 이용하여 환경 스트레스에 따른 저감방안이 보고되고 있으나, 우리나라의 닭 사육환경(고온·다습한 환경, 소형육계 출하방식)은 외국의 사육환경(고온)과는 확연하게 차이가 존재하기 때문에 효과적으로 환경 스트레스를 줄일 방안이 제시된 바 없음.
- 특히 육계 및 산란계 사료 내 아미노산 요구량은 다양한 환경에서 변화하며, 고온 또는 밀사 환경에서 요구량을 증가 또는 감소를 권장하는 논문이 최근에 발표되는 추세임.
- 히트 스트레스 상황에서 사료 내 지방 첨가는 생산성을 높이고 스트레스에 따른 반응을 낮추는 것으로 보고된 바 있으나, 지금까지 보고된 자료는 주로 지방원료 종류에 대한 평가로 이루어지고 있으며 지방산 조성 변화에 따른 조사는 없는 실정임.
- 따라서, 스트레스 환경에서 지방산 첨가 효과 검증이 필요함.

표 1-6. 스트레스 저감 사료 및 사료첨가제 연구 동향.

스트레스 요인	저감기술	작용기전 및 현황
히트 스트레스	환기량 증가	<ul style="list-style-type: none"> <li>열 발생량의 물리적인 제거</li> <li>전기료 등 생산비용 증가 발생</li> </ul>
	안개 분부 시스템 설치	<ul style="list-style-type: none"> <li>체온감소</li> <li>계사 내 습도 증가로 충분한 환기로 수분을 제거하지 않으면 열량지수 증가로 육계에서 히트 스트레스가 오히려 가중됨</li> </ul>
	부화기 내 고온 스트레스 제공	<ul style="list-style-type: none"> <li>초기 부화 단계에서 히트 스트레스에 적응하여 육성기 동안 히트 스트레스 완화 효과를 보고함</li> <li>추가 연구가 필요한 분야</li> </ul>
	사료 내 에너지 증가	<ul style="list-style-type: none"> <li>지방산 종류 및 지방산 조성에 따른 연구는 없음</li> </ul>
	단백질 수준	<ul style="list-style-type: none"> <li>단백질 수준을 낮춰 체내 대사열을 감소시키는 전략</li> </ul>
	Arginine	<ul style="list-style-type: none"> <li>스트레스 상황에서 arginine의 요구량 증가</li> </ul>
	Tryptophan	<ul style="list-style-type: none"> <li>히트 스트레스 상황에서 tryptophan의 요구량이 적어짐</li> </ul>
	항산화제(비타민, 아연 등)	<ul style="list-style-type: none"> <li>스트레스에 따른 산화스트레스 완화</li> <li>국내·외 제품화 완료</li> </ul>
	Prebiotics, 생균제	<ul style="list-style-type: none"> <li>스트레스에 따른 면역력 저하 등 완화</li> <li>국내·외 제품화 완료</li> </ul>
	비타민	<ul style="list-style-type: none"> <li>수분조절제 역할</li> <li>국내·외 제품화 완료</li> </ul>
	효소제	<ul style="list-style-type: none"> <li>소화과정에서 열이 발생하는 사료 내 섬유소 함량 감소</li> <li>국내·외 제품화 완료</li> </ul>
	Zeolite	<ul style="list-style-type: none"> <li>개구호흡(panting)에 따른 alkalosis 발생 완화</li> <li>국내·외 제품 완료</li> </ul>
	미네랄	<ul style="list-style-type: none"> <li>히트 스트레스로 야기되는 전해질 불균형 완화</li> <li>제품화 완료</li> </ul>
	냉수 급여	<ul style="list-style-type: none"> <li>음수량 증가 및 체온감소 효과</li> </ul>
포도당	<ul style="list-style-type: none"> <li>직장 체온이 감소하여 히트 스트레스 감소 효과</li> </ul>	

	$\gamma$ -aminobutyri acid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 히트 스트레스 유발 인자 감소</li> </ul>
밀사	트립토판 추가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 밀사에 따른 산화스트레스(oxidative stress) 완화</li> </ul>
	Arginine	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 스트레스 상황에서 arginine 요구량 증가</li> </ul>
	단백질	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 밀사 환경에서 단백질 수준을 낮추면 육계의 생산성이 향상됨</li> </ul>
	Prebiotics	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 밀사 환경에서 효과를 나타내지 못함</li> </ul>
	Glutamine+Glutamate	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 스트레스 환경에서 비필수 아미노산인 glutamine+glutamate의 요구량이 증가할 것으로 예상하였으나, 밀사 환경에서 효과 없음</li> <li>• 제품화</li> </ul>
	Threonine 추가	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 밀사 환경에서 threonine 요구량은 권장량 수준 또는 이하로 급여해도 생산성, 면역반응에 차이가 없음</li> </ul>
	비타민(C, E)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 비타민 추가급여로 닭의 생리적 스트레스 저감 또는 스트레스에 야기된 생산성 저하문제 향상</li> </ul>
	중쇄지방산	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 육계의 복지 지표가 향상됨</li> </ul>
점등	점등관리	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 종야 점등에 따른 스트레스 증가</li> </ul>
	Vitamin C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 종야 점등과 같은 스트레스 환경은 vitamin C의 요구량이 증가함</li> </ul>
유해가스	단백질	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 사료 내 단백질 수준을 1% 낮추면 계사 내 암모니아 발생량이 10% 감소(단, 사료 내 아미노산 균형이 필수적임)</li> </ul>
	섬유소	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 사료 내 섬유소를 공급하면 분 중 pH를 낮춰 암모니아 발생량이 감소됨</li> </ul>
	유기산	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 분의 pH 감소로 암모니아 발생량 감소</li> </ul>
	점토류	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 암모니아와 결합하여 환경으로 암모니아 발생을 억제함</li> </ul>

### 1-3. 연구개발 범위

#### 가. 닭의 IT 기술 기반 환경 스트레스 요인 측정 및 저감기술 개발

##### (1) 우리나라 육계/산란계 사육시설 분석 및 장점/단점 도출

- (2) 우리나라 육계(평사)/산란계(케이지)의 사육밀도 분석 및 스트레스 감소 방안 도출
- (3) IT 기술 기반으로 온도, 상대습도, 풍속, 암모니아 가스, 먼지, 조도, 행동 변화, 배설물, 호흡량 등을 자동으로 측정할 수 있는 기술 개발
- (4) 상기 연구결과를 기반으로 하여 최적의 조명, 환기, 사육시설 등의 개선방안 마련
- (5) 행동분석, 배설물 형태(중중 배설물의 색깔로 닭의 상태를 파악 또는 설사 여부를 측정할 수 있는 시스템 등 검토), 사육장내 호흡량 측정 기계(CO<sub>2</sub> 발생량) 등
- (6) 육계 및 산란계에 대한 환경 스트레스 인덱스를 이용한 스트레스 저감 환경제어기술 개발

나. 닭의 스트레스 요인 구명 및 인덱스 개발

- (1) 육계 및 산란계별 생산성을 저하시키는 대표적인 스트레스 요인 분석
  - 주요요인 : 밀도(복지), 온도, 상대습도, 풍속, 암모니아 가스, 먼지, 조도 등
  - 조사항목 : 행동 변화, 배설물, 호흡량 등
- (2) 육계 및 산란계별 환경 스트레스 인덱스 개발
  - 측정 항목 : 밀도(복지), 온도, 상대습도, 풍속, 암모니아 가스, 먼지, 조도, 행동 변화, 배설물, 호흡량 등

다. 닭의 환경 스트레스 저감형 사육시스템 개발

- (1) 현재의 사육형태를 최대한 유지하는 것을 전제로 한, 사육시스템 개선방안을 마련하여 과학적으로 분석
- (2) 육계 및 산란계 구분, 환경 스트레스 저감을 위한 사료(사료첨가제) 등 개발
- (3) 사료첨가제(GABA) 개발 전략 및 GABA 선정 이유 등 제시
- (4) 사료개발(지방 또는 아미노산(arginine) 첨가 효과)
- (5) 사료 및 사료첨가제 산란계/육계 실증 평가

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 제 1장. 계사 내부 주요 환경요소 측정기술 개발

#### 1. 주요 환경요소 측정기술

○ 온도, 상대습도, 암모니아 가스 농도를 자동으로 측정할 수 있는 기술 개발

- 온도, 상대습도, 암모니아 가스 농도를 자동으로 측정해야 하는 이유

- 계사 내부의 여러 환경요소 중에 닭의 생산성과 건강에 영향을 지대하게 미치고 인위적으로 제어가 가능한 환경요소는 온도, 상대습도, 암모니아 가스 농도 등이 있으며, 이들 환경요소는 환경제어를 위해 자동으로 연속적으로 측정할 필요가 있음
- 그러나 나머지 환경요소들은 제어가 불가능하거나 제어할 필요성이 없기 때문에 자동으로 연속적으로 측정할 필요가 없기 때문에 개별적인 측정 장치를 이용하여 측정하였음

○ 온도, 상대습도, 암모니아 가스 농도 측정 장치의 구성

- 육계사와 산란계사 동일한 방법으로 측정하였음
- 계사 내부 기온, 상대습도, 암모니아 가스 농도는 별도로 제작한 환경 측정 장치를 이용하여 1분 간격으로 측정하였으며, 측정값은 데이터 로거에 저장하였음
- 계사 내부 기온은 그림 1-1과 같이 건구온도 센서(CASS-18, OMEGA, USA)로 측정했으며, 상대습도는 그림 1-1과 같이 건구온도 센서(CASS-18, OMEGA, USA)에 물에 젖은 형질을 연결하여 측정한 습구온도를 토대로 그림 1-2와 같이 대한설비공학회에서 제작한 습공기선도를 이용하여 산출하였음

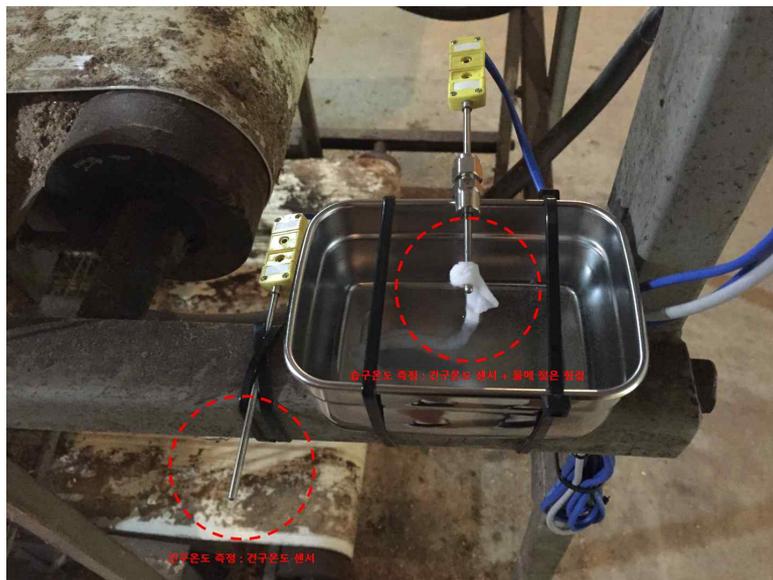


그림 1-1. 건구/습구온도 측정 센서.

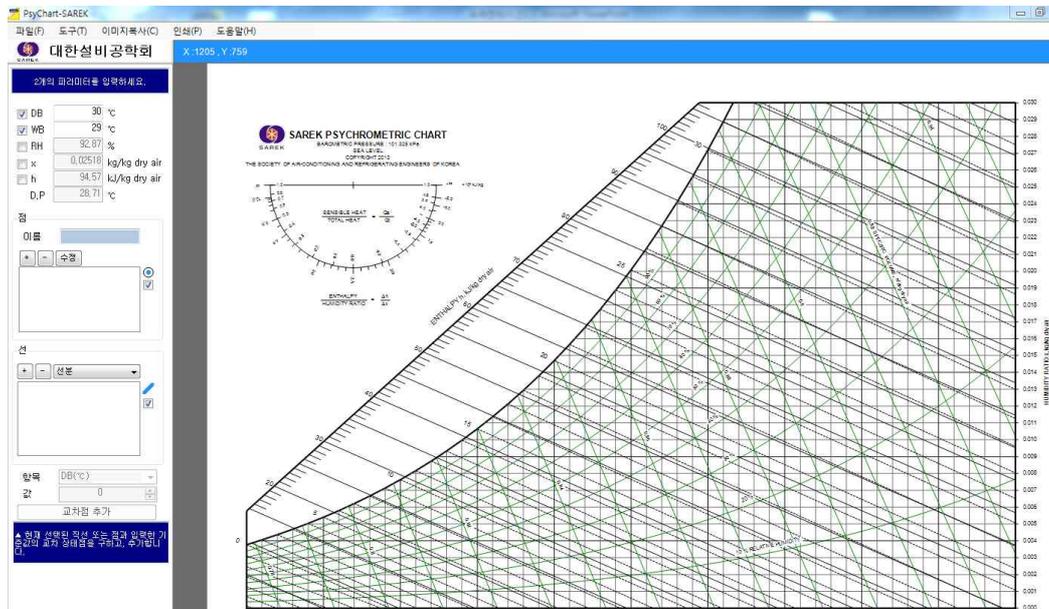


그림 1-2. 습공기선도.

- 상대습도를 측정하는데 위와 같은 방법을 이용한 이유는 계사 내부의 열악한 환경에서는 상대습도 센서의 내구성이 크게 떨어지기 때문이었음
- 암모니아 가스 농도는 그림 1-3과 같이 계사 내부에 암모니아 가스 농도 측정 센서 (ADT-NH3, KOMETS, Korea)를 설치하여 측정하였음



그림 1-3. 암모니아 가스 농도 측정 센서.

· 측정값은 그림 1-4와 같은 데이터 로거(GL800, GRAPHTEC, USA)에 저장하였음



그림 1-4. 데이터 로거.

○ 먼지 농도 측정

- 육계사와 산란계사 동일한 방법으로 측정하였음
- 계사 내부 먼지 농도는 그림 1-5와 같이 먼지 농도 측정기(HB3275-07, CASELLA MEASUREMENT, U.K.)를 이용하여 1분간 3회 측정하였음



그림 1-5. 먼지 농도 측정 장면.

○ 조도 측정

- 육계사와 산란계사 동일한 방법으로 측정하였음
- 계사 내부 조도는 그림 1-6과 같이 조도 측정기(TM-204, TENMARS, Taiwan)를 이용하여 측정하였음



그림 1-6. 조도 측정 장면

○ 소음 측정

- 육계사와 산란계사 동일한 방법으로 측정하였음
- 계사 내부 소음은 그림 1-7과 같이 소음 측정기(TES-1351, TES, Taiwan)를 이용하여 측정하였음



그림 1-7. 소음 측정 장면.

○ 행동변화 및 호흡횟수 측정

- 육계사와 산란계사 동일한 방법으로 측정하였음
- 행동변화 및 호흡횟수는 그림 1-8과 같이 캠코더로 녹화 후 이를 직접 분석하였음

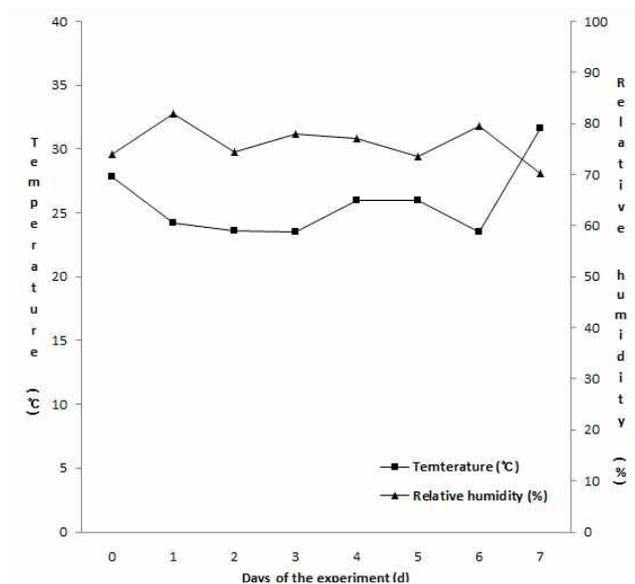


그림 1-8. 캠코더 녹화 장면.

2. 측정 결과

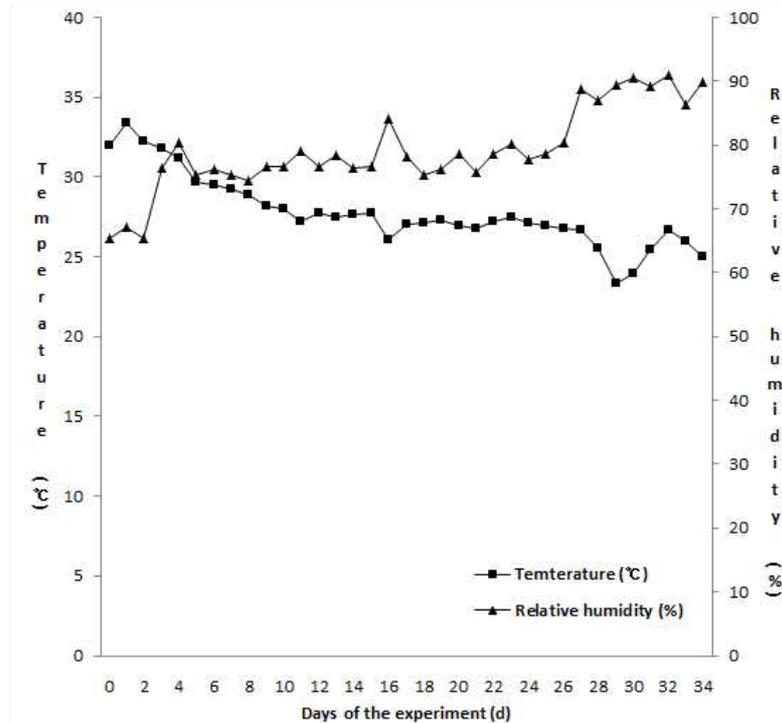
○ 온도와 상대습도

- 산란계사에서 2016년 08월 25일부터 2016년 09월 01일까지 사료와 더위 스트레스에 관한 실험을 진행하는 과정에서 온도를 측정한 결과는 그림 1-9와 같았음
- 산란계의 적온영역이 10~24℃ 인 점을 감안해볼 때 실험기간 동안 내내 산란계가 더위 스트레스를 받았을 것으로 판단되며, 또한 상대습도가 70% 이상으로 높게 유지되어 더위 스트레스를 가중시켰을 것으로 판단됨



<그림 1-9. 산란계사 내 온도와 상대습도 측정 결과>

- 육계사에서 2016년 09월 01일부터 2016년 10월 05일까지 사료 실험과 더위 스트레스에 관한 실험을 하는 과정에서 온도를 측정된 결과는 그림 1-10과 같았음
- 육계의 적온영역이 16~25℃ 인 점을 감안해볼 때 실험기간 동안 내내 육계가 더위 스트레스를 받았을 것으로 판단되며, 또한 상대습도가 70% 이상으로 높게 유지되어 더위 스트레스를 가중시켰을 것으로 판단됨



<그림 1-10. 육계사 내 온도와 상대습도 측정 결과>

○ 암모니아 가스 농도

- 산란계사와 육계사 모두가 최대 환기를 하는 상황이었기 때문에 계사 내부 먼지 농도는 약 2~3ppm 정도로 낮게 측정되었음
- 따라서 암모니아 가스 농도가 산란계와 육계의 생산성과 건강에 영향을 미치지 않은 것으로 판단됨

○ 먼지 농도

- 산란계사와 육계사 모두가 최대 환기를 하는 상황이었기 때문에 계사 내부 먼지 농도는 약 0.124ppm 내외로 낮게 측정되었음
- 따라서 먼지 농도가 산란계와 육계의 생산성과 건강에 영향을 미치지 않은 것으로 판단됨

○ 조도

- 산란계사 내의 조도는 11 lux 정도로 적정하게 유지되었으며, 육계사 내의 조도 또한 10 lux 정도로 적정하게 유지되었음

○ 소음

- 약 1분간 3회 측정한 결과, 환기팬에 의한 소음이 약 80~85dB로 측정되었음

○ 행동변화 및 호흡횟수

- 환경온도가 상승함에 따라 산란계에서 개구호흡(panting)이 관찰되기 시작하였음
- 환경온도 23℃에서 개구호흡이 관찰되지 않았으나 30℃에서는 분당 평균 52회, 33℃에서 57회, 36℃에서 57회, 37℃에서 67회로 관찰되었음

3. 결론

- 국내 여름철 육계사 및 산란계사에서 환경요소에 대해 분석한 결과, 여러 환경요소 중 계사 내부의 온도와 상대습도를 기준으로 더위 스트레스를 경감시키는 방법이 마련돼야할 것으로 판단됨
- 따라서 계사 내부의 기온과 상대습도를 자동으로 측정하여 온습도지수(THI)를 산출하고 이를 기준으로 더위 스트레스 저감 시스템을 제어할 수 있는 기술이 개발되어야 할 것으로 사료됨

제 2장. 닭의 IT 기술 기반 환경 스트레스 요인 측정 및 장치의 개발

1. 연구 내용

- IT기술 기반으로 온도, 상대습도, 풍속, 암모니아 가스, 먼지, 조도, 행동변화, 배설물, 호흡량 등을 자동으로 측정할 수 있는 기술을 개발하였음
- 디지털 캠코더로 동영상을 촬영한 후 행동, 배설물, 호흡횟수 등을 분석한 결과, 행동변화 및 배설물에 대한 특이점을 발견할 수 없었으나 온습도지수(THI)가 증가함에 따라 호흡횟수(panting)와 폐사율이 증가하였음
- 위의 기술을 이용하여 환경스트레스 요인을 측정한 결과에 의하면, 우리나라의 기후특성상 THI(온습도지수)를 활용하여 더위 스트레스를 경감시킬 수 있는 기술의 개발이 절실한 것으로 나타났으며, 나머지 환경요소에 의한 것은 문제가 되지 않는 것으로 나타남
- 이에 따라 THI(온습도지수)를 자동으로 측정한 후 이를 기준으로 더위 스트레스를 경감시킬 수 있는 기술(계사 내부의 온도, 습도, 온습도지수 등을 스마트폰을 통해 실시간으로 확인할 수 있는 어플리케이션 개발 및 스마트폰 어플리케이션을 이용하여 더위 스트레스 경감용 설비 또는 장치를 제어할 수 있는 기술 개발) 및 화재, 정전 등 안전사고가 발생했을 경우 경보발생 및 관리자에게 SMS를 전송할 수 있는 WEB 모니터링 기술을 개발하는 것으로 연구방향을 설정함
- THI(온습도지수)
  - 닭의 THI 산출식 :  $THI = 0.6 \times \text{건구온도}(^{\circ}\text{C}) + 0.4 \times \text{습구온도}(^{\circ}\text{C})$
  - THI 차트를 화씨(°F) 기준에서 섭씨(°C) 기준으로 환산할 경우, THI가 약 25°C 이상일 경우 위험단계로서 생산성 저하가 나타나기 시작함 (그림 2-1)

		TEMPERATURE AND HUMIDITY STRESS INDEX FOR COMMERCIAL LAYING HENS (HEAT STRESS INDEX = 0.6 X DRY BULB TEMPERATURE + 0.4 X WET BULB TEMPERATURE)																				
		Relative Humidity (%)																				
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
Temperature	68	20	63	63	63	64	64	64	64	65	65	65	66	66	66	67	67	67	67	68	68	
	72	22	64	65	65	66	66	66	67	67	67	68	68	69	69	20.5	0	70	70	71	71	72
	75	24	66	67	67	68	68	68	20.2	70	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
	79	26	68	68	20.4	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	75	24.6	7	77	78	78	79
	82	28	70	70	71	72	72	73	74	74	75	24.9	6	77	78	78	79	80	80	81	82	82
	86	30	71	72	73	74	74	75	25.6	77	78	78	79	80	81	81	28.5	8	84	84	85	86
	90	32	73	74	75	26.0	77	78	79	80	81	29.0	8	84	84	85	86	87	88	89	90	90
93	34	75	76	77	78	79	80	81	29.7	8	84	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	

그림 2-1. 닭의 THI(온습도지수) 차트.

○ 산출근거

건구온도	상대습도	습구온도	THI 산출 결과
22℃	70%	18.3℃	THI = 0.6 x 22℃ + 0.4 x 18.3℃ = 20.5℃
24℃	35%	14.6℃	THI = 0.6 x 24℃ + 0.4 x 14.6℃ = 20.2℃
26℃	15%	12.1℃	THI = 0.6 x 26℃ + 0.4 x 12.1℃ = 20.4℃
26℃	75%	22.6℃	THI = 0.6 x 26℃ + 0.4 x 22.6℃ = 24.6℃
28℃	50%	20.4℃	THI = 0.6 x 28℃ + 0.4 x 20.4℃ = 24.9℃
30℃	35%	19.0℃	THI = 0.6 x 30℃ + 0.4 x 19.0℃ = 25.6℃
30℃	75%	26.3℃	THI = 0.6 x 30℃ + 0.4 x 26.3℃ = 28.5℃
32℃	20%	17.0℃	THI = 0.6 x 32℃ + 0.4 x 17.0℃ = 26.0℃
32℃	55%	24.6℃	THI = 0.6 x 32℃ + 0.4 x 24.6℃ = 29.0℃
34℃	40%	23.2℃	THI = 0.6 x 34℃ + 0.4 x 23.2℃ = 29.7℃

\* 건구온도(℃)와 상대습도(%)를 가지고 습공기선도를 이용하여 습구온도(℃)를 구함

○ 따라서 THI를 이용하여 더위 스트레스 경감 장치의 전원을 on/off할 경우, 기준을 25℃로 설정하였음

2. 냉수 급수를 위한 냉수기 개발

○ 닭의 더위 스트레스를 경감하기 위해 냉수 급수방법을 선택하였음

○ 이에 따라 그림 2-2와 같은 냉수기를 설계 및 제작하였음



그림 2-2. 냉수기 설계도 및 시작품 사진.

○ 냉수기 성능 그래프는 그림 2-3과 같음

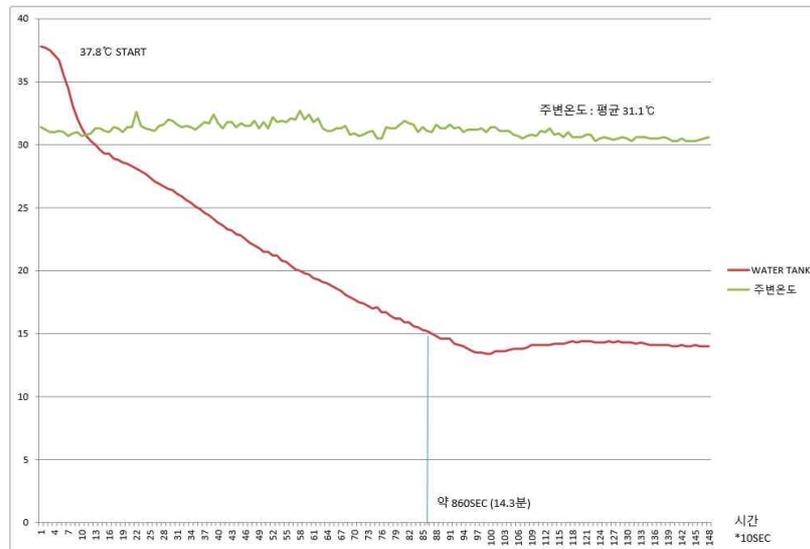


그림 2-3. 냉수기 성능 그래프.

○ 냉수기에서 생성된 냉수는 양계용 급수기를 통해 닭에게 급수됨

### 3. 닭의 더위 스트레스 경감에 대한 냉수 급수의 효과

#### 가. 실험설계

○ 공시축 : 60주령 Hy-line Brown 산란계 총 32수를 공시하여 이용하였음

- 대조구(상온수 급수구) : 처리구당 7수 × 2반복 = 총 14수, 1반복을 3개의 케이지로 구성하여 각 케이지에 3, 2, 2수씩 임의로 배치하였음
- 냉수 급수구 : 처리구당 6수 × 3반복 = 총 18수, 1반복을 3개의 케이지로 구성하여 각 케이지에 2, 2, 2수씩 임의로 배치하였음

○ 냉수 급수를 위한 장치와 시설은 그림 2-4부터 그림 2-7과 같음



그림 2-4. THI 측정을 위한 건구온도 센서와 습구온도 센서.



그림 2-5. THI를 측정한 후 전원 스위치 ON/OFF를 위한 장치.

○  $THI = 0.6 \times \text{건구온도} + 0.4 \times \text{습구온도}$  (단위 : $^{\circ}C$ )

○ THI가  $25^{\circ}C$  를 초과하면, 전원 스위치가 ON 되어 냉수기가 작동되도록 하였음



그림 2-6. 냉수기.



그림 2-7. 실험 장치 및 시설의 전체 모습.

○ 실험사료로는 산란계 후기사료를 급여하여 음수와 함께 자유 섭취하도록 하였음

○ 계사 내 온·습도 측정

· 실험 전 기간 동안 디지털 온·습도계(testo 175, testo, China)를 이용하여 계사 내 온·습도를 측정하였음

○ 산란계 생산성 관련 샘플채취

- 사료섭취량은 D14에 일괄적으로 측정하였고, 산란수와 파란수는 일별로 측정하였음
- 실험 12, 13, 14일 차의 계란을 전량 수거하여 난질분석을 실시하였음
- Eggshell lightness 측정하였음 (QSM-System, TSS, York, UK)
- Egg weight, Eggwhite height, Yolcolor (YF), HU, Eggshell breaking strength 측정하였음 (DET 6000, NABEL Co. Ltd., Kyoto, Japan)
- Egg shell에 묻은 난백을 제거하고 24h 건조 후에 무게를 측정한 다음 Relative egg shell weight를 계산하였음

○ 통계분석

- 모든 데이터는 SAS 9.4를 이용하여 ANOVA test 실시하였으며, 처리구의 평균들 간의 유의차는 Duncan's multiple range test를 이용하여 검증하였음

나. 실험결과

○ 계사 내의 온도 및 상대습도는 표 2-1과 같았음

표 2-1. 계사 내의 온·습도

구분	평균	최소	최대
온도	23.6 ± 2.6	18.3	30.8
상대습도	65.9 ± 15.6	30.6	91.7

○ 냉수의 온도는 22~25℃의 범위였음

○ 산란계의 더위 스트레스 경감을 위한 냉수 급수의 효과에 대한 결과는 표 2-2와 같았음

표 2-2. 더위 스트레스를 받는 산란계의 생산성에 대한 냉수 급수의 효과

구분	상온수 급수구 (대조구)	냉수 급수구 (처리구)	SEM	p-value
Egg shell lightness	38.5a	32.0b	1.10	0.0003
Egg weight	62.1	63.2	1.26	0.5349
Egg white height	5.9	5.6	0.31	0.5691
Yolk color	4.9	5.4	0.29	0.2418
Haugh unit	73.9	72.2	2.48	0.6376
Egg shell strength	0.37	0.38	0.01	0.2736

Relative egg shell weight	9.8	9.7	0.11	0.9205
Hen-day egg production, %	51.0b	57.9a	2.22	0.0270
Cracked egg, %	6.0	3.6	2.44	0.5443

○ 통계처리결과에 의하면, 난각색과 산란율의 경우 대조구와 처리구 간에 유의적으로 차이가 있었음 (p<0.001, p<0.05)

○ 따라서 산란계가 더위 스트레스를 받을 경우 상온수를 급수하는 것보다 냉수를 급수하는 것이 생산성을 향상시키는 데 효과적인 것으로 규명됨

다. 계사 환경제어를 위한 어플리케이션 개발

○ 스마트폰을 이용하여 계사 내부의 기온, 상대습도, THI(온습도지수)를 실시간으로 확인하고, 이를 제어하기 위해 그림 2-8과 같은 어플리케이션을 개발함

1. Loading 화면



2. 주화면



3. 관찰 화면 : 자동운전



4. 히스토리 화면



5. 관찰 화면 : 수동운전



6. 설정 화면



7. 관찰 화면 : 정전시



8. 관찰 화면 : 화재시



그림 2-8. 스마트폰 어플리케이션(양계사 자동 환경제어 알리미).

○ 시스템 구성도는 그림 2-9와 같음

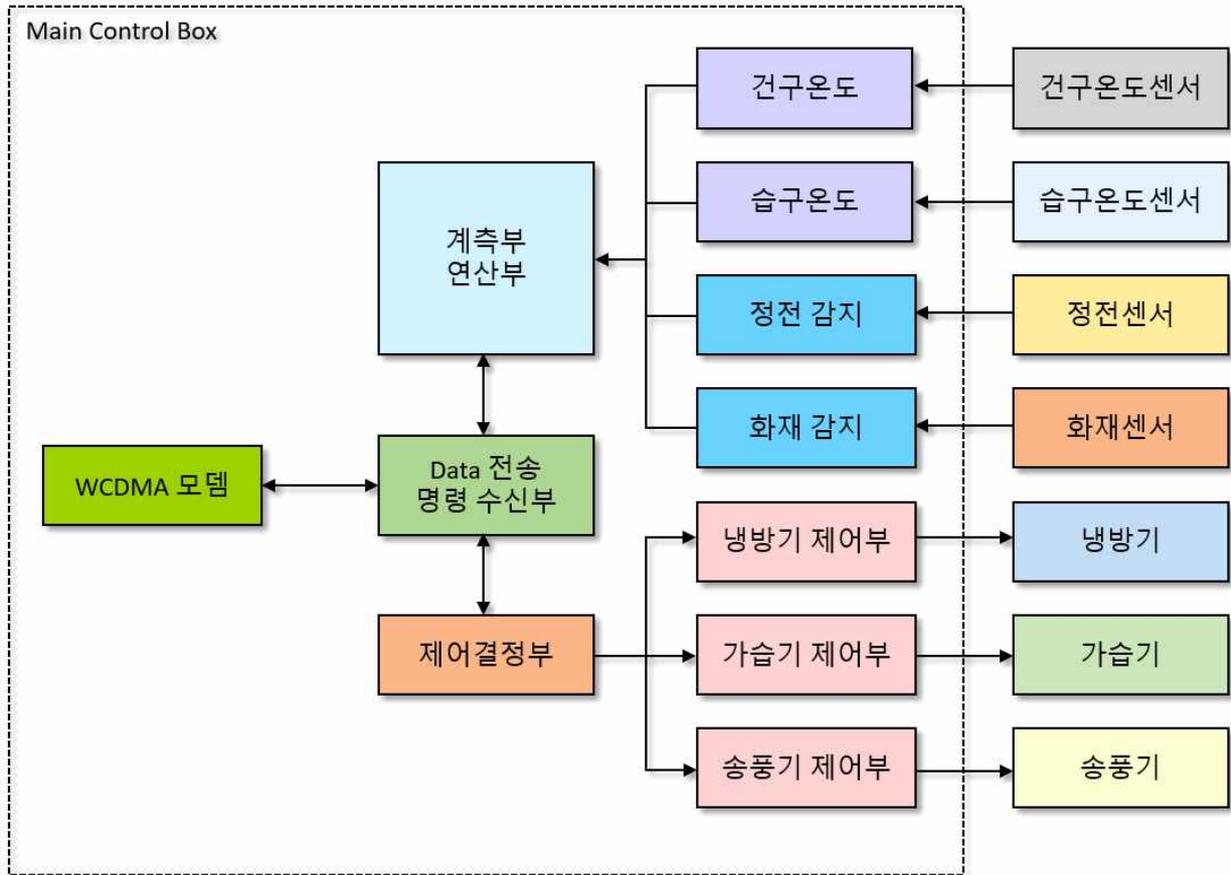


그림 2-9. 시스템 구성도.

○ Main Control Box

(1) 계측부/연산부

- ① 건구온도, 습구온도, 정전감지 센서, 화재감지 센서에서 계측된 값을 이용하여 실제 온도, 습도, THI 값으로 연산처리한다.
- ② 정전감지 센서에서 감지된 신호에 따라 장비의 동작 상태를 확인할 수 있으며, 화재감지 센서 감지된 값에 따라 화재 여부를 판단한다.

(2) Data 전송/명령수신부

- ① 계측부/연산부에서 계측/연산된 값은 WCDMA 모뎀을 통하여 사용자 스마트폰으로 전송하고, 사용자가 입력하는 설정값 및 명령을 수신한다.

(3) 제어결정부

① 계측부/연산부에서 전달된 값과 Data 전송/명령수신부에서 입력된 값에 따라 냉방기, 가습기, 송풍기 제어 여부를 결정하여 제어를 진행한다.

(4) 센서

① 건구온도 센서 : K type Termocouple 온도센서로 대기의 온도를 측정한다.

② 습구온도 센서 : K Type Termocouple 온도센서에 젖은 거즈를 설치하여 습구온도를 측정한다.

③ 정전감지 센서 : 장비에 전원이 투입되어 있으면 스위치가 On이 되어 감지가 되고, 전원이 차단되면 스위치가 Off되어 정전여부를 감지할 수 있도록 구성하였다. 제어부는 UPS를 사용하여 주전원이 차단되어도 감지여부를 계측할 수 있다.

④ 화재감지 센서 : 불꽃감지 센서를 설치하여 화재 발생여부를 감지한다.

(5) 냉방기, 가습기, 송풍기 제어부

① 각 장비의 전원을 On/Off하여 장비를 동작하거나, 동작량에 따라 속도를 제어한다(그림 2-10, 11).



주제어 패널(외부)



주제어 패널(내부)  
그림 2-10. 제어부.



WCDMA 모뎀



건구/습구온도 센서



정전감지 센서  
그림 2-11. 센서.



화재감지 센서

제 3장. 여름철 산란계사 내 열환경인자 중 제어요소에 관한 연구

1. 실험설계

○ 공시동물 및 사육시설

- 36주령 ISA Brown 품종 산란계 48,451수를 공시하여 이용하였음. 점등은 06:00~21:00으로 하루 15시간씩 일정하게 유지하였다. 산란계사의 크기는 폭 17.3m, 길이 102m이었으며, 단위면적 당 사육수수는 26.06수/m<sup>2</sup>이었으며, 환기는 크로스 환기 시스템으로 구성됨(3-1)

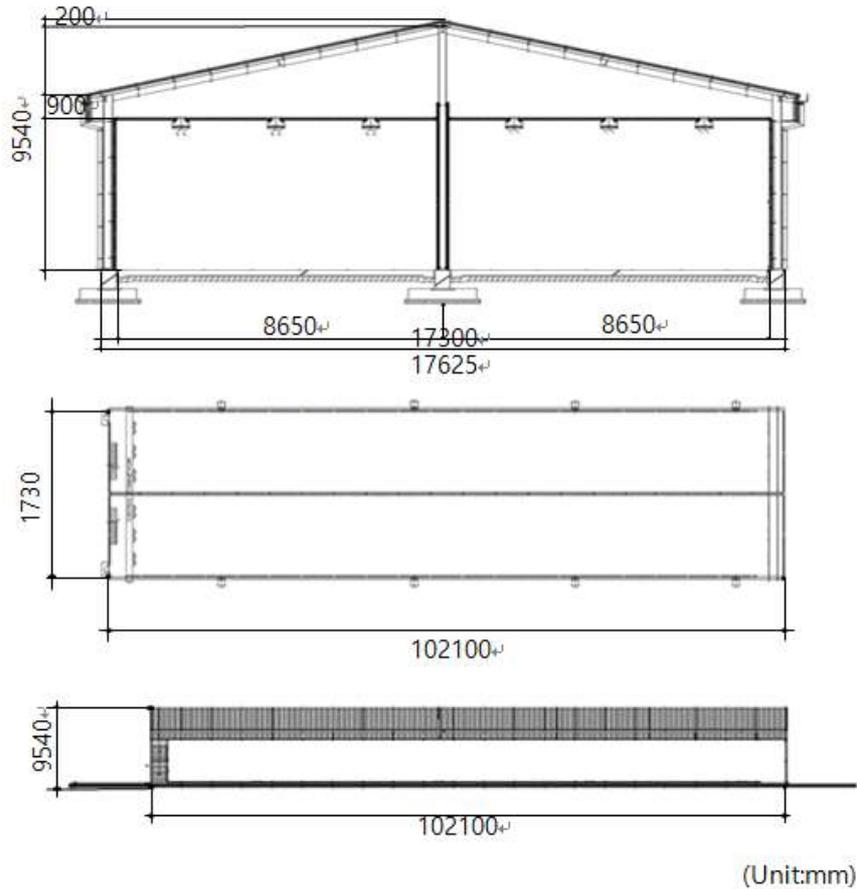


그림 3-1. 실험에 이용한 무창산란계사.

○ 실험사료로는 산란계 후기사료를 급여하여 음수와 함께 자유 섭취하도록 하였음

○ 계사 내 온·습도 측정

- 실험 전 기간 동안 2채널 온습도로거(Testo-174H, Testo, Lenzkirch, Germany)를 5대를 설치하여 15분 간격으로 측정하였음.
- 측정기간은 6월 19일부터 9월 7일까지 81일이었음.
- 측정점의 경우 측정의 정밀도를 높이기 위해 수평 측정점, 수직 측정점을 각 각 3측정점으로 나누어 측정함(그림 3-2)

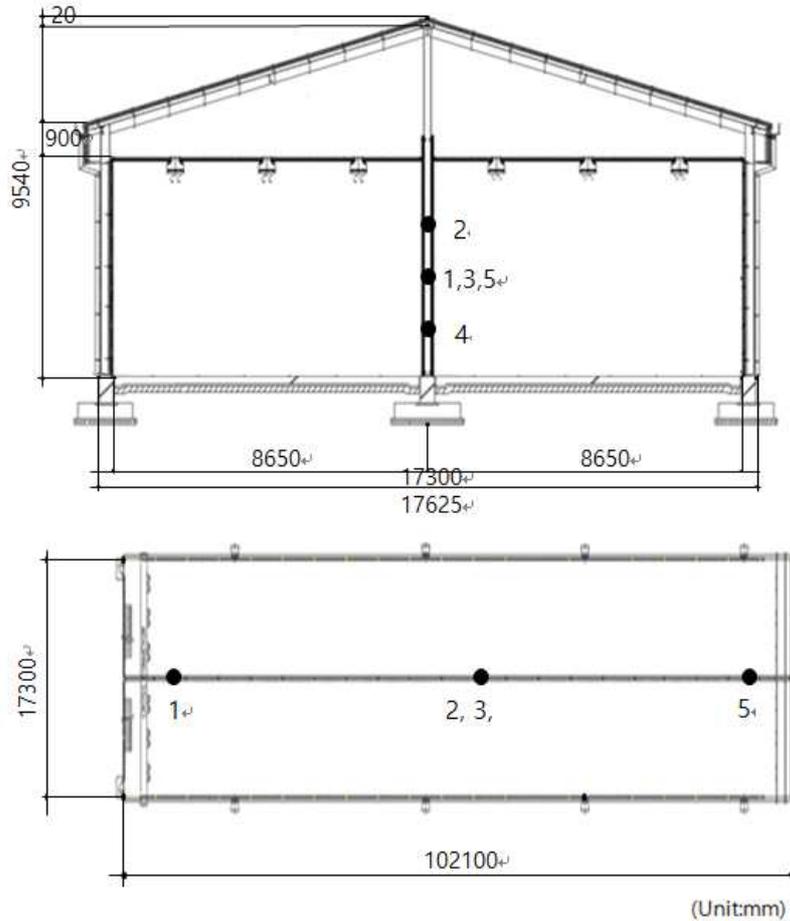


그림 3-2. 계사 내부의 온·습도 측정점.

○ THI(Temperature-Humidity Index)의 산정

· THI는 식(3-1)을 이용하여 산정함(Zulovich & Deshazer. 1990)

$$THI_{layer} = 0.6T_{db} + 0.4T_{wb} \dots (3-1)$$

Where,  $THI_{layer}$  = Temperature humidity Index for layers(°C)

$T_{db}$  = Dry bulb temperature(°C)

$T_{wb}$  = Wet bulb temperature(°C)

○ THI 계산을 위해 습구온도는 아래의 식(3-2)에 건구온도와 상대습도를 대입하여 습구온도를 계산함 (Roland Stull, 2011)

$$T_{wb} = T_{db} \tan[0.151977(RH + 8.313659)1/2] + \tan(T_{db} + RH) - \tan(RH - 1.676331) + 0.00391838(RH)3/2 \tan(0.023101RH) - 4.686035 \dots (3-2)$$

Where, RH = Relative humidity(%)

○ 생산성 지표의 측정 및 방법

- 산란계에 대한 사료섭취량, 음수량, 산란수와 난중에 대한 데이터 수집은 급이시스템 (Chore-Tronics 3, Chore-time, USA)과 집란시스템(EXCELSIOR® Egg Collection System, Chore-time, USA)에 의해 자동으로 실시함
- 폐사율은 1일 단위로 집계하였으며, 이를 바탕으로 헨데이산란율(Hen day egg production(HD), %) 와 사료전환율(Feed conversion rate(FCR), %)을 계산하여 분석함

○ 상관도 분석

- 81일간 15분 간격으로 측정된 데이터를 가지고 건구온도, 상대습도 및 THI의 1일 평균값, 1일 최고값 및 1일 최저값을 구한 후, 산란계의 생산성 지표(사료섭취량, 음수량, 헨데이산란율, 난중, FCR, 폐사율)와의 상관관계를 분석함
- SPSS 24(Statistical Package for the Social Sciences, IBM, USA)을 활용하여 수행했다. 각 열환경인자와 산란계의 생산성 지표 간의 상관도는 피어슨 상관 계수(Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 분석함

2. 실험결과

○ 온·습도와 산란계의 더위 스트레스 간의 관계

- 계사 내의 건구온도 및 상대습도는 그림 3-3, 4와 같았음.
- 산란계사 내부의 건구온도가 산란계의 더위 스트레스에 미치는 영향을 알 수 있도록 1일 평균온도, 1일 최고온도 및 1일 최저온도를 그림 3-3에 나타냄.
- 산란계사 내부의 상대습도가 산란계의 더위 스트레스에 미치는 영향을 알 수 있도록 1일 평균상대습도, 1일 최고상대습도 및 1일 최저상대습도를 그림 3-4에 나타냄.
- 고온·다습한 환경은 산란계의 상한임계온도인 26°C 이상 그리고 상대습도가 50% 이상일 때를 말함(Curtis, 1983; Timmons & gates, 1988; Vale et al., 2008).

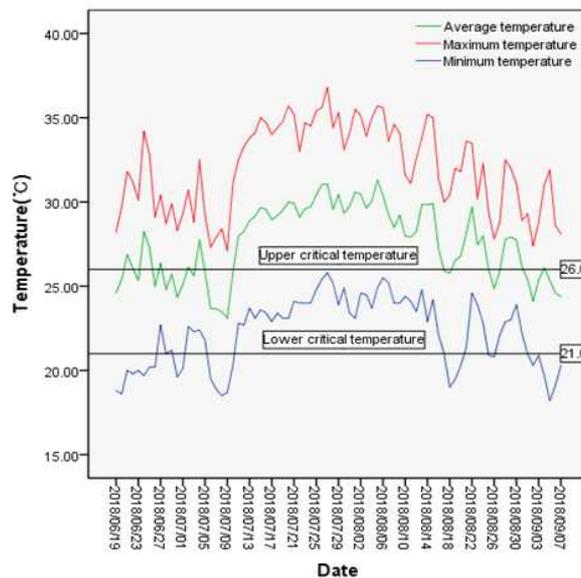


그림 3-3. 실험기간 동안 계사 내 건구온도 측정 결과.

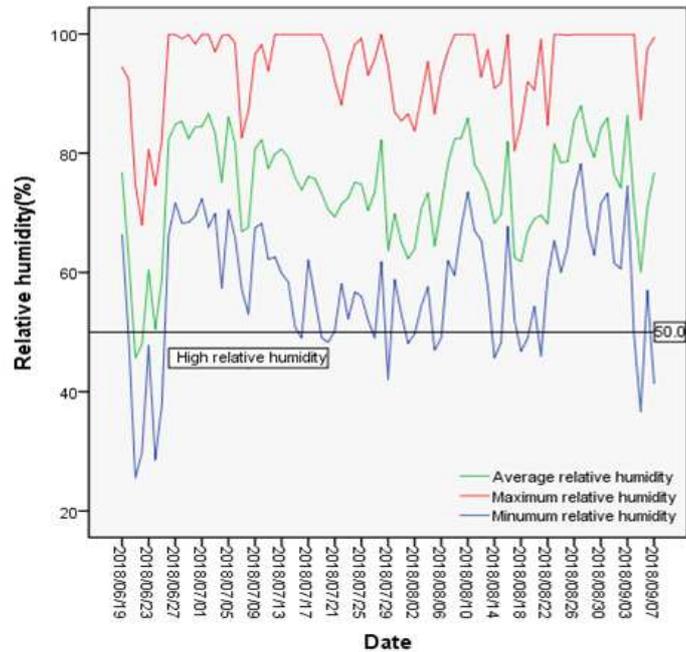


그림 3-4. 실험 기간 동안 계사 내 상대습도 측정 결과.

- 실험 전 기간 동안 1일 최고온도가 26°C를 초과하였으므로 산란계가 실험 전기간 동안 더위 스트레스를 받은 것으로 판단되었음
- 81일 실험기간동안 단 2일을 제외한 나머지 기간 동안 상대습도가 50% 이상으로 다습한 조건이 형성되었으므로 이 기간 동안 습도가 더위 스트레스를 가중시키는 역할을 했을 것으로 판단되었음

○ THI와 산란계의 더위 스트레스 간의 관계

- 계사 내의 THI는 그림 3-5와 같았음
- 81일 실험기간 동안 13일을 제외한 나머지 기간 동안 THI가 28°C 이상 되었으므로 산란계가 더위 스트레스를 받았고 이로 인하여 생산성이 저하되었을 것으로 판단되었음

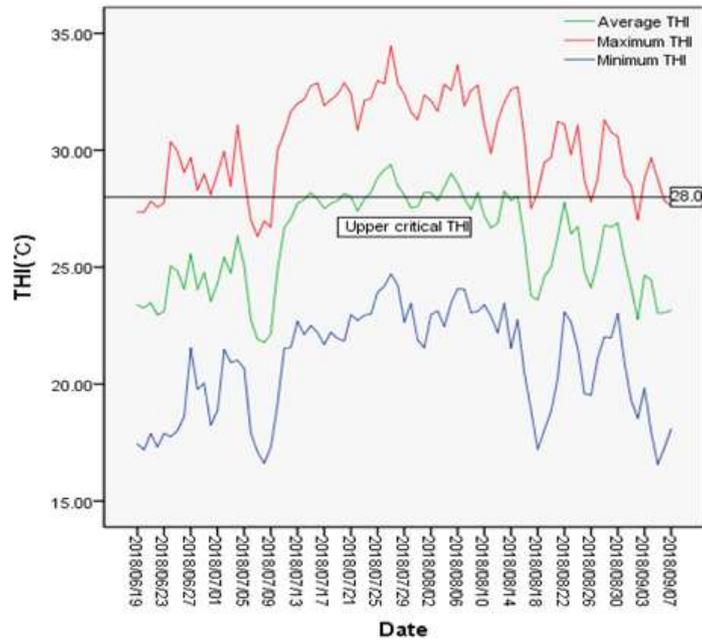


그림 3-5. 실험 기간 동안 계사 내 THI 측정 결과 및 상한임계 THI.

· 각 열환경인자와 산란계의 생산성 지표(표 3-1)

표 3-1. Pearson correlations between each environmental factor and productivity index

	Food consumption	Water consumption	HD	Egg weight	FCR	Death rate
Average THI	-.681***	.708***	-.370**	-.552***	-.408***	.213
Maximum THI	-.660***	.695***	-.366**	-.491***	-.405***	.171
Minimum THI	-.620***	.613***	-.398***	-.547***	-.305**	.237*
Average Temperature	-.701***	.752***	-.376**	-.571***	-.429***	.176
Maximum temperature	-.668***	.711***	-.353**	-.478***	-.440***	.089
Minimum temperature	-.628***	.641***	-.412**	-.580***	-.297**	.243*
Average Relative humidity	.120	-.208	.049	.118	.102	.107
Maximum relative humidity	-.006	-.058	-.001	.093	-.004	.200
Minimum relative humidity	.165	-.256*	.107	.076	.126	.089

\* (p<0.05), \*\* (p<0.01), \*\*\*(p<0.001) indicate significant differences between variables.

- 통계처리결과에 의하면, THI 그리고 건구온도가 사료섭취량, 음수량, 헨데이산란율, 난중 및 사료 전환율에 영향을 미치는 것으로 나타남( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ )
- 건구온도와 산란계의 생산성지표, THI와 산란계의 생산성지표 간의 회귀방정식은 각각 표 3-2, 3과 같음

표 3-2. The regressions equation between each productivity index and temperature

	Daily average temperature (Tavg)	Daily maximum temperature (Tmax)	Daily minimum temperature (Tmin)
Food consumption (FC)	$FC = -0.5T^2_{avg} + 24.86T_{avg} - 1.98E2$ ( $R^2 = 0.566$ )	$FC = -0.5T^2_{max} + 24.86T_{max} - 1.98E2$ ( $R^2 = 0.566$ )	$FC = -2.35T_{min} + 1.58E2$ ( $R^2 = 0.394$ )
Water consumption (WC)	$WC = 15.25T_{avg} - 1.84E2$ ( $R^2 = 0.566$ )	$WC = 15.25T_{max} - 1.84E2$ ( $R^2 = 0.566$ )	$WC = 13.71T_{min} - 68.65$ ( $R^2 = 0.410$ )
Hen day egg production (HD)	$HD = -6.71E-3T_{avg} + 1.1$ ( $R^2 = 0.141$ )	$HD = -5.25E-3T_{max} + 1.08$ ( $R^2 = 0.125$ )	$HD = -7.77E-3T_{min} + 1.09$ ( $R^2 = 0.169$ )
Egg weight (EW)	$EW = -8.86E-3T^2_{avg} + 0.21T_{avg} + 61.24$ ( $R^2 = 0.327$ )	$EW = -0.19T_{max} + 66.39$ ( $R^2 = 0.228$ )	$EW = -0.07T^2_{min} + 2.57T_{min} + 35.66$ ( $R^2 = 0.390$ )
FCR	$FCR = -7.62E-3T^2_{avg} + 0.4T_{avg} - 3.12$ ( $R^2 = 0.566$ )	$FCR = -4.3E-3T^2_{max} + 0.25T_{max} - 1.77$ ( $R^2 = 0.245$ )	-
Death rate (DR)	-	-	-

- : The coefficient of determination( $R^2$ ) is less than 0.1.

표 3-3. The regression equations between each productivity index and THI

	Daily average THI (THIavg)	Daily maximum THI (THI <sub>max</sub> )	Daily minimum THI (THI <sub>min</sub> )
Food consumption (FC)	FC=-0.65THI <sup>2</sup> avg +30.87THIavg-2.55E2 (R <sup>2</sup> =0.555)	FC=-0.51THI <sup>2</sup> max +28.54THI <sub>max</sub> -2.84E <sup>2</sup> (R <sup>2</sup> =0.496)	FC=-2.1THI <sub>min</sub> +1.49E <sup>2</sup> (R <sup>2</sup> =0.384)
Water consumption (WC)	WC=15.15THIavg -1.58E <sup>2</sup> (R <sup>2</sup> =0.501)	WC=15.22THI <sub>max</sub> -2.26E <sup>2</sup> (R <sup>2</sup> =0.483)	WC=11.9THI <sub>min</sub> -12.19(R <sup>2</sup> =0.376)
Hen day egg production (HD)	HD=-1.5E-3THI <sup>2</sup> avg +0.07THIavg+0.11 (R <sup>2</sup> =0.156)	HD=-7.06E-3 THI <sub>max</sub> +1.13 (R <sup>2</sup> =0.134)	HD=-6.81E3 THI <sub>min</sub> +1.06 (R <sup>2</sup> =0.159)
Egg weight (EW)	EW=-0.28THIavg +67.57 (R <sup>2</sup> =0.327)	EW=-0.26THI <sub>max</sub> +68.02 (R <sup>2</sup> =0.241)	EW=-0.06THI <sup>2</sup> min +2.03THI <sub>min</sub> +42.46 (R <sup>2</sup> =0.351)
FCR	FCR=-8.3E-3THI <sup>2</sup> avg +0.4THIavg-2.93 (R <sup>2</sup> =0.238)	FCR=-5.11E-3THI <sup>2</sup> max +0.29T <sub>max</sub> -2.01 (R <sup>2</sup> =0.193)	-
Death rate (DR)	-	-	-

- : The coefficient of determination(R<sup>2</sup>) is less than 0.1.

### 3. 결론

- 계사 내부의 THI와 건구온도가 산란계의 생산성에 지대하게 영향을 미침
- 따라서 계사 내부의 THI와 건구온도를 인위적으로 낮추어 산란계가 보다 나은 환경에서 사육될 수 있도록 환경을 조성해주는 노력이 필요한 것으로 판단됨

제 4장. 더위 스트레스의 강도와 지속시간이 산란계의 생산성에 미치는 영향

1. 실험설계

○ 공시동물 및 사육시설

- 36주령 ISA Brown 품종 산란계 48,451수를 공시하여 이용하였음. 점등은 06:00~21:00으로 하루 15시간씩 일정하게 유지하였다. 산란계사의 크기는 폭 17.3m, 길이 102m이었으며, 단위면적 당 사육수수는 26.06수/m<sup>2</sup>이었으며, 환기는 크로스 환기 시스템으로 구성됨(그림 4-1).

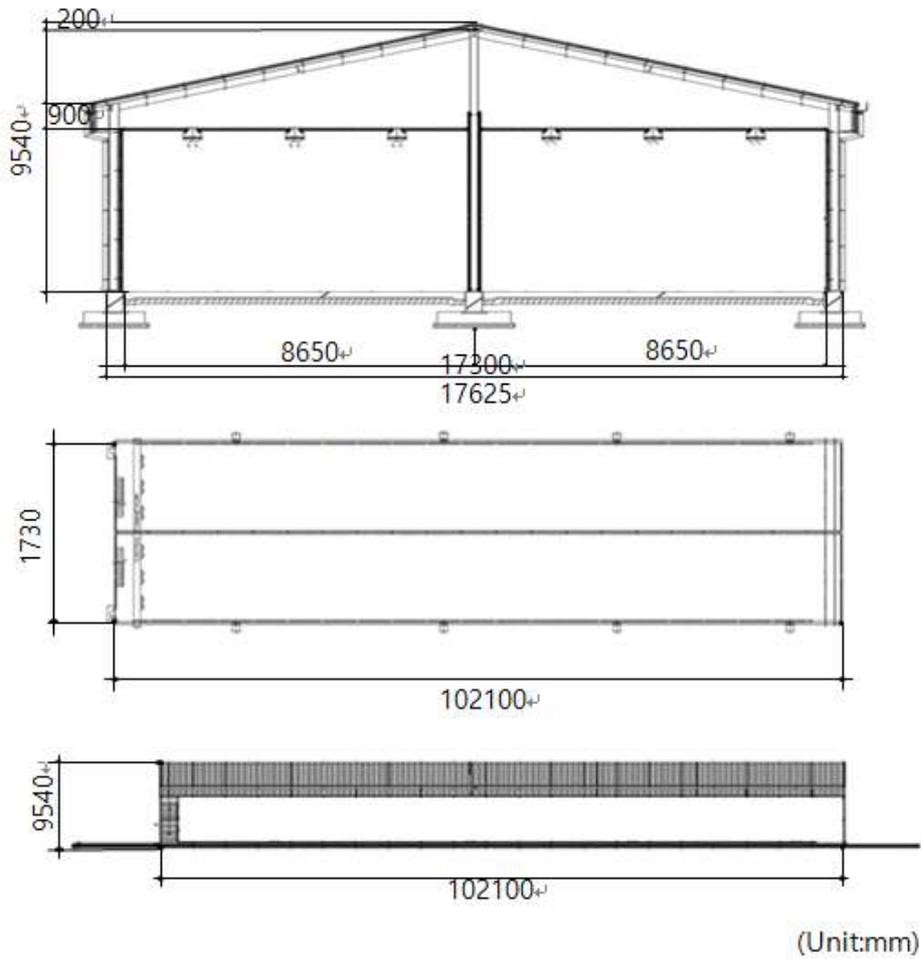


그림 4-1. 실험에 이용한 무창산란계사.

- 실험사료로는 산란계 후기사료를 급여하여 음수와 함께 자유 섭취하도록 하였음
- 계사 내 온·습도 측정
- 실험 전 기간 동안 2채널 온습도로거(Testo-174H, Testo, Lenzkirch, Germany)를 5대를 설치하여 15분 간격으로 측정하였음
- 측정기간은 6월 19일부터 9월 7일까지 81일이었음
- 측정점의 경우 측정의 정밀도를 높이기 위해 수평 측정점, 수직 측정점을 각 각 3측정점으로 나누어 측정함(그림 4-2)

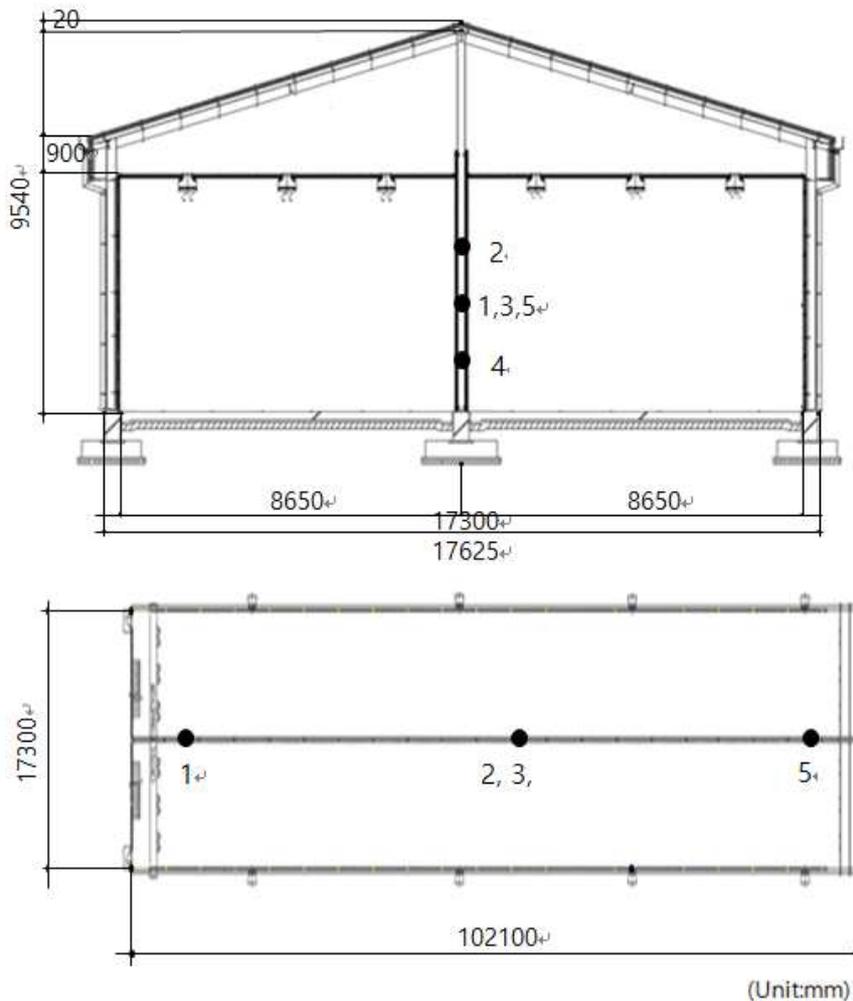


그림 4-2. 계사 내부의 온·습도 측정점.

○ 생산성 지표의 측정 및 방법

- 산란계에 대한 사료섭취량, 음수량, 산란수와 난중에 대한 데이터 수집은 급이시스템 (Chore-Tronics 3, Chore-time, USA)과 집란시스템(EXCELSIOR® Egg Collection System, Chore-time, USA)에 의해 자동 수집함
- 폐사율은 1일 단위로 집계하였으며, 이를 바탕으로 헨데이산란율(Hen day egg production(HD), %)와 사료전환율(Feed conversion rate(FCR), %)을 계산하여 분석함

○ 상관도 분석

- 81일간 15분 간격으로 측정된 데이터를 통해 건구온도를 1시간 간격으로 평균값을 계산하였다. 그리고 계산한 값을 이용하여 1일 일교차(= 1일 최고온도와 최저온도의 차), 1일 일교차/시간차(= 1일 최고온도일 때 시간과 최저온도일 때 시간의 차), (1일 최고온도-상한임계온도(= 24℃))/상한임계온도 이상 지속시간, 그리고 전날 최후의 상한임계온도에서 다음날 최초의 상한임계온도 사이의 시간차×온도편차(= 전날 최고온도와 다음날 최저온도의 차) 등의 각 더위 스트레스 인자와 산란계의 생산성 지표(사료섭취량, 음수량, 헨데이산란율, 난중, FCR, 폐사율) 간의 상관관계를 분석함

- SPSS 25(Statistical Package for the Social Sciences, IBM, USA)을 활용하여 수행함. 각 열환경인자와 산란계의 생산성 지표 간의 상관도는 피어슨 상관 계수(Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 분석함
- 통계적 유의성은 p값이 0.05미만인 경우 유의한 것으로 간주함

## 2. 실험결과

### ○ 더위 스트레스 강도와 산란계의 생산성 지표 간의 상관관계 (표 4-1)

- 산란계의 적정 사육 온도가 21~24℃를 기준으로(Carter, 1981), 6월 19일부터 9월 7일까지 총 81일 동안 내내 1일 최소온도가 24℃를 초과하였으므로 산란계가 더위 스트레스에 노출된 것은 물론, 큰 일교차가 사료섭취량, 음수량, FCR에 영향을 미침(p<0.001)
- 상한임계온도인 24℃ 이상의 건구온도에서 사료섭취량이 감소하고, 음수량이 증가하였으며, 이에 따라 헨데이산란율, 난중 및 사료전환율이 감소함(p<0.05)
- 따라서, 산란계의 생산성을 향상시키기 위해서는 계사내부의 최고온도를 낮춤으로써 일교차를 줄여야 할 것으로 판단됨

표 4-1. Pearson correlations between each environmental factor and productivity index

	Food consumption	Water consumption	HD	Egg weight	FCR	Death rate
Daily range	-.513***	.507***	-.152	-.186	-.432***	.022
Daily range /Time difference	-.563***	.468***	-.158	-.239	-.405***	.086
Maximum temperature (>24)	-.592***	.694***	-.316**	-.407**	-.308**	.166
Maximum temperature(>24) /Continuous time	-.591***	.565***	-.294**	-.251	-.490***	.032
TIM <sup>1</sup>	-.539***	.628***	-.539**	-.245	-.333**	.076

<sup>1</sup>TIM means that (the last time that over 24 in day - the first time that over 24 in tomorrow) \* temperature anomaly.

\* (p<0.05), \*\* (p<0.01), \*\*\*(p<0.001) indicate significant differences between variables.

○ 더위 스트레스의 강도 및 지속시간과 산란계의 생산성 지표 간의 상관관계 (표 4-1)

- 더위 스트레스의 강도와 지속시간이 함께 포함된 “1일 일교차/시간차” 와 산란계의 생산성 지표 간의 상관분석을 실시한 결과에 의하면(Table 1), “1일 일교차/시간차” 가 증가함에 따라 사료섭취량과 사료전환율은 감소하였고 음수량은 증가함( $p < 0.001$ ). 따라서 산란계의 생산성 향상을 위해서는 계사 내부의 1일 최고온도를 낮추어 일교차를 줄일 필요가 있는 것으로 판단됨
- 더위 스트레스의 강도와 지속시간이 함께 포함된 “(1일 최고온도-상한임계온도)/상한임계온도 이상 지속시간” 과 산란계의 생산성 지표에 관한 상관분석을 실시하였다(Table 1). 실험 전 기간 동안 산란계사 내부의 최저온도가 상한임계온도 이상으로 유지되었기 때문에 상한임계온도 이상 지속시간은 모두 24시간이었음. “(1일 최고온도-상한임계온도)/상한임계온도 이상 지속시간” 이 증가함에 따라 사료섭취량, 헨데이산란율 및 사료전환율은 감소하였고 음수량은 증가함( $p < 0.001$ )
- 고온·다습한 환경에서 산란계의 생산성이 저하될 수 있다는 연구결과(Daniel & Balnave, 1981)와 이 실험의 결과를 고려해보면, 우리나라의 기후가 여름철에 고온·다습한 환경이 형성되기 쉬운 기후적인 특성을 가지고 있으므로 산란계의 생산성 저감을 막기 위해서는 1일 최고온도를 낮추어 더위 스트레스의 강도 줄여야 하며 또한 상한임계온도 이상의 지속시간을 줄여야 할 것으로 판단됨

○ 더위 스트레스 회복시간과 산란계의 생산성 지표 간의 상관관계 (표 4-1)

- 산란계가 더위 스트레스로부터 회복과 관련 있는 “전날 최후의 상한임계온도에서 다음날 최초의 상한임계온도 사이의 시간차 x 온도편차” 와 산란계의 생산성 지표 간의 상관관계를 분석하였음
- 그 결과에 의하면(Table 4), 시간차와 온도편차가 크면 클수록 사료섭취량, 헨데이산란율, 난중 및 사료전환율이 감소하였고, 음수량은 증가함( $p < 0.001$ ). 다시 말해서, 더위 스트레스에 노출되는 시간이 길어질수록 그리고 온도편차가 커질수록 산란계의 생산성이 더욱더 저하됨
- 따라서, 산란계가 전날의 더위 스트레스로부터 회복할 수 있도록 전날 최후의 상한임계온도에서 다음날 최초의 상한임계온도 사이의 시간을 증가시키고, 전날 최고온도와 다음날 최저온도의 차를 줄여야 하므로 1일 최고온도를 낮추어야 할 것으로 판단됨

### 3. 결론

- 산란계사 내부의 최고온도가 산란계의 생산성 저하에 영향을 미치므로, 산란계의 생산성을 향상시키기 위해서는 계사내부의 최고온도를 낮춤으로써 일교차를 줄여야 할 것으로 판단됨
- 또한 산란계의 생산성 저감을 막기 위해서는 1일 최고온도를 낮추어 더위 스트레스의 강도 줄여야 하며 또한 상한임계온도 이상의 지속시간을 줄여야 할 것으로 판단됨
- 산란계가 전날의 더위 스트레스로부터 회복할 수 있도록 전날 최후의 상한임계온도에서 다음날 최초의 상한임계온도 사이의 시간을 증가시키고, 전날 최고온도와 다음날 최저온도의 차를 줄여야 하므로 1일 최고온도를 낮추어야 할 것으로 판단됨

제 5장. 여름철 무창산란계사의 크로스환기방식과 터널환기방식이 산란계의 생산성에 미치는 영향 구명

1. 실험설계

○ 공시동물 및 사육시설

- 36주령 ISA Brown 품종 산란계 48,451수를 공시하여 이용하였음.
- 크로스환기방식인 무창산란계사의 규모는 폭 17m, 길이 102m이며 6열 8단의 케이지로 구성되어 있으며 외벽·지붕의 열관류율  $0.034W/m^2 \cdot k$ 이다. 또한, 단위면적당 사육수수는  $28.44수/m^2$ 임 (그림 5-1)
- 터널환기방식인 무창산란계사의 규모는 폭 8.9m, 길이 99.4m이며 3열 7단의 케이지로 구성되어 있으며 외벽·지붕의 열관류율  $0.034W/m^2 \cdot k$ 이다. 또한, 단위면적당 사육수수는  $54.25수/m^2$ 임 (그림 5-2)

○ 실험사료로는 산란계 후기사료를 급여하여 음수와 함께 자유 섭취하도록 하였음

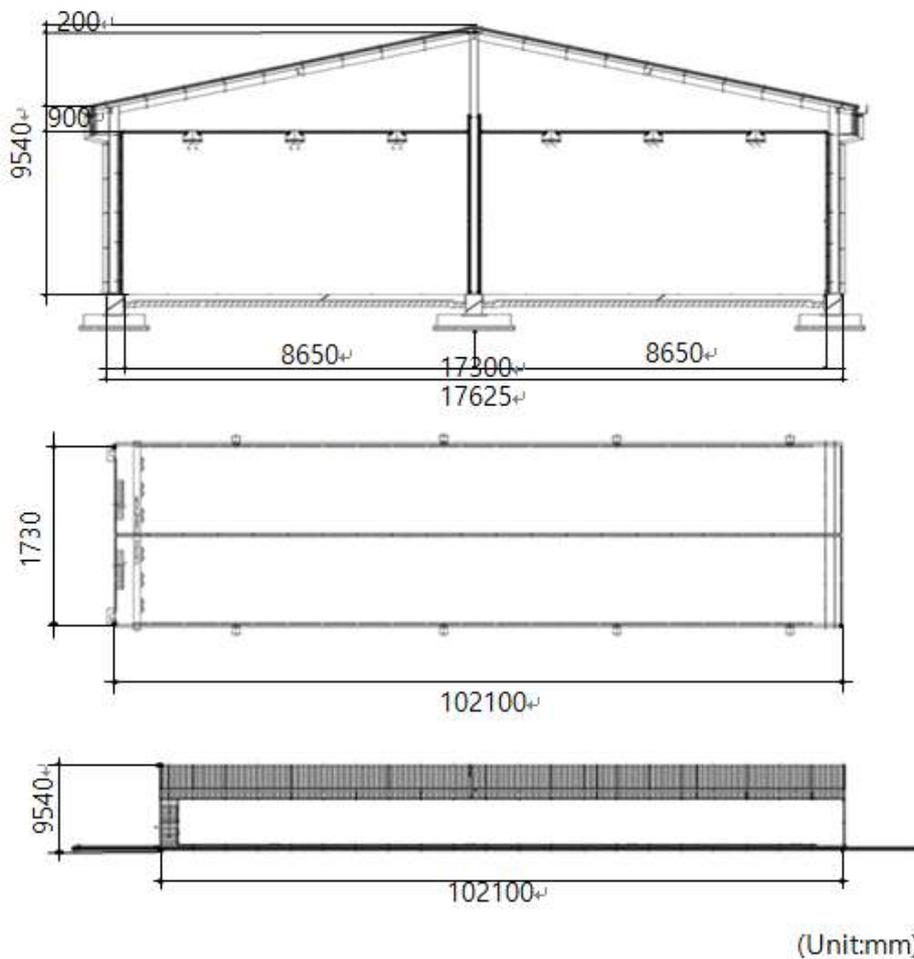


그림 5-1. 크로스환기방식의 무창산란계사의 측면도 및 평면도.

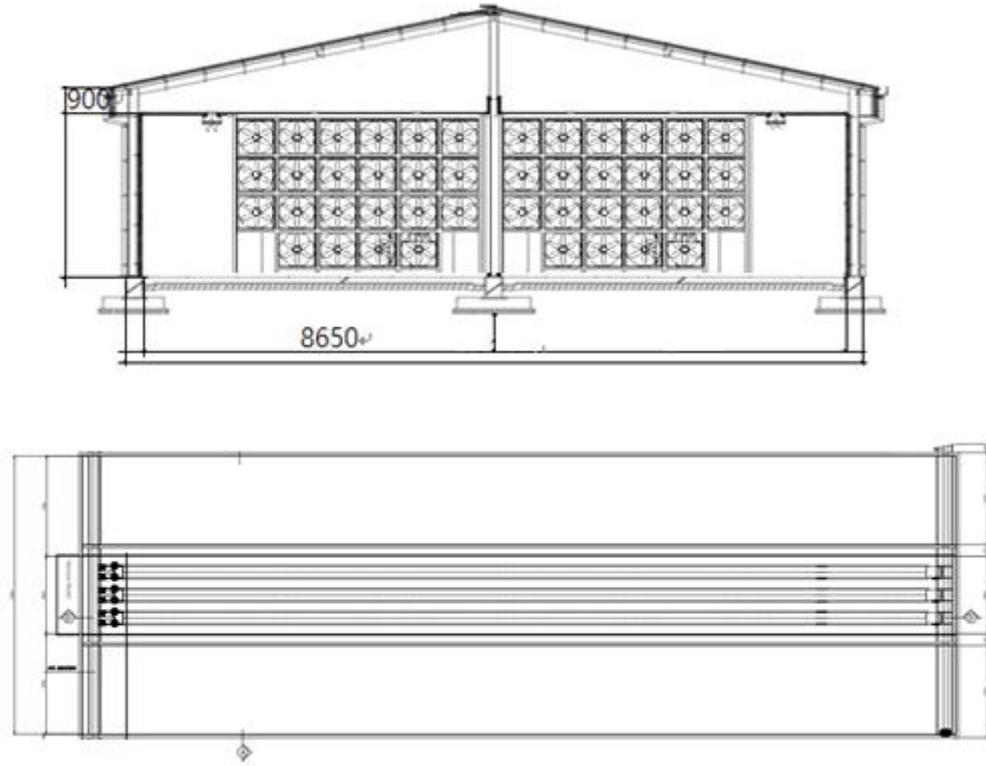


그림 5-2. 크로스환기방식의 무창산란계사의 측면도 및 평면도

○ 계사 내 온·습도 및 풍속 측정

- 실험 전 기간 동안 2채널 온습도로거(Testo-174H, Testo, Lenzkirch, Germany)를 5대를 설치하여 15분 간격으로 측정하였음
- 풍속 측정은 풍속계(Testo-416, Testo, Lenzkirch, Germany)를 통해 각 측정점에서 1분간 3반복 측정하였음
- 측정기간은 8월 4일부터 9월 7일까지 35일이었음
- 측정점의 경우 측정의 정밀도를 높이기 위해 수평 측정점, 수직 측정점을 각 각 3측정점으로 나누어 측정함(그림 5-3)

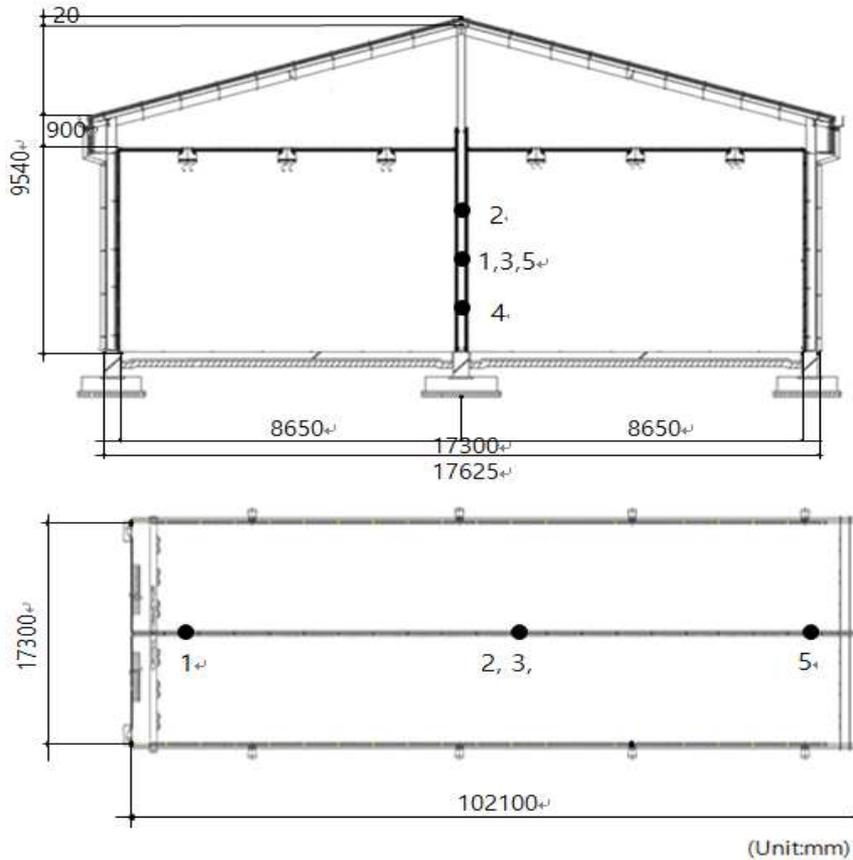


그림 5-3. 계사 내부의 온·습도 측정점.

○ 생산성 지표의 측정 및 방법

- 산란계에 대한 사료섭취량, 음수량, 산란수와 난중에 대한 데이터 수집은 급이시스템 (Chore-Tronics 3, Chore-time, USA)과 집란시스템(EXCELSIOR® Egg Collection System, Chore-time, USA)에 의해 자동 수집함
- 폐사율은 1일 단위로 집계하였으며, 이를 바탕으로 헨데이산란율(Hen day egg production(HD), %)와 사료전환율(Feed conversion rate(FCR), %)을 계산하여 분석함

○ 상관도 분석

- 크로스환기방식과 터널환기방식의 무창산란계사에서 각 각 측정한 건구온도와 상대습도를 바탕으로 산란계의 생산성 지표인 사료섭취량, 음수량, 헨데이산란율, 사료전환율, 왕특율, 대란율, 중란율, 파란율을 7호사와 8호사로 구분하여 정리한 후, SPSS 25(Statistical Package for the Social Sciences, IBM, USA)을 활용하여 독립표본 t-검정을 실시함
- 통계적 유의성은 p값이 0.05미만인 경우 유의한 것으로 간주함

## 2. 실험 결과

- 여름철 고온기에 크로스환기방식과 터널환기방식 모두에서 최대환기를 한 결과, 계사 내부의 건구온도와 상대습도는 차이가 없었으나( $p>0.05$ ) 풍속은 크로스 환기방식에 비하여 터널 환기방식에서 높게 나타났음( $p<0.05$ ). 이로 인하여 크로스 환기방식에 비하여 터널 환기방식에서 풍속 증가에 의하여 더위 스트레스 경감효과가 있었을 것으로 판단되었음(표 5-1)

표 5-1. 크로스 환기방식과 터널환기방식 계사에서 열환경인자들의 측정결과

구분	크로스 환기방식	터널 환기방식	SEM	P-value
건구온도(°C)	26.7	27.5	0.4521	0.906
상대습도(%)	78.6	75.5	1.8243	0.966
풍속(m/s)	1.65	2.18	0.0495	0.041

- 여름철 고온기에 크로스환기방식에 비하여 터널환기방식에서 음수량, 헨데이산란율, 난중 및 대란율이 높고 사료전환율은 낮으나( $p<0.001$ ) 사료섭취량, 왕특율, 중란율, 파란율 및 생존율은 차이가 없음( $p>0.05$ ) (표 5-2)
- 따라서 여름철 고온기에 생산성을 향상시키기 위해서는 크로스환기방식의 무창산란계사보다는 터널환기방식의 무창산란계사를 이용하는 것이 바람직함

표 5-2. 크로스 환기방식과 터널환기방식 계사의 산란계의 생산성 지표 결과

구분	크로스환기방식	터널환기방식	SEM	p-value
사료섭취량 (g/bird/d)	98.8	105.5	3.7312	0.051
음수량 (m l /bird/d)	185.7	251.9	5.4149	0.000
헨데이산란율 (%)	83.9	91.4	0.0127	0.001
난중 (g)	52.4	59.7	0.7041	0.001
사료전환율 (feed g/100 g egg mass)	2.265	1.975	0.0764	0.000
왕특율 (%)	4.7	39.1	0.0163	0.469
대란율 (%)	40.5	49.9	0.0371	0.000
중란율 (%)	48.8	5.3	0.0336	0.834
파란율 (%)	1.0	5.4	0.0056	0.505
생존율 (%)	99.5	98.0	0.0003	0.068

### 3. 결론

- 여름철 고온기에 크로스환기방식과 터널환기방식 모두에서 최대환기를 한 결과 계사 내부의 건구온도와 상대습도는 차이가 없었으나 풍속은 크로스 환기방식에 비하여 터널 환기방식에서 높게 나타났으며, 이로 인하여 크로스 환기방식에 비하여 터널 환기방식에서 풍속 증가에 의하여 더위 스트레스 경감효과가 있었을 것으로 판단되었음
- 여름철 고온기에 크로스환기방식에 비하여 터널환기방식에서 음수량, 헨데이산란율, 난중 및 대란율이 높고 사료전환율은 낮으나( $p < 0.001$ ) 사료섭취량, 왕특율, 중란율, 파란율 및 생존율은 차이가 없음( $p > 0.05$ ) (표 5-2)
- 따라서, 여름철 고온기에 생산성을 향상시키기 위해서는 크로스환기방식의 무창산란계사보다는 터널 환기방식의 무창산란계사를 이용하는 것이 바람직함

제 6장. 여름철 무창육계사에서 열환경 제어인자에 관한 연구

1. 실험설계

○ 공시동물 및 사육시설

- 2주령 Ross 품종 육계 1,000수(암·수 각각 500수)를 공시하여 이용하였음
- 육계사의 건물 규모는 폭 11m, 길이 100.2m이며, 외벽·지붕의 열관류율  $0.034W/m^2 \cdot k$ 이다. 또한, 크로스 환기 시스템으로 구성됨(그림 6-1, 2)

○ 실험사료로는 CP 19%, ME 3,150 Kcal/kg의 육계 후기사료를 급여하여 음수와 함께 자유 섭취하도록 하였음

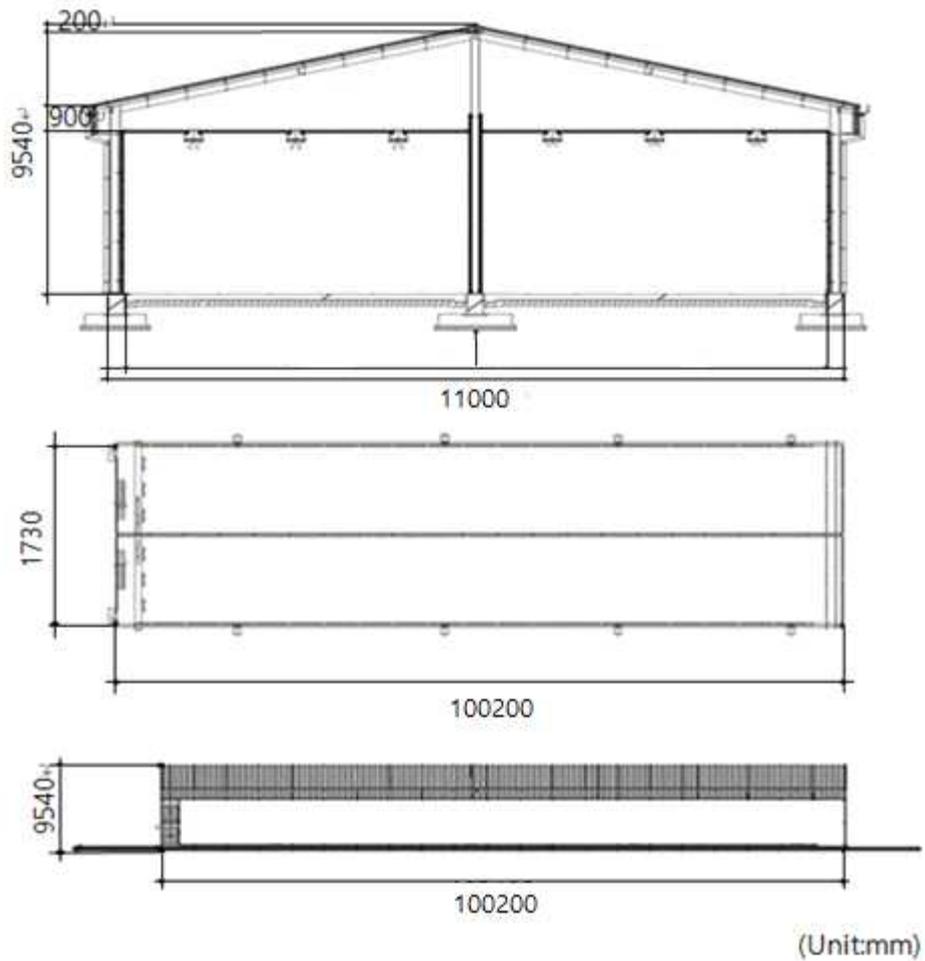


그림 6-1. 실험에 이용된 육계사 정면도, 측면도 및 평면도.



그림 6-2. 무창육계사 외부 전경.

○ 계사 내 온·습도 및 풍속 측정

- 실험 전 기간 동안 2채널 온습도로거(Testo-174H, Testo, Lenzkirch, Germany)를 5대를 설치하여 15분 간격으로 측정하였음
- 측정기간은 7월 30일부터 8월 15일까지 16일이었음
- 측정점의 경우 측정의 정밀도를 높이기 위해 수평 측정점, 수직 측정점을 각 각 3측정점으로 나누어 측정함(그림 6-3)

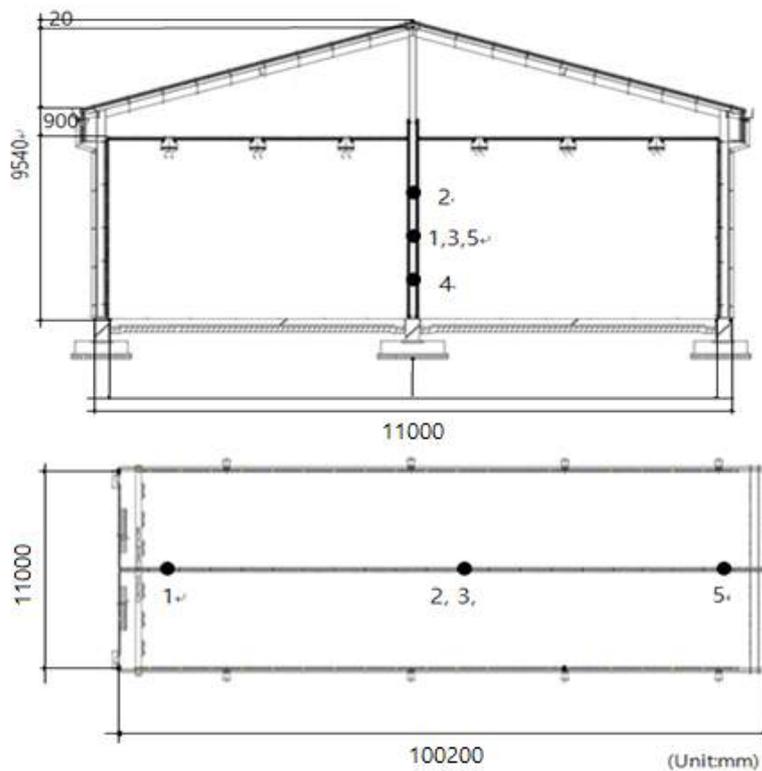


그림 6-3. 무창육계사 내부의 온·습도 측정점.

○ 생산성 지표의 측정 및 방법

- 육계에 대한 사료섭취량, 음수량에 대한 데이터 수집은 급이시스템(Ultraflo® Breeder feeder, Chore-time, USA)과 급수시스템(PDSTM Drinker Controls, Chore-time, USA)에 의해 자동 수집함
- 사료 요구율은 (사료 섭취량 / 증체량)을 산출하였음
- 생존율은 1일 단위로 집계하였으며, 이를 바탕으로 생산 지수를 (출하시 평균 체중×생존율/출하 일령×사료 요구율)×100으로 을 계산하여 분석함

○ THI(Temperature-Humidity Index)의 산정

- THI는 식(6-1)을 이용하여 산정함(Tao and Xin, 2003).

$$THI_{broilers}=0.85T_{db}+0.15T_{wb}\cdots(6-1)$$

Where,  $THI_{broilers}$ =Temperature humidity Index for broilers(°C)

$T_{db}$ =Dry bulb temperature(°C)

$T_{wb}$ =Wet bulb temperature(°C)

- THI 계산을 위해 습구온도는 아래의 식(6-2)에 건구온도와 상대습도를 대입하여 습구온도를 계산함 (Roland Stull, 2011)

$$T_{wb}=T_{db}+atan[0.151977(RH+8.313659)1/2]+atan(T_{db}+RH)-atan(RH-1.676331)+0.00391838(RH)3/2atan(0.023101RH)-4.686035\cdots(6-2)$$

Where, RH=Relative humidity(%)

○ 상관도 분석

- 16일간 측정된 건구온도와 습도데이터를 바탕으로 일반 선형 분석을 통해 육계의 생산성 지표(사료섭취량, 음수량, 사료요구율, 생산 지수, 생존율)의 상관도를 분석함. 피어슨 상관 계수(Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 분석함.
- 통계적 유의성은 p값이 0.05미만인 경우 유의한 것으로 간주함.

## 2. 실험 결과

- 7월 31일부터 8월 15일까지 총 16일 동안 내내 후기육계의 적정 사육 온도가 21~22℃를 기준으로 하였을 때, 1일 최저온도가 22℃를 초과하였으므로 육계가 더위 스트레스에 노출된 것은 물론, 큰 일교차가 사료섭취량, 음수량, FCR에 영향을 미침(p<0.001) (표 6-1)

표 6-1. Pearson correlations between each environmental factor and productivity index

	Food intake(g/bird)	Water consumption	Weight gain (g/bird)	FCR	Mortality(%)
Average THI	-.513***	.658***	-.372**	-.408***	.203
Maximum THI	-.591***	.645***	-.336**	-.405***	.181
Minimum THI	-.563***	.591***	-.378***	-.305**	.217*
Average Temperature	-.681***	.702***	-.351**	-.429***	.176
Maximum temperature	-.628***	.721***	-.358**	-.440***	.089
Minimum temperature	-.673***	.653***	-.409**	-.297**	.223*
Average Relative humidity	.120	-.188	.049	.098	.101
Maximum relative humidity	-.006	-.079	.001	-.011	.185
Minimum relative humidity	.165	-.216*	.107	.126	.089

\* (p<0.05), \*\* (p<0.01), \*\*\*(p<0.001) indicate significant differences between variables.

- 7월 31일부터 8월 15일까지 총 16일 동안 내내 후기육계의 적정 사육 온도가 21~22℃를 기준으로 하였을 때, 1일 최저온도가 22℃를 초과하였으므로 육계가 더위 스트레스에 노출된 것은 물론, 큰 일교차가 사료섭취량, 음수량, FCR에 영향을 미침(p<0.001)

## 3. 결론

- 평균온도, 최저온도, 최고온도, 평균THI, 최저THI 및 최고THI 등이 육계의 생산성에 영향을 미치므로 이들 환경인자들을 낮추어 육계의 생산성 저하를 최소화해야 할 것으로 판단됨

## 제 7장. IT 융합형 양계 환경 제어 시스템

### 1. 기술개발의 개요

- 본 발명은 계사에서 환경 조건을 계측하여 계사의 환경을 파악하고, 최적의 상태를 제어하기 위해 환경제어 장비를 자동으로 작동시켜주며, 관리자에게 스마트폰 앱을 통해 양계 환경 상태 및 제어 상태 등을 통보해주는 시스템임
- 본 발명의 시스템은 양계사에 설치되어 계사 환경을 제어하기 위해 건구 온도 센서와 습구 온도 센서를 사용하였고, 건구, 습구 온도 센서에서 계측된 값을 계산하여 닭의 체감 최적 온도값으로 환산함
- 환산된 값에 의해 냉수공급장치, 환기 팬, 냉동기 등을 제어하기 위한 제어 박스로 구성되어 있으며, 계측된 값과 장비 제어 상태를 전송하기 위한 (W)CDMA 모뎀, 스마트폰과 감지 결과를 확인하기 위한 스마트폰 앱으로 구성됨
- 양계 환경을 제어하기 위해 다양한 인자들을 적용하던 기존 방식과 달리, 건구, 습구 온도에 따라 계산되어진 닭의 체감 최적 온도값에 의해 환경 제어용 장비들을 제어할 수 있도록 구성되어 있어 구조가 단순하고, 제어가 직관적이고 명확하여 기존 양계 농장 또는 신규 양계 농장 모두에 쉽게 적용 가능함
- 본 발명에 따라 양계 관련 산업에서 적은 시설 투자비로 더욱 효과적인 환경 제어를 구축할 수 있고, 최적화된 제어로 유지비 및 기타 공공 요금 등을 절약할 수 있어 양계 농가의 수익 증대가 예상됨

### 2. 기술개발의 결과

- IT 양계 환경 제어 시스템 기술 구성 및 설명
  - 양계사의 환경을 제어하기 위한 건구, 습구 온도 센서
    - 열전대형(PT100) 온도 센서를 사용하여 특정 위치에 고정할 수 있는 건구 온도센서와, 열전대형 온도 센서에 거즈와 물 받이, 자동 물 공급 장치 등으로 구성되어 있는 습구 온도 센서를 더 구비한 것을 특징으로 함
  - 감지된 건구, 습구 온도를 분석하여 닭의 최적 체감 온도를 판단하기 위한 제어기
    - 건구, 습구 온도 센서와 연결 가능하게 하는 센서 연결부와 센서에서 입력되는 온도 신호를 처리하기 위한 A-D 변환기와 입력 신호를 계산하여 닭의 체감 최적 온도값으로 변환하고 설정된 온도 범위에 따라 제어 장비들을 선택적으로 제어할 수 있도록 판단함
  - 상태를 전송하기 위한 (W)CDMA 모뎀
    - 판단 결과를 (W)CDMA 모뎀을 통해 전송하는 것을 제어하는 CPU와 제어 방법에 따라 외부 장치들을 제어할 수 있는 출력 제어부와 결과를 스마트폰으로 전송함
  - 감지 결과 확인을 위한 스마트폰 앱

- 스마트폰 앱은 양계사 관련자의 스마트폰에서 환경 및 닭의 체감 최적 온도값 등을 확인하기 위한 기능과 장비의 가동 여부, 이상 상태를 확인하기 위한 기능, 장비 가동 후 부터의 이력을 확인할 수 있는 기능과 최근 또는 일정 기간 동안의 양계 환경 관리 이력을 확인할 수 있는 기능으로 구성됨

1) 장비 내부 전체



2) 장비 전원 차단부 (MCCB)



3) 주 제어 장치



4) 전원 보조 장치 (UPS)



5) 센서 전원 조절 장치



그림 7-1. IT 양계 환경 제어 시스템 기술 구성.

1. Loading 화면

2. 주화면

3. 관찰 화면 : 자동운전

4. 히스토리 화면

5. 설정 화면



그림 7-2. IT 양계 환경 제어 시스템 기술을 통해 개발한 앱 화면.

3. 기술개발 전 문제점 그리고 기술개발을 통한 효과

○ 기술개발 전 문제점

- 열악한 환경 하에서 각종 다양한 센서로 환경을 제어 시, 구성품들의 내구성과 제어 신뢰성이 떨어져 양계사 관리에 많은 문제점이 남
  - 이러한 문제점은 생산성 저하로 나타나 양계 농가의 소득 감소로 나타남.
  - 또한 센서의 노후나 파손시 센서에 의한 피드백 제어가 원활하지 않아 제어를 단순히 수동에 의존하여 제어하거나 내부 온도만으로 제어를 하게 되어 제어의 효율성과 그에 따른 에너지 효율 등의 저하를 초래하였음

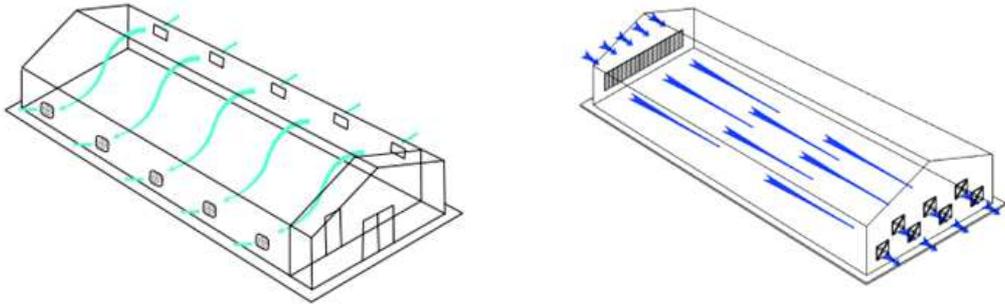
○ 기술개발을 통한 효과

- 본 발명에 따라 환경 계측 및 제어를 위한 센서를 건구, 습구 온도로 구성하여 센서의 내구성을 높임.
  - 단순히 내부 온도에 의한 제어가 아닌 계산에 의한 닭의 체감 최적 온도로 제어를 하게 되어 불필요한 환기나 온도제어를 배제함.
  - 최적의 에너지를 소비하여 최고의 환경을 조성할 수 있도록 함.
- 이러한 기술개발을 통해 닭의 생존율과 생산성 등을 높여주어 양계 농가의 수익 증대를 가져오고, 동물 복지 효과도 더불어 갖출 수 있음.
- IT 기술의 발전에 부합되도록 다양한 정보를 쉽게 접근할 수 있게 하여 관리자의 관리 효율과 관리 예측이 가능함

제 8장. 고온기 계사 시설환경 관리 매뉴얼

1. 터널환기방식 채택

○ 크로스환기방식과 터널환기방식의 무창산란계사



<크로스환기방식의 무창산란계사>

<터널환기방식의 무창산란계사>

그림 8-1. 환기방식별 무창산란계사의 모식도.

○ 고온기 크로스환기방식과 터널환기방식 간의 산란계 생산성 비교

표 8-1. 여름철 무창산란계사의 환기방식에 따른 산란계 생산성 비교

구분	크로스환기방식	터널환기방식	p-value
사료섭취량 (g/bird/d)	98.8	105.5	0.051
음수량 (ml/bird/d)	185.7	251.9	0.000
헨데이산란율 (%)	83.9	91.4	0.001
난중 (g)	52.4	59.7	0.001
사료전환율 (feed g/100 g egg mass)	2.265	1.975	0.000
왕특율 (%)	4.7	39.1	0.469
대란율 (%)	40.5	49.9	0.000
중란율 (%)	48.8	5.3	0.834
파란율 (%)	1.0	5.4	0.505
생존율 (%)	99.5	98.0	0.068

- 여름철 고온기에 크로스환기방식에 비하여 터널환기방식에서 음수량, 헨데이산란율, 난중 및 대란율이 높고 사료전환율은 낮으나 사료섭취량, 왕특율, 중란율, 파란율 및 생존율은 차이가 없음
- 따라서 여름철 고온기에 생산성을 향상시키기 위해서는 크로스환기방식의 무창산란계사보다는 터널환기방식의 무창산란계사를 이용하는 것이 바람직함

2. 더위 스트레스 단계별 시설환경 관리

○ 닭의 온습도지수(THI)

-  $THI = 0.6 \times \text{건구온도}(^{\circ}\text{C}) + 0.4 \times \text{습구온도}(^{\circ}\text{C})$

구분	상대습도 (%)																			
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
건구온도 (°C)	20																			20.0
	22													20.5						
	24							20.2												
	26			20.4												24.6				
	28										24.9									27.7
	30							25.6								28.5				
	32				26.0							29.0								
	34		26.6						29.7											
36	27.5						30.6													

그림 8-2. 산란계의 THI 차트.

표 8-2. 더위 스트레스 단계별 시설환경 관리

	<중온영역> 대책 불필요
	<경고> 환기율 증가, 풍속 증가, 안개분무 장치 가동(상대습도가 높은 경우 미가동), 더위 스트레스 신호를 감지하기 위해 닭 행동 확인, 급수기와 환기 시스템의 점검
	<위험> 더위 스트레스 받음, 더위 스트레스 즉시 측정, 환기율 증가, 습식 패드 시스템 가동, 안개분무 장치 가동, 풍속 증가(1.8~2.0m/s), 닭 행동 확인, 밤 냉각 최대화
	<비상> 극도로 더위 스트레스 받음, 출하 또는 백신 등을 피함, 가장 더울 때 사료급여를 금함, 활동량과 발열량을 줄이기 위해 조도를 낮춤

### 3. 냉수 급수

#### ○ 냉수 급수

- THI가 약 25° C 이상일 경우 위험단계로서 생산성 저하가 나타나기 시작함
- THI가 약 25° C 이상일 때 15℃ 이하의 냉수를 급수함

#### ○ 냉수 급수 시 산란계의 생산성 향상 효과

표 8-3. 더위 스트레스를 받는 산란계의 생산성에 대한 냉수 급수의 효과

구분	상온수 급수구 (대조구)	냉수 급수구 (처리구)	SEM	p-value
난각색	38.5	32.0	1.10	0.0003
난중 (g)	62.1	63.2	1.26	0.5349
난백고 (mm)	5.9	5.6	0.31	0.5691
난황색	4.9	5.4	0.29	0.2418
하우 유닛	73.9	72.2	2.48	0.6376
난각 강도 (kg)	3.7	3.8	0.01	0.2736
헨데이산란율 (%)	51.0	57.9	2.22	0.0270
파란율 (%)	6.0	3.6	2.44	0.5443

#### ○ 상온수 급수 시에 비하여 냉수 급수 시에 난각색은 짙고 헨데이산란율은 높음

### 4. 산란계사 열환경 관리

#### ○ 열환경인자가 산란계의 생산성 지표에 미치는 영향

- 산란계사 내부의 건구온도가 상승할수록 사료섭취량, 헨데이 산란율, 난중 및 사료전환율이 저하되는 반면에 음수량은 증가함
- 1일 최고온도가 높을수록 사료섭취량, 헨데이 산란율, 난중 및 사료전환율이 저하되는 반면에 음수량은 증가함
- 고온기에 1일 최저온도가 상한임계온도 이상일 경우, 폐사율이 증가함
- 1일 최저온도가 상한임계온도 이상인 건구온도 환경에서 온도가 높을수록, 일교차가 클수

록 산란계의 생산성 저하가 나타남

- 또한, 더위 스트레스에 노출되는 시간이 길어질수록 산란계의 생산성 저하가 더욱 심화됨

○ 열환경인자 관리요령

- 고온기에 산란계의 생산성 향상을 위해 산란계사 내부의 건구온도를 가능한 낮추어야 함
- 산란계사 내부의 1일 최저온도를 산란계의 하한임계온도인 20℃에 근접하게 조성해주는 것이 유리함
- 산란계사 내부의 1일 최고온도를 낮추어 더위 스트레스의 강도 줄이고 산란계사 내부의 일교차를 줄이는 것이 산란계의 생산성 증대에 유리함
- 또한 산란계사 내부의 1일 최고온도를 낮추어 상한임계온도 이상의 지속시간을 줄여 산란계가 더위스트레스에 노출되는 시간을 줄여야 함
- 산란계사 내부의 1일 최고온도를 낮추어 전날 최후의 상한임계온도에서 다음날 최초의 상한임계온도 사이의 시간을 증가시키고, 전날 최고온도와 다음날 최저온도의 차를 줄여 산란계가 전날의 더위 스트레스로부터 회복할 수 있도록 여건을 조성해주는 것이 유리함

## 제 9장. 닭의 스트레스 요인 구명 및 인덱스 개발

### 1. 산란계 연구

- 우리나라 하절기는 초여름 이후 장마가 시작되고, 장마 후에 고온 다습한 날씨가 지속되는 특징이 있다. 이러한 기후변화 때문에 해마다 많은 가축들이 폐사하며, 피해 입은 축종 중에서 닭들이 절대 다수를 차지한다 (MAFRA, 2018).
- 닭은 몸이 깃털로 덮여있고 땀샘이 없기 때문에 고온에 취약하다. 특히 장마 이후에 나타나는 지속적인 고온과 높은 상대습도는 닭이 항상성을 유지할 수 있는 한계점을 상회하기 때문에 결국에는 폐사에 이르게 된다. 따라서 고온 스트레스를 경감시킬 수 있는 다양한 방법들이 제시되고 있다. 예를 들면, 환기와 같은 사육 시설의 조절 및 개선, 사육 밀도, 사료, 음수, 영양소 등 사양관리 개선이다 (Czarick & Fairchild, 2008; Dagher, 2008; Naga Raja Kumari & Narendra Nath, 2017). 그럼에도 불구하고 고온 스트레스에 대한 다양한 연구 결과가 보고되었지만 온도나 습도 등 실험방법이 서로 달라서 결과를 비교하는 비교하기에는 한계가 있다. 따라서 본 연구에서는 환경온도 및 상대습도를 고려한 지수를 사용하여 지수로 일원화된 열환경의 변화가 산란계의 폐사율 및 개구호흡에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 고온환경의 영향을 감소시킬 수 있는 인자의 효과도 농장단위에서 검토하였다.

#### ① 실험 1

- 환경온도(건구온도,  $T_{db}$ )가 상승함에 따라 산란계에서 개구호흡(panting)이 관찰되기 시작하였다 (표 9-1). 즉, 환경온도 28°C에서 개구호흡이 관찰되지 않았으나 32°C에서는 분당 평균 약 82회, 33°C에서 230회, 38°C에서 226회, 그리고 36°C에서 266회가 관찰되었다. 상대습도는 28°C에서 55%, 32°C에서 50%, 33°C에서 54%, 38°C에서 46%, 그리고 36°C에서 40%였다. 폐사율은 36°C에서 41.7% (12수의 산란계 중에서 5수가 폐사)였다.
- 고온 스트레스는 환경온도뿐만 아니라 상대습도의 영향을 받으므로 (Xin and Harmon, 1998), 위의 결과를 바탕으로 산란계에 있어서 THI (Temperature-humidity index)를 아래와 같이 도출하고 그 결과를 비교하였다 (Purswell et al., 2012) (표 9-1 및 그림 9-1):

$$THI_{layers} = 0.6T_{db} + 0.4T_{wb}$$

여기에서, THI = temperature-humidity index, °C

$T_{db}$  = dry-bulb temperature, °C

$T_{wb}$  = wet-bulb temperature, °C

- THI는 건구온도 28°C에서 25.3°C였고, 32.1°C에서 28.8°C, 33.1°C 38.4°C 및 38.3°C에서 각각 30°C, 34.3°C 및 33.6°C였다(표 9-1 및 그림 9-1). 비록 건구온도 38.4°C 및 38.3°C에서는 THI의 차이가 거의 없었지만 38.3°C에서 폐사계가 관찰된 것은 38.4°C에서 보다 더 오랫동안 고온에 노출되었기 때문으로 사료된다. 현재의 연구에서는 산란계가 34°C의 THI

에서 2시간 정도 노출될 때 약 42%의 폐사율을 보였다.

- THI가 25.3℃, 28.8℃, 30℃, 34.3℃ 및 33.6℃일 때, panting의 횟수는 각각 0회, 82.4회, 229.6회, 226.4회 및 266회였다. 이러한 결과는 panting에는 임의의 시각에 특정 THI에 더하여 그 THI에 얼마나 오랫동안 동물이 노출되었는가가 동시에 고려되어야 할 것으로 사료된다.

표 9-1. Temperature-humidity index (°C), panting (pants/min), and mortality (%) in laying hens subjected to varying ambient temperatures

Parameters	Time (min)				
	0	40	100	160	280
Temperature, dry bulb (°C)	28	32.1	33.1	38.4	38.3
Relative humidity (%)	55	50	54	46	40
Temperature, wet bulb (°C)	21.2	23.7	25.4	28	26.5
Temperature-humidity index (°C)	25.3	28.8	30	34.3	33.6
Panting (pants/min)	0	82.4	229.6	226.4	266
Mortality (%)	0	0	0	0	41.7

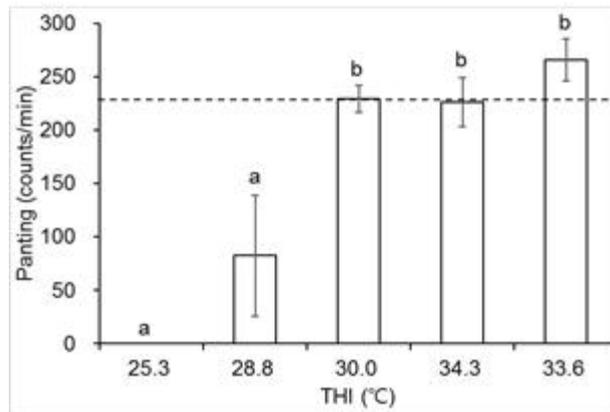


그림 9-1. The effects of temperature-humidity index (THI) (°C) on panting (counts/min) in laying hens. Five groups of hens were exposed to one of the following five-THI conditions for different time periods (0, 40, 100, 160, or 280 min), and hens' behaviors were recorded for panting frequency which was counted at the time points specified (min). Temperature-humidity index (THI)(°C), dry-bulb temperature(°C), web-bulb temperature(°C), and relative humidity (%) were 25.3, 28.0, 55.0, and 21.2 for 0 min; 28.8, 32.1, 50.0, and 23.7 for 40 min; 30.0, 33.1, 54.0, and 25.4 for 100 min; 34.3, 38.4, 46.0, and 28.0 for 160 min; 33.6, 38.3, 40.0, and 26.5 for 280 min, respectively. The dot line indicates THI of 30°C. a,b Means with different superscripts differ significantly in panting frequency at p<0.05.

② 실험 2

○ 30°C 또는 36°C 의 온도에 노출된 산란계의 혈장에서 생화학 성분 및 스트레스 호르몬인 corticosterone을 분석하였다. 혈장내 albumin, amylase 및 aspartate aminotransferase의 함량이 고온의 산란계에서 유의적으로 감소되었지만 (P<0.05), corticosterone을 포함하여 그 밖에 다른 인자들은 두 온도 사이에 유의적으로 차이가 나지 않았다 (표 9-2). 이러한 결과는 산란계가 지속적으로 고온에 노출된다면 급격한 온도변화에서 관찰할 수 있는 다양한 혈중지표들이 상쇄되었을 수 있다는 것을 나타낸다.

표 9-2. Blood parameters in laying hens exposed to an ambient temperature at either 30°C or 36°C for 2h

Parameters	Ambient temperature	
	30°C	36°C
Albumin (g/dL)	2.08 ± 0.08	1.86* ± 0.07
Amylase (U/L)	291 ± <b>21.3</b>	203* ± <b>11.5</b>
Aspartate aminotransferase (U/L)	206 ± <b>17.9</b>	158* ± <b>10.3</b>
Ca (mg/dL)	<b>15.6</b> ± 0.36	<b>15.9</b> ± 0.08
Cholesterol (mg/dL)	113 ± <b>16.1</b>	100 ± 7.35
Creatine Kinase (U/L)	1723 ± <b>91.0</b>	1730 ± <b>93.5</b>
Creatinine (mg/dL)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.03
Globulin (g/dL)	4.00 ± 0.13	3.61 ± 0.17
Glucose (mg/dL)	205 ± 15.0	191 ± 16.3
Inorganic phosphate (mg/dL)	9.13 ± 0.57	9.50 ± 1.09
Lactate dehydrogenase (U/L)	15300 ± 2396	17942 ± 2583
NH <sub>3</sub> (umol/L)	796 ± <b>58.6</b>	799 ± <b>30.4</b>
Total protein (g/dL)	6.08 ± 0.20	5.53 ± 0.25
Triglycerides (mg/dL)	1710 ± 251	1254 ± 167
Uric acid (mg/dL)	8.10 ± 1.15	8.19 ± 0.90
Corticosterone (ng/ml)	23.2 ± 7.28	16.0 ± 2.15

\*, p<0.05.

③ 실험 3

○ 본 실험에서는 급격한 THI의 상승이 산란계의 폐사율에 미치는 영향이 평가되었다. 열풍

기를 사용하여 계사내 온도를 1시간에 걸쳐서 26°C에서 36°C로 올린 다음 4.5시간 동안 유지하였다. 상대습도는 56%에서 45.5%로 변화하였다. 한편 대조구에서는 26°C에서 30°C로, 상대습도는 56%에서 45%로 변화하였다. 처리개시, 1, 5 및 5.5시간 후 처리구 및 대조구에서 폐사율을 관찰하였다.

- THI는 24.2°C에서 처리개시 후 1시간만에 32.1°C로 증가하였고 그 이후 4.5시간동안 같은 온도가 유지되었다. 폐사율은 1시간에 0%, 5시간에 95% 그리고 5.5시간에 100%였다. 같은 기간 동안 대조구에서는 폐사율이 관찰되지 않았다 (그림 9-2).

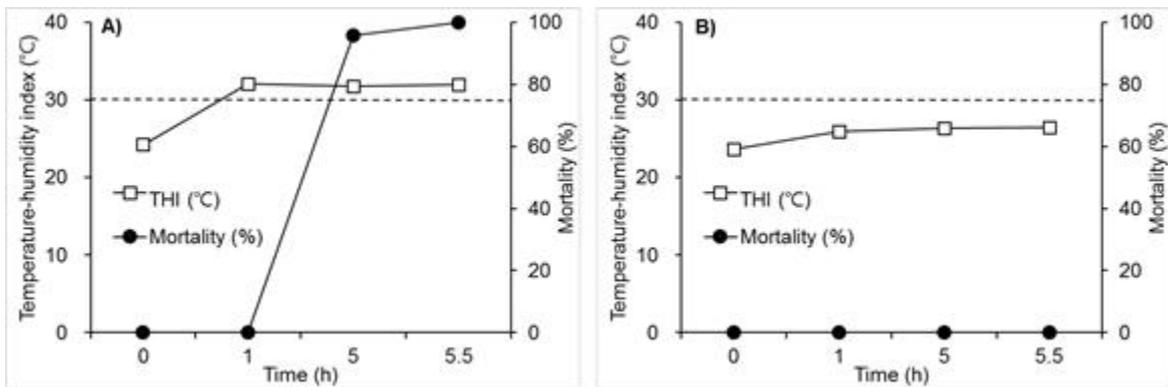


그림 9-2. The effects of an acute elevation in temperature-humidity index (THI) (°C) on mortality (%) in laying hens. Hens were exposed to one of the two following THI conditions for 5.5 h. A) THI: 24.2 to 32.0; dry-bulb temperature ( $T_{db}$ )(°C): 26.8 to 36.0; web-bulb temperature ( $T_{wb}$ )(°C): 20.3 to 26.6; and relative humidity (RH) (%): 56.0 to 45.5. B) THI: 23.6 to 26.4;  $T_{db}$ : 26.0 to 30.0;  $T_{wb}$ : 20.0 to 21.5; and RH: 58.0 to 45.0. Mortality was measured at the time points specified (h). The dot line indicates THI of 30°C.

#### ④ 실험 4

- 그 다음, 완만한 THI의 상승이 산란계의 폐사율에 미치는 영향이, 실험 3과 유사한 조건에서 진행되었다. 즉, 계사 내 온도를 약 6시간에 걸쳐서 27°C에서 35.5°C로 올린 다음 3시간 동안 그 상태를 유지하였다. 상대습도는 55%에서 37%로 변화하였다. 한편 대조구에서는 27°C에서 30.3°C로, 상대습도는 55%에서 37%로 변화하였다. 처리개시 및 이후 9시간동안 매시간 처리구 및 대조구에서 폐사율을 관찰하였다.

- 처리구에서 THI는 24.3°C에서 31.2°C로 증가하였고 대조구에서는 24.4°C에서 26.6°C으로 증가하였다. 실험기간동안 처리구 및 대조구에서 공히 폐사율은 관찰되지 않았다 (그림 9-3).

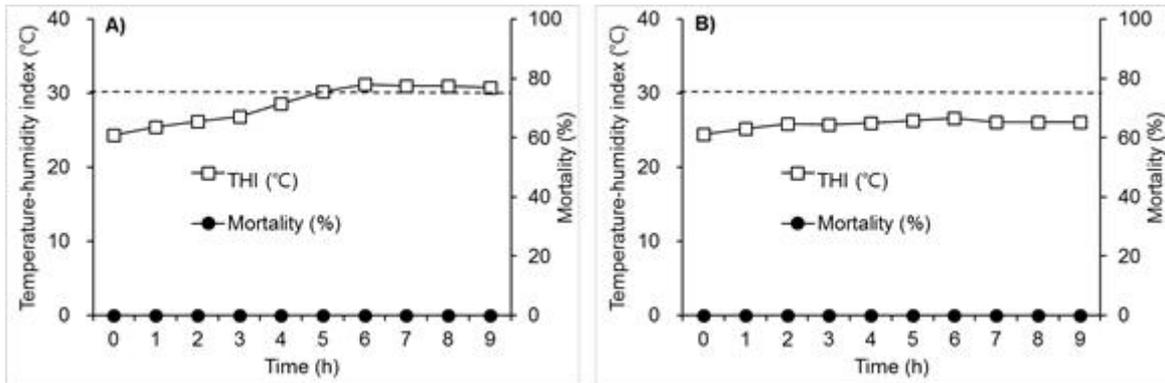


그림 9-3. The effects of a moderate increase in temperature-humidity index (THI) (°C) on mortality (%) in laying hens. Hens were exposed to one of the two following THI conditions for 9 h. A) THI: 24.3 to 31.2; dry-bulb temperature ( $T_{db}$ ) (°C): 27.0 to 35.5; web-bulb temperature ( $T_{wb}$ ) (°C): 20.4 to 25.3; and relative humidity (RH) (%): 55 to 37. B) THI: 24.4 to 26.6;  $T_{db}$ : 27.1 to 30.3;  $T_{wb}$ : 20.5 to 21.3; and RH: 55.0 to 39.0. Mortality was measured at the time points specified (h). The dot line indicates THI of 30°C.

⑤ 실험 5

- 본 실험에서는 실험 4에서 사용된 닭을 이용하여, 실험 3보다는 더 완만하지만 실험 4보다는 더 급격한 온도 변화가 폐사율에 미치는 영향을 평가하였다. 즉, 처리구에서는 계사 내 온도를 약 3시간에 걸쳐서 28°C에서 39°C로 올린 다음 5시간 동안 그 상태를 유지하였다. 이 기간 동안 상대습도는 55%에서 39.5%로 변화하였다. 한편 대조구에서는 온도는 28°C에서 32.5°C로, 상대습도는 55%에서 40%로 변화하였다. 처리개시 및 이후 8시간 동안 매시간 처리구 및 대조구에서 폐사율을 관찰하였다.
- 처리구에서 THI는 온도 상승 개시 후 3시간에 25.2°C에서 34.3°C로 증가하였다. 폐사율은 처리구에서 온도 상승 시작 후 5시간 및 8시간에 각각 75% 및 79%였지만, 대조구에서는 25.2°C에서 29.4°C까지 THI가 증가하였지만 폐사율은 관찰되지 않았다 (그림 9-4).

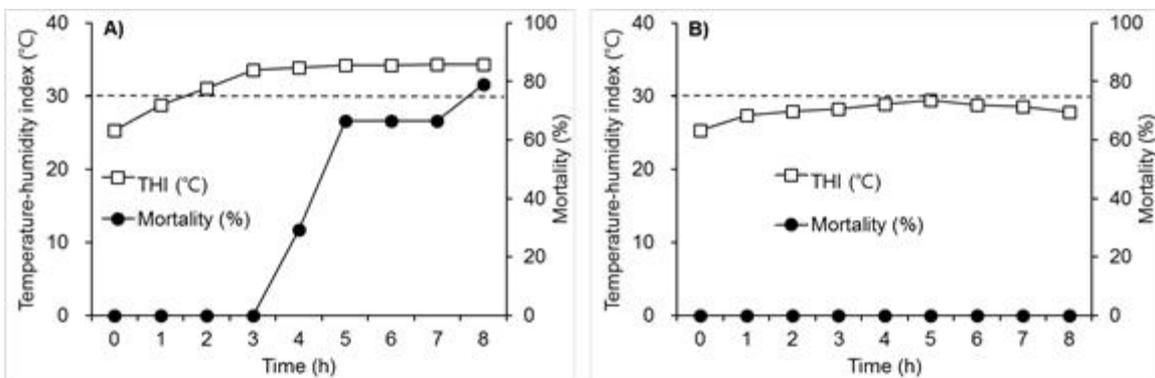


그림 9-4. The effects of a moderate increase in temperature-humidity index (THI) (°C) on mortality (%) in the laying hens used in Experiment 2. Hens were exposed to one of the two following THI conditions for 8 h. A) THI: 25.2 to 34.3; dry-bulb temperature ( $T_{db}$ )(°C): 28.0 to 39.2; web-bulb temperature ( $T_{wb}$ )(°C): 21.2 to 27.6; and relative humidity (RH) (%): 55.0 to 39.5. B) THI: 25.2 to 29.4;  $T_{db}$ : 28.0 to 32.5;  $T_{wb}$ : 21.2 to 24.1; and RH: 55.0 to 40.0. Mortality was measured at the time points specified (h). The dot line indicates THI of 30°C.

- 따라서 이상의 결과들을 종합해 보면, 고온 환경이 예상될 때, 짧은 시간 동안 THI의 상승을 회피하거나 또는 지연시킬 수 있는 사양관리가 매우 중요하다. 즉, 시간당 THI의 변화율 (THI/h)이 4시간에 걸쳐서 3°C 이하가 되도록 관리할 필요가 있다고 사료된다.

#### ⑥ 실험 6

- 본 연구는 산란계농장단위에서  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)가 여름철 산란계의 생산성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 본 농장현장실험은, 연구의 목적과 실험방법을 충분히 이해하고 동의하는 농장주의 협력 하에 수행되었다.
- 실험이 수행된 산란계 농장에는 동일한 사육규모(약 5만수/계사)를 가진 다수의 산란계사가 있으며, 그 중 닭의 일령이 유사한 두 동을 선정하여 본 연구에 이용하였다. 산란계는 이사 브라운 계통이었고, 실험을 시작할 때 각각 274일령 및 298일령이었다. 실험의 개시부터 종료시점까지 계사는 15시간 점등 및 9시간 소등의 조건으로 유지되었다. 사료와 물은 제한없이 급여되었고 사료급여 및 물공급은 계사 단위로 기록되었다. GABA (100 ppm)는 계사 한 동에 수용된 모든 산란계에게 44일간 음수로 공급되었고, 같은 기간 동안 다른 계사의 산란계는 무급여 상태로 두어 비교집단(Reference group; Ref)으로 이용되었다. 일중 최고 최저기온은 각 계사에 설치된 자동기록계에 저장되었으며, 농장현장실험의 특성상 계사 및 동물의 관리 등은 농장의 사육관행에 따라 이루어졌다.
- 급여기간동안 두 계사에서 확보된 사양환경 및 생산성 관련 자료가 생산성 분석에 이용되었다. 일중 최고 및 최저온도, 수당 사료섭취량 및 음수량, 폐사율, 산란수 및 난중이 매일 기록되었다. 실험기간동안 매일 생산된 계란은 계사내 Grading & Packing 시설로 이송되어 계란선별기에 의해 선별되었다. 난중은 축산물품질평가원의 계란중량규격에 따라 소란 (44g 미만), 중란 (44g 이상 ~ 52g 미만), 대란 (52g 이상 ~ 60g 미만), 특란 (60g 이상 ~ 68g 미만), 그리고 왕란 (68g 이상)으로 분류되었다 (KAPE, 2013). 그 중 소란을 제외한 나머지 규격들은 총산란수에서 차지하는 백분율로 표시하였다. 왕란, 특란, 대란 및 중란의 생산 비율의 합계는 계란 총생산의 95% 이상을 차지하기 때문에, 자료의 단순화를 위해서 소란은 제외되었다.
- 이러한 기초자료로부터 수당 일일 사료섭취량 및 음수량은 계사 당 일일 총사료섭취량 또

는 총음수량을 당일의 산란계수수로 나누어 각각 산출되었다. 헨데이산란율(%)은 계사당 매일 산란수를 당일의 산란계 수수로 나누고 100을 곱하여 도출되었다. 평균일일산란량(g)은 계사당 당일 산란한 계란의 총무게를 당일의 산란계 수수로 나누어 도출되었다. 사료요구량은 계사당 일일 총사료섭취량을 총난중으로 나누어 도출되었다.

- 도출된 자료는 필요에 따라 MS-Excel을 이용하여 t-test 로 분석되었다. 일부의 자료에 대하여 선형회귀분석이 수행되었다. 이 과정에서 농장의 상황에 의해 산란율이 특별히 높거나 낮게 기록된 자료는 자료의 단순화를 위하여 배제되었다 (Grubbs, 1950; Livesey, 2007). P값이 0.05보다 작거나 같을 때 유의성이 있다고 판단되었다.
- 급여기간동안 계사의 일중 최고 및 최저온도 변화는 GABA 와 Ref사이에 유사하였다. 즉, 평균 최고 및 최저온도는 GABA처리구 계사에서 각각  $34.0 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  및  $26.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  였고, Ref의 계사에서 각각  $33.5 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  및  $25.4 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  였다. 각 계사 내 최고 및 최저기온 차이는 각각  $8.0^{\circ}\text{C}$  및  $8.1^{\circ}\text{C}$  였다 (그림 9-5).

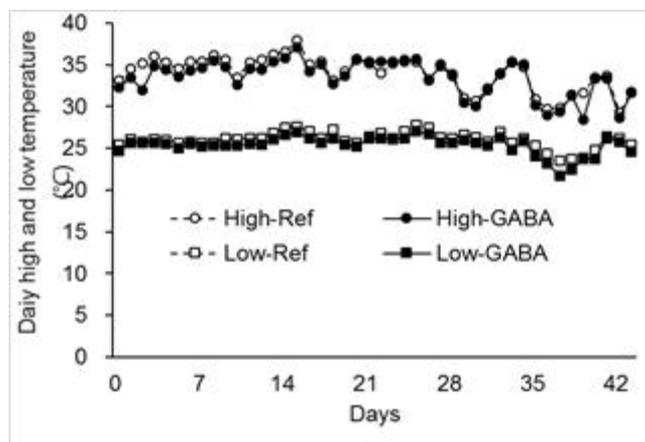


그림 9-5. Daily changes in high and low temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) in two hens' houses with the capacity of housing 50,000 hens each in a commercial layer farm. One house was used for  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) treatment and the other for a reference group (Ref).

- 일일평균사료섭취량은 GABA 와 Ref간에 차이가 있었지만, 같은 집단 안에서는 실험기간 내에 일정하게 유지되었다(Fig. 2-6). 일일평균사료섭취량은 GABA처리구에서  $100.1 \pm 0.9 \text{ g}$  및 Ref에서  $121.2 \pm 1.0 \text{ g}$ 이었다. 반면에 일일평균음수량은 GABA처리구에서 높은 변이를 보였으며 GABA에서  $264.6 \pm 5.5 \text{ g}$  및 Ref에서  $211.7 \pm 1.5 \text{ g}$  이었다 (Figure 6A). 따라서 실험기간동안 일일 평균 음수량/사료섭취량은 GABA처리구에서  $2.7 \pm 0.07$ , Ref에서  $1.8 \pm 0.02$ 로, 1.5배 높았고, Ref에 비해 유의적으로 높았다 ( $p < 0.0000$ ) (그림 9-6).

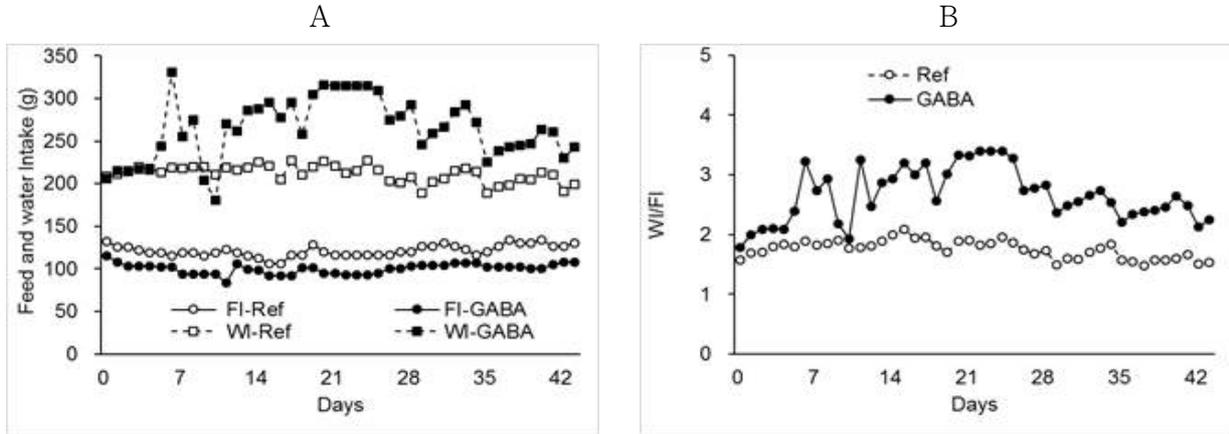


그림 9-6. A) Daily feed (FI) and water intake (WI) (g) and B) changes in daily water intake (WI)-to-feed intake (FI) ratios in laying hens. Two hens' houses, with the capacity of housing 50,000 hens each, were used in a commercial layer farm for the current study. Hens in one house were provided with 100 ppm  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) for 44 days during summer time while those in the other served as a reference group (Ref).

- 산란계의 사료요구율은 GABA급여 개시일부터 GABA 와 Ref사이에 차이가 있었고 그러한 경향은 종료시점까지 계속되었다. 즉, 실험 개시 및 종료 시에 GABA처리구에서 Ref보다 각각 0.282 및 0.358 낮았으며, 급여기간 전체로는 평균 0.328 낮았다 ( $p < 0.000$ ) (그림 9-7).

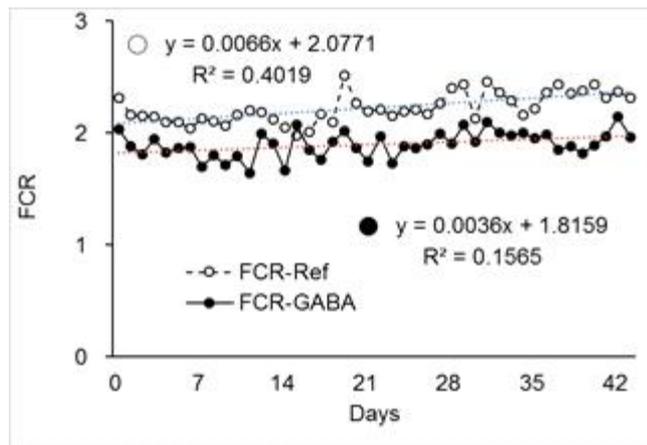


그림 9-7. Daily changes in feed requirement (FCR) in laying hens. Two hens' houses, with the capacity of housing 50,000 hens each, were used in a commercial layer farm for the current study. Hens in one house were provided with 100 ppm  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) for 44 days during summer time while those in the other served as a reference group (Ref).

- 누적폐사율은 GABA 급여 후 15일까지는 Ref에 비해 거의 같거나 작지만 오히려 높았다. 그러나 15일 이후에는 이러한 경향이 역전되어, 두 집단간에 차이가 서서히 증가되어 급여종료시점에는 Ref에 비해 GABA 처리구에서 37% 낮았다 (그림 9-8).

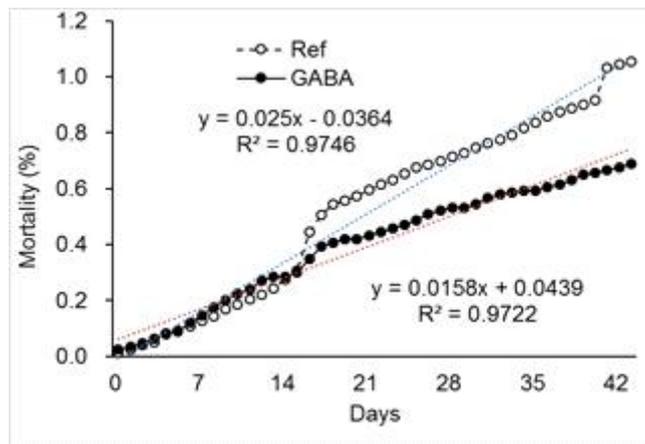


그림 9-8. Daily changes in cumulative mortality (%) in laying hens. Two hens' houses, with the capacity of housing 50,000 hens each, were used in a commercial layer farm for the current study. Hens in one house were provided with 100 ppm  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) for 44 days during summer time while those in the other served as a reference group (Ref).

○ 헨데이계란생산율(%) 및 일일평균산란량(g)은 Ref에 비해서 GABA 처리구에서 지속적으로 낮았다. 즉, 전자는 각각  $92.2 \pm 0.4 \%$  및  $90.6 \pm 0.6 \%$  ( $p < 0.027$ )로 전 기간 평균 1.6 % 낮았으며 (Figure 9A), 후자는 각각  $55.9 \pm 0.3 \text{ g}$  및  $53.8 \pm 0.4 \text{ g}$  ( $p < 0.0002$ )로 전 기간 평균 1.9 g 낮았다 (그림 9-9).

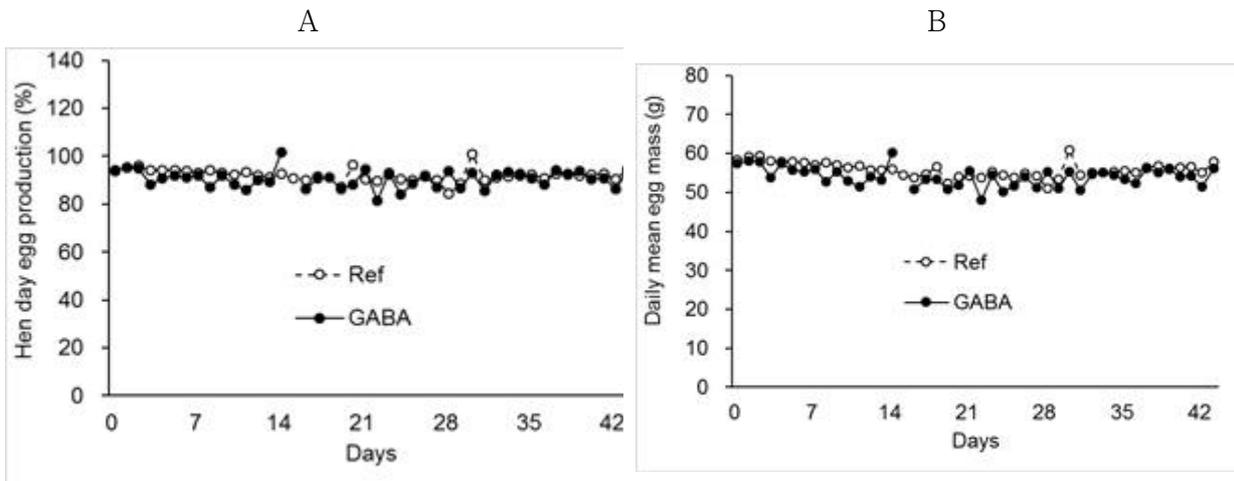


그림 9-9. A) Daily changes in hen-day egg production (%) and B) daily changes in mean egg mass (g) in laying hens. Two hens' houses, with the capacity of housing 50,000 hens each, were used in a commercial layer farm for the current study. Hens in one house were provided with 100 ppm  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) for 44 days during summer time while those in the other served as a reference group (Ref).

- 총 산란수 중에서 등급란이 차지하는 비는 Figure 10에 제시되었다. 전체 산란수에서 대란과 특란의 합계는 80% 이상이었고, 중란과 왕란의 합계는 10%이하였다 (Figure 10A). 선형회귀식을 구하였을 때, GABA 처리와 무관하게 특란과 왕란의 생산비율은 주령과 더불어 완만하게 감소하고, 중란과 대란은 증가하는 추세를 보였다. GABA 급여기간동안 생산된 계란의 중량등급별 생산비율의 평균을 비교하였을 때, Ref에 비해 GABA 처리구에서 중란과 대란의 생산 비율이 높았고, 특란과 왕란의 비는 낮았다 ( $p < 0.05$ ) (그림 9-10).
- 실험기간동안 파란 발생률에서는 Ref에 비해 GABA처리구에서 변이가 현저하였다 (2-10). 또한 전체 평균 파란 발생률은 Ref에 비해 GABA처리구에서 2배 이상 높았다 (2.1% vs. 4.8%,  $p < 0.05$ ). 그러나 같은 계사에서 GABA 급여 전후 1개월 동안 파란율을 비교 검토한 결과, 두 기간 사이에 파란율 변동 추이가 매우 유사하였다.

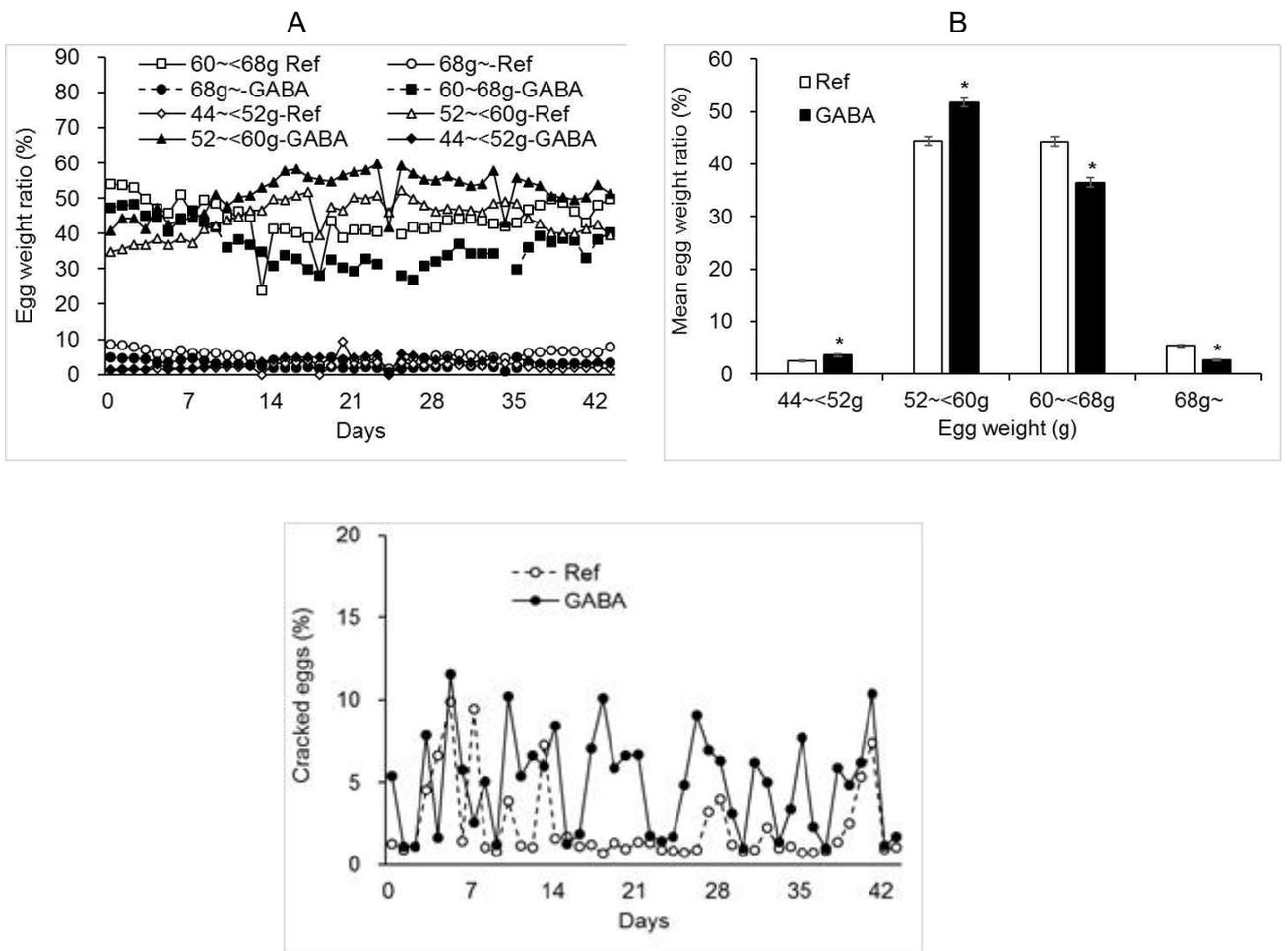


그림 9-10. Daily cracked eggs ratios (%) in laying hens. Two hens' houses, with the capacity of housing 50,000 hens each, were used in a commercial layer farm for the current study. Hens in one house were provided with 100 ppm  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) for 44 days during summer time while those in the other served as a reference group (Ref).

## 2. 육계연구

두 가지 방향으로 연구가 수행되었다. 먼저, 고온환경하에서 특정영양소가 육계의 생산성, 장 발달 및 장단백질발현에 미치는 영향, 그 다음 농장단위에서 GABA가 육계에 미치는 영향을 연구하였다.

### ① 실험 1

- Arginine (Arg)은 가금에서 필수 아미노산이며, Arg은 지방대사에 관여하여 육계의 복강 지방량감소에 관여한다 (Fouad et al. 2013). Arg:Lys ratio를 증가시키면, 사료효율, 정육율 및 복강지방 (Mendes et al. 1997) 또는 체중증가 (Chen et al., 2005) 에 효과적이다. 또한 Arg:Lys 는 고온환경에서 단백질의 이용성에 영향을 미친다 (Gonzalez-Esquerra and Leeson, 2006). 최적 Arg:Lys ratio는 고온 스트레스 하에 바뀌며 이는 장의 흡수와 관련됨 (Brake et al., 1998). Arg는 이유자돈에서 장의 발달과 혈관상피성장인자를 촉진시키고 (Yao et al. 2011) LPS 유래 장 점막의 이상 (disruption)을 완화시킨다 (Liu et al., 2008). Arg는 흰쥐의 소장에서 상피 일산화질소 합성효소와 VIP (vasoactive intestinal peptide)의 면역발현을 증가시키며 (Velickovic et al., 2014) 만성 폐혈증 동안에 장에서 면역관련 cytokine 발현과 관련성이 보고되었다 (Hurt et al., 2006).
- Conjugated linoleic acid (CLA)는 linoleic acid에서 발견되는 이중결합의 위치가 바뀌고 동시에 탄소와 수소의 결합 방향이 유지되거나 바뀌면서 생성되는 다양한 linoleic acid의 이성체들을 말하다 (Choi, 2009). 포유류에서 CLA는 항죽상경화증, 항당뇨, 면역 및 스트레스 조절, 항비만, 항암 인자이며, 가금에서 CLA는 생산성, 지방대사, 발달, 스트레스, 면역기능, 유전자 발현 등 다양한 역할이 보고되고 있다 (Choi, 2009). 22일령부터 2주 동안 급여했을 때 CLA가 육계의 장점막에서 항산화효소 활성화에는 영향을 미치지 않았으나 (Ko et al., 2004), 다른 단백질의 발현에 영향을 가능성이 제시됨 (Murphy et al., 2007; Rajakangas et al., 2003). 따라서 고온환경하에서 사료 중 Arg 및 CLA는 영양소의 흡수에 중요한 역할을 하는 소장의 단백질 발현에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 고온환경에서 Arg 및 CLA 가 함유된 사료가 육계의 장단백질의 발현에서 미치는 영향을 조사하는 것이다.
- 본 실험에서 총 294수의 1일령 ROSS 308육계를 사용하였다. 3개의 처리구(대조구, Arg-rich & CLA-rich)로 처리당 7반복(pen) 반복당 14수로 처리구당 총 98수가 사용되었다. 사육밀도는 모든 처리구에서 7 birds / m<sup>2</sup>였다. 사료 중 Arg:lys는 NRC (1994) 요구량 기준 100 및 200% 수준으로 각각 Arg-rich diet 에서 1.8:1 이고 그 외 control 및 CLA-rich diets 에는 각각 1.12:1였다. 사료 중 CLA 함량은 control 및 Arg-rich diets 에는 전혀 포함되어 있지 않으며, 이들에 포함된 corn oil을 감소(2% -->1%)시키고 CLA 1.0% 를 첨가함으로써 CLA-rich diet를 제조하였다.
- 사양실험기간은 총 35일이며, 전기 사료로 첫 3주 동안, 후기 사료로 나머지 2주 동안 급여하였다. 동물사양실험 종료 후 처리구 당 7수(펜당 1수)를 선발(각 펜의 평균체중에 가까운 개체를 선발)하여 체중을 정량 후, 이산화탄소 chamber 에 넣고 안락사시켰고 그

후 주사기로 심장에서 채혈하였다. 또한 개복 후, 소장 (십이지장, 공장 및 회장)을 적출한 후, 내용물을 식염수로 세척하고 수분을 가볍게 제거하였다. 장의 길이와 무게를 정량함 각 소장의 중간 부위에서 상하부 각각 3cm 절개해서 상부는 dry ice 에 동결, 하부는 생리식염수formalin 용액에 저장하였다. 혈액을 원심분리하여 혈장을 추출 후 -80℃ 저장, 해동 후 혈액생화학성분분석을 하였다.

- 먼저, 소장의 길이와 무게에서는 처리구간 차이가 없었다 (표 9-3). 뿐만 아니라 체중 100g 으로 표시된 길이와 무게에서도 차이가 인정되지 않았다 (표 9-4). 즉, Arg-rich 또는 CLA-rich 사료는 체중 및 장의 길이와 무게에 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다.

표 9-3. Body weight (BW), weight and length of the small intestines of broilers (35 days of age) fed control, arginine (Arg)- rich or conjugated linoleic acid (CLA)-rich diet (g)

Intestine		Control	Arg-rich	CLA-rich
Weight (g)	<b>Body weight</b>	1697.7 ± 54.5	1597.5 ± 24.5	1667.5 ± 64.2
	Duodenum	11.1 ± 1.0	12.1 ± 1.1	12.0 ± 0.9
	Jejunum	22.5 ± 2.2	22.1 ± 0.7	23.4 ± 2.5
	Ileum	17.0 ± 1.3	16.3 ± 0.7	18.9 ± 0.6
Length (cm)	<b>Body weight</b>	28.7 ± 1.6	29.6 ± 1.3	30.2 ± 1.4
	Duodenum	72.2 ± 2.5	71.2 ± 5.0	77.7 ± 6.7
	Jejunum	72.6 ± 4.4	73.4 ± 6.4	73.0 ± 6.5

Data = mean ± SEM of 6 birds each treatment.

표 9-4. Relative body weight (BW) and length of the small intestines of broilers (35 days of age) fed control, arginine (Arg)- rich or conjugated linoleic acid (CLA)-rich diet (g/100 g BW & cm/100 g BW)

Intestine		Control	Arg-rich	CLA-rich
Weight (g/100 BW)	Duodenum	0.65 ± 0.05	0.76 ± 0.07	0.72 ± 0.04
	Jejunum	1.32 ± 0.11	1.38 ± 0.06	1.39 ± 0.13
	Ileum	1.00 ± 0.06	1.02 ± 0.05	1.05 ± 0.08
Length (cm/100 BW)	<b>Body weight</b>	1.70 ± 0.10	1.86 ± 0.09	1.81 ± 0.07
	Duodenum	4.27 ± 0.19	4.47 ± 0.34	4.65 ± 0.36
	Jejunum	4.31 ± 0.34	4.59 ± 0.39	4.36 ± 0.33

Data = mean ± SEM of 6 birds each treatment.

○ 고온에서 Arg-rich 또는 CLA-rich 사료 어느 것도 육계의 혈액의 조성에도 영향을 미치지 않았다 (표 9-5).

표 9-5. Effects of feeding control, arginine (Arg)- rich or conjugated linoleic acid (CLA)-rich diet on blood chemicals in broilers

parameters	Con		Arg-rich		CLA-rich	
Albumin (g/dL)	1.2	± 0.07	1.1	± 0.04	4.2	± 0.86
Amylase (U/L)	270	± 35.1	315	± 88.8	352	± 50.5
Aspartate aminotransferase (U/L)	229	± 19.2	268	± 35.0	213	± 19.6
Ca (mg/dL)	10.3	± 0.30	10.7	± 0.15	10.4	± 0.14
Cholesterol (mg/dL)	106	± 11.1	109	± 14.1	113	± 5.4
Creatine Kinase (U/L)	2032	± .	1433	± .	1328	± 386
Creatinine (mg/dL)	0.00	± 0.00	0.02	± 0.02	0.00	± 0.00
Globulin (g/dL)	2.0	± 0.04	2.0	± 0.13*	2.0	± 0.03
Glucose (mg/dL)	316	± 16.0	207	± 44.3	274	± 43.6
Inorganic phosphate (mg/dL)	6.4	± 0.15	6.9	± 0.26	10.4	± 0.14
Lactate dehydrogenase (U/L)	2800	± 0	2800	± 0	2800	± 0
NH <sub>3</sub> (umol/L)	381	± 49.8	300	± 19.7	509	± 96.2
Total protein (g/dL)	3.2	± 0.02	3.0	± 0.10	3.3	± 0.15
Triglycerides (mg/dL)	26.8	± 2.1	24.0	± 5.3	33.6	± 4.6
Uric acid (mg/dL)	5.5	± 0.87	4.5	± 0.72	4.2	± 0.86

\*, p<0.05.





그림 9-13. Representative images of 2DE analysis using proteins derived from the duodenum of broilers (35 days of age) fed control, arginine (Arg)-rich or conjugated linoleic acid (CLA)-rich diet.

표 9-6. Representative proteins identified from 2DE with MALDI-TOF/TOF analysis

Spot No.	Protein Name	Nominal mass (Mr)	Calculated pI value
44	Actin, cytoplasmic 2 Actin, cytoplasmic 2, N-terminally processed	43,346	5.28
56	Actin, cytoplasmic type 5	42,151	5.3
60	Keratin 7	38,961	5.02
77	Keratin 7	38,961	5.02
64	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	56,650	5.59
69	Protein disulfide-isomerase A3	56,546	5.76

### ③ 실험 3

- 본 연구는 육계농장단위에서  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)가 여름철 육계의 생산성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 본 농장현장실험은, 연구의 목적과 실험방법을 이해하고 동의하는 농장주의 협력 하에 수행되었다. GABA는 0, 50 및 100 mg의 농도로 음수를 통하여 육계에게 공급하였다. 육계의 관리와 GABA 급여는 전적으로 농장주에 의해 수행되었으며 최종자료 또한 육계농가가 공급한 자료를 바탕으로 작성되었다. 따라서 산란계 농장에 비해 매우 제한된 사양정보만 제공받았을 수 있었다. 다만, 농장주에 따르면 여름철에 GABA를 급여했을 때 “육계가 차분해지고, 주위에 덜 민감해지는 듯하다”, “GABA를 돈을 주고 살만하다” 는 평가를 하였다.
- 사양실험에 이용된 3개의 계사 내 하루 최고 및 최저 온·습도는 각각 그림 9-14 A 및 B 에 나타내었다. 계사와 관계없이 최고 및 최저온도는 유사하였고, 초기 최고 35°C의 계사 온도는 서서히 감온되어 출하일에는 22~24°C 정도였다. 계사 내 상대습도는 입식 초기 일 중 편차가 매우 컸지만 이후 그 차이는 서서히 감소되어 21일령부터는 출하일까지 일정한 차이가 유지되었다.

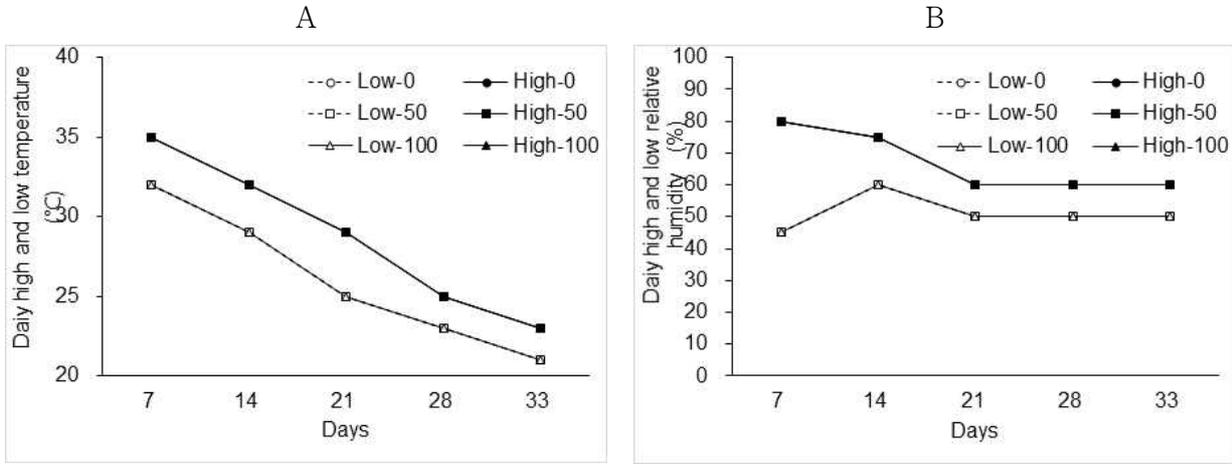


그림 9-14. A) Changes in high and low temperature (°C) and relative humidity (%) in three houses in a broiler farm during summer time. Individual broiler houses have the capacity of housing 40,000 birds and served as control (0 mg) or GABA (50 or 100 mg).  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was provided via water line at 0, 50 or 100 mg.

○ 또한 제공받은 자료의 한계 때문에 절대값을 표기하기 보다는 대조구를 100%로 했을때의 상대값으로 표시하여 GABA의 효과에 대한 실체를 파악하고자 하였다. Figure 2는 처리구 별 사애적인 사료 (그림 9-15) 및 물 (그림 9-16) 섭취량을 나타낸다. 초기에 GABA 급여 용량에 따라 사료 및 물섭취량은 증가하였지만 사료는 3주령 이후 및 물은 2주령 이후 그러한 경향은 사라졌고 오히려 거꾸로 되는 경우도 있었다.

○ 그림에도 불구하고 초기의 체중은 오히려 처리 간에 거의 같았고 성장과 더불어 약간의 차이가 보였지만 출하 시에는 세 처리구 모두 유사하였다 (그림 9-17).

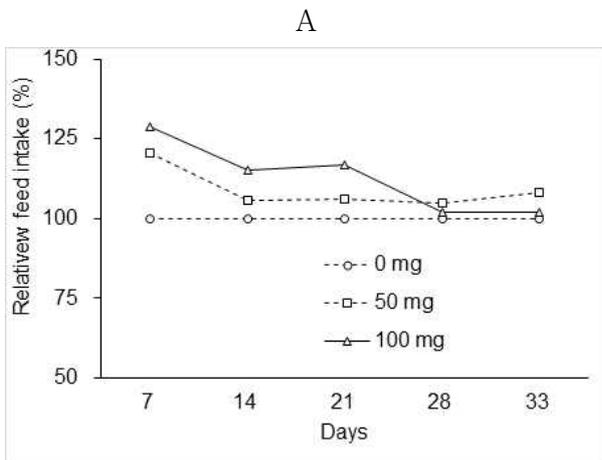


그림 9-15 Relative feed intake

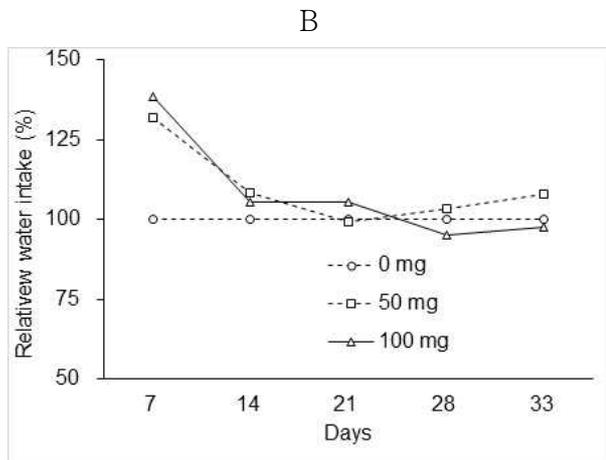


그림 9-16 Relative water intake

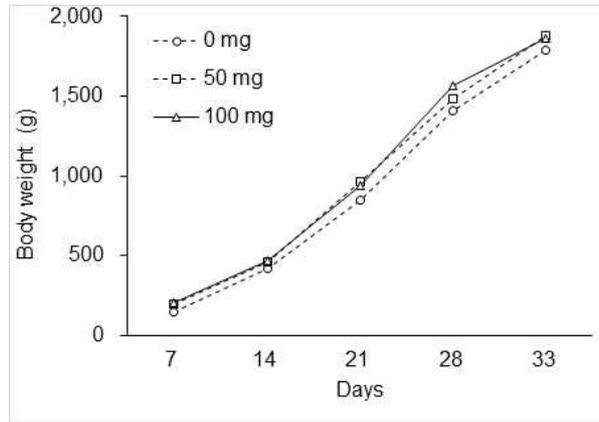


그림 9-17. Changes in body weight (g) in three houses of a broiler farm with the capacity of housing 40,000 hens each house.  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was provided via water line at 0, 50 or 100 mg.

④ 실험 4

- 육계에 공급된 물 시료를 농장에서 공급받아 분석한 결과는 그림 9-18과 같다. 음수에서 GABA의 함량은 급여량에 따라 증가하였다.

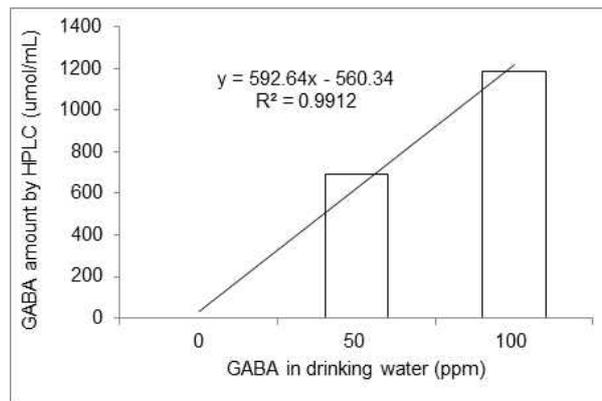


그림 9-18. The amounts of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in drinking water samples that were taken from water supply lines of a broiler farm where GABA was given to broilers via drinking water at 0, 50 or 100 ppm.

⑤ 실험 5

- 본 연구에서는 육계농장단위에서  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)가 동절기 육계의 생산성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 동절기에 0 및 100 mg의 GABA를 음수라인을 통하여 육계에게 공급하였다. 하절기 실험에서와 동일한 농장에서 수행되었다. 이 급여

실험에서 육계의 관리와 사양 정보는 전적으로 농장주에 의해 수행되었으며 최종자료 또한 육계농가가 공급한 자료를 바탕으로 작성되었다.

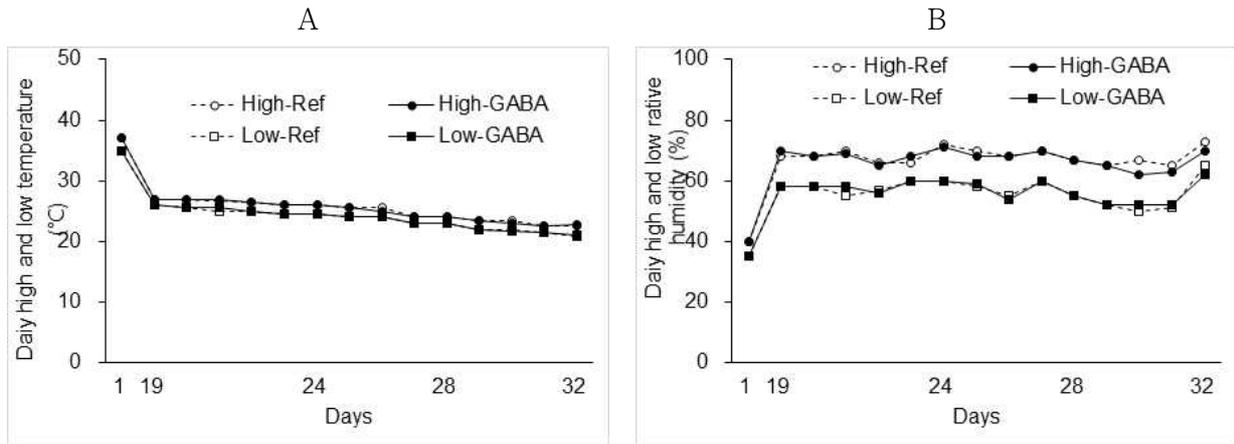


그림 9-19. A) Changes in high and low temperature (°C) and B) relative humidity (%) in two houses in a broiler farm during winter time. Individual broiler houses have the capacity of housing 40,000 birds and served as control (0 mg) or GABA (100 mg).  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was provided via water line at 0 or 100 mg.

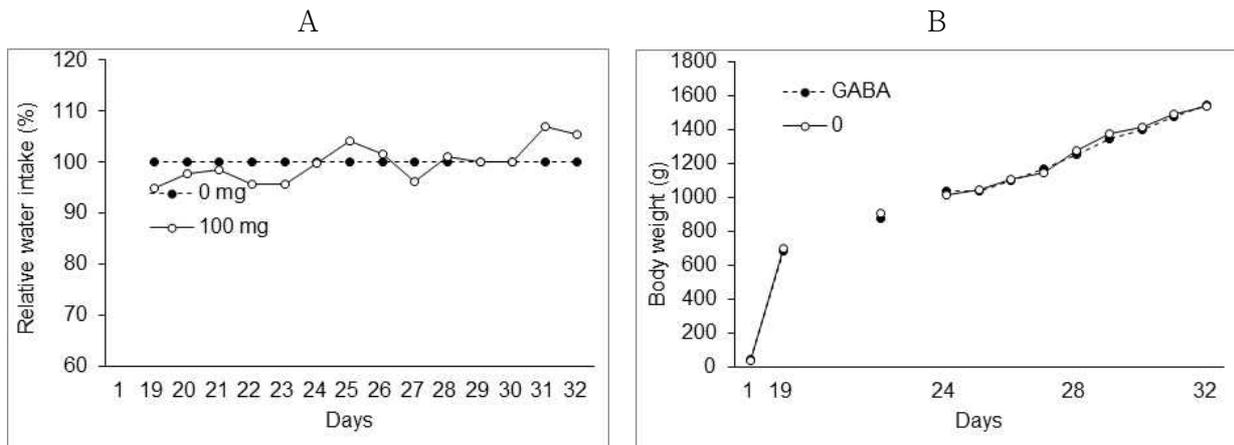


그림 9-20. A) Changes in relative water intake (%) as compared to control (0 mg) and B) changes in body weight in a broiler farm during winter time. Individual broiler houses have the capacity of housing 40,000 birds and served as control (0 mg) or GABA (100 mg).  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was provided via water line at 0 or 100 mg.

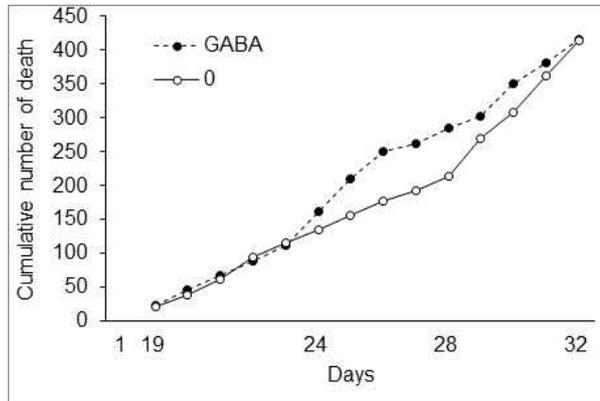


그림 9-21. Cumulative number of death in a broiler farm during winter time. Individual broiler houses have the capacity of housing 40,000 birds and served as control (0 mg) or GABA (100 mg).  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) was provided via water line at 0 or 100 mg.

⑥ 스트레스 요인에 대한 문헌조사

- 산란계에 있어서 스트레스 요인은 고온 스트레스(고온/다습), 사육밀도, 사료/물, 서열, 깃털쫄기, 강제환우, 조명, 분진/먼지, 유해가스, 해충, 질병 등이 있음
- 이들 중 농가 현장에서 직면하는 가장 큰 문제 중의 하나는 고온 스트레스임
- 고온환경에 대한 스트레스를 줄이기 위한 방법은 크게 영양적인 및 시설환경적인 접근법이 있음 (표 9-7)

표 9-7. Stress factors and possible solutions in laying hens

Stress factors	Solutions	References
Heat stress	Nutrients 1. vitamins A, C and E 3. $\gamma$ -aminobutyric acid 4. Chinese herbal medicines 5. selenium 6. L-carnitine 7. Mg-aspartate-hydrochloride 8. betaine 9. carbonated drinking water 10. organic Cr 11. probiotic 12. Chilled Drinking Water	Revista MVZ Córdoba, 16(1), 2283-2291, 2011. Poult Sci.2001 Aug;80(8):1190-200. Poult Sci.2002 Apr;81(4):458-65. Res Vet Sci. 2002 Dec;73(3):307-12 Br Poult Sci. 1999 Mar;40(1):102-7. Br Poult Sci.1998 Mar;39(1):106-12. Anim Sci J.2012 Feb;83(2):141-7. Arch Anim Nutr.2005 Dec;59(6):439-47. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).2004 Jun;88(5-6):229-33. Poult Sci. 1990 Nov;69(11):1862-8. Environ Sci Pollut Res Int.2017 Apr;24(11):10708-10717. Springerplus.2016 Sep 20;5(1):1619.

			Poult Sci.1993 Sep;72(9):1800-3. Poult Sci. 2015 Feb;94(2):281-8. Poult Sci. 2012 Mar;91(3):575-82.
	Environmental modification	1. feed withdrawal and darkening 2. ventilation 3. ventral cooling 4. cooling of ventral regions	Acta Vet Hung.2001;49(4):421-30. Poult Sci.2011 Apr;90(4):856-62. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2009. 22(5):694-699. Poult Sci.2001 Jul;80(7):958-64.
S o c i a l stress	1. aviaries 2. environmental enrichment 3. cage furnishing		Front Vet Sci. 2016 Feb 26;3:13. Anim Sci J. 2016 Feb;87(2):284-92. Poult Sci.2015 Dec;94(12):2853-62.

- 스트레스에 대한 반응인자로는 생산성 관련, 면역관련, 내분비관련 및 혈중 대사산물 관련인자 등을 들 수 있음 (표 9-8)
- 이들 인자 어느 한가지만으로 스트레스의 정도를 평가하기 어렵고, 다양한 사육환경과 더불어 닭의 나이, 유전적인 요인 등을 고려하여 종합적으로 판단해야 할 필요가 있음

표 9-8. Stress-related parameters in chickens

Parameters		reference
Production-related	<p>More sensitive: shell strength, daily feed intake, egg mass, hen-day egg production</p> <p>Less sensitive: Haugh units, shell thickness, shell proportion, yolk proportion, albumen proportion, mortality rate, relative weekly body weight change</p> <p>Meat quality and carcass characteristics: moisture, protein, fat, pH meat color, cook loss, shear force, lactic acid, pyruvate, hexokinase, pyruvate kinase, lactic dehydrogenase, muscle oxidation</p>	<p>Poult Sci 2015, 94: 586-600.</p> <p>16th European Symposium on Poultry Nutrition, 735-8.</p> <p>Poult Sci 2012, 91: 2931-7.</p> <p>World's Poult Sci J 71, 701-9, 2015.</p> <p>Br Poult Sci. 2012; 53: 689-98.</p>
Immune-related	T-cell proliferation, B-cell proliferation, Total White blood cell count, heterophil/lymphocyte ratio, Antibody titer	Poult Sci. 2004, 83:889-894
Endocrine-related	Plasma corticosterone adrenocorticotrophic hormone	Poult Sci. 2006 Apr;85(4):761-9.
Blood metabolites	Albumin, Amylase, Aspartate aminotransferase, Ca, Cholesterol, Creatine Kinase, Creatinine, Globulin, Glucose, Inorganic phosphate, Lactate dehydrogenase, NH <sup>3</sup> , Total protein, Triglycerides, Uric acid, Corticosterone	Asian-Australas J Anim Sci. 2015 Jun;28(6):840-6.

- 육계와 산란계에서 고온환경에 대한 지수는 대부분 온습도지수 (Temperature-humidity index; THI), 또는 온습도풍속도지수(Temperature-humidity-velocity index; THVI)가 이용됨. 드물게도 폐사지수도 인용됨(표 9-9).

☒ 9-9. Heat-stress-related index in chickens

Chickens	Index	References
broiler	Temperature-humidity index (THI)	<p><a href="https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093272870.pdf">https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093272870.pdf</a></p> <p><a href="http://lib.dr.iastate.edu/extension_ag_pubs/163">http://lib.dr.iastate.edu/extension_ag_pubs/163</a>.</p> <p>Physiol Rep, 5 (12), 2017, e13314,</p> <p>Eng. Agríc. 2012, 32, 10-20.</p> <p>R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, 20, 256-262, 2016.</p>
laying hens	<p>Temperature-humidity index (THI)</p> <p>Index of mortality</p> <p>Temperature-humidity-velocity index (THVI)</p>	<p>J Anim Vet Adv 12, 2013, 42-47.</p> <p>J Anim Vet Adv 12, 2011, 10, pp. 96-99</p> <p>Int J Poult Sci 16, 2017, 310-316.</p> <p>ASAE Paper No. 90-4021, St. Joseph. 1990.</p> <p><a href="http://www.tropentag.de/2012/abstracts/posters/280.pdf">http://www.tropentag.de/2012/abstracts/posters/280.pdf</a></p> <p>Brazilian J Poult Sci. 2010, 12: 265-271.</p> <p>VETERINARSKI ARHIV 81 (1), 119-132, 2011</p> <p><a href="https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093272870.pdf">https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093272870.pdf</a></p>

## 제 10장. 닭의 환경스트레스 저감을 위한 기능성 사료첨가제 개발

### 1. 기능성 사료첨가제로서 GABA의 안정성 및 보존성

#### 가. 기능성 사료첨가제로서 GABA의 선정배경 및 실험목적

○ GABA(가바)로 약칭되는  $\gamma$ -aminobutyric acid은 비단백질성 아미노산으로서 채소, 과일, 쌀이나 현미 등의 곡류에 함유되어 있고 사람을 포함하여 고등동물, 무척추동물 및 곤충 등에서 신경전달 물질로 작용하며 식물체에서는 방어적인 기전에 관여하는 물질로 알려져 있다. 인체 의료분야에서는 뇌의 혈류를 개선시키는 효과가 밝혀지면서 뇌의 대사항상 및 의욕저하의 치료제로서 사용되어 왔고, 뇌 건강에 미치는 GABA의 영향에 대하여 주목하면서 “Brain food” 라고도 한다. 한편 GABA의 스트레스억제, 집중력강화, 혈압강화 효과가 알려지면서 건강기능식품을 포함하여 활용범위가 점차 확산이 되고 있다(Jow et al., 2004; Palizvan et al., 2004; Ko et al., 2013; El-faramawy et al., 2009; Thornalley 1993).

○ 최근까지 동물분야에서 해외에서 발표된 연구결과에 따르면 GABA는 육계(Chen et al., 2013; Dai et al., 2011) 및 산란계(Min et al., 2011)의 스트레스 완화 효과와 젖소의 유질개선효과(Wang et al., 2013)와 혈액학적 스트레스 지표물질의 감소, 성장호르몬의 분비 촉진, 쇠고기의 품질이 향상효과가 있는 것으로 보고되어 있으나 아직까지 국내에서는 GABA가 동물의 스트레스나 생산성에 미치는 영향을 연구한 사례가 아직 없는 실정이다.

○ 그러나 사료첨가제로서 GABA의 사용효과를 얻기 위해서는 유효한 급여량을 첨가할 수 있도록 충분한 경제성이 확보되어야 하고 충분한 수준을 섭취할 수 있도록 효율적이고 적절한 제형개발이 중요하다. 따라서 본 연구에서는 경제적인 GABA의 대량생산공정을 개발하고 급여형태별로 제형을 개발하기 위하여 GABA의 물리화학적인 안정성을 규명하고자 실시하였다.

#### 나. 재료 및 방법

○ GAD 및 GABA 반응액의 준비

○ 본 연구에서 온도가 37°C로 유지된 소형반응기(working volume 200 리터)에 정제수 60L와 L-글루탐산 18kg를 반응기에 투입하여 교반하고 Glutamate decarboxylase(GAD)와 조효소로서 피리독살포스페이트를 접촉시켜 반응하는 방법으로 순도 29.83%의 GABA를 생산하였다. 이때 반응효소로서 사용된 Glutamate decarboxylase(GAD)는 E.coli BL-21 변이균주를 배양하여 준비하였고, 소형반응기는 자체 설계하여 제작하였다.

○ 온도 및 pH 변화에 따른 GABA의 안정성 평가

○ 온도와 pH수준에 따른 GABA의 안정성을 평가하기 위하여 GABA 반응액을 희석하여

GABA함량기준으로 7%의 희석액으로 제조하여 본 실험에 사용하였다. 본 실험에서는 Dry oven(model: C-DO, chang shin, Korea)을 사용하여 온도와 시간을 제어하면서 가열 처리 온도에 따른 GABA의 안정성을 평가하였고, pH meter(model: 720P, Istek, Korea)을 사용하여 pH수준에 따른 GABA의 안정성을 평가하였다.

다. 건조처리에 의한 GABA의 분말제조

- 사료첨가제로서 GABA의 사용효과를 얻기 위해서는 가축에게 유효한 급여량을 첨가할 수 있도록 단순하고 효율적인 제형화 공정을 개발함으로써 충분한 경제성을 확보하는 것이 중요하다. 따라서 본 시험에서는 기존의 고가의 비용이 소요되는 분무 건조방식을 채택하지 않고 부형제로서 가격이 저렴한 사료용 소맥분(등외품)과 GABA 반응액을 혼합하고 이를 건조함으로서 사료첨가제로서 개발 가능성을 확인하였다. 본 실험에서는 GABA 반응액의 건조제형을 생산하기 위하여 50%의 반응액과 50%의 사료용 소맥분을 교반하여 혼합한 다음, 이를 건조용 용기에 올려놓고 원적외선 건조기(A-Sung Test Machine, Korea)을 이용하여 40, 50, 60, 80, 120℃에서 60분 동안 원적외선을 조사하는 방법으로 제형의 성상과 GABA의 함량변화를 관찰하였다.

라. 소형펠렛밀을 이용한 GABA의 펠렛 제조

- 시료의 준비
- 펠렛의 성형에 사용되는 펠렛기는 구동부의 roller와 Die가 원료를 압축하여 압출하는 압력에 의해서 성형되는 구조이므로 원료내의 수분함량, 입자도, 원료의 결합력은 펠렛의 생산성과 품질을 결정하는 중요한 요소가 된다. 따라서 본 시험에서는 직경 3mm 공극을 가진 체가 장착된 햄머밀(Hammer mil)을 이용하여 원료를 분쇄한 다음, 표 10-1과 같이 GABA 반응액의 첨가수준에 따른 원료를 혼합하였다.

표 10-1. GABA반응액의 첨가수준에 따른 펠렛제조용 원료배합비율

Ingredients	GABA contents(%)				
	Control	1.5	3.0	6.0	9.0
Ground yellow maize	50.0	47.5	45.0	40.0	35.0
Soybean meal	15.0	14.0	13.0	11.0	9.0
Wheat flour	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Defatted rice bran	30.0	28.5	27.0	24.0	21.0
GABA반응액*	-	5.0	10.0	20.0	30.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

\* 29.83% 의 GABA가 함유된 반응액

- 펠렛밀의 가동 조건

- 배합사료용 펠렛은 주로 곡물을 분말화하여 스팀과 압축열을 이용하여 특정한 모양으

로 성형하는 것을 말하며, 사료의 허실량, 선택채식 방지, 사료이용성 향상 및 기호성을 증진하는 효과가 있다. 그러나 사료첨가제용 펠렛의 경우에는 배합사료 펠렛과 같이 다량의 수분이 포함된 steam으로 가공처리 한다면 장기간 동안 유통해야 하는 첨가제의 특수성을 보장받을 수 없다. 따라서 본 시험에서는 steam을 사용하지 않고 펠렛이 압출될 때 발생하는 압축열을 이용하여 GABA반응액에 포함된 수분을 효율적으로 제거함으로써 장기간 동안 유통이 가능한 사료첨가제를 생산하는 것에 목적을 두었다.

- 따라서 본 연구에서는 사료첨가제 생산에 적합하도록 steam을 첨가하지 않고 압축열을 이용하여 생산하는 방법으로서 압축열의 발생정도, 작동의 간편성, 부대설비의 규모를 감안하여 수평형 펠렛밀(flat die type)을 준비하였다(그림 10-1).



그림 10-1. 수평형 소형펠렛밀((die driving type).

**Specifications;**

Power : 15kw  
 Roller No. : 2  
 Die hole compression ratio : 1:3  
 Die diameter : 260mm  
 Speed : 150rpm

- 펠렛의 품질평가
- 펠렛의 내구도 시험
- 펠렛 내구력 측정을 위한 시험 장치는 (사료생산공학, 2002 p138-139 참조하여 제작) 회전축에 의하여 회전하는 가로 세로가 각각 30.5cm(12인치), 넓이가 5cm인 상자가 장착되어 있으며 이 상자 속에 22.8cm(9인치)와 5.0cm(2인치)의 고정된 마찰판이 비스듬하게 위치하고 한쪽 면은 개폐가 가능하도록 하였다. 펠렛의 내구도의 시험방법은 밀폐된 시험 상자에 펠렛 시료를 500g을 넣고 50rpm에서 10분 동안 회전시킨 다음, 시료를 체질을 하여 가루입자를 분리하고 체질 전후 펠렛 시료의 무게 차이로 측정하였다.
- 펠렛의 압출 온도
- 펠렛기에 장착된 롤러가 재료를 압출부로 밀어낼 때 압축열이 너무 높으면 재료의 물리적, 화학적으로 변화를 일으킬 수 있는 가능성이 크다. 본 시험에서는 펠렛이 성형되어 토출부로 빠져나오는 부분에 적외선 온도 측정기(유유계기상사, Model:SLD 20 FGN)를 장착하여 펠렛 성형시에 받

생하는 온도를 측정하였다.

마. GABA 함량의 분석

- ACC-Q시약
  - PotassiumBorateSolution(stock) 1회분석시 70 $\mu$ l 사용
  - ACC-QTag시약 1회분석시 20 $\mu$ l 사용
- HPLC Buffer 제조
- A buffer(4 l 기준)
  - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O : 35.5g
  - Na acetate. 3H<sub>2</sub>O : 13.4g
  - CH<sub>3</sub>COOH(acetic acid) : 2ml
  - 0.45 $\mu$ m(A.F Filter)로 여과 후 사용한다.
- B buffer(1 l 기준) Acetonitrile(ACN) 100%
- A와 B buffer를 9: 1 로 혼합하여 사용한다.

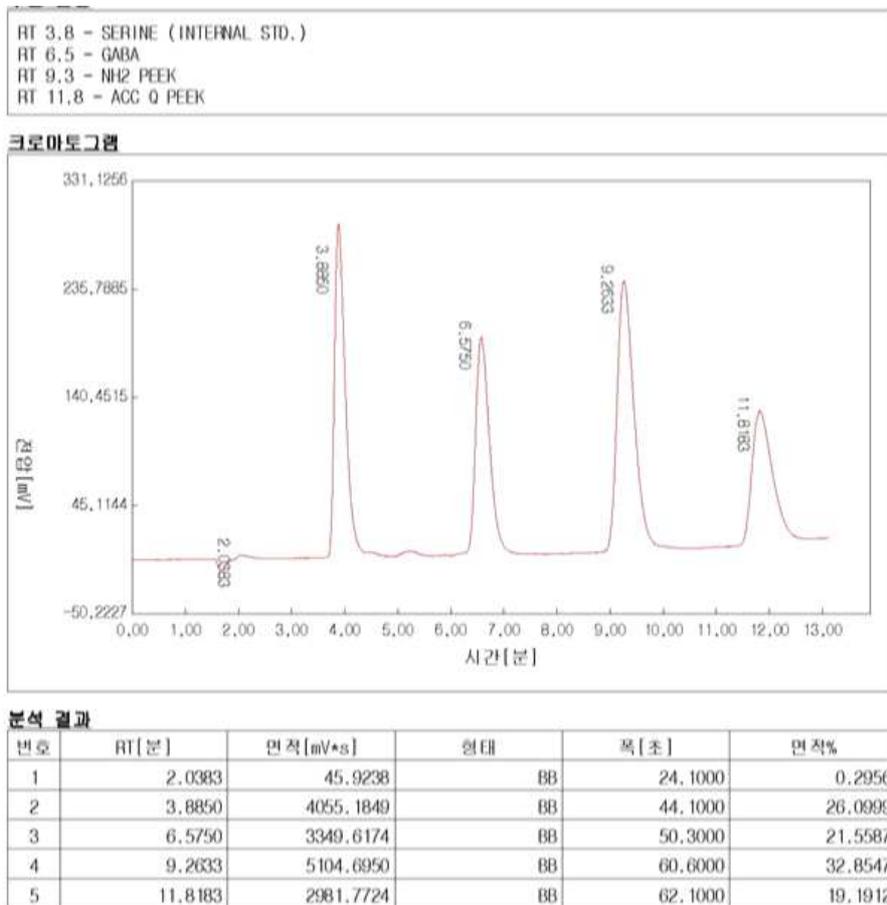


그림 10-2. 분석조건.

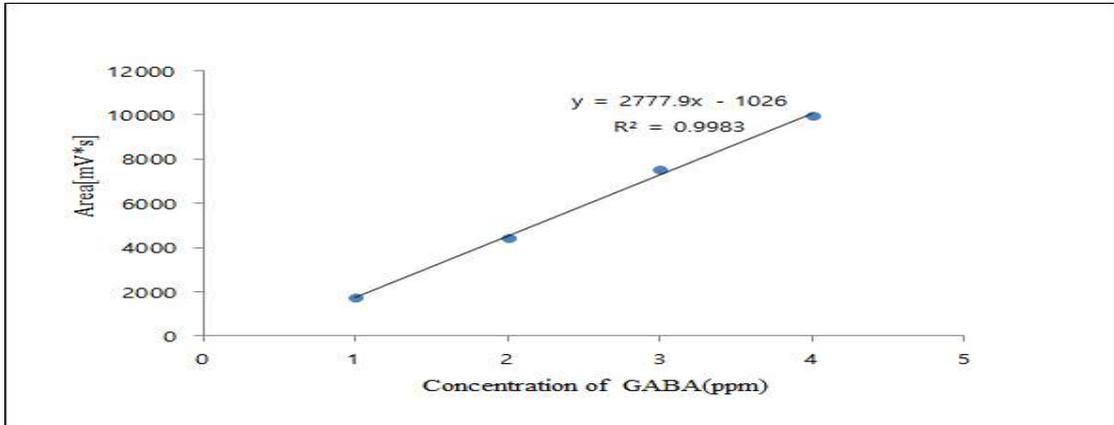


그림 10-3. The HPLC separation and standard curve for the determination of GABA concentration.

바. 결과 및 고찰

○ 가열온도 및 처리시간에 따른 GABA의 안정성

○ 본 실험에서 생산된 반응액에는 L-glutamic acid로부터 전환된 GABA의 함량은 29.83%로 분석되었다. 본 실험에서는 GABA의 열에 대한 안정성을 평가하기 위하여 반응액을 GABA함량 기준으로 약 7% 수준이 되도록 물과 희석하여 수용액으로 제조하였고, 이를 각각 100℃, 120℃, 150℃의 가열온도에서 처리시간을 달리하였다. 온도와 처리시간에 따른 GABA수용액의 안정성은 표 10-2와 같이 나타났다. 본 실험에서는 처리온도에 따른 수용액에 함유된 GABA 함량의 변화는 거의 없었으나 처리 시간이 경과함에 따라 GABA함량은 감소되는 경향을 보였다.

표 10-2. 가열온도 및 처리시간에 따른 GABA의 함량변화(%)<sup>1)</sup>

처리시간 (분)	처리온도		
	100℃	120℃	150℃
0	7.65 ± 0.23 <sup>ab</sup> (100.0)	7.75 ± 0.18(100.0)	7.86 ± 0.27(100.0)
30	7.59 ± 0.25 <sup>ab</sup> (99.2)	7.68(±0.80)(100.4)	7.53 ± 0.69 (98.4)
60	6.91 ± 0.35 <sup>c</sup> (90.3)	7.28 ± 0.51 (95.2)	6.93 ± 0.59 (90.6)
90	7.78 ± 0.43 <sup>a</sup> (101.7)	6.94 ± 0.24 (90.7)	7.18 ± 0.49 (93.9)
120	7.09 ± 0.41 <sup>bc</sup> (92.7)	7.56 ± 0.36 (98.8)	7.12 ± 0.40 (93.1)
SEM <sup>2)</sup>	0.19	0.24	0.28
P value <sup>3)</sup>	0.05	0.28	0.25

<sup>1)</sup> Solution, heated

<sup>2)</sup> SEM : pool standard error of the mean.

<sup>3)</sup> Means in the same row with different superscripts differ(P < 0.05).

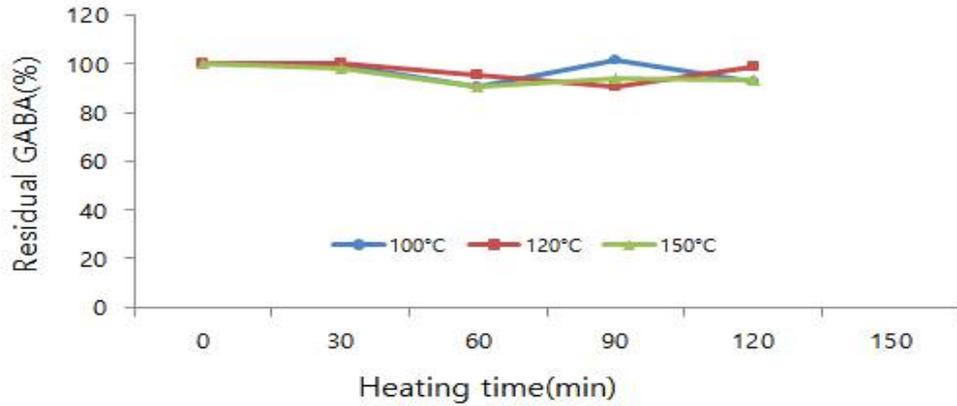


그림 10-4. 온도별 가열시간에 따른 GABA의 안정성.

○ pH변화에 따른 GABA의 안정성

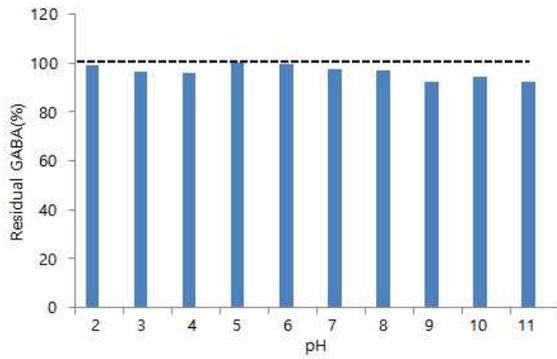
○ 사료첨가제로서 수용액 제형은 투여 및 약제관리의 편리성 때문에 양계농가에서는 선호하는 제형이다. 그러나 수용액의 제형은 음수공급라인의 막힘 현상이 없어야 할 뿐만 아니라 제조 및 보관과정에 따른 물리 화학적인 성질에 의하여 성분 변화가 일어나지 않아야 한다. 따라서 본 실험에서는 GABA를 수용액 형태로 제조하고 pH 변화에 따른 GABA의 함량변화를 조사하였다. 이때 산과 알칼리 상태에서 GABA의 안정성을 평가하기 위하여 pH 2에서 부터 pH 11의 범위에서 가열온도는 각각 100°C, 120°C에서 60분 동안 처리하여 평가하였다.

표 10-3. pH처리 수준에 따른 GABA의 함량변화(%)\*

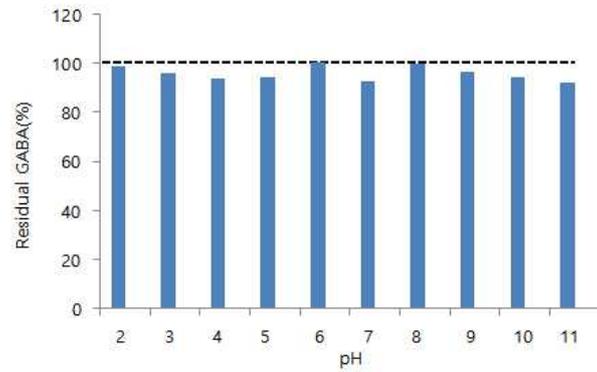
처리온도 (°C)	pH									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	----- 7.05(pH 6.52) -----									
100	6.98	6.82	6.78	7.05	7.02	6.88	6.85	6.50	6.67	6.52
증감율, % (0-100)	99.01	96.7	96.2	100.0	99.6	97.6	97.2	92.2	94.6	92.5
120	6.95	6.76	6.59	6.66	7.07	6.52	7.05	6.80	6.64	6.49
증감율, % (0-120)	98.58	95.9	93.5	94.5	100.3	92.5	100.0	96.5	94.2	92.1

\* heated for 60 min

○ 반응액은 GABA함량 기준으로 약 7% 수준이 되도록 물과 희석하여 수용액으로 제조하였고 이때 pH는 6.52로 측정되었다. GABA수용액은 pH 변화에 따른 처리온도 간에는 GABA함량의 차이는 없었으나 산성 또는 알칼리로 변화가 진행됨에 따라 GABA함량이 감소하는 경향을 보였다. 본 실험의 결과는 액상제형의 GABA사료첨가제를 유통할 경우에는 GABA의 함량손실을 고려하여 적절한 pH 조절이 필요함을 의미한다.



100(°C)의 가열온도



120(°C)의 가열온도

그림 10-5. pH변화에 따른 온도별 GABA의 안정성.

#### 사. GABA반응액의 분말 사료첨가제 제조시험

- 사료첨가제로서 GABA의 사용효과를 얻기 위해서는 유효한 급여량을 첨가할 수 있도록 충분한 경제성을 확보하는 것이 중요하다. 따라서 탈염, 농축, 여과와 같은 고도의 설비와 비용이 수반되는 복잡한 공정을 단순화하고 건조방식에 있어서도 저렴한 비용으로 생산할 수 있는 방법의 고안이 필요하다. 따라서 본 시험에서는 고가의 비용이 소요되는 건조방식을 배제하고 원적외선으로 건조 처리하여 온도변화에 따른 성상과 GABA의 함량변화를 조사하였다.
- 본 시험에서 부형제로서 사료용 소맥분과 혼합하여 처리온도 별로 건조한 시험에서 40°C 및 50°C의 온도에서는 우수한 성상의 건조물을 얻을 수 있었고, 60°C에서는 약간의 갈변현상이 있었지만 대체적으로 양호한 외관상 성상을 보였다. 그러나 80°C에서는 약간 심한 갈변현상을 보였고, 120°C의 처리온도에서는 강하게 갈변된 건조물이 생산되었다. 처리온도에 따른 성상의 변화를 보였음에도 불구하고 GABA의 함량변화는 거의 발견되지 않았다.
- 본 시험에서 처리온도가 높아질수록 갈변현상이 높아진 원인은 GABA의 화학적인 변화 때문이 아니라 재조합 대장균으로부터 GAD효소를 분리할 때 분리되지 않고 잔류된 균체가 가열처리 온도에 의하여 갈변현상을 유발한 것으로 판단된다. 따라서 미생물로부터 GAD효소를 이용하여 GABA 반응액을 생산할 경우에는 잔류된 균체를 완전히 제거하는 것이 양호한 성상의 건조물을 생산할 수 있을 것으로 생각된다.

Item	Drying temperature(°C)				
	40	50	60	80	120
Morphology					
Appearance	good	good	good	Partial browning reraction	browning reraction
GABA contents(%)	15.11	16.52	16.98	16.69	15.82

<sup>1)</sup> The sample were mixed with 50% of GABA reaction products and 50% of wheat flour.

<sup>2)</sup> The time of dehydration processing were from 40 to 120°C for hours.

그림 10-6. 건조처리 온도에 따른 성상의 변화<sup>1)</sup>

#### 아. 펠렛 사료첨가제의 제조시험

- 본 시험에서는 GABA 반응액을 별도로 건조하지 않고 펠릿기에서 발생하는 마찰열과 압축열로 수분을 증발시키고 동시에 펠릿성형의 가능성을 확인하기 위하여 수행하였다. 따라서 펠릿성형을 위하여 별도의 steam을 사용하지 않았고 원료의 압출방식이 Ring die 회전식 펠릿기 보다는 수평형 die 회전식 펠릿기를 선택함으로써 발생열을 활용하는 것에 목표를 두었다.
- 본 시험에서는 GABA반응액의 혼합수준에 따라 펠릿의 외관상 성상은 큰 차이를 보였으나 처리구에 따른 GABA의 성분함량의 변화에는 거의 영향을 주기 않은 것으로 판단된다. GABA반응액을 5%와 10%를 혼합한 처리구에서는 반응액의 혼합수준이 높아질수록 펠릿의 길이가 길어지는 현상을 보였지만 cutting knife의 간격조절로서 해결될 수 있는 정도였다. 그러나 GABA반응액을 20%와 30%가 혼합한 처리구에서는 원료가 펠릿 die를 통과하여 압출될 때 발생하는 온도가 너무 부족하였고 압출된 펠릿의 외관상 성상도 매우 불량하여 펠릿 첨가제 제형으로서는 적합하지 않았다. 그러나 펠릿의 성형에서는 원료의 종류와 입자도 및 원료의 pellet binding factor도 중요한 요인이 될 수 있다.
- 그러나 GABA반응액을 별도로 건조하지 않고 펠릿형 사료첨가제로서 생산하기 위한 본 시험에서 반응액은 10%내외가 적합하였고, 이때 GABA함량은 3.77%로서 사료첨가제로서 적절한 GABA 함량과 경제성 확보가 가능한 것으로 판단된다.

그림 10-7. GABA 반응액의 첨가수준에 따른 펠렛의 성상 및 품질변화

Item	GABA반응액 혼합비율 (%)				
	Control	5	10	20	30
Morphology					
Appearance	good	good	good	Bad	Bad
GABA contents(%)	0	2.07	3.77	5.76	10.64
Temp(°C) <sup>1)</sup>	68	64	57	40	29
Durability(%)	91	85	80	70	- <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Temp. was measured at pellet outlet of machine.

<sup>2)</sup> not detectable due to pelleting failure

자. 요약

- 기능성 사료첨가제의 급여효과를 얻기 위해서는 충분한 량의 급여가 가능하도록 경제성확보가 중요하다. 따라서 본 연구에서는 경제성 확보를 위하여 단순하며 효율적인 제형공정 개발을 위하여 부형제와 혼합하여 건조방법과 펠렛 성형, 그리고 수용액 상태로 제조하여 제형의 성상 및 GABA의 물리화학적인 안정성을 규명하고자 실시하였다.
- 수용액 상태의 GABA를 가열온도 및 가열시간 별로 처리한 실험에서는 GABA의 함량은 처리온도(100°C, 120°C, 150°C)에 따른 차이는 없었으나 처리시간이 경과함에 따라 함량은 다소 감소되는 경향을 보였다.
- 수용액 상태의 GABA를 pH 변화에 따라 일정시간 동안 가열처리하여 실험에서는 GABA반응액의 최초의 pH 6.52이었으나 pH가 산성 또는 알칼리로 변화됨에 따라 GABA함량은 다소 감소하는 경향을 보였다.
- 부형제와 혼합하여 건조한 실험에서는 40°C 및 50°C 과 60°C의 온도에서 대체적으로 우수 또는 양호한 성상의 제형을 얻을 수 있었지만, 80°C에서는 약간 심한 갈변현상과 120°C의 처리온도에서는 강하게 갈변된 건조물이 생산되었다. 그러나 처리온도에 따른 GABA의 함량변화는 거의 발견되지 않았는데 이와 같은 외관상 성상의 변화는 GAD효소로부터 잔류된 균체가 건조과정에서 가열처리 온도에 의하여 갈변현상을 유발한 것으로 판단된다. 따라서 우수한 성상의 제형을 생산하기 위해서는 효소생산 공정에서 균체를 완전히 제거하는 것이 필요하다.

- GABA 반응액을 별도로 건조하지 않고 펠렛성형의 가능성을 조사한 실험에서 GABA반응액을 5%와 10%에서 양호한 펠렛형 사료첨가제를 생산할 수 있었다. 그러나 GABA반응액을 20%와 30%가 혼합한 처리구에서는 펠렛의 외관상 성상이 불량하여 펠렛 첨가제 제형으로서는 적합하지 않았다. 본 실험결과 사료첨가제로서 GABA 반응액의 혼합비율은 10%내외가 적합하며 이때의 GABA함량은 3.77%로서 사료첨가제로서 적절한 GABA 함량과 경제성 확보가 가능한 것으로 판단된다.

## 2. 기능성 사료첨가제로서 GABA의 대량생산 시스템 구축

### 가. 효소전환공정에 의한 GABA의 생산

- GABA를 직접적으로 전환하는 효소인 glutamate decarboxylase(GAD)는 pyridoxal-5'-phosphate(PLP) 의존성 효소로서 박테리아, 포유동물, 식물 등 자연계에 널리 존재한다. GAD의 효소반응은 효소의 active site에 존재하는 lysine 끝 단락의 amine 그룹과 PLP의 carboxyl그룹이 결합하여 holoenzyme이 형성되며 시작한다. 이렇게 형성된 holoenzyme은 PLP의 carboxyl과 기질인 L-glutamic acid의 amine그룹이 결합한 뒤 전자가 이동하게 되고 전자의 이동에 의해 decarboxylation이 일어나면서 동시에 이산화탄소가 발생하고 GABA가 생산된다(Huang et al 2007; Li et al., 2010; Ueno, 2000).
- GAD 기질로서 L-glutamic acid의 경우에는 수용액에 용해도가 25℃에서 8.64 g/L인데 비해 monosodium glutamate(MSG)는 740 g/L로 용해가 월등히 높기 때문에 단위시간당 생성물(GABA)의 생산량을 높이기 위하여 수용액에 용해도가 높은 MSG를 기질로 선정한 사례가 있다(Le, et al., 2011; 김, 2015). 그러나 MSG의 높은 pH(6.5-7.0)로 인하여 산성 조건(pH3.5-6.0)에서 활성을 갖는 GAD의 반응 속도는 매우 느리고 효율도 낮다. 따라서 MSG를 반응기질로 사용할 경우에는 GAD에 의한 적절한 효소 반응을 유도하기 위하여 별도의 chemical acid를 사용해야 하고 이때 발생하는 염(NaCl)을 다시 처리해야 하는 어려움이 있다. L-glutamic acid을 반응기질로 사용할 경우 용해성이 매우 낮기 때문에 효소반응기에서 GABA로의 전환속도가 늦을 수 있지만, 기질과 생성물의 용해도 차이를 이용하여 GAD에 의한 GABA의 전환과정을 육안으로도 확인이 가능하다.
- 본 연구에서는 GABA의 효소전환 공정기술 개발을 위하여 재조합 대장균에서 GAD를 대량생산하는 기술을 개발하고, L-glutamic acid를 반응기질로 사용하여 GABA생산을 위한 최적의 효소전환조건을 확립함으로써 GABA를 이용한 기능성 사료첨가제의 개발을 위한 기술적 배경을 제공하고자 하였다.

### 나. 연구방법 및 결과

- 미생물 발현에 의한 glutamate decarboxylase(GAD) 생산

- E.coli DH-5 alpha균주를 LB배지에서 37°C, 15시간 배양시킨 후 원심분리하여 cell pellet을 모았다. Genomic DNA extraction kit를 사용하여 균주로 부터 genomic DNA를 분리하였으며, GAD의 전체 유전자 증폭을 위한 PCR template로 사용하였다(그림 10-8).
- 대장균에는 동일한 기능을 하는 두 isotype(A와 B 타입)의 GAD가 존재하며(Smith et al., 1992), 이 중 half life가 긴 B 타입의 GAD 전체 유전자(그림 10-9)를 Forward: 5'-gcgCATATGGATAAGAAGCAAGTAACG-3' (underlined; NdeI site)와 Reverse: 5'-ataCTCGAGTTAGGTATGTTTAAAGCTGTTCT-3'(underlined; XhoI site와 stop codon) primer를 사용해 genomic DNA로 부터 PCR로 증폭시킨 PCR product를 Gel extraction kit를 사용해 정제한 후 sequencing을 수행한 결과 정확한 염기서열을 확인할 수 있었다. PCR product를 NdeI/XhoI restriction enzyme을 처리한 후 미리 같은 enzyme들로 digestion시킨 pET-28a(+) vector에 cloning 하여 발현벡터를 제작하였다.
- 발현벡터를 BL2(DE3) cell에 transformation시킨 후 LB 배지에서 A600nm=0.6까지 배양한 후 0.1mM IPTG로 4시간 동안 induction시켰으며, 배양액을 SDS-PAGE로 분석하였다. 분석 결과 induction시킨 cell에서만 약 50kDa의 GAD가 과발현됨을 확인하였다(그림 10-10, 그림 10-11).
- GABA 생산용 효소 생산을 위해 유가식 배양(Fed-batch fermentation)(그림 10-12, 그림 10-13)을 수행하였으며, 기본배지(basal medium)와 feeding medium을 사용하였다. 우선 발현 균주를 LB배지에 접종 후, 37°C에서 16시간 진탕 배양하였다. 5리터 발효기에 2리터 기본배지를 넣고 미리 멸균한 후, 배양한 종균을 5%되게 발효기에 접종하였다. 30°C에서 발효를 수행하였으며, pH는 알칼리수를 사용하여 pH6.8로 일정하게 유지하였다.



그림 10-8. GAD 및 GABA 생산 공정도.

- 배양 중 더 이상 pH가 떨어지는 것이 멈추고 올라가기 시작하면, 기본배지의 탄소원이 모두 소모

된 것으로 판단해 feeding medium을 pH 변화가 일어나지 않도록 일정한 속도로 주입하기 시작하였다. Feeding 시작 약 3시간 후, IPTG가 0.15mM이 되게 첨가하여 induction을 시작하였다. 약 15시간을 계속 feeding하며 배양을 지속하였으며, 배양액의 A600nm는 110까지 증가하였다. 배양이 끝난 cell을 초음파로 파쇄한 후 원심분리하여 상층액만을 회수하였으며, 이를 GABA 생산용 효소원으로 사용하였다.

ATG GAT AAG AAG CAA GTA ACG GAT TTA AGG TCG GAA CTA CTC GAT TCA CGT TTT GGT  
 GCG AAG TCT ATT TCC ACT ATC GCA GAA TCA AAA CGT TTT CCG CTG CAC GAA ATG CGC  
 GAC GAT GTC GCA TTC CAG ATT ATC AAT GAC GAA TTA TAT CTT GAT GGC AAC GCT CGT  
 CAG AAC CTG GCC ACT TTC TGC CAG ACC TGG GAC GAC GAA AAT GTC CAC AAA TTG ATG  
 GAT TTA TCC ATT AAC AAA AAC TGG ATC GAC AAA GAA GAA TAT CCG CAA TCC GCA GCC  
 ATC GAC CTG CGT TGC GTA AAT ATG GTT GCC GAT CTG TGG CAT GCG CCT GCG CCG AAA  
 AAT GGT CAG GCC GTT GGC ACC AAC ACC ATT GGT TCT TCC GAG GCC TGT ATG CTC GGC  
 GGG ATG GCG ATG AAA TGG CGT TGG CGC AAG CGT ATG GAA GCT GCA GGC AAA CCA  
 ACG GAT AAA CCA AAC CTG GTG TGC GGT CCG GTA CAA ATC TGC TGG CAT AAA TTC GCC  
 CGC TAC TGG GAT GTG GAG CTG CGT GAG ATC CCT ATG CGC CCC GGT CAG TTG TTT ATG  
 GAC CCG AAA CGC ATG ATT GAA GCC TGT GAC GAA AAC ACC ATC GGC GTG GTG CCG  
 ACT TTC GGC GTG ACC TAC ACT GGT AAC TAT GAG TTC CCA CAA CCG CTG CAC GAT GCG  
 CTG GAT AAA TTC CAG GCC GAT ACC GGT ATC GAC ATC GAC ATG CAC ATC GAC GCT GCC  
 AGC GGT GGC TTC CTG GCA CCG TTC GTC GCC CCG GAT ATC GTC TGG GAC TTC CGC CTG  
 CCG CGT GTG AAA TCG ATC AGT GCT TCA GGC CAT AAA TTC GGT CTG GCT CCG CTG GGC  
 TGC GGC TGG GTT ATC TGG CGT GAC GAA GAA GCG CTG CCG CAG GAA CTG GTG TTC  
 AAC GTT GAC TAC CTG GGT GGT CAA ATT GGT ACT TTT GCC ATC AAC TTC TCC CGC CCG  
 GCG GGT CAG GTA ATT GCA CAG TAC TAT GAA TTC CTG CGC CTC GGT CGT GAA GGC TAT  
 ACC AAA GTA CAG AAC GCC TCT TAC CAG GTT GCC GCT TAT CTG GCG GAT GAA ATC GCC  
 AAA CTG GGG CCG TAT GAG TTC ATC TGT ACG GGT CGC CCG GAC GAA GGC ATC CCG  
 GCG GTT TGC TTC AAA CTG AAA GAT GGT GAA GAT CCG GGA TAC ACC CTG TAC GAC CTC  
 TCT GAA CGT CTG CGT CTG CGC GGC TGG CAG GTT CCG GCC TTC ACT CTC GGC GGT GAA  
 GCC ACC GAC ATC GTG GTG ATG CGC ATT ATG TGT CGT CGC GGC TTC GAA ATG GAC TTT  
 GCT GAA CTG TTG CTG GAA GAC TAC AAA GCC TCC CTG AAA TAT CTC AGC GAT CAC CCG  
 AAA CTG CAG GGT ATT GCC CAA CAG AAC AGC TTT AAA CAT ACC TAA

그림 10-9. B 타입 GAD 전체 염기 서열.



그림 10-10. GAD 균주의 유가식 배양.

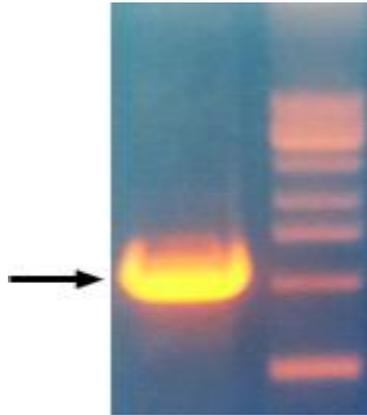


그림 10-11. GAD 균주의 유가식 배양(대량생산)

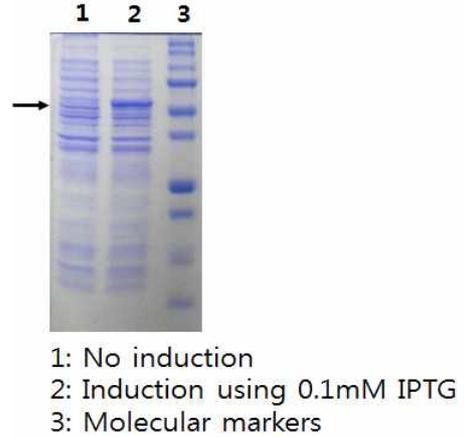


그림 10-12. GAD 유전자의 PCR 후 agarose gel 분석.

그림 10-13. GAD 유전자의 대장균에서의 발현.

#### 라. 효소 전환 공정에 의한 GABA 생산

- GAD는 L-glutamic acid의 alpha-carbon에 결합되어있는 carboxyl기를 제거하여 GABA 를 생성시키며, 이때 pyrodoxal phosphate는 조효소로 작용한다(그림 10-14). 효소활성을 위한 최적의 pH는 4.5-5.5이며, 최적의 온도는 37°C이다. L-glutamic acid는 물에서 불용성이며, GABA로 전환되어야 수용성을 나타낸다.
- GAD에 의한 L-glutamic acid의 GABA 전환 실험은 0.02mM pyrodoxal phosphate, pH5.0, 37°C 조건에서, 다양한 함량의 L-glutamic acid(30%, 40%, 50%)에 GAD(1mg/L 반응액)를 첨가하고 72시간 동안 반응시켜 수행하였다.
- 24시간 반응 후 30% L-glutamic acid 반응액에서는 불용성 물질이 남아있지 않았지만, 40% 이상 반응액에서는 일부 불용성 물질이 남아있었다. 72시간 반응 후 30%와 40% 반응액에서는 불용성 물질이 남아있지 않았고, 50% 이상 반응액에서만 일부 불용성 물질이 남아있었다(그림 10-15).
- 72시간 반응시킨 30%, 40%, 50% 반응액에 대해 GABA함량을 분석한 결과, 30%에서 16.07% GABA+6.95% glutamic acid, 40%에서 22.89% GABA+8.12% glutamic acid, 50%에서 27.83% GABA+11.24% glutamic acid 함량이 확인되었다(표 10-8). 즉, 모든 반응액에서 glutamic acid의 약 50%가 GABA로 전환되었으며, 약 20%는 전환되지 않는 상태로 남아있었다. glutamic acid(Mw: 147.13)으로부터 GABA(Mw: 103.12)전환과정에서 CO<sub>2</sub>가 소실되는 반응이므로 약 29.85%의 자연적

인 중량손실이 발생한다.

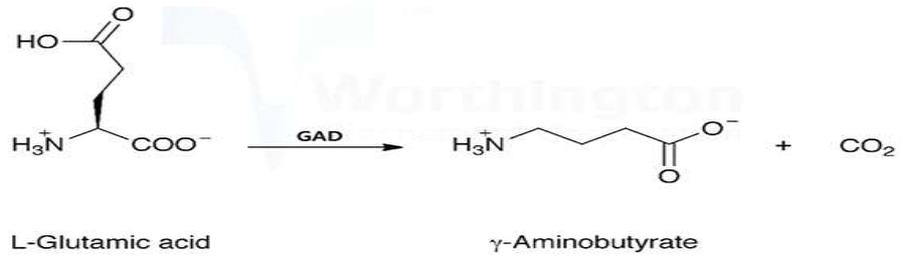


그림 10-14. GAD 효소 반응

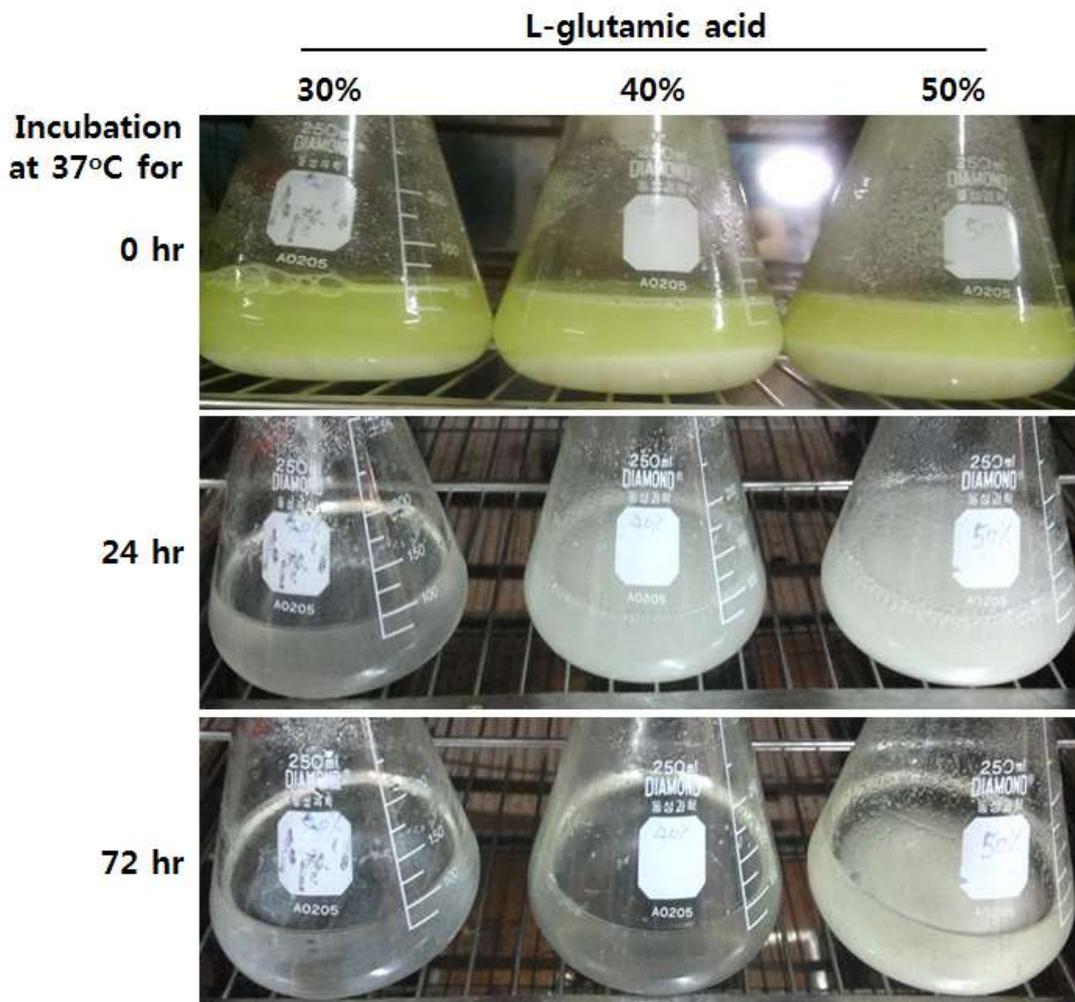


그림 10-15. L-glutamic acid에 대한 GAD 효소 반응.

표 10-8. L-glutamic acid로부터 GABA의 전환

(단위 : %)

구분	반응전	반응후		전환율
	L-glutamic acid	L-glutamic acid	GABA함량	
T-1	30	6.96	16.07	53.90
T-2	40	8.12	22.89	55.93
T-3	50	11.24	27.83	54.40

마. GABA 대량생산

가) GABA 대량생산 공정의 개요

- 고농도의 GABA를 생산하기 위해서는 고도의 농축과정 탈염, 탈색, 여과, 농축, 결정화 공정 등이 수반되고, 결과적으로 높은 제조원가 때문에 인체용 건강기능식품의 원료나 의료용 분야 등 고부가가치 분야에 제한적으로 사용되어 왔다. 따라서 본 연구에서는 효소전환공정을 개선하여 대량생산할 수 있는 기술을 확립하는데 목적을 두었다.

나) 개념설계

- 가축의 생산성 향상에 GABA의 급여효과를 얻기 위해서는 유효한 급여량을 첨가할 수 있도록 사료첨가제에 생산에 대한 충분한 경제성을 확보하는 중요하다. 따라서 본 설계는 높은 제조원가가 수반되는 불필요한 공정을 단순화하고 사료첨가제를 대량생산할 수 있는 공정으로 설계하였다.



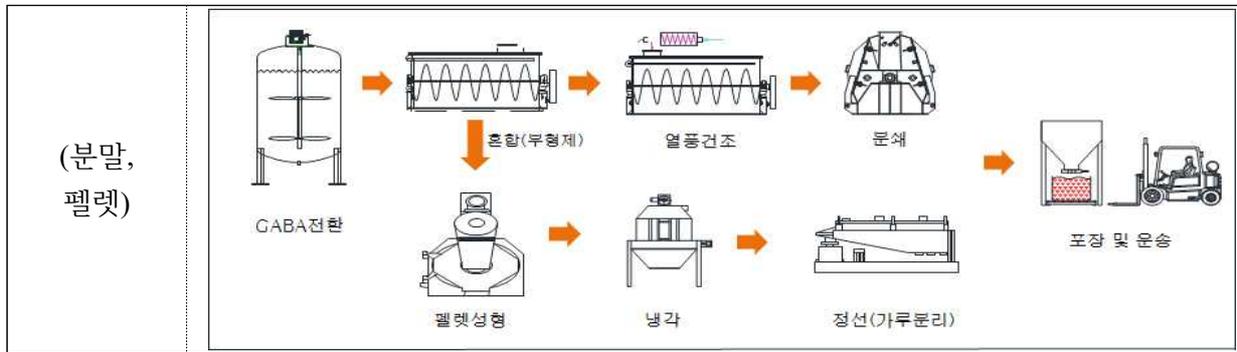


그림 10-16. GABA 함유 기능성 첨가제 대량생산 공정 모식도.

다) 주요장치의 상세설계 및 공정설명

○ 종균배양(발효기)

GDA효소 생산을 위하여 재조합 대장균을 flask에서 배양하고, Scale up하기 위하여 종균 생산용 산업용 발효기를 이용한다.



Specifications:

- Motor : 2Hp/3P/380
- Chamber volume : 70L
- Working volume : 50L
- Driving type : Bottom drive
- Aeration : airflow meter
- Agitation : 10-1,200 rpm
- Temperature : 0-50°C
- pH meter, Do meter

○ 대량배양(발효기)

대장균을 대량 생산하기 위하여 사진과 같은 산업용 발효기를 이용한다. 대장균을 효율적으로 생산하기 위하여 feeding medium의 공급량과 조절, agitation의 rpm 및 cooling system의 설계가 중요하다.



Specifications:

- Motor : 3Hp/3P/380
- Chamber volume : 500L
- Working volume : 400L
- Driving type : Top drive
- Aeration : airflow meter
- Agitation : 250 rpm
- Temperature : 0-50°C
- pH meter, Do meter

○ 파쇄 및 균체분리

배양이 끝난 대장균은 초음파로 파쇄한 후 원심분리하여 균체를 완전히 제거하고 상층액을 회수하여 GAD효소로서 사용한다. 이때 균체를 함께 사용하거나 균체가 남아 있을 경우에는 건조과정에서 갈변현상을 유발할 수 있다.



○ GAD효소에 의한 GABA 전환

반응기 내부로 물을 투입하고 교반하면서 L-glutamic acid을 투입한다. 이때 온도는 37°C로 유지하고 반응효소로서 GAD와 조효소로서 피리독살포스페이트를 투입하면 급격한 반응과 함께 탄산기포가 발생한다. 따라서 GABA반응기는 급격하게 발생하는 기포를 제어할 수 있도록 설계한다.



Specifications:

- Motor : 5Hp/3P/380
- Chamber volume : 1,500L
- Working volume : 1,000L
- Driving type : Top drive
- Agitation : 150 rpm
- Temperature : 0-50°C
- Anti-foam : conductivity sensor.
- injection of anti-foam reagent by peristaltic pump

○ 혼합

GABA가 함유된 반응액은 사료용 원료로서 흡수성이 높은 탈지강이나 소맥피 등과 혼합기에서 교반하여 혼합한다.



Specifications;

- Motor : 20Hp/3P/380
- Chamber volume : 2.0m<sup>3</sup>
- Working volume : 1.5m<sup>3</sup>
- Ribbon impeller : 24 rpm

○ 건조

부형제와 혼합된 GABA 반응액 점성이 높은 상태이므로 교반속도의 조절 및 부하량을 최소화할 수 있도록 설계한다.



**Specifications;**

- Motor : 30Hp/3P/380
- Cooled condenser : 3HP
- Heat power : 20kw
- Chamber volume : 7.5m<sup>3</sup>
- Working volume : 1.5m<sup>3</sup>
- Ribbon impeller : 6 rpm
- Low temperature drying system by condenser

○ 분쇄

부형제와 건조된 GABA반응액은 작은 덩어리가 혼재되어 있으므로 분쇄가 필요하다.



**Specifications;**

- Motor : 30Hp/3P/380V
- Hammer : 2,400rpm
- Hammer tip : 24ea

○ 펠렛팅 및 냉각

GABA배양액 또는 건조된 GABA를 펠렛형 사료첨가제로 제조할 수 있다. 그러나 사료첨가제용 펠렛의 경우에는 수분이 포함된 steam으로 가공처리 한다면 장기간 동안 유통해야 하는 첨가제의 특수성을 보장받을 수 없다. 따라서 steam을 사용하지 않고 펠렛으로 제조하는 것이 필요하다.



(소형 수평형 펠렛기)



(펠렛냉각기)

라) 대량생산시험

- 반응기로서 액상반응기를 사용하여 정제수 600L와 L-글루탐산 180kg를 액상반응기에 투입하고 교반하면서 온도를 37℃로 유지하였다.
- 상기 액상반응기의 혼합용액에 조효소인 피리독살포스페이트 0.02mM과 탈탄산효소인 글루타민산디카르복실라제 9,000g를 투입하여 교반함으로써 효소반응을 개시하였다.
- 계면활성제인 tween 80(Junsei, 일본)을 물과 10%(w/v) 비율로 희석하여 투입함으로써 효소반응 공정에서 발생하는 탄산기포를 제거하였다.
- 효소반응의 결과로 얻어진 효소반응용액(약 730L)을 열풍공급장치가 부착된 건조기로 이송하고 흡착성이 높은 탈지강 1,000kg을 투입하여 혼합하였다.

- 효소반응용액과 부형제의 혼합물을 열풍으로 건조하였으며, 이때 건조 조건은, 온도 60°C, 교반속도 30rpm, 건조시간 28시간 이었다.
- 건조하여 분말 형태의 사료첨가제는 수분 함량 9.2%, GABA 9.12%로 측정되었다.

#### 마) 요약

- 본 연구에서는 단순하며 효율적인 GABA의 대량생산 공정기술 개발함으로써 사료첨가제로서 경제성을 확보하고 GABA를 활용한 기능성 사료첨가제의 대량공정을 확립하기 위하여 실시하였다.
- E.coli DH-5 alpha균주로 부터 GAD발현 벡터를 구축하고 BL2(DE3) cell에 형질전환하여 GAD를 과발현시켰다. 형질전환된 대장균은 유가식 배양방법으로 배양하고 균체를 파쇄한 다음 고속원심 분리기로 제거하고 상층액을 GABA생산을 위한 효소원으로 사용하였다.
- GABA생산을 위한 반응기질로서 L-glutamic acid를 사용하였다. 형질전환 대장균으로부터 생산된 GAD 효소와 조효소로서 피리독살포스페이트를 L-glutamic acid를 72시간 동안 직접 반응하여 순도 27.83%의 GABA 반응액을 생산할 수 있었다.
- GABA를 활용한 기능성사료첨가제 생산은 불필요한 공정을 단순화하고 대량생산할 수 있는 공정으로 설계하였고, 사료첨가제로서 경제성을 확보하기 위하여 저가의 사료용 탈지강과 풍건열풍 건조방식으로 분말 제형을 생산하였다(GABA함량 9.12%).

### 3. 스트레스 저감을 위한 육계 및 산란계 전용 사료첨가제 제형기술 개발

#### 가. 스트레스 저감을 위한 사료첨가제 원료의 선정 및 배경

- 가금류에 있어서 대표적인 환경적 스트레스의 요인은 밀사, 진드기 감염, 경쟁, 사료교체, 독소의 오염, 온도 및 환기관리, 부적절한 수송방법, 소음, 질병으로 요약할 수 있는데, 이러한 스트레스 요인들이 장기간 반복될 경우에는 산란계 및 육계 사육농가에서 심각한 생산성 저하를 유발할 수 있다.
- 고온 환경에 보다 잘 견딜 수 있도록 사양관리 및 시설환경적인 측면에서 접근할 수 있는 방법은 사료성분의 조절로서 기능성 물질을 사료나 물에 첨가하여 닭에게 공급함으로써 고온 환경에 보다 잘 견딜 수 있도록 하거나 냉수공급을 통한 체온상승의 방지나 지연 또는, 계사 내 온도를 일정수준이하로 유지 관리하는 방법이 있다.
- 사료성분의 조절방법으로서 신선한 물의 공급과 함께 물 저장 탱크와 파이프의 절연 및 탱크 내 얼음 투여하거나 비타민C 와 살리실산 또는, 알칼로시스를 줄이기 위한 증조를 첨가하는 방안이 있다. 또한 사료급여시기를 조절하거나(아침과 저녁으로 나누어서 급여) 고품질의 단백질 및 합성 아미노산 공급하거나 사료 내 일부 탄수화물을 지방으로 대체 또는 단백질 에너지가(체내 이용시 열량 증가 때문)를 지방 에너지가로 대체하는 방법도 고려해야 한다.
- 본 연구에서는 사양관리 측면에서 접근방법으로서 고온 환경 스트레스에 따라 요구량의 증가가

필요하거나 완화에 도움이 되는 원료를 활용하여 제형기술 개발을 수행하였다(표 10-9). 기능성 원료로서 GABA는 육계(Chen 등 2013; Dai 등 2011) 및 산란계(Min 등 2011) 의 스트레스 완화에 긍정적인 결과가 보고 된 바 있으며, Ascorbic acid는 어린병아리의 Collagen 합성을 통한 뼈의 유기질 형성(S. Sgavioli 등 2016)과 산란계 및 육계에서 고온 환경에 의한 스트레스 완화효과가 보고되었고(J.S. Mckee 등 1995; M.M. Asli 등 2007), Vitamin E의 공급은 고온 환경에 의한 스트레스의 완화에 효과적이며(Panda 등 2007), 특히 비타민 C와 함께 급여할 경우 상승효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Sahin 등 2003). 또한 L-Arginine의 급여는 스트레스 조건하에서 산란계의 산란효율 향상에 긍정적인 효과가 보고된 바 있으며( Fouad A.M., 등 2012), Betaine은 잘 알려진 메틸기공여체(methyl donor)인데 삼투압조절제로서 세포 내의 수분 함량을 조절하고 세포효소와 기타 단백질을 불안정하게 하는 무기이온의 영향을 완화시키는데 효과적이다.

표 10-9. 스트레스 저감을 위한 사료첨가제 원료의 특성과 기대효과

구분	원료의 명칭(순도)	기대효과
Amino acid	Gamma aminobutyric acid	억제성 신호전달
	L-Arginine(98%)	면역반응에 관여
Vitamin	Ascorbic acid(99%)	항산화효과
	Soluble Tocopherol(50%)	항산화효과
	Betaine(98%)	삼투압조절
Minerals	Sodium bicarbonate	전해질공급

#### 나. 실험방법 및 결과

- GABA(Gamma aminobutyric acid)의 생산
- GAD 생산균주의 배양
- 본 연구에서 Gamma aminobutyric acid의 전환을 위한 GAD를 생산하기 위하여 고온의 멸균(10 5°C~130°C), pH 및 DO, 배양온도의 자동조절 기능을 갖춘 종균배양기(seed fermentor; vesel vol. 5L)와 종배양기(second seed fermentor; vesel volume 50L) 및 주배양기(main fermentor; vesel volume 500L)를 사용하여 과제를 수행하였다. GAD 생산을 위한 대장균의 배양방법은 아래의 순서와 같다.
- 500ml flask에서 균주를 LB배지에 접종 후, 37°C에서 16시간 동안 진탕 배양하였다.
- 5리터 발효기에서 3리터의 LB배지에 배양한 종균을 접종 후, 37°C에서 16시간 동안 교반 배양하였다.
- 50리터 발효기에서 30리터의 LB배지에 배양한 종균을 접종 후, 37°C에서 16시간 동안 교반 배양하였다.
- 500리터 발효기에서 300리터의 기본배지를 넣고 멸균한 후 배양한 종균을 접종하고 초기 pH는

6.8, 37°C의 조건에서 배양하였다.

- 배양시간이 경과함에 따라 pH가 올라가기 시작하면, 기본배지의 탄소원이 모두 소모된 것으로 판단하고 feeding medium을 일정한 속도로 주입하였다. 본 연구에 사용된 기본배지와 feeding medium의 조성은 1차년도 연구과제 수행에서 사용된 대장균 배양용 조제배지의 조성으로 동일하게 조성하여 사용하였다.
- Feeding medium을 주입하기 시작한지 약 3시간 후에 IPTG가 0.15mM이 되도록 첨가하여 induction을 유도하였고 feeding medium을 주입하면서 약 15시간동안 배양을 지속하였다.
- 배양이 종료된 배양액에 1리터의 약 1ml의 수준으로 Lysozyme(500,000unit/g)을 첨가하여 대장균의 세포벽이 파쇄 되도록 유도하고 이를 GABA 생산용 효소원으로 사용하였다. 본 연구과제에서는 1차 년도에서는 대장균 균체를 분리하여 GAD 생산하였으나 2차 년도에서는 배양액 전체를 GAD 효소원으로 활용하는 방법을 선택하였다.

#### 다. GABA(Gamma aminobutyric acid)의 전환공정

- 온도 및 pH의 조절, anti-form의 투입이 자동조절 되도록 고안된 반응기(vessel vol. 1,000 리터)에 배양액 600L와 L-글루탐산 300kg를 반응기에 투입하여 교반하였다. 배양액에는 높은 수준의 GAD 효소원이 포함되어 있으므로 별도의 GAD를 투입을 하지 않고, 조효소로서 pyrodoxal phosphate을 최종적으로 0.02mM가 되도록 첨가한 다음에 pH 5.0에서 37°C를 유지하면서 반응을 진행하였다. 전환이 완료된 반응액에는 순도 23.02%의 GABA를 생산할 수 있었다. 반응이 완료된 GABA 반응액은 고온(100°C, 30분)으로 처리하여 살균처리하고 고속원심분리(12,000 RPM)하여 잔류물질을 완전히 제거하였다(지적재산권 출원).

#### 라. GABA건조물의 준비

- 사료첨가제로서 GABA의 사용효과를 얻기 위해서는 가축에게 유효한 량을 첨가할 수 있도록 단순하고 효율적인 제형화 공정을 개발함으로써 충분한 경제성을 확보하는 것이 중요하다. 따라서 본 시험에서는 고가의 비용이 소요되는 분무 건조방식을 채택하지 않고 부형제로서 가격이 수용성 이산화규소와 GABA 반응액을 1:2의 비율로 혼합하고 이를 열풍(60°C)으로 건조함으로써 제형 개발을 위한 원료로서 준비하였다. 최종 건조물의 GABA함량은 48.40%로 측정되었다.

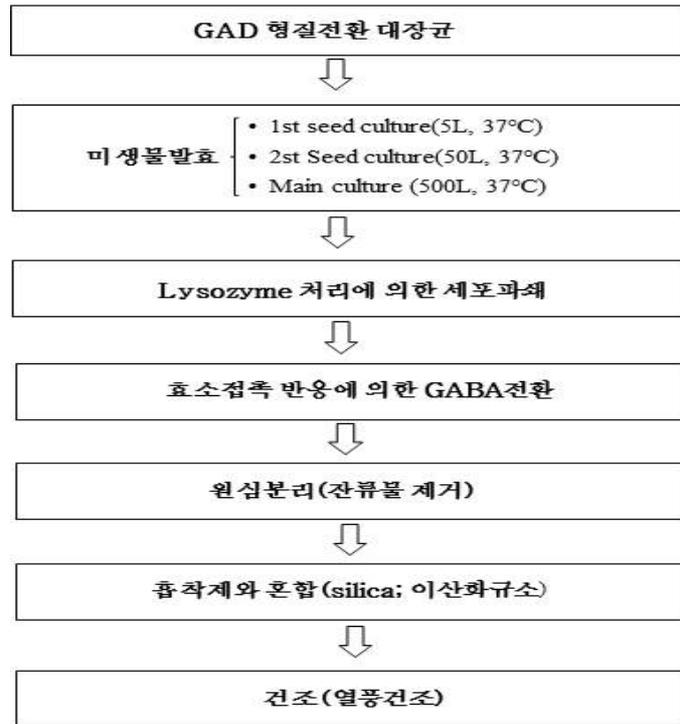


그림 10-17. Gamma aminobutyric acid의 제조공정도.



그림 10-18. Gamma aminobutyric acid 분말제형.

마. 사료첨가제 제형의 생산방법

- 사료첨가제로서 액상 제형은 투여 및 약제관리의 편리성 때문에 양계농가에서 선호하는 제형이다. 그러나 액상 제형은 음수공급 라인의 막힘 현상이 없어야 할 뿐 만아니라 제조 및 보관기간에 따른 물리화학적 성질에 의하여 성분의 변화가 일어나지 않아야 한다.
- 수용성 펠렛의 생산

- 본 연구에서는 직경 6.5mm의 크기의 수용성 펠렛 제형을 고안하였다. 수용성 펠렛은 양계농가의 급수탱크에 투입하여 용해하고 이를 급수라인을 통하여 닭에게 음수와 함께 공급할 수 있다. 이때 급수라인에 막힘 현상이 발생하지 않도록 수용성 원료로서 혼합하여 제형생산에 사용하였으며 또한 사료첨가제의 유통과정의 특수성을 고려하여 장기간 보관이 가능하도록 수분이 사용되지 않고 펠렛기에서 구동하는 Roller와 Die의 압축력과 원료 자체의 결합력을 이용하여 성형하는 방법을 고안하였다. 펠렛의 성형 장치는 소량생산이 가능하고 생산 공정이 단순한 압출식 시험용 펠렛밀(flat die type, Model : CT-1201, Celltech, Korea)을 사용하여 제형을 완성하였다.



그림 10-19. 수용성 펠렛제형의 생산 장면.

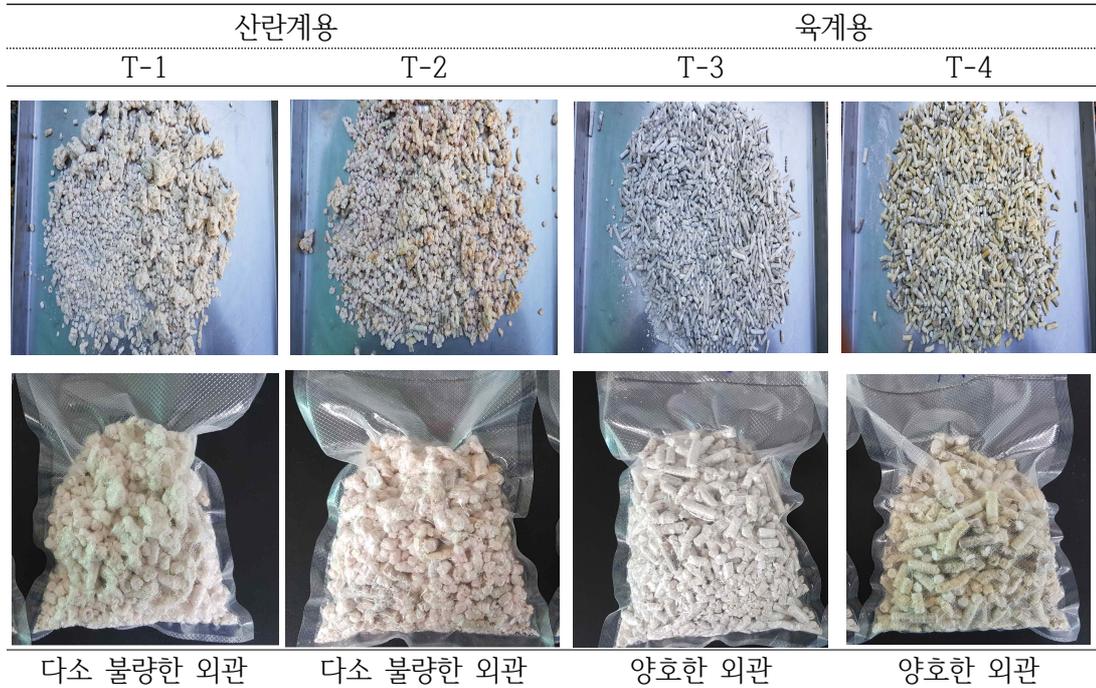
- 외관상 특징
- 산란계를 위한 음수투여용 수용성 펠렛 제형은 대체적으로 외관상 불량한 성형결과를 보였다. 이와 같은 결과는 원료의 조성에 영향을 받은 것으로서 특히 sodium bicarbonate 함량이 높은 것이 원인으로 판단된다. 높은 수준의 sodium bicarbonate가 포함된 조성에서는 glucose와 sucrose의 사용에 따른 성상의 변화는 크지 않았다. 높은 수준의 glucose와 sucrose가 포함된 육계용 수용성 펠렛은 대체적으로 양호한 외관을 보였다. 그러나 펠렛가동 시간이 길어지면서 마찰력에 의해 서로 엉겨 붙는 경우가 발생하여 펠렛기의 토출구 부분에 공기 흡입식 장치를 부착하여 본 과제에 따른 펠렛 성형을 완성하였다.

표 10-9. 스트레스 저감을 위한 육계용 사료첨가제(수용성 펠렛)

(단위: %)

Ingredients	T-3		T-4	
	혼합비율	성분함량	혼합비율	성분함량
GABA건조물	10.5	5.08	10.5	5.08
L-Arginine	5.0	4.90	5.0	4.90
Ascorbic acid	10.0	9.00	10.0	9.00
Betaine	10.0	9.80	10.0	9.80
Glucose	54.5			
Sucrose			54.5	
	100.0		100.0	

그림 10-20. 스트레스 저감을 위한 육계 및 산란계용 사료첨가제(수용성 펠렛)



○ 펠렛성형에 따른 성분의 변화

○ 펠렛성형에 따른 성분 함량은 다소 감소하는 경향은 있었지만 Ascorbic acid을 제외한 나머지 원료들은 대체적으로 열에는 안정한 원료이므로 펠렛성형 과정에서 받는 짧은 시간동안의 압축열에 서는 안정한 것으로 생각된다.

표 10-10. 스트레스 저감을 위한 산란계용 사료첨가제(수용성 펠렛)

Ingredients	T-1		T-2	
	혼합비율	성분함량	혼합비율	성분함량
GABA건조물	15.0	7.26	15.0	7.26
L-Arginine	10.0	9.80	10.0	9.80
Ascorbic acid	10.0	9.00	10.0	9.00
Soluble tocopherol	12.5	6.25	12.5	6.25
Betaine	10.0	9.80	10.0	9.80
Sodium bicarbonate	30.0	30.0	30.0	30.0
Glucose	12.5	12.5	-	-
Sucrose	-	-	12.0	-
Total	100.0		100.0	

표 10-11. 펠렛성형에 따른 성분함량의 변화(산란계용)

Ingredients	가공 전	가공 후(%)	
		T-1	T-2
Gamma aminobutyric acid	7.26	7.04	7.35
L-Arginine	9.80	9.49	9.86
Ascorbic acid	9.0	8.08	8.47
Tocopherol	6.25	6.07	5.85
Betaine	9.80	8.06	9.44

표 10-12. 펠렛성형에 따른 성분함량의 변화(육계용)

Ingredients	가공 전	가공 후(%)	
		T-3	T-4
Gamma aminobutyric acid	5.08	5.10	4.95
Arginine	4.90	4.65	4.71
Ascorbic acid	9.00	8.90	8.56
Betaine	9.80	9.18	9.79

○ 타블릿형 사료첨가제의 생산

- 수용성 타블릿은 양계농가에서 주로 음수공급용 물탱크에 일정량을 투입하고 이를 용해시켜서 물과 함께 급여하는 형태임으로 용해성이 매우 중요하다. 따라서 본 연구과제에서 타블릿형 제형 생산에 사용된 원료는 용해도가 높은 수용성이 높은 원료를 선택하였으며, 제형의 결합성과 정성을 높이기 위하여 HPMCP와 결정셀룰로오스를 적절하게 혼합한 후에 3-10KP 정도(Hardness) 갖는 10mm의 타블릿을 제조하였다(타정기; Model : KTP-05, Korea medi Co., Ltd. Korea). 수용성 타블릿 제형생산에 사용된 원료의 조성은 표 5와 같다.

표 10-13. 스트레스 저감을 위한 사료첨가제(타블릿)

(단위: %)

Ingredients	산란계용(%)		육계용	
	혼합비율	성분함량	혼합비율	성분함량
GABA건조물	15.0	7.26	10.5	5.08
L-Arginine	10.0	9.80	5.0	4.90
Ascorbic acid	10.0	9.00	10.0	9.00
Soluble tocopherol	12.5	6.25		
Betaine	10.0	9.80	10.0	9.80
Sodium bicarbonate	30.0	30.0		
Glucose	6.5		49.5	
HPMC	6.0		10.0	
Cellulose	-	-	5.0	
Total	100.0		100.0	

그림 10-21. 타블릿 제형.



산란계용



육계용

표 10-14. 타블릿 성형에 따른 성분함량

(단위: %)

Ingredients	산란계용	육계용
Gamma aminobutyric acid	7.16	5.25
Arginine	8.98	9.39
Ascorbic acid	9.40	10.22
Tocopherol	6.17	6.91
Betaine	10.13	11.97

- 타블릿의 제형 생산에 따른 외관상 성상은 대체적으로 양호한 결과를 보였으나 생산 횟수가 많아 지면서 원료가 타정펀치 표면에 자주 달라붙거나 타블릿의 경도가 약해지는 현상이 발생하였다.
- 액상형 사료첨가제의 생산
- 사료첨가제로서 액상 제형은 투여 및 약제관리의 편리성 때문에 양계농가에서 선호하는 제형이

다. 그러나 액상 제형은 음수공급 라인의 막힘 현상이 없어야 할 뿐 만아니라 제조 및 보관기간에 따른 물리화학적인 성질에 의하여 성분의 변화가 일어나지 않아야 한다.

표 10-15. 액상제형을 위한 사용원료의 조성

Ingredients	(단위: %)	
	산란계용	육계용
GABA건조물	10.0	10.0
L-Arginine	10.0	5.0
Ascorbic acid	10.0	10.0
Soluble tocopherol	10.0	-
purified water	59.7	74.7
Sodium benzoate	0.3	0.3
Total	100.0	100.0

그림 10-22. 액상제형.



○ 분말형 사료첨가제의 생산

○ 양계농가에서는 약제의 투여방식이 간편하고 추가 인력이 소요되지 않는 음수 투여용 제형을 선호하지만 사료생산업체에서는 사료원료와 혼합이 용이하고 장기간 보관이 사료첨가용 제형을 선호한다. 본 연구에서는 본 연구에서 리본식 혼합기(Model : Ck-1610, Dae Han ENG, Korea )를 사용하여 비수용성 분말제형을 생산하였다.

표 10-16. 분말제형을 위한 사용원료의 조성

Ingredients	(단위: %)	
	산란계용	육계용
GABA건조물	15.0	10.5
L-Arginine	10.0	5.0
Ascorbic acid	10.0	10.0
Soluble tocopherol	12.5	-
Betaine	10.0	10.0
Sodium bicarbonate	30.0	
Limestone	12.5	64.5
Total	100.0	100.0

그림 10-23. 분말제형.



#### 4. 기능성 사료첨가제의 현장평가

##### 가. 1차 현장 실증시험(산골농장)

###### ○ 실험농장의 조건 및 실험방법

○ 경상남도 산청군 신안면 갈전리에 소재한 산골농장을 시범농장으로 선정하였고, 실험에 사용된 산란계는 이사 브라운 계통으로서 일령이 유사한 두 동을 선정하였다. 5만수씩 배치된 계사 2동을 선정하였고 각각의 산란주령은 41주령(대조구)과 38주령(실험구)이었다. 계사의 조명은 실험의 개시부터 종료시점까지 15시간 조명 및 9시간 소등의 조건으로 유지되었으며 사료급여 및 물 공급은 계사 단위로 조사하였다. 본 시험에서는 GABA 10%의 농도로 액상제형 및 분말제형을 제조되었다. 일반적으로 산란계 농장에서는 투약과 급여 관리가 용이한 액상제형을 선호하는 경향이 있어 본 시험에서도 액상제형을 제조하여 적용하였으나 최초 급여 후 16일 이후에는 니플 막힘 현상과 음용수의 유입량에 따라 농도조절에 문제점이 발생하였다. 따라서 급여 후 17일부터는 분말제형으로 교체하였으며 분말제형을 배합사료와 일괄적으로 배합하여 급여함으로써 본 시험을 완료하였다. 시험용 액상제형의 투여는 물 1톤당 1리터(0.1%)를 투여함으로써 음수에는 100ppm의 GABA의 농도가 유지되도록 하였고 분말제형은 배합사료 1톤당 1kg(0.1%)을 첨가하여 혼합함으로써 배합사료 중에 GABA 100ppm의 농도가 유지되도록 하였다. 시험기간 동안 총 40일간 시험용 사료첨가제를 급여하였고 농장현장실험의 특성상 계사 및 동물의 관리 등은 농장의 사육관행에 따라 이루어졌다.



그림 10-24. 현장실증 시험농장(산골농장).



(액상제형)

(분말제형)

그림 10-25. 시험용 사료첨가제.

○ 시험결과

○ 시험용 사료첨가제의 급여에 따른 산란계의 생산성은 표에 나타난 바와 같다. 일일평균 산란량(g)은 시험용 사료첨가제의 급여구가 대조구에 비하여 지속적으로 낮은 결과를 보였다. 이와 같은 결과는 두 계군의 일령차이가 산란성적에 영향을 주는 것으로 판단되며 시험용 사료첨가제 급여 따른 산란성적의 차이는 좁혀지지 않는 것으로 판단된다. 사료섭취량은 시험초기 부터 두 계군 간에 차이가 있었다. 이와 같은 결과는 시험 시작하기 1개월 전의 자료의 분석에서도 비슷한 경향을 보였는데 시험용 사료첨가제의 급여에 따른 두 계사의 사료섭취의 간격은 좁혀지지 않는 것으로 생각된다. 사료 섭취량과 계란의 무게비율은 산란계 생산효율을 측정하는 중요한 지표이다. 표 10-17에서와 나타난 바와 같이 사료 섭취량과 계란의 무게비율은 각각 1.72과 1.67로 나타났다.

표 10-17. 시험용 사료첨가제의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향

조사기간	Control	GABA 100
	산란율(%)	
Day 1 to 10	94.1±0.9	91.8±2.7
Day 11 to 20	91.4±1.9	88.7±6.3
Day 21 to 30	90.4±2.9	89.0±4.3
Day 31 to 40	92.6±3.0	91.6±2.8
Day 1 to 40	92.1±2.2	90.3±4.0
	사료섭취량(g/수/일)	
Day 1 to 10	121.23±5.26	101.81±6.89
Day 11 to 20	116.01±7.07	95.89±6.47
Day 21 to 30	118.17±3.33	97.13±4.51
Day 31 to 40	126.24±5.24	103.71±2.62
Day 1 to 40	120.41±5.22	99.63±5.12
	난중/사료섭취량(%)	
Day 1 to 10	1.97	1.67
Day 11 to 20	1.97	1.62
Day 21 to 30	1.98	1.65
Day 31 to 40	2.08	1.75
Day 1 to 40	1.72	1.67

## 나. 2차 현장 실증(창일농장)

### ○ 실험농장의 조건 및 실험방법

- 경상남도 칠곡군 지천면 창평리에 소재한 창일농장을 시범농장으로 선정하였다. 창일농장에서는 하이라인 계통으로서 사육규모(약 5만수/계사)의 산란계 계사가 다수가 있었으나 농장현장의 여건상 산란주령이 비슷한 시기의 계사를 선정하기 매우 어려운 조건이었다. 따라서 본 시험에서는 산란주령이 103주령과 89주령의 계사 두 동을 선정하여 급여 전 4주 동안의 산란계의 생산성과 급여 후 4주 동안의 생산성을 비교 분석하는 방법으로 본 시험을 수행하였다. 혈액의 채취는 시험 개시일과 종료일에 실험계사의 특정장소를 지정하고 일정한 산란계로부터 채취하였다. 난질의 분석은 급여 전, 급여 후 2주, 급여 후 4주일째에 계란을 수거하여 Eggshell lightness (QSM-System, TSS, York, UK) 및 egg weight, egg albumin height, yolkcolor (YF), Haugh unit, eggshell breaking strength 측정은 난질분석기 (DET 6000, NABEL Co. Ltd., Kyoto, Japan)를 이용하여 측정하였다. Egg shell에 묻은 난백을 제거하고 24h 건조 후 무게 측정하여 relative egg shell weight 계산하였다.
- 본 시험에서는 농장주의 요청에 의하여 분말제형의 스트레스 저감용 사료첨가제를 준비하여 배합사료와 일괄적으로 혼합하여 급여하였다. 이때 급여한 GABA의 함량은 배합사료 중에 각각 50ppm과 100ppm의 수준이었고 계사 및 동물의 관리 등은 농장의 사육관행에 따라 이루어졌다.



그림 10-26. 현장실증 시험농장(창일농장).

### ○ 시험결과

#### ○ 평균 산란율, 및 일당사료섭취량

- 전 실험기간 중의 평균 산란율, 및 일당사료섭취량에 미치는 영향에 대한 결과를 표 10-18에 나타냈다. GABA 50의 급여에 따른 전 실험기간 중의 산란율은 65.93%로서 대조구의 68.18%에 비하여 2.25% 낮은 결과를 보였고, GABA 100의 급여의 경우에는 전 실험기간 중의 산란율은 78.68%로서 대조구의 80.19%에 비하여 1.51% 낮은 결과를 보였다. 이와 같은 결과는 산란주령과 관련이 있는 것으로 생각된다. 사료섭취량은 전체적으로 첨가구가 대조구간과 비슷한 경향을 보였다.

표 10-18. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향

Items	Treatment			
	Cont	GABA 50	Cont	GABA 100
	산란율(%)			
Week 0 to 2	69.13±1.03	66.81±1.32	79.65±7.24	79.36±2.03
Week 2 to 4	67.23±1.27	65.05±1.51	80.73±1.20	77.99±1.26
Week 0 to 4	68.18±1.15	65.93±1.40	80.19±4.22	78.68±1.64
	사료섭취량(g/수/일)			
Week 0 to 2	97.17±7.71	97.81±1.76	116.41±1.37	112.92±1.99
Week 2 to 4	98.17±3.58	96.15±2.17	111.47±7.24	111.47±0.89
Week 0 to 4	97.67±5.65	96.98±1.97	115.49±1.95	112.20±1.44

○ 계란의 품질

- 난각색은 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여에 따른 차이가 발견되지 않았다. 난백의 높이와 신선도의 지표인 Haught unit는 GABA 100mg/kg 급여구가 대조구에 비하여 다소 높아지는 결과를 보였지만 50mg/kg 급여구에서는 오히려 낮아지는 결과를 보였다.

표 10-19. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 계란의 품질에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	Cont	GABA50		
Eggshell color				
L*	59.60	59.24	0.680	0.710
a*	17.57	16.62	0.346	0.082
b*	29.84	29.34	0.285	0.267
Egg weight, g	63.46	63.13	0.377	0.507
Albumin hight, mm	7.566	6.221	0.167	<b>&lt;.0001</b>
Yolk color	7.014	7.100	0.115	0.620
Haugh unit	86.18	76.05	1.071	<b>&lt;.005</b>
Shell strength	4.086	3.847	0.175	0.384
Shell thickness, mm	0.402	0.425	0.007	<b>0.036</b>
Yolk weight, g	16.59	17.15	0.162	0.104
Shell weight, g	6.157	6.003	0.088	0.251
Albumin weight, g	40.72	39.90	0.354	0.110

- GABA 100mg/kg 급여구에서는 난황색이 개선되는 결과를 보였다. 난각의 파각 강도는 처리에 따른 차이가 없었으며 난각 두께 및 역시 차이가 없었으며, 난각의 상대 무게도 차이를 나타내지 않았다. 급여구 간에는 난백의 높이와 Haugh unit에서 유의미한 상관관계가 관찰되었고 파각강도와 난각 두께는 낮아지는 결과를 보였다.

표 10-20. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 계란의 품질에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	Cont	GABA100		
Eggshell color				
L*	59.87	59.13	0.543	0.348
a*	16.94	17.65	0.298	0.100
b*	29.11	29.61	1.681	0.264
Egg weight, g	63.04	63.25	0.402	0.847
Albumin hight, mm	6.723	7.820	0.189	<.005
Yolk color	6.837	7.370	0.098	<.005
Haugh unit	80.58	87.26	1.221	0.001
Shell strength	3.490	3.247	0.150	0.259
Shell thickness, mm	0.406	0.379	0.007	0.017
Yolk weight, g	16.28	16.57	0.240	0.496
Shell weight, g	6.009	5.690	0.110	0.047
Albumin weight, g	40.83	40.99	0.350	0.862

표 10-21. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 계란의 품질에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	GABA50	GABA100		
Eggshell color				
L*	59.24	59.13	0.561	0.909
a*	16.62	17.65	0.298	0.046
b*	29.34	29.61	0.324	0.565
Egg weight, g	63.13	63.25	0.328	0.911
Albumin hight, mm	6.221	7.820	0.189	<.0001
Yolk color	7.100	7.370	0.104	0.109
Haugh unit	76.05	87.26	1.221	<.0001
Shell strength	3.847	3.247	0.152	0.012
Shell thickness, mm	0.425	0.379	0.008	<.005
Yolk weight, g	17.15	16.57	0.294	0.208
Shell weight, g	6.003	5.690	0.098	0.040
Albumin weight, g	39.90	40.99	0.354	0.230

○ 혈액의 조성

표 10-22. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 혈액조성에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	Cont	GABA50		
Total protein	6.510	6.760	0.108	0.418
Total cholesterol	119.0	139.9	14.742	0.256
Glucose	225.4	213.4	18.899	0.284
Albumen	2.110	2.050	0.055	0.504
Globulin	4.400	4.710	0.203	0.221
Albumin/globulin ratio	0.480	0.439	0.036	0.029
Corticosterone	15.17	17.46	5.629	0.567

표 10-23. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 혈액조성에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	Cont	GABA100		
Total protein	6.940	6.556	0.375	0.504
Total cholesterol	132.4	120.8	10.791	0.434
Glucose	232.1	219.8	12.060	0.046
Albumen	2.260	2.044	0.113	0.257
Globulin	4.680	4.511	0.685	0.685
Albumin/globulin ratio	0.488	0.454	0.027	0.174
Corticosterone	18.47	27.04	10.048	0.092

표 10-24. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여가 산란계의 혈액조성에 미치는 영향

Parameter	Treatment		SEM	P value
	GABA50	GABA100		
Total protein	6.760	6.556	0.125	0.526
Total cholesterol	139.9	120.8	3.597	0.304
Glucose	213.4	219.8	4.020	0.542
Albumen	2.050	2.044	0.038	0.946
Globulin	4.710	4.511	0.101	0.436
Albumin/globulin ratio	0.439	0.454	0.009	0.353
Corticosterone	16.82	22.00	8.106	0.119

- GABA 100mg/kg 급여는 혈액내 glucose 수준이 낮아지는 결과를 보였고 GABA 50mg/kg 급여는 Albumin/globulin ratio이 낮아지는 결과를 보였으나 두 급여구 간에 상관관계는 관찰되지 않았다. 또한 혈청 내 corticosterone 함량은 급여구간의 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 의

미 있는 상관관계는 관찰되지 않았다.

## 5. 육계 농가의 현장 실증

### 가. 1차 현장 실증(에스에스그린팜)

#### ○ 실험농장의 조건 및 실험방법

○ 육계 사육농장의 현장 실증 시험을 위하여 경상남도 합천군 용주면 공암길에 소재한 에스에스그린팜농장을 시범농장으로 선정하였다. 본 농장은 사료의 급여와 급수관리 및 온, 습도를 자동 조절할 수 있도록 시스템을 구축한 대규모의 육계 사육 농가였다. 본 실험에서는 계사의 구조 및 위치를 고려하여 3개동을 선정하였고 RosS종의 병아리를 대조구(38,000수), GABA50(39,520수), GABA100(39,000수)급여구로 배치하였다. 본 실험기간 동안의 사료급여 및 동물의 관리 등은 농장의 사육관행에 따라 이루어졌다. 스트레스 저감을 위한 사료첨가제는 액상제형을 급수라인을 통하여 급여될 수 있도록 급여하였으며 급여구의 음수에는 100ppm의 GABA과 50ppm의 GABA의 농도가 유지되도록 하였다.

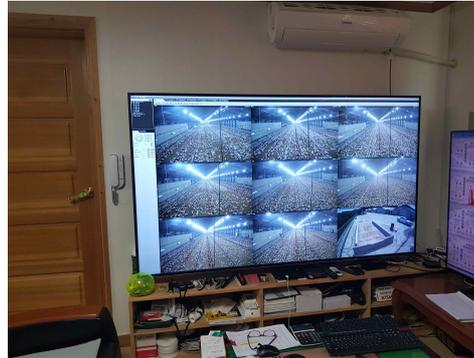


그림 10-27. 현장실증 시험농장(산골농장).

□ 계종명 : 육종TDP알트(크림탈)		배합사료성분표	
1. 계종 등록번호	제 K8902008 호	1. 계종명	알트
2. 계종의 명칭	육계 계종사료 3	2. 계종의 명칭	알트
3. 계종의 형태	알트	3. 계종의 형태	알트
4. 계종의 품종	3주령	4. 계종의 품종	알트
5. 계종의 품종	3주령	5. 계종의 품종	알트
6. 계종의 품종	3주령	6. 계종의 품종	알트
7. 계종의 품종	3주령	7. 계종의 품종	알트
8. 계종의 품종	3주령	8. 계종의 품종	알트
9. 계종의 품종	3주령	9. 계종의 품종	알트
10. 계종의 품종	3주령	10. 계종의 품종	알트
11. 계종의 품종	3주령	11. 계종의 품종	알트
12. 계종의 품종	3주령	12. 계종의 품종	알트

□ 계종명 : 육종TDP전기(크림탈)		배합사료성분표	
1. 계종 등록번호	제 K8902001 호	1. 계종명	전기
2. 계종의 명칭	육계 계종사료 3	2. 계종의 명칭	전기
3. 계종의 형태	알트	3. 계종의 형태	알트
4. 계종의 품종	3주령	4. 계종의 품종	전기
5. 계종의 품종	3주령	5. 계종의 품종	전기
6. 계종의 품종	3주령	6. 계종의 품종	전기
7. 계종의 품종	3주령	7. 계종의 품종	전기
8. 계종의 품종	3주령	8. 계종의 품종	전기
9. 계종의 품종	3주령	9. 계종의 품종	전기
10. 계종의 품종	3주령	10. 계종의 품종	전기
11. 계종의 품종	3주령	11. 계종의 품종	전기
12. 계종의 품종	3주령	12. 계종의 품종	전기

□ 계종명 : 육종TDP후기(퀵렛)		배합사료성분표	
1. 계종 등록번호	제 K8902015 호	1. 계종명	후기
2. 계종의 명칭	육계 계종사료 3	2. 계종의 명칭	후기
3. 계종의 형태	알트	3. 계종의 형태	후기
4. 계종의 품종	3주령	4. 계종의 품종	후기
5. 계종의 품종	3주령	5. 계종의 품종	후기
6. 계종의 품종	3주령	6. 계종의 품종	후기
7. 계종의 품종	3주령	7. 계종의 품종	후기
8. 계종의 품종	3주령	8. 계종의 품종	후기
9. 계종의 품종	3주령	9. 계종의 품종	후기
10. 계종의 품종	3주령	10. 계종의 품종	후기
11. 계종의 품종	3주령	11. 계종의 품종	후기
12. 계종의 품종	3주령	12. 계종의 품종	후기

그림 10-28. 급여사료(배합사료).

○ 계사 내 온도는 초기 35°C를 유지하고, 매주 2~3°C씩 낮춰 4주차에 25-23°C 되도록 조정하였다. 점등은 실험 기간 23L/1D로 유지하였으며, 실험기간은 총 33일로서 배합사료를 사용하였다.

○ 실험결과

○ 성장률 및 사료섭취량

- 평균 출하체중은 대조구가 1,792g로 측정되었으나 급여구로서 GABA50은 1,860g, GABA 100은 1,880g로 나타났다. 농장실험의 특성상 통계처리 결과로서 제시할 수는 없으나 GABA급여는 육계의 성장에 긍정적인 효과를 보여주는 것으로 판단되며 GABA의 급여 농도간에 차이는 발견되지 않았다. 사료효율은 대조구와 급여구간에 차이가 없었다.

표 10-25. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여에 따른 육계의 사료효율의 변화

Treatment	ADFI <sup>1</sup> (g/bird per day)				ADWG (g/bird per day)				FCR (g/g)			
	0-14	14-28	-33d	0-33	0-14	14-28	-33	0-33	0-14	14-28	-33	0-33
	d	d		d	d	d	d	d	d	d	d	d
Control	30.1	95.2	100.4	78.0	30.0	70.6	76.8	54.3	1.00	1.35	1.31	1.44
GABA50	33.3	102.2	167.2	83.9	33.3	78.9	58.0	56.4	1.00	1.30	2.88	1.49
GABA100	33.1	100.4	176.7	83.4	32.6	73.1	80.0	57.0	1.02	1.37	2.21	1.46

<sup>1</sup>ADFI = average daily feed intake; ADWG = average daily weight gain; FCR = feed conversion ratio

○ 물 섭취량 및 폐사율

- 33일간의 급여기간 동안의 총 물 섭취량은 대조구가 48.98톤(38,000수)였으나 GABA100 급여구에서는 52.8톤(39,000수)으로 높아진 것으로 조사되었다. 그러나 GABA의 급여구 간의 차이는 발견되지 않았다. GABA급여에 따른 폐사율은 대조구에 비하여 확연하게 낮아진 것으로 조사되었다. 그러나 육계 계열화농장에서 병아리의 입추 수수는 정해진 숫자보다 약간 더 많이 공급해 주는 것이 관행이므로 정확한 입추 숫자를 파악하는 것이 어렵다. 따라서 본 실험에서 조사된 폐사율은 농가에서 출하 시에 집계하는 육성율을 기초하여 작성하였다.

표 10-26. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여에 따른 물 섭취량 및 폐사율의 변화

Treatment	Intake water(g/bird per day)					Mortality (%)	Temp. (°C)	Humidity (%)
	0-7d	7-14d	14-21 d	21-28 d	-33d			
Control	30.4	79.2	131.6	205.2	251.2	6.00		
GABA50	42.1	83.5	139.0	195.4	245.3	3.70	21-35	45-80
GABA100	40.1	85.9	130.5	212.1	270.8	-		

## 나. 2차 현장 실증(에스에스그린팜)

### ○ 실험농장의 조건 및 실험방법

- 2차 현장 실증시험은 1차 현장실증 시험농장과 동일한 농장으로서 경상남도 합천군 용주면 공암 길에 소재한 에스에스그린팜농장을 시범농장으로 선정하였다. 본 시험에서는 입추시기와 계사의 위치를 고려하여 인디안리버 코브종 37,300수가 입추된 계사를 대조구로 선정하였고 처리구로서는 코브와 로스종 37,200수가 입추된 계사를 선정하여 본 시험을 진행하였다. 그러나 본 농가의 관리상 급여시험을 입추일로부터 19일령부터 급여하여 32일령까지 총 14일간 급여하여 본 시험을 완료하였다. 스트레스 저감을 위한 사료첨가제는 액상제형을 급수라인을 통하여 급여될 수 있도록 급여하였으며 급여구의 음수에는 100ppm의 GABA 농도가 유지되도록 하였다. 급여사료의 종류와 시험동물의 관리는 농가의 관행에 따라 진행되었다.

### ○ 실험결과

- 2차 현장 실증시험에서 스트레스 저감 사료첨가제의 급여에 따른 육계의 성장을 및 사료요구율의 조사결과는 표 10-27에 나타난 바와 같다. 본 시험에서는 대조구와 처리구 간에 의미있는 결과가 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 육계의 성장단계에 따라서 급여농도나 급여기간에 의하여 급여효과가 달라지는 것으로 판단되나 추가적인 연구를 통하여 규명되어야 할 것으로 생각된다.

표 10-27. 스트레스 저감용 사료첨가제의 급여에 따른 육계의 사료효율의 변화(9-32일령)

Items	Control	GABA 100
Initial weight(g/head)	697	687
Final weight(g/head)	1,547	1,541
Weight gain(g/head)	850	854
Feed intake(g/head)	1,272	1291
Feed/gain	1.50	1.51
Mortality	417	414

제 11장. 닭의 환경 스트레스 저감형 사육시스템 개발

1. 환경 스트레스가 닭의 생산성과 생리 지표에 미치는 영향

① 밀사 스트레스 및 마이코톡신 관련 생리 지표 항목 선정 조사

- 본 연구를 수행하기에 앞서 육계의 밀사 스트레스 및 마이코톡신 관련 생리 지표 모니터링 항목을 선정하기 위해 국내외 선행연구 조사를 하였다. 국내 가축사육시설 단위면적당 적정 가축사육기준을 정하고 있는데(표 11-1), 육계는 무창계사 기준으로 39kg/m<sup>2</sup>를 적정 사육밀도로 설정하고 있다. 우리나라의 육계 평균 사육 일령은 32.3일, 생체중은 1.56kg로 추정하면, 최대 적정사육기준인 39kg/m<sup>2</sup>은 약 25수/m<sup>2</sup>로 계산된다. 외국의 경우, 대형닭(2.5kg 출하체중) 생산방식으로 국내 적정사육기준인 39kg/m<sup>2</sup>를 적용하면, 약 16수/m<sup>2</sup>로 계산되기 때문에, 국내의 사육밀도가 이에 비교해 더 높은 것을 알 수 있다.

표 11-1. 국내 가축사육시설 단위면적당 적정 가축사육기준<sup>1</sup>

구분	시설형태		소요면적	비고 <sup>2</sup>
산란계	케이지		0.05m <sup>2</sup> /hd	
	평사		9hd/m <sup>2</sup>	(0.11m <sup>2</sup> /hd)
산란 육성계	케이지		0.025m <sup>2</sup> /hd	100일령까지 사육
육계	무창계사		39kg/m <sup>2</sup>	*25수/m <sup>2</sup> (400cm <sup>2</sup> /hd)
	개방계사	강제한기	36kg/m <sup>2</sup>	*23수/m <sup>2</sup> (434cm <sup>2</sup> /hd)
		자연환기	33kg/m <sup>2</sup>	*21수/m <sup>2</sup> (476cm <sup>2</sup> /hd)
	케이지		0.046m <sup>2</sup> /hd	

<sup>1</sup>출처: 농림축산식품부 고시 2015.12.21. 시행

<sup>2</sup>국내 육계 출하 체중은 평균 1.56kg을 활용하여 단위면적당 사육 수수를 추정한 수치

- 표 11-2에 요약하였듯이 문헌 조사를 통한 사육밀도 범위는 저밀도(0.05~0.125), 중밀도(0.037~0.089), 고밀도(0.030~0.072)로 나타났다. 연구결과에 따라서 밀도가 증가할수록 생산성과 혈액 내 생화학지표, 미생물 변화가 있었다고 보고했지만, 그렇지 않다는 보고도 다수 발견되었다. 따라서, 육계의 사육밀도는 절대적이기보다는 상대적으로 파악되고 있다.

표 11-2. 사육밀도(m<sup>2</sup>/bird)에 따른 생산성 및 생리 지표 변화

Low	Medium	High	Days	Results (Increasing SD)	References
0.055	0.045	0.038	7-35	Decrease in BWG, Increase in FCR, & foot pad score	Son, 2013
0.050	0.037	0.030	1-30	Decrease in BWG & FI, No effect on FCR; Increase in AST	Abudabos et al 2013
0.100	0.071	0.055	1-42	No effect on BWG, FI, & FCR; Decrease in livability	Nogueira et al., 2013
0.133	0.089	0.060	1-49	Behaviors (walking, drinking etc)	Lolli et al., 2010
0.083	0.063	0.050	1-35	Decrease in FI; No effect on BWG & FCR; Increase in foot pad score	Hongchao et al., 2014
0.116	0.077	0.058	7-35	Decrease in BWG & FI; No effect on FCR; Increase in HSP70 gene expression	Beloor et al., 2010
0.125	0.050	0.033	11-46	-	Villagra et al., 2009
0.100	-	0.063	1-42	Decrease in BWG; Increase in FCR No effect on uric acid, glucose, TG	Zuowei et al., 2011
0.092	0.081	0.072	1-42	No effect on BWG, FI, FCR	Na et al., 2013
0.071	0.063	0.056	1-49	No effect on BWG, FCR (whole period); Decrease in FI & FCR (1-21 days)	Khosravinia, 2015
0.091	-	0.065	25-42	No effect on BWG, FI & FCR; Increase in GPT	Wang et al., 2014
0.100	-	0.067	1-42	Decrease in BWG, FI & villus height Increase in FCR, AGP, CORT, H/L ratio	Shakeri et al., 2014
0.083	-	0.059	1-42	Increase in FCR; No effect on FI & BWG; Decrease in ceca E.coli (3 week)	Guardia et al., 2011
0.080	0.057	0.044	1-42	Decrease in BWG & FI, & FCR; No effect on cholesterol, TG, glucose	Tong et al., 2012

○ 95% 이상의 사료원료를 수입에 의존하는 우리나라는 3개월 이상이 소용되는 운송 기간에 곰팡이 오염에 따른 마이코톡신 오염이 예상되며, 비록 낮은 수준으로 존재한다고 해서 육계와 산란계에 미치는 영향이 없다고 할 수 없다. 국내 배합사료 내 Fumonisin 오염 조사는 표 11-3에 제시하였으며, 모두 20ppm 이하로 검출되고 있다.

표 11-3. 배합사료 내 Fumonisin 오염<sup>1</sup>

Complete diet	No. samples	No. FB1-contaminated samples <sup>2</sup> (%)	FB1 conc. (ng/g of sample)		
			Mean	Min.	Max.
Laying hens					
Grower	11	9 (82)	760	343	1,190
Layer	13	13 (100)	2,240	73	12,800
Broilers					
Starter	11	9 (82)	3,850	1,420	14,600
Finisher	11	8 (73)	3,590	1,380	9,040

<sup>1</sup> Seo et al., 2013.

<sup>2</sup> Positive samples: LOD concentration  $\geq$  20 FB1 ng/g

○ 표 11-4에 요약하였듯이 문헌 조사를 통한 사료 내 푸모니신 수준이 육계의 생산성과 생리 지표에 미치는 결과를 나타내었다. 사료 내 푸모니신 수준이 20ppm 이하일 때 생산성에는 영향을 미치지 못하였지만, 콕시듐 또는 괴사성 장염의 감염을 촉진하였다. 사료 내 푸모니신 수준이 100ppm 이상일 때 육계의 생산성과 폐사율을 낮추었다. 따라서, 사료 내 푸모니신의 오염수준이 20 ppm 이하의 생산성에 영향을 미치지 않는 못하지만 다양한 면역 및 생리 지표에 영향을 주는 요인으로 작용하였다.

표 11-4. 사료 내 Fumonisin 수준이 육계의 생산성과 생리 지표에 미치는 효과

Fumonisin	mg/kg diet	Feeding (days)	Results	References
B1+B2	25.4	1-15	No effect on BW, FCR; Increase in sa /so ratio	Antonissen et al., 2015
B1+B2+B3	20	1-20	No effect on BW; Severe Eimeria -gut lesion	Grenier et al., 2016
B1	20, 40, 80	1-21	No effect on BW and organs; Increase in sa /so ratio	Henry et al., 2000
B1+B2+B3	26-28	1-15	No effect on BW and FCR; Moderate increased corticosterone	Antonissen et al., 2017
B1+B2	18.6	1-21	No effect on BW; Decrease in ileal villus length & crypt depth; Severe necrotic enteritis (NE) lesions	Antonissen et al., 2015
B1	300	1-14	19% reduction in BW; 30% increase in relative liver weight	Brown et al., 1992

B1	125, 274	1-14	Decrease in BW: 125 ppm: 20% birds died; 274 ppm: 50% birds died	Javed et al., 1993
B1+B2	100, 200	1-28	Decrease in BW and FI; Increase in relative liver weight; Decrease in jejunal villus height; Increase in Sa/so ratio	Rauber et al., 2013

○ 선행 문헌 조사를 통하여 육계의 사육밀도는 상대적이며, 사료 내 푸모니신이 20ppm 이하로 오염되면 생산성에는 영향을 미치지 못하지만 다른 스트레스 요인과 함께 존재하면 스트레스를 높일 수 있는 것으로 추측되었다. 이러한 결과를 바탕으로 육계의 사료에 푸모니신을 10ppm 포함된 사료를 다양한 사육밀도의 육계에 급여 시 상호작용이 있는지 알아보려고 사양실험을 수행하였다. 사양실험은 건국대학교 충주 실험목장에서 실시하였다.

## 2. 밀사 스트레스 및 푸모니신이 육계의 생산성 및 생리 지표에 미치는 영향

○ 본 연구에서는 1차 년도에 목표인 스트레스 환경에서 육계의 생산성 및 생리적 지표 분석으로 사육 밀도를 3 수준으로 결정하여 진행하였다. 또한, 사료 내 마이코톡신인 푸모니신이 육계의 생산성과 생리 지표에 미치는 영향을 추가로 선정하여 진행하였다. 아울러, 마이코톡신 바인더를 한가지 요인으로 추가하여 마이코톡신의 효과를 상쇄할 수 있는지 알아보려고 하였다.

### ○ 재료 및 방법

○ 공시동물 및 실험설계: 밀사 스트레스와 푸모니신이 육계의 생산성과 생리 지표에 미치는 영향을 알아보기 위하여 총 1,440수의 ROSS 308 수컷 병아리를 이용하여 실험을 수행하였다. 실험처리는 12 처리(3가지 사육밀도×마이코톡신×마이코톡신 바인더)로서 처리당 6 반복으로 구성하였다(표 11-5). 계사 내 온도는 초기 34°C를 유지하고, 매주 2~3°C씩 낮춰 21일차에는 24°C 되도록 조정 후 유지하였다. 점등은 실험 기간 23L/1D로 유지하였으며, 육계 펜은 2m×1m 크기로 니플과 팬형 사료 급이기가 있으며, 새로운 왕겨를 깔짚으로 사용하였다. 실험기간은 총 34일로 옥수수-대두박 위주로 배합된 사료를 사용하였다(표 11-6). 모든 실험 절차는 건국대학교 동물실험윤리위원회의 승인에 이루어졌다(승인번호 KU16138).

표 11-5. 실험설계

Treatments			Replicates / treatment	Total chicks / pen (birds/m <sup>2</sup> )	Total chicks / treatment
Density	FB	TB			
Low	No	No	6	15 (7.5)	90
Medium	No	No	6	20 (10)	120
High	No	No	6	25 (12.5)	150

Low	No	Yes	6	15 (7.5)	90
Medium	No	Yes	6	20 (10)	120
High	No	Yes	6	25 (12.5)	150
Low	Yes	No	6	15 (7.5)	90
Medium	Yes	No	6	20 (10)	120
High	Yes	No	6	25 (12.5)	150
Low	Yes	Yes	6	15 (7.5)	90
Medium	Yes	Yes	6	20 (10)	120
High	Yes	Yes	6	25 (12.5)	150

- 시료채취: 매주 사료섭취량, 체중을 측정하여 사료효율을 계산하였다. 실험 34일 차에 반복 별 1수를 무작위로 선발하여 이산화탄소로 안락사 후 필요한 시료를 채취하였다.
- 분석항목 및 방법: 분석항목은 전혈 및 혈청 성분, 회장의 villus 특성, 회장 점막 내 secretory IgA, 가슴육 육질, 경골 특성, 맹장 내 휘발성 지방산, 맹장 내 미생물 총 균수 등을 측정하였다.
- 장기 무게: 실험 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 다음 간, 비장, 복강지방과 F낭을 채취하여 바로 아이스 상태로 보관하였다. 채취된 간, 비장 그리고 췌장은 무게를 측정한 뒤 체중대비 상대적 무게로 나타내었다.
- 혈청 정상: 실험종료 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 심장에서 직접 1회용 주사기로 혈액을 채취한 뒤 원심분리 (1,300rpm × 15min)하여 혈청을 분리하여 혈청 내 GOT, GPT, GLU, TCHO, TG, UA 등 생화학적 성분의 농도를 분석하였다.
- 혈청 내 항산화 지표 분석: 실험종료 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 심장에서 직접 일회용 주사기로 혈액을 채취한 뒤 원심분리 (1,300rpm × 15min)하여 혈청을 분리하였으며, 분리한 혈청 샘플은 SOD(superoxide dismutase) 및 total antioxidant capacity, MDA(malondialdehyde)를 측정하였다.

표 11-6. Ingredients and chemical composition of the basal diet

Ingredients	g/100g
Corn	51.31
Soybean meal, 44% CP	29.34
Wheat, 12% CP	7.00
Corn gluten meal, 60% CP	4.00
Lysine-HCl, 78%	0.13
DL-methionine, 98%	0.24
Dicalcium phosphate	2.05

Threonine	0.07
Choline, 50%	0.10
Salt	0.30
Limestone coarse	1.14
NaHCO <sub>3</sub>	0.05
Tallow	4.00
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.12
Mineral premix <sup>2</sup>	0.15
Total	100.00
Calculated or analyzed nutrient composition, %	
AMEn <sub>3</sub> , kcal/kg	3,170
Crude protein <sup>4</sup>	20.56
Crude fat <sup>4</sup>	6.27
Ca <sup>4</sup>	1.04
Available phosphorus <sup>3</sup>	0.46
Total phosphorus <sup>4</sup>	0.87
Lysine <sup>3</sup>	1.15
Methionine <sup>3</sup>	0.59
Met+Cys <sup>3</sup>	0.95

<sup>1</sup>Vitamin premix provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 18000 IU; vitamin D3, 3000 IU; vitamin E, 80 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B12, 0.06 mg; thiamin, 5 mg; riboflavin, 20 mg; pyridoxine, 8 mg; niacin, 90 mg; biotin, 0.2 mg; folic acid, 1.1 mg; pantothenic acid, 50 mg.

<sup>2</sup>Mineral premix provided following nutrients per kg of diet: Fe, 80 mg; Mn, 40 mg; Zn, 12.5 mg; I, 0.25 mg; Se, 0.2 mg; Cu, 30 mg.

<sup>3</sup>Calculated value as-fed basis.

<sup>4</sup>Analyzed value as-fed basis.

- 혈액 내 스트레스 지표 분석: 실험 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 심장에서 직접 1회용 주사기로 혈액을 채취한 뒤 전혈(항응고제)과 혈청을 이용하여 스트레스 지표를 측정하였다. 혈청은 전혈을 원심분리 (1000rpm × 5min)하여 분리하였다.
- Nitric oxide (NO): 실험종료 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 심장에서 직접 일회용 주사기로 혈액을 채취한 뒤 원심분리 (1000rpm × 5min)하여 혈청을 분리하였으며, 분리한 혈청 샘플은 nitric oxide를 측정하였다. 100μl의 혈청 샘플과 Griess reagent (sigma, St. Louis, MO, USA)를 10분간 상온에서 반응시킨 후 microtiter plate reader (Synergy2, BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.
- 회장 내 sIgA: 실험종료 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 회장 전체를 채취하여 바로 아이스 상태로 보관하였다. 전체 공장 중 5cm를 차가운 PBS를 이용하여 세척하였다. 장 내용물이 세척된 공장은 voltex mixer (C-VT Test Tube

Voltex Mixer, Chang Shin Scientific Co, Incheon, KOREA)를 이용해 PBS에 충분히 섞어졌으며, 원심분리 (27,000g × 20min, 4°C)하여 상층액을 분주한 뒤 -20°C에서 보관되었다. sIgA는 ELISA chicken-specific IgA kit (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, USA)을 이용하여 측정하였다.

- 경골의 물리적 특성: 실험 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 뒤 경골을 채취하였다. 경골의 골단을 포함한 경골의 길이와 중량을 측정하였다. 50kg 범위의 load cell이 장착된 Instron (Model 3342, Instron Universal Testing Machine, instron Corp., Norwood, MA, USA)을 이용하여 50 mm/min의 cross-head speed로 3.35cm 간격의 지지대 위에 경골을 올려 경골 중심부위의 파쇄강도를 측정하였다. 그려진 그래프에서 파쇄강도가 일정 시간 동안 유지되는 부분의 힘이 경골에 적용된 최대 하중이며 경골에 축적된 에너지로 표현된다.
- 회장의 morphology: 실험 34일령에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 회장의 중간 부분 1cm를 채취하였다. 채취한 조직은 즉시 10% 중성 완충 포르말린 (buffered formalin)에 담겨 조직을 고정하였다. H&E 염색을 하여 슬라이드로 제작한 뒤 현미경을 이용해 융모(Villus height) 길이와 융와 깊이(crypt depth)를 측정하였으며 이를 이용하여 villus height : crypt depth ratio를 계산하였다.
- 육질 분석: 실험 34일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 뒤 오른쪽 가슴육과 다리육을 채취하여 무게, 가열감량, 육색과 pH를 측정하였다. 육색은 색측계 (CM-2600d, Konica Minolta, Ramsey, NJ, USA)를 이용하여 피가 묻지 않은 세 부분을 측정하여 평균값으로 사용하였다. pH 미터 (Testo 205, Testo AG, Lenzkirch, Germany)를 계육의 다른 두 부분에 삽입하여 측정하였고 두 측정치의 평균값을 사용하였다.
- 통계분석:
  - 모든 결과에 대한 통계분석은 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였으며 3가지 요인 (3 × 2 × 2 factorial design)에 대해 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하였다. 처리구 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정 (Duncan, 1995)을 통해 유의 수준 P < 0.05에서 검정하였다. 모든 측정값은 Least square means로 나타냈으며 experimental unit은 pen으로 하였다.
- 실험결과 및 고찰
- 육계 생산성
  - 생산성은 표 11-7에 제시하였다. 일당증체량은 22~34일과 1~34일 기간에 저밀도 처리구가 중간밀도 또는 고밀도 처리구보다 유의하게 높게 나타났다(P<0.01). 사료섭취량은 22~34d, 1~34d 기간에

저밀도 처리구가 중간밀도, 고밀도 처리구에 비교해 높은 것으로 나타났다( $P<0.01$ ). 사료효율은 마이코톡신에 의한 효과가 발견되었다. 특히, 전체 구간에서 마이코톡신(Fumonisin) 처리구가 미첨가 대조구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P<0.05$ ).

- 사육밀도, 마이코톡신 및 독신바인더 요인별 상호작용은 없었지만, 전기 증체량에서 사육밀도와 독신바인더에서 상호작용이 발견되었다. 이러한 효과는 사육밀도가 올라갈수록 독신바인더 미첨가 사료에서는 증체량이 향상됐지만, 독신바인더 첨가 사료에서는 감소하였기 때문에 조사되었다(그림 11-1).

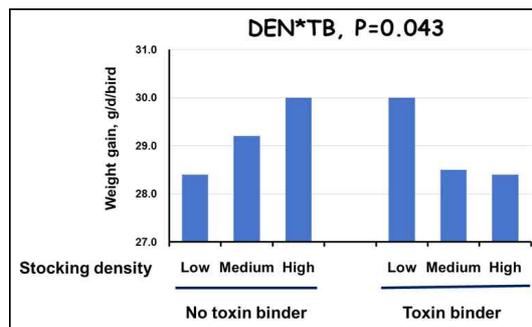


그림 11-1. Interaction between stocking density and toxin binder on weight gain in broiler chickens at 21 days.

- 생산지수 및 폐사율
- 생산지수와 폐사율은 표 11-7에 제시하였다. 폐사율은 처리에 따른 유의차가 나타나지 않았다. 생산지수는 저밀도 처리구가 중간밀도 및 고밀도 처리구에 비교하여 통계적으로 높게 조사되었다. 푸모니신 처리구는 생산지수가 유의적이지는 않았지만, 대조구와 비교해 4.4% 감소하였다.
- 장기무게
- 장기무게는 간, F낭, 비장, 복강지방을 측정하였는데, 간, 비장, 복강지방의 상대무게는 처리에 따른 차이가 발견되지 않았다. F낭은 고밀도 처리구에 저밀도 및 중간밀도 처리구보다 유의적으로 ( $P<0.05$ ) 증가하였다. F낭은 면역기관으로 주로 B-cell의 증식과 관련하여 체액성 면역과 관련이 있다. F낭의 상대 무게가 증가하였다는 결과가 고밀도 처리에서 면역이 증가되었다고는 직접적으로 말할 수 없으나, 사육밀도가 면역과 관련이 있다는 것을 추론할 수 있다.
- 회장 gut morphology 분석
- 회장의 villus height, crypt depth, villus surface area 그리고 villus height : crypt depth ratio를 조사하였다. 처리에 따른 유의차는 발견되지 않았다. Crypt depth는 푸모니신과 독신바인

더 요인 간 유의적이지는 않았지만, 수적인 상관성이 발견되었다. 즉, 대조구 사료에 독신바이더는 crypt depth를 낮췄지만, 푸모니신 사료에서는 차이가 없어 두 요인 간 상관성이 발견되었다. 회장 점막 내 secretory IgA 함량은 처리간에 차이가 발견되지 않았다. sIgA는 소장에서 가장 많이 분비되는 항체로서 소장의 면역조절 기전으로 작용한다. 사육밀도에 따른 sIgA 함량은 차이가 없었다. 하지만, 사육밀도와 독신바이더 간 sIgA 함량에서 상호작용이 발견되었다.

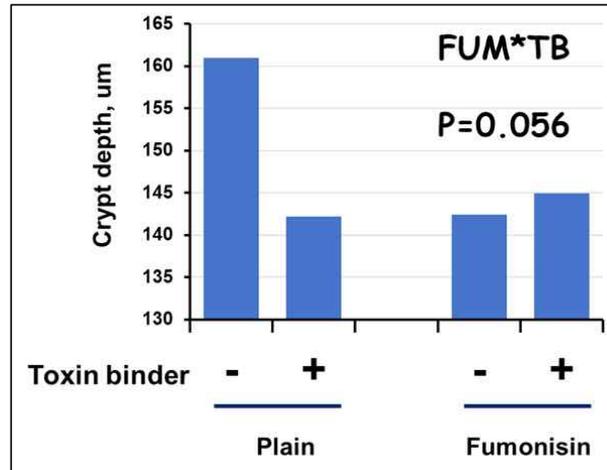


그림 10-2. Interaction between fumonisin and toxin binder on ileal crypt depth in broiler chickens.

- 경골특성
- 경골의 파쇄강도는 사육밀도에 영향을 받았다. 고밀도 처리구에서 저밀도 처리구보다 유의적으로 감소하였다. 중간밀도는 고밀도와 차이를 나타내지 않았다. 사육밀도에 따른 경골의 파쇄강도에 미치는 요인을 알아보기 위해 경골의 회분 함량과 미네랄 분석을 하였다. 경골의 회분 함량은 처리구에 영향을 받지 않았다. 회분 내 인과 마그네슘의 함량은 차이가 없었으나, 칼슘의 함량이 중간밀도와 고밀도에서 저밀도 처리구보다 유의적으로 감소하였다. 따라서, 사육밀도에 따른 경골의 파쇄강도는 경골 내 칼슘 함량의 감소에 기인한 것으로 분석되었다. 경골의 특성에서 사육밀도, 마이코톡신 및 독신바이더 간 상호작용은 발견되지 않았다.
- 스트레스 및 면역지표
- 스트레스 및 면역과 관련된 지표로서 heterophil : lymphocyte (H/L) ratio, nitric oxide, alpha-1-acid glycoprotein (AGP), 그리고 스트레스 호르몬인 corticosterone을 분석하였다. 중간밀도와 고밀도 처리구에서 H/L ratio는 유의적으로 증가하였다. 하지만, AGP와 corticosterone은 처리 간 차이가 발견되지 않았다. Nitric oxide는 스트레스 또는 감염 시 분비되는 선천성 면역 지표로서 분석한 결과, 사육밀도는 영향을 미치지 않았다. 하지만, 마이코톡신 첨가는 nitric oxide의 함량이 유의적으로 증가하였다. 또한, nitric oxide 함량은 마이코톡신과 독신바이더 간 상호작용이 발견되었다(그림 11-3). Nitric oxide는 마이코톡신 free 사료에서 독신바이더를 첨가하면 증가하였지만, 마이코톡신 사료에서 독신바이더 첨가 시 감소함에 따라서 상호작용이 발견되었다.

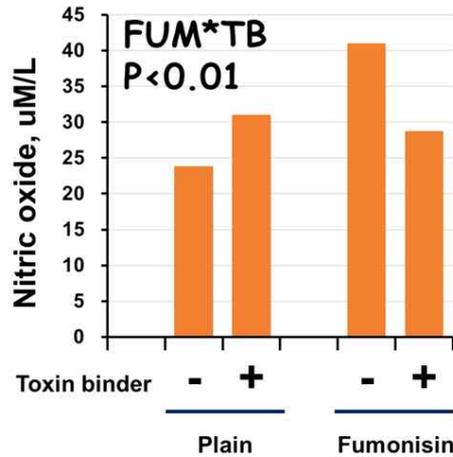


그림 11-3. Interaction between fumonisin and toxin binder on nitric oxide concentration in broiler chickens.

- 가슴육 수율 및 육질
- 가슴육 수율과 가열감량 등 육질은 사육밀도 처리에 따른 차이가 발견되지 않았다. 하지만, 마이코톡신은 가슴육의 명도(L\*)를 유의적으로 낮추었다. 가슴육에 항산화 지표인 malondialdehyde 함량을 측정하였는데, 처리에 따른 차이는 발견되지 않았다. 전체적으로 본 연구에서는 사육밀도, 마이코톡신 등 처리가 육질에 미치는 효과는 크게 나타나지 않았다.
- 맹장 내 미생물 함량
- 사육밀도와 마이코톡신이 장내 미생물 함량에 미치는지 알아보려고 맹장 내 미생물을 분석하였다. 총 균, 대장균과 유산균을 분석하였다. 사육밀도는 총 균수와 유산균에 영향을 나타내지 않았지만, 중간밀도와 고밀도 처리구가 저밀도 처리구보다 대장균 함량이 유의적으로 감소하였다. 독신바인더 처리구는 대조구와 비교하여 맹장 내 대장균의 함량을 유의적으로 감소하였다. 본 연구에서 사육밀도에 따른 미생물 함량에 차이가 있음을 발견하였다. 하지만, 유산균의 변화 없이 대장균이 사육밀도와 독신바인더에 따라서 차이가 나타났다. 향후 사육밀도와 장내 미생물의 microbiome 간 상관성을 분석한다면 좀 더 정확한 분석이 될 것으로 추측되었다.
- 혈청 성분
- 혈청 분석항목으로는 총 콜레스테롤, 포도당, 총단백질 등 항목을 분석하였다. 사육밀도는 혈청 항목에 영향을 미치지 못하였다. 하지만, 마이코톡신은 대조구보다 콜레스테롤, 총단백질, 알부민 및 칼슘 수준을 유의적으로 낮추었다. 본 연구에서 마이코톡신은 사료 내 10ppm 수준으로 첨가하였으며 생산성에는 효과가 없었으나 혈청 항목에 영향을 미쳤다. 이러한 결과는 마이코톡신이 장내에서 흡수되어 간에 영향을 미친 결과로 추측되었다.

Table 11-7. Effect of mycotoxin and toxin binder on growth performance in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Body weight gain (g/day/bird)			Feed intake (g/day/bird)			Feed conversion ratio (g:g)				
			1-21d	22-34d	1-34d	1-21d	22-34d	1-34d	1-21d	22-34d	1-34d		
LSD	+	+	29.60 <sup>3</sup>	85.51	50.98	44.08	132.26	78.1	1.50	1.55	1.54		
	+	-	28.78	89.23	51.89	42.85	131.95	80.2	1.49	1.49	1.55		
	-	+	29.66	87.71	51.86	43.40	129.35	75.9	1.47	1.48	1.48		
	-	-	28.33	88.93	51.50	42.19	131.63	74.0	1.49	1.48	1.44		
MSD	+	+	28.03	78.33	47.27	43.71	119.47	71.1	1.57	1.51	1.52		
	+	-	29.84	75.91	47.46	43.15	118.02	71.6	1.45	1.57	1.52		
	-	+	29.40	81.27	49.23	42.77	121.52	72.3	1.46	1.50	1.48		
	-	-	28.82	79.39	48.15	41.90	119.23	71.1	1.45	1.50	1.48		
HSD	+	+	28.32	74.64	46.03	40.64	115.78	69.3	1.44	1.56	1.52		
	+	-	30.44	75.80	47.78	43.12	117.49	73.0	1.42	1.55	1.53		
	-	+	29.08	76.52	47.22	41.22	120.87	70.6	1.42	1.58	1.52		
	-	-	29.84	76.79	47.79	43.28	119.37	71.9	1.45	1.56	1.52		
Pooled SEM <sup>2</sup>			0.75	2.32	1.08	0.89	2.23	1.86	0.037	0.040	0.032		
Main factors													
LSD			29.09	87.85 <sup>a</sup>	51.56 <sup>a</sup>	43.13	131.30 <sup>a</sup>	77.10 <sup>a</sup>	1.49	1.50	1.50		
MSD			29.02	78.73 <sup>b</sup>	48.03 <sup>b</sup>	42.88	119.56 <sup>b</sup>	71.53 <sup>b</sup>	1.48	1.52	1.50		
HSD			29.42	75.94 <sup>b</sup>	47.21 <sup>b</sup>	42.06	118.49 <sup>b</sup>	71.21 <sup>b</sup>	1.43	1.50	1.52		
			+	29.17	79.91	48.57	42.92	122.78	73.9	1.48	1.54	1.53 <sup>a</sup>	
			-	29.19	81.77	49.29	42.46	123.66	72.7	1.46	1.52	1.49 <sup>b</sup>	
				+	29.02	80.67	48.76	42.64	123.54	72.9	1.47	1.53	1.51
				-	29.34	81.01	49.10	42.75	122.95	73.7	1.46	1.52	1.51
<i>P</i> -value													
Density (D)			0.730	<0.01	<0.01	0.213	<0.01	<0.01	0.068	0.097	0.627		
Fumonisin(F)			0.966	0.170	0.249	0.369	0.350	0.259	0.348	0.333	<0.05		
TB (B)			0.455	0.800	0.596	0.825	0.793	0.468	0.487	0.772	0.990		
D × F			0.938	0.772	0.768	0.488	0.224	0.158	0.521	0.497	0.202		
F × B			0.106	0.725	0.322	0.816	0.841	0.202	0.126	0.970	0.608		
D × B			<0.05	0.372	0.574	0.147	0.610	0.506	0.325	0.519	0.911		
D × F × B			0.680	0.899	0.999	0.985	0.609	0.894	0.693	0.575	0.876		

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>3</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

a,bValues (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly (P < 0.05).

Æ 11-8. Effects of mycotoxin and toxin binder on production index and mortality in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Production index <sup>2</sup>	Mortality (%)
LSD	+	+	312.1 <sup>4</sup>	5.56
	+	-	315.3	5.56
	-	+	339.9	3.33
	-	-	342.5	3.33
MSD	+	+	291.6	5.83
	+	-	307.8	1.67
	-	+	313.6	5.00
	-	-	312.2	3.33
HSD	+	+	294.2	3.33
	+	-	302.6	2.67
	-	+	292.2	6.40
	-	-	302.6	4.00
Pooled SEM <sup>3</sup>			3.72	0.037
Main factors				
LSD			327.4a	4.44
MSD			306.2b	3.96
HSD			298.1b	4.10
+			303.9	4.10
-			317.9	4.23
+			307.7	4.91
-			313.8	3.43
P-value				
Density (D)			<0.01	0.470
Fumonisin (F)			0.075	0.752
TB (B)			0.404	0.105
D × F			0.315	0.254
F × B			0.708	0.948
D × B			0.938	0.521
D × F × B			0.846	0.619

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>Production index = European production index = [body weight gain, kg × livability, %]/(feed conversion ratio × age, days) × 100.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>4</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

a,bValues (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly (P < 0.05).

Æ 11-9. Effects of mycotoxin and toxin binder on relative organ weights (g/100 g of body weight) in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Liver	Spleen	Bursa of Fabricius	Abdominal fat
LSD	+	+	6.42 <sup>3</sup>	0.129	0.209	1.165
	+	-	6.54	0.121	0.191	1.108
	-	+	6.75	0.147	0.199	1.096
	-	-	6.79	0.147	0.169	1.005
MSD	+	+	5.80	0.127	0.167	1.219
	+	-	6.78	0.122	0.217	1.105
	-	+	5.96	0.126	0.219	1.094
	-	-	6.52	0.138	0.215	1.129
HSD	+	+	5.80	0.124	0.264	0.937
	+	-	6.78	0.125	0.251	0.981
	-	+	5.96	0.128	0.223	0.989
	-	-	6.52	0.111	0.244	1.212
Pooled SEM <sup>2</sup>			0.081	0.0043	0.030	0.030
Main factors						
LSD			6.62	0.136	0.192 <sup>b</sup>	1.093
MSD			6.49	0.128	0.205 <sup>ab</sup>	1.137
HSD			6.26	0.122	0.245 <sup>a</sup>	1.030
+			6.42	0.125	0.216	1.086
-			6.50	0.133	0.212	1.088
+			6.34	0.130	0.213	1.083
-			6.58	0.127	0.214	1.090
<i>P</i> -value						
Density (D)			0.194	0.420	<0.05	0.340
Fumonisin (F)			0.592	0.349	0.779	0.975
TB (B)			0.138	0.740	0.951	0.907
D × F			0.662	0.458	0.465	0.250
F × B			0.961	0.872	0.744	0.413
D × B			0.076	0.847	0.541	0.315
D × F × B			0.468	0.691	0.577	0.728

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>3</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

a,bValues (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly (P < 0.05).

Æ 11-10. Effect of mycotoxin and toxin binder on ileal morphometry and secretory immunoglobulin A in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Villus height ( $\mu$ m)	Crypt depth ( $\mu$ m)	Villus surface area <sup>2</sup> ( $\mu$ m <sup>2</sup> $\times$ 10 <sup>-3</sup> )	Villus height / crypt depth ratio	Ileal sIgA ( $\mu$ g/mg of protein)
LSD	+	+	688.5 <sup>4</sup>	140.94	0.090	4.90	0.267 <sup>2</sup>
	+	-	842.9	163.92	0.127	5.12	0.187
	-	+	711.8	136.38	0.105	5.23	0.178
	-	-	741.9	164.85	0.132	4.53	0.280
MSD	+	+	788.7	144.94	0.102	5.38	0.204
	+	-	590.9	118.53	0.094	5.05	0.258
	-	+	758.7	142.63	0.115	5.32	0.251
	-	-	741.4	164.81	0.115	4.47	0.396
HSD	+	+	773.8	149.00	0.117	5.14	0.359
	+	-	833.0	144.74	0.120	5.74	0.233
	-	+	718.8	147.55	0.111	4.87	0.293
	-	-	734.4	153.32	0.106	4.79	0.241
Pooled SEM <sup>3</sup>			72.5	9.27	0.011	0.378	0.015
Main factors							
LSD			746.5	150.95	0.113	4.96	0.234
MSD			719.9	142.73	0.106	5.06	0.284
HSD			765.0	148.65	0.113	5.13	0.286
+			753.0	143.68	0.108	5.22	0.260
-			734.3	151.21	0.113	4.88	0.275
		+	740.1	143.58	0.106	5.14	0.264
		-	747.6	151.32	0.115	4.96	0.273
<i>P</i> -value							
Density (D)			0.679	0.443	0.629	0.818	0.286
Fumonisin(F)			0.661	0.162	0.436	0.119	0.622
TB (B)			0.862	0.145	0.181	0.407	0.813
D $\times$ F			0.390	0.159	0.238	0.657	0.179
F $\times$ B			0.967	0.056	0.785	0.117	0.054
D $\times$ B			0.139	0.074	0.054	0.284	0.042
D $\times$ F $\times$ B			0.319	0.208	0.837	0.931	0.726

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density; sIgA = secretory immunoglobulin A.

<sup>2</sup>Villus surface area = calculated by villus height  $\times$  (diameter of villi's 1/3 height part + diameter of villi's 2/3 height part)/2.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>4</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.



Æ 11-12. Effects of mycotoxin and toxin binder on physiological stress indicators in broiler chickens raised at different stocking densities<sup>1</sup>.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	H/L <sup>2</sup> ratio	NO <sup>2</sup> (µ M/L)	AGP <sup>2</sup> (ng/ml)	CORT <sup>2</sup> (pg/ml)
LSD	+	+	0.195 <sup>4</sup>	31.4	2.55	161.5
	+	-	0.208	35.5	3.35	143.5
	-	+	0.166	43.8	2.99	138.7
	-	-	0.175	19.8	2.93	47.9
MSD	+	+	0.242	25.5	3.18	45.0
	+	-	0.210	39.3	3.90	142.1
	-	+	0.303	21.6	3.57	153.8
	-	-	0.220	27.9	3.37	61.5
HSD	+	+	0.267	29.2	3.69	100.3
	+	-	0.295	48.1	3.32	112.9
	-	+	0.268	27.7	2.74	118.6
	-	-	0.243	23.8	2.67	177.5
Pooled SEM <sup>3</sup>			0.024	6.08	0.47	12.0
Main factors						
LSD			0.189 <sup>b</sup>	32.7	2.96	112.6
MSD			0.236 <sup>a</sup>	28.6	3.50	98.7
HSD			0.273 <sup>a</sup>	32.6	3.11	128.5
+			0.240	34.9 <sup>a</sup>	3.33	115.5
-			0.230	27.6 <sup>b</sup>	3.05	113.4
+			0.246	29.8	3.12	119.6
-			0.229	32.7	3.26	109.6
<i>P</i> -value						
Density (D)			<0.01	0.560	0.243	0.582
Fumonisin (F)			0.626	<0.05	0.304	0.942
TB (B)			0.424	0.468	0.614	0.714
D × F			0.281	0.474	0.411	0.232
F × B			0.237	<0.01	0.370	0.149
D × B			0.292	0.490	0.638	0.302
D × F × B			0.842	0.473	0.589	0.136

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>H/L ratio = heterophil/lymphocyte ratio; NO = nitric oxide; AGP = alpha-1-acid glycoprotein; CORT = corticosterone.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>4</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ )

Æ 11-13. Effect of mycotoxin and toxin binder on yield and characteristics of breast meat in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Meat yield (g/100g)	Meat quality						
				Cooking loss(%)	pH	L	a	b		
LSD	+	+	7.24 <sup>2</sup>	16.80 <sup>2</sup>	0.923	52.37	0.153	5.513		
	+	-	7.51	18.28	0.739	52.64	0.052	5.543		
	-	+	7.73	19.60	0.594	55.58	-0.180	5.558		
	-	-	7.62	18.42	0.500	53.17	0.125	5.550		
MSD	+	+	7.76	17.57	0.786	50.84	-0.147	5.525		
	+	-	7.18	18.26	0.823	53.47	-0.017	5.472		
	-	+	7.44	20.50	0.917	53.77	-0.173	5.545		
	-	-	7.18	20.55	0.708	52.89	0.222	5.503		
HSD	+	+	6.09	20.88	0.508	53.33	0.100	5.495		
	+	-	7.87	19.61	1.014	53.25	0.202	5.505		
	-	+	6.66	16.19	0.624	55.05	0.510	5.555		
	-	-	7.70	17.12	0.809	54.95	-0.293	5.525		
Pooled SEM <sup>3</sup>			0.1194	0.4496	0.0500	0.2498	0.0800	0.0124		
Main factors										
LSD			7.53	18.27	0.689	53.44	0.038	5.541		
MSD			7.39	19.29	0.809	52.74	-0.029	5.511		
HSD			7.08	18.35	0.749	54.14	0.130	5.520		
			+	7.27	18.53	0.808	52.65 <sup>b</sup>	0.057	5.509	
			-	7.39	18.73	0.692	54.23 <sup>a</sup>	0.035	5.539	
				+	7.15	18.55	0.730	53.49	0.044	5.532
				-	7.51	18.71	0.766	53.39	0.048	5.516
<i>P</i> -value										
Density (D)			0.3001	0.5993	0.6249	0.0811	0.7207	0.600		
Fumonisin(F)			0.6270	0.8324	0.2513	0.0024	0.89	0.2231		
TB (B)			0.1423	0.8707	0.7674	0.852	0.9779	0.5332		
D × F			0.7134	0.0199	0.4742	0.8396	0.8316	0.9645		
F × B			0.5825	0.8269	0.4672	0.0429	0.8088	0.656		
D × B			0.0082	0.9778	0.1149	0.2896	0.2757	0.6255		
D × F × B			0.6532	0.5539	0.6763	0.335	0.1938	0.8901		

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

Æ 11-14. Effect of mycotoxin and toxin binder on malondialdehyde contents in cooked breast meats of broiler chickens broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Malondialdehyde (mg/kg of meat)
LSD	+	+	0.923 <sup>2</sup>
	+	-	0.739
	-	+	0.594
	-	-	0.500
MSD	+	+	0.786
	+	-	0.823
	-	+	0.917
	-	-	0.708
HSD	+	+	0.508
	+	-	1.014
	-	+	0.624
	-	-	0.809
Pooled SEM <sup>3</sup>			0.050
Main factors			
LSD			0.689
MSD			0.809
HSD			0.749
+			0.808
-			0.692
+			0.730
-			0.766
<i>P</i> -value			
Density (D)			0.6249
Fumonisin(F)			0.2513
TB (B)			0.7674
D × F			0.4742
F × B			0.4672
D × B			0.1149
D × F × B			0.6763

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

Æ 11-15. Effects of mycotoxin and toxin binder on cecal microflora (log<sub>10</sub> cfu/g of wet cecal contents) in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Total aerobic bacteria	E. coli	Lactobacillus spp.
LSD	+	+	7.592	7.23	7.56
	+	-	7.93	7.31	7.94
	-	+	7.75	7.33	7.64
	-	-	7.72	7.43	7.71
MSD	+	+	7.61	7.15	7.61
	+	-	7.81	7.15	7.71
	-	+	7.68	7.14	7.49
	-	-	7.75	7.09	7.72
HSD	+	+	7.73	7.07	7.75
	+	-	7.62	7.44	7.68
	-	+	7.78	6.84	7.77
	-	-	7.73	7.16	7.53
Pooled SEM <sup>2</sup>			0.029	0.033	0.033
Main factors					
LSD			7.73	7.32a	7.69
MSD			7.71	7.14b	7.63
HSD			7.71	7.11b	7.68
+			7.70	7.22	7.69
-			7.73	7.17	7.64
+			7.69	7.13b	7.63
-			7.75	7.26a	7.71
<i>P</i> -value					
Density (D)			NS	<.05	NS
Fumonisin (F)			NS	NS	NS
TB (B)			NS	<.05	NS
D × F			NS	NS	NS
F × B			NS	NS	NS
D × B			NS	NS	NS
D × F × B			NS	NS	NS

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density.

<sup>2</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

Table 11-16. Effects of mycotoxin and toxin binder on serum parameters in broiler chickens raised at different stocking densities.

Density <sup>1</sup>	FB <sup>1</sup>	TB <sup>1</sup>	Cholesterol (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total protein (g/dL)	Albumin (mg/dL)	Calcium (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Uric acid (mg/dL)	Urea nitrogen (mg/dL)		
LSD	+	+	97.1 <sup>2</sup>	376	2.78	1.015	11.92	0.270	11.7	2.51		
	+	-	97.6	301	2.66	1.008	11.81	0.250	10.9	2.71		
	-	+	119.2	204	3.12	1.178	12.66	0.255	11.6	2.81		
	-	-	103.8	336	3.10	1.060	12.59	0.260	9.9	2.77		
MSD	+	+	96.6	348	2.80	1.003	12.50	0.282	11.1	2.65		
	+	-	107.6	307	2.62	0.985	11.78	0.257	9.0	2.54		
	-	+	106.5	350	3.08	1.143	12.40	0.292	9.9	2.72		
	-	-	117.8	262	2.87	1.067	12.49	0.250	8.4	2.92		
HSD	+	+	82.7	413	2.75	0.973	12.20	0.287	12.1	2.75		
	+	-	124.9	318	3.14	1.187	12.68	0.277	10.3	2.59		
	-	+	108.3	350	3.09	1.115	12.68	0.277	11.7	2.71		
	-	-	118.3	361	2.92	1.060	12.66	0.280	11.0	2.66		
Pooled SEM <sup>2</sup>			2.58	13.3	0.040	0.016	0.10	0.0045	0.43	0.044		
Main factors												
LSD			104.4	304	2.90	1.066	12.25	0.259	11.0	2.70		
MSD			107.1	317	2.84	1.050	12.29	0.270	9.6	2.69		
HSD			108.6	361	2.98	1.084	12.55	0.280	11.3	2.68		
			+	101.1 <sup>b</sup>	344	2.79 <sup>b</sup>	1.029 <sup>b</sup>	12.13 <sup>b</sup>	0.270	10.9	2.62	
			-	112.3 <sup>a</sup>	311	3.03 <sup>a</sup>	1.106 <sup>a</sup>	12.58 <sup>a</sup>	0.269	10.4	2.76	
				+	101.7	340	2.94	1.071	12.39	0.277	11.3	2.69
				-	111.7	314	2.87	1.061	12.32	0.262	9.9	2.69
<i>P</i> -value												
Density (D)			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
Fumonisin (F)			<.05	NS	<.05	<.05	<.05	NS	NS	NS		
TB (B)			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
D × F			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
F × B			NS	NS	NS	<.05	NS	NS	NS	NS		
D × B			<.05	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
D × F × B			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		

<sup>1</sup>FB = fumonisin; TB = toxin binder; LSD = low stocking density; MSD = medium stocking density; HSD = high stocking density; SEM = pooled standard error of the means.

<sup>2</sup>Values are LS means of 6 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ )

### 3. 스트레스 저감 사료개발

- 본 연구에서는 육계와 산란계를 대상으로 사료원료 중 아미노산의 수준을 달리하여 환경 스트레스의 효과를 줄일 수 있는지 알아보려고 수행하였다. 문헌조사를 통하여 다양한 물리적인 환경조절, 사료 내 단백질 및 에너지 함량 등 기존 결과가 보고되고 있다. 또한, 아미노산 중 threonine, tryptophan 등 아미노산 첨가에 관한 연구가 보고된 바 있다. 본 연구에서는 기능성 아미노산이며 필수 아미노산인 arginine을 선정하여 사료 내 arginine 첨가를 통하여 환경 스트레스 유발 생산성 또는 생리 지표를 줄일 수 있는지 조사하였다.

#### 가. 밀사 스트레스와 육계 사료 내 arginine 첨가 효과

- 본 연구에서는 육계 사료 내 arginine을 3 수준으로 첨가하여 arginine의 생리적인 효과를 관찰하고자 실시하였다. 연구재료와 실험방법을 다음과 같다.
- 재료 및 방법
- 공시동물 및 실험설계; 총 840수의 1일령 ROSS 308 수컷 병아리를 공시하여 진행하였다. 실험의 처리는 6 처리 (저밀도[7.5수/m<sup>2</sup>, 1300cm<sup>2</sup>/수]와 고밀도[12.5수/m<sup>2</sup>, 800cm<sup>2</sup>/수]로 2가지 사육밀도 × arginine 3 수준) 로서 처리당 7 반복으로 구성하였으며, 실험기간은 총 35일로 옥수수-대두박 위주로 배합된 사료에 arginine을 전기, 후기 각각 NRC (1994) 요구량 기준 100, 150, 200% 수준으로 조정하여 사용하였다. 실험사료의 성분표는 표 1-1에 제시하였다.
- 시료채취 및 분석항목; 실험 21일 또는 35일에 반복 별로 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 분석항목은 1차 년도와 유사하면 추가로 혈장 내 아미노산 함량을 분석하였다.
- 통계분석; 모든 결과에 대한 통계분석은 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였으며 2가지 요인 (2 × 3 factorial design)에 대해 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하였다. 처리구 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정 (Duncan, 1995)을 통해 유의 수준 P < 0.05에서 검정하였다. 모든 측정값은 Least square means로 나타냈으며 experimental unit은 pen으로 하였다.

⌘ 11-17. Ingredients and composition of the experimental diets.

Ingredients	Starter (g/kg)			Finisher (g/kg)		
	High Arg	Medium Arg	Control Arg	High Arg	Medium Arg	Control Arg
Corn, 8.8% CP	508	508	508	559.5	559.5	559.5
Soybean meal, 44.8% CP	277.4	277.4	277.4	239	239	239
Wheat, 11.5% CP	45	45	45	45	45	45
Corn gluten meal, 60% CP	87	87	87	60	60	60
Soybean oil	20	20	20	40	40	40
Salt	3	3	3	2	2	2
DCP	17.3	17.3	17.3	12.5	12.5	12.5
DL-methionine, 99%	1.7	1.7	1.7	1.2	1.2	1.2
L-lysine 78%	2.2	2.2	2.2	2.0	2.0	2.0
L-threonine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-arginine, 98%	12.2	6.1	0	10.8	5.4	0
Cellulose	2.8	8.9	15	4.2	9.6	15
Limestone	13	13	13	14	14	14
NaHCO <sub>3</sub>	2.4	2.4	2.4	1.8	1.8	1.8
Choline chloride 50%	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Vitamin Premix1	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Mineral Premix2	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Total	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
Calculated nutrient composition						
AME (kcal/kg)	3018	3018	3018	3161	3161	3161
CP, %	23.0	23.0	23.0	20.1	20.1	20.1
Lysine, %	1.20	1.20	1.20	1.06	1.06	1.06
TSAA, %	0.93	1.13	0.93	0.86	0.78	0.78
Arginine, %	2.47	1.87	1.28	2.18	1.65	1.12
Calcium	1.02	1.02	1.02	0.91	0.93	0.93
NPP	0.45	0.45	0.45	0.35	0.35	0.35
Arg:lys ratio	2.06	1.56	1.06	2.06	1.56	1.06
ME:CP	131	131	131	158	158	158

1Vitamin premix provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 18000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 3000 IU; vitamin E, 80 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.06 mg; thiamin, 5 mg; riboflavin, 20 mg; pyridoxine, 8 mg; niacin, 90 mg; biotin, 0.2 mg; folic acid, 1.1 mg; pantothenic acid, 50 mg.

2Mineral premix provided following nutrients per kg of diet: Fe, 80 mg; Mn, 40 mg; Zn, 12.5 mg; I, 0.25 mg; Se, 0.2 mg; Cu, 30 mg.

○ 결과 및 고찰

○ 육계 생산성

○ 일당증체량은 21~35일과 1~35일 기간에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.01$ ). 사료섭취량은 1~21일, 21~35일, 그리고 1~35일 기간에 모두 저밀도 처리구가 고밀도 처리구에 비해 높은 것으로 나타났다( $P < 0.01$ ). 사료 내 arginine을 요구량의 150%, 200%로 증가시켰을 때 1~21일 기간의 사료섭취량이 유의하게( $P < 0.01$ ) 감소하였으며, 사료 요구량도 각각 감소한 것으로 나타났다( $P < 0.01$ ). 사육밀도와 arginine 간 상호작용은 없었으나, 21일령 사료요구율에서 두 요인 간 상호작용이 발생하였다.

○ 21일령 사료요구율은 사육밀도와 arginine 수준 모두 영향을 미쳤으며, 저밀도에서 arginine 수준이 증가할수록 사료요구율이 가파르게 감소하여 상호작용이 발생하였다.

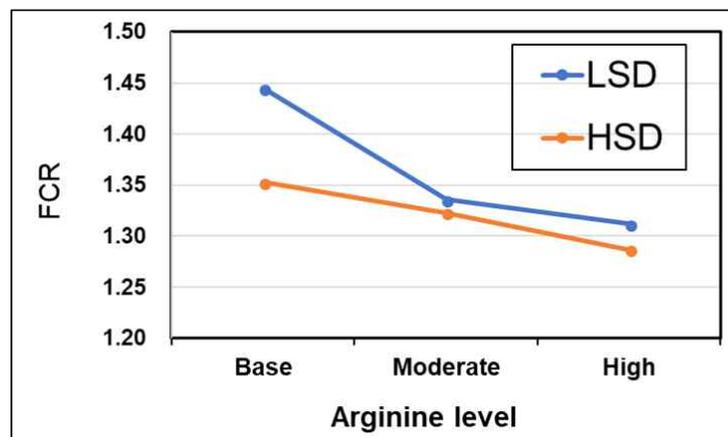


그림 11-4. Interaction between stocking density and dietary arginine level on feed conversion ratio (FCR) in broiler chickens.

○ 장기 무게 및 다리육 색도

○ 장기 무게는 실험 21일령에 비장, F낭 및 간의 무게를 측정하였다. 장기무게는 사육밀도와 arginine 수준에 영향을 받지 않았다(data not shown). 다리육의 색도는 실험 35일령에 측정하였으며, 사육밀도 및 arginine 수준에 차이가 발견되지 않았다(data not shown).

○ 경골 특성

○ 경골 장경(길이)은 35d 시점에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 높은 것으

로 나타났다( $P < 0.05$ ). 경골의 두께는 처리에 따른 차이가 없었지만, 35일령에 고밀도가 작아지는 경향을 나타내었다( $P = 0.075$ ). 21일령 경골의 파쇄강도는 고밀도에서 유의적이지는 않았지만, 다소 높은 경향을 나타내었다( $P = 0.094$ ). 사료 내 arginine 첨가는 경골의 특성에 영향을 미치지 못하였으며, 밀도와 arginine 간 상호작용도 발견되지 않았다.

○ 회장 secretory IgA(sIgA) 함량 및 용모 특성

○ 회장 sIgA는 사육밀도 혹은 arginine 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 상관관계도 관찰되지 않았다. 회장 용모의 길이는 사육밀도와 arginine에 따라서 증가하였다. 회장 용모의 넓이도 용모의 길이와 동일한 결과를 나타내었다. 용모의 깊이는 고밀도에서 저밀도보다 다소 증가하였으며, arginine 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하였다. Villus height : crypt depth 비율은 사육밀도에는 영향이 없었으나, arginine 수준이 증가할수록 감소하였다. 본 연구에서는 용모의 길이와 용모의 표면적에서 밀도와 arginine 간 상호작용이 발견되었다.

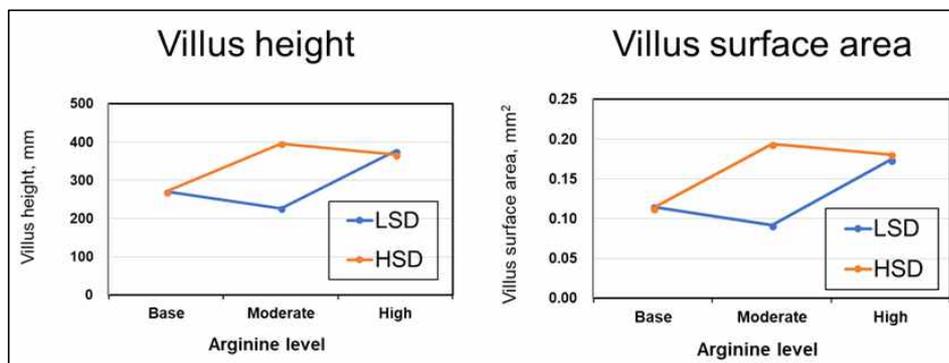


그림 11-5. Interaction between stocking density and dietary arginine level on ileal villus height and villus surface area in broiler chickens.

○ 직장체온

○ 육계 직장체온을 21일과 35일령에 측정하였다. Arginine은 대사과정에서 nitric oxide, polyamine등 생산하여 혈관을 확장하는 기능을 한다. 사육밀도가 육계의 직장체온과 arginine이 어떠한 효과가 있는지 알아보려고 체온을 측정하였다. 본 연구결과 사육밀도 혹은 arginine 처리의 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 비록 유의적이지는 않았지만, arginine의 수준이 올라갈수록 직장체온이 증가하는 양상을 나타내었다.

○ 혈액성상

○ Arg H 처리구에서 Arg S, Arg M 처리구보다 유의하게 높은 GOT 수치가 관찰되었다 ( $P < 0.01$ ). GPT, GLU, TCHO, TG, UA에 대한 사육밀도 혹은 arginine 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 1차 년도 실

험에서는 사육밀도가 혈액 성상에 영향을 미치는 것으로 조사되었지만, 본 연구에서는 사육밀도는 혈액 성상에 영향을 미치지 못하였다. 사육환경이 혈액 성분 또는 스트레스 지표에 미치는 연구는 실험에 따라 차이가 발생한다는 보고는 다수 있기에, 스트레스를 나타내는 절대적인 지표는 아직 없다고 사료된다.

○ 혈액 내 항산화 지표

○ 혈액 내 항산화, 면역 및 스트레스 지표로 superoxide dismutase, total antioxidant capacity, malondialdehyde, nitric oxide 및 corticosterone을 분석하였다. 혈청 내 항산화, 면역 및 스트레스 지표들에 대한 사육밀도 혹은 arginine 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다.

○ 혈액 내 아미노산 함량

○ 혈청 내 histidine과 isoleucine의 함량은 저밀도에서 고밀도보다 유의하게 증가한 수치가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 또한, Arg H 처리구에서 Arg S, Arg M 처리구보다 유의하게 높은 serine, glycine, threonine, alanine, proline, and valine 수치가 관찰되었다( $P < 0.05$ ). 하지만, arginine 처리 간 혈청 내 arginine 함량은 차이가 없었다( $P > 0.05$ ).

○ 소장 내 휘발성지방산 함량

○ 실험 35일에 공장과 회장 내용물 내 휘발성 지방산을 측정하였다. 공장 내 acetate 및 butyrate 함량은 처리에 차이가 발견되지 않았다. 공장 내 propionate 함량은 사료 내 arginine 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 또한, propionate 함량은 밀도와 arginine 요인 간 상호작용이 발견되었는데, 이는 고밀사 처리의 고수준의 arginine 처리구에서 높은 propionate 함량으로 발생하였다. 회장 내용물의 휘발성 지방산은 처리에 따른 차이가 발견되지 않았다.

○ 본 연구에서는 사료 arginine 수준에 따라서 공장 내 propionate의 수준이 변하였는데, 이러한 결과가 장내 환경변화에 따른 미생물 대사로 인한 결과인지 추후 미생물 군집 연구를 통하여 검증이 필요하겠다.

⌘ 11-18. Effect of stocking density and dietary arginine levels on growth performance in broiler chickens

Treatment		ADFI <sup>1</sup> (g/bird per day)			ADWG (g/bird per day)			FCR (g/g)		
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>	1-21d	21-35d	1-35d	1-21d	21-35d	1-35d	1-21d	21-35d	1-35d
LSD	Arg S	47.7 <sup>4</sup>	100.8	67.8	33.0	63.9	44.7	1.445	1.584	1.518
	Arg M	45.1	100.8	66.2	33.8	62.4	44.6	1.336	1.618	1.484
	Arg H	43.4	104.2	66.4	33.1	64.4	45.0	1.312	1.624	1.479
HSD	Arg S	45.1	90.0	62.6	33.3	53.7	41.3	1.353	1.681	1.519
	Arg M	43.9	89.3	61.6	33.2	56.5	42.3	1.323	1.599	1.461
	Arg H	42.0	94.0	62.3	32.7	58.5	42.7	1.287	1.614	1.457
SEM <sup>3</sup>		0.83	2.47	1.10	0.64	2.13	0.91	0.013	0.046	0.023
Main factors										
LSD		45.4 <sup>a</sup>	101.9 <sup>a</sup>	66.8 <sup>a</sup>	33.3	63.6 <sup>a</sup>	44.8 <sup>a</sup>	1.364	1.609	1.494
HSD		43.7 <sup>b</sup>	91.1 <sup>b</sup>	62.1 <sup>b</sup>	33.1	56.2 <sup>b</sup>	42.1 <sup>b</sup>	1.321	1.631	1.479
	Arg S	46.4 <sup>A</sup>	95.4	65.2	33.2	58.8	43.0	1.407 <sup>A</sup>	1.632	1.523
	Arg M	44.5 <sup>B</sup>	95.0	63.9	33.5	59.5	43.4	1.333 <sup>B</sup>	1.608	1.476
	Arg H	42.7 <sup>C</sup>	99.1	64.3	32.9	61.4	43.8	1.301 <sup>C</sup>	1.619	1.465
P-value										
Density (D)		0.016	<.0001	<.0001	0.668	0.0002	0.0009	0.0003	0.550	0.447
Trt(T)		0.0004	0.200	0.485	0.676	0.438	0.642	<.0001	0.872	0.070
D × T		0.658	0.967	0.882	0.751	0.526	0.774	0.010	0.374	0.854

<sup>1</sup>ADFI = average daily feed intake; ADWG = average daily weight gain; FCR = feed conversion ratio

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b,A-C</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly (P < 0.05).

⌘ 11-19. Effect of stocking density and dietary arginine levels on tibia characteristics in broiler chickens

Treatment		Tibia length (mm)		Tibia thickness (mm)		Tibia weight (g)		Tibia breaking strength (kg)	
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>	21d	35d	21d	35d	21d	35d	21d	35d
LSD	Arg S	74.71 <sup>3</sup>	101.00	5.86	8.29	6.80	15.76	14.89	30.97
	Arg M	73.86	101.86	5.71	8.57	6.47	16.71	14.48	34.51
	Arg H	73.86	100.57	5.86	8.29	6.56	15.02	14.18	33.40
HSD	Arg S	73.71	99.71	5.57	8.00	6.73	15.10	15.15	31.51
	Arg M	76.00	98.43	5.71	8.14	7.32	14.95	17.73	28.18
	Arg H	73.57	99.43	5.86	7.86	6.51	15.99	15.23	31.46
SEM <sup>3</sup>		0.97	0.89	0.21	0.25	0.26	0.49	1.10	1.98
Main factors									
LSD		74.14	101.14 <sup>a</sup>	5.81	8.38	6.61	15.83	14.51	32.96
HSD		74.43	99.19 <sup>b</sup>	5.71	8.00	6.85	15.35	16.08	30.38
	Arg S	74.21	100.36	5.71	8.14	6.76	15.43	15.02	31.24
	Arg M	74.93	100.14	5.71	8.36	6.89	15.83	16.11	31.35
	Arg H	73.71	100.00	5.86	8.07	6.53	15.50	14.66	32.43
P-value									
Density (D)		0.720	0.011	0.583	0.075	0.251	0.239	0.094	0.119
Trt(T)		0.460	0.923	0.737	0.511	0.370	0.695	0.433	0.802
D × T		0.249	0.369	0.737	0.949	0.133	0.030	0.383	0.224

<sup>1</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

11-20. Effect of stocking density and dietary arginine levels on ileal sIgA concentration and villus morphology in broiler chickens

Treatment		sIgA <sup>1</sup> ( $\mu$ g/mg of protein)	Villus height (V; $\mu$ m)	Crypt depth (C; $\mu$ m)	Villus surface area (mm <sup>2</sup> )	VC ratio
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>					
LSD	Arg S	0.271 <sup>3</sup>	270.6	44.64	0.115	6.080
	Arg M	0.323	227.4	48.18	0.092	4.690
	Arg H	0.234	376.9	75.98	0.174	5.014
HSD	Arg S	0.292	270.8	47.19	0.113	5.740
	Arg M	0.277	396.3	68.10	0.194	5.869
	Arg H	0.258	367.5	88.78	0.181	4.657
SEM <sup>3</sup>		0.036	19.973	7.704	0.009	0.342
Main factors						
LSD		0.276	292.7b	56.85	0.128b	5.221
HSD		0.276	346.0a	69.12	0.164a	5.382
	Arg S	0.282	270.7B	45.92B	0.114C	5.910A
	Arg M	0.300	305.4B	57.38B	0.139B	5.234AB
	Arg H	0.245	372.2A	82.38A	0.177A	4.836B
P-value						
Density(D)		0.993	0.0036	0.0820	<.0001	0.585
Trt(T)		0.318	0.0001	0.0002	<.0001	0.018
D $\times$ T		0.551	0.0001	0.572	<.0001	0.060

<sup>1</sup>sIgA = secretory immunoglobulin A

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b:</sup> A-C Values (n=7/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ )

⌘ 11-21. Effect of stocking density and dietary arginine levels on rectal temperature in broiler chickens

Treatment		Rectal temperature (°C)	
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>	21d	35d
LSD	Arg S	41.03 <sup>3</sup>	40.90
	Arg M	40.97	41.29
	Arg H	40.90	41.19
HSD	Arg S	40.90	41.31
	Arg M	40.97	41.24
	Arg H	41.14	41.43
SEM <sup>3</sup>		0.129	0.17
Main factors			
LSD		40.97	41.12
HSD		41.00	41.32
	Arg S	40.96	41.10
	Arg M	40.97	41.26
	Arg H	41.02	41.31
P-value			
Density(D)		0.720	0.151
Trt(T)		0.891	0.151
D × T		0.355	0.392

<sup>1</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-22. Effect of stocking density and dietary arginine levels on serum biochemistry in broiler chickens

Treatment		GOT <sup>1</sup> (U/L)	GPT (U/L)	GLU (mg/dL)	TCHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	UA (mg/dL)
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>						
LSD	Arg S	162.6 <sup>4</sup>	4.57	210.9	71.9	82.6	5.81
	Arg M	181.6	3.86	186.9	78.0	50.0	5.17
	Arg H	229.1	4.43	184.0	74.1	58.4	6.67
HSD	Arg S	155.4	4.43	203.7	63.6	54.3	4.90
	Arg M	164.6	4.43	187.3	69.1	59.0	5.33
	Arg H	199.6	4.71	227.7	69.3	76.9	6.87
SEM <sup>3</sup>		15.4	0.25	28.0	6.7	19.0	0.94
Main factors							
LSD		191.1	4.29	193.9	74.7	63.7	5.89
HSD		173.2	4.52	206.2	67.3	63.4	5.70
	Arg S	159.0 <sup>b</sup>	4.50	207.3	67.7	68.4	5.36
	Arg M	173.1 <sup>b</sup>	4.14	187.1	73.6	54.5	5.25
	Arg H	214.4 <sup>a</sup>	4.57	205.9	71.7	67.6	6.77
P-value							
Density(D)		0.163	0.242	0.593	0.189	0.985	0.811
Trt(T)		0.003	0.187	0.725	0.675	0.715	0.213
D × T		0.768	0.352	0.623	0.949	0.438	0.801

<sup>1</sup>GLU = glucose; GOT = glutamic oxaloacetic transaminase; GPT = glutamic pyruvic transaminase; TCHO = total cholesterol; TG = triglyceride; UA = uric acid

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

11-23. Effect of stocking density and dietary arginine levels on indices of antioxidant capacity in broiler chickens

Treatment		SOD <sup>1</sup> (%)	Trolox (uM)	MDA (nmol/mL)
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>			
LSD	Arg S	81.9	210.2	3.14
	Arg M	81.2	201.5	2.90
	Arg H	77.9	202.6	3.29
HSD	Arg S	88.0	209.4	3.16
	Arg M	84.7	184.1	3.08
	Arg H	83.5	189.8	3.09
SEM <sup>1</sup>		5.34	45.1	0.13
Main factors				
LSD		80.4	204.8	3.11
HSD		85.4	194.4	3.11
	Arg S	85.0	209.8	3.15
	Arg M	83.0	192.8	2.99
	Arg H	80.7	196.2	3.19
P-value				
Density (D)		0.254	0.780	0.979
Trt (T)		0.732	0.924	0.284
D×T		0.968	0.982	0.347

<sup>1</sup>MDA = malondialdehyde; SOD = superoxide dismutase

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-24. Effect of stocking density and dietary arginine levels on biological stress indicators in broiler chickens

Treatment		NO <sup>1</sup> (μM/L)		CORT <sup>1</sup> (ng/mL)	
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>	21d	35d	21d	35d
LSD	Arg S	14.17	23.9	406	1464
	Arg M	16.47	25.7	242	1790
	Arg H	14.31	24.5	446	1888
HSD	Arg S	14.49	20.5	231	1268
	Arg M	14.22	21.2	308	1805
	Arg H	12.73	23.1	229	1214
SEM <sup>3</sup>		1.90	2.45	94	356
Main factors					
LSD		14.98	24.7	367	1718
HSD		13.81	21.6	256	1459
	Arg S	14.33	22.2	304	1375
	Arg M	15.35	23.4	278	1797
	Arg H	13.52	23.8	338	1551
P-value					
Density (D)		0.455	0.126	0.173	0.410
Trt (T)		0.631	0.798	0.844	0.520
D×T		0.782	0.812	0.302	0.645

<sup>1</sup>CORT = corticosterone; NO = nitric oxide

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-25. Effect of stocking density and dietary arginine levels on serum amino acid profiles in broiler chickens

Treatment		ASP	SER	GLU	GLY	HIS	ARG	THR	ALA
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>								
LSD	Arg S	0.266	0.167	0.434	0.106	0.071	0.194	0.143	0.153
	Arg M	0.259	0.161	0.430	0.099	0.069	0.191	0.137	0.150
	Arg H	0.286	0.189	0.471	0.117	0.077	0.209	0.161	0.169
HSD	Arg S	0.261	0.163	0.427	0.101	0.070	0.190	0.143	0.151
	Arg M	0.250	0.156	0.407	0.100	0.067	0.184	0.134	0.144
	Arg H	0.257	0.174	0.421	0.109	0.067	0.190	0.149	0.156
SEM <sup>3</sup>		0.010	0.007	0.017	0.004	0.003	0.008	0.006	0.006
Main factors									

LSD		0.270	0.172	0.445	0.107	0.072 <sup>a</sup>	0.198	0.147	0.157
HSD		0.256	0.164	0.419	0.103	0.068 <sup>b</sup>	0.188	0.142	0.150
	Arg S	0.264	0.165 <sup>b</sup>	0.431	0.104 <sup>b</sup>	0.071	0.192	0.143 <sup>ab</sup>	0.152 <sup>ab</sup>
	Arg M	0.254	0.159 <sup>b</sup>	0.419	0.099 <sup>b</sup>	0.068	0.188	0.136 <sup>b</sup>	0.147 <sup>b</sup>
	Arg H	0.271	0.181 <sup>a</sup>	0.446	0.113 <sup>a</sup>	0.072	0.199	0.155 <sup>a</sup>	0.162 <sup>a</sup>
P-value									
	Density (D)	0.114	0.156	0.060	0.291	0.044	0.123	0.305	0.177
	Trt (T)	0.272	0.006	0.266	0.011	0.237	0.340	0.012	0.048
	D×T	0.470	0.734	0.445	0.521	0.160	0.625	0.554	0.626

<sup>1</sup>ASP = aspartic acid; SER = serine; GLU = glutamic acid; GLY = glycine; HIS = histidine; ARG = arginine; THR = threonine; ALA = alanine; PRO = proline; TYR = tyrosine; VAL = valine; LYS = lysine; ILE = isoleucine; LEU = leucine; PHE = phenylalanine

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

### ⌘ 11-26. Effect of stocking density and dietary arginine levels on serum amino acid profiles in broiler chickens

Treatment		PRO	TYR	VAL	LYS	ILE	LEU	PHE
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>							
LSD	Arg S	0.143	0.133	0.159	0.203	0.114	0.220	0.141
	Arg M	0.137	0.130	0.151	0.203	0.111	0.213	0.137
	Arg H	0.156	0.147	0.177	0.216	0.123	0.243	0.156
HSD	Arg S	0.139	0.130	0.156	0.200	0.110	0.214	0.139
	Arg M	0.134	0.124	0.144	0.190	0.106	0.206	0.133
	Arg H	0.146	0.130	0.156	0.193	0.107	0.217	0.139
SEM <sup>3</sup>		0.006	0.005	0.006	0.008	0.004	0.009	0.005
Main factors								
LSD		0.145	0.137	0.162	0.207	0.116 <sup>a</sup>	0.225	0.145
HSD		0.140	0.128	0.152	0.194	0.108 <sup>b</sup>	0.212	0.137
	Arg S	0.141 <sup>ab</sup>	0.131	0.157 <sup>ab</sup>	0.201	0.112	0.217	0.140
	Arg M	0.136 <sup>b</sup>	0.127	0.148 <sup>b</sup>	0.196	0.109	0.209	0.135
	Arg H	0.151 <sup>a</sup>	0.139	0.166 <sup>a</sup>	0.204	0.115	0.230	0.147
P-value								
Density (D)		0.213	0.055	0.056	0.065	0.014	0.102	0.070
Trt (T)		0.031	0.107	0.025	0.633	0.293	0.097	0.085
D×T		0.792	0.371	0.337	0.488	0.317	0.500	0.345

For footnote, refer the legends of Table 1-9.

⌘ 11-27. Effect of stocking density and dietary arginine levels on concentration of short-chain fatty acids in jejunal contents of broiler chickens

Treatment		Acetate	Propionate	Butyrate	Total SCFA
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>				
LSD	Arg S	12.0	2.57	6.83	21.4
	Arg M	10.7	3.50	8.34	22.5
	Arg H	9.2	7.31	5.79	22.3
HSD	Arg S	10.9	2.33	7.26	20.5
	Arg M	13.1	4.54	7.66	25.3
	Arg H	12.4	2.88	7.92	23.2
SEM <sup>3</sup>		2.001	0.817	0.750	2.350
Main factors					
LSD		11.0	3.81	7.20	22.0
HSD		12.0	3.14	7.57	22.7
	Arg S	11.5	2.45b	7.05	21.0
	Arg M	11.8	3.97ab	8.03	23.8
	Arg H	11.2	4.54a	7.12	22.9
P-value					
Density (D)		0.428	0.134	0.392	0.674
Trt (T)		0.910	0.030	0.390	0.506
D×T		0.586	0.036	0.341	0.759

<sup>1</sup>A = acetate; B = butyrate; P = propionate; Total SCFA = total short-chain fatty acid

<sup>2</sup>ArgH = 200% of arginine requirement; ArgM = 150% of arginine requirement; ArgS = 100% of arginine requirement; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment

<sup>a,b</sup>Values (n=7/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ )

⌘ 11-28. Effect of stocking density and dietary arginine levels on concentration of short-chain fatty acids in ileal contents of broiler chickens

Treatment		Acetate	Propionate	Butyrate	Total SCFA
Density <sup>2</sup>	Arg <sup>2</sup>				
LSD	Arg S	24.5	6.41	2.97	33.9
	Arg M	22.2	3.59	2.93	28.7
	Arg H	30.7	6.86	2.81	40.4
HSD	Arg S	23.9	5.65	2.68	32.2
	Arg M	25.4	6.44	2.80	34.6
	Arg H	20.3	4.64	2.78	27.7
SEM <sup>3</sup>		4.952	1.434	0.132	1.179
Main factors					

LSD	25.6	5.56	2.91	34.0
HSD	23.1	5.53	2.75	31.4
Arg S	24.2	6.03	2.83	33.0
Arg M	23.5	4.78	2.88	31.2
Arg H	25.5	5.75	2.79	34.1
P-value				
Density (D)	0.545	0.985	0.199	0.605
Trt (T)	0.943	0.686	0.881	0.939
D×T	0.435	0.260	0.646	0.399

For footnote, refer Table 1-10.

#### 나. 밀사 스트레스와 육계 사료 내 지방산 첨가 효과

○ 본 연구에서는 육계 사료 내 지방산을 첨가하여 지방산의 생리적인 효과를 관찰하고 사육밀도와 상호작용이 발생하는 알아보고자 실시하였다. Conjugated linoleic acid (CLA)는 이중결합이 cis-9, trans-11 또는 trans-10, cis-12 등 접합(짜, conjugated) 상태로 존재하는 리놀레산이다. 자연적으로 존재하는 리놀레산은 두 개의 이중결합이 cis- 9, cis-12 상태로 존재하는 비접합(비짜, non-conjugated) 지방산이다. 이 리놀레산에 NaOH를 가한 후 200℃ 정도의 높은 온도에서 반응시키는 알칼리 이성질화법 또는 혐기성 미생물을 통해 미생물이 증식할 때 생산하는 리놀레산 이성질화 효소로 기질인 비접합 리놀레산을 이성질화시켜서 CLA를 생산할 수 있다. 문헌에 따르면, CLA는 체지방 감소, 항암성, 성장촉진, 항동맥경화, 혈중 콜레스테롤 감소 등의 기능을 갖고 있는 것으로 보고되었으며, 몇 가지 연구를 통해 육계 혹은 산란계에 CLA를 급여하는 것이 항산화능, 면역증진, 생산성 향상에 효과가 있는 것이 검증되었다. 연구재료와 실험방법을 다음과 같다.

#### ○ 재료 및 방법

○ 공시동물 및 실험설계; 총 560수의 1일령 ROSS 308 수컷 병아리를 공시하여 진행하였다. 실험의 처리는 4처리 (저밀도[7.5수/m<sup>2</sup>, 1300cm<sup>2</sup>/수]와 고밀도[12.5수/m<sup>2</sup>, 800cm<sup>2</sup>/수]로 2가지 사육밀도 × 2 처리로 CLA 첨가와 미첨가)로서 처리당 7 반복으로 구성하였으며, 실험 기간은 총 35일로 옥수수-대두박 위주로 배합된 사료에 CLA 80% 함유 oil을 1% 첨가하고 같은 양 만큼의 soybean oil을 제외하여 배합하여 사용하였다 (표 11-29). 후기 사료의 지방산 조성은 표 11-30에 나타내었다.

○ 시료채취 및 분석항목; 실험 21일 또는 35일에 반복 별로 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 분석항목은 1차 년도 또는 arginine 실험과 유사하며 추가로 다리육의 지방산 조성과 malondialdehyde를 분석하였다.

○ 지방산분석; 실험종료 35일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여

CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 다리육을 채취하였다. 채취한 다리육의 25g은 지방산 분석을 위해 -70℃에서 냉동 보관하였다. folch 용액 75 ml에 다리육 25g을 넣고 균질화한 (1000rpm × 1min) 후 25 ml의 folch 용액을 첨가한다. 여과지로 여과한 후 분별깔대기에 여과액을 넣고 25 ml의 folch 용액을 첨가한다. 증류수 75 ml을 분별깔대기에 넣은 후 섞는다. 지방층과 수분층이 분리되도록 약 12시간이상 방치하였다. 지방층만을 여과하여 감압농축기를 이용하여 folch 용액을 증발시키고 지방을 채취하였다. 채취한 지방 0.02g과 0.5N NaOH/MeOH 2 ml을 섞는다. 100℃ 오븐에서 10분간 반응한다. 상온에서 식힌 뒤, 핵산 3ml을 첨가한 뒤 포화 NaCl 2 ml을 넣고 흔든다. GC용 vial에 담아 GC를 이용하여 분석하였다.

- Malondialdehyde 분석: 실험 35일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 심장에서 직접 일회용 주사기로 혈액을 채취한 뒤 원심 분리 (1,500rpm × 15 min) 하여 혈청을 분리하였다. 혈액 내 MDA는 TBARS assay kit(OxiSelect™ TBARS Assay Kit-MDA Quantitation, Cell Biolabs Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. MDA는 지질과산화수소 분해의 많은 저분자량 최종 산물 중 하나로서, 주로 과산화물의 측정을 하는데 이 때, 불포화지방산의 자동산화에 의하여 생긴 분해성 물질인 MDA를 사용하며, 지질 과산화의 지표로 사용된다.
- 통계분석: 모든 결과에 대한 통계 분석은 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였으며 2가지 요인 (2 × 3 factorial design)에 대해 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하였다. 처리구 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정 (Duncan, 1995)을 통해 유의 수준 P < 0.05에서 검정하였다. 모든 측정값은 Least square means로 나타냈으며 experimental unit은 pen으로 하였다. 사육밀도와 CLA 간 상관성이 없어, main factor로만 결과를 나타내었다.

표 11-29. Ingredients and composition of the experimental diets

Ingredients	Starter (g/kg)		Finisher (g/kg)	
	Control	CLA	Control	CLA
Corn, 8.8% CP	508	508	559.5	559.5
Soybean meal, 44.8% CP	277.4	277.4	239	239
Wheat, 11.5% CP	45	45	45	45
Corn gluten meal, 60% CP	87	87	60	60
Soybean oil	20	10	40	30
CLA	0	10	0	10
Salt	3	3	2	2
DCP	17.3	17.3	12.5	12.5
DL-methionine, 99%	1.7	1.7	1.2	1.2
L-lysine 78%	2.2	2.2	2.0	2.0

L-threonine	1.0	1.0	1.0	1.0
Cellulose	15	15	15	15
Limestone	13	13	14	14
NaHCO <sub>3</sub>	2.4	2.4	1.8	1.8
Choline chloride 50%	2.0	2.0	2.0	2.0
Vitamin Premix <sup>1</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5
Mineral Premix <sup>2</sup>	2.5	2.5	2.5	2.5
Total	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
Calculated nutrient composition				
AMEn (kcal/kg)	3,018	3,018	3,161	3,161
CP, %	23.0	23.0	20.1	20.1
Lysine, %	1.20	1.20	1.06	1.06
TSAA, %	0.93	0.93	0.78	0.86
Arginine, %	1.28	1.28	1.12	1.86
Calcium	1.02	1.02	0.93	0.91
NPP	0.45	0.45	0.35	0.35
ME:CP	131	131	158	158

<sup>1</sup>Vitamin premix provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 18000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 3000 IU; vitamin E, 80 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.06 mg; thiamin, 5 mg; riboflavin, 20 mg; pyridoxine, 8 mg; niacin, 90 mg; biotin, 0.2 mg; folic acid, 1.1 mg; pantothenic acid, 50 mg.

<sup>2</sup>Mineral premix provided following nutrients per kg of diet: Fe, 80 mg; Mn, 40 mg; Zn, 12.5 mg; I, 0.25 mg; Se, 0.2 mg; Cu, 30 mg.

표 11-30. Fatty acid composition of the experimental diets

Ingredients	Finisher (g/kg)	
	CON	CLA
C 12:0	0.27	0.28
C 14:0	0.20	0.18
C 16:0	12.7	10.9
C 18:0	3.48	3.21
C 18:1n9c	25.6	24.2
C 18:2n6c	52.1	43.2
C 20:0	0.32	-
C 18:3n6	-	0.27
C 18:3n3	3.61	2.66
c9,t11 CLA	-	6.63
t10,c12 CLA	-	6.61
Total	98.2	98.2

<sup>1</sup>C12:0 = lauric acid; C14:0 = myristic acid; C16:0 = palmitic acid; C18:0 = stearic acid; C18:1n9c = oleic acid; C18:2n6c = linoleic acid; C20:0 = arachidic acid; C18:3n3 =  $\alpha$ -Linolenic acid; c9, t11 C18:2 = conjugated linoleic acid; c12, t10 C18:2 = conjugated linoleic acid;

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet;

○ 실험결과 및 고찰

○ 육계 생산성

○ 일당증체량은 21~35일과 1~35일 기간에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.01$ ). 사료섭취량은 21~35일, 1~35일 기간에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구에 비해 높은 것으로 나타났으며( $P < 0.01$ ). 1~21일 기간에 CLA 처리구와 비교하면 대조구가 유의하게 더 높은 사료섭취량을 보였다( $P < 0.05$ ). 사료요구율은 1~21일 기간에 고밀도 처리구가 저밀도 처리구에 비해 낮은 것으로 나타났으며( $P < 0.01$ ), CLA처리구는 대조구에 비해 낮은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ).

○ 경골 특성

○ 경골 장경(길이)은 35일에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 하지만, 파쇄강도 등 그 외 경골 특성에는 차이가 발견되지 않았다. CLA 추가에 따른 효과는 발견되지 않았다.

- 회장 내 sIgA 함량
- 회장 sIgA 함량은 사육밀도 혹은 CLA 처리에 의한 차이가 없었다.
- 직장 체온
- 직장 체온에 대한 사육밀도 혹은 CLA 처리에 의한 유의차는 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의한 상관관계도 관찰되지 않았다.
- 혈액성상
- 사육밀도에 따른 혈액성상에는 차이가 발견되지 않았다. CLA 처리구에서 GOT 수준이 유의적으로 증가하였다. 또한, CLA 처리구에서 total cholesterol은 유의적이지는 않았지만, 수적으로 감소하였다(P=0.074).
- 혈액 내 항산화, 면역 및 스트레스 지표
- 혈청 내 항산화 지표들에 대한 사육밀도, CLA 처리에 따른 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다(표 11-31). 또한, 혈청 내 면역 및 스트레스 지표들에 대한 사육밀도, CLA 처리에 따른 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 간 상관성은 없었다(표 11-32).
- 다리 근육 내 지방산 조성
- 다리육에 존재하는 지방산을 측정한 결과 myristic acid 및 palmitic acid, stearic acid가 CLA 미 급여구 보다 CLA 급여구에서 유의하게 증가하는 결과를 나타냈다(P<0.05). 또한, CLA를 급여한 처리구에서 대조구보다 다리육에 존재하는 cis-10-heptadecanoic acid 및 oleic acid, linoleic acid,  $\alpha$ -Linolenic acid, cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid, arachidonic acid, nervonic acid, Docosaheptaenoic acid의 농도가 감소한 결과를 나타냈다(P<0.05). 다리육 지방산 내 conjugated linoleic acid는 CLA를 급여한 처리구에서만 분석되었다(표 11-33). 사육밀도는 다리육의 지방산 조성에 영향을 미치지 않았다.

⌘ 11-31. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on growth performance in broiler chickens

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	ADFI <sup>1</sup> (g/bird/day)			ADWG (g/bird/day)			FCR		
		1-21d	21-35d	1-35d	1-21d	21-35d	1-35d	1-21d	21-35d	1-35d
Main factors										
LSD		46.2	103.8 <sup>a</sup>	68.1 <sup>a</sup>	32.6	65.0 <sup>a</sup>	44.9 <sup>a</sup>	1.424 <sup>a</sup>	1.598	1.517
HSD		44.4	90.8 <sup>b</sup>	62.5 <sup>b</sup>	33.0	54.7 <sup>b</sup>	41.4 <sup>b</sup>	1.356 <sup>b</sup>	1.666	1.509
	CON	46.4 <sup>a</sup>	95.4	65.2	33.2	58.8	43.0	1.407 <sup>A</sup>	1.632	1.518
	CLA	44.2 <sup>b</sup>	99.2	65.4	32.4	60.9	43.4	1.376 <sup>B</sup>	1.631	1.508
P-value										
Density (D)		0.078	<.0001	<.0001	0.557	<.0001	<.0001	<.0001	0.108	0.747
Trt(T)		0.038	0.118	0.850	0.313	0.157	0.622	0.035	0.986	0.658
D*T		0.417	0.348	0.724	0.894	0.869	0.955	0.207	0.458	0.733

<sup>1</sup>ADFI = average daily feed intake; ADWG = average daily weight gain; FCR = feed conversion ratio

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b,AB</sup>Values (n=7/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

⌘ 11-32. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on tibia characteristics in broiler chickens

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	Tibia length (mm)		Tibia thickness (mm)		Tibia weight (g)		Tibia breaking strength (kg)	
		21d	35d	21d	35d	21d	35d	21d	35d
LSD		73.29	101.21 <sup>a</sup>	5.57	8.29	6.46	15.35	14.33	31.93
HSD		73.57	98.93 <sup>b</sup>	5.50	7.86	6.68	14.58	15.02	30.89
	CON	74.21	100.36	5.71	8.14	6.76	15.43	15.02	31.24
	CLA	72.64	99.79	5.36	8.00	6.37	14.50	14.34	31.58
P-value									
Density (D)		0.780	0.005	0.742	0.066	0.455	0.129	0.608	0.684
Trt(T)		0.133	0.452	0.109	0.526	0.195	0.071	0.613	0.894
D × T		0.215	0.194	0.327	0.526	0.331	0.812	0.751	0.535

<sup>1</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=7/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

⌘ 11-33. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on ileal sIgA concentration in broiler chickens

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	sIgA <sup>1</sup> (µg/mg of protein)
LSD		0.277
HSD		0.277
	CON	0.282
	CLA	0.271
P-value		
Density(D)		0.998
Trt(T)		0.732
D × T		0.507

<sup>1</sup>sIgA = secretory immunoglobulin A

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-34. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on rectal temperature in broiler chicken

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	Rectal temperature (°C)	
		21d	35d
LSD		41.06	41.10
HSD		40.99	41.33
	CON	40.96	41.10
	CLA	41.09	41.33
P-value			
Density(D)		0.587	0.185
Trt(T)		0.331	0.185
D×T		0.663	0.263

<sup>1</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>3</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-35. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on serum biochemistry in broiler chickens

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	GOT <sup>1</sup> (U/L)	GPT (U/L)	GLU (mg/dL)	TCHO (mg/dL)	TG (mg/dL)	UA (mg/dL)
LSD		175.8	4.57	193.4	73.5	79.8	6.72
HSD		183.7	4.64	208.7	72.6	67.2	5.34
	CON	159.0 <sup>b</sup>	4.50	207.3	67.7	68.4	5.36
	CLA	200.5 <sup>a</sup>	4.71	194.9	78.4	78.6	6.71
P-value							
Density(D)		0.592	0.807	0.652	0.882	0.570	0.231
Trt(T)		0.009	0.465	0.714	0.074	0.647	0.240
D×T		0.313	0.465	0.509	0.207	0.479	0.682

<sup>1</sup>GLU = glucose; GOT = glutamic oxaloacetic transaminase; GPT = glutamic pyruvic transaminase; TCHO = total cholesterol; TG = triglyceride; UA = uric acid

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

<sup>a,b</sup>Values (n=7/treatment) having a different superscript within a column differ significantly ( $P < 0.05$ ).

⌘ 11-36. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on indices of antioxidant capacity in broiler chickens

Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	SOD <sup>1</sup> (%)	TAC (mg Trolox equivalents)	MDA (nmol/mL)
LSD		86.22	194.4	3.07
HSD		88.88	200.9	3.07
	CON	84.96	209.8	3.15
	CLA	90.14	185.5	2.98
P-value				
Density(D)		0.601	0.902	0.993
Trt(T)		0.312	0.646	0.135
D×T		0.506	0.890	0.866

<sup>1</sup>SOD = superoxide dismutase; MDA = malondialdehyde; TAC = total antioxidant capacity

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-37. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on biological stress indicators in broiler chickens

		NO <sup>1</sup> ( $\mu$ M/L)		CORT (ng/mL)	
		21d	35d	21d	35d
Density <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>				
LSD		14.67	22.6	365	1397
HSD		13.62	22.6	410	1359
	CON	14.33	22.2	329	1375
	CLA	13.96	23.0	447	1379
P-value					
Density(D)		0.525	0.998	0.650	0.904
Trt(T)		0.820	0.731	0.221	0.976
D×T		0.407	0.155	0.086	0.626

<sup>1</sup>CORT = corticosterone; NO = nitric oxide

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-38. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on meat fatty acid composition (% of total fatty acid methyl esters) in broiler chickens

Density (D) <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	C14:0	C16:0	C16:1	C17:1	C18:0	C18:1n9c	C18:2n6c	C18:3n3
LSD		0.57	22.66	1.96	0.43	10.63	21.86	27.73	1.50
HSD		0.57	22.22	1.88	0.40	10.29	22.40	28.27	1.53
	CON	0.48 <sup>b</sup>	19.91 <sup>b</sup>	2.15	0.54 <sup>a</sup>	8.83 <sup>b</sup>	24.97 <sup>a</sup>	28.99 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>
	CLA	0.65 <sup>a</sup>	24.97 <sup>a</sup>	1.68	0.28 <sup>b</sup>	12.09 <sup>a</sup>	19.29 <sup>b</sup>	27.01 <sup>b</sup>	1.36 <sup>b</sup>
P-value									
Density		0.96	0.41	0.82	0.59	0.53	0.55	0.37	0.55
Trt(T)		<.0001	<.0001	0.20	<.0001	<.0001	<.0001	<.005	<.0001
D×T		0.21	0.74	0.91	0.55	0.82	0.68	0.73	0.42

<sup>1</sup>C14:0 = myristic acid; C16:0 = palmitic acid; C16:1 = palmitoleic acid; C17:1 = cis-10-heptadecanoic acid; C18:0 = stearic acid; C18:1n9c = oleic acid; C18:2n6c = linoleic acid; C18:3n3 =  $\alpha$ -Linolenic acid; c9, t11 C18:2 = conjugated linoleic acid; c12, t10 C18:2 = conjugated linoleic acid; C22:0 = behenic acid; C20:3n6 = cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid; C20:4n6 = arachidonic acid; C24:1n9 = nervonic acid; C22:6n3 = Docosahexaenoic acid.

<sup>2</sup>CLA = add conjugated linoleic acid for 1% of diet; CON = control diet; LSD = low stocking density; HSD = high stocking density

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>4</sup>Values are LS means of 7 replicates per treatment.

⌘ 11-39. Effect of stocking density and conjugated linoleic acid on meat fatty acid composition (% of total fatty acid methyl esters) in broiler chickens

Density (D) <sup>2</sup>	Trt <sup>2</sup>	CLA c9,t11	CLA t10,c12	C22:0	C20:3n6	C20:4n6	C24:1n9	C22:6n3
LSD		0.93	0.55	0.54	0.56	2.59	0.66	0.24
HSD		0.83	0.48	0.55	0.55	2.76	0.72	0.26
	CON	-	-	0.61	0.65 <sup>a</sup>	3.37 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>
	CLA	1.76	1.02	0.50	0.45 <sup>b</sup>	1.99 <sup>b</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>
P-value								
Density		0.37	0.32	0.84	0.43	0.65	0.49	0.43
Trt(T)		<.0001	<.0001	0.15	<.005	<.001	<.0001	<.005
D×T		0.37	0.32	0.79	0.46	0.87	0.80	0.80

For footnote, refer Table 2-10.

### 3. 히트 스트레스와 산란계 사료 내 arginine 첨가 효과

- 본 연구에서는 산란계 사료 내 arginine을 첨가하여 arginine의 효과를 관찰하고 히트 스트레스로 유발되는 생산성 저하를 막을 수 있는지 알아보려고 실시하였다. 연구재료와 실험 방법을 다음과 같다.
- 재료 및 방법
- 공시동물 및 실험설계: 총 42수의 60주령 Hyline Brown 산란계를 공시하여 진행하였다. 계사 내 온도는 낮 동안에 30~35℃를 유지하였다. 점등은 16L/8D로 유지하였다. 실험처리는 3 처리(대조구, arginine 0.5% 첨가, 1% 첨가)로서 처리당 6 반복으로 구성하였으며 각 반복은 케이지로 하였으며, 케이지당 2수 또는 3수의 산란계를 무작위로 배정하였다. 실험기간은 총 28일로, 사료 및 음수를 무제한 급여하였다. 실험 사료는 옥수수-대두박 기본 사료에 arginine을 첨가하여 제조하였으며, 무첨가사료는 대조구로 하였다(표 11-40). 본 실험의 절차는 건국대학교 동물실험윤리위원회의 승인하에 이루어졌다(승인번호 KU17135).
- 분석항목: 입식 후 7일간의 적응 기간을 거친 뒤, 실험을 개시하였다. 총 28일간 매일 산란율, 파란 비율을 측정하였다. 사료섭취량은 실험 14일 및 28일에 사료 잔량을 측정하여 계산하였다. 실험 개시 12~14일 및 26~28일에 산란율을 확인한 후 계란을 모두 수거하여 난질 분석을 하였다. 실험종료 28일에 처리당 6수를 선발하여 혈액을 채취하였다. 혈청은 원심분리하여 -20℃에 저장하였다.
- 난질분석: Eggshell lightness (QSM-System, TSS, York, UK) 및 egg weight, egg albumin height, yolkcolor (YF), Haugh unit, eggshell breaking strength 측정은 난질분석기 (DET 6000, NABEL Co. Ltd., Kyoto, Japan)를 이용하여 측정하였다. Egg shell에 묻은 난백을 제거하고 24h 건조 후 무게 측정하여 relative egg shell weight 계산하였다.
- 통계분석: 모든 데이터는 SAS 9.4 program을 이용, 3가지 처리에 대한 ANOVA test를 실시하였으며 처리구별 유의차를 검정하기 위해 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의 수준  $P < 0.05$ 에서 검정하였다. 모든 측정값은 LS mean으로 나타냈으며, pooled SEM 값을 제시하였다.
- 실험결과 및 고찰
- 산란 생산성
- 실험 15~28일 기간의 산란율은 arginine 0.5% 첨가구에서 대조구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ )(표 11-41). 실험 1~14일 기간의 파란율은 arginine 0.5%, 1% 첨가구

에서 모두 대조구에서 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 실험 1~14일, 15~28일 기간의 산란량은 arginine 0.5%, 1% 첨가구에서 모두 대조구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P<0.05$ ).

○ 계란 품질

○ 난각의 명도는 처리 간 차이가 발견되지 않았다. 난중은 유의적이지는 않았지만, 사료 내 arginine 수준이 증가할수록 증가하였다( $P=0.054$ ). 난백의 높이와 신선도의 지표인 Haugh unit는 처리 간 차이가 없었다. 난황색은 arginine 0.5% 처리구에서 가장 높았으며, arginine 1.0% 처리구에서 가장 낮게 조사되었다. 난각의 파각 강도는 처리에 따른 차이가 없었다. 난각 두께 역시 차이가 없었으며, 난각의 상대 무게도 차이를 나타내지 않았다.

○ 혈청 성분

○ 혈청은 콜레스테롤, 포도당, GOT, GPT, 인 함량을 분석하였다. 조사 결과, 사료 내 arginine 첨가에 따른 차이는 발견되지 않았다.

표 11-40. 기본 사료 성분표

Ingredients	g/100g
Corn	60.50
Soybean meal	14.95
Wheat bran	6.06
Limestone coarse	10.23
Canola meal	5.00
Tallow	1.00
Corn gluten meal	0.80
Dicalcium phosphate	0.76
Salt	0.30
Poultry mineral mix <sup>1</sup>	0.12
Poultry vit mix <sup>2</sup>	0.10
DL-Methionine, 98%	0.07
Phytase	0.05
NaHCO <sub>3</sub>	0.04
Choline-Cl, 50%	0.02
Calculated values	
CP, %	14.50
Ca, %	4.10
Avail. P, %	0.23
Lys, %	0.65
Met, %	0.33
TSAA, %	0.58
TMEn, kcal/kg	2,760

⌘ 11-41. Effect of dietary arginine levels on egg production in laying hens under heat stress condition

Items	CON <sup>1</sup>	Arg 0.5%	Arg 1.0%	SEM <sup>2</sup>	P-value
Egg production (%; 1~14 d)	51.0 <sup>3</sup>	62.8	63.3	3.89	0.091
Egg production (%; 15~28 d)	46.3 <sup>b</sup>	57.6 <sup>a</sup>	51.2 <sup>ab</sup>	2.37	0.025
Cracked egg (%; 1~14 d)	6.01 <sup>a</sup>	0.93 <sup>b</sup>	0.74 <sup>b</sup>	1.34	0.035
Cracked egg (%; 15~28 d)	5.07	1.81	2.94	2.06	0.549
Egg mass (1~14 d)	28.5 <sup>b</sup>	39.3 <sup>a</sup>	41.6 <sup>a</sup>	2.48	0.011
Egg mass (15~28 d)	25.8 <sup>b</sup>	36.2 <sup>a</sup>	33.6 <sup>a</sup>	1.36	0.001

<sup>1</sup>Arg 0.5% = add arginine for 0.5% of diet; Arg 1% = add arginine for 1.0% of diet; CON = control diet

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

⌘ 11-42. Effect of dietary arginine levels on egg quality in laying hens under heat stress condition

Items	CON <sup>1</sup>	Arg 0.5%	Arg 1.0%	SEM <sup>2</sup>	P-value
Egg shell lightness	35.41	37.50	37.37	1.05	0.365
Egg weight(g)	62.56	65.48	65.78	0.92	0.054
Albumin height(mm)	5.97	5.79	5.84	0.26	0.892
Yolk color	5.94 <sup>ab</sup>	6.16 <sup>a</sup>	5.73 <sup>b</sup>	0.08	0.003
Haugh unit	74.86	72.11	72.68	2.06	0.661
Egg shell strength(kg/cm <sup>2</sup> )	3.65	3.72	3.67	0.20	0.971
Egg shell thickness(mm)	0.38	0.36	0.37	0.008	0.472
Relative eggshell weight(%)	9.68	9.18	9.50	0.26	0.698

<sup>1</sup>Arg 0.5% = add arginine for 0.5% of diet; Arg 1% = add arginine for 1.0% of diet; CON = control diet

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

표 11-43. Effect of dietary arginine levels on serum parameters in laying hens under heat stress condition

Items <sup>2</sup>	CON <sup>1</sup>	Arg 0.5%	Arg 1.0%	SEM <sup>2</sup>	P-value
GOT (U/L)	146.7	132.8	148.3	14.815	0.746
GPT (U/L)	4.500	3.833	4.500	0.692	0.753
GLU (mg/dL)	248.8	239.7	231.8	13.260	0.717
TCHO (mg/dL)	126.3	130.2	153.3	18.010	0.679
IP ( $\mu$ M/L)	2.950	2.867	3.575	0.247	0.196

<sup>1</sup>Arg 0.5% = add arginine for 0.5% of diet; Arg 1% = add arginine for 1.0% of diet; CON = control diet.

<sup>2</sup>GLU = glucose; GOT = glutamic oxaloacetic transaminase; GPT = glutamic pyruvic transaminase; TCHO = total cholesterol; IP = inorganic phosphorus.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means

<sup>a,b</sup>Values (n=6/treatment) having a different superscript within a row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

#### 4. 밀사 스트레스와 육계 사료 내 gamma-aminobutyric acid (GABA) 첨가 효과

- 본 연구에서는 육계 사료 내 기능성 사료첨가제인 GABA를 첨가하여 GABA의 효과를 관찰하고 밀사 스트레스로 유발되는 생산성 또는 생리학적 반응 변화를 조절할 수 있는지 알아보려고 실시하였다. 본 연구에서는 1, 2차 년도와 비교하여 처리 효과를 높이기 위해 밀사 수준을 높게 설정하였다. 연구재료와 실험방법을 다음과 같다.
- 재료 및 방법
- 공시동물 및 실험설계: 총 900수의 1일령 ROSS 308 수컷 병아리를 공시하여 진행하였다. 실험처리는 4 처리(2가지 사육밀도[저밀도 7.5수/㎡; 고밀도 15수/㎡] × GABA 2수준)로서 처리 당 10 반복으로 구성하였으며, 실험기간은 총 35일로 옥수수-대두박 위주로 배합된 사료에 GABA 100ppm을 첨가하여 실험사료를 제조하였다. 기본 사료의 조성은 표 11-44에 제시하였다. 모든 동물실험 절차는 건국대학교 동물실험윤리위원회의 승인하에 이루어졌다(승인번호 KU182058).
- 시료채취 및 분석항목: 주별로 사료섭취량과 체중을 측정하여 사료요구율을 계산하였다. 실험 21일 또는 35일에 반복 별로 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 분석항목은 1, 2차 년도 실험과 유사하며 추가로 Clostridium perfringens, feather score와 체표면 온도를 측정하였다. 분석방법은 1, 2차 년도 재료

및 방법에 제시하였다.

- *C. perfringens* 분석: 실험종료 35일에 반복구별로 각 펜당 평균 무게의 개체를 1수씩 선발하여 CO<sub>2</sub>를 사용해 희생시킨 후 맹장을 채취하여 바로 아이스 상태로 보관하였다. 1 g의 맹장분을 9 ml의 증류수에 희석한 후 다시 희석한 용액의 1 ml을 9 ml의 증류수에 단계별 희석한 후 *Clostridium perfringens* 배양을 위한 특이 배지에 도말하고 34°C의 인큐베이터에서 혐기 상태로 배양하였다. 24시간 배양 후 *C. perfringens* 특이 colony를 측정하였다.
- Feather score 측정: 실험 35일에 반복구별로 각 펜당 3수씩 선발하여 머리, 목, 등, 가슴, 복부 부위에서 feather score를 실시하였다.
- 체표면 온도 측정: 실험 19~21 및 33~35일에 반복구별로 각 펜당 3수씩 3일간 선발하여 열감지 화상캠 (FLIR-300)을 통해, 육계의 머리, 가슴(복부), 다리 부분을 찍어 체표면 온도를 측정하였다.
- 통계분석: 모든 결과에 대한 통계 분석은 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였으며 2가지 요인 (2 × 2 factorial design)에 대해 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하였다. 처리구 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정 (Duncan, 1995)을 통해 유의 수준 P < 0.05에서 검정하였다. 모든 측정값은 Least square means로 나타냈으며 experimental unit은 pen으로 하였다.
- 결과 및 고찰
- 생산성
- 체중은 35일령에서 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 크게 증가하였다 (P<0.05). 일당증체량은 22~35일과 1~35일 기간에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구에 비해 유의하게 높게 나타났다 (P<0.05). 사료섭취량은 1~21일, 1~35일 기간에 저밀도 처리구가 고밀도 처리구에 비교해 높은 것으로 나타났다 (P<0.01). 사료요구율은 1~21일과 22~35일 기간에 고밀도 처리구에서 저밀도 처리구에 비교해 높게 나타났다 (P<0.01). GABA 첨가에 따른 육계 생산성에는 영향을 미치지 못하였다.
- 장기 무게
- 간의 무게는 21일령에 GABA를 첨가한 처리구에서 첨가하지 않은 처리구보다 유의적으로 증가하였다(P<0.05). 또한, 간의 무게는 35일령에 고밀도 처리구보다 저밀도 처리구에서 높았다(P<0.05). Bursa of Fabricius 의 무게는 21일령에 GABA를 첨가하지 않은 처리구에서 첨가한 처리구보다 유의적으로 증가하였다(P<0.05). 비장, 췌장 및 복강지방은 사육밀

도와 GABA 처리에 따른 차이가 발견되지 않았다.

○ 가슴육 수율 및 품질

○ 21일령 가슴육의 무게는 GABA를 첨가한 처리구가 미첨가구에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났지만( $P < 0.05$ ), 가슴육 수율에 대한 사육밀도 혹은 GABA 첨가에 따른 처리 간 유의차는 나타나지 않았다. 35일령 가슴육 무게는 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 21일령 가슴육의 가열감량은 GABA를 첨가한 처리구에서 첨가하지 않은 처리구보다 유의하게 높은 것으로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 사육밀도와 GABA 첨가에 따른 두 요인 사이의 상관관계도 관찰되었다( $P < 0.05$ ). 이는 GABA 첨가에 따른 가열감량이 저밀도 처리에서 증가하였기 때문에 발생하였다. 21일령 가슴육의 적색도(Redness)는 GABA를 첨가한 처리구가 첨가하지 않은 처리구보다 증가하였다( $P < 0.05$ ). 21일령 가슴육의 pH는 GABA를 첨가한 처리구보다 첨가하지 않은 처리구에서 유의하게 높은 것으로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 35일령에는 저밀도 처리구보다 고밀도 처리구에서 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ).

○ 다리육 수율 및 품질

○ 35일령 다리육의 무게와 상대 무게는 사육밀도와 GABA 처리 간 상관관계가 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 이러한 상관성은 GABA 첨가시 고밀도보다 저밀도에서 다리육의 중량이 더 많이 증가하였기 때문에 나타났다. Cooking loss는 저밀도 처리구보다 고밀도 처리구에서 유의하게 높았으며( $P < 0.05$ ), GABA를 첨가하지 않은 처리구보다 GABA 첨가한 처리구에서 유의하게 증가하였다( $P < 0.01$ ). 다리육의 명도와 pH는 GABA 처리 효과를 나타내었다.

○ 경골특성

○ 35일령 경골의 상대 중량은 저밀도 처리구보다 고밀도 처리구에서 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 35일령 경골 단경(길이)은 GABA를 첨가한 처리구에서 첨가하지 않은 처리구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 경골의 파쇄강도는 밀도와 GABA 요인 간 상관성이 발견되었다( $P = 0.054$ ). 이러한 상관성은 GABA 첨가시 저밀도 처리에서 파쇄강도가 증가하였지만, 고밀도에서 반대로 감소한 결과로 나타났다. 경골의 회분 함량에는 처리 간 차이가 발견되지 않았다.

○ Feather score 측정 결과

○ Feather score는 GABA 첨가에 따른 차이가 발견되지 않았으며, 사육밀도와 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 고밀도 처리구에서 목, 등, 가슴 및 복부 부위의 feather score가 저밀도 처리구보다 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). Feather score는 종종 육계의 복지 지표로 활용되고 있다. 따라서, 고밀사 처리구에서 복지 지표가 감소하였다는 것을 추측할 수 있다.

- 체표면 온도 측정 결과
- 체표면 온도는 머리와 가슴 부위에서는 사육밀도 혹은 GABA 첨가에 따른 처리 간유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 21일령 다리의 체표면 온도는 저밀도 처리구보다 고밀도 처리구에서 유의하게 높았으며( $P<0.05$ ), 사육밀도와 GABA 두 요인 사이에도 상관관계가 관찰되었다( $P<0.05$ ).
- 회장 sIgA 분석결과
- 회장 sIgA는 사육밀도 혹은 GABA 첨가에 따른 처리 간 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 이는 GABA 첨가시 저밀도 처리구에서 shank의 체표면 온도가 증가하였기 때문에 발생하였다.
- 혈액 내 항산화, 면역 및 스트레스 지표
- 전혈 내 스트레스 지표 중 heterophil : lymphocyte ratio가 GABA 첨가구에서 미첨가 대조구보다 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 또한, 혈청 내 alpha-1-acid glycoprotein의 함량은 저밀도 처리구보다 고밀도 처리구에서 유의하게 높은 것으로 나타났으나( $P<0.05$ ), GABA 첨가구에서 미첨가 대조구보다 수적으로 증가하였다( $P=0.07$ ). 35일령 혈청 내 nitric oxide의 함량은 GABA 첨가구에서 미첨가 대조구보다 유의하게 높았으며( $P<0.05$ ), 21일령에도 유의적이지는 않았지만, 수적으로 높게 관찰되었다( $P=0.06$ ). 혈청 내 corticosterone 함량은 사육밀도 혹은 GABA 첨가에 따른 처리구간의 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다. 하지만, GABA 첨가구에서 미첨가 대조구보다 수적으로 낮은 수치를 나타내었다( $P=0.09$ ). 항산화 지표인 TAC 함량은 처리에 따른 차이가 발견되지 않았다.
- 혈청 성분
- GABA 첨가구는 미첨가 대조구보다 GOT, TCHO, ALB:GLB가 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 고밀도 처리구는 저밀도 처리구보다 유의적으로 높은 TCHO, HDL, TP, ALB, GLB 수치를 보였다( $P<0.05$ ). ALB:GLB는 사육밀도와 GABA 간 상관관계가 나타났다( $P<0.05$ ). 이는 GABA 첨가시 ALB:GLB 비율이 저밀도에서 증가하였기 때문에 발생하였다. 하지만, GPT, 칼슘, 인, 요산의 함량은 처리 간 차이가 발견되지 않았다. 혈청 내 칼슘 함량은 두 요인 간 상관성( $P=0.051$ )이 발견되었는데, 이는 GABA 첨가에 따른 칼슘 함량이 저밀도 처리에서 증가하였기 때문이었다.
- 맹장 C. perfringens 수준
- 맹장 내 Clostridium perfringens 수는 사육밀도 혹은 GABA 첨가에 따른 처리 간 유의차

가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았다.

○ 맹장 내 휘발성 지방산

○ 21일령 맹장 내 isobutyrate 함량과 35일령 total short-chain fatty acid는 사육밀도와 GABA 처리 간 상관관계가 관찰되었다(P<0.05). 이러한 상관성은 GABA 첨가시 저밀도에 서는 휘발성 지방산이 낮아졌지만, 고밀도에서는 증가하였기 때문에 발생하였다. 하지만, 처리에 따른 휘발성 지방산 함량에는 차이가 발견되지 않았다.

표 11-44. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on growth performance in broiler chickens<sup>1</sup>

Item <sup>2</sup>	Density	Low		High		SEM <sup>3</sup>	P-value		
	GABA <sup>3</sup> (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G <sup>4</sup>
BW, g/bird									
1 d		45.35	45.47	45.38	45.44	0.109	1.000	0.417	0.833
21 d		719.2	746.5	703.8	714.4	11.744	0.051	0.116	0.482
35 d		1772.1	1816.7	1709.1	1738.8	25.378	0.010	0.158	0.775
BWG, g/d/bird									
1 to 21 d		32.09	33.38	31.36	31.85	0.558	0.050	0.117	0.482
22 to 35 d		75.21	76.44	71.80	72.88	1.567	0.035	0.472	0.960
0 to 35 d		49.34	50.61	47.53	48.38	0.725	0.010	0.159	0.775
FI, g/d/bird									
1 to 21 d		48.38	48.95	43.97	44.67	0.644	<.0001	0.331	0.923
22 to 35 d		116.9	117.5	115.0	117.1	1.757	0.516	0.452	0.687
1 to 35 d		75.71	76.31	72.30	73.44	0.923	0.002	0.352	0.774
FCR, g/g									
1 to 21 d		1.508	1.467	1.405	1.404	0.015	<.0001	0.324	0.079
22 to 35 d		1.557	1.539	1.608	1.618	0.020	0.003	0.843	0.493
1 to 35 d		1.535	1.509	1.522	1.526	0.010	0.844	0.299	0.156
Mortality, %									
		5.333	2.667	4.667	8.000	0.364	0.183	0.924	0.110

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>BW = body weight; BWG = body weight gain; FI = feed intake; FCR = feed conversion ratio.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

<sup>4</sup>D×G = Interaction between density and gamma-aminobutyric acid.

⌘ 11-45. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on relative organ weight (g/100g of live body weight) in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G
Liver									
21 d		3.459	3.508	3.202	3.563	0.085	0.244	0.021	0.075
35 d		2.777	2.520	2.865	3.008	0.110	0.013	0.608	0.077
Spleen									
21 d		0.119	0.120	0.135	0.116	0.009	0.506	0.348	0.299
35 d		0.141	0.140	0.133	0.137	0.014	0.709	0.926	0.863
Bursa of Fabricius									
21 d		0.255	0.201	0.252	0.223	0.018	0.590	0.029	0.483
35 d		0.237	0.211	0.177	0.225	0.020	0.245	0.575	0.069
Pancreas									
21 d		0.394	0.399	0.439	0.423	0.023	0.136	0.824	0.641
35 d		0.317	0.324	0.307	0.316	0.015	0.537	0.572	0.968
Abdominal Fat									
21 d		0.779	0.691	0.645	0.688	0.060	0.260	0.710	0.280
35 d		0.991	0.818	0.885	0.909	0.072	0.916	0.309	0.183

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-46. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on breast meat yield (g/100g of live body weight) and meat quality in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
Fresh weight, g									
21 d		47.93	52.77	47.07	49.17	1.325	0.111	0.016	0.321
35 d		145.2	147.6	140.1	133.1	4.551	0.041	0.624	0.315
Meat yield, %									
21 d		6.852	7.198	6.996	6.813	0.134	0.406	0.570	0.072
35 d		8.209	8.206	8.114	7.689	0.164	0.093	0.234	0.240
Cooking loss, %									
21 d		20.29	24.39	22.99	23.02	0.842	0.454	0.024	0.026
35 d		23.37	22.66	21.62	22.67	1.486	0.568	0.913	0.561
CIE L* (lightness)									
21 d		49.96	51.19	51.18	51.45	0.529	0.192	0.185	0.388
35 d		53.28	53.31	52.59	52.15	1.001	0.374	0.843	0.817
CIE a* (redness)									
21 d		2.234	2.578	1.703	2.160	0.320	0.179	0.255	0.871
35 d		1.053	0.690	0.698	0.988	0.292	0.923	0.902	0.277
CIE b* (yellowness)									
21 d		13.69	14.50	13.47	14.73	0.485	1.000	0.042	0.652
35 d		12.06	12.40	11.60	11.88	0.414	0.272	0.480	0.951
pH									
21 d		5.933	5.800	5.905	5.860	0.031	0.634	0.011	0.190
35 d		5.745	5.775	5.845	5.863	0.040	0.030	0.570	0.881

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-47. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on leg meat yield (g/100g of live body weight) and meat quality in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G
Fresh weight, g									
21 d		45.09	48.58	44.57	45.26	1.394	0.182	0.148	0.330
35 d		118.7	129.2	124.5	120.1	2.985	0.589	0.314	0.018
Meat yeild, %									
21 d		6.450	6.688	6.403	6.324	0.133	0.130	0.553	0.240
35 d		6.741	7.151	7.201	7.087	0.120	0.107	0.223	0.035
Cooking loss, %									
21 d		33.25	35.48	30.60	33.38	0.864	0.012	0.008	0.762
35 d		28.97	29.82	30.23	28.08	1.107	0.836	0.579	0.204
CIE L* (lightness)									
21 d		57.14	58.61	57.03	59.21	0.922	0.793	0.055	0.702
35 d		53.14	53.09	54.75	53.22	0.869	0.338	0.385	0.412
CIE a* (redness)									
21 d		6.779	5.984	6.433	6.137	0.427	0.827	0.223	0.574
35 d		7.046	7.266	6.220	6.921	0.534	0.280	0.394	0.655
CIE b* (yellowness)									
21 d		17.88	17.05	16.89	17.76	0.662	0.844	0.976	0.224
35 d		15.74	15.72	15.61	15.23	0.508	0.554	0.701	0.731
pH									
21 d		6.461	6.370	6.510	6.430	0.042	0.205	0.050	0.896
35 d		6.310	6.220	6.260	6.235	0.056	0.754	0.307	0.562

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-48. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on tibia characteristics in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G
Fresh weight, g									
21 d		6.608	6.729	6.586	6.586	0.157	0.603	0.701	0.702
35 d		15.82	16.49	16.04	16.35	0.326	0.898	0.146	0.588
Weight, g/100g of live body weight									
21 d		0.947	0.926	0.951	0.946	0.019	0.528	0.501	0.664
35 d		0.884	0.915	0.929	0.968	0.021	0.023	0.097	0.835
Diameter, cm									
21 d		0.510	0.510	0.500	0.520	0.014	1.000	0.490	0.490
35 d		0.710	0.750	0.700	0.750	0.020	0.801	0.028	0.801
Length, cm									
21 d		7.356	7.440	7.290	7.340	0.059	0.172	0.265	0.773
35 d		10.17	10.19	10.13	10.03	0.099	0.321	0.690	0.550
Breaking strength, kgf									
21 d		15.85	15.51	14.17	15.33	0.601	0.130	0.500	0.216
35 d		30.76	33.15	33.36	29.98	1.426	0.845	0.735	0.054
Ash, g/100g of DM									
21 d		30.43	30.60	30.05	29.72	0.711	0.381	0.918	0.727
35 d		27.43	27.22	27.55	27.19	0.484	0.921	0.559	0.880

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-49. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on feather coverage score in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
35 d									
Head		3.56	3.54	3.56	3.52	0.084	0.906	0.724	0.906
Dorsal neck		3.48	3.44	3.16	3.12	0.102	0.003	0.698	1.000
Back		3.84	3.80	3.38	3.22	0.087	<.0001	0.256	0.493
Front neck		3.26	3.40	3.08	3.00	0.112	0.014	0.790	0.332
Breast		3.54	3.50	2.96	2.70	0.123	<.0001	0.232	0.378
Belly		3.10	3.02	2.32	2.14	0.131	<.0001	0.327	0.704
Average score		3.46	3.45	3.08	2.95	0.068	<.0001	0.313	0.413

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-50. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on body surface temperature (°C) in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
Head									
21 d		35.52	35.59	35.57	35.52	0.168	0.961	0.961	0.701
35 d		34.87	34.79	34.99	34.92	0.153	0.400	0.626	0.965
Breast									
21 d		36.08	36.39	36.47	36.21	0.158	0.507	0.879	0.077
35 d		35.06	34.94	35.19	35.15	0.246	0.494	0.757	0.882
Shank									
21 d		35.69	36.09	36.42	36.12	0.150	0.017	0.753	0.024
35 d		35.51	35.62	35.54	35.71	0.265	0.842	0.596	0.906

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-51. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on concentration of ileal secretory immunoglobulin A (sIgA) in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G
sIgA, ng/ug of protein									
21 d		8.602	8.678	8.747	10.116	1.640	0.632	0.662	0.695
35 d		16.74	17.59	18.95	20.36	1.790	0.173	0.532	0.874

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-52. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on physiological stress indicator in broiler chickens<sup>1</sup>

Item <sup>2</sup>	Density	Low		High		SEM <sup>3</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D×G
H/L ratio									
35 d		0.305	0.223	0.351	0.215	0.046	0.705	0.037	0.585
CORT, ng/ml									
35 d		0.550	0.392	0.477	0.278	0.098	0.363	0.088	0.843
AGP, mg/ml									
35 d		1.360	1.473	1.210	1.334	64.437	0.031	0.074	0.939
NO, uM									
21 d		9.35	13.64	13.12	14.63	1.360	0.113	0.056	0.348
35 d		10.57	12.85	9.36	13.70	1.405	0.901	0.028	0.479
TAC, mM									
21 d		0.852	0.879	1.001	0.914	0.054	0.097	0.586	0.300
35 d		0.935	0.911	0.902	0.985	0.052	0.701	0.569	0.309

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>H/L ratio = heterophil to lymphocyte ratio; CORT = corticosterone; AGP = alpha-1-acid glycoprotein; NO = nitric oxide; TAC = total antioxidant capacity.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-53. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on serum biochemistry in broiler chickens<sup>1</sup>

Item <sup>2</sup>	Density	Low		High		SEM <sup>3</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
35 d									
GPT, U/L		4.000	3.900	4.000	4.000	0.296	0.872	0.872	0.872
GOT, U/L		162.4	186.6	153.5	173.5	7.907	0.495	0.009	0.116
GLU, mg/dL		458.9	474.2	423.2	416.1	26.455	0.094	0.881	0.682
TCHO, mg/dL		73.44	84.10	89.90	89.00	3.760	0.009	0.037	0.223
TG, mg/dL		136.0	147.4	160.0	138.8	14.200	0.613	0.747	0.285
HDL, mg/dL		29.22	41.20	42.63	45.89	3.314	0.015	0.134	0.411
TP, g/dL		2.578	2.590	3.000	3.256	0.121	0.0001	0.289	0.334
ALB, g/dL		0.920	0.963	1.080	1.189	0.047	0.0004	0.135	0.507
GLB, g/dL		1.750	1.630	1.920	2.067	0.083	0.001	0.875	0.123
ALB : GLB		0.522	0.589	0.564	0.576	0.012	0.232	0.002	0.026
P, mg/dL		12.13	11.79	13.31	12.47	0.629	0.148	0.355	0.694
Ca, mg/dL		11.78	12.27	12.49	12.04	0.220	0.304	0.933	0.051
UA, mg/dL		9.70	10.74	11.66	11.03	0.902	0.221	0.822	0.361

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>GPT = glutamic pyruvic transaminase; GOT = glutamic oxaloacetic transaminase; GLU = glucose; TCHO = total cholesterol; TG = triglyceride; HDL = high density lipoprotein; TP = total protein; ALB = albumin; GLB = globulin; P = phosphorus; Ca = calcium; UA = uric acid.

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-54. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on cecal *Clostridium perfringens* counts (log<sub>10</sub> cfu/g) in broiler chickens<sup>1</sup>

Item	Density	Low		High		SEM <sup>2</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
<i>C. perfringens</i>		7.090	7.521	7.405	7.380	0.167	0.612	0.238	0.187

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>SEM = pooled standard error of the means.

⌘ 11-55. Effect of stocking density and dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) on concentration of ileal secretory immunoglobulin A (sIgA) in broiler chickens<sup>1</sup>

Item <sup>2</sup>	Density	Low		High		SEM <sup>3</sup>	P-value		
	GABA (ppm)	0	100	0	100		Density	GABA	D × G
21 d									
Acetate		40.06	34.62	37.22	36.94	2.958	0.932	0.356	0.402
Propionate		5.385	4.772	5.681	5.570	0.422	0.229	0.424	0.578
Isobutyrate		0.429	0.327	0.365	0.484	0.050	0.388	0.875	0.047
Butyrate		11.347	10.932	10.661	9.728	1.456	0.526	0.651	0.862
Isovalerate		0.456	0.354	0.389	0.493	0.069	0.619	0.988	0.154
Valerate		0.722	0.646	0.625	0.692	0.083	0.772	0.959	0.411
BCFA		1.603	1.463	1.531	1.886	0.184	0.398	0.603	0.236
Total SCFA		58.92	51.62	54.68	54.18	4.448	0.856	0.401	0.464
35 d									
Acetate		70.86	46.97	62.77	74.82	10.418	0.356	0.579	0.098
Propionate		9.950	8.003	9.341	9.678	1.788	0.770	0.660	0.533
Isobutyrate		1.306	1.025	1.345	1.515	0.247	0.299	0.827	0.375
Butyrate		26.39	14.25	19.45	20.36	3.660	0.911	0.134	0.083
Isovalerate		1.528	1.250	1.570	1.617	0.318	0.536	0.727	0.622
Valerate		1.884	1.381	1.916	1.993	0.326	0.344	0.531	0.393
BCFA		4.718	3.656	4.830	5.115	0.862	0.393	0.671	0.463
Total SCFA		123.2	72.9	96.4	114.9	15.004	0.623	0.311	0.032

<sup>1</sup>Values are least-square means of 10 replicates per treatment.

<sup>2</sup>BCFA = branched-chain fatty acid (isobutyrate + valerate + isovalerate); Total SCFA = total short-chain fatty acid (acetate + propionate + butyrate + isobutyrate + valerate + isovalerate).

<sup>3</sup>SEM = pooled standard error of the means.

제 12장. 고온기 닭 사양관리 매뉴얼

1. 고온 스트레스 사료 관리

여름철 사료섭취량 감소 원인

- 고온 스트레스로 식욕 감소
- 영양소의 체내 대사과정에 열로 방출되는 에너지는 닭에게 열에 의한 부담이 가중됨
- 사료 에너지 함량을 낮춰도 섭취량은 증가하지 않음

<기온과 산란계의 에너지 섭취량>

사료 대사에너지 (kcal/kg)	18°C		30°C	
	1일 사료섭취량 (g)	1일 에너지 섭취량 (kcal)	1일 사료섭취량 (g)	1일 에너지 섭취량 (kcal)
2860	127	363	107	306
3060	118	360	104	320
3250	112	364	102	330
3450	106	365	101	350

해결방안

① 아미노산의 균형 유지

- ▶ 아미노산의 균형을 무시한 고단백질 사료는 열량증가로 인한 열 발생을 증가시켜 고온 스트레스가 가중됨
- ▶ 영양소별 열량증가: 단백질 > 탄수화물 > 지방

② 지방의 첨가

- ▶ 기호성 증진
- ▶ 다른 영양소에 비교해 열량증가가 적음

③ 비타민과 광물질 함량 강화

## 2. 사료 내 아르지닌 첨가

### □ 아르지닌의 필요성

- 닭의 포유동물과 다르게 요소회로가 없어 아르지닌이 필수 아미노산임
- 아르지닌은 체내에서 합성되지 않기 때문에 대부분의 요구량을 사료로 공급해야 함
- 아르지닌은 단백질 합성, 면역 조절 등 다양한 생물학적 기능을 수행함
  - ▶ 크레아틴, 산화질소, 폴리아민, 오르니틴 등 합성
- 산화질소는 혈관 확장 등 기능을 수행하여, 체내 열 발생을 효율적으로 배출될 수 있도록 임무를 수행함
- 따라서, 고온 스트레스 상황에서 **아르지닌의 요구량이 증가함**

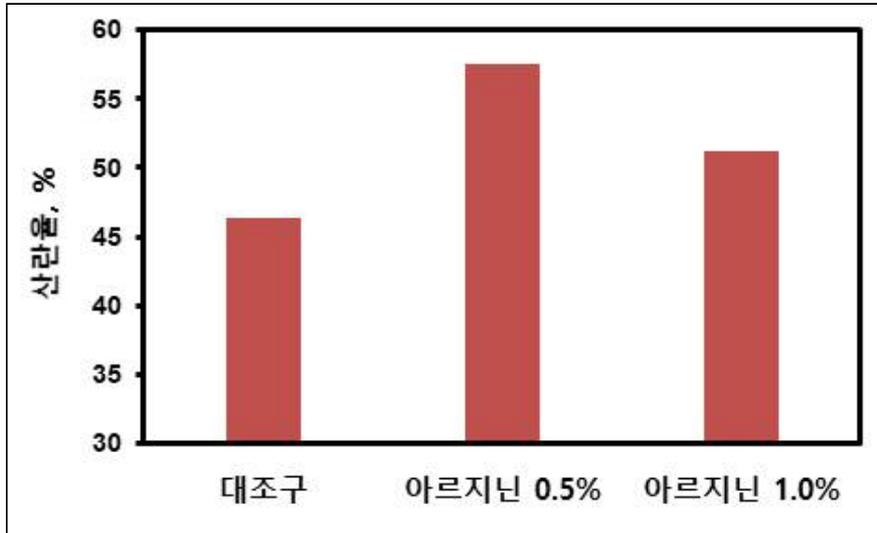
### □ 아르지닌의 첨가 효과

- 아르지닌을 대조구 대비 125% 추가 급여하면, 고온 스트레스를 받은 육계의 생산성이 향상됨 (표 2)
  - ▶ 증체량과 사료요구율이 향상됨

<아르지닌 첨가 급여가 고온 스트레스의 육계 생산성에 미치는 효과>

사육온도	아르기닌	증체량 (g)	사료섭취량 (g)	사료요구율
20°C	100	1,302	2,717	2.09
	125	1,400	2,891	2.07
31°C	100	1,088	2,263	2.08
	125	1,148	2,243	1.96

- 여름철 산란계 사료에 아르지닌을 추가로 급여하면 산란율이 향상됨
  - ▶ 고온 스트레스로 발생하는 아르지닌 요구량을 충족시켜 생산성이 향상됨

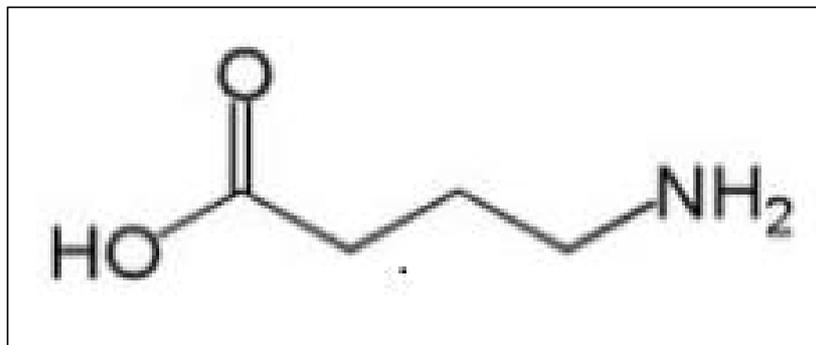


<아르지닌 첨가 급여가 고온 스트레스의 산란계 생산성에 미치는 효과>

### 3. 사료 내 가바(gamma-aminobutyric acid) 첨가

#### □ 사료첨가제 가바의 필요성

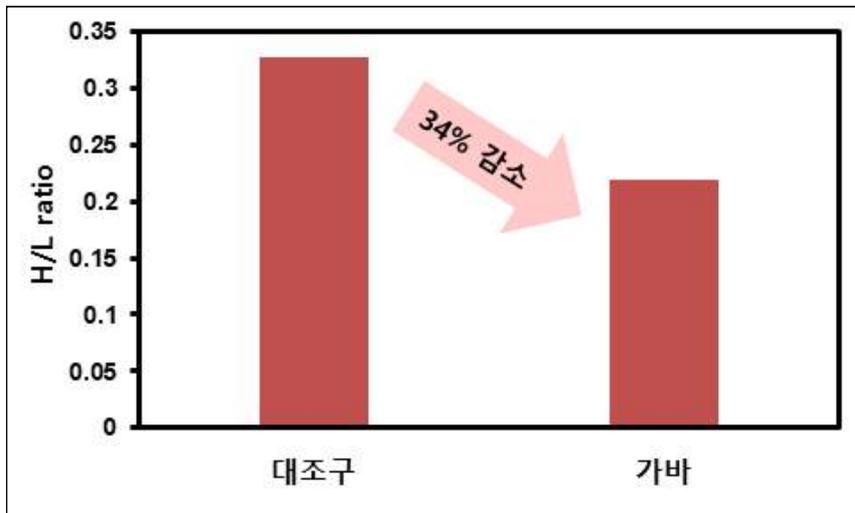
- 고온 스트레스는 닭에게 심각한 스트레스를 유발하며 닭의 복지를 떨어뜨리기 때문에 스트레스 감소시킬 수 있는 첨가제 공급이 필요함
- GABA(가바)로 약칭되는  $\gamma$ -aminobutyric acid은 비단백질성 아미노산으로서 채소, 과일, 쌀이나 현미 등의 곡류에 함유되어 있고 사람을 포함하여 고등동물, 무척추동물과 곤충 등에서 신경전달 물질로 작용하며 식물체에서는 방어적인 기전에 관여하는 물질로 알려짐
- 가바는 뇌의 혈류를 개선하는 효과가 밝혀지면서 뇌의 대사 향상 및 의욕저하의 치료제로써 사용됐고, 뇌 건강에 미치는 가바의 영향에 대하여 주목하면서 “Brain food” 라고도 함
- 가바는 스트레스 억제, 집중력 강화, 혈압 강하 효과가 알려지면서 건강기능식품을 포함하여 활용범위가 점차 확산이 되고 있음



<GABA의 구조>

#### □ 사료첨가제 가바의 첨가 효과

- 가바 첨가시 스트레스 지표인 heterophil : lymphocyte의 비율이 감소함
- 스트레스 환경에서 사료 내 가바를 100ppm 첨가하면 닭에서 발생하는 스트레스를 완화시켜 닭의 복지와 강건성을 높일 수 있음



<GABA의 첨가 효과>

## <연구개발성과>

□ SCI 논문 6건, 비 SCI급 논문 1건, 국내외 학술발표 4건 발표

게재연도	논문명	저자명	학술지명	권(호)	국내외 구분	SCI구분
2016	Effect of lycopene on the copper-induced oxidation of low-density lipoprotein in broiler chickens	이경우 외	SpringerPlus	5	국외	SCI
2016	Growth Performance, Relative Meat and Organ Weights, Cecal Microflora, and Blood Characteristics in Broiler Chickens Fed Diets Containing Different Nutrient Density with or without Essential Oils	이경우 외	Asian-Australasian Journal of Animal Sciences	29(4)	한국	SCI
2016	Organ Weights, and Blood Characteristics of Broiler Chickens	안병기 외	Brazilian Journal of Poultry Science	18(2)	국외	SCI
2018	Effects of fumonisin B1 and mycotoxin binders on growth performance tibia characteristics, gut physiology, and stress indicators in broiler chickens raised in different stocking densities	이상 외	Poult. Sci.	97	국외	SCI
2018	Effects of dietary lycopene or tomato paste on laying performance and serum lipids in laying hens and on malondialdehyde content in egg yolk upon storage	안병기 외	J. Poult. Sci.	56	국외	SCI
2018	Effects of dietary <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> -derived single cell protein on growth performance, blood and tibia bone characteristics, and meat quality of broiler chickens	안병기 외	J. Anim. Feed Sci.	27	국외	SCI
2018	산란계 주령이 계란의 품질에 미치는 효과	김동준 외	한국가금학회지 = Korean journal of poultry science		한국	비SCI
2019년 4월 게재예정*	여름철 $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) 급여가 산란계 폐사율에 미치는 영향	최양호 외	농업생명과학연구		한국	비SCI
2019년 4월 게재예정*	여름철 산란계사 내 열환경인자 중 제어요소에 관한 연구	김성완 외	농업생명과학연구		한국	비SCI

\*게재예정 증명서

농업생명과학연구  
제2019-15호

## 논문게재예정증명서

논문 제목: 여름철  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) 급여가 산란계 폐사율에 미치는 영향  
(Effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid on mortality in laying hens during summer time )

저 자: 최양호

소 속: 경상대학교 축산학과, 농업생명과학연구원  
\*교신저자

발 간 일: 2019년 4월 30일(Vol. 53, No. 2)

상기 논문은 「농업생명과학연구」에 정식 투고되었으며, 소정의 절차를 거쳐 한국연구재단 등재지인 「농업생명과학연구」 제53권 2호에 게재될 예정입니다.

2019년 02월 13일

경상대학교 부속 농업생명과학연구원장



농업생명과학연구  
제2019-08호

## 논문게재예정증명서

논문 제목: 여름철 산란계사 내 열환경인자 중 제어요소에 관한 연구  
(Study on Control of Thermal Environmental Factors for Improvement of Productivity of Laying Hens in Summer)

저 자: 김성완<sup>1,3</sup> · 이태훈<sup>3</sup> · 차광준<sup>1,3</sup> · Winson M. Gutierrez<sup>4</sup> · 장홍희<sup>2,3\*</sup>

소 속: <sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부(BK21 Plus)  
<sup>2</sup>경상대학교 부속 농업생명과학연구원  
<sup>3</sup>경상대학교 축산학과  
<sup>4</sup>Department of Animal Science, College of Agriculture, Central Mindanao University

\*교신저자

발 간 일: 2019년 4월 30일(Vol. 53, No. 2)

상기 논문은 「농업생명과학연구」에 정식 투고되었으며, 소정의 절차를 거쳐 한국연구재단 등재지인 「농업생명과학연구」 제53권 2호에 게재될 예정입니다.

2019년 01월 25일

경상대학교 부속 농업생명과학연구원장



□ 특허출원 4건, 특허등록 1건, 기술이전 4건, 제품화 3건

번호	구분	명칭	국명	소속기관	출원일	출원번호	비고
1	특허출원	가축용 최적 사육환경 제공 시스템	한국	경상대학교	2017-09-07	10-2017-0114250	
2	특허출원	대장균 형질전환체를 이용한 감마아미노부틸산의 생산방법 및 감마아미노부틸산 함유 사료첨가제의 제조방법	한국	(주)셀텍	2017-10-30	10-2017-0142433	
3	특허출원	가축용 더위 스트레스 경감 시스템	한국	경상대학교	2017-11-03	10-2017-0145772	
4	특허출원	수냉식 라디에이터를 이용한 축사 환기 시스템	한국	경상대학교	2017-11-15	10-2017-0152354	
5	특허등록	대장균 형질전환체를 이용한 감마아미노부틸산의 생산방법 및 감마아미노부틸산 함유 사료첨가제의 제조방법	한국	(주)셀텍	2018-07-31	10-1885878	
6	기술이전	“육계 스트레스 저감용 지방산 사료첨가제“에 관한 노하우 기술이전	한국	(주)셀텍	2018-4-25		노하우
7	기술이전	“육계 스트레스 저감용 아미노산 사료첨가제“에 관한 노하우	한국	(주)셀텍	2018-4-25		노하우
8	기술이전	사료 및 가금의 산물에서 GABA의 정량	한국	(주)셀텍	2018-11-12		노하우
9	기술이전	가금사료에서 GABA의 제형과 급여 방법	한국	(주)셀텍	2018-11-12		노하우
10	사업화	가축용 스트레스 저감용 사료첨가제 제형 개발	한국	(주)셀텍	2018-11-12		상품화
11	사업화	산란계용 스트레스 저감용 사료첨가제 제형 개발	한국	(주)셀텍	2018-1212		상품화
12	사업화	육계용 스트레스 저감용 사료첨가제 제형 개발	한국	(주)셀텍	2018-12-17		상품화

□ 학술발표 4건

번호	발표명	학회명	발표자	발표일시	장소/국명	비고
1	Effects of stocking density, fumonisin B1, or mycotoxin	미국가금학회	이경우	2017.7.19	올랜드/미국	

	binder on growth performance, bone quality, stress indicators, and gut physiology in broiler chickens					
2	Effects of fumonisin B1 and mycotoxin binder on relative organ weights, meat quality and serum characteristics in broiler chickens housed at different stocking density	미국가금학회	이상	2017.7.18	올랜드/미국	
3	Effects of arginine supplementation on growth performance and physiological traits in broiler chickens raised under different stocking density	미국가금학회	김다혜	2018.7.24	샌안토니오/미국	
4	지속적으로 고온에 노출된 산란계에서 개구호흡과 온습도지수와의 관계를 조사	한국축산학회	강석민	2017.6.30	전남대학교/한국	

□ 교육지도 5건, 정책활용 3건, 홍보실적 1건, 수상실적 2건, 기타 2건, 고용창출 3건

번호	구분	명칭	국명	소속기관	일자	비고
1	교육지도	가금의 스트레스 저감 방안	대한민국	건국대	2018.04.25	영양사료 업계
2	교육지도	산란계 후기 난각질 강화 전략	대한민국	건국대	2017.07.05	영양사료 업계
3	교육지도	가축 사료용 아미노산의 사용효과	대한민국	건국대	2016.07.13	영양사료 업계
4	교육지도	환경스트레스의 영양학적 조절 방법	대한민국	건국대	2018.06.27	농협사료
5	교육지도	국내 계란생산 시스템 현황	대한민국	건국대	2017.09.01	한국축산 식품학회
6	홍보실적	산란계 골격과 난각품질 향상	대한민국	건국대	2018.04.	양계연구
7	인력양성	석사과정(김다혜)	대한민국	건국대	2018.02.22	
8	인력양성	석사과정(금명철)	대한민국	건국대	2018.02.22	
9	인력양성	석사과정(이상)	대한민국	건국대	2018.02.22	
10	수상실적	한국가금학회 포스터발표분야 우수논문	대한민국	건국대	2016.11.11	

		발표상				
11	수상실적	한국가금학회 구두발표분야 우수논문 발표상	대한민국	건국대	2017.11.10	
12	정책활용	가축사육기준에서 육계의 단위면적당 사육 수수 추가	대한민국	경상대학 교	2019-02-13	
13	정책활용	여름철 고온기에 산란계에게 냉수 급여	대한민국	경상대학 교	2019-02-13	
14	정책활용	하절기 산란계 폐사 저감수단으로 $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) 급여	대한민국	경상대학 교	2019-02-13	
15	기타	고온기 계사 시설환경 관리	대한민국	경상대학 교		메뉴얼
16	기타	고온기 닭 사양관리	대한민국	건국대		메뉴얼
17	고용창출	현석호	대한민국	(주)우창이 엔지	2018-05-01	정규직
18	고용창출	임형재	대한민국	(주)우창이 엔지	2018-11-07	정규직
19	고용창출	조남식	대한민국	(주)셀텍	2018-11-12	정규직

## <주요 연구결과>

### 가. 기술적 성과

- 본 과제를 통해 육계/산란계 사육시설 및 사육밀도 등을 분석하여 닭의 더위 스트레스 요인 구명함은 물론 인덱스를 개발하여 닭의 환경 스트레스 저감형 사육시스템(IT 기술, 사료 및 사료첨가제 등)을 개발함
- 본 과제를 통해 총 4건의 특허출원과 1건의 특허등록을 완료하였으며, 특허등록 1건을 통해 참여기업에 기술이전을 실시함으로써 정량적 목표를 조기에 달성함은 물론 제품화를 실시하였음
- 연구결과를 바탕으로 제품화 3건을 실시하였으며, 시장에 보급함으로써 닭의 환경 스트레스 저감에 도움을 줄 것으로 판단됨.

### 나. 경제적 성과

- 참여기업 (주)셀텍에서 본 과제를 통해 얻어진 기술이전 4건을 통해 제품화 3건을 이미 실시하였고 앞으로 빠른 시일 내에 매출액증대, 고용창출 및 관련 사업에 기술적 기여를 할 예정임

### 다. 결과요약

- 닭의 환경 스트레스 인덱스를 기반으로 한 IT 기술 기반 환경 스트레스 요인 측정 기술을 개발함
  - 여름철 건구온도와 THI 그리고 더위 스트레스 인자의 지속시간과 더위 스트레스 인자로부터의 회복 시간을 1일 단위로 산란계의 생산성 지표와 비교 분석한 결과, 각 열환경인자가 상승할수록 생산성 지표가 저하되고 음수량이 증가하는 것을 확인함( $p < 0.001$ ). 그러므로 계사 내 1일 최고건구온도 등을 낮추려는 노력이 필요함.
  - 여름철 환기방식에 따른 육계와 산란계의 생산성 지표를 비교한 결과, 크로스 환기 방식에 비해 터널환기방식에서 계사 내부의 온습도에는 큰 차이가 없었음에도 불구하고, 생산성 지표가 상대적으로 높게 나타났다( $p < 0.001$ ). 그러므로 풍속이 더위 스트레스 저감에 효과적일 수 있을 것으로 판단됨.
  - 육계와 산란계의 환경 스트레스 인덱스를 기준으로 IT 기술 기반 환경 스트레스 요인 측정 기술을 개발하여 THI를 기준으로 사용자가 앱을 통해 농장을 제어할 수 있도록 함.
  - 사육밀도가 육계의 생산성 지표에 미치는 영향을 알아본 실험 결과, 체중과 일당 증체량 등의 생산성 지표가 저밀도 처리구가 고밀도 처리구보다 유의하게 크게 증가하였다 ( $P < 0.05$ ).
- 육계와 산란계의 환경 스트레스 요인 및 생리지표 분석하여 환경 스트레스 요인을 구하고 인덱스를 개발함
  - 환경온도(건구온도와 THI)가 상승함에 따라 산란계에서 개구호흡이 관찰되었음. 32°C에

서 분당 82회, 36℃에서 266회가 관찰되었으며, 36℃에서의 폐사율이 41.7%로 높게 나타났으며, 고온(34℃)에 노출된 시간에 따라 폐사율이 증가하였으므로(2시간 노출 시, 42%의 폐사율), 계사 내 건구온도의 제어가 중요한 것으로 판단됨.

- 닭의 환경 스트레스 저감을 위한 지방산과 아미노산 사료첨가제를 개발함은 물론 대량 공정기술을 확립하고 사료첨가제의 효과를 검증할 위한 현장평가를 실시함
  - GABA의 사용효과를 얻기 위해서는 유효한 급여량을 첨가할 수 있도록 충분한 경제성이 확보와 충분한 섭취가 가능하도록 효율적이고 적절한 제형개발이 중요하므로 이번 연구결과를 통한 노하우 기술이전으로 제품화를 실시함.
  - GABA의 사용효과에 대한 현장평가를 실시한 결과, GABA 첨가에 따른 처리구간의 유의차가 나타나지 않았으며, 두 요인 사이의 유의미한 상관관계도 관찰되지 않았으며, 육계의 성장단계에 따라서 급여농도나 급여기간에 의하여 급여효과가 달라지는 것으로 판단되나 추가적인 연구를 통하여 규명되어야 할 것으로 생각됨
  - 산란계 사료 내 arginine을 첨가하여 arginine의 효과를 관찰하고 히트 스트레스로 유발되는 생산성 저하를 분석한 결과, 산란율은 arginine 0.5% 첨가구에서 대조구보다 유의하게 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ )

#### 라. 종합

- 육계/산란계 사육시설 및 사육밀도 등을 분석하여 닭의 더위 스트레스 요인 구명 물론 인덱스를 개발하여 닭의 환경 스트레스 저감형 사육시스템(IT 기술, 사료 및 사료첨가제 등)을 개발하였으므로 닭의 환경 스트레스 저감을 통한 생산성 향상에 도움이 될 것으로 판단됨

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

○ 최종목표

- 산란계 및 육계 맞춤형 환경 스트레스 저감형 사육시스템 개발

○ 세부목표

- 육계 및 산란계의 중요한 환경 스트레스 요인 분석 및 인덱스 개발
- 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 요인 및 인덱스 측정 기술 개발
- 닭의 IT기술 기반 환경 스트레스 저감 환경제어 기술 개발
- 스트레스 예방 산란계 및 육계 사료첨가제 개발
- 환경 스트레스 저감용 산란계 전용 사료 개발
- 환경 스트레스 저감용 육계 전용 사료 개발
- 육계 및 산란계 환경스트레스 저감형 사육전략 매뉴얼 도출

#### 3-2. 목표 달성여부

○ 연구개발 목표 달성

- 육계 및 산란계의 생산성을 저하시키는 환경 스트레스 요인에 대한 영향을 구명하였고 이에 근거하여 IT 기술, 사료 및 사료첨가제를 활용한 환경 스트레스 저감 기술을 개발하였음
- 결론적으로 연구개발 최종 목표를 성공적으로 달성하였음

○ 연구개발 최종 목표 달성의 근거

(1) 닭의 IT 기술 기반 환경 스트레스 요인 측정 및 저감기술 개발

- (가) 우리나라 육계/산란계 사육시설 분석 및 장점/단점 도출
- (나) 우리나라 육계(평사)/산란계(케이지)의 사육밀도 분석 및 스트레스 감소 방안 도출
- (다) IT 기술 기반으로 온도, 상대습도, 풍속, 암모니아 가스, 먼지, 조도, 행동 변화, 배설물, 호흡량 등을 자동으로 측정할 수 있는 기술 개발
- (라) 상기 연구결과를 기반으로 하여 최적의 조명, 환기, 사육시설 등의 개선방안 마련
- (마) 육계 및 산란계에 대한 환경 스트레스 인덱스를 이용한 스트레스 저감 환경제어기술 개발

(2) 닭의 스트레스 요인 구명 및 인덱스 개발

- (가) 육계 및 산란계별 생산성을 저하시키는 대표적인 스트레스 요인 분석

- (나) 육계 및 산란계별 환경 스트레스 인덱스 개발

(3) 닭의 환경 스트레스 저감형 사육시스템 개발

- (가) 현재의 사육형태를 최대한 유지하는 것을 전제로 한, 사육시스템 개선방안을 마련하여 과학적으로 분석

- (나) 육계 및 산란계 구분, 환경 스트레스 저감을 위한 사료(사료첨가제) 등 개발
- (다) 사료첨가제(GABA) 개발 전략 및 GABA 선정 이유 등 제시
- (라) 사료개발(지방 또는 아미노산(arginine) 첨가 효과)
- (마) 사료 및 사료첨가제 산란계/육계 실증 평가

○ 주요 연구성과의 활용실적 및 활용방안

- (1) 본 과제를 통해 총 4건의 특허출원과 1건의 특허등록(대장균 형질전환제를 이용한 감마아미노부틸산의 생산방법 및 감마아미노부틸산 함유 사료첨가제의 제조방법(출원등록번호 : 10-1885878)을 하였음
- (2) 본 과제를 통해 출원한 특허(대장균 형질전환제를 이용한 감마아미노부틸산의 생산방법 및 감마아미노부틸산 함유 사료첨가제의 제조방법)를 통한 기술이전 2건을 포함하여 총 4건의 기술이전을 참여기업에 실시하였음
- (3) 기술이전을 통해 참여기업이 제품화 3건을 달성하였음

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기 타 (타 연 구 활 용 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		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치																				
최종목표	3	3		2	5.7	3	570		4			3	3		-		2		1	
연구기간내 달성실적	4	1		4	10	3	1268		3			6	1		3		3		2	
달성율(%)	133	33		200	175	100	22		75			200	33		300		150		200	

- (4) 본 과제를 통해 작성한 육계와 산란계의 환경 스트레스 저감에 대한 매뉴얼을 현장에 배급함으로써, 육계와 산란계의 생산성 향상에 긍정적인 효과를 가지고 올 수 있도록 돕고 참여기업을 통한 육계와 산란계의 환경 스트레스 저감 시스템의 제품화 및 사업화를 실시할 예정임

### 3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 3차년도에 특허등록 2건을 목표로 하였으나 1건 달성으로 목표에 미달성하였음. 그러나 4건의 특허출원 시기를 고려해봤을 때 특허등록은 곧 이루어질 것으로 예상됨
- 비SCI 논문의 경우 2차년도 1건, 3차년도 2건을 목표로 하였으나 3차년도에 투고한 논문의 게재가 늦어지면서 시스템에 실적 등록을 하지 못함. 그러나 게재예정증명서를 증빙하였음(종료 1차년도인 2019년 4월 30일에 게재예정)

### 3-4. 관련 분야 기여도

#### ○ 기술적 측면

- 축사 내부의 온도, 상대습도, 암모니아 가스 농도뿐만 아니라 풍속, 먼지, 조도, 행동변화, 배설물, 호흡량등을 자동으로 측정함으로써 복합적인 환경제어가 가능함
- 각종 환경스트레스 요인을 측정하는 센서 모듈의 내구성을 확보하여 안정적으로 각 환경요인을 측정함으로써 여러 가지 환경 인자에 대한 정확하고 장기적인 측정이 가능해져 보다 정확한 시설환경 관련 컨설팅이 이루어질 수 있음

#### ○ 경제적·산업적 측면

- 축사 환경계측 및 제어 분야의 표준화를 통해 이중 투자를 방지할 수 있음
- ICT 융복합 시스템의 국산화를 통해 외화 유출을 방지할 수 있음
- 과학적 사양관리에 따른 생산성 증가
- 원격 모니터링 및 제어가 가능해져 농장을 운영하는데 있어 편의성이 증대되며 근로자 1인당 관리두수 증가 및 근로 시간이 감소로 인한 인건비 절감 효과

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

- 참여기업에서는 본 과제를 통해 등록된 특허뿐만 아니라 출원한 또 다른 특허 등을 통해 제품화 및 사업화를 진행할 예정임
- 본 과제를 통해 작성한 매뉴얼 2건을 통해 타 연구에 응용한다면 닭의 환경 스트레스를 저감하여 생산성을 향상시키는데 도움이 될 것으로 판단 됨

## 붙임. 참고 문헌

- IPCC. 2014. Mitigation of climate change. Intergovernmental panel on climate change.
- Gates RS, Zhang H, Colliver DG and Overhults DG. 1995. Regional variation in temperature humidity index for poultry housing. Transactions of the ASAE 38(1): 197-205.
- Kostat. 2019. in 2018. Korean Statistical Information Service, [http://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M\\_01\\_01&vwcd=MT\\_ZTITLE&parmTabId=M\\_01\\_01#SelectStatsBoxDiv](http://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M_01_01&vwcd=MT_ZTITLE&parmTabId=M_01_01#SelectStatsBoxDiv) (2018, 11, 05).
- Mashaly MM, Hendricks GL 3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO and Patterson PH. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. Poultry science, 83(6): 889-894.
- Zulovich JM and Deshazer JA. 1990. Estimating egg production declines at high environmental temperatures and humidities. Paper-American Society of Agricultural Engineers, (90-4021).
- A.M. Fouad<sup>1</sup>, H.K. El-Senousey, X.J. Yang<sup>1</sup> and J.H. Yao<sup>1</sup>. Role of Dietary L-Arginine in Poultry Production. International Journal of Poultry Science 11 (11): 718-729, 2012.
- D. M. Wang, C. Wang, H. Y. Liu, J. X. Liu, and James D. Ferguson, (2013) Effects of rumen-protected  $\hat{U}$ -aminobutyric acid on feed intake, lactation performance, and antioxidative status in early lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96 :3222-3227
- El-faramawy, Y.A., M.H. El-banouby, P. Sergeev, A.K. Mortagy, M.S. Amer, and A.M. Abdel-tawab, (2009) Changes in glutamate decarboxylase enzyme activity and tau-protein phosphorylation in the hippocampus of old rats exposed to chronic mild stress: Reversal with the neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 91(3):339-344.
- J.S. Mckee, P.C. Harrison. 1995. Effects of Supplemental Ascorbic Acid on the Performance of Broiler Chickens Exposed to Multiple Concurrent Stressors. Poultry Science, Volume 74, Issue 11, 1 November 1995, Pages 1772-1785.
- Jow, F., D. Chiu, H.-K. Lim, T. Novak, and S. Lin, (2004) Production of GABA by cultured hippocampal glial cells. Neurochemistry International. 45(2--3): 273-283.
- Kazim Sahin, Nurhan Sahin, Muhittin Onderci, Mehmet F. Gursu and Mustafa Issi. Vitamin C

and E can alleviate negative effects of heat stress in Japanese quails. *Food, Agriculture & Environment* Vol.1(2) : 244-249. 2003.

Ko, C.Y., H.-T.V. Lin, and G.J. Tsai, (2013) Gamma-aminobutyric acid production in black soybean milk by *Lactobacillus brevis* FPA 3709 and the antidepressant effect of the fermented product on a forced swimming rat model. *Process Biochemistry*. 48(4): 559-568.

Maziar Mohiti Asli, Seyed Abdollah Hosseini, Houshang Lotfollahian and Farid Shariatmadari. Effect of Probiotics, Yeast, Vitamin E and Vitamin C Supplements on Performance and Immune Response of Laying Hen During High Environmental Temperature. *International Journal of Poultry Science* 6 (12): 895-900, 2007.

Min Zhang, Xiao-ting Zou, Hui Li, Xin-yang Dong and Wenjing Zhao, (2011) Effect of dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid on laying performance, egg quality, immune activity and endocrine hormone in heat-stressed Roman hens. *Japanese Society of Animal Science*.

Palizvan, M.R., K. Sohya, K. Kohara, A. Maruyama, H. Yasuda, F. Kimura, and T. Tsumoto, (2004) Brain-derived neurotrophic factor increases inhibitory synapses, revealed in solitary neurons cultured from rat visual cortex. *Neuroscience*. 126(4): 955-966.

S.F. Dai, F. Gao, W.H. Zhang, S.X. Song, X.L. Xub, G.H. Zhou. 2011. Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on performance, carcass characteristics and serum parameters in broilers under circular heat stress. *Animal Feed Science and Technology* 168(2011)51-60.

Sgavioli S, Domingues CHF, Santos ET, Quadros TCO, Borges LL, Garcia RG, Louzada MJQL, Boleli IC. Effect of In-Ovo Ascorbic Acid Injection on the Bone Development of Broiler Chickens Submitted to Heat Stress During Incubation and Rearing. *Brazilian journal of poultry Science*, (2016)153-162.

Thornalley, P.J., (1993) The glyoxalase system in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 14(4): 287-371.

Z. Chen, J. Tang, Y. Q. Sun and J. Xie. 2013. Protective effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on antioxidant function in intestinal mucosa of wenchang chicken induced by heat stress. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(6): 2013, Page:1634-1641.

이영철 외. 2002. 사료생산공학. 유한문화사. 서울. p138-139.

- Al Wakeel RA, Shukry M, Abdel Azeez A, Mahmoud S and Saad MF. 2017. Alleviation by gamma amino butyric acid supplementation of chronic heat stress-induced degenerative changes in jejunum in commercial broiler chickens. *Stress*. 20: 562-572.
- Brake J, Balnave D, Dibner JJ. Optimum dietary arginine:lysine ratio for broiler chickens is altered during heat stress in association with changes in intestinal uptake and dietary sodium chloride. *Br Poult Sci*. 1998 Dec;39(5):639-47
- Chand N, Muhammad S, Khan RU, Alhidary IA and Rehman ZU. 2016. Ameliorative effect of synthetic gamma-aminobutyric acid (GABA) on performance traits, antioxidant status and immune response in broiler exposed to cyclic heat stress. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 23: 23930-23935.
- Chen J, Li X, Balnave D, Brake J. The influence of dietary sodium chloride, arginine:lysine ratio, and methionine source on apparent ileal digestibility of arginine and lysine in acutely heat-stressed broilers. *Poult Sci*. 2005 Feb;84(2):294-7.
- Cho YR, Chang JY and Chang HC. 2007. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J. Microbiol. Biotechnol*. 17: 104-109.
- Choi, Y.-H. Conjugated linoleic acid as a key regulator of performance, lipid metabolism, development, stress and immune functions, and gene expression in chickens *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2009, 22(3), pp. 448-458.
- Cullinan WE, Ziegler DR and Herman JP. 2008. Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis. *Brain Struct. Funct*. 213: 63-72.
- Czarick M and Fairchild BD. 2008. Poultry housing for hot climates. In: *Poultry Production in Hot Climates: Second Edition*. CABI Publishing. pp. 80-131.
- Daghir NJ. 2008. Broiler feeding and management in hot climates. In: *Poultry Production in Hot Climates: Second Edition*. CABI Publishing. pp. 227-260.
- Dhakal R, Bajpai VK and Baek KH. 2012. Production of gaba (gamma - Aminobutyric acid) by microorganisms: a review. *Braz. J. Microbiol*. 43: 1230-1241.
- Erdo SL and Wolff JR. 1990. gamma-Aminobutyric acid outside the mammalian brain. *J. Neurochem*. 54: 363-372.
- Feehily C and Karatzas KA. 2013. Role of glutamate metabolism in bacterial responses towards acid and other stresses. *J. Appl. Microbiol*. 114: 11-24.
- Fouad AM, El-Senousey HK, Yang XJ, Yao JH. Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal*. 2013 Aug;7(8):1239-45.

- Gonzalez-Esquerria R, Leeson S. Effect of arginine:lysine ratios and source of methionine on growth and body protein accretion in acutely and chronically heat-stressed broilers. *Poult Sci.* 2006 Sep;85(9): 1594-602.
- Grubbs FE. 1950. Sample Criteria for Testing Outlying Observations. *Ann. Math. Statist.* 21: 27-58.
- Gunn BG, Cunningham L, Mitchell SG, Swinny JD, Lambert JJ, Belelli D. 2015. GABAA receptor-acting neurosteroids: a role in the development and regulation of the stress response. *Front. Neuroendocrinol.* 36: 28-48.
- Hurt RT, Matheson PJ, Mays MP, Garrison RN. Immune-enhancing diet and cytokine expression during chronic sepsis: an immune-enhancing diet containing L-arginine, fish oil, and RNA fragments promotes intestinal cytokine expression during chronic sepsis in rats. *J Gastrointest Surg.* 2006 Jan;10(1):46-53.
- Jie F, Yin G, Yang W, Yang M, Gao S, Lv J and Li B. 2018. Stress in Regulation of GABA Amygdala System and Relevance to Neuropsychiatric Diseases. *Front. Neurosci.* 12: 562.
- Joseph J, Niggemann B, Zaenker KS and Entschladen F. 2002. The neurotransmitter gamma-aminobutyric acid is an inhibitory regulator for the migration of SW 480 colon carcinoma cells. *Cancer Res.* 62: 6467-6469.
- KAPE (Korea Institute for Animal Products Quality Evaluation). 2013. Grading standards for eggs. <http://www.ekapepia.com/user/advancedInfo/gradeStandEgg.do> (December 10, 2018).
- Ko YH, Yang HY, Jang IS Effect of conjugated linoleic acid on intestinal and hepatic antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in broiler chickens. *Asian-Austral J Anim Sci* 2004, 17(8), pp. 1162-1167.
- Liu Y, Huang J, Hou Y, Zhu H, Zhao S, Ding B, Yin Y, Yi G, Shi J, Fan W. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs. *Br J Nutr.* 2008 Sep;100(3):552-60.
- Livesey JH. 2007. Kurtosis provides a good omnibus test for outliers in small samples. *Clin. Biochem.* 40: 1032-1036.
- Mack LA, Felver-Gant JN, Dennis RL and Cheng HW. 2013. Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult. Sci.* 92: 285-294.
- MAFRA (The Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs of Korea). 2018. Press Releases (in Korean). <http://www.mafra.go.kr/mafra/293/subview.do?enc=Zm295jdDF298QEB298JTJGYmJzJTJGbWFmcmEIMkY292OCUyRjMxODIxNyUyRmFydGNsVmllldy295kbyUzRg%293D%293D> (August 13, 2018); <http://www.mafra.go.kr/mafra/2293/subview.do?enc=Zm2015jdDF2018QEB2018JTJGYmJzJTJGbWFmcmEIMkY2012OCUyRjMxODA2012NSUyRmFydGNsVmllldy2015kbyUzRg%2013D%2013D> (July 17, 2018). Access December 05, 2018.

- Mendes AA, Watkins SE, England JA, Saleh EA, Waldroup AL, Waldroup PW. Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age. *Poult Sci.* 1997 Mar;76(3):472-81.
- Murphy EF, Hooiveld GJ, Muller M, Calogero RA, Cashman KD. Conjugated linoleic acid alters global gene expression in human intestinal-like Caco-2 cells in an isomer-specific manner. *J Nutr.* 2007 Nov;137(11):2359-65
- Naga Raja Kumari K and Narendra Nath D. 2017. Ameliorative measures to counter heat stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.* 74: 117-130.
- Podlesakova K, Ugena L, Spichal L, Dolezal K and De Diego N. 2019. Phytohormones and polyamines regulate plant stress responses by altering GABA pathway. *N. Biotechnol.* 48: 53-65.
- Purswell JL, Dozier Iii WA, Olanrewaju HA, Davis JD, Xin H, Gates RS. 2012. Effect of temperature-humidity index on live performance in broiler chickens grown from 49 to 63 days of age. In: 9th International Livestock Environment Symposium 2012, ILES 2012, Valencia. p. 41-49.
- Rajakangas J, Basu S, Salminen I, Mutanen M. Adenoma growth stimulation by the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) is associated with changes in mucosal NF- $\kappa$ B and cyclin D1 protein levels in the Min mouse. *J Nutr* 2003, 133(6), pp. 1943-1948
- Ramesh SA, Tyerman SD, Gilliam M and Xu B. 2017. gamma-Aminobutyric acid (GABA) signalling in plants. *Cell Mol. Life Sci.* 74: 1577-1603.
- Roberts E and Frankel S. 1950. gamma-Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *J. Biol. Chem.* 187: 55-63.
- Savage K, Firth J, Stough C and Sarris J. 2018. GABA-modulating phytomedicines for anxiety: A systematic review of preclinical and clinical evidence. *Phytother. Res.* 32: 3-18.
- Skilbeck KJ, Johnston GA and Hinton T. 2010. Stress and GABA receptors. *J. Neurochem.* 112: 1115-1130.
- Takayama M and Ezura H. 2015. How and why does tomato accumulate a large amount of GABA in the fruit? *Front. Plant Sci.* 6: 612.
- Tang J and Chen Z. 2016. The protective effect of gamma-aminobutyric acid on the development of immune function in chickens under heat stress. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.).* 100: 768-777.
- Velickovic K, Markelic M, Golic I, Otasevic V, Stancic A, Jankovic A, Vucetic M, Buzadzic B, Korac B, Korac A. Long-term dietary L-arginine supplementation increases endothelial nitric oxide synthase and vasoactive intestinal peptide immunoexpression in rat small intestine.

- Eur J Nutr. 2014 Apr;53(3):813-21.
- Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T and Hayasaki H. 2002. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int. Rev. Cytol.* 213: 1-47.
- Xin H and Harmon JD. 1998. *Livestock Industry Facilities and Environment: Heat Stress Indices for Livestock.* Agriculture and Environment Extension Publications. Book 163. [http://lib.dr.iastate.edu/extension\\_ag\\_pubs/163](http://lib.dr.iastate.edu/extension_ag_pubs/163).
- Yao K, Guan S, Li T, Huang R, Wu G, Ruan Z, Yin Y. Dietary L-arginine supplementation enhances intestinal development and expression of vascular endothelial growth factor in weanling piglets. *Br J Nutr.* 2011 Mar;105(5):703-9.
- Yoon HS, Hwangbo J, Yang Y-R, Kim J, Kim Y-H, Park B and Choi Y-H. 2014. Effects of early heat conditioning on performance in broilers exposed to heat stress. *Korean J. Poult. Sci.* 41: 297-303.
- Zhang M, Zou XT, Li H, Dong XY and Zhao W 2012 Effect of dietary gamma-aminobutyric acid on laying performance, egg quality, immune activity and endocrine hormone in heat-stressed Roman hens. *Anim. Sci. J.* 83: 141-147.
- Zhu YZ, Cheng JL, Ren M, Yin L and Piao XS. 2015. Effect of gamma-aminobutyric acid-producing lactobacillus strain on laying performance, egg quality and serum enzyme activity in Hy-Line Brown hens under heat stress. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 28: 1006-1013.
- Curtis SE. 1983. *Environmental management in animal agriculture.* Iowa State University Press.
- IPCC. 2014. *Mitigation of climate change.* Intergovernmental panel on climate change.
- Daniel M and Balnave D. 1981. Responses of laying hens to gradual and abrupt increases in ambient temperature and humidity. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 21(109): 189-195.
- De Moraes SRP, Yanagi J, De Oliveira ALR, Yanagi S and Cafe MB. 2008. Classification of the temperature and humidity index (THI), aptitude of the region, and conditions of comfort for broilers and layer hens in Brazil. Central theme, technology for all: sharing the knowledge for development. *Proceedings of the International Conference of Agricultural Engineering, XXXVII Brazilian, CIGR.*
- Donkoh A. 1989. ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. *International Journal of Biometeorology*, 33(4): 259-265.

- Gates RS, Zhang H, Colliver DG and Overhults DG. 1995. Regional variation in temperature humidity index for poultry housing. *Transactions of the ASAE* 38(1): 197-205.
- Kostat. 2017. in 2018. Korean Statistical Information Service, [http://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M\\_01\\_01&vwcd=MT\\_ZTITLE&parmTabId=M\\_01\\_01#SelectStatsBoxDiv](http://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M_01_01&vwcd=MT_ZTITLE&parmTabId=M_01_01#SelectStatsBoxDiv) (2018, 11, 05).
- Li Y, Ito T, Nishibori M and Yamamoto S. 1992. Effects of environmental temperature on heat production associated with food intake and on abdominal temperature in laying hens. *British poultry science*, 33(1): 113-122.
- Mashaly MM, Hendricks GL 3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO and Patterson PH. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry science*, 83(6): 889-894.
- Rozenboim I, Tako E, Gal-Garber O, Proudman JA and Uni Z. 2007. The effect of heat stress on ovarian function of laying hens. *Poultry Science*, 86(8): 1760-1765.
- Stull R. 2011. Wet-bulb temperature from relative humidity and air temperature. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 50(11): 2267-2269.
- Timmons MB and Gates RS. 1988. Predictive model of laying hen performance to air temperature and evaporative cooling. *Transactions of the ASAE*, 31(5): 1502-1503.
- Vale MM, Moura DJD, Nääs IDA, Oliveira SRDM and Rodrigues LHA. 2008. Data mining to estimate broiler mortality when exposed to heat wave. *Scientia Agricola*, 65(3): 223-229.
- Wolfenson D, Bachrach D, Maman M, Graber Y and Rozenboim I. 2001. Evaporative cooling of ventral regions of the skin in heat-stressed laying hens. *Poultry Science*, 80(7): 958-964.
- Zulovich JM and Deshazer JA. 1990. Estimating egg production declines at high environmental temperatures and humidities. *Paper-American Society of Agricultural Engineers*, (90-4021).