GOVP 12007942

최종연구보고서

가축의 환경친화형 사료개발과 무공해 축산물 생산을 위한 천연 항생물질의 개발

Development of Environmentally Sound Livestock Feeds and Natural Antibiotics to Produce Pollutants-free Animal Products

주관연구기관 : 강원대학교
위탁연구기관 : (주)천보 실업

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “가축의 환경친화형 사료개발과 무공해 축산물 생산을 위한 천연 항생물질의 개발” 의 최종보고서로 제출합니다.

1999 . 10 . 31 .

주관연구기관명 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 권 명상

연 구 원 : 고 용균

연 구 원 : 채 병조

위탁연구기관명 : (주) 천보실업

연 구 책 임 자 : 김 치순

요 약 문

Ⅰ. 제 목

가축의 환경친화형 사료개발과 무공해 축산물 생산을 위한 천연 항생물질의 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

본 연구개발의 목적은 항균작용을 하는 천연 flavonoid인 propolis의 사료용 첨가제제로의 개발 및 이와 효율적으로 병용할 수 있는 분취억제제인 식물성 steroid제제의 개발 및 양산체계 확립하는 데 있다.
이를 위한 구체적인 정량적인 목적으로는 다음과 같다. 즉 분취제거제와 천연항생제의 병용제를 이용하여 축분의 악취를 현재 수준보다 감소시키는 방법을 개발하며 합성항생물질사용 불가 축종에 사용할 수 있는 천연항생물질의 개발로 생산성 개선효과를 갖도록 하며 이를 통하여 배합사료 공장에서의 항생물질 cross -contamination 가능성의 원천적인 차단하여 축산물 내 잔류항생물질 원인의 제거로 인한 항생물질 무잔류 축산물 생산을 하고자 하는데 있다.

가축의 사육규모가 증대하고 집약화 함에 따라 가축의 분뇨에서 발생하는 악취는 축산환경에 크나큰 문제로 대두되고 있다. 특히 우리 나라와 같이 국토면적이 적어 양축농장과 주변 거주지역과의 거리가 제한될 수밖에 없는 경우 분뇨악취는 지속축산의 커다란 장애물로 등장하고 있다. 실제 양축가의 제일 고민은 주변 거주지역과의 민원문제에 있는 것으로 평가되

고 있어 실제 그 유무형적 손실액은 엄청난 규모에 이른다고 할 것이다.

뿐만 아니라 분뇨취는 각종 해충 및 유해미생물의 서식을 유발시켜 가축의 건강유지 및 성장을 저해하며 주요 악취성분인 황화수소나 암모니아는 가축체내의 단백질 대사의 이상으로 그 발생량이 증가하므로 그만큼 사료 이용성이 저해되고 있음을 의미한다고 하겠다.

가축의 분뇨취를 제어하기 위하여 전세계적으로 여러 가지 방법이 시도되고 있으나 아직도 효과적인 방법이 제시되지 못하고 있는 실정이다. 여러 가지 방법 중에서 우리 나라와 같이 사료자원의 대부분을 외국으로 부터의 수입에 의존하고 있는 경우 분뇨취의 제어는 사료의 이용성을 개선할 수 있는 차원에서 시도되는 것이 바람직하다.

그 중에서도 sarsaponin의 경우 그 작용기전은 명확하게 밝혀지지 않았으나 장내 미생물의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 이제까지 가축에게 치료목적이나 성장촉진목적으로 사용되었던 항생물질이나 생균물질과의 길항 또는 교호작용이 존재할 수 있음을 시사하고 있다. 이는 최근 저공해 축산물을 생산하기 위하여 특히 산란계, 유우 또는 출하직전의 가축에 항생물질의 사용이 금지됨에 따라 생균제(probiotics)에 대한 관심사가 높아지면서 sarsaponin제와 병용 시 선결해야 할 문제점이 있음을 의미한다고 하겠다. 즉 sarsaponin제가 ammonia에 독성반응을 나타내는 다수의 미생물에 불특정적으로 영향을 미치므로 가축에 효과적인 생균물질을 선택하는데 주의를 기울여야 함을 의미한다. 따라서 항생물질 대체제로서 생균제 보다는 자연물에서 추출한 천연항생물질의 잠재력이 부각된다고 하겠다.

그러한 측면에서 꿀벌밀납내에 존재하는 항균물질인 propolis 등 천연항생물질은 기존의 합성의약품이나 미생물 유래 항생물질을 대체하여 잔류문제나 내성전이문제를 격감시킬 수 있을 뿐 아니라 그외 생물학적 반응성이 높은 sarsaponin과 같은 식물성 스테로이드 물질과의 길항작용도 감소시킬 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 sarsaponin과 교호효과를 나타낼 수 있는 천연항

생물질의 개발과 이로 인한 가축의 성장촉진과 분취억제 아울러 질병치료 효과를 나타낼 수 있는 병용 급여체계의 개발 그리고 천연항생물질의 상용화기술을 개발하고자 한다.

Ⅲ. 연구 개발 내용 및 범위

1. 국내산 saponin함유물질과 천연항생물질을 이용한 사료용 복합 첨가제 개발(연구책임자 : 강원대학교 채병조)

가. 식물성 steroid제 및 천연항생물질의 물성, 미생물학적 반응성 평가

1) 식물성 steroid들의 암모니아 흡착능력과 생균제의 성장에 미치는 영향

2) Yucca extract와 propolis의 동시 또는 개별첨가가 생균제와 E. coli의 성장에 미치는 영향

3) Propolis의 부형제 흡착능력 및 융점평가

나. 돈분뇨 악취원인물질의 규명과 식물성 스테로이드를 이용한 악취저감

1) 돈분을 수용성분과 불용성분으로 분리하여 악취강도를 후각인지 검사

2) 돈분 분획별 악취강도와 식물성 steroids 첨가효과

3) VOC(Volatile organic compounds) 분석

다. Sarsaponin 및 천연항생물질의 상용화 기술 개발

2. 천연항생물질 propolis 및 악취제어물질의 동물평가 시험(연구책임자 : 강원대 고 용균)

가. Propolis 및 유카추출물의 급여가 부로일러의 생산성에 미치는 영향

나. Propolis의 급여수준을 달리하여 급여할 때 부로일러의 육성성적에 미치는 영향

다. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 소에 있어서 반추위내 발효성상과 산유 및 육성 성적에 미치는 영향

1) Propolis 및 유카추출물의 첨가가 반추위 내 특성에 미치는 영향

2) Propolis 및 유카추출물의 첨가가 젖소의 유생산에 미치는 영향

3) Propolis 및 유카추출물의 첨가가 비육우의 육성성적에 미치는 영향 시험

라. 육성돈사료에 대한 악취제어 및 천연항생물질복합제 첨가가 육성성적에 미치는 영향

마. 육성돈사료에 대한 propolis의 첨가가 육성성적 및 돈육내 propolis 이행에 미치는 영향

바. 육성돈사료에 분뇨악취 저감물질의 첨가가 육성성적에 미치는 영향

3. 천연항생물질 propolis의 추출 및 가축의 질병방제효과 검증(연구책임자 : 강원대 권 명상)

가. Propolis의 효과적 추출 및 항균력 평가

1) Propolis의 효과적 추출체계

2) 분리추출 propolis의 가축 주요질병원인균에 대한 *in vitro* 항균 효과 검증

나. Propolis의 면역학적 효과 평가

1) Propolis의 *in vivo* 내 생쥐의 면역기능에 미치는 영향 평가

2) Propolis가 사람의 T-림파구로부터 유리되는 Interleukin-II 분비에 미치는 *in vitro* 효과

3) Propolis의 투여가 ICR mice에 투여한 Sarcoma 180의 성장 저해에 미치는 영향

4) Propolis가 종양세포주에 미치는 항암작용 검색

5) *in vitro* 내에서 사람의 혈액으로부터 추출한 호중구에 미치는 propolis의 효과

다. HPLC를 이용한 propolis의 약효성분 분석

라. Propolis의 가축의 설사 예방 및 치료 효과

1) Propolis의 인공설사유발 송아지에서의 예방 및 치료효과 검색

2) Propolis의 인공설사유발 어린 돼지에서의 예방 및 치료효과 검색

마. Propolis의 유방염 치료 체계

1) 분리된 propolis의 유방염 주요 원인균에 대한 항균력 평가

2) TTC(Triphenyl tetrazolium chloride) reduction test를 이용한 propolis 첨가우유 내 반응시험

4. 분취억제제 및 천연항생물질의 시장경제성 평가 및 상용화방안(연구책임자 : (주)천보실업 김 치순)

가. 국내 및 국외 항생물질시장 동향분석 및 미래 무공해 축산물의 시장 평가

1) 국내 및 국외 항생물질의 시장동향분석

2) 무공해 및 기능성 축산물 시장의 분석 및 평가

나. 프로폴리스 및 분취억제제의 원료원 확보 및 경제성 분석

1) 프로폴리스의 원료원 확보 및 경제성 분석

2) 분취억제제의 원료원 확보 및 경제성 분석

3) 분취억제제 및 천연항생물질의 상용화 방안

다. 복합 양돈첨가제 급여 후 경제성 평가 및 마케팅 전략

1) 복합 양돈첨가제 급여 후 경제성 평가

2) 개발제품의 마케팅 전략

Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 국내산 saponin함유물질과 천연항생물질을 이용한 사료용 복합첨가제 개발

1) 식물성 steroid제 및 천연항생물질의 물성,미생물학적 반응성 평가

사료첨가용으로 항균효과와 악취제어효과를 가지는 국내산 천연병용첨가물질을 개발하기 위한 기초연구로서 3가지 실험을 실시하였다. 실험 1에서는 국내산 악취제어물질을 탐색하기 위하여 현재 사료에 첨가되고 있는 Yucca추출물(YS), 국내에서 재배되고 있는 도라지(PGR), 더덕폐기물(CLPW), 그리고 인삼가공부산물인 인삼알콜박(EEGB)과 인삼물박(EEWB)을 선택한 후 saponin을 추출하여 암모니아 흡착능력을 탐색하였다. 또한 이들 saponin들이 가축의 생균제제로 사용되고 있는 *Streptococcus faecium cernelle* 68(SF68)과 *Saccharomyces cerevisiae*(Yeast)의 성장에 미치는 영향을 생균의 성장을 억제하는 암모니아의 존재유무에 따라 평가하였다. 실험 2에서는 가축의 생산성 향상을 위하여 기존의 화학적 항생제를 대체코저 천연항생물질인 propolis를 선택하여 분뇨취 감소제인 yucca extract와 병행사용시 생균제 SF68과 주요장내 병원성미생물인 E. coli의 생존성에 미치는 영향을 알아보았다. 실험 3에서는 propolis의 효과적인 사료첨가방법을 평가하기 위하여 5가지의 부형제(Lactose, Casein, Na-casein, Red dog 과 Cookie byproduct)를 선택하여 융점과 열처리 후 흡착상태를 외양변화를 통하여 평가하였다.

PGR은 30mg이상의 농도에서 고농도의 암모니아에 대해 흡착력이 가장 우수하였으며 CLPW는 첨가수준에 관계없이 0.1mM의 암모니아 농도에서 흡착력이 매우 낮았으며 고농도에서는 YS와 비슷한 흡착력을 가지는 것으로 나타났다. EEGB와 WEGB는 12mg이상의 농도에서 암모니아 수준에 관계없이 50%이상 흡착하는 것으로 나타났다. 본 실험에서 사용된 PGR, CLPW, EEGB 그리고 WEGB등은 암모니아 흡착능력으로 볼 때 기존 시판YS에 비해 우수한

것으로 나타났다.

본 실험에서 추출한 식물성 saponin의 첨가는 생균제 SF68의 성장에 영향이 없었던 반면 Yeast에 대하여는 YS의 경우 1500ppm이상 첨가시 성장이 감소되었으며 CLPW는 500ppm이상의 농도에서 Yeast의 성장을 대조구보다 촉진하였고 PGL과 EEGB는 Yeast의 성장에 영향이 없었다. WEGB는 100ppm이상의 농도에서 대조구보다 성장이 촉진되었다.

배양액내 암모니아 농도가 0.5%이상일 경우에는 생균제인 SF68과 Yeast의 성장을 억제하였다.

배양액내 성장을 억제하는 수준의 암모니아가 존재할 경우 추출한 식물성 steroid를 첨가하더라도 Yeast의 성장억제를 저지하지 못했으며 SF68에 대하여는 YS는 효과가 없었으나 PGR은 500ppm이상 첨가시 다소 성장을 촉진하였다. CLPW, EEGB와 WEGB는 100ppm이상 첨가시 각각 15, 33, 24시간 후에 무첨가시에 비해 SF68의 성장을 촉진시키는 것으로 나타났다.

생균제의 구성균주인 SF68의 생균수는 propolis 100ppm첨가시부터 급격히 감소하였으나 E. coli에 대하여는 500ppm이상의 propolis를 첨가시에서만 균수가 감소하였다. Yucca extract의 첨가는 SF68과 E. coli의 균수에 아무런 영향이 없는 것으로 나타났다.

여러 종류의 부형제를 첨가한 propolis의 융점은 cookie byproduct 첨가시 70℃였던 반면 나머지 부형제들을 첨가할 경우 90℃이상이었다. 열처리 후 외양변화를 살펴보면 Na-casein의 propolis 흡착능력이 가장 우수한 것으로 관측되었다.

결론적으로 본 실험에서 선택하여 추출한 식물성 saponin는 현재 사료에 첨가되고 있는 yucca추출물보다 암모니아 흡착력이 우수하여 악취제어제로 개발할 가치가 있는 것으로 평가되었다. 또한 식물성 steroid인 saponin은 생균제의 성장에 선택적으로 영향하며 천연항생물질인 propolis는 생균제인 SF68을 사멸시키는 것으로 보아 식물성 steroid와 천연항생물질인 propolis를 사료에 첨가할 경우 시판 생균제와 병용할 경우에는 구성균주

의 성질을 사전 평가하여야 할 것으로 판단된다.

2) 돈분뇨 악취원인물질의 규명과 식물성 스테로이드를 이용한 악취 저감

돈분뇨에서의 악취를 일으키는 원인물질을 규명하고 도라지와 인삼부산물에서 추출한 식물성 steroid의 악취저감효과를 알아보고자 본 실험을 수행하였다.

돈분뇨에서의 악취를 일으키는 물질을 규명하고자 H2O와 50% ethanol로 분획하여 수용성과 불용성으로 돈분을 분리하여 각 처리별 돈분뇨에서의 후각인지 측정을 통한 odor intensity를 분석하였고, 별도 제작한 흡착관을 이용하여 GC와 GC Mass에서 악취유발 VOC 물질을 탐색하고자 하였다. 또한 도라지(PGR) 와 인삼부산물박(GB)의 saponin 함량을 분석하고 PGR 와 GB 1%를 각각 돈분에 첨가하여 밀봉한후 1일, 3일, 7일, 14일 동안 실온에 방치한후 악취감소 정도를 상기 방법으로 평가하였다.

돈분뇨를 원심분리하였을 때 상층액의 악취강도가 하층액보다 odor intensity가 강하게 나타났으며, 희석배율이 일정수준까지 증가할 때 odor intensity가 증가하는 경향을 보여 주요 악취성분이 수용성임을 나타내었다.

후각분석에 의한 돈분 분획의 odor intensity는 방치초기에는 수용성 분획내에서 상대적으로 강하였으며 14일 경과후에는 비수용성 분획에서도 그 강도가 높아졌다.

돈분의 에탄올 분획에서의 odor intensity는 비용해성 분획에서의 강도가 용해성 분획에 비하여 상대적으로 강한 것으로 나타나 악취성분이 50% ethanol에 의하여 일부 파괴됨을 보여주었다.

PGR 1% 또는 GB 1%를 처리한 분뇨의 경우 7일, 14일이 경과되면서 각각 odor intensity와 VOC 함량이 감소되는 경향을 나타내었다.

GC Mass 분석결과 악취를 일으키는 VOC로는 dimethyl sulfide, methyl chloride, 2-methyl pentane, 3-methyl pentane, dimethyl disulfide, 2-methyl hexane, heptane, toluene, acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 등이 검출되었다.

VOC 물질중 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 같은 탄화수소계열 화합물과 dimethyl sulfide, dimeythyl disulfide 같은 황화합물 등 악취강도가 높은 물질이 PGR 1%, GB 1%를 첨가한 돈분구에서 감소하였다.

결론적으로 돈분의 휘발성 물질중 주요 악취원인물질은 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene의 탄화수소계열 화합물과 dimethyl sulfide, dimeythyl disulfide의 황화합물로 판단되어진다. 또한 식물성 steroid의 일종인 saponin이 함유된 PGR과 GB를 down stream 과정에서 돈분내 첨가할 경우 악취저감 효과가 있는 것으로 평가되었다.

3) Sarsaponin 및 천연항생물질의 상용화 기술 개발

개발된 분취억제제와 분취억제 + propolis 복합첨가제 모두 내열성 및 배합 능력이 우수하여 사료첨가제로서 문제가 없었다.

분취억제제와 propolis의 복합첨가제 급여시 NH_3의 발생량은 2주차에서는 대조구에 비해 개선결과가 없었으나 4주차에서는 유의적 차이는 보이지 않았지만 복합제 첨가시 전체적으로 개선되는 결과를 나타내었다.

분취억제제 급여시 분중 NH_3는 복합악취제어제를 0.7%와 1.4% 첨가시 유의적으로 발생량이 낮아져 복합제가 암모니아의 발생량을 50 80% 제어할 수 있는 결과를 보여주었다.

분취억제제 급여시 분중 H_2S의 발생량은 복합제를 0.7%와 1.4% 첨가시 모두 대조구에 비해 다소 감소되는 경향을 보였으나 유의적인 감소효과는 없는 것으로 판단되었다.

분취억제제 + propolis의 복합첨가제와 분취억제제를 비교해 보면 대체적으로 분취억제제 단독투여가 분취제어에 영향하는 효과가 크게 나타나고 있다. 그러나 분취억제제와 propolis가 서로 가역적으로 분취제어에 영향하는지는 판단할 수 없었다.

분취억제제 + propolis실험에서 VOC의 측정결과 시간경과에 따라 VOC의 발생량이 대조구에서는 증가하는 반면 Low 및 High-complex에서는 감소하는 결과를 보여 어느 정도 분취억제제로서의 기능이 있다고 판단되었다.

입자도 분석결과 사료의 평균 입자도는 839㎛, 분취억제제와 propolis의 복합첨가제는 227㎛ 그리고 분취억제제는 82㎛의 크기를 보였으며, 배 합효율은 전 시험사료에서 CV 10이하로 양호한 배합효율을 보였다.
Cake 형성 방지를 위한 부형제의 첨가는 silica가 가장 우수한 결과를 보였으나 동물사료에 적용 시 결과가 미지수이며 zeolite의 첨가시 cake 형성방지효과가 2:1 수준까지 우수한 것으로 측정되었다.

나. 천연항생물질 propolis 및 악취제어물질의 동물평가 시험

1) Propolis 및 유카추출물의 급여가 부로일러의 생산성에 미치는 영향

환경친화형 활성물질인 propolis 및 유카추출물의 첨가가 부로일러의 육성성적 및 도체성분에 미치는 영향을 파악하기 위하여 propolis를 40, 80, 120ppm 및 160ppm 수준으로, 유카추출물을 150 및 300ppm 수준으로 사료에 첨가하여 6주간 사양시험을 실시하였으며 이들 첨가에 의한 부로일러의 증체량, 사료섭취량, 사료효율 및 도체성분에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.
증체량은 대조구의 2,170g에 비하여 첨가제 첨가구가 2,174 2,199g의 범위로 나타나 유의적인 차이는 없었고, 사료섭취량도 대조구의 4,381g에 비하여 첨가제 첨가구가 4,239 4,295g의 범위로 다소 적게 섭취하였으나 유의차는 나타나지 않았다. 또한 propolis 및 유카추출물의 첨가수준에 따른 차이도 나타나지 않았다. 사료요구율은 대조구의 2.03에 비하여 첨가제

첨가구가 1.93 1.98로 나타나 다소 향상되었으나 유의차는 없었다. 도체 성분도 처리구간 유의차가 나타나지 않았다. 결론적으로 본 실험의 propolis 및 유카추출물의 첨가에 따른 부로일러의 증체량, 사료요구율의 향상효과는 나타나지 않았다.

2) Propolis의 급여수준을 달리하여 급여할 때 부로일러의 육성성적에 미치는 영향

천연항생물질인 에탄올 추출 propolis의 첨가가 부로일러의 육성 성적에 미치는 영향을 분석하기 위하여 propolis를 100, 200, 300, 400ppm 및 500ppm 수준으로 사료에 첨가하여 6주간 사양시험을 실시하였으며 이들 첨가에 의한 부로일러의 증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

증체량은 대조구의 1937g에 비하여 propolis 첨가구가 공히 1,986 2,041g의 범위로 나타나 유의적으로(p<.05) 증가하는 경향을 보였으며, 특히 300ppm 첨가구인 D 구의 증체성적이 가장 높게 나타났다. 사료섭취량은 대조구의 4,127g에 비하여 propolis 첨가구가 4,154 4,183g의 범위로 나타나 비슷한 섭취량을 보였다. 사료효율은 대조구의 2.13에 비하여 propolis 첨가구의 2.11 2.04로 나타나 유의적으로(p<.05)으로 향상되었으며, D 구의 사료효율이 가장 좋게 나타났다.

육성시기별로 구분하여 볼 때도 전체성적과 비슷한 경향으로서 propolis 첨가구가 증체량 및 사료효율이 향상되는 결과로 나타났다.

3) Propolis 및 유카추출물의 첨가가 소에 있어서 반추위내 발효성상과 산유 및 육성성적에 미치는 영향

Propolis 및 유카추출물의 사료이용성을 규명하기 위하여 propolis 및 유카추출물을 300ppm 수준으로 급여할 때 반추위내 특성, 젖소의 산유량, 한우의 육성성적에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과

같다.

반추위내 총아미노산함량, 암모니아함량, 단백질합성량 및 반추위내 pH 함량은 처리구에 따른 차이가 나타나지 않았다.

젖소의 산유량 시험에서 사료섭취량은 처리구간에 따른 차이가 없었고 유생산량은 대조구의 18.25kg 에 비하여 유카추출물 급여구 및 propolis 급여구가 각각 18.39 및 18.36kg으로 다소 많았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 유지율, 유단백함량, 총세균수, 체세포수도 이들 처리에 따른 영향은 나타나지 않았다. 한우 육성시험에서 한우의 사료섭취량과 증체량은 처리구간에 따른 차이가 나타나지 않았다. 그리고 도체성분에서도 처리에 따른 차이가 나타나지 않았다.

4) 육성돈사료에 대한 악취제어 및 천연항생물질복합제 첨가가 육성성적에 미치는 영향

분취제어용 첨가물질과 propolis를 양돈 사료에 복합적으로 첨가해 육성성적과 영양소 소화율에 미치는 영향을 요약하면 다음과 같다.

육성성적에서 일당증체량과 일일 섭식량 그리고 사료전환효율에서 대조구와 복합제 첨가구를 비교시 각각의 처리간의 유의적 개선효과를 보이지는 않았으나 고수준의 복합제 첨가구에서 전체적으로 대조구보다 개선된 결과를 보였다.

영양소 소화율의 경우 이유자돈에서는 대조구에 비해 개선된 효과가 나타나지 않았지만 육성돈에서는 조단백질 소화율이 유의적으로 개선을 보였으며 건물과 에너지 소화율도 대조구에 비해 유의적 차이는 나타나지 않았지만 개선된 결과를 보이고 있다.

육성돈에서의 아미노산 소화율의 경우 필수아미노산에서는 아지닌, 이소류신, 류신, 페닐아라닌 그리고 발린에서 복합제 첨가구가 대조구에 비해 유의적으로 개선되는 결과를 보였고 비필수 아미노산 중에서는 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산 그리고 세린의 소화율이 유의적인 개

선 효과를 나타내었다.

5) 육성돈사료에 대한 propolis의 첨가가 육성성적 및 돈육내 propolis 이행에 미치는 영향

Propolis첨가 사료의 양돈급여시의 육성성적 및 소화율의 결과는 다음과 같다.

Propolis 첨가구에서 대조구보다 일당증체량과 사료효율이 개선된 수치를 보이고 있으나 유의성은 검정되지 않았고 일일 사료섭취량에 있어서는 대체적으로 비슷하거나 오히려 낮은 결과를 보였다. 이는 Propolis의 약리적 기능으로 볼 때 사람에서의 적용결과와는 많이 다른 결과를 보이고 있으나 실험기간이 60일로 자돈부터 비육기까지 꾸준히 급여하지 않았다는 것과, 적정수준의 첨가량이 아직 밝혀지지 않았다는데 그 원인이 있는 것으로 판단된다. 따라서 Propolis의 적정수준 첨가에 대한 연구가 좀 더 필요하고 propolis와 결착하여 사료에 첨가할 수 있는 첨가제에 대한 연구가 많이 이루어져야 할 것이다.

소화율에서 이유자돈의 경우 Pro-600처리구에서 건물과 에너지 소화율이 대조구나 pro-300처리구보다 유의적 개선결과를 보였고, 육성돈에서는 Pro-300과 600에서 첨가수준간의 차이는 없이 건물, 조단백질 및 에너지 소화율이 대조구에 비해 유의적 개선결과를 보였다.

아미노산의 소화율에서는 필수아미노산의 경우 아지닌, 히스티딘, 류신의 경우 Pro-600 처리구에서 대조구에 비해 유의적 개선결과를 보였고, 발린의 경우에는 Pro-300과 600에서 모두 대조구보다 개선되는 결과를 보였다. 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산 그리고 글루타민산의 소화율이 Pro-300과 600처리구에서 첨가수준간의 차이 없이 대조구보다 유의적 개선결과를 보였다.

Propolis를 투여한 돼지의 근육으로는 propolis가 이행되지 않는 것으

로 나타났다.

6) 육성돈사료에 분뇨악취 저감물질의 첨가가 육성성적에 미치는 영향

육성돈에서 고수준의 deodorizer 첨가시 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율이 대조구나 저수준의 deodorizer 첨가시보다 유의적으로 개선되었다. 필수 아미노산의 경우 deodorizer의 첨가시 히스티딘과 발린의 소화율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었고, 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산, 프로린 그리고 세린의 소화율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었다. 육성성적에서 악취제어용 복합첨가제가 0.7% 첨가된 DO-50에서 통계처리상 유의적 차이는 보이지 않았지만 증체량, 사료섭식량, 사료효율에서 가장 좋은 개선 효과를 보였고 따라서 양돈사료에서 적정수준의 deodorizer 첨가는 육성성적에 효과가 있는 것으로 판단되었다.

다. 천연항생물질 propolis의 추출 및 가축의 질병방제효과 검증

1) Propolis의 효과적 추출 및 항균력 평가

97%의 고농도의 ethanol에서부터 60%까지는 별 차이를 보이지 않아 30g의 봉교로부터 공히 14g의 propolis를 회수하여 46.6%의 회수율을 보였으나 50%이하 즉 증류수의 양이 50%를 넘으면서 현저하게 회수율이 떨어져서 경제성있는 ethanol의 농도는 60% 이었다.

소의 유방염 원인균으로서 문제시되는 중요한 균중의 하나인 *Staphylococcus uberis*, *Staphlococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus agalactiae*, *E. coli* 등에 항균력을 나타내었다.

2) Propolis의 면역학적 효과 평가

propolis투여군은 면역 증강 효과를 관찰 할 수 있었던 바, 전체적인

T-cell의 활성도가 올라감을 알 수 있었고 특히 IL-Ⅱ receptor의 경우는 propolis의 투여군이 대조군에 비하여 전반적으로 활성화되었으며 인체의 면역세포에 propolis를 50ppm 처리한 군은 10.25%로 대조군에 비하여 2배 이상에 해당하는 강력한 IL-Ⅱ receptor의 반응이 있음을 알 수 있었다.
한편 ICR mice에 투여한 Sarcoma 180의 성장 저해에 미치는 propolis의 투여는 면역증강 작용을 하여 생체자체가 지닌 암세포 제어작용을 더욱 활성화하였다.
실험에 사용한 모든 암세포주들이 공히 억제작용을 나타냈으며 그 중에서도 특히 사람의 자궁암세포주인 MCF7의 경우 0.1㎍/㎖의 저농도에서도 10%가 넘는 발육억제효과를 나타내었다. 한편 실험적으로 적합한 세포의 수와 propolis의 적합한 농도에 따라 탐식작용의 효과가 달라짐을 알 수 있었는데 중요한 것은 시간이 경과하면 할수록 propolis와 반응한 neutrophil의 기능이 더욱 활성화 되었다.

3) HPLC를 이용한 propolis의 약효성분 분석

Antiviral activity 및 antibacterial activity 작용이 있는 caffeic acid 와 p-coumaric acid 그리고 *Staphylococcus aureus* 증식 억제작용이 있는 cinnamic acid 등이 각 나라별 propolis에서 분리되었다. 또한 anti-viral 특성과 gastric ulcer 치료 촉진작용이 있는 flavone glycoside 물질인 rutin도 분리되었다. HPLC의 분리에 있어서 용매의 비극성 및 극성정도에 따라 propolis 구성성분 함량의 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 같은 나라에서 생산된 propolis일 지라도 caffeic acid, p-coumaric acid, cinnamic acid 와 rutin의 함량의 차이가 자연환경 및 그 지역 특성으로 인하여 나타나는 것을 알 수 있었다.
또한 propolis 추출 용매에 따라 각각의 프로폴리스 구성 성분의 함량의 차이가 있다는 것을 알 수 있었다.

4) Propolis의 가축의 설사 예방 및 치료 효과

E. coli 에 의하여 인공설사 유발 전에 propolis를 경구로 2주간 300 ㎎씩 투여한 후 *E. coli* 를 투여한 송아지군의 경우 대조군과 마찬가지로 설사가 전혀 유발되지 않았는데 이는 propolis에 의한 대장균 설사의 예방 효과를 시사하는 것이라고 할 수 있다. 그리고 *E. coli* 에 의하여 인공설사 유발된 군의 경우 propolis를 경구로 300㎎을 아침과 저녁에 걸쳐 투여하였는데 투여 후 6시간이 경과한 후부터 점차적으로 설사가 소실되어 24시간 후에는 완전히 멈추어 육안적으로 정상적인 상태로 돌아오는 것을 관찰할 수 있었다. 한편 이와 같은 약리작용은 인공 대장균 설사유발 자돈의 경우도 유사하였고 이 결과는 propolis의 경우 항생제는 아니지만 그 중에 항균작용을 하는 성분으로 알려진 flavonoids 들이 이와 같은 약리작용을 하는 것을 인식되며 이는 사료 첨가제로서 propolis의 활용 가능성을 더욱 강력하게 뒷받침 해 주는 자료가 될 수 있었다.

5) Propolis의 유방염 치료 체계 와 TTC-reduction test 검출여부

유방염의 원인균으로서 괴저성 유방염의 원인체인 *Staphlococcus aureus*에 대한 항균력 실험의 경우 기존항생제의 대조군은 물론이고 propolis 경우에서도 500ppm이상의 고농도에서는 항균력을 나타냄을 알 수 있었다

Staphylococcus agalactiae 의 경우도 *Staphylococcus aureus*와 유사하게 propolis가 모두 50,000ppm, 5,000ppm 및 500ppm에서 양성반응을 나타내었고 억제정도가 5,000ppm 에서 4㎜로 *Staphylococcus aureus* 보다 다소 강한 것으로 보였다. 그리고 대조군의 두 가지 항생제 역시 강력한 억제작용을 보였다. 이 결과는 propolis가 특히 Gram (+) 균에 효과적임을 암시하는 것이다. 소의 유방염 원인균으로서 문제시되는 중요한 균중의 하나인 *Staphylococcus uberis*, *Staphlococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus agalactiae*, *E. coli* 등에 항균력을 나

타내었다. 특히 *E. coli*의 경우 광범위 항생제인 ampicillin은 전혀 항균력이 없으나 본 실험에 사용된 propolis는 항균력을 나타내어 특히 ampicillin에 저항성이 있는 세균에 대용약으로 유방염의 치료에 활용할 수 있는 가능성을 제시하였다.
propolis의 투여는 TTC-환원 시험을 이용한 잔류 물질 검사에 1ppm의 농도에서부터 100ppm의 농도 모두 음성반응을 나타내었다. 이러한 사실은 첫째 유방염 치료의 목적으로 propolis를 사용할 수 있는 가능성을 강력히 시사하는 것이며 둘째로는 본 연구 결과 향후 propolis 함유한 축산물의 생산을 위한 청신호임을 암시하는 결과이기도 하다고 하겠다.

다. 분취억제제 및 천연항생물질의 시장경제성 평가 및 상용화방안

천연항생물질인 프로폴리스를 기존 항생제의 대체품으로서 개발한 제품을 사료에 첨가하여 산란계에 있어서의 경제성 평가 결과 특수란으로 개발하였을 경우 경제성이 있는 것으로 분석되었으며 그에 따른 상용화방안을 제시하였다.
전량 수입에 의존하고 있는 분취억제제의 대체제로서 국내에서 쉽게 구할 수 있는 도라지, 더덕폐기물, 인삼가공부산물, 비지박 등을 이용하여 경제성 평가를 한 결과 도라지가 가장 뛰어난 것으로 분석되었다.
프로폴리스와 분취억제제를 혼합하여 개발한 복합 양돈첨가제의 경제성 평가 결과 브랜드 육으로 상품화할 경우 두 당 최저 15,318원에서 최고 52,468원의 농가 소득 증가가 있는 것으로 분석되었다.
본 연구결과 복합 양돈첨가제를 급여한 양돈을 브랜드 육으로 상품화할 경우 두당 최저 15,318원에서 최고 52,468원의 농가 소득 증가가 있는 것으로 분석되었다. 복합 양돈첨가제를 통한 브랜드 육의 개발은 양돈농가의 소득증대뿐만이 아니라 최근 문제가 되고 있는 항생제의 남용을 방지하여 돈육 중 항생물질의 잔류를 근본적으로 제거함으로써 소비자가 요구하는

품질과 안전성을 동시에 만족시킬 수 있다고 판단된다. 따라서 수입냉장육에 대하여 품질의 우위성을 통한 경쟁력을 가질 수 있으며 HACCP에도 대처함으로써 돈콜레라 문제만 해결된다면 대일 수출에도 큰 영향이 없을 것으로 판단된다.

냉장돈육의 수입자유화와 IMF의 영향 속에서도 국내 돼지고기 산업은 일본을 중심으로 한 수출의 증가로 성장을 계속하여 왔다. 그러나 일본이 돈콜레라 청정화 선언이후 돼지콜레라 예방주사 접종국의 돈육 수입을 중단할 계획에 있으며 2002년 일본의 HACCP 전면도입으로 2001년을 기점으로 모든 수출국에 대해 HACCP를 적용하여 생산되는 식육에 대해서만 수입할 예정에 있고 원료 육의 원산지표시가 의무화되는 등 향후 돼지고기 수출은 매우 불투명한 것이 현실이라 할 수 있다.

이러한 상황을 슬기롭게 극복하는 길은 돈콜레라의 근절대책은 물론이고 고급냉장 브랜드 육과 HACCP제도의 도입으로 안전한 돼지고기를 생산하여 수입냉장 육과 경쟁은 물론 계속적인 수출의 추진이라 말 할 수 있다.

본 연구가 2002년 축산물의 전면 수입자유화에 대비한 국제경쟁력 향상의 한 방향을 제시하였다고 판단되며 앞으로 이러한 연구가 계속됨으로써 국내 축산이 발전될 수 있는 원동력이 되기를 바란다.

2. 활용에 대한 건의 사항

가. 천연 flavonoids를 함유한 propolis의 활용분야

1) 축산물내 기존 항생물질 잔류문제의 해결을 통한 청정 축산물의 생산에 활용한다. 즉 산란계, 육계, 유우, 육우, 돈육 등 출하용 육생산동물의 기존항생제 대체용 사료첨가제로 활용을 건의한다.

2) 이와 더불어 축산물의 brand화를 통한 propolis함유 기능성란, 목적육의 생산을 통한 고부가 축산물 생산을 유도한다. - 이는 97년도 특허 출

원("프로폴리스가 함유된 가축 사료 및 이를 사용하여 생산된 축산물(특허 출원번호 : 97-56291)" 후 양계산업과 청정 한우육 생산에 일차적으로 직접 실용화를 준비하고 있다.

3) 어린 돼지와 송아지에 사료첨가제로 사용하여 설사병등의 예방 및 치료에 응용함으로써 기존 합성항생제의 대체제로 활용을 건의한다.

4) 젖소 유방염의 치료에 사용함으로 기존 합성 항생제의 대체제로 활용을 유도하여 항생제의 잔류가 없는 청정 우유 생산을 실현한다.

5) 이제 까지 양봉 산업의 부산물이었던 propolis의 다량생산을 통한 양봉산업의 활성화에 일조한다.

6) Propolis의 항균작용효과, 면역증강효과, 항산화효과, 항염증효과 검증을 통하여 인체의 건강 보조식품으로 활용토록 유도한다. 현재까지의 실험 결과로 실용화가 가능하다

나. 분취억제제의 활용 분야

1) 집단 다두사육체계에서의 분취발생량 개발된 식물성 saponin을 주성분으로 한 사료첨가용 악취제어제인 deodorizer(Deodo)Ⓡ와 천연 항균작용을 나타내는 천연 flavonoid인 propolis의 복합첨가제(complex feed supplement : Deodo-proⓇ)를 활용하여 NH3의 발생을 감소시켜 양축가의 애로사항을 해결하도록 한다.

2) 본 연구의 부수적인 결과로 만들어진 흡착관을 이용한 VOC(Volatile organic compounds) 분석방법은 객관적인 악취 요인 평가체계를 구축하는 것이므로 현장에서 활용을 건의한다.

3) 축산단지조성에 대한 민원사태의 해결에 과학적 근거자료로 활용할 수 있다.

S U M M A R Y

In recent, the odorous substance like NH_3 and H_2S from manure play a critical role in livestock industry. And antibiotics residues in carcass and dairy product by drug abuse show a serious public health. Therefore, the purpose of these studies is to develop a dual purpose environmentally sound feed additives from the domestic natural substances which has both anti-microbial activity and odor control capability to produce pollutants-free animal products.

Part 1. Development of feed supplement from domestic saponin containing substances and natural anti-microbial substance

1. Development of natural bio-active substance to improve productivity and to control manure odor in animal production system

To develop a dual purpose feed additive that has both anti-microbial activity and odor control capability from the domestic natural substances, a series of basic nutraceutical evaluation studies have been executed.

In trial 1, to scrutinize potential odor control substance, five plant steroids extracted from *Yucca shidigera*(YS), *Platicodon grandiflorum*'s root(PGR), *Condonopsis laceolata's* processing waste(CLPW), ethanol-extracted Ginseng byproduct(EEGB) and water-extracted Ginseng byproduct(WEGB) were employed to be evaluated ammonia binding capacity. Two probiotic microorganisms, *Saccharomyces*

cerevisiae(Yeast) and *Streptococcus faecium cernelle* 68(SF68) were then employed to test whether there is either synergistic or antagonistic action with the extracted plant steroids. In trial 2, propolis, a natural anti-microbial substance was evaluated to replace conventional antibiotics whether there is an interaction with probiotic SF68 and there is inhibition for *E. coli*. To develop multipurpose additive, the microbial growth assay was performed simultaneously with the yucca extract. In trial 3, melting point and morphological change of propolis after heat treatment were measured after adding one of the five carriers, casein, lactose, Na-casein, red dog and cookie byproduct to the propolis.

The results are summarized as follows,

① Plant steroids extracted from PGR, CLPW, EEGB and WEGB were superior to the commercial YS in terms of ammonia binding capacity. Over 30mg of PGR had the highest ammonia binding capacity under higher ammonia dose. Over 12mg of EEGB and WEGB can bind over 50% of ammonia from any level of ammonia dose.

② There was no influence of extracted plant steroids on the growth of SF68. 1500ppm of YS decreased the growth of Yeast. The growth of yeast was stimulated over control with 500ppm of CLPW. Although 100ppm of WEGB can stimulate the growth of Yeast, the yeast growth pattern was not different from those shown under 500ppm to 2000ppm of WEGB. PGL and EEGB had no effect on the growth of Yeast.

③ When the various concentrations of ammonia water were added in the broth of SF68 and Yeast, the growth of both probiotic microorganisms was retarded once the ammonia level exceeds 0.5%.

④ With more than 0.5% ammonia water in the broth, the extracted plant steroids can not compensate the growth of the already inhibited Yeast. 1000ppm of PGR stimulates the growth of SF68, while the growth of SF68 was not affected by YS addition. All concentrations of CLPW, EEGB and WEGB can stimulate the growth of SF68 respectively after 15hrs, 24hrs and 24hrs.

⑤ Propolis has reduced the viability of SF68 although the viability of E. coli was reduced only by adding over 500ppm of propolis. There was no inhibition effect by yucca extract on the growth both SF68 and E. coli.

⑥ Melting initiation temperature of propolis incorporated with the cookie byproduct meal was lower than propolis incorporated with the other carrier but higher than that of pure propolis. Morphological change of carrier-incorporated propolis observed after heat treatment revealed the most efficient adsorption of propolis to the Na-casein.

In conclusion, the tested plant steroids were superior to YS in terms of ammonia binding which represents potential odor control capability. The microbial growth promoting or inhibiting effect of the plant saponins was subjective to the type of both saponins and microbes.

Since the propolis inhibits the growth of probiotic microbe SF68, it should be very cautious to combined add both propolis and probiotics simultaneously to the feed.

2. Identification of odorous substances from swine manure and down stream odor control using plants steroids

To examine the major odorous substance from swine manure and to evaluate plant steroids as an odor depressing agent, both olfactory and GC/ GC Mass analysis have been executed.

The sample of swine manure have been fractioned with H2O and 50% ethanol to categorize the possible odorous substances into either soluble or insoluble fraction. Swine manures mixed with either 1 % *Platicodon grandiflorum's* root(PGR) or 1% G*inseng* byproduct(GB) and none of those have been stored 1 day, 3 days, 7 days, and 14 days at room temperature.

To scrutinize major odor generating substances from volatile organic compounds(VOCs) both GC and GC Mass analysis using specific absorbent tube, and olfactory odor intensity evaluation by specific sniffing detector have been executed. To develop the possible down stream odor depressing agent both PGR and GB were evaluated by the above odor analysis procedure.

The results can be summarized as follows :

① After centrifugation of swine manure, the supernatant fraction exert stronger odor than the precipitates fraction. With increasing dilution of swine manures into water olfactory odor intensity was also increased, which indicate that the odor generating substances are generally water soluble and at least water mixible.

② Odor intensity was relatively strong in soluble fraction of swine manure after 3 days at field temperature. However, the intensity was extremely strong in the insoluble fraction compare to the soluble after 14 days of storage.

③ Between soluble and insoluble fraction by 50% ethanol, olfactory odor intensity was relatively strong in ethanol insoluble fraction of swine manure.

④ In swine manure mixed with either 1% PGR or 1% GB, both olfactory odor intensity and VOCs were decreased as storage time goes by 7 days to 14 days.

⑤ Major odorous substances of VOCs in swine manure analyzed by GC Mass were dimethyl sulfide, methyl chloride, 2-methyl pentane, 3-methyl pentane, dimethyl sulfide, 2-methyl hexane, heptane, toluene, acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene and o-xylene.

⑥ Among the odorous VOCs, acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene and o-xylene from hydrocarbon compounds and dimethyl sulfide and dimethyl disulfide from sulfide compounds were decreased with either 1% PGR and 1% GB addition after 7 to 14 days of storage at field temperature.

In conclusion, major odorous substances of swine manure considered to be ethyl benzene, p-xylene, styrene and o-xylene in hydro carbon compounds and dimethyl sulfide and dimethyl disulfide in sulfide compounds. Both PGR and GB were effective to control odor of swine manure at down stream process.

3. Market-ready production technology of feed additives imparting odor controlling and natural antibiotic compounds

To be ready for commercial production of feed additives to reduce fecal odor emission, two type of feed supplements were developed throughout this project.

The first market ready product is deodorizer(Deodo)® which are composed of several natural polymers including plant saponin. The second product is a dual purpose mixture(Deodo-pro)® combined both deodorizing substances and natural anti-microbial agent, propolis.

Both products were developed as a ready-to-add type of powder that are well mixible with traditional feed ingredients and formula mash diet. The products are also heat stable and easy to applicate for pellet processing of the feeds.

Dietary addition of both products were effective($P<0.05$) to reduce down to 50% of odor emission represented by fecal NH_3 and H_2S. As far as odor reduction is concerned, the product, Deodo® was more effective than the combined product of deodorizer and propolis(Deodo-pro)®.

Part 2. Animal bio-evaluation study for natural antibiotics, propolis and odor controlling compounds

1. Effect of feeding propolis extracts and *Yucca Schidigera* on body performance of broiler chicks

This study was carried out to determine the effect of feeding ethanol extract propolis(EEP) and yucca extracts(YE) supplementation on body weight gain, feed intake, feed efficiency and carcass composition. A total 500 broiler chicks were assigned to 10 treatments. Each treatment had 10 chicks with 5 replications. The supplementation levels of EEP and YE used in this experimental were 40, 80, 120 and 160ppm for EEP and 150 and 300ppm for YE respectively. The results obtained summarized as follows: The body weight gain (BWG) of chicks fed different levels of EEP and YE were similar that of control. Also, Feed intake in each treatment was similar over entire period. Feed efficiency of chick fed EEP and YE were slightly improved compare with control, but not significantly different among treatments. There was no significantly different in carcass composition among the treatments.

2. Effect of feeding of various level of propolis on body performance of broiler chicks

This study was carried out to determine the effect of feeding ethanol extract propolis(EEP) supplementation on body weight gain, feed intake, feed efficiency. A total 280 broiler chicks were assigned to 7 treatments. Each treatment had 10 chicks with 4 replications. The supplementation levels of EEP used in this experimental were 100, 200, 300, 400 and 500ppm. The results obtained summarized as follows: The body weight gain (BWG) of chicks fed different levels of EEP significantly increased($p<.01$) compare with that of control. Especially the treatment with 300ppm of EEP pruduced higher BWG among other treatments. Feed intake was not significantly different among treatments. Feed efficiency(FE) of chick fed EEP was significantly($p<.05$) improved compare with control. and the highest in the treatment with 300ppm of EEP. Therefore, the most efficient result were found in the chicks of EEP treated 300ppm for BWG and FC.

3. Effect of feeding propolis extracts and Yucca Schidigera on rumen characteristics, milk production and growth performance of cattle

This study was carried out to evaluate the effect of feeding Yucca shidigera extract(YSE) and ethanol extract propolis(EEP) on rumen characteristic, lactation performance of Holstein cows and growing performance of Korean native bulls. The supplementation levels of YSE and EEP used in this experimental were 300ppm respectively. The results obtained summarized as follows: Concentration of total amino acid (uM), ammonia, rumen microbial synthesis were not significantly difference among treatments. In cows trial, daily intake of dry matter was not significantly different among treatment. Milk production showed slightly increased for YSE and EEP than for control. But the significant difference among each treatment were not observed. In Korean bull trial, daily body gain and feed intake were not significantly different among treatments. Also, the carcass composition of bulls were not different among the treatments.

4. Effect of supplementing complex additive for both odor control and antibiotic action on the growing performance of pigs

Biological efficacy of feed supplements(deodo-pro) which have both deodorizing capability and natural antimicrobial activity was evaluated using growing swine with duplicated doses of the supplement to the diet.

Addition of complex feed supplement which have both deodorizer and natural anti-microbial propolis did not improve growth performance of finishing pigs although there was a numerical advantage due to the high level addition of the supplement. However, protein digestibility of growing pigs diet was improved($P<0.05$) by the addition of complex supplement. Both DM and energy digestions were also numerically improved by the addition.

Amino acid digestibility were also improved($P<0.05$) by the addition of the complex supplement to the growing pig diet.

5. Effect of dietary propolis addition on the growing performance of pig and propolis impartation to the pork

Supplementation of propolis(pro) into swine diet as a natural anti-microbial agent and therefore possible growth promotor was evaluated. Two levels(300 and 600ppm) of propolis were added to swine finisher diet then both growth performance, nutrient digestibility and biological deposition of function substances into the meat were analyzed.

There was no marked effect of dietary propolis medication in growth rate, feed conversion and feed consumption of pigs. However, the nutrients digestions were improved($P<0.05$) by both low and high level of propolis addition to the diet. Digestions of several essential and non-essential amino acids were also improved($P<0.05$) by the propolis medication.

There was no biological transformation and bio-accumulation of propolis into the meat due to the feeding of the substance.

6. Dietary supplementation of odor controlling substances and their effect on the growing performance of the pig

Supplementation of deodorizing substances(Deodo) into the swine diet was evaluated with swine fed two levels of mixed deodorize.
Low level addition of deodorizer has numerically improved growth rate and feed conversion rate although higher level addition negate the advantage.

However the high level addition of the deodorizer certainly

improved($P<0.05$) dietary DM, protein and GE digestions from no added control and low level added diet.
Amino acid digestions were also improved($P<0.05$) by the high level addition of deodorizer to the diet.

Part 3. Isolation of propolis and their application for the disease control

1. Development of optimal isolation and evaluation of anti-bacterial effect for propolis

Propolis is a specialized, natural resinous, waxy material with which honey bees seal their colonies from the outside world. Besides it resinous character, propolis has a second property which is important in the beehive : it prevents the growth of bacteria.
Propolis has proved to be a highly efficient first-line protection against a wide spectrum of bacterial infections
First, in order to optimize the method to determine the optimal isolations method of crude propolis, we used different concentrations of ethanol. The optimal concentration of ethanol to separate a best quantity of propolis was 60%.
Second we determined the bactericidal or bacteriostatic effect of the natural propolis introduced in the growth media as well as the bactericidal and bacteriostatic effect of ethanol extracted propolis. The results of this study proved that all propolis has pronounced antibacterial effect.

2. Immunological effects of propolis

The aims of this study are to know the immunological and tumoricidal activity of propolis.

1) Effect of propolis on the *in vivo* immune function of mice

In order to determine the influence of propolis on immune function, various concentrations of propolis were administered to mice for 10 weeks. And the function of various immune cells are analyzed by monoclonal antibodies. The propolis administered group showed an enhanced immune function to compared with untreated control group.

Especially, the expression of interleukin-II receptor in propolis treated group was activated in compare with control group.

These results suggested that long term administration of propolis modulate the immune function in vivo.

T-cell antigen receptor(TCR) is a critical role to defense the body against tumor. The expression of TCR also increased in the propolis administered group. This result indicated that propolis may use a bactericidal as well as a immune enhancing purpose for the livestock.

2) Effect of propolis on the Interleukin-II receptor expression of human T-cell *in vitro*

To analyse the effect of propolis on the human T cell in vitro, we isolated T cells from peripheral blood and these were incubated with 50ppm propolis for 16hrs. After that T-cell were labelled with anti-human CD25-FITC(IL-2 receptor) for analysis by flowcytometry.

The expression of IL-II receptor in the propolis treated T-cell was increased with 2 fold in compare with control group.

These data indicated also that propolis may use as feed additive not only for a bactericidal but a immune enhancing purpose to the livestock.

3) Effect of propolis on the Sarcoma 180 bearing mice

In order to investigate the curative activity of per oral administration of propolis on tumor, ICR mice was subcutaneously implanted Sarcoma 180.

In the 300mg/kg propolis administered group on day 28th, development of implanted tumors was strongly inhibited by 83.5%.

The regression rate of tumor was dose dependent.

The data suggested propolis shows antitumor effedct.

4) Effect of propolis on the established tumor cell lines

The antitumor activity of propolis examined against five kinds of established tumor cell lines. For the test we prepared human gastric carcinoma (KATO III), human lung carcinoma (A549), human breast adenocarcinoma (MCF-7), mouse lymphoma (Sarcoma 180), and mouse lymphoma (Yac-1). Propolis was highly effective at all treated doses(0.1μg/mℓ, 1μg/mℓ, 5μg/mℓ and 25μg/mℓ).

This result suggest propolis may have tumoricidal activity.

5) Effect of propolis on human neutrophil function *in vitro*

In order to determine the effect of propolis on the phagocytic activity of human neutrophil, we prepared human neutrophil and cocultured with propolis(10ppm, 50ppm and 100ppm) in vitro. And an phagocytic activity was measured by luminometer. After 10hrs incubation neutrophil treated with 10ppm propolis showed moderatly enhanced phagocytic activity(36%). And the enhanced phagocytic activity is time dependent.

3. Identification of pharmacologic components of propolis by using HPLC

This study was carried out to investigate of major pharmacologic constituents of propolis by HPLC.
The HPLC analysis revealed the occurrence of at least fifteen flavonoids. Four of major constituents of propolis, caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2- propenoic acid) and rutin(flavone glycoside) were identified by HPLC.
The major constituents of propolis differd from country to country. It has been suggested that the different geographyical origin influenced to the efficacy and the constituents of propolis.

4. Prophylactic and therapeutic effects of propolis on neonatal diarrhea in calves and piglets

To determine the action of ethanol extract of propolis(EEP) as feed additives on the protection and the treatment of *E. coli* caused neonatal diarrhea in calves and piglets.
To know whether EEP can be substituted for commercial antibiotics on therapy of *E. coli* caused neonatal diarrhea in calves and piglets.

Group A calves and piglets which were fed EEP prior to *E. coli* administration showed no attack of diarrhea. And in group B calves and piglets were fed EEP for 3-5 days after the artificial induction of diarrhea by *E. coli* administration, EEP showed an excellent curative effect. Group C calves and piglets as a positive control which were treated by enrofloxacin showed also a curative effect.

In the result of group B and C, EEP an equivalent effect to enrofloxacin for the treatment of neonatal diarrhea in calves and piglets.

Therefore we could notice that EEP has not only prophylactic but therapeutic effects on *E. coli* induced neonatal diarrhea in calves.

These result showed that EEP without any antibiotics residues can be substituted for commercial antibiotics on neonatal diarrhea in calves and piglets.

5. Effect of propolis on mastitis and TTC-reduction test

Mastitis remains the most costly disease in the dairy industry. Antibiotic residues following therapy during lactation remain a serious concern for a safe milk and meat supply. Therefore, in this study we determined whether the ethanol extract of propolis(EEP) could substituted for commercial antibiotics on mastitis therapy. For the test we used various strains of bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Stapylyococcus dysgalactiae*, *Stapylococcus uberis* and *Escherichia coli*.

Propolis showed anti-bacterial effects against all tested mastitis caused bacterial strains. In addtion, propolis was sensitive to *E. coli* which was resistant to broad spectrum antibiotics like ampicillin,

A unique advantage of propolis is that it enhances the effectiveness of antibiotics such as penicillin and streptomycin. The combination of propolis with commercial antibiotics can reduce drug dosages, minimize drug side effects, and decrease chances of drug resistance. These results concluded that propolis could substituted for commercial antibiotics. In order to know whether propolis is detected by TTC-reduction test, various concentrations of propolis, 1 100 ppm were reacted with TTC. In this test TTC-reduction in all concentrations of propolis showed negative reaction. The results indicated that propolis without any antibiotics residues may safely substituted for commercial antibiotics on mastitis therapy.

C O N T E N T S

Development of Environmentally Sound Livestock Feeds and Natural Antibiotics to Produce Pollutants-free Animal Products

목 차

제 1 장　서　론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 연구개발의 목적과 범위

가. 연구개발의 필요성

가축의 사육규모가 증대하고 집약화함에 따라 가축의 분뇨에서 발생하는 악취는 축산환경에 크나큰 문제로 대두되고 있다. 특히 우리 나라와 같이 국토면적이 적어 양축농장과 주변 거주지역과의 거리가 제한 될 수밖에 없는 경우 분뇨악취는 지속축산의 커다란 장애물로 등장하고 있다. 실제 양축가의 제일 고민은 주변 거주지역과의 민원문제에 있는 것으로 평가되고 있어 실제 그 유무형적 손실액은 엄청난 규모에 이른다고 할 것이다.

뿐만 아니라 분뇨취는 각종 해충 및 유해미생물의 서식을 유발시켜 가축의 건강유지 및 성장을 저해하며 주요 악취성분인 황화수소나 암모니아는 가축체내의 단백질 대사의 이상으로 그 발생량이 증가하므로 그만큼 사료이용성이 저해되고 있음을 의미한다고 하겠다.

가축의 분뇨취를 제어하기 위하여 전세계적으로 여러 가지 방법이 시도되고 있으나 아직도 효과적인 방법이 제시되지 못하고 있는 실정이다. 여러 가지 방법 중에서 우리 나라와 같이 사료자원의 대부분을 외국으로부터의 수입에 의존하고 있는 경우 분뇨취의 제어는 사료의 이용성을 개선할 수 있는 차원에서 시도되는 것이 바람직하다.

그 중에서도 sarsaponin의 경우 그 작용기전은 명확하게 밝혀지지 않았으나 장내 미생물의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 이제까지 가축에게 치료목적이나 성장촉진목적으로 사용되었던 항생물질이나 생균물질과의 길

항 또는 교호작용이 존재할 수 있음을 시사하고 있다. 이는 최근 저공해 축산물을 생산하기 위하여 특히 산란계, 유우 또는 출하직전의 가축에 항생물질의 사용이 금지됨에 따라 생균제(probiotics)에 대한 관심사가 높아지면서 sarsaponin제와 병용시 선결해야 할 문제점이 있음을 의미한다고 하겠다. 즉 sarsaponin제가 ammonia에 독성반응을 나타내는 다수의 미생물에 불특정적으로 영향을 미치므로 가축에 효과적인 생균물질을 선택하는데 주의를 기울여야 함을 의미한다. 따라서 항생물질 대체제로서 생균제보다는 자연물에서 추출한 천연항생물질의 잠재력이 부각된다고 하겠다.

그러한 측면에서 꿀벌밀납내에 존재하는 항균물질인 propolis 등 천연항생물질은 기존의 합성의약품이나 미생물 유래 항생물질을 대체하여 잔류문제나 내성전이문제를 격감시킬 수 있을 뿐 아니라 그외 생물학적 반응성이 높은 sarsaponin과 같은 식물성 스테로이드 물질과의 길항작용도 감소시킬 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 sarsaponin과 교호효과를 나타낼 수 있는 천연항생물질의 개발과 이로 인한 가축의 성장촉진과 분취억제 아울러 질병치료효과를 나타낼 수 있는 병용 급여체계의 개발 그리고 천연항생물질의 상용화기술을 개발하고자 한다.

1) 기술적 측면

가) 암모니아 흡착성질을 나타내는 식물성 steroid제제와 천연항생물질과의 교호상승효과를 규명하여 양축가에게 효율적인 첨가체계를 개발한다.

나) 천연항생물질의 대사조절능력및 약리적 효과를 규명하여 무공해 축산물 생산체계 구축에 도움을 준다.

다) 악취제어및 천연항생물질의 사료용 안정 투여체계의 개발을 통하여 실제 사료에 첨가시 가공처리과정에서의 효능유지를 도모한다.

라) 실제 가축생산체계하에서의 성장, 질병억제, 잔류, 악취제거측면에서의 국내 축산에 대한 응용성을 제고한다.

2) 경제 · 산업적 측면

가) 현재 년간 275억에 달하는 국내 사료용 항생물질 및 합성의약품시장에서 새로운 천연 항생 물질 대체제의 개발은 수입대체효과를 유발시켜 외화절감에 기여한다.

나) 기존 항생물질을 사용할 수 없는 양축체계하에서 천연 항생물질의 사용은 생산성향상에 크게 기여할 수 있다.

다) 유우의 생산성하락의 원인인 유방염 원인균들에 대한 특이적이고 내성이 없는 치료용 첨가제를 개발하여 국내 낙농업발전에 기여한다.

2) 사회문화적 측면

가) 항생물질 무잔류 축산물의 생산체계를 기술적으로 뒷받침하여 무공해 축산물의 생산에 기여한다.

나) 천연 항생물질의 개발은 일반 축산물소비자에게 축산물의 안전에 관한 신뢰회복에 기여할 수 있다.

다) 축분으로부터 발생하는 악취를 감소시켜 축산환경개선에 이바지 하고 인근 주민의 민원 야기요인을 감소시킨다.

나. 국내외 관련기술의 현황과 문제점

가) 1997년 7월1일 부로 국내의 축산물 시장이 완전히 개방되어 항생제의 무분별한 사용시 수입축산물에 대한 경쟁력을 상실할 수 있으며 특히 이제까지 국내의 과량의 항생제를 사용한 고비용 축산물 생산의 형태에서 다양한 flavonoids에 의한 항균 및 면역증강효과를 함유한 propolis를 항생제 대용으로 사용할 시 HACCP제도의 도입에 의한 경제적인 비용 등을 줄일 수 있어 청정 축산물의 생산이 가능하며 이는 한국 축산의 존립에 중요한 역할을 할 수 있을 것이다.

나) 최근 한국 축산의 수입 개방화이후 회생의 길은 우리 축산물에 대한 품질을 인정받을 수 있는 brand화에 있다고 하겠다. 이러한 brand화의

일환으로 우선적으로 propolis의 축산에의 활용이 중요한데 propolis가 단순한 가축의 질병원인균에 대한 항균작용만 하는 것이 아니라 가축의 생체나 인체에 면역증강효과와 항산화작용효과까지 지니고 있으므로 이를 바탕으로 하여 propolis를 산란계나 육계에 투여시 “propolis 함유계란 및 닭고기”라는 brand화한 제품을 생산을 통한 실용화를 추진하여 양계 축산 농가에 널리 보급하여 고부가 축산물의 생산으로 방향을 제시 할 수 있다.

3) 최근 환경부의 축산 분뇨에 의한 환경 및 수질오염에 대한 단속 및 규제가 맑은 물의 보호차원에서 더욱 더 가속화되고 있으므로 더덕의 잎 및 줄기, 두부의 부산물, 도라지 및 인삼박 등의 조속한 실용화를 통한 축의 분뇨로부터의 ammonia 방출을 줄이는 것은 매우 중요한 축산의 사활과 관련된 문제이다.

다. 앞으로의 전망

향후 환경과 위생에 대한 관심이 급증하고 이에 따라 각종 규제도 증가하면서 환경친화형 축산기술의 확립과 위생적인 축산물의 생산은 필수불가결한 명제가 될 것이다.

따라서 가축생산 과정에서의 분취억제, 축산물내 항생물질 잔류를 원천적으로 차단할 수 있는 생균물질이나 천연항생물질의 개발은 다각도로 전세계적으로 연구시도 될 것이다. 이러한 관점에서 본 연구와 같은 환경친화형 연구는 미래지향적 연구이며 시사성 있는 연구가 될 것으로 전망한다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발 목표 및 내용

가. 연구 개발의 최종목표

항균작용을 하는 천연 flavonoid 인 propolis를 새로운 사료용 첨가제 제로서 개발 및 이와 효율적으로 병용할 수 있는 sarsaponin등 식물성 steroid제제의 개발 및 양산체계 확립에 있다.

나. 구체적인 정량적 목표

1) 분취제거제와 천연항생제의 병용제를 이용하여 축분의 악취감소를 현재 수준에서 50% 수준으로 감소시킨다.

2) 합성항생물질사용 불가 축종에 사용할 수 있는 항균성 천연 flavonoid의 활용으로 생산성 개선을 유도한다.

3) 배합사료 공장에서의 항생물질 cross-contamination 가능성의 원천적인 차단을 유도한다.

4) 축산물 내 잔류항생물질 원인의 제거로 인한 항생물질 무잔류 축산물 생산을 통한 청정화를 꾀한다.

5) 세균에 대한 내성이 없는 효과적인 유우의 유방염 치료제를 개발한다.

2. 연구개발 내용 및 범위

구 분	연구개발 내용	연구개발 범위
1차년도 (1996)	Sarsaponin의 물성, 미생물학적 반응성 평가	o Sarsaponin등 국내산 식물성 스테로이드제 탐색 o 식물성 스테로이드제의 분산등 물리적성질 평가 o Sarsaponin과 주요 미생물제제와의 교호 및 길항 작용 평가
	Propolis의 추출과 면역학적 작용 및 항균성 평가	o Propolis의 효과적 추출체계 개발 o 분리추출 propolis의 가축 주요 질병원인균에 대한 in vitro 항균 효과 검증 o Propolis의 in vivo내 생쥐의 면역기능에 미치는 영향 평가
	식물성 스테로이드제 및 추출 propolis의 생물학적 평가	o 주요 식물성 스테로이드제의 양계 사료첨가 효과 평가 o Propolis제의 양계사료 첨가시 적정첨가수준 및 생산성평가 o 축산물에 미치는 영향 평가
	국내및 국외 항생물질 시장동향 분석및 미래 무공해 축산물 시장 평가	o 국내및 국외 항생물질 및 합성 의약품 시장분석 o Sarsaponin및 propolis제제의 가격 경쟁력 분석 o 무공해 축산물의 시장 잠재력 분석

구 분	연구개발 내용	연구개발 범위
2차년도 (1997)	효율적인 sarsaponin및 천연항생 물질 병용체계 개발	o 개발제제의 사료제조공장에서의 효율적 적용체계 개발 o 병용체계하에서의 분취억제능력 평가 o Sarsaponin과 천연항생물질과의 교호성 평가 o 분취억제제의 대량생산체계기술 (위탁과제로부터 이관하여 수행)
	Propolis의 약효성분 분리 및 미생물학적 효능평가	o in vitro내에서의 종양세포주에 대한 propolis의 항암효과 o 인공설사감염 송아지에 대한 propolis작용 평가 o Propolis의 대량생산체계기술 (위탁과제로부터 이관하여 수행)
	반추가축에서 sarsaponin 및 propolis 영향평가	o 비육우에서의 개발제제 급여효과 및 생산물 평가 o 착유우에서의 개발제제 급여효과 및 우유품질 평가
	분취억제가 축산시스템의 경제성에 미치는 영향 시작품의 생산시작 (위탁연구 계획서 참조 요망)	o 분취억제제의 사회문화적 측면에서의 경제성 개량 o 개발된 병용제제의 국내주요 축종에 대한 경제성 평가

구 분	연구개발 내용	연구개발 범위
3차년도 (1998)	Sarsaponin및 천연항생물질의 상용화기술 개발	o 양축가 수준에서의 개발제품 응용방법 연구 o 시제품에 대한 악취제거및 생산성 개선 역량평가
	천연항생물질 propolis의 유방염 치료체계 개발	o 분리된 propolis의 유방염 치료효과 규명 o 분리된 propolis의 유방염 주된 원인균에 대한 항균력 평가 o TTC 를 이용한 유두내 투여된 propolis의 우유내 잔류여부 검정 o 유방염 치료제로서의 가능성 타진
	돼지에 있어서 천연항생물질제의 효능 평가	o 돼지 생산체계에서의 개발제의 적정 첨가수준 규명 o 양돈의 생산성향상및 돈육품질 개 효과평가 o 돼지의 세균성설사에 미치는 효과
	개발제품의 대량생산 체계구축	o 분취억제및 천연항생물질의 시작품 제작(주관연구기관으로 이관수행) o 주요 경제축종에 대한 급여후 경제성 평가 o 개발제제에 대한 수출가능성평가 o 개발제제에 대한 마켓팅전략

제 3 절 기대효과

1. 기술적 측면

식물성 steroid의 일종인 sarsaponin과 병용할 수 있는 천연 flavonoid의 개발은 환경 친화적 축산기술의 하나로서 향후 유사한 천연항생물질의 개발에 응용될 수 있으며 특히 sarsaponin제는 생물학적 반응성이 높아 축사나 폐수처리 lagoon등에서 chemical deodorants, masking agent, counteractants등과 병용하여 사용할 수 있다. 또한 propolis와 같은 천연항생물질은 항균작용이 있으므로 기존의 합성항생제의 대체제로 잔류항생제의 문제를 해결하며 또한 세균에 대한 내성문제를 해결하며 아울러 항암효과, 항산화효과를 가지고 있어 사료의 향미보존제, 기타 천연 방부제로서 등 식품첨가물에 응용될 수 있을 것이다.

2. 경제 · 산업적 측면

효능이 확실한 sarsaponin제의 사용기술개발로 향후 분취제거제의 시장은 현재의 년간 20억원 시장에서 급증할 것으로 판단되며 천연항생물질은 향후 항생물질오염에 대한 규제 및 위생적 축산물의 수요가 급증하면서 국내에서 만도 년간 약 275억원에 달하는 기존 사료첨가용 항생제, 화학요법제 시장을 대체하여 약 50%수준을 점유할 것으로 판단된다. 이는 거의 해당 비용만큼 수입대체효과를 가져올 수 있음을 의미하여 해외수출의 가능성도 클 것으로 판단된다.

이를 구체적으로 말하면 사료첨가용 항생제의 사료 1㎏ 당 차지하는 비용이 평균 5-10원임을 감안할 때 sarsaponin의 경우 약 1원/사료 1㎏당 소요가 예상되며 propolis의 경우 약 5원/사료 1Kg 당 소요가 예상되므로 사료첨가용 항생제 대체만 간별하여도 약 150억원 이상의 대체효과를 기대할 수 있으며 개발제제가 양봉 및 식품산업의 부산물임을 고려할 때 더욱 그

의의를 절감할 수 있다.

3. 농가 파급 효과

축산물의 직접적 생산자로서 양축가는 안전한 축산물을 생산할 수 있는 안정적 토대를 마련하고 항생제, 화학 요법제의 대체에 따른 실질적인 경제적인 효과를 갖는다. 또한 상기 성분이 축산물로의 이행이 확인되었을 경우, 기능성 식품으로서의 부가가치를 창출할 수 있다. 더욱이 항생제, 화학요법제의 배합사료내의 첨가와 양축가의 동물약품상에서의 직접 구매를 통한 남용에 따른 교차내성의 문제, 잔류의 문제 및 저항성의 약화 등에 따른 농가의 실질적 피해를 예방할 수 있으며 유방염, 피부병등 공중보건학적 질병에 항생제, 화학요법제의 사용이 제한되고 있는 현실에 본 제제들은 직접 사용이 가능한 부가적인 이익이 있다.

제 2 장 국내산 saponin함유물질과 천연항생물질을 이용한 사료용 복합첨가제 개발

제 1 절 식물성 steroid제 및 천연항생물질의 물성,미생물학적 반응성 평가

1. 서 론

가축의 생산성을 향상시키고 질병을 치료하며 위생적인 축산물을 생산하기 위하여 많은 사료첨가제가 개발되어 왔다. 그중 대표적인 것이 항생제(antibiotics)인데 최근에 와서 위생적이고 안전한 축산물의 생산이라는 측면에서 항생제의 사용은 많은 규제를 받게 되었다. 그 후 장내 유익한 미생물의 군락형성을 도우면서 질병에 대한 감염을 예방하며 가축의 성장을 촉진하는 생균제(probiotics)가 등장하였다. 그러나 생균제의 경우에도 장내 필요한 지점에 이르기까지 유익균의 생존여부, 타 항균물질과 병용시 생균의 생존여부가 문제점으로 제기 되었다. 따라서 기존의 화학적 항생물질을 대체하기 위한 천연항생물질에 대한 관심이 증가하게 되었다. 이러한 천연항생물질 중 propolis는 봉교에서 추출된 것으로 여러 박테리아에 항균작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Aga et al,1994; Grange et al.,1990; Krol et al., 1993; Park et al., 1998; Takaisi-kikuni and Schilcher,1994). 그러나 아직까지 사료에 첨가할 경우 가축의 능력에 어떠한 영향을 미치는지에 관한 연구는 수행된 바 없으며 더불어 기존의 생

균제 또는 다른 사료첨가제와 병행하여 급여 시 상승 또는 교호작용이 있는지 관하여도 연구된 바 없다.

한편, 최근 축산의 형태가 집약화, 대규모화함에 따라 가축분뇨 폐기물의 생산량도 증가하게 되었다. 따라서 가축분뇨 폐기물에 의한 환경오염이 사회문제화 되고 있는데 특히 우리 나라의 경우 사육되는 가축두수에 비해 사육면적이 절대적으로 협소하여 축산농가에서 발생하는 환경오염은 인접 지역에도 영향을 미치게 된다. 이중 돈분 등에서 발생하는 암모니아가스를 비롯한 각종 악취는 축사주변지역으로부터 민원의 대상이 되고 있으며, 고농도의 암모니아 가스로 인해 가축의 생산성도 위해를 받고 있다(Cole, 1993). 따라서 앞으로의 축산은 환경오염의 발생을 줄임과 동시에 가축의 생산성을 극대화시키는 방향에서 이루어져야 할 것이다. 가축의 분뇨취를 억제하기 위한 여러 방법 중 가축이 섭취하는 사료를 이용하여 가축의 분뇨취를 조절하는 방법이 현실적인 방법인데 이러한 방법중 대표적인 것이 미국남부와 멕시코 등에서 다량 서식하는 *Yucca shidigera*라는 선인장에서 추출된 식물성 steroid인 sarsaponin의 이용이다(Johnston et al., 1981; Wu et al, 1994). Sarsaponin은 saponin의 종류인데 대부분의 식물 saponin은 방향효과, 거품발생효과, 계면활성효과, 성장촉진효과, 기타 스테로이드계의 전구물질로서의 특성을 가지고 있다(Cheeke, 1971; Milgate and Roberts, 1995). 그러나 Yucca에서 추출된 saponin은 특히 암모니아를 흡착하는 특성을 가지고 있어 가축분뇨취의 감소목적으로 많이 이용되고 있다. 따라서 yucca saponin의 경우 암모니아 흡착능력의 평가가 많이 이루어진 반면 다른 식물의 saponin의 경우 암모니아 흡착능력에 대한 평가는 거의 없는 실정이다.

지금까지 yucca saponin의 암모니아 감소기전으로 분뇨내 ammonia 흡착으로 인한 악취 감소(Headon et al., 1991; Ma et al., 1993)또는 장내 urease의 감소로 인한 암모니아의 감소(Hussain et al., 1996; Yeo and Kim, 1997; Preston et al., 1987)등이 제기되었다. 또한 yucca extract를

비롯한 phyto saponin의 경우 일부 실험에서 가축에서의 성장촉진(Cole and Tuck, 1995)효과가 보고된바 있다. 그럼에도 이러한 결과가 항상 반복적으로 검증되지 못하고 있을 뿐 아니라 그 기전에 관해서도 명확히 밝혀지지 않은 상태이다. 더 나아가 이러한 성장촉진현상이 단순히 장내 및 분뇨의 ammonia 수준 감소로부터 유래하는지에 여부도 불확실한 상태이다. 또한 서두에 언급한 바와 같이 위생적이고 안전한 축산물을 생산하고 가축의 성장을 촉진시키기 위해 첨가되는 생균제 또는 천연항생물질 등과 병행하여 급여시 각 첨가물질간의 상호작용에 관해서도 전혀 연구되지 못한 상태이다. 따라서 본 연구는 질병예방용 항균목적과 악취제어 목적의 병용 사료첨가제를 개발하기 위한 기초연구를 위해 시행되었다.

본 연구를 위해 우선 ⅰ) 환경오염 감소측면에서 분뇨취 감소제로 sarsaponin을 대체할 수 있는 국내산 악취제어제를 탐색하고자 주요 식물로부터 추출된 saponin의 암모니아 흡착능력을 탐색하였다. 또한 ⅱ) 현재 악취제어제로 시판되고 있는 yucca extract와 천연항생물질로서 잠재력이 인정되는 propolis를 동시 또는 개별 첨가할 때 이들이 생균제와 또는 장내주요 미생물인 대장균에 미치는 영향을 미생물학적으로 평가하여 천연항생물질과 악취제어제의 병용 첨가가능성을 평가하였다. 마지막으로 ⅲ) propolis를 사료용 첨가제로 개발하기 위하여 용융 및 혼합과 연관된 물성을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

가. 식물성 steroid들의 암모니아 흡착능력과 생균제의 성장에 미치는 영향

1) Saponin추출

본 실험에 사용된 식물성 steroid는 유카(*Yucca shidigera*;YS), 도라

지뿌리(*Platicodon grandiflorum*'s root; PGR), 더덕폐기물(*Condonopsis laceolata's* processing waste; CLPW)과 한국담배인삼공사로부터 얻은 인삼가공부산물인 인삼알콜박(ethanol-extracted ginseng byproduct; EEGB) 그리고 인삼물박(water-extracted ginseng byproduct; WEGB)으로부터 추출되었으며 추출방법은 Fig. 2-1과 같다.

2) 암모니아 흡착력 평가

사전에 추출한 식물성 steroid들의 암모니아 흡착도를 평가하기 위하여 Wallace et al.(1994)의 방법에 따라 NH_4Cl을 0.1mM, 0.2mM, 0.3mM, 0.4mM 만들어 테스트 튜브에 각각 1ml 씩 첨가한 후 각각의 암모니아 농도별로 각각의 식물성 steroid추출물을 농도별로 첨가하여 37℃에서 1시간 배양후 이중 0.4ml씩 샘플링하여 phenol-hypochlorite-nitroprusside method (Weatherburn, 1967)를 사용하여 Spectrophotometer (UVIKON 942, Italy)를 이용하여 흡수파장 650nm에서 흡광도를 측정함으로서 유리된 암모니아 함량을 측정하였다.

3) 공시균주

식물성 steroid와 생균제와의 교호 또는 길항작용을 평가하기 위하여 시판생균제인 *Streptococcus faecium cernelle* 68(SF68)와 *Saccharomyces cerevisiae*(Yeast)를 선택하여 실험에 사용하였다.

4) 배지의 조제

생균제들과의 상호작용을 조사하기 위해 추출한 식물성 steroid를 멸균한 증류수에 용해한 다음 0.22㎛ membrane filter로 무균여과하여 각 미생물의 기본배지에 일정농도별로 첨가하여 사용하였다. 또한 미생물에 독성을 나타내는 수준의 암모니아가 존재할때 생균제와의 상호작용을 조사하기 위하여 0.5%의 암모니아수를 배지에 첨가한 뒤 각각의 식물성 steroid를

일정농도로 첨가하였다. 본 실험에 사용된 기본배지는 SF68의 경우 *Lactobacillus* MRS broth(DIFCO Co.)를 사용하였고 Yeast의 경우 Tryptic soy broth(DIFCO Co.)를 사용하였다.

5) 종균의 배양

SF68은 시판 생균제로부터 *Lactobacillus* MRS broth에 Bacto-agar 1.5%를 첨가한 고형배지에서 분리한 후 1백금이를 *Lactobacillus* MRS broth 20ml에 접종하여 35±1℃에서 24시간 정치배양하였으며 Yeast의 경우 선택배지인 Potato dextrose agar(DIFCO Co.)에서 분리한 후 1백금이를 Tryptic soy broth(DIFCO Co.)에 접종하여 30℃에서 24시간동안 100rpm의 교반을 통해 진탕배양하였다.

6) 본배양

SF68과 Yeast종균 0.1ml를 기본배지가 200ml씩 들어있는 500ml 삼각플라스크에 접종하여 SF68은 35±1℃에서 정치배양하였고 Yeast는 30±1℃에서 진탕배양하였다.

7) 균체량 측정

SF68과 Yeast의 성장은 Spectrophotometer(UVIKON 942, Italy)를 이용하여 520nm, 660nm에서 증류수를 대조로 하여 시간대별로 흡광도(Optical density)를 측정하여 균체량을 조사하였다.

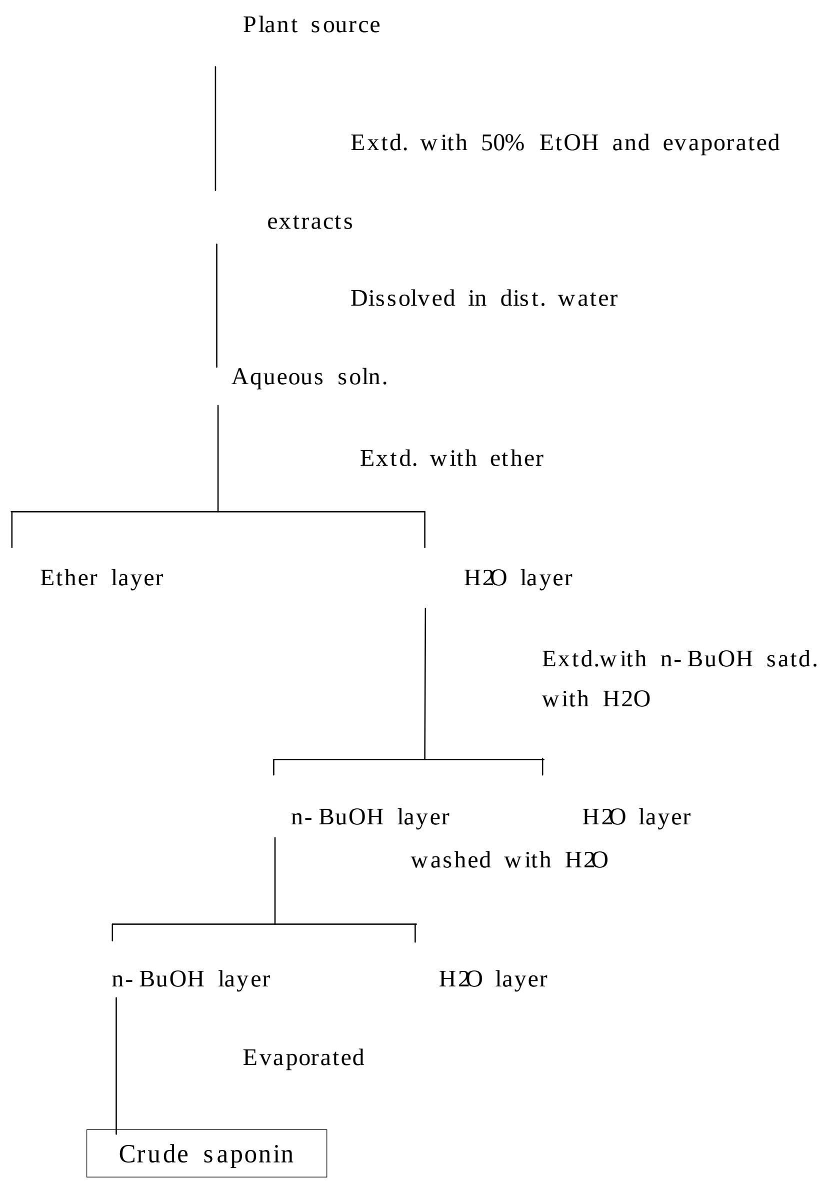


Fig. 2-1. Extraction procedure for the saponin fraction of several plant sources

나. Yucca extract와 propolis의 동시 또는 개별첨가가 생균제와 *E. coli*의 성장에 미치는 영향

1) Propolis의 추출

본 실험에 사용된 propolis의 경우 꿀벌의 봉교로부터 propolis를 추출하기 위하여 강원양봉협동조합으로부터 중국산 봉교를 구입하여 사용하였다. 추출은 순수한 주정알코올 원액(97%) 300ml에 30g의 봉교를 넣은 후 2일간 magnetic stirrer를 이용하여 혼합시킨 후 Whatman filter No.4로 여과하여 여과내용물을 evaporator를 이용하여 ethanol과 수분을 증발시킨 후 동결 건조하여 추출propolis를 얻었으며 그 후 냉동고에 보관하여 필요시 실험에 사용하였다.

2) 공시균주

생균제의 경우 위실험 1에서 사용하였던 SF68을 사용하였고 *E. coli*의 경우 국립수의과학검역원으로부터 분양받아 공시균주로 사용하였다.

3) 배양액의 제조 및 첨가방법

Propolis의 경우 ethanol extract인 관계로 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 용해하여 실험에 사용하였으며 각각의 균주의 배양액으로는 SF68의 경우 실험1에서와는 달리 일반적인 미생물 배양액인 Nutrient broth(DIFCO Co.)를 사용하였고 *E. coli*의 경우 EC broth(DIFCO Co.)을 사용하였다. 균체의 접종은 사전에 증식배지에서 성장한 종균을 1 2 백금이를 취한 후 배양액 10ml에 접종하였다. 이후 propolis와 yucca extract를 0.22㎛ membrane filter로 무균여과한 다음 첨가수준별로 종균을 접종한 배양액에 첨가하여 배양온도를 각각 35±1℃, 37±1℃를 유지하여 24시간 배양하였다.

4) 생균수 측정

Propolis와 yucca extract를 수준별로 첨가하여 24시간 배양된 배양액을 serial dilution방법에 따라 10배수로 희석하여 희석단계별로 SF68과 E. coli의 증식배지인 Brain heart infusion agar와 MacConkey agar에 도말한 후 배양액 처리온도와 동일한 온도에서 24시간 배양한후 생성된 colony를 계수하였으며 colony의 계수는 희석배수별로 30 300개의 colony가 있는 petri dish만을 선택하였다.

다. Propolis의 부형제 흡착능력 및 융점평가

1) 공시시료

Propolis는 실험 2에서 추출된 것을 사용하였으며 부형제로는 Red dog과 cookie byproduct는 현재 사료공장에서 사용되고 있는 것을 구입하여 사용하였고 casein, lactose 그리고 Na-casein은 실험용을 사용하였다.

2) 융점측정

Propolis와 각각의 부형제를 1:3(W/W)의 비율로 혼합한 후 AOAC(1990)에서 제시한 oil의 융점을 측정하는 방법을 변형하여 융점측정용 capillary tube에 첨가한 후 water bath에서 온도를 분당 1℃씩 증가시켜 propolis가 용융되는 온도를 육안으로 판별하여 측정하였다.

3) 열처리 후 propolis와 부형제의 형태변화

융점측정시의 혼합비율과 동일한 비율로 혼합한 후 분쇄하여 분쇄된 mixture를 건조기에 60℃에서 2시간 정치시킴으로서 propolis가 각각의 부형제에 흡착되게 한후 흡착후의 형태를 육안관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 식물성 steroid들의 암모니아 흡착능력과 생균제의 성장에 미치는 영향

본 실험에서 각각의 식물원으로부터 추출한 saponin들의 암모니아 흡착능력에 대한 결과는 Fig. 2-2 2-6에 나타나 있다. YS는 첨가수준별로 일정한 흡착력을 나타내고 있으며(Fig. 2-2) PGR은 30mg이상의 농도에서 우수한 흡착력을 보이고 있으며 특히 고농도에서 흡착력이 우수한 것으로 나타났다(Fig. 2-3). CLPW는 0.1mM의 암모니아 수준에서 첨가농도에 관계없이 거의 일정한 것으로 나타났지만 고농도에서는 YS의 흡착능력과 비슷한 것으로 나타났다(Fig. 2-4). EEGB(Fig. 2-5) 와 WEGB(Fig. 2-6)의 경우 12mg 이상첨가시 암모니아 수준에 관계없이 암모니아를 50%이상 흡착하였는데 이로서 각각의 식물성 saponin들이 가지고 있는 성분 중 암모니아를 흡착하는 성분은 주로 알콜 또는 물에 용해되지 않는 부분인 것으로 추측된다. 또한 CLPW의 암모니아 흡착력이 PGR, EEGB 그리고 WEGB와 비교하여 낮았던 것은 인삼, 도라지 그리고 더덕의 saponin함량은 각각 42.1mg/g, 22.9mg/g, 13.1mg/g으로 보고한 유효순(1987)의 보고에 미루어 더덕의 saponin함량이 낮았기 때문인 것으로 판단된다. 추출한 식물성 steroid saponin의 암모니아 흡착력을 종합적으로 비교 평가하여보면 현재 암모니아 흡착제로서 시판사료에 첨가되는 yucca추출 saponin의 암모니아 흡착능력이 상대적으로 다른 식물성 saponin에 비해 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이 경우 Wallace et al.(1994)가 보고한 28.4mg의 yucca saponin첨가시 암모니아 흡착능력과 유사한 것으로 미루어 국내에서 자생하는 식물 또는 폐기되고 있는 각종 부산물에서 추출한 saponin의 암모니아 흡착능력도 상대적으로 우수한 것으로 나타나 저이용 자원의 활용측면에서 이용경제성이 있는 것으로 판단된다.

추출한 식물성 saponin이 사료에 첨가되는 생균제를 구성하고 있는 미

생물과의 교호 및 길항작용을 실험한 결과는 Fig. 2-7에서 Fig. 2-11에 나타나 있다. 먼저 YS의 첨가는 SF68의 성장에 아무런 영향을 미치지 않은 반면 Yeast의 경우 1500ppm이상 첨가 시 SF68의 성장을 상당히 억제시킨 것으로 나타났다(Fig. 2-7). PGR의 경우 SF68과 Yeast의 성장에 아무런 영향을 미치지 않은 반면(Fig. 2-8) CLPW와 WEGB는 500ppm을 배양액에 첨가 시 대조구와 비교할 때 상대적으로 Yeast의 성장을 촉진시킨 것으로 나타났다(Fig. 2-9와 2-11). 또한 EEGB의 첨가는 다른 saponin들과 마찬가지로 SF68의 성장에는 아무런 영향을 미치지 않는 반면 Yeast의 성장에는 100ppm정도의 낮은 농도에서도 성장을 촉진시킨 것으로 나타났다. 종합적으로 볼 때 YS만 Yeast의 성장을 억제시킨 것으로 나타난 반면 다른 식물성 saponin의 첨가 시 Yeast의 성장에 아무런 영향을 미치지 않거나 오히려 성장을 촉진시킨 것으로 나타나 시판 사료첨가제와 사용 시 YS와 효모제를 병용사용하는데 다소 문제가 있음을 시사하였다. Nonaka(1986)는 곰팡이의 일종인 *Trichoderma viride*의 배지에 알팔파뿌리에서 추출한 saponin을 여러 분획으로 나누어 첨가하여 곰팡이의 성장에 미치는 영향을 알아본 결과 saponin분획에 관계없이 곰팡이의 성장을 억제시켰다고 보고하였으며 Shimoyamada et al.(1996)이 Asparagus officinalis 가공 부산물로부터 추출한 saponin을 가지고 *Candida albicans*에 대하여 항곰팡이 실험을 한 결과 saponin fraction등에 따라 성장억제효과가 다르게 나타난다고 보고하였다. 한편 주현규(1975)는 인삼 추출물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 균체증식 및 알콜발효를 촉진시킨다고 보고한 것으로 미루어 볼 때 추출saponin의 원료식물에 따라 Yeast에 미치는 효과에 차이가 있는 것으로 판단된다.

또한, 양재원 과 유태종(1978)은 인삼추출물 및 saponin성분이 젖산균의 생육에 영향을 주지 않았고 남성희 와 유태종(1980)은 인삼saponin이 젖산균의 균체증식 및 산생성을 심하게 저해한다는 연구결과로 판단해 볼 때 본 실험에 사용된 생균제의 젖산균에 대한 효과도 다르게 나타날 수 있

는 것으로 판단된다. 또한 본 실험에서 사용된 각종 식물성 saponin들이 사료첨가제(YS), 한약제 원료(PGR), 폐기물(CLPW) 그리고 인삼가공부산물(WEGB 와 EEGB)인점, 그리고 Price et al.(1987)등이 식물에 존재하는 saponin의 종류는 다양하며 그 구조와 생리적 활성이 또한 다르다고 보고한 점을 연관지어 볼 때 본 실험에서도 추출한 식물성 saponin들의 구조와 구성성분이 다르기 때문에 Yeast와 SF68의 성장에 미치는 효과가 다르게 나타난 것으로 판단된다.

일반적으로 가축의 장내 또는 분에서의 암모니아 생성은 장내미생물등에 의한 것으로 암모니아의 과다생성은 장내미생물의 활성을 저해시킨다. 본 실험에서는 인위적으로 생균제로 사용되는 SF68과 Yeast의 배지에 암모니아수를 일정수준별로 첨가하여 성장에 미치는 영향을 알아보았다. Fig. 2-12에서 보면 배지내 암모니아의 농도가 0.5%이상이 되면 SF68과 Yeast의 성장을 완전히 억제하는 것으로 나타났다. 따라서 암모니아수가 0.5%첨가된 배지에 실험 1에서 추출한 식물성 saponin을 첨가하여 SF68과 Yeast의 성장에 미치는 영향을 알아보았다.

Yeast에 대하여 본 실험에 사용된 모든 식물성 saponin의 첨가는 아무런 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 반면 SF68에 대하여는 YS의 첨가시 모든 첨가수준에서 미약한 성장을 하였으나 대조구와 비교하여 볼 때 크나큰 차이는 아니었다(Fig. 2-13). 이를 개별적으로 살펴보면 PGR의 경우 100ppm이상에서 성장이 있었으나 500ppm첨가시 대조구보다 성장이 촉진된 것으로 나타났으며(Fig. 2-14) CLPW에서는 첨가수준에 관계없이 15시간 후에 암모니아 단독첨가구보다 성장이 촉진된 것으로 나타났다(Fig. 2-15). 또한 EEGB에서는 33시간 후에(Fig. 2-16) WEGB에서는 24시간후에(Fig. 2-17) 각각 대조구와 동일한 성장을 하였다.

각각의 식물성 saponin들이 고농도의 암모니아가 들어있는 배지에서 미생물의 성장에 어떻게 영향을 미치는가에 관해서는 관련문헌의 부족으로 비교 고찰하기 어려운 실정이다. 다만 본 실험에서 고농도의 암모니아로

인한 Yeast의 성장억제에 대하여 전혀 성장억제 완충효과가 없었던 점, Nonaka(1986)가 보고한 alfalfa saponin의 *Trichoderma viride*에 대한 성장억제, Shimoyamada et al.(1996)의 asparagus saponin의 *Candida albican*에 대한 성장억제등으로 미루어 볼 때 saponin성분은 Yeast와 같은 진균류에는 성장촉진보다는 성장억제효과가 있는 것으로 판단된다.

나. Yucca extract와 propolis의 동시 또는 개별첨가가 생균제와 E. coli의 성장에 미치는 영향

현재 천연항생물질로서 관심이 집중되고 있는 봉교에서 추출한 propolis와 가축의 분뇨취 감소제로서 사용되고 있는 yucca extract의 병용또는 단독첨가가 생균제 또는 E. coli의 생존율에 미치는 영향은 Fig. 2-18과 2-19와 같다. Fig. 2-18에서 보는 바와 같이 시판생균제 SF68의 생균수는 propolis 100ppm첨가수준에서부터 급격히 생균수가 감소하였는데 이는 propolis만의 단독영향으로 판단되며 yucca extract의 가역효과는 없는 것으로 판단된다. 또한 Fig. 2-19에서 E. coli의 생존성에 미치는 영향을 살펴보면 propolis 250ppm 수준까지는 생균수에 영향이 없었으나 500ppm이상 첨가시 E. coli의 생존율이 90%정도 감소되어 본 실험에서 추출한 propolis는 E. coli에 대하여 저농도에서 보다는 고농도에서 항박테리아 효과가 있는 것으로 판단된다. 이는 Mirzoeva et al.(1997)이 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* 그리고 *R. sphaeroides*를 이용하여 propolis의 항미생물 효과를 실험한 결과 이들은 propolis가 그람음성균들에는 효과가 없었던 반면, 그람양성균들에는 탁월한 항미생물효과가 있었다고 보고한 것과 일치한다. 즉, 본 실험에서 사용된 미생물 중 SF68이 그람양성균이었던 반면 E. coli의 경우 그람음성균으로 본 실험에서도 propolis는 그람양성균에 대하여 상대적으로 강한 항균효과를 가지고 있는 것으로 판단된다. 또한 Aga et al.(1993)는 브라질산 propolis를 가지고 3종의 항미생물 성분을 분리한 후 각각의 성분들이 가지고 있는 항미생물효

과를 실험한 결과 미생물의 성장저해능력은 각기 다르게 나타난 것으로 보고하여 propolis의 항균작용은 생산지역별로 다르며 그 구성성분의 차이에 따라서도 달라지는 것으로 추측된다. 본 실험에서 사용된 봉교는 중국산으로 아마도 다른 지역의 propolis를 가지고 실험할 경우 기존 연구결과와 상이한 결과가 나올 수 있을 것으로 판단된다.

Propolis첨가시 yucca extract를 병용하여 첨가할 경우 그 영향을 평가하여 보았다. yucca extract의 첨가수준은 500ppm과 1,000ppm등 두가지 수준이었는데 두 수준모두 E. coli의 생존율에는 전혀 영향을 미치지 않은 반면 SF68의 경우 yucca extract첨가 시 생균제에서는 생존율이 약간 감소하는 경향을 보였으나 100ppm과 1,000ppm등 첨가수준에 따라서는 차이가 없는 것으로 보아 propolis와의 길항 작용은 없는 것으로 판단된다.

결론적으로 보면 생균제를 가축사료에 첨가할 때 propolis와 같은 천연항생물질을 병용첨가할 경우 생균제의 균주는 그람음성균인 것이 바람직하며 이때 첨가되는 yucca extract의 길항효과는 없는 것으로 판단되었다.

다. Propolis의 부형제 흡착능력 및 융점평가

Propolis를 일반 배합사료에 효과적을 첨가하기 위하여 현재 미량원료의 효율적 첨가시 사용되는 여러 부형제와 혼합하여 융점을 측정한 결과는 Table 2-1.과 같다.

propolis단독의 경우 49 54℃에서 용융되기 시작하여 60℃가 되기전에 전부 용융되었는데 이는 propolis가 비교적 낮은 온도에서 용융됨으로서 사료에 첨가하기전 흡착력이 우수한 부형제를 선택하여 미리 혼합함으로서 분쇄시 발생하는 열에 의해 propolis가 용융되는 것과 같은 문제점을 예방할 수 있음을 시사한다고 하겠다. 부형제의 종류에 따라서는 cookie byproduct와 혼합시 가장 낮은 융점을 나타내었는데 그 이유는 본 실험에서 사용한 융점 측정이 capillary tube에서 용융되는 형태를 육안판별에 의하여 측정하였기 때문에 propolis가 cookie byproduct에 잘 흡착되지 않

아 capillary tube에서 용융되는 형태가 비교적 낮은 온도에서 확인되었기 때문인 것으로 추측된다. 반면에 나머지 부형제의 경우 비교적 propolis가 흡착이 잘되었기 때문에 비교적 높은 온도(90℃이상)까지 용융되지 않고 견딜수 있는 것으로 판단된다.

이러한 결과는 propolis와 부형제를 1:3의 비율로 혼합하여 분쇄후 60℃에서 2시간 정치시킨 후 외형의 변화를 육안으로 판별한 실험결과에서도 나타났다. 먼저 각각의 부형제들과 분쇄후 분쇄기를 육안으로 살펴본 결과 cookie byproduct mixture 분쇄시 분쇄기에 다량의 propolis가 남아 있음을 확인하였다. 또한 열처리 후 각각의 부형제에 대하여 propolis의 흡착정도는 과자분을 부형제로 사용하였을 경우 흡수되지 못하고 녹아 있음을 육안으로 확인할 수 있었으며 Na-casein을 사용시 가장 흡수가 잘된 것으로 나타났다. Lactose와 casein의 경우에는 서로 유사한 흡착정도를 보여주었다(Table 2-2). 이는 propolis의 흡착정도를 cookie byproduct와 비교하여 보면 그 차이를 확연하게 검증할 수 있었다. 이상의 실험결과를 바탕으로 Na-casein이 propolis의 부형제로 가장 적합한 것으로 판단되었다. 그러나 타 부형제들에 비해 Na-casein의 경우 상대적으로 고가이므로 보다 propolis를 사료용 첨가제로 활용하기 위해서는 향후 저렴한 부형제를 개발하는 것이 필요하다고 판단된다.

Table 2-1. Capillary melting temperature(℃) of carrier-based propolis

Propolis+carriers	Melting initiation temp.(℃)
Propolis	49±2
Propolis + Lactose	over 90
Propolis + Casein	over 90
Propolis + Na-casein	over 90
Propolis + Red dog	over 90
Propolis + Cookie byproduct	70±2

Table 2-2. Morphological scores of propolis-incoporated carriers after heat treatment

Carriers	Binding capabilitya
Lactose	***
Casein	***
Na-casein	*****
Red dog	**
Cookie byproduct	*

a Increased number of asterisks represents the superiority of binding capability of carriers

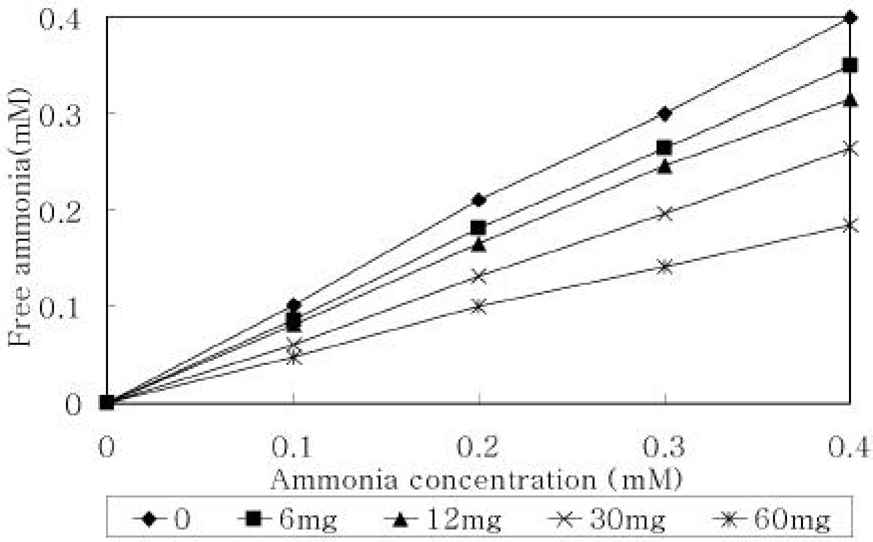


Fig. 2-2. Ammonia binding capacity of saponin fraction of YS

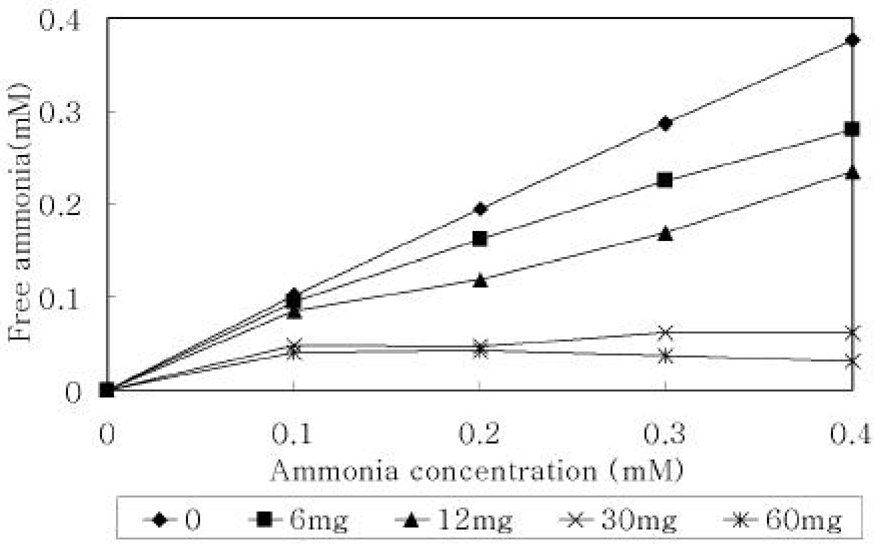


Fig. 2-3. Ammonia binding capacity of saponin fraction of PGR

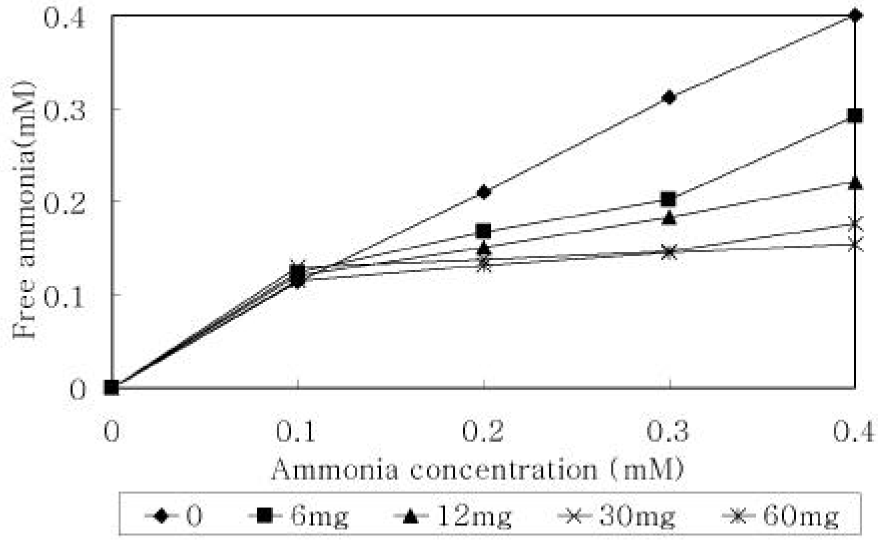


Fig. 2-4. Ammonia binding capacity of saponin fraction of CLPW

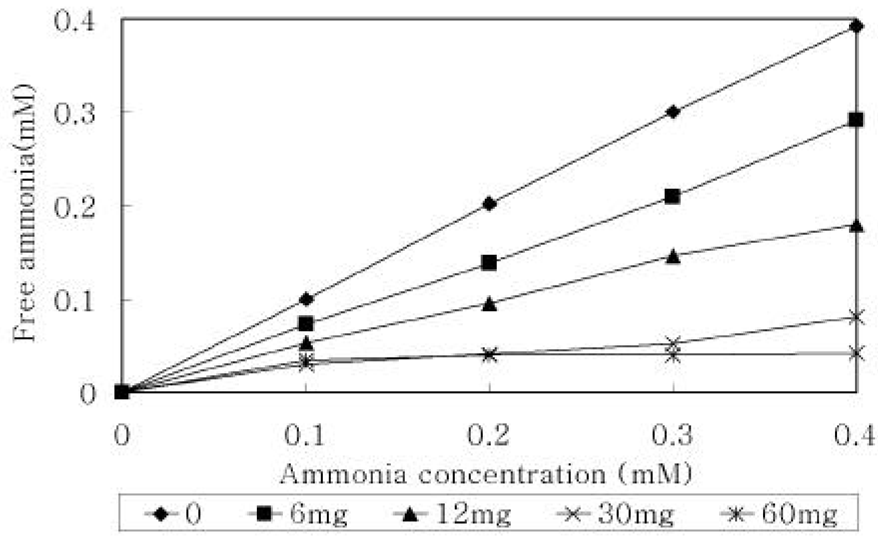


Fig. 2-5. Ammonia binding capacity of saponin fraction of EEGB

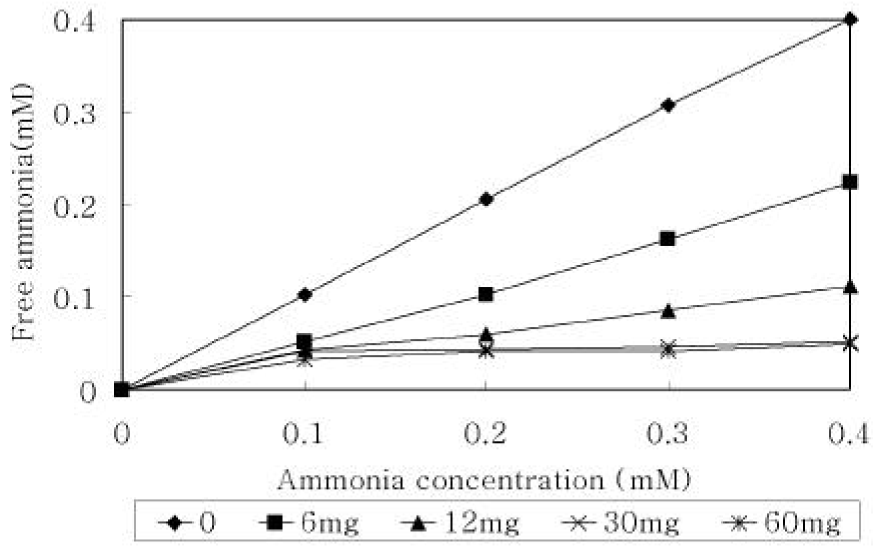
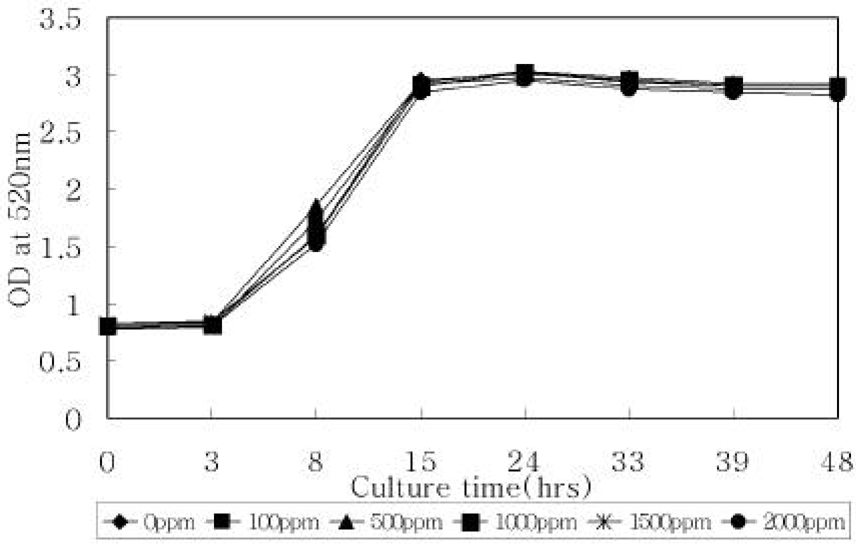


Fig. 2-6. Ammonia binding capacity of saponin fraction of WEGB



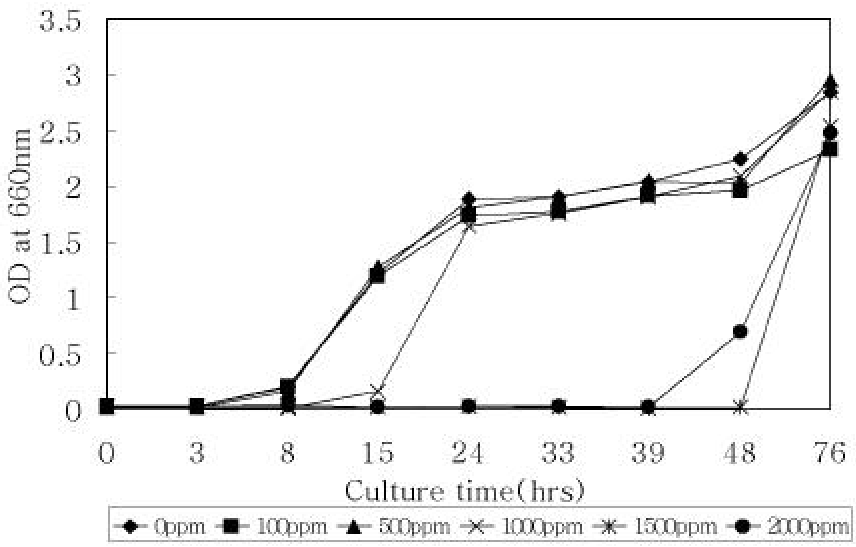


Fig. 2-7. Effect of saponin fraction of YS on the growth of SF68 (above) and Yeast(below)

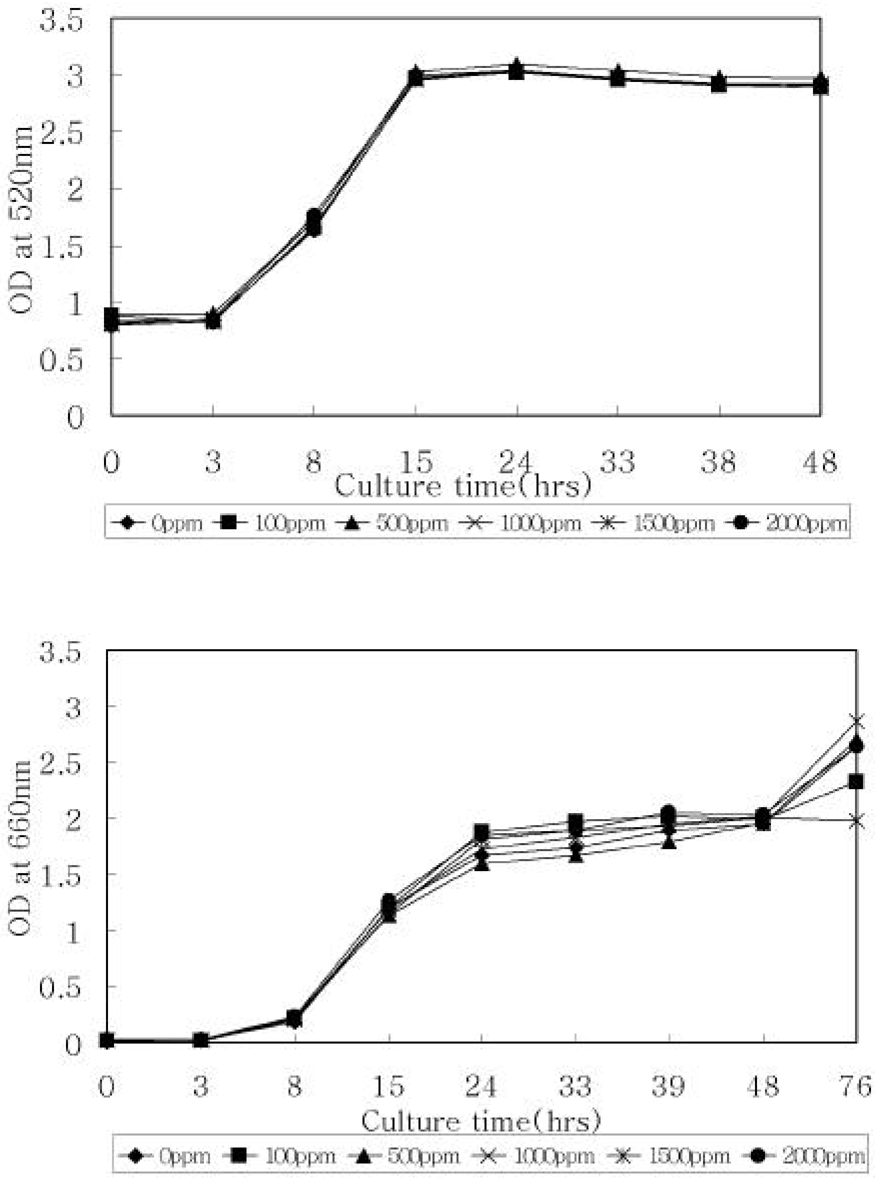


Fig. 2-8. Effect of saponin fraction of PGR on the growth of SF68 (above) and Yeast(below)

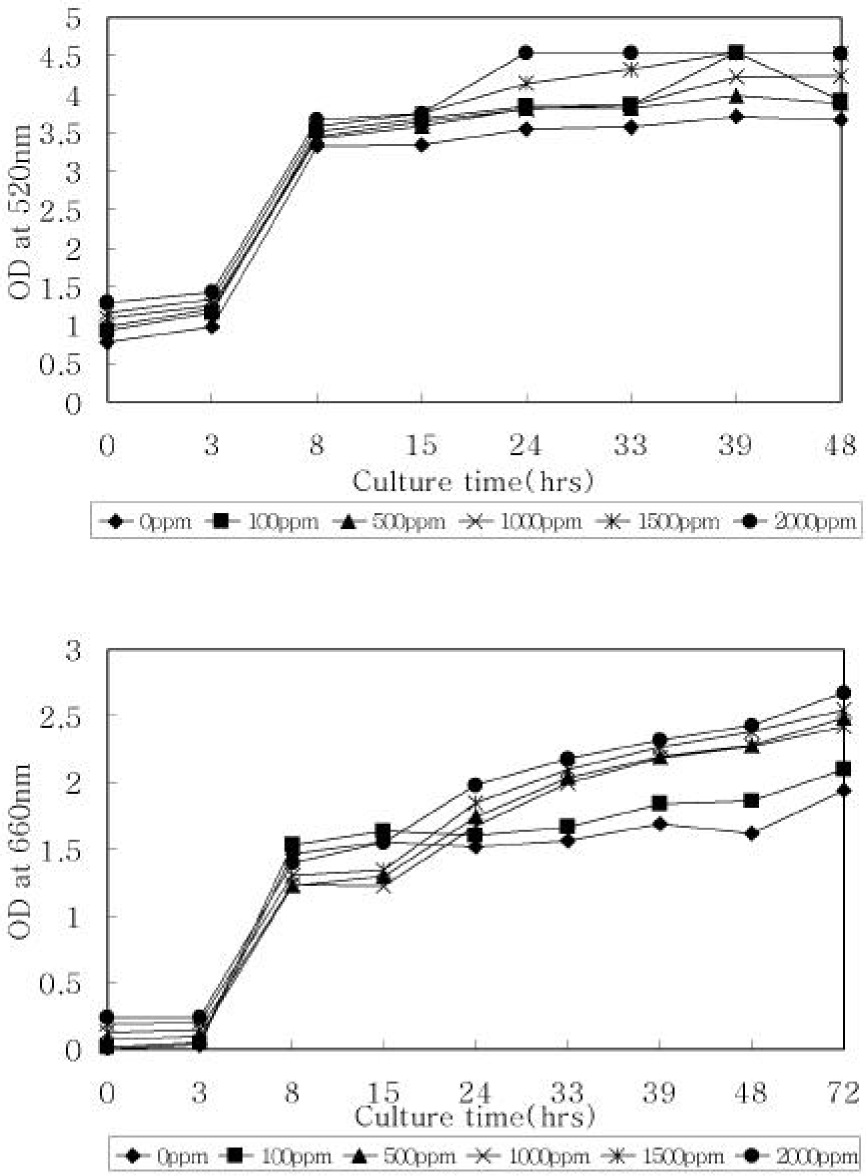


Fig. 2-9. Effect of saponin fraction of CLPW on the growth of SF68 (above) and Yeast(below)

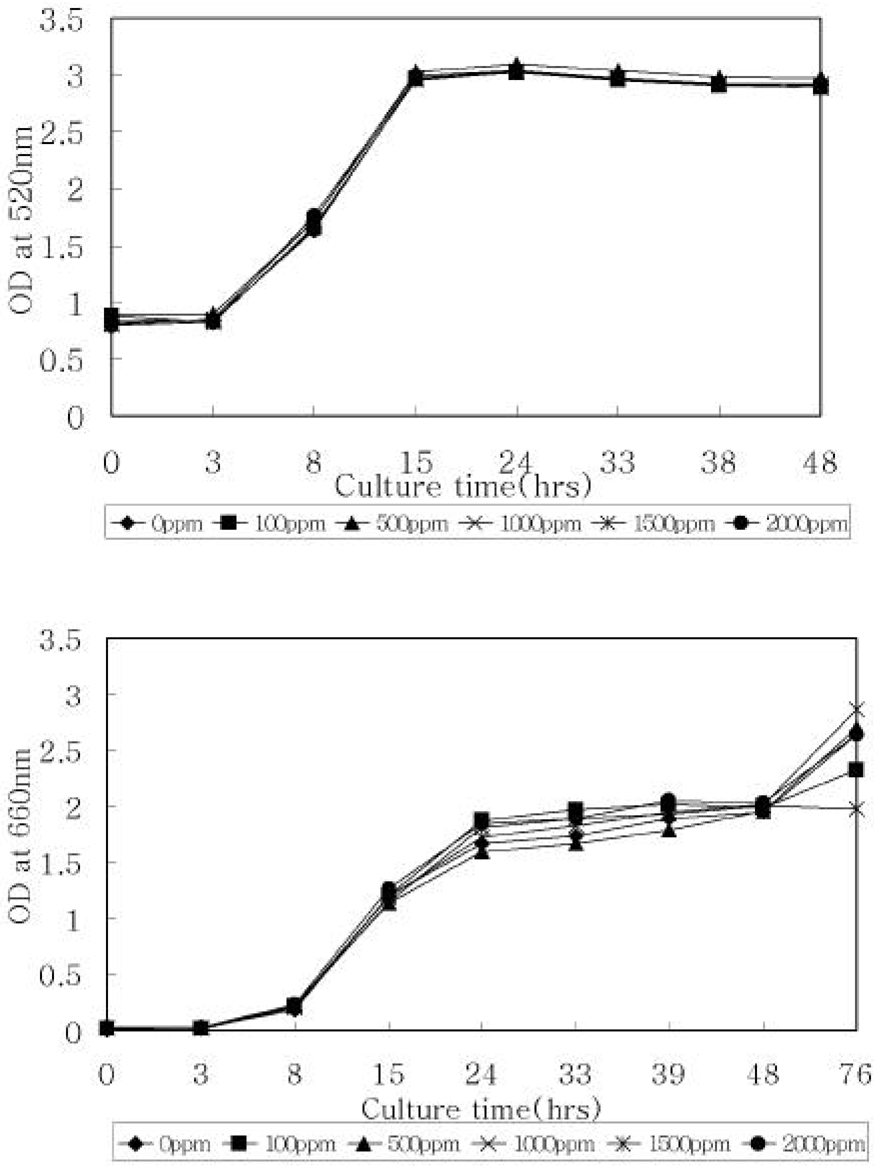


Fig. 2-10. Effect of saponin fraction of EEGB on the growth of SF68 (above) and Yeast(below)

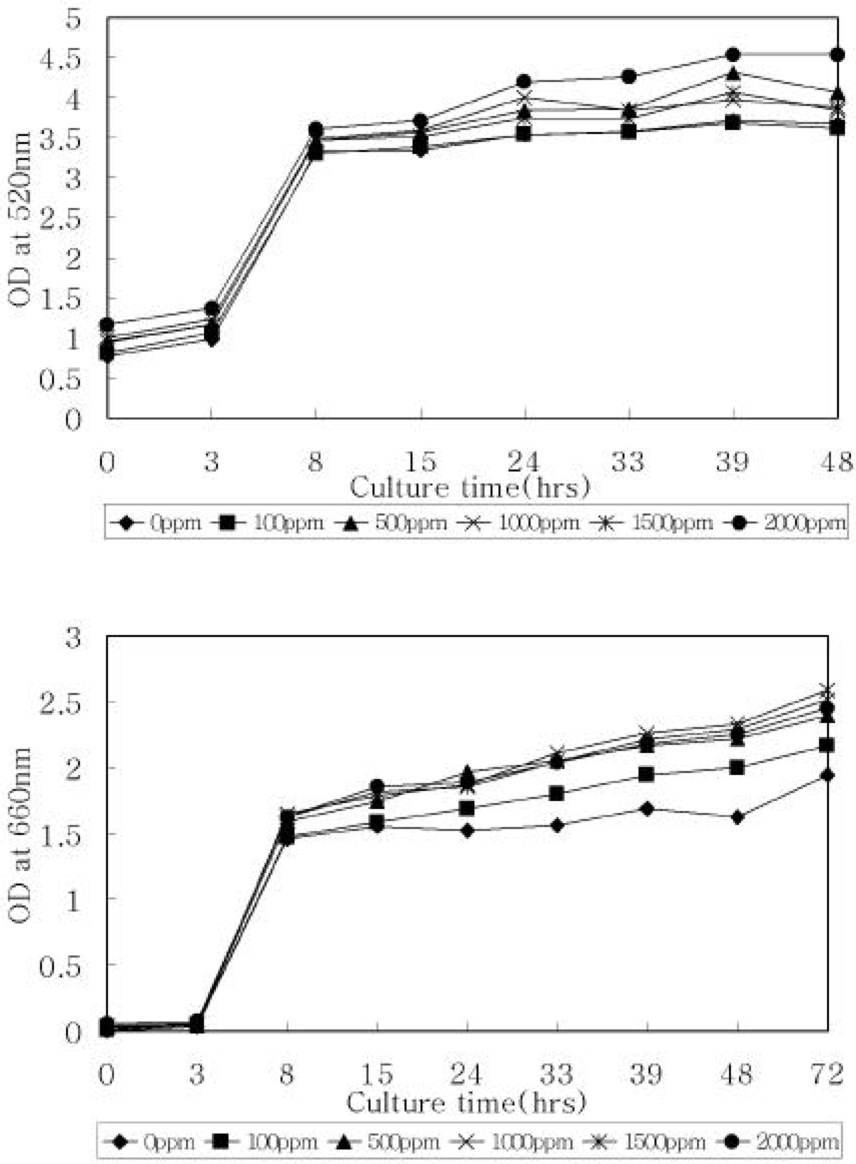


Fig. 2-11. Effect of saponin fraction of WEGB on the growth of SF68 (above) and Yeast(below)

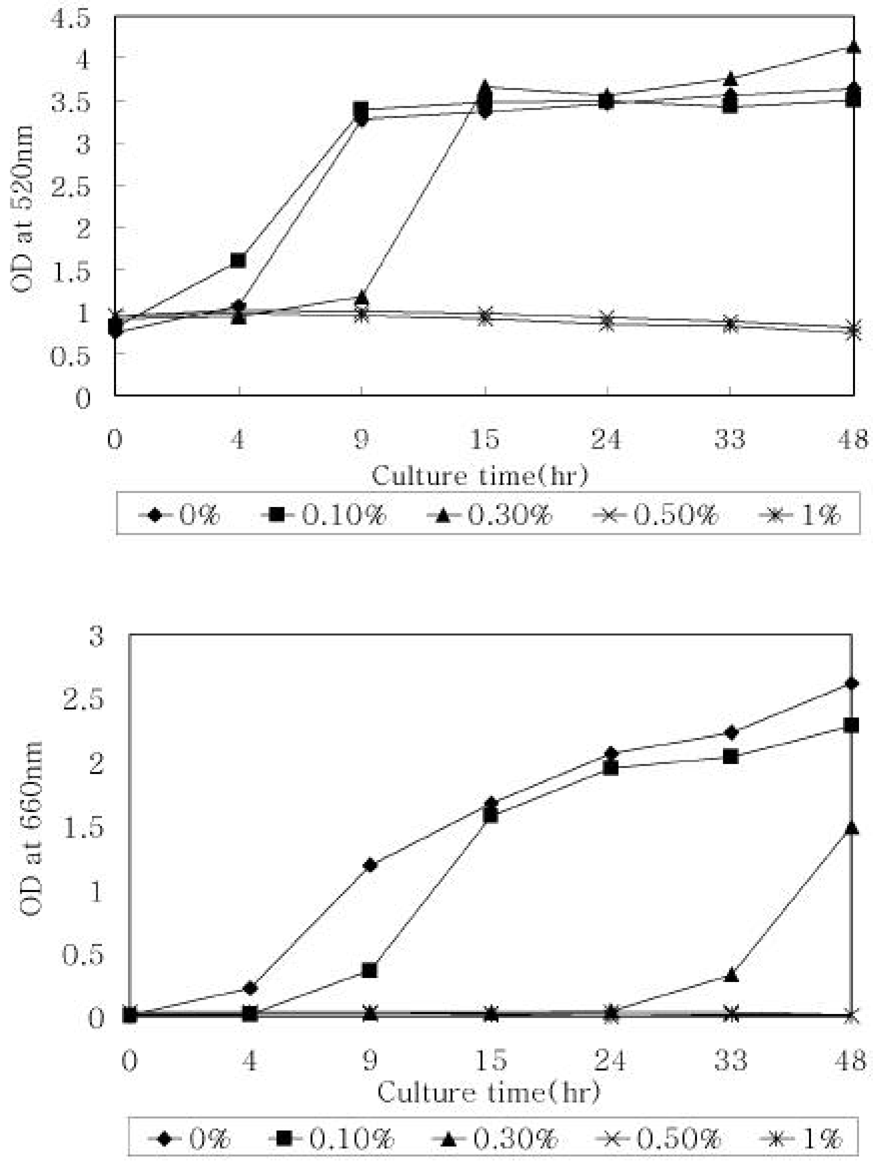


Fig. 2-12. Gorwth pattern of SF68(above) and Yeast(below) cultured in media with the various ammonia concentrations

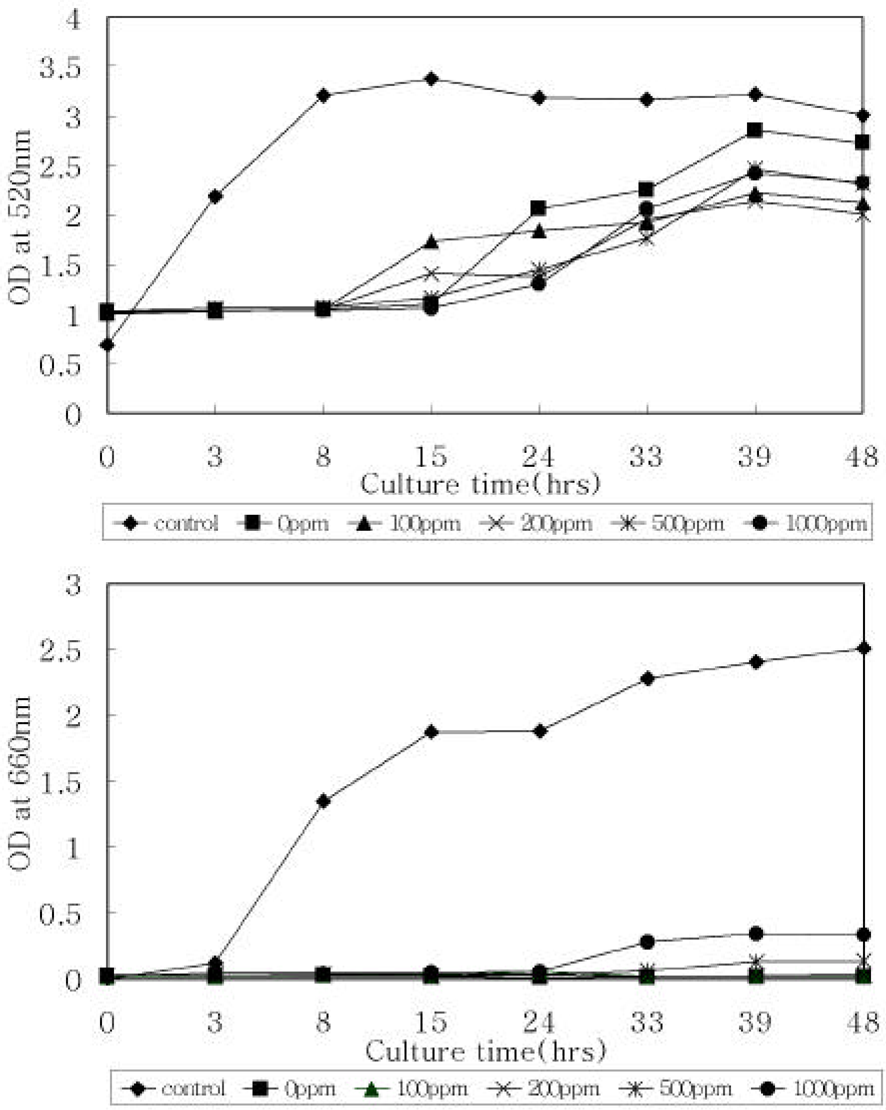


Fig. 2-13. Effect of saponin fraction of YS on the growth of SF68 (above) and Yeast(below) in media with ammonia water (0.5% V/V)

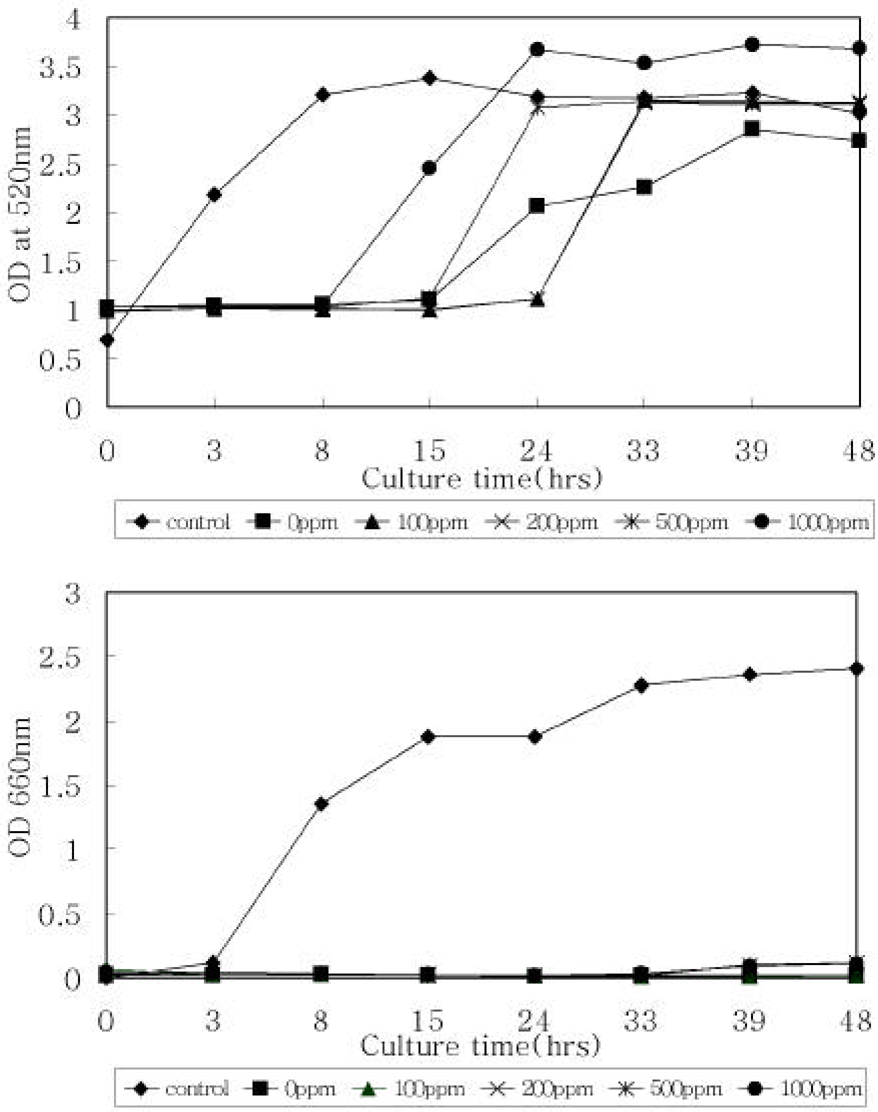


Fig. 2-14. Effect of saponin fraction of PGR on the growth of SF68 (above) and Yeast(below) in media with ammonia water (0.5% V/V)

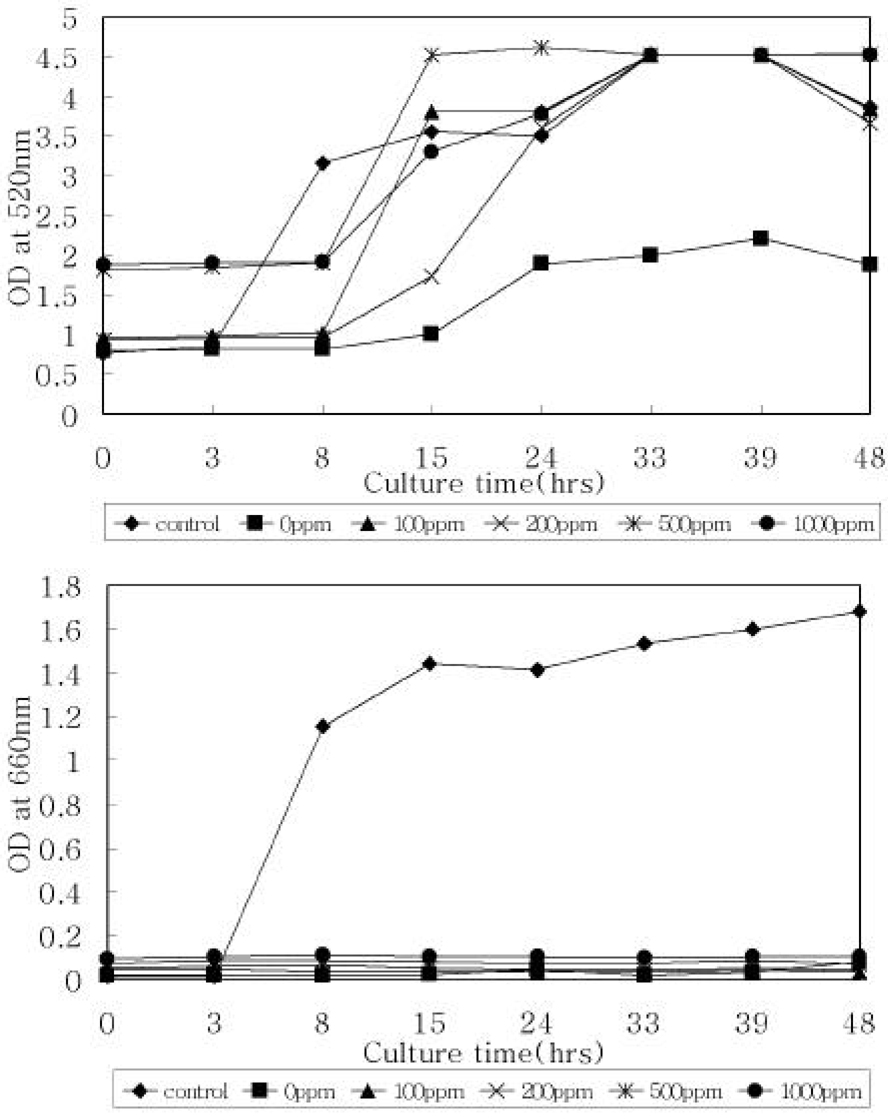


Fig. 2-15. Effect of saponin fraction of CLPW on the growth of SF68 (above) and Yeast(below) in media with ammonia water (0.5% V/V)

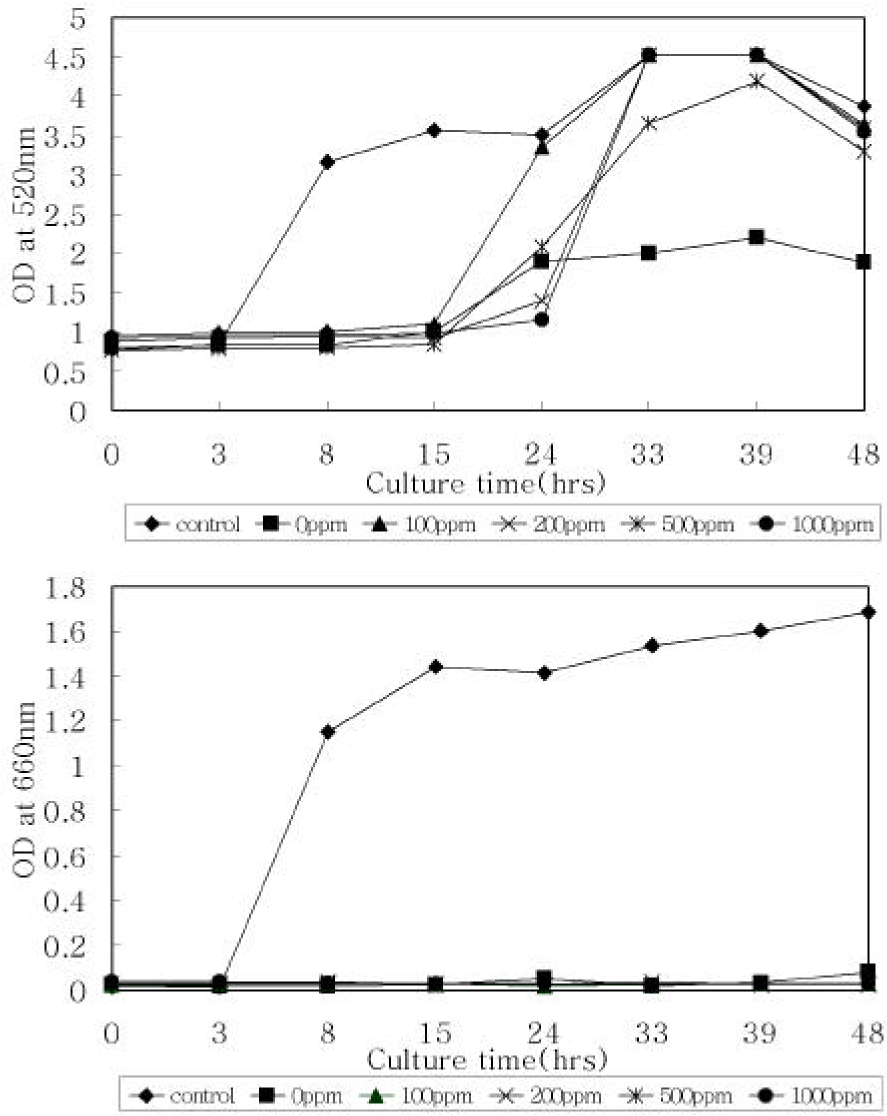


Fig. 2-16. Effect of saponin fraction of EEGB on the growth of SF68 (above) and Yeast(below) in media with ammonia water (0.5% V/V)

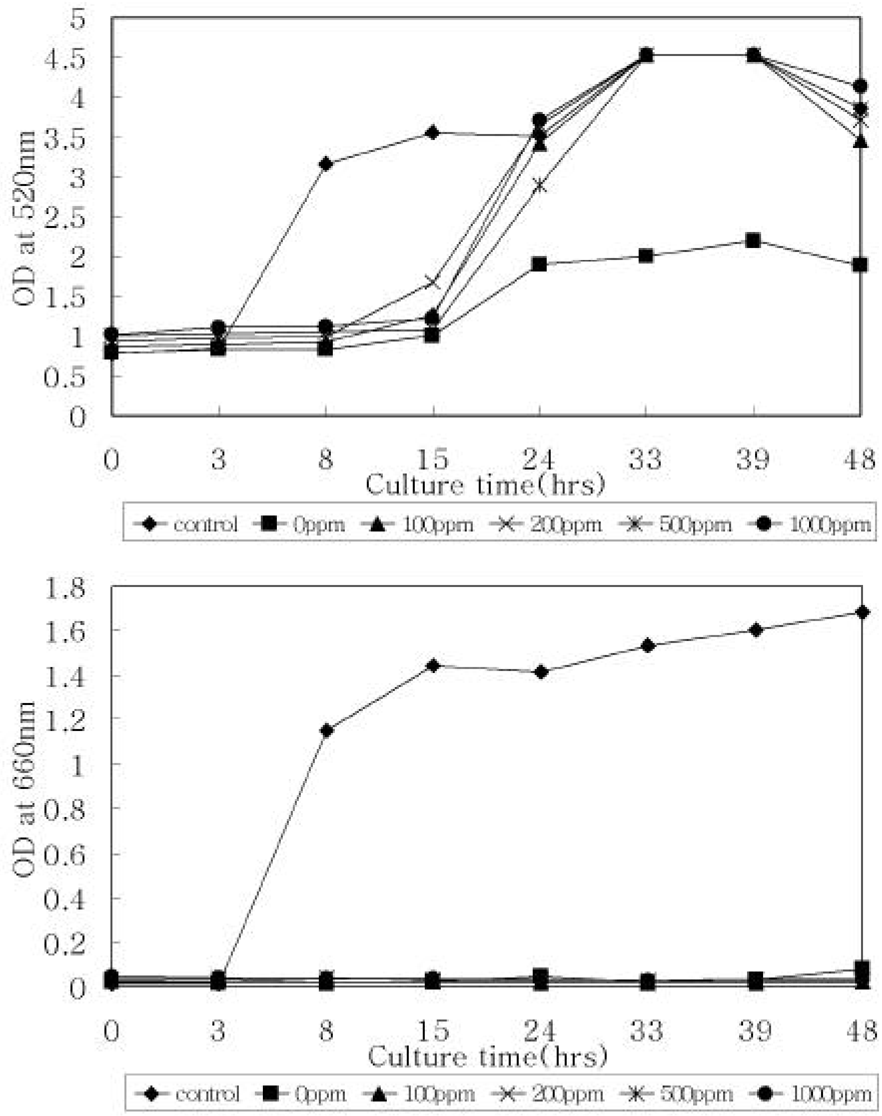


Fig. 2-17. Effect of saponin fraction of WEGB on the growth of SF68 (above) and Yeast(below) in media with ammonia water (0.5% V/V)

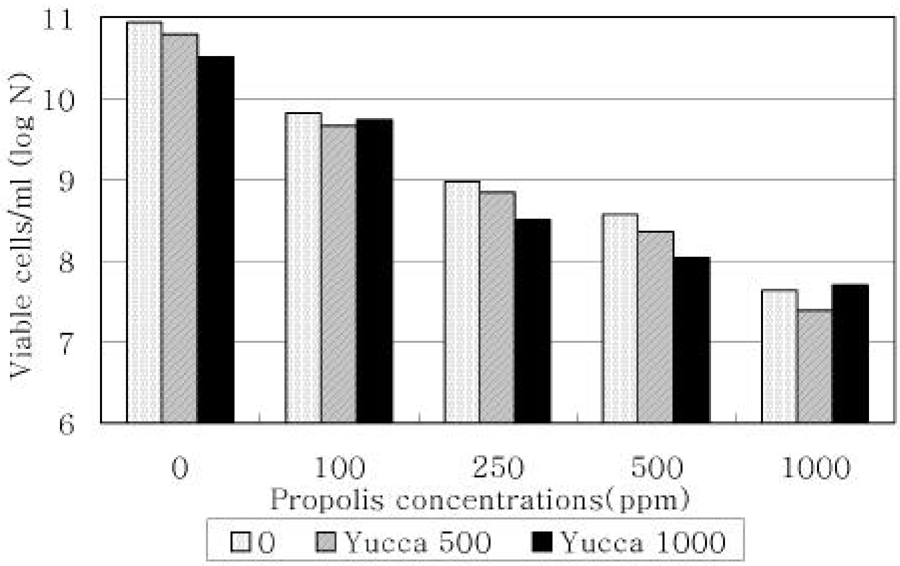


Fig. 2-18. Effect of both/either propolis and/or yucca extract on the viability of SF68

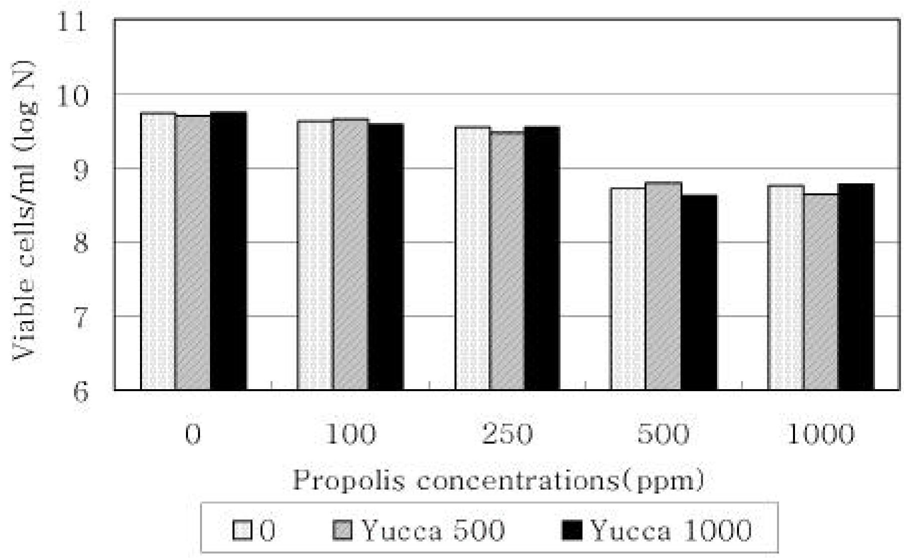


Fig. 2-19. Effect of both/either propolis and/or yucca extract on the viability of E.coli

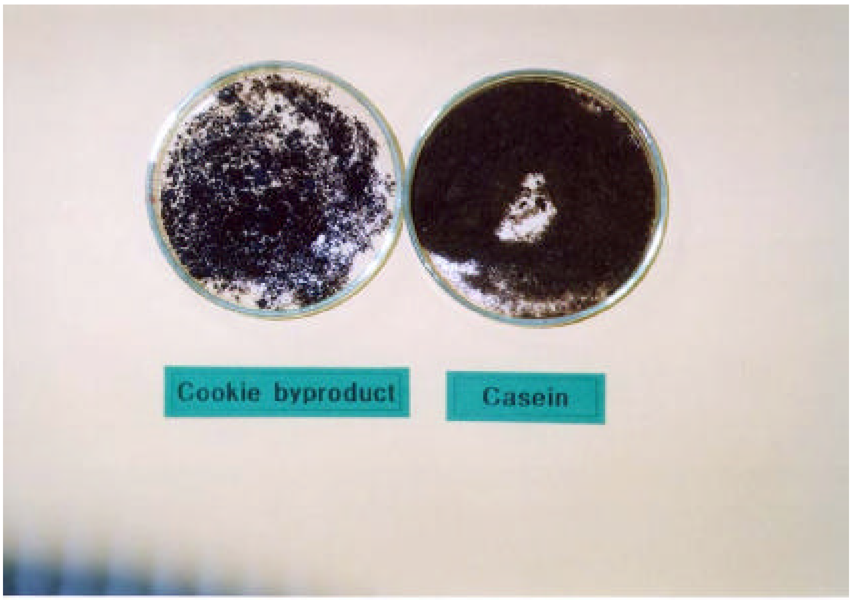


Fig. 2-20. Photograph of morphology of casein compared with cookie byproduct after heat treatment

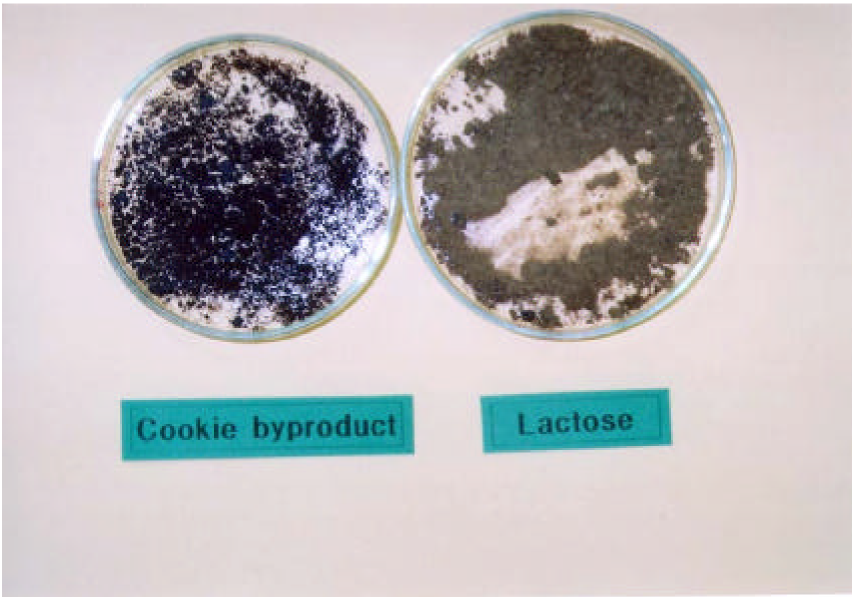


Fig. 2-21. Photograph of morphology of lactose compared with cookie byproduct after heat treatment

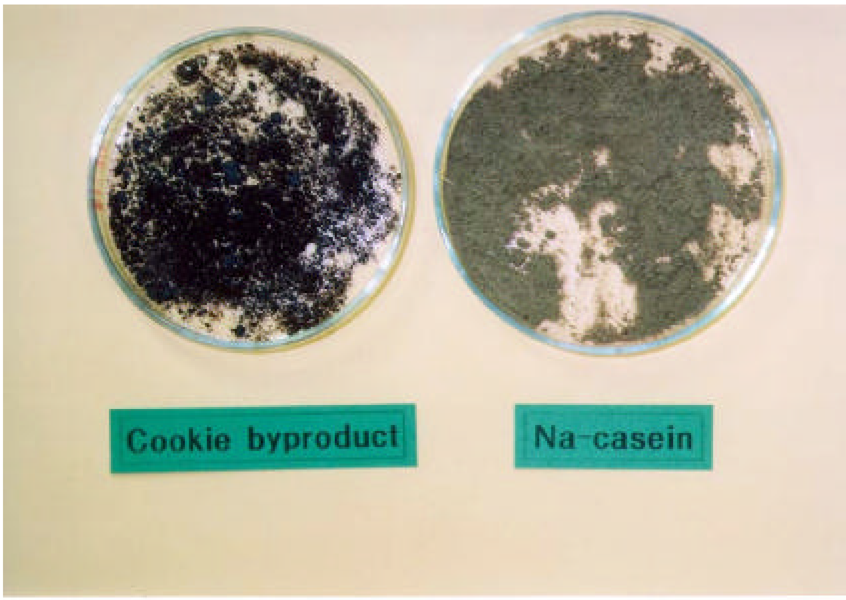


Fig. 2-22. Photograph of morphology of Na-casein compared with cookie byproduct after heat treatment

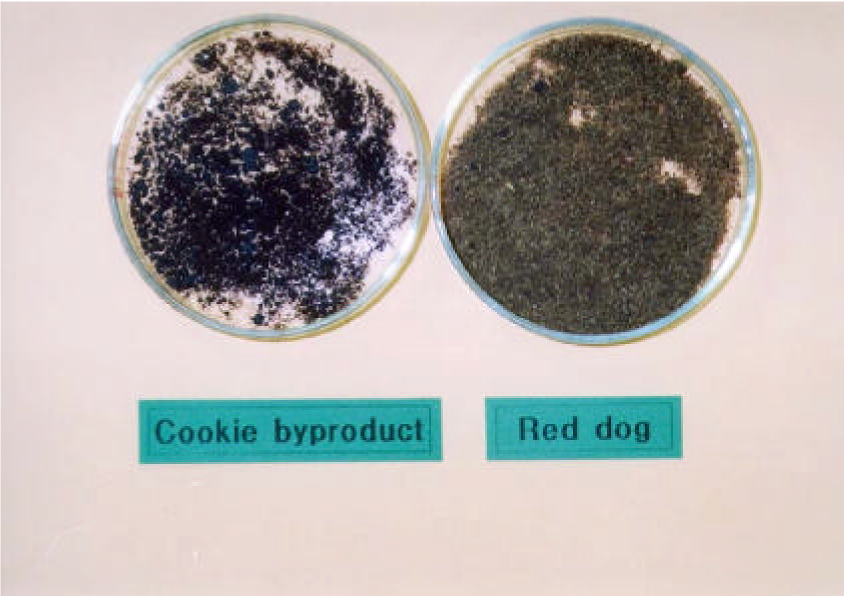


Fig. 2-23. Photograph of morphology of red dog compared with cookie byproduct after heat treatment

4. 요 약

사료첨가용으로 항균효과와 악취제어효과를 가지는 국내산 천연병용 첨가물질을 개발하기 위한 기초연구로서 3가지 실험을 실시하였다. 실험 1에서는 국내산 악취제어물질을 탐색하기 위하여 현재 사료에 첨가되고 있는 Yucca추출물(YS), 국내에서 재배되고 있는 도라지(PGR), 더덕폐기물(CLPW), 그리고 인삼가공부산물인 인삼알콜박(EEGB)과 인삼물박(EEWB)을 선택한 후 saponin을 추출하여 암모니아 흡착능력을 탐색하였다. 또한 이들 saponin들이 가축의 생균제제로 사용되고 있는 *Streptococcus faecium cernelle* 68(SF68)과 *Saccharomyces cerevisiae*(Yeast)의 성장에 미치는 영향을 생균의 성장을 억제하는 암모니아의 존재유무에 따라 평가하였다. 실험 2에서는 가축의 생산성 향상을 위하여 기존의 화학적 항생제를 대체코저 천연항생물질인 propolis를 선택하여 분뇨취 감소제인 yucca extract와 병행사용시 생균제 SF68과 주요장내 병원성미생물인 E. coli의 생존성에 미치는 영향을 알아보았다. 실험 3에서는 propolis의 효과적인 사료첨가방법을 평가하기 위하여 5가지의 부형제(Lactose, Casein, Na-casein, Red dog 과 Cookie byproduct)를 선택하여 융점과 열처리후 흡착상태를 외양변화를 통하여 평가하였다.

1. PGR은 30㎎이상의 농도에서 고농도의 암모니아에 대해 흡착력이 가장 우수하였으며 CLPW는 첨가수준에 관계없이 0.1mM의 암모니아 농도에서 흡착력이 매우 낮았으며 고농도에서는 YS와 비슷한 흡착력을 가지는 것으로 나타났다. EEGB와 WEGB는 12㎎이상의 농도에서 암모니아 수준에 관계없이 50%이상 흡착하는 것으로 나타났다. 본 실험에서 사용된 PGR, CLPW, EEGB 그리고 WEGB등은 암모니아 흡착능력으로 볼 때 기존 시판YS에 비해 우수한 것으로 나타났다.

2. 본 실험에서 추출한 식물성 saponin의 첨가는 생균제 SF68의 성장에 영향이 없었던 반면 Yeast에 대하여는 YS의 경우 1500ppm이상 첨가시 성장이 감소되었으며 CLPW는 500ppm이상의 농도에서 Yeast의 성장을 대조구보다 촉진하였고 PGL과 EEGB는 Yeast의 성장에 영향이 없었다. WEGB는 100ppm이상의 농도에서 대조구보다 성장이 촉진되었다.

3. 배양액내 암모니아 농도가 0.5%이상일 경우에는 생균제인 SF68과 Yeast의 성장을 억제하였다.

4. 배양액내 성장을 억제하는 수준의 암모니아가 존재할 경우 추출한 식물성 steroid를 첨가하더라도 Yeast의 성장억제를 저지하지 못했으며 SF68에 대하여는 YS는 효과가 없었으나 PGR은 500ppm이상 첨가시 다소 성장을 촉진하였다. CLPW, EEGB와 WEGB는 100ppm이상 첨가시 각각 15, 33, 24시간 후에 무첨가시에 비해 SF68의 성장을 촉진시키는 것으로 나타났다.

5. 생균제의 구성균주인 SF68의 생균수는 propolis 100ppm첨가시부터 급격히 감소하였으나 E. coli에 대하여는 500ppm이상의 propolis를 첨가시에서만 균수가 감소하였다. Yucca extract의 첨가는 SF68과 E. coli의 균수에 아무런 영향이 없는 것으로 나타났다.

6. 여러 종류의 부형제를 첨가한 propolis의 융점은 cookie byproduct 첨가시 70℃였던 반면 나머지 부형제들을 첨가할 경우 90℃이상이었다. 열처리후 외양변화를 살펴보면 Na-casein의 propolis 흡착능력이 가장 우수한 것으로 관측되었다.

결론적으로 본 실험에서 선택하여 추출한 식물성 saponin는 현재 사료에 첨가되고 있는 yucca추출물보다 암모니아 흡착력이 우수하여 악취제어제로

개발할 가치가 있는 것으로 평가되었다. 또한 식물성 steroid인 saponin은 생균제의 성장에 선택적으로 영향하며 천연항생물질인 propolis는 생균제인 SF68을 사멸시키는 것으로 보아 식물성 steroid와 천연항생물질인 propolis를 사료에 첨가할 경우 시판 생균제와 병용할 경우에는 구성균주의 성질을 사전 평가하여야 할 것으로 판단된다.

5. 참 고 문 헌

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.

Aga, H., Shibuya, T., Sugimoto, T., Kurimoto, M. and Nakajima, S. 1994. Isolation and identification of antimicrobial compounds in brazilian propolis. Biosci. Biotech. Biochem. 58 : 945-946

Brumfitt,W., Hamilton-miller,J.M. and Franklin,I. 1990. Antibiotic activity of natural products : 1. Propolis. Microbios. 62 : 19-22

Cheeke,P.R. 1971. Nutritional and physiological implications of saponins : a review. Can. J. Anim. Sci. 51 : 621-632

Cole,D.J.A. 1993. Controlling the impact of nitrogen waste products on animal health, performance and the environment. In : Biotechnology in the Feed Industry (T.P.Lyons, ed), Alltech Technical Publications. 9 : 293-305

Cole,D.J.A., Tuck,K. 1995. Using yucca to improve pig performance while reducing ammonia. In : Biotechnology in the Feed Industry (T.P.Lyons, eds.). Alltech Technical Publications. 11 : 421-426

Ellenberger,M.A., Rumpler,W.V., Johnson,D.E. and Goodall,S.R. 1985. Evaluation of the extent of rulinal urease inhibition by sarsaponin and sarsaponin fractions. J. Anim. Sci. 61(suppl. 1) : 491

Ender,K., Kuhn,G., Numberg,K. and Jacques,K.A. 1996. Effect of Yucca shidigera extract on performance, carcass evaluation and skatole content of fattening boars. J. Anim. Sci. 74(suppl. 1) :

Fenwick,D.E. and Oakenfull,D. 1983. Saponin content of food plants and some prepared foods. J. Sci. Food Agric. 34 : 186-191

Grange,J.M. and Davey, R.W. 1990. Antibacterial properties of propolis(bee glue). J. R. Soc. Med. 83 : 159-160

Headon,D.R., Buggle,K., Nelson,A. and Killeen,G. 1991. Glycofractions of the Yucca shidigera extract. In : Biotechnology in the Feed Industry(T.P.Lyons, ed), Alltech Technical Publications. 7 : 95-108

Hussain,I., Ismail,A.M. and Cheeke,P.R. 1996. Effects of feeding *Yucca shidigera* extract in diets varying in crude protein and urea contents on growth performance and cecum and blood urea and ammonia concentrations of rabbits. Anim. Feed Sci. Tech. 62 : 121-129

Johnston,N.L., Quarles,C.L., Fagerberg,D.J. and Caveny,D.D. 1981.

Evaluation Yucca saponin on broiler performance and ammonia suppression. Poult. Sci. 60 : 2289-2292

Johnston,N.L., Quarles,C.L. and Fagerberg,D.J. 1982. Broiler performance with DSS40 yucca saponin in combination monensin. Poult. Sci. 61 : 1052-1054

Joo,C.N., Cho,Y.D. and Kwon,H.Y. 1978. Biochemical studies on ginseng saponins(Ⅶ) : The effect of ginseng saponin on bacterial growth. Kor. J. Bichem. 11 : 113-125

Killeen,G.K., Buggle,K.A., Hynes,M.J., Walsh,G.A., Power,R.F. and Headon,D.R. 1994. Influence of *Yucca shidigera* preparations on the activity of urease from *Bacillus pasteurii*. J. Sci. Food Agric. 65 : 433-440

Krol,W., Scheller,S., Shani,J., Pietsz,G. and Czuba, Z. 1993. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of Staphylococcus aureus. Drug Res. 43 : 607-609

Ma,M.D., Wung,L.C., Huang,Y.T. and Fu,C.M. 1993. Effect of adding deodorizers to diets on the performance of pigs and the deodorization of pig wastes Ⅱ. Comparison between sarsaponin and zeolite powder. Chin. J. Anim. Sci. 22 : 229-235

Metzner,J., Bekemeier,H., Paintz,M. and Schneidewind,E. 1979. On the antimicrobial activity of propolis and propolis constituents.

Pharmazie. 34 : 97-102

Milgate,J. and Roberts,D.C.K. 1995. The nutritional and biological significance of saponins. Nutri. Res. 15 : 1223-1249

Mirzoeva,O.K., Grishanin,R.N. and Calder,P.C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components : the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. Res. 152 : 239-246

Nevel,C.J.V. and Demeyer,D.I. 1990. Effect of antibiotics, a deaminase inhibitor and sarsaponin on nitrogen metabolism of rumen contents in vitro. Anim. Feed Sci. Tech. 31 : 323-348

Nonaka,M. 1986. Variable sensitivity of *Trichoderma viride* to *Medicago sativa* saponins. Phytochem. 25 : 73-75

Park,Y.K., Koo,M.H., Abreu,J.A., Ikegaki,M., Cury,J.A. and Rosalen,P.L. 1998. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. Curr. Microbiol. 36 : 24-28

Pedersen,M.W., Zimmer,D.E., McAllister,D.R. and Anderson,J.O. 1967. Comparative studies of saponin of several alfalfa varieties using chemical and biochemical assays. Crop Sci. 7 : 349-352

Pepeljnjak,S., Jalsenjak,I. and Maysinger,D. 1982. Growth inhibition of bacillus subtilis and composition of various propolis extracts.

Pharmazie. 37 : 864-865

Preston,R.L. Bartle,S.J., May,T. and Goodall, S.R. 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. J. Anim. Sci. 65 : 481-487

Price,K.R., Johnson,I.T. and Fenwick,G.R. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 26 : 27-135

Price,K.R., Curl,C.L. and Fenwick,G.R. 1986. The saponin content and sapogenol composition of the seed of 13 varieties of legume. J. Sci. Food Agric. 37 : 1185-1191

Shimoyamada,M., Suzuki,M. and Maruyama,M. 1996. An antifungal saponin from white asparagus(*Asparagus officinalis* L) bottoms. J. Sci. Food Agric. 72 : 430-434

Sucharita,S., Harinder,P.S., Makkar and Klaus, B. 1998. Alfalfa saponin and their implications in animal nutrition. J. Agric. Food Chem. 46 : 131-140

Takaisi-kukuni,N.B. and Shilcher,H. 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Med. 60 : 222-227

Wallace,R.J., Arthaud, L. and Newbold,C.J. 1994. Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 60 : 1762-1767

Weatherburn,M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Anal. Chem. 39 : 971-974

Wu,Z., Sadik,M., Sleiman,F.T., Simas,J.M., Pessarakli,M. and Huber,J.T. 1994. Influence of yucca extract on ruminal metabolism in cows. J Anim. Sci. 72 : 1038-1042

Yeo,J.M. and Kim,K.I. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult. Sci. 76 : 381-385

김규일 과 여진모. 1995. 사료중 항균제, 생균제 또는 유카추출물이 닭의 장내 요소분해효소 활성과 암모니아 생산에 미치는 영향. 한국가금학회지. 22 : 105-115

남성희 와 유태종. 1980. 인삼성분이 초산발효에 미치는 영향에 관한 연구(제1보). 한국인삼학회지. 4 : 121-132

박세호. 1992. 인삼성분이 식품미생물의 생육 및 대사에 미치는 영향. 박사학위논문. 경희대학교

양재원 과 유태종. 1979. 인삼 extracts가 유산균의 생육에 미치는 영향. 한국인삼학회지. 3 : 113-126

유효순. 1987. 인삼, 도라지 및 더덕의 화학성분에 관한 연구. 석사학위논문. 숙명여자대학교

조성환, 조한옥 과 박홍구. 1979. 인삼 saponin이 미생물의 효소활성에 미치는 영향. 한국인삼학회지. 3 : 144-155

주현규. 1975. 인삼 엑기스가 미생물생리에 미치는 영향. 건국대 농업자원개발연구소 논문집. 1 : 49

제 2 절 돈분뇨 악취원인물질의 규명과 식물성 스테로이드를 이용한 악취저감

1. 서 론

가축이 배설한 분뇨는 인류의 생활과 유기적인 관계를 가지고 있다. 가축의 분뇨는 토질 개선목적의 비료 또는 기타연료로서 활용되는 등 자연의 생태유지에 큰 역할을 담당하여 왔다. 하지만 근래에 접어들어 축산이 집약화, 전업화 되면서 자연순환수준 이상의 과다한 축산분뇨의 배출로 수자원의 오염, 악취발생 등 문제가 야기되고 있다. 즉 축산물의 소비증가로 그 생산량도 증가하게 되었고 이에 따라 특정지역의 가축 사육시설의 밀집도가 증가하는 한편 단위 농장의 사육규모도 확대되었다. 결과적으로 주어진 토지에서의 가축 사육규모가 적정수준을 넘어섬에 따라 대량의 축산분뇨 처리는 물론 분뇨에서 발생하는 악취문제도 더욱 심각하게 되었다. 분뇨유래 유해악취는 가축의 생산효율을 저하시키는 요인이 될 수 있을 뿐 아니라(전 등, 1996) 생산자는 물론 인근 주민들에게 불만을 야기시켜 생산의욕 저하, 민원발생 등의 심각한 후속문제를 발생시키고 있다. 따라서 축산업에서의 악취문제는 효과적인 분뇨처리 기술과 함께 시급히 해결해야할 현안으로 제기되고 있다.

분뇨의 악취문제를 해결하기 위해서는 우선 분뇨의 악취 원인물질이 무엇이며, 이들 원인물질이 미치는 영향은 어느 정도인가를 정확히 평가하여야 한다. 현재 돈분뇨의 악취 원인물질로 20여종 가량의 다양한 물질이 제시되고 있으나 이들이 실제 악취에 반감을 일으키는 사람의 후각에 어떠한 영향을 미치는지는 평가되지 못한 상태이다. 실제 특정 원인물질의 화학적 분석량이 높다고 해서 후각에서의 악취인지 정도가 강한 것은 아니며, 또한 각 원인물질에 따라 후각 악취발현 수준(odor threshold level)도 큰 차이를 보이고 있다(Dravenieks, 1972).

따라서 악취 원인물질의 규명을 위해서는 근본적으로 화학적 분석과 후각적 분석이 연계된 분석체계가 확립되어야 한다. 현재 이를 위한 olfactory analysis system이 개발 연구단계에 있으나 아직 기술상의 단점이 있어 실용화되지 못한 상태이다.

본 연구에서는 우선 분뇨를 물리적으로 분획하여 악취 원인물질을 대별하고 이들 분획내의 악취에 대한 후각분석을 실시하고 이 분획내의 예상 악취원인물질을 각각 GC 및 GC Mass를 통하여 규명하고자 하였다.

가축의 분뇨취를 억제 또는 감소하기 위해서는 여러 가지 방법이 응용되고 있는데 이를 제어시점에서 보면 분뇨내 악취 원인물질의 생성량을 감소시키는 up stream에서의 제어방법과 생성된 분뇨악취의 발현을 감소시키는 down stream에서의 제어방법이 있을 수 있다.

또한 제어수단의 측면에서 보면 물리적 방법, 화학적 방법, 생물학적 방법이 있다. 그 중에서도 현재 화학적 수단의 하나로서 yucca extract와 같은 식물성 추출물이 널리 활용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 이러한 기능을 가지는 식물성 steroids를 우리 나라에서 많이 생산되는 인삼(*Fanax ginseng*)과 도라지(*Flatycodon grandiflorum*) 등에서 추출하여 이들을 분뇨에 첨가하여 down stream 과정에서 악취 감소효과를 평가하였다. 즉 이들의 첨가가 앞서 제시한 분뇨의 각 분획 내 후각인지 악취감소 정도와 이에 상응하는 분획 별 악취 원인물질 함량의 감소여부에 미치는 영향을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

가. 실험설계

돈분의 악취원인 물질의 종류가 다양하여 이를 후각분석과 GC Mass의 연계분석을 통하여 악취 원인물질을 찾기가 어려우므로 우선 돈분을 H_2O와 50% EtCH를 이용하여 각각 수용성 및 불용성, 용해성 및 비용해성 분획으로 분류하였다.

이때 돈분에 식물성 steroid의 일종인 saponin이 함유되어있는 도라지 (*Flatycodon grandiflorum's* root) 분말 및 인삼부산물(*Fanax ginseng* byproduct) 분말을 각각 1% 첨가한 구와 무처리구를 두어 down stream 과정에서의 악취저감 효과를 평가하고자 하였다.

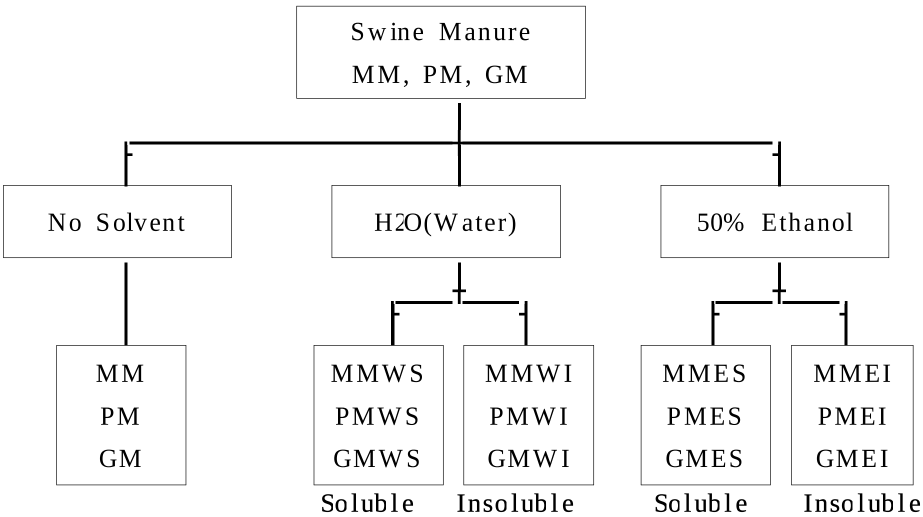
Table 2-3. Experimental design

Down stream Odor control additives	Manure fractions			
	H_2O		50% EtOH	
	soluble	insoluble	soluble	insoluble
None PGR 1% GB 1%	duration days in room temp. 1, 3, 7, 14 Odor analyses : olfactory analysis GC, GC Mass analysis			

나. 돈분의 분리방법

생돈분뇨에 무처리 돈분을 대조구로 하여 도라지분말(PGR) 1%, 인삼부산물 분말(GB) 1%를 각각 첨가한 후 일정한 부피의 비이커에 넣어 밀봉한 후 실온에서 1, 3, 7, 14일이 경과한 후 이를 각각 H_2O와 50% ethanol로 용해해서 72㎛ sieve로 분리하여 수용성과 불용성으로 구분하였다.

실험구의 명칭은 대조구는 MM, 도라지 첨가구를 PM, 인삼부산물을 첨가한 구를 GM으로 하였고, H_2O에 용해된 것을 -WS, 용해되지 않은 것을 -WI, 50% EtOH에 용해된 것은 -ES, 비용해성은 -EI로 각각 명시하였는데 그 분리체계는 Fig. 2-24와 같다.



Legends :
M: manure   P: Platycodon grandiflorum   G: Ginseng   S: Soluble
I: Insoluble   W: Water   E: 50% ethanol

Fig. 2-24. Separation diagram of swine manure

다. Saponin 분석

인삼부산물과 도라지에서의 saponin 성분추출은 fig. 2-24와 같이 건조된 인삼부산물과 도라지 뿌리 1kg을 50% EtOH 로 추출하여 농축한 extracts를 다시 ether, 불포화 n-butanol로 순차적으로 추출하였으며 n-butanol에 녹아있는 성분을 crude saponin으로 간주하였다(박, 1992).
Fig. 2-24의 방법으로 추출한 saponin의 함량을 알아보기 위해 HPLC (Waters 486)를 이용하였는데, column은 μboundpak C18 3.9×150㎜을 사용하였다. 추출된 saponin을 30% methanol에 녹인후 이동상 용매를 100% MeOH로 하여, column 온도 30℃에서 flow rate 1.0㎖/min로 하여 분석하였다.

라. 후각인지 분석(Olfactory analysis)

불쾌감을 발현시키는 원인물질을 체계적으로 분류하기 위하여 돈분을 상온의 대기압 조건하에서 추출용매를 H_2O 또는 50% ethanol로 하여 수용성(soluble)과 불용성(insoluble)으로 분리된 성분을 가지고 후각인지 분석(olfactory analysis)을 실시하였다.
후각인지 분석은 객관성이 결여되는 경우가 많아 후각인지 분석을 위한 기구를 그림과 같이 제작하였는데 그 모식도 및 제원은 Fig. 2-25 및 Table 2-4와 같다.
분리된 각 시료를 sample tube에 넣어 밀봉동결한 후 검측 시 해동하여 이용하였으며, 후각분석을 위하여 신체 건강한 20대 남녀 20명을 활용하였다.

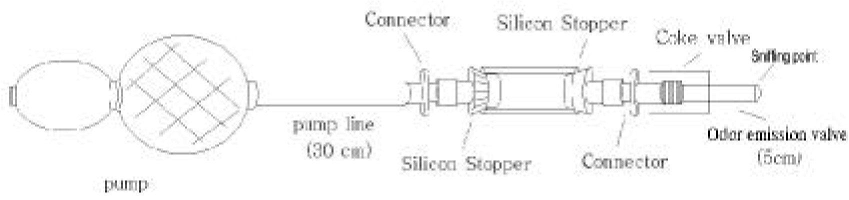


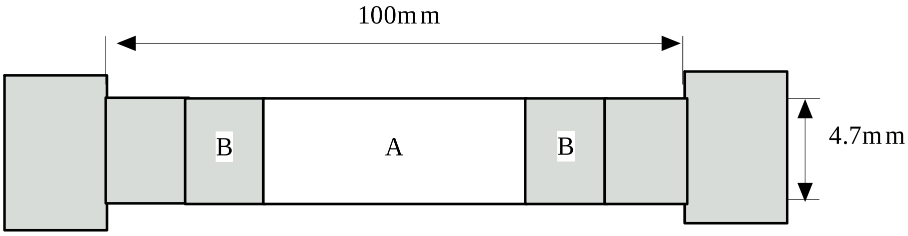
Fig. 2-25. Simplified diagram of olfactory detector

Table 2-4. Physical specification of olfactory detector

Parts	Specification
Air tube volume(ml)	470
Sample holder	
diameter(mm)	6
length(cm)	5
Sniffing point	
diameter(mm)	4
Air flow rate(ml/min) at sniffing	300 200

마. 흡착관을 이용한 VCC(Volatile organic compounds) 분석

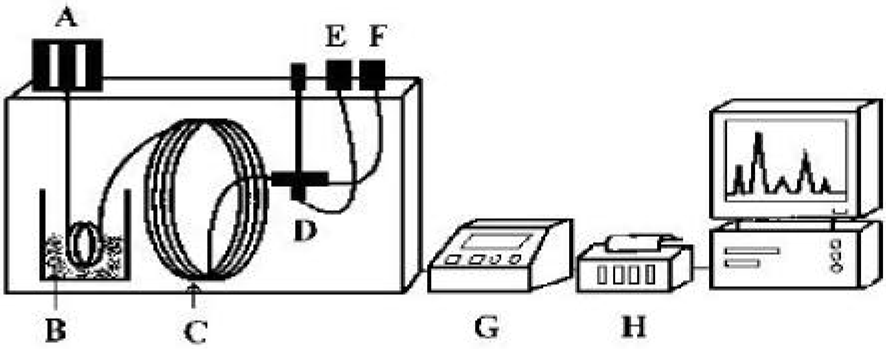
VCC 분석 실험은 강원대학교 환경학과 대기분석실험실과 공동실험실습관에서 실시하였다. VCC 분석을 위해 흡착관을 제작하였는데 사용할 흡착관은 fig. 2-26과 같이 길이 100㎜, 내경 4.7㎜, 외경 6.45㎜인 스테인레스관에 0.5g의 Tenax-GR(60/80mesh)을 충진한 후 양면을 frit으로 막아 제작하였다. Column은 저온농축관으로 stainless steel capillary column(UA5, Frontier Lab 30m×0.25㎜, 0.3㎛)을 사용하였다.



A: Tenax GR(60/80mesh) B: Frit

Fig. 2-26. Schematic diagram of 100mm adsorption tube

VCC의 분석은 fig. 2-27과 같은 방법으로 실험하였다. 시료를 스테인레스관으로 채취한후 200℃ 가열블럭에서 열탈착시켰고 열탈착된 시료는 UA5 column으로 이동하여 직접 -196℃의 액체질소로 8분간 저온농축시켰다. 농축된 시료는 outlet splitter에 의해 유량비가 1:3으로 조절된 dual detector system으로 이동하여 flame ionization detector(FID)에서 탄화수소, flame photometric detector(FPD)에서는 황화합물을 동시에 검출하였다.



A: Thermal desorption B: Liquid N2 C: Stainless column D: Outlet splitter E: FPD F: FID G: Electronic pressure control H: Integrator

Fig. 2-27. Schematic diagram of on-column cryofocusing gas chromatography system

바. GC Mass 분석

흡착관을 이용하여 열추출장치에서 채취된 시료는 200℃의 가열블럭을 이용하여 탈착시켰다. 탈착된 시료는 내경이 0.5㎜이고 길이가 20㎝인 UA-1HT(Frontier Lab.) 컬럼을 fig. 2-27과 같이 코일형태로 감아 -196℃의 액체질소에 담그어 on-column 저온농축시켰다. 분리컬럼은 저온농축루프에 3㎝ 끼워 연결하였고, 저온농축동안 유량을 증가시키기 위하여 스테인레스 재질의 삼방밸브로 유로를 변경하고, 압력을 조절하여 헬륨을 밖으로 흘려보냈다. 저온농축동안 헬륨의 유속은 20㎖/min을 유지하였으며, 5분간의 저온농축이 끝나면 유로를 변경하여 저온농축루프에 농축된 시료가 분리컬럼으로 주입되도록 하였다. 분리컬럼의 유량을 압력과 유량계를 이용하여 1.5㎖/min 상태로 조절한 뒤 저온농축컬럼과 연결된 fused silica HP-5 (0.32 ㎜ i.d., 30m long, 0.25㎛ film thickness) 컬럼을 사용하여 분리하였다. 분리된 시료는 EI mode(70 eV)로 GC Mass(JMS-AM 150, Japan)를 이용하여 분석하였다. 이용된 GC Mass의 분석조건은 table 2-5에 나타내었다.

Table 2-5. Cperating conditions of the on-column cryofocusing GC Mass

Purge & cryofocusing	
Purge	200℃, (He, 20 ㎖/min, 5 min)
Coolant	Liquid-N2 (-196 ℃)
Concentration loop	UA-1HT (0.5 ㎜ i.d., 20 ㎝ long)
GC Mass	
Gas Chromatography	HP-5890 series II
Column	HP-5(0.32 ㎜ i.d., 30 m long, 0.25 ㎛ film thickness)
Carrier gas	He, 1.5 ㎖/min
Temperature	30℃(5min)-3℃/min-60℃(5min)-5℃/min-200℃(10min)
Mass spectrometer	Quadrupole(JMS-AM 150, JEOL)
Ionization	EI(70 eV)
Scan	m/z 35 to m/z 400, 400 ㎳/scan

3. 결과 및 고찰

가. 후각인지 분석(Olfactory analysis)

돈분을 수용성분과 불용성분으로 분리하여 20명의 panel**을 통하여 악취 강도를 후각인지 검사한 결과는** Table 2-6**과 같다**.

Table 2-6. Odor intensity of both water soluble and insoluble fraction of swine manure

Dilution w/H_2O	H_2O solubility	Odor intensity* I	II	III	IV	V	Intensity index** class	composite
1 : 1	Soluble		2	10	5		54	65
	InSoluble			1	2		11	
1 : 10	Soluble			3	11	6	83	83
	InSoluble						-	
1 : 30	Soluble		2	8	7	2	66	70
	InSoluble				1		4	
1 : 50	Soluble		3	9	5	1	58	64
	InSoluble			2			6	
1 : 100	Soluble	7	6	2			25	33
	InSoluble	2	3				8	

*I: Very faintly offensive odor; II: Faintly offensive odor; III: Definitely offensive odor; IV: Strongly offensive odor; V: Very strongly offensive odor
**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis ×
I(1), II(2), III(3), IV(4), V(5)

상기 결과로 미루어 볼 때 돈분뇨의 주요 악취는 일차적으로 water soluble portion에 잔존하는 것으로 판단된다. 또한 희석률을 달리하였을 때 water soluble portion에서 ×10배, ×30배, ×50배에서는 악취가 강하게 검측되었으나 100배로 희석시에는 악취강도가 낮게 측정되었다. 이는 water soluble portion에 잔존하는 악취성분의 용해적 발현을 위하여 충분한 용매가 존재할 때 악취강도가 증가하는 것을 의미한다. 그러나 희석배율이 충분한 용해 이상 수준으로 본 실험와 같이 100배로 증가한 경우 악취원의 용해 후 희석으로 악취강도가 낮게 검출된 것으로 판단된다.

상기 예비 실험에서 악취 발현의 강도가 최고인 점이 용매와의 10배 희석수준인 것을 기초자료로 향후 악취 후각분석에 10배 희석시료를 사용하기로 하였으며 악취의 용해적 발현을 위한 최저 희석 배율은 1 10배 사이에 있을 것으로 판단하였다.

생돈분을 실온에 방치하는 과정에서 나타나는 악취 발현상의 변화를 살펴보기 위하여 실온 방치 기간을 달리하여 동일한 실험을 실시하였다. 즉, 생돈분을 각각 3일, 7일 및 14일 동안 실온에 방치한후 이를 5배 또는 10배의 H_2O로 희석한 후 이를 원심분리하여 각각 상등액과 하층액으로 구분하여 악취강도를 측정한 결과는 table 2-24 및 2-25와 같다.

Table 2-7. Cdor intensity of supernatant portion of swine manure separated by centrifuge(27,000g, 4℃)

Storage	Dilution	Odor class	Odor intensity*					Intensity index**	
			Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	class	composite
3 days	1 : 5	Soury	2	8				18	40
		Fishy			1			3	
		Beany		8	1			19	
	1 : 10	Soury							61
		Fishy			10			30	
		Beany			9	1		31	
7 days	1 : 5	Soury			5			15	63
		Fishy			6	2		26	
		Beany		1	4	2		22	
	1 : 10	Soury			1	8		35	73
		Fishy		2	2	7		38	
		Beany							
14 days	1 : 5	Soury		2	1	3		19	67
		Fishy			5	4		31	
		Beany			3	2		17	
	1 : 10	Soury		1	1	4	1	26	76
		Fishy			2	7	2	44	
		Beany			2			6	

*Ⅰ: Very faintly offensive odor; Ⅱ: Faintly offensive odor; Ⅲ: Definitely offensive odor; Ⅳ: Strongly offensive odor; Ⅴ: Very strongly offensive odor
**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis ×
Ⅰ(1), Ⅱ(2), Ⅲ(3), Ⅳ(4), Ⅴ(5)

Table 2-8. Odor intensity of precipitate portion of swine manure separated by centrifuge(27,000g, 4℃)

Storage	Dilution	Odor class	Odor intensity* I	II	III	IV	V	Intensity index** class	composite
3 days	1 : 5	Soury						-	
		Fishy	2	5		1		15	35
		Beany	4	8				20	
	1 : 10	Soury			1			3	
		Fishy		6	2			18	45
		Beany	2	5	4			24	
7 days	1 : 5	Soury			3	1		13	
		Fishy			4	5		32	67
		Beany			2	4		22	
	1 : 10	Soury						-	
		Fishy		4	3			21	54
		Beany		5	5			33	
14 days	1 : 5	Soury		1	1	1		9	
		Fishy			5	2		23	69
		Beany			7	4		37	
	1 : 10	Soury			3	1		13	
		Fishy			6	3		30	66
		Beany			5	2		23	

*Ⅰ: Very faintly offensive odor; Ⅱ: Faintly offensive odor; Ⅲ: Definitely offensive odor; Ⅳ: Strongly offensive odor; Ⅴ: Very strongly offensive odor

**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis × Ⅰ(1), Ⅱ(2), Ⅲ(3), Ⅳ(4), Ⅴ(5)

상기 분석결과 Table 2-7 및 2-8에서 보는 것과 같이 분뇨를 원심분리하였을 때 상층여액의 악취강도가 하층침전물보다 강한 것을 보여주고 있다. 이는 대기환경조건하에서 분뇨악취의 주원인물질은 수용성이 강하다는 점을 의미하며 또한 이 성분이 대기와 같은 조건하에서도 용이하게 악취발현을 가져온다는 것을 의미한다.

이는 Williams(1984)가 10℃에서 20분간 10,000g 원심분리시 상층여액에서 VFA(C_2-C_5)가 추출되었고, Spoelstra(1977)가 GC 분석시 indole과 penol 등 수용성 악취성분을 밝혀낸 것과 유사한 결과를 보여주며 분뇨 악취 원인물질이 수용성이 강하다는 것을 의미하고 있다. Yasuhara 와 Fuwa(1977)는 액상분뇨에서의 악취 원인물질을 butyric, isovaleric, benzoic, penylacetic acid 와 p-cresol로 보고 그 중 butyric, isovaleric 과 penylacetic acid는 강한 악취자극이 있는 원인물질이라 하였고, Bell(1970)은 액상분뇨에서 VFA를 악취원이라 하였다. 즉 용매에 의한 용해성 분획에 강한 악취 원인물질이 많음을 시사하였다.

본 후각 악취강도 분석결과 table 2-24에서 보는 바와 같이 수용성 분획의 경우 희석배율이 1:5 보다는 1:10으로 높아질 때 오히려 악취강도가 증가하는 경향을 보였는데 이는 악취발현성분이 수용성이어서 이들이 수분과 반응하여 용출되는 량이 증가하기 때문인 것으로 판단된다. 즉 악취성분의 수분으로의 용출에는 일정 한계가 있어 결국 용매(물)의 양이 충분하여야 악취성분도 용출된다는 것을 시사하였다. 그러나 비용해성 물질이 많은 하층 침전물의 경우 오히려 희석배율이 1:10인 경우보다 1:5일 때 악취강도가 높아(table 2-25) 악취성분이 용매의 부족으로 충분히 용해되지 않았음을 보여주고 있다.

또한 본 실험에서는 시간이 경과될수록 악취의 강도가 증가하는 것

으로 나타났는데 이는 대기환경조건하에서 악취성분의 발현과정이 지속된다는 것을 의미하며 또한 반응에 의해서 새로운 악취 원인물질이 생성되고 있음을 의미한다. 분뇨의 방치과정에서 생성된 새로운 악취 유발물질의 생성에 관해서는 Spoelstra(1980)과 Hammond et al.(1989)에 의해 확인된 바 있다. 특히 본 실험에서 방치 시간이 경과하여 산취(soury odor)가 증가하는 것은 미생물의 작용을 시사하며 어취(fishy odor)가 증가하는 것은 질소유래 악취 원인물질의 생성을 시사하고 있다. Spoelstra(1980)는 미생물 분해작용에 의해 악취 원인물질이 생성된다고 보고하고 있다.

나. 돈분 분획별 악취강도와 식물성 steroids 첨가효과

본 실험에서는 down stream 공정에서 분뇨취의 발생을 억제하기 위하여 돈분뇨에 도라지 분말(PGR) 및 인삼부산물 분말(GB)을 첨가하여 악취발현 억제효과를 후각인지 분석을 통하여 평가하였다. 즉, 시료인 돈분뇨에 PGR 1%, GB 1%를 각각 첨가한 후 1일, 3일, 7일, 14일이 경과한후 각각 H_2O와 50% ethanol로 분획하여 동일한 방법으로 악취의 강도를 측정한 결과는 Tables 2-9 2-12와 같다.

본 실험에서 돈분에 첨가한 식물성 steroids 함유 부산물이 악취저감효과가 있을 경우 그 가능한 이론적 근거를 규명하기 위하여 본 실험에 사용된 첨가물의 성분을 분석하였다. PGR 및 GB의 saponin의 함량은 각각 28.4㎎/g 및 19.2㎎/g이었다. 유효순(1987)의 보고에 의하면 도라지의 saponin의 함량이 22.9㎎/g이었고, 인삼은 42.1㎎/g이라 하여, 본 분석치와 유사하였고 단지 본 실험에서는 인삼대신 인삼부산물을 사용하여 saponin 함량이 낮은 것으로 판단된다.

Table 2-9. Odor intensity of swine manure stored for 1 day

Partition	pH	Odor intensity *					Intensity index**
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	
MM	8.53	3	7	6	2	2	53
MMWS	7.06	3	5	6	4	2	57
MMWI	7.43	2	2	11	3	2	61
MMES	7.78	2	3	6	7	2	64
MMEI	7.14		2	7	9	2	71
PM	7.88	8	8	2	2		38
PMWS	6.68	7	9	2	2		39
PMWI	6.43	3	6	9	2		50
PMES	7.65	2	4	2	7	5	69
PMEI	7.38		1	2	13	4	80
GM	8.56	6	9	3	2		41
GMWS	7.00	3	6	7	4		52
GMWI	6.71		9	5	4	2	59
GMES	7.93		3	8	6	3	69
GMEI	7.32		3	4	8	5	75

*Ⅰ: Very faintly offensive odor; Ⅱ: Faintly offensive odor; Ⅲ: Definitely offensive odor;
Ⅳ: Strongly offensive odor; Ⅴ: Very strongly offensive odor

**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis × Ⅰ(1), Ⅱ(2), Ⅲ(3), Ⅳ(4), Ⅴ(5)

Table 2-10. Odor intensity of swine manure stored for 3 days

Partition	pH	Odor intensity *					Intensity index**
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	
MM	7.73		3	5	12		69
MMWS	7.69		2	3	11	4	77
MMWI	7.63		6	9	5		59
MMES	8.21		11	5	2	2	55
MMEI	7.36			4	6	10	86
PM	6.29		5	3	8	4	71
PMWS	7.71	3	10	5	2		46
PMWI	7.54	6	8	4	2		42
PMES	6.95	4	3	6	7		56
PMEI	6.66		3	5	9	3	72
GM	7.31		2	5	6	7	78
GMWS	7.18	1	4	8	4	3	64
GMWI	6.95	5	8	3	4		46
GMES	7.24	5	9	4	2		43
GMEI	6.71		3	7	4	6	73

*Ⅰ: Very faintly offensive odor; Ⅱ: Faintly offensive odor; Ⅲ: Definitely offensive odor; Ⅳ: Strongly offensive odor; Ⅴ: Very strongly offensive odor

**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis × Ⅰ(1), Ⅱ(2), Ⅲ(3), Ⅳ(4), Ⅴ(5)

Table 2-11. Odor intensity of swine manure stored for 7 days

Partition	pH	Odor intensity *					Intensity index**
		I	II	III	IV	V	
MM	7.77		6	5	9		63
MMWS	7.65	8	8	4			72
MMWI	8.01		10	3	7		57
MMES	8.12	2	5	4	4	5	65
MMEI	7.56		2		4	14	90
PM	6.52	5	7	6	2		45
PMWS	7.85	4	8	7	1		45
PMWI	7.78	3	4	7	4	2	58
PMES	6.72	4	4	4	6	2	58
PMEI	6.55			3	4	13	90
GM	6.34	2	5	6	7		58
GMWS	7.56	4	10	5	1		43
GMWI	8.48	6	6	8			42
GMES	8.57		5	11	4		59
GMEI	8.59		2	8	4	6	74

*I: Very faintly offensive odor; II: Faintly offensive odor; III: Definitely offensive odor; IV: Strongly offensive odor; V: Very strongly offensive odor

**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis × I(1), II(2), III(3), IV(4), V(5)

Table 2-12. Odor intensity of swine manure stored for 14 days

Partition	pH	Odor intensity *					Intensity index**
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	
MM	8.10	2	3		8	7	75
MMWS	8.07		7	11	1	1	56
MMWI	8.25		7	6	5	2	62
MMES	7.92		6	5	6	3	66
MMEI	8.20		2	5	10	3	74
PM	8.27	6	8	6			40
PMWS	6.53		7	6	3	4	64
PMWI	6.42		2	6	10	2	72
PMES	8.43		5	4	6	5	71
PMEI	8.63			5	12	3	78
GM	8.33	5	10	3	2		42
GMWS	7.81		8	9	3		55
GMWI	8.18	2	5	8	5		56
GMES	6.67				5	15	95
GMEI	6.50				4	16	96

*Ⅰ: Very faintly offensive odor; Ⅱ: Faintly offensive odor; Ⅲ: Definitely offensive odor; Ⅳ: Strongly offensive odor; Ⅴ: Very strongly offensive odor

**Intensity index : No. of detection multiplied by scores in parenthesis × Ⅰ(1), Ⅱ(2), Ⅲ(3), Ⅳ(4), Ⅴ(5)

우선 각 돈분 분획의 pH 변화를 살펴보면 실온방치 7일이 경과되면서 pH가 증가되는 분획이 나타나고 있다. 특히 14일 경과된 돈분 분획의 경우 대부분 pH가 8이상이나 PM구의 경우 수분을 용매로 사용한 분획에서 GM구의 경우 50% ethanol을 용매로 사용한 분획에서 pH가 오히려 낮아지는 경향을 나타내었다. 14일 경과된 PMWI에서의 pH 저하는 Fig. 2-48에서와 같이 주 악취원인물질 중 sulfide나 disulfide 등이 상대적으로 낮아졌기 때문인 것으로 판단된다.

본 실험에서 돈분 분획의 pH는 후각악취 강도와는 상관관계가 없는 것으로 나타났으며 sulfonic VCC의 함량이 증가하면 pH가 다소 낮아지는 경향을 나타내었으나 유의적 차이는 없었다.

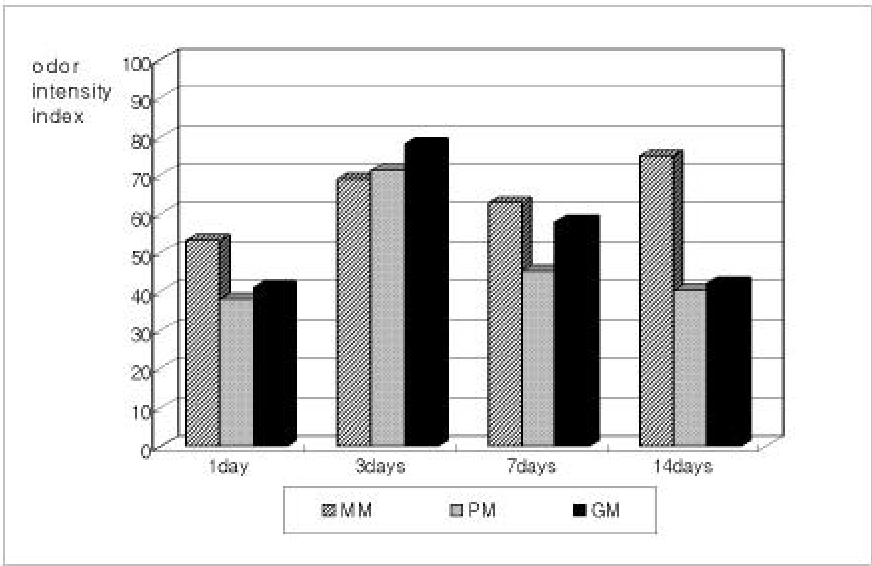


Fig. 2-28. Odor intensity of swine manure during field storage

돈분 분획의 후각인지 악취강도는 수용성 분획의 경우 Fig. 2-29에서 보는 바와 같이 실온에 3일 방치하였을 때 오히려 높아졌다가 그후 서서히 약해지는 경향을 보이고 있다. 이는 수용성 악취성분이 유리되어 발현되는데 경과시간이 필요함을 의미한다고 하겠다.

그러나 비수용성 분획의 경우 Fig. 2-30에서 보는바와 같이 방치기간이 증가할수록 악취강도도 서서히 강해지는 양상을 보여주어 수용성이 낮은 악취원인물질의 경우 그 악취발현에 소요되는 시간이 수용성이 강한 악취원인물질에 비하여 상대적으로 길다는 점을 보여주었다.

본 실험에서 돈분에 도라지 분말(PGR) 1% 및 인삼부산물 분말(GB) 1%를 첨가하여 방치할 경우 7일이 경과하면서부터 Fig. 2-28에서 무첨가구(MM)에 비하여 악취강도가 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이 악취 감소원인이 주로 수용성 분획인지 또는 비수용성 분획인지는 Fig. 2-29 및 2-30를 통하여는 확인할 수 없었다. 단지 수용성 분획의 경우 PGR 및 GB 첨가 효과가 7일 경과후 최대인 반면 비수용성 분획의 경우 그 첨가효과는 오히려 빨라서 3일 경과후 최대인 것으로 나타났다. 이는 돈분 분획의 후각 악취강도가 실온하 방치기간이 경과하면서 각 분획별로 차이가 있음을 의미하나 그 차이점을 본 실험으로는 판단하기 어려웠다.

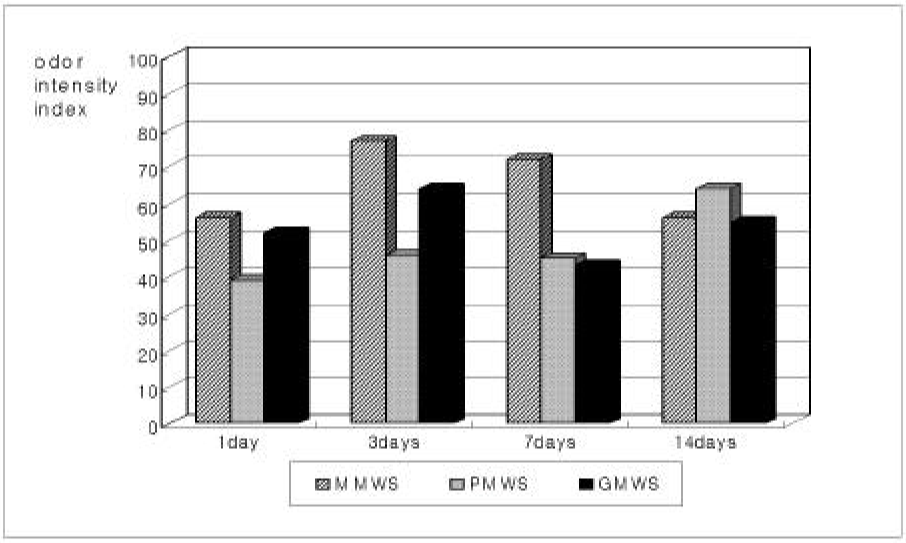


Fig. 2-29. Odor intensity of water soluble fraction of swine manure during field storage

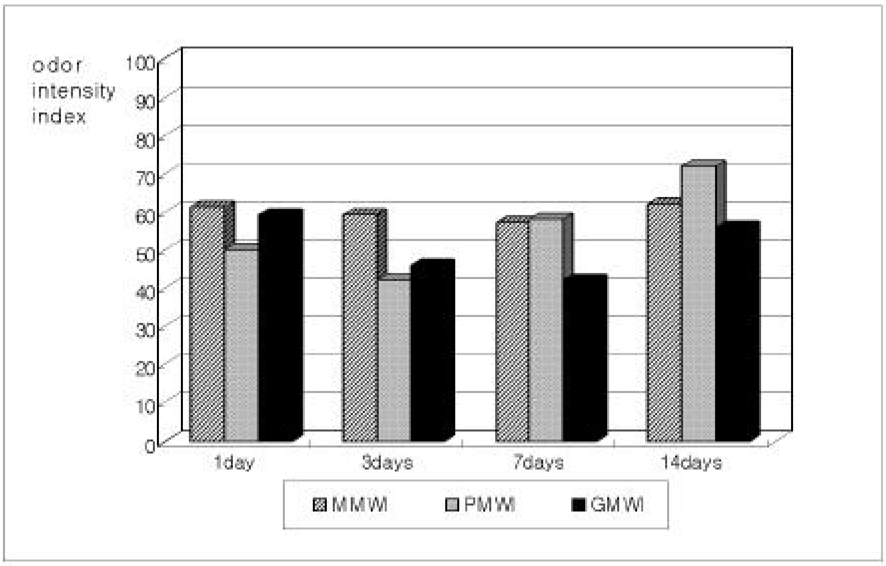


Fig. 2-30. Odor intensity of water insoluble fraction of swine manure during field storage

상기 돈분을 50% ethanol로 분획하여 각각의 후각 악취강도의 방치기간 중 변화를 살펴보면 Fig. 2-31 및 2-32과 같다. Fig. 2-31에서 보는 바와 같이 ethanol 용해분획의 경우 악취강도가 처리직후 낮아지는 경향을 보여주다가 방치기간이 경과할수록 서서히 강해지는 경향을 보여주고 있다. 이는 악취성분중 상당량이 초기 alcohol에 분해되어 악취강도가 낮아졌으나 시간이 경과하여 alcohol이 증발하면서 오히려 잔존하던 악취성분이 발현되기 때문인 것으로 판단된다.

Ethanol 비용해성 분획의 경우 처리직후서부터 시간이 경과될수록 악취강도가 서서히 높아지는 경향을 보여주고 있다(Fig. 2-32). 그 정확한 이유는 본 실험으로 확인하기 어려우나 alcohol이 용해도가 낮은 물질의 분해를 증진시켜 이들이 저장 방치기간이 경과되면서 서서히 악취 유발물질로 분해 또는 합성되어 악취강도가 오히려 높아질 가능성이 있는 것으로 판단된다.

PGR 또는 GB 첨가가 ethanol 분획의 악취강도에 미치는 영향을 수용성 분획에서와 유사하게 ES분획에서는 다소 느리게 EI분획에서는 다소 빠르게 악취저감 효과가 나타났다. 그러나 ethanol 분획의 경우 모두 14일 경과시에는 오히려 PGR 및 GB 첨가시 악취가 오히려 강하여 지는 것으로 나타났다. 특히 GB 첨가후 14일 경과시 악취강도가 가장 높았는데 이는 ethanol과 인삼부산물과의 반응으로 새로운 악취 발현 물질이 생성될 가능성을 시사하고 있다.

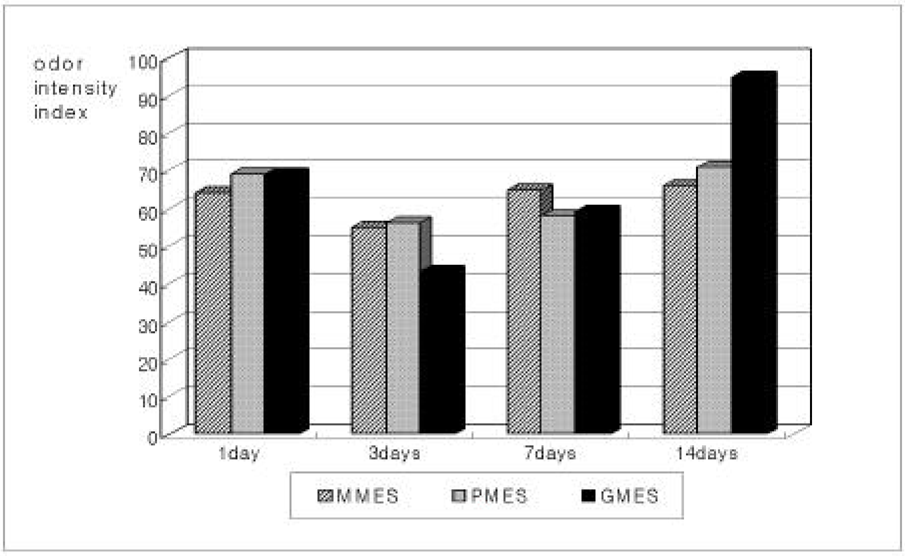


Fig. 2-31. Odor intensity of 50% ethanol soluble fraction of swine manure during field storage

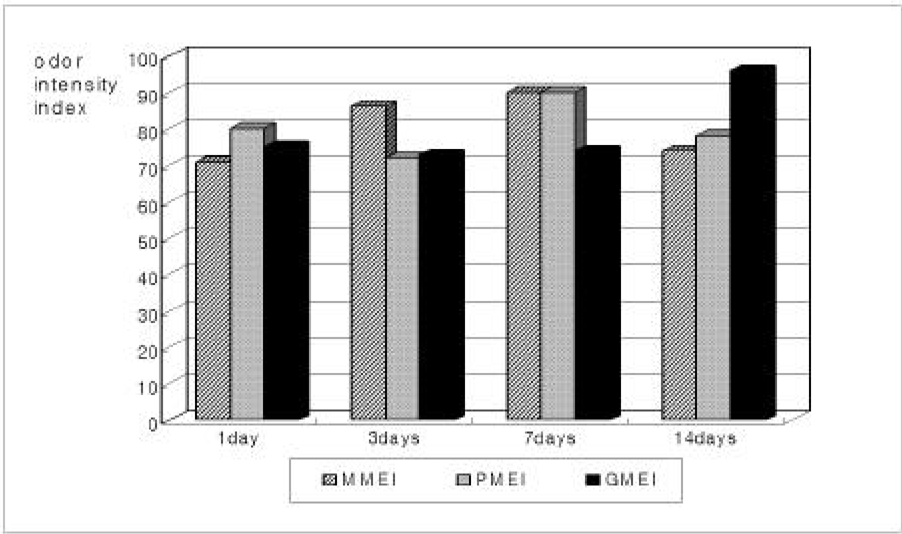


Fig. 2-32. Odor intensity of 50% ethanol insoluble fraction of swine manure during field storage

다. VOC(Volatile organic compounds) 분석

돈분 분획의 후각인지 분석(olfactory analysis)에 의해 검출된 악취강도에 영향을 미치는 중요 원인물질을 규명하기 위하여 동일 돈분을 GC 및 GC Mass를 이용하여 휘발성 유기물(Volatile organic compounds, VOC)과 그 VOC의 profile을 분석하였다.

도라지분말(PGR) 1% 및 인삼부산물 분말(GB) 1%를 첨가한 돈분과 무처리 돈분을 밀봉하여 1일, 3일, 7일, 14일동안 실온에 방치시키고 난후 측정한 VOC 함량과 그 profile은 Figs. 2-33 48과 같다.

우선 Figs. 2-33 2-40은 flame ionization detector(FID)에 의해 검출된 주로 탄화수소 계열의 VOC이며, Figs. 2-41 2-48에 나타난 curve와 profile은 flame photometric detector(FPD)에 의하여 검출된 VOC로서 주로 S-함유 휘발성유기물이 집중적으로 나타나고 있다.

각 Figs.의 curve는 FID 및 FPD를 장착한 GC에 의해 검출된 것이며 동일 시료를 GC Mass에 주입하여 각 curve의 profile을 얻어 표준시약을 통하여 특정 유기물질을 구분하였다.

Figs. 2-33 2-48에서 보는 바와 같이 돈분의 VOC profile중 가장 많이 존재하는 물질은 각기 FID 및 FPD로 분석한 경우 모두 dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, methyl chloride 순으로 존재하였다. 그러나 이들 다량 함유물질과 olfactory analysis에 의한 악취강도와는 상관관계가 미약한 것으로 판단되었다.

오히려 악취강도는 FID에 의해 검출된 탄화수소계열의 화합물인 경우, 소량이라 하더라도 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene 및 o-xylene 등이 존재할 경우 후각검사 과정에서도 악취가 강한 것으로 판단되고 있다. 상기 탄화수소계열 화합물의 경우 비록 소량 존재하더라도 후각 악취강도가 높은 점은 권(1996)의 연구에서도 확인된 바 있다. 또한 O'Neill 과 Phillps(1992) 및 Bell(1970) 등의 연구에서도 주요 악취원인

물질로 acetic acid와 같은 VFA가 거론된 바 있다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 FID에 의해 검출된 VOC profile의 총량이 악취강도 결정에 관여하기 보다는 VOC내에 존재하는 특정 휘발성 유기물의 존재유무가 악취강도 결정 요인인 것으로 판단된다.

그러나 돈분의 수용성 분획내 탄화수소계열 화합물에서는 acetic acid, ethyl benzene, xylene, stylene 존재유무가 악취강도에 미치는 영향이 미약해지는 것으로 나타나(Figs. 2-37 2-40) 이들 성분이 물에 흡착되는 과정에서 악취 발현에 미치는 영향도 변화되는 것으로 판단되었다. 이는 다른 의미에서 수용성 분획의 경우 상기 VOC 외에 타 물질이 악취강도 결정에 큰 영향을 미칠 수 있음을 시사한다고 할 것이다.

실제 acetic acid, ethyl benzene, xylene 및 stylene 등은 acetic acid를 제외하고 원칙적으로 비수용성이며 주로 악취원이라기 보다는 생체 상피세포를 자극하는 원인물질로 간주되고 있다(Merck, 1996). 따라서 이들 물질이 비수용상태로 후각점막에 잔존하면서 methyl sulfide와 같은 악취물질의 인지 자극을 강화시킬 수 있을 것으로 추론된다. 물론 이에 관해서는 상기 점막자극 물질의 존재여부가 악취물질의 악취발현에 미치는 영향을 체계적으로 평가하여야 할 것이다.

본 실험과정에서 돈분에 도라지 분말(PGR)이나 인삼부산물 분말(GB)을 첨가한 후 저장과정에서 각 분획별 VOC profile의 변화를 살펴보았다. 그 결과 탄화수소계열의 VOC인 경우 PM이나 GM구에서 무첨가구에 비하여 Figs. 2-33 2-36에서 보는 바와 같이 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 등의 함량이 감소된 것으로 나타났다.

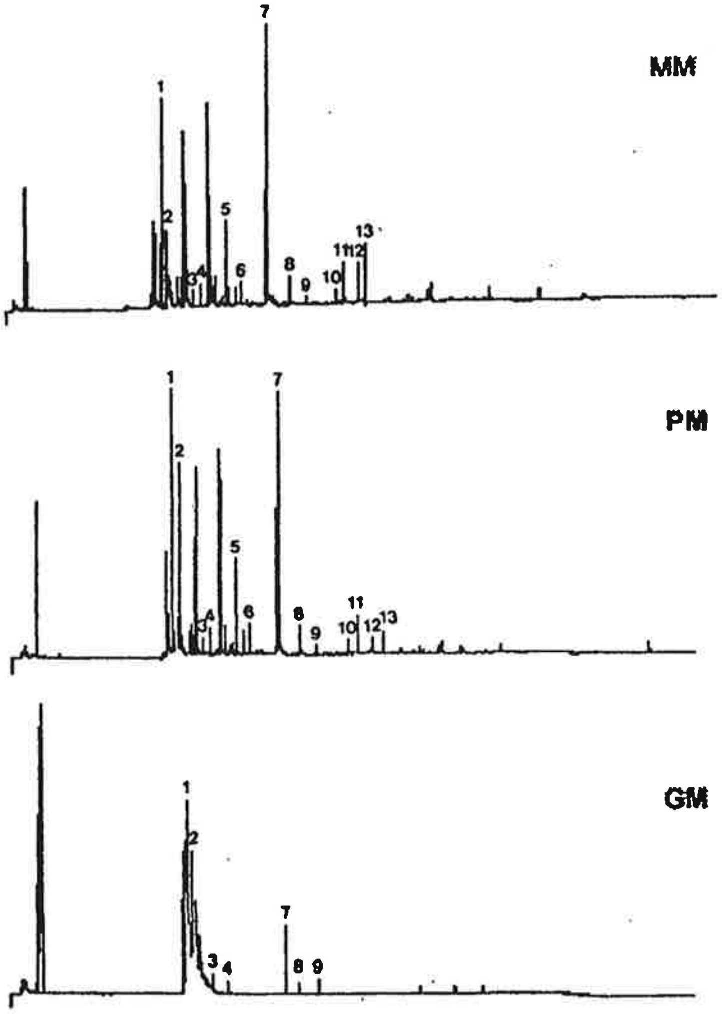
그러나 수분 용해성 분획에서는 PGR 및 GB의 첨가로 탄화수소계열 VOC profile에 큰 차이가 없었다. 이때 동일 분획의 후각 악취강도는 PGR 및 GB의 첨가로 감소되어 역시 수용성 분획내의 악취 원인물질이 본 실험에 의해 검출된 탄화수소계열의 VOC 외의 물질인 것으로 판단되었다.

본 실험에서 FPD로 검출된 황화합물인 dimethyl sulfide나 dimethyl disulfide는 FID에 의해 검출된 것과 마찬가지로 악취강도와의 상관성이 매우 낮은 것으로 평가되었다. 그러나 이들은 각 돈분 분획내의 주요 VOC 이며 가장 많이 존재하는 것으로 나타났다. 상기 실험에서 PGR 및 GB의 첨가는 돈분 각 분획내의 dimethyl sulfide와 dimethyl disulfide의 profile 에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 그러나 동일분획의 후각 악취강도 검사과정에서는 PGR 와 GB의 첨가로 악취가 감소한 것으로 나타났다. 따라서 이들이 악취의 원인물질이기는 하나 이의 후각인지 발현이나 그 강화를 위해서는 타 물질이 수반되어야 함을 시사하였다.

그밖에 GC Mass에 의해 분석된 VOC의 구성물질로는 dimethyl sulfide, methyl chloride, 2-methylpentane, 3-methylpentane, dimethyl disulfide, 2-methyl hexane, heptane, toluene, acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 등이 있다.

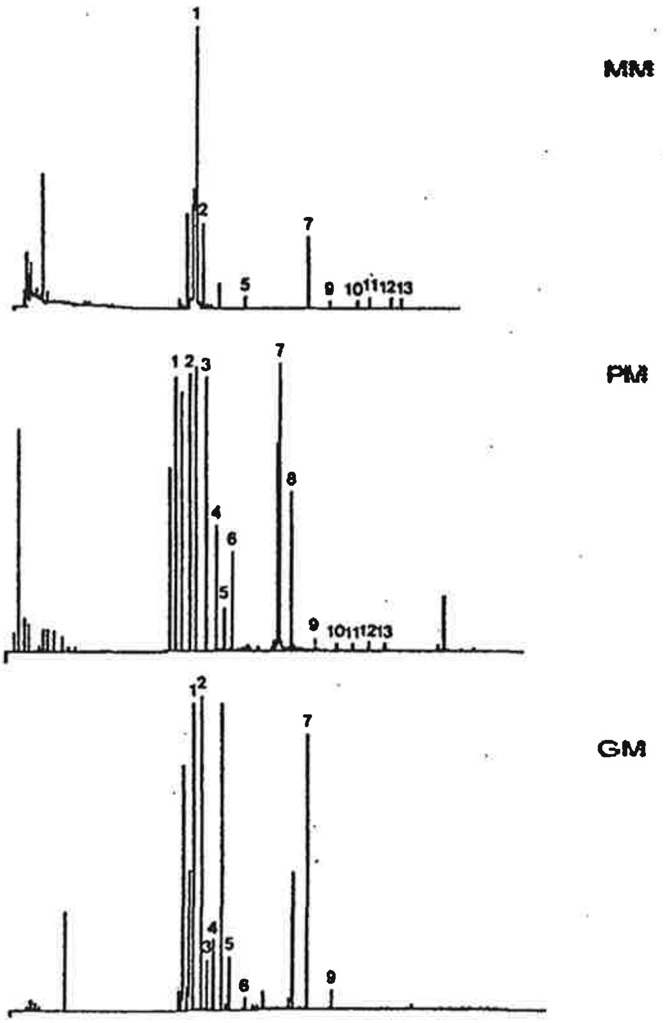
돈분의 악취성분에 관해 GC Mass를 활용한 타연구를 살펴보면Hammond et al.(1989)은 GC와 GC Mass를 가지고 돈분뇨 악취성분을 분석하여 주요 악취원인물질을 dimethyl sulfide, dimethyl disulfide로 보았으며, 그 밖에 methyl pentane, ethyl acetate, p-cresol, indole 등을 원인물질로 보고하였다. Hobbs et al.(1995)도 GC Mass 분석시에 dimethyl sulfide 와 dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide를 악취원인물질이라고 보고하였다.

상기 보고들은 methyl sulfide 계통의 황화합물을 주 악취성분으로 규정한 점에서는 본 연구와 유사하나 역시 후각인지 분석과 병행하여 실시하지 않고 분석의 정량치를 근거로 주 악취 원인물질로 규정한 점이 본 연구와 다르다고 하겠다. 본 연구에서는 methyl sulfide 계통의 황화합물은 다량으로 존재하나 오히려 후각 악취강도를 결정짓는데 이들 만으로는 악취강도가 높아지지 않는 것으로 나타났다.



Legends :
1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane
5: 2-Methyl hexane 6: Heptane 7: Dimethyl disulfide 8: Toluene 9: Acetic acid;
10: Ethyl benzene 11: p-Xylene 12: Styrene 13: o-Xylene

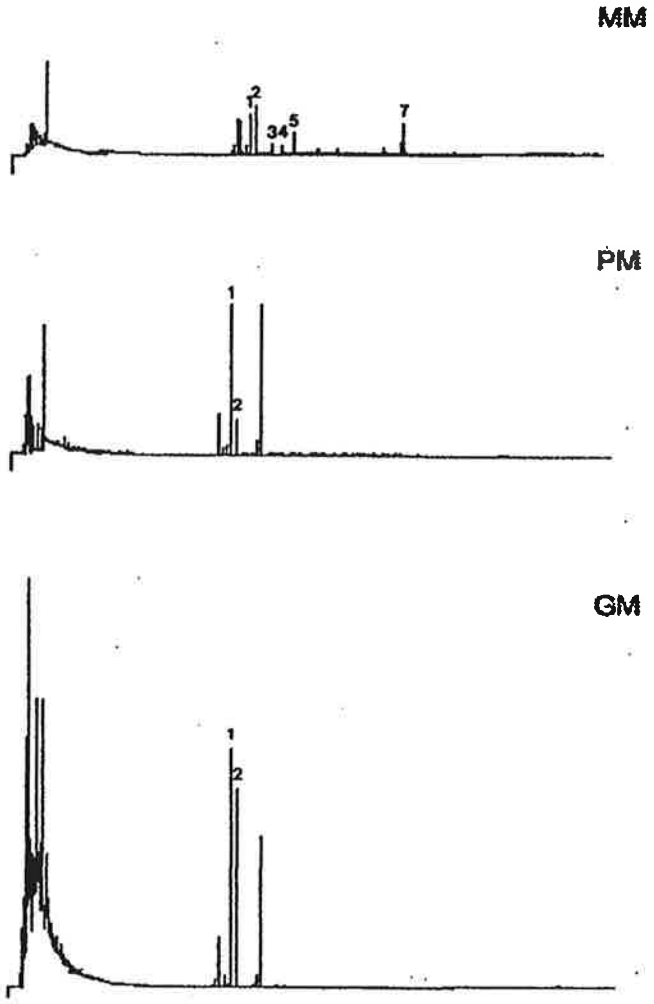
Fig. 2-33. Hydrocabonic VOC profile of swine manure stored 1 day



Legends :

1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane
5: 2-Methyl hexane 6: Heptane 7: Dimethyl disulfide 8: Toluene 9: Acetic acid
10: Ethyl benzene 11: p-Xylene 12: Styrene 13: o-Xylene

Fig. 2-34. Hydrocabonic VOC profile of swine manure stored 3 days

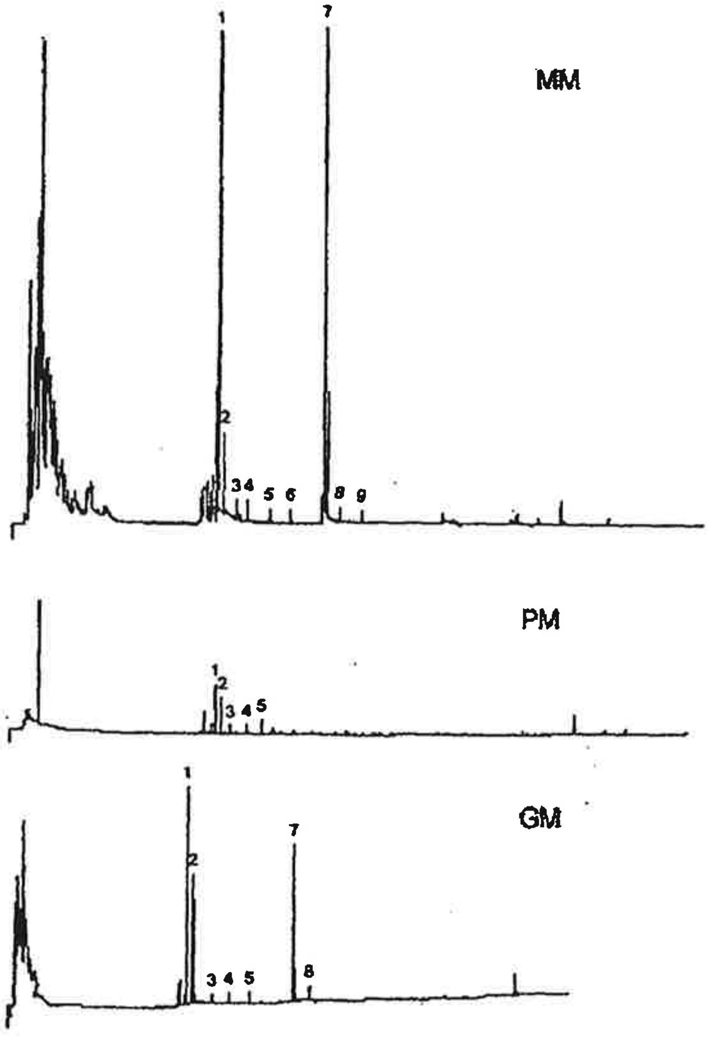


Legends :

1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane

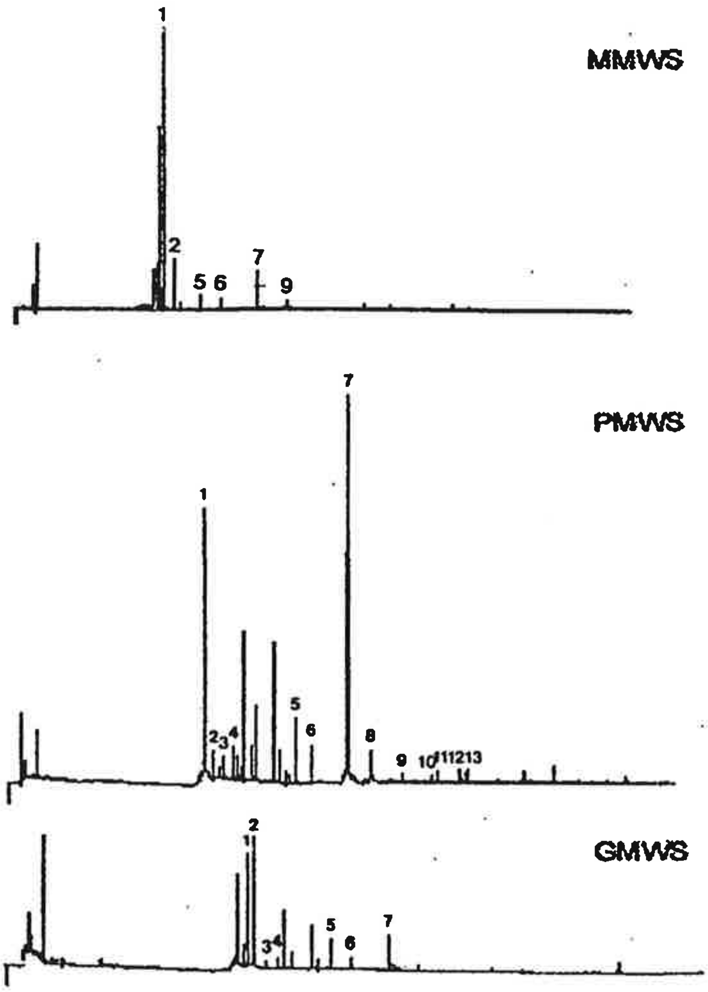
5: 2-Methyl hexane 7: Dimethyl disulfide

Fig. 2-35. Hydrocabonic VOC profile of swine manure stored 7 days



Legends :
1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane
5: 2-Methyl hexane 6: Heptane 7: Dimethyl disulfide 8: Toluene 9: Acetic acid

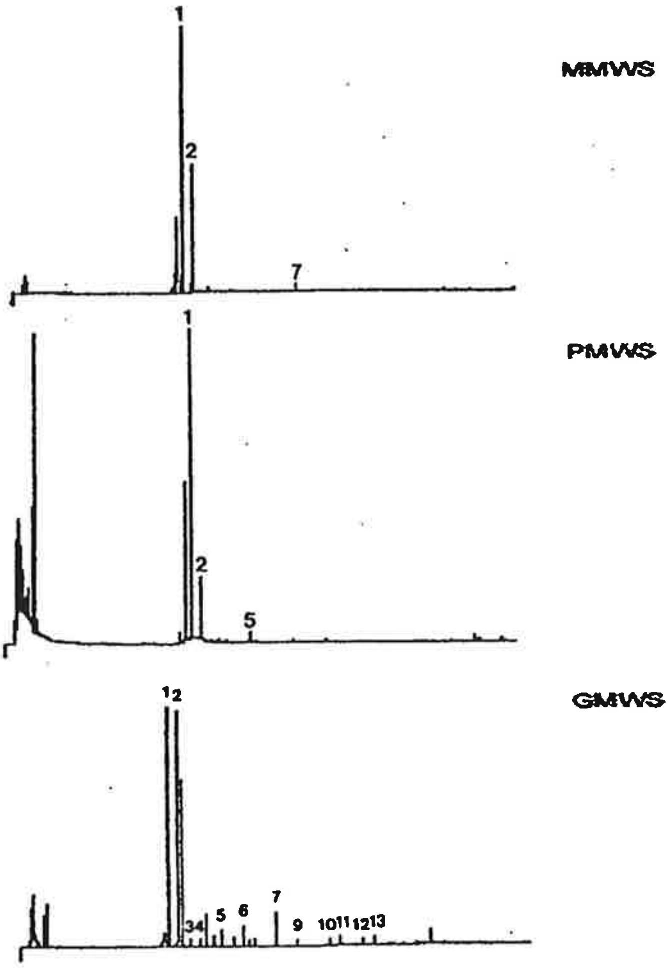
Fig. 2-36. Hydrocabonic VOC profile of swine manure stored 14 days



Legends :

1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane
5: 2-Methyl hexane 6: Heptane 7: Dimethyl disulfide 8: Toluene 9: Acetic acid
10: Ethyl benzene 11: p-Xylene 12: Styrene 13: o-Xylene

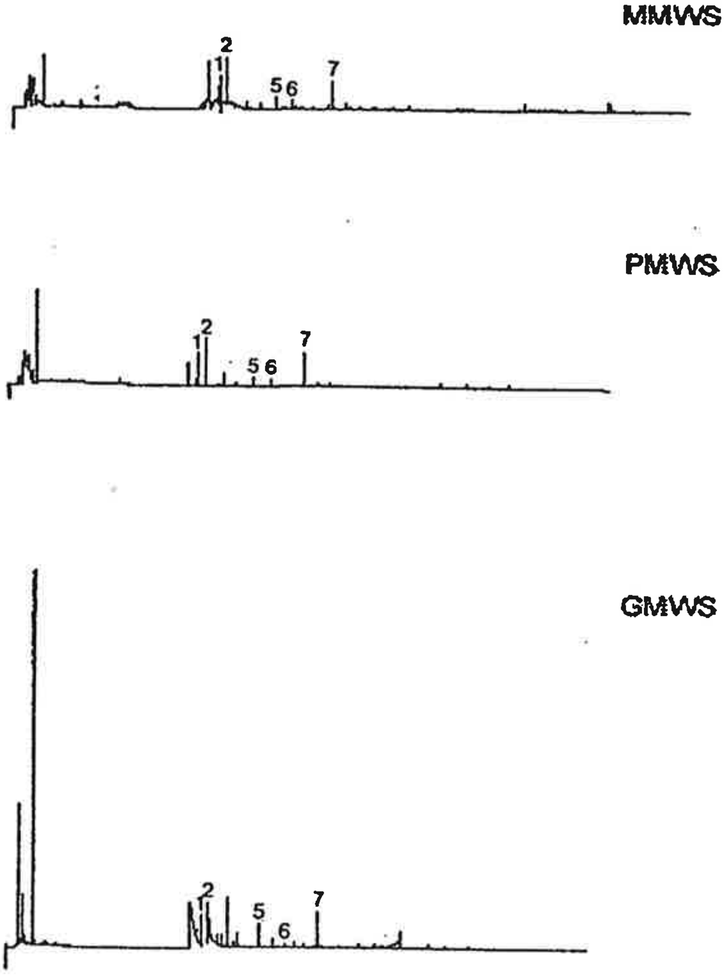
Fig. 2-37. Hydrocabonic VOC profile of water soluble manures stored 1 day



Legends :

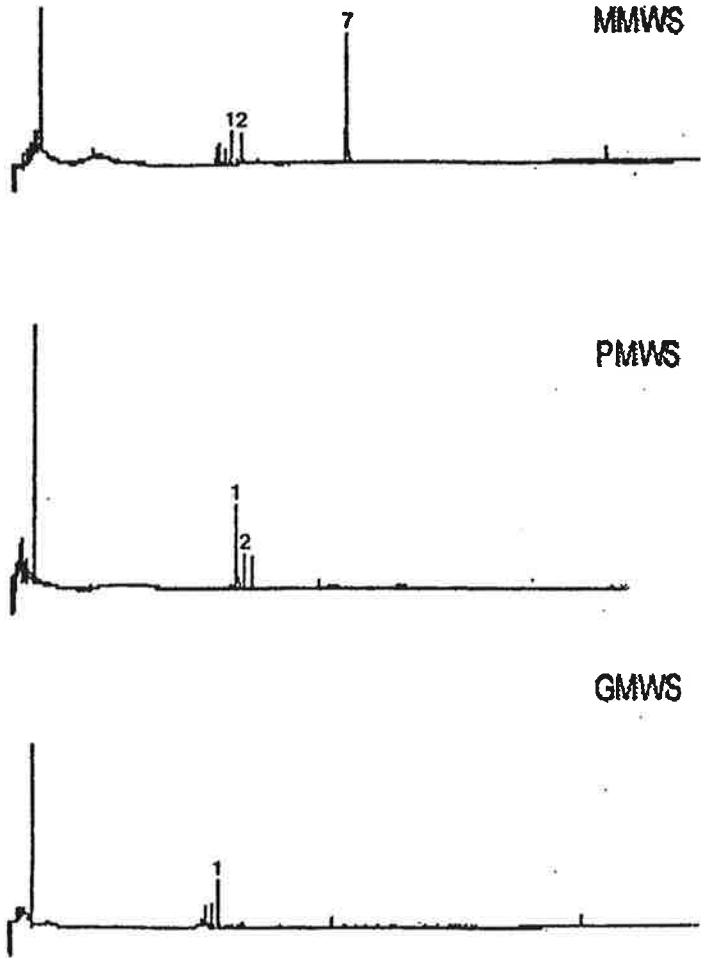
1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 3: 2-Methylpentane 4: 3-Methylpentane
5: 2-Methyl hexane 6: Heptane 7: Dimethyl disulfide 9: Acetic acid
10: Ethyl benzene 11: p-Xylene 12: Styrene 13: o-Xylene

Fig. 2-38. Hydrocabonic VOC profile of water soluble manures stored 3 days



Legends :
1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 5: 2-Methyl hexane 6: Heptane;
7: Dimethyl disulfide

Fig. 2-39. Hydrocabonic VOC profile of water soluble manures stored 7 days



Legends :

1: Dimethyl sulfide 2: Methyl chloride 7: Dimethyl disulfide

Fig. 2-40. Hydrocabonic VOC profile of water soluble manures stored 14 days

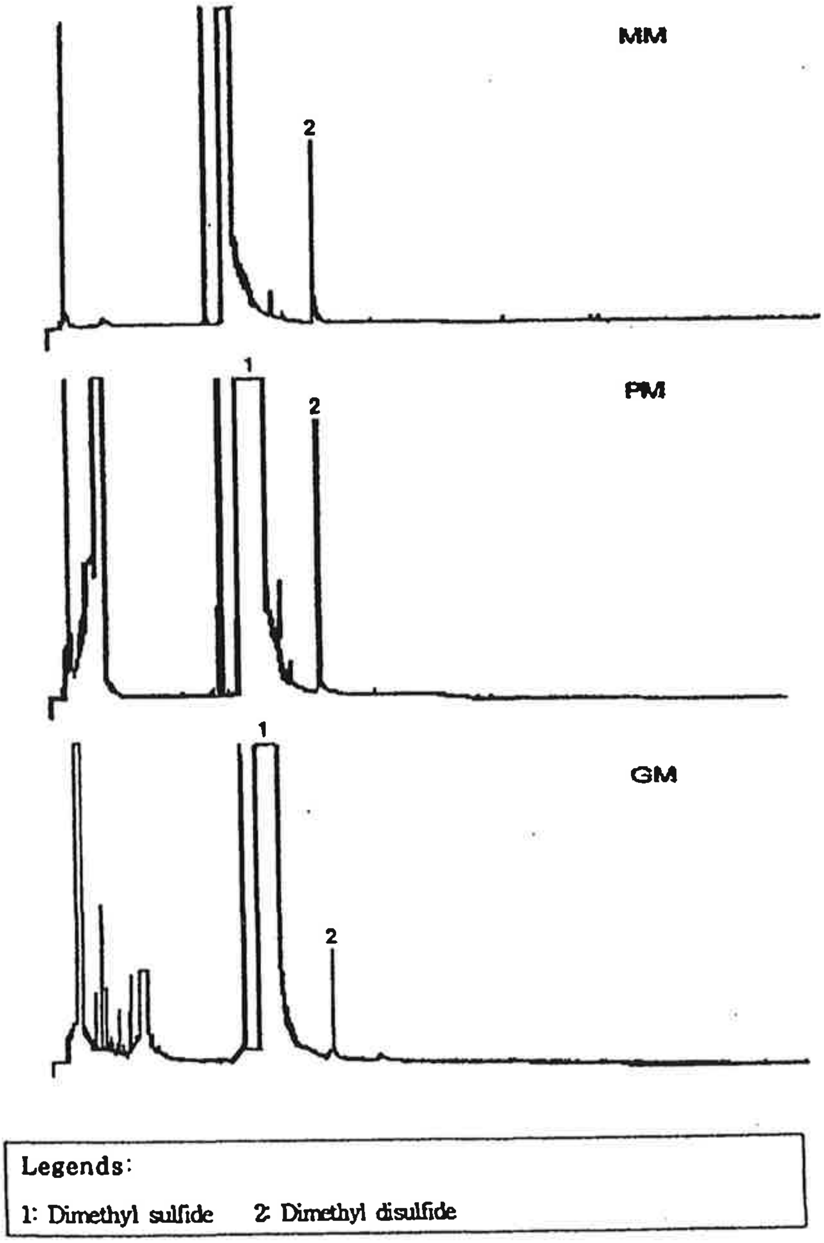


Fig. 2-41. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 1 day

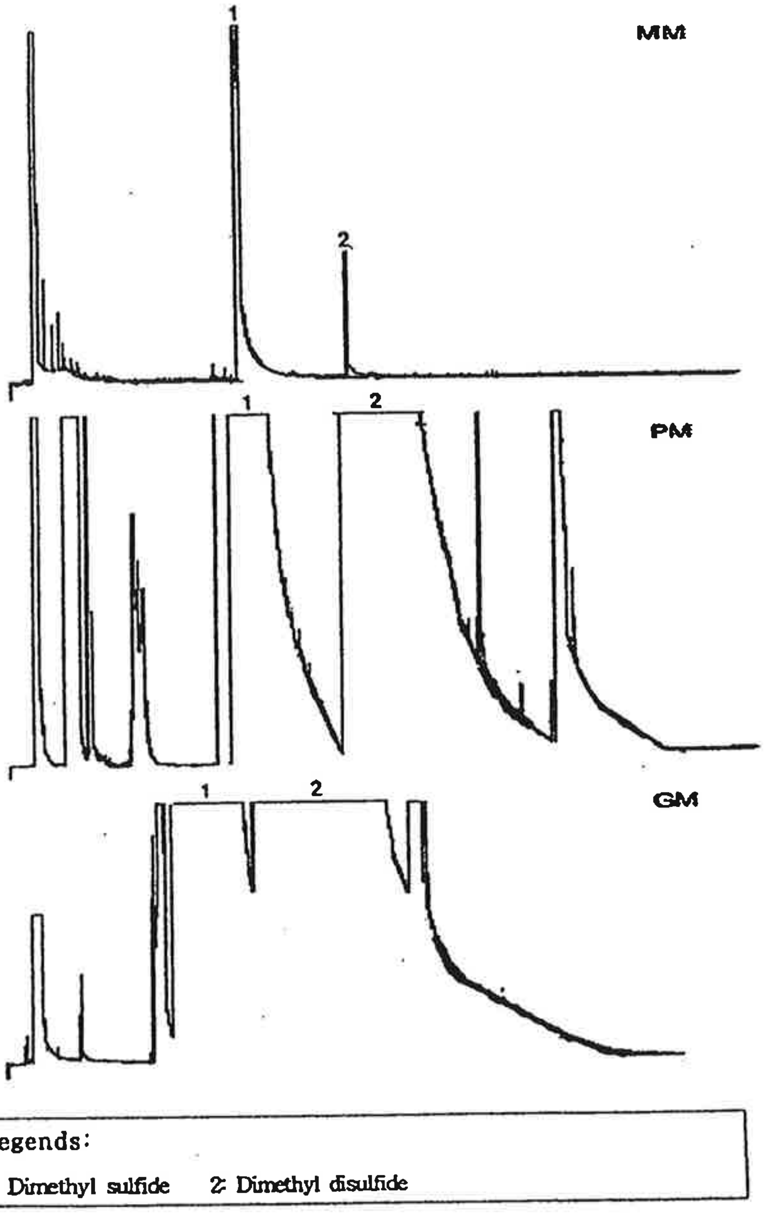
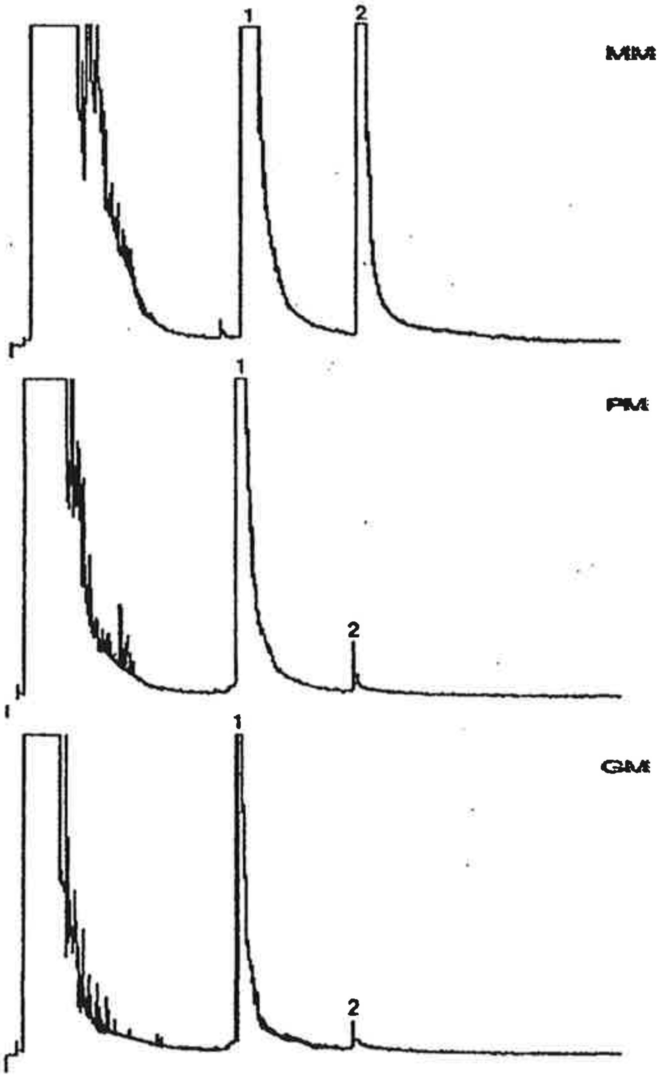
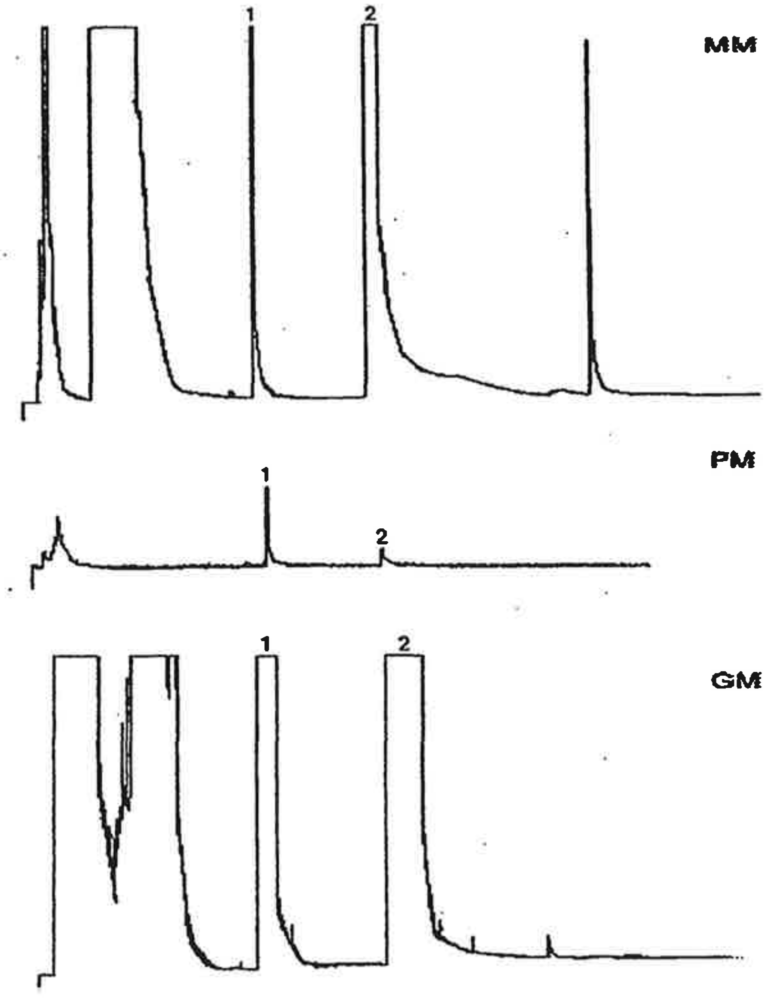


Fig. 2-42. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 3 days



Legends:	
1: Dimethyl sulfide	2: Dimethyl disulfide

Fig. 2-43. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 7 days



Legends:

1: Dimethyl sulfide   2: Dimethyl disulfide

Fig. 2-44. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 14 days

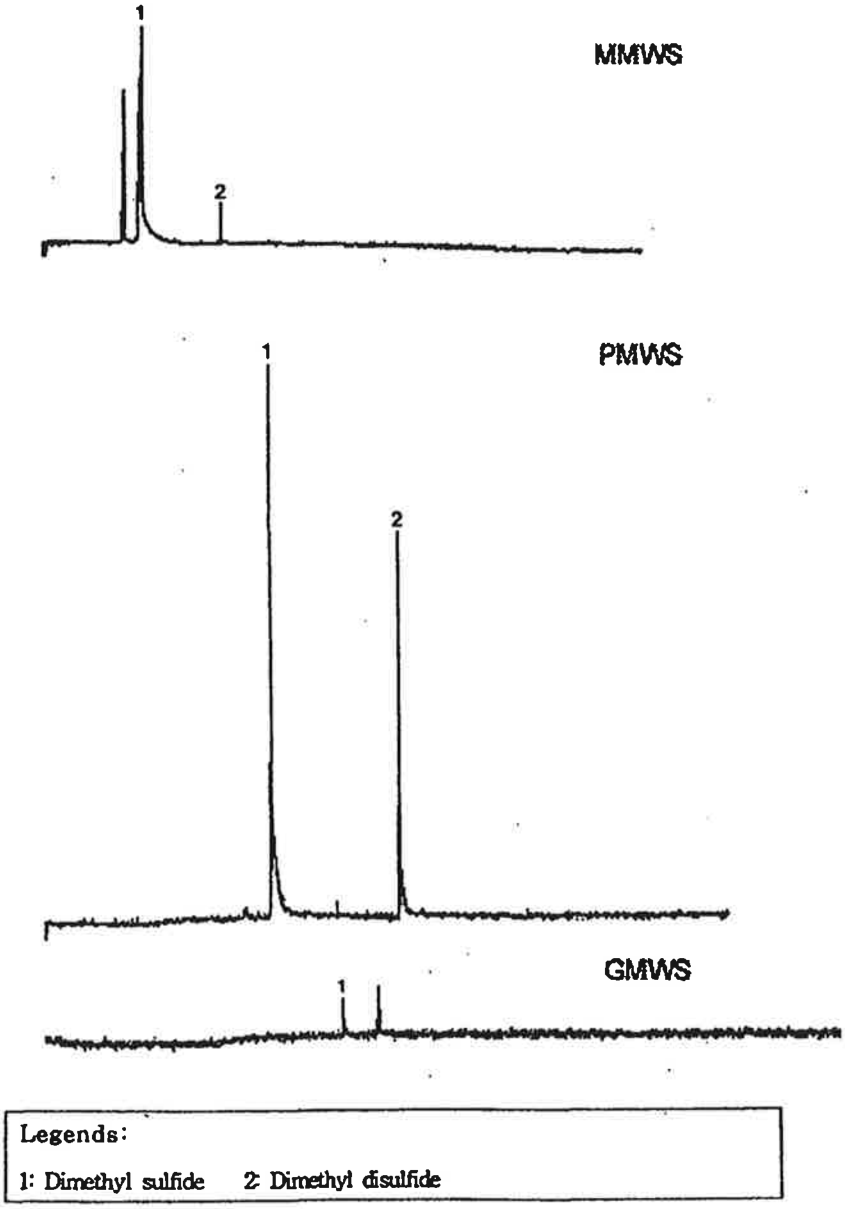
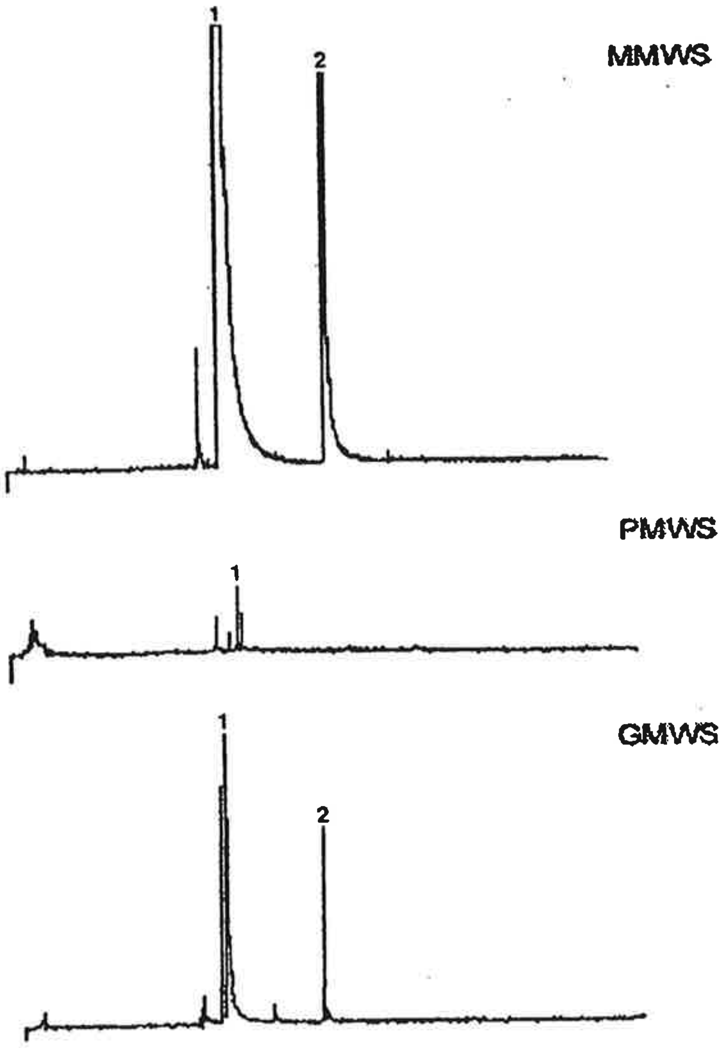
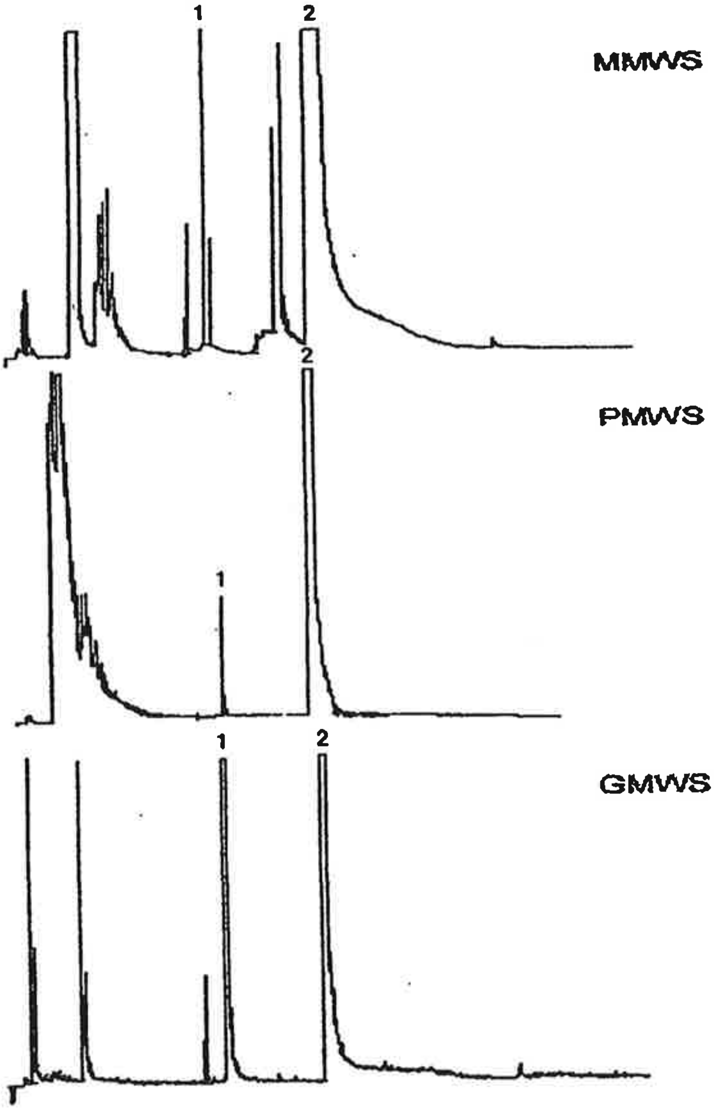


Fig. 2-45. Sulfonic VOC profile of water soluble manures stored 1 day



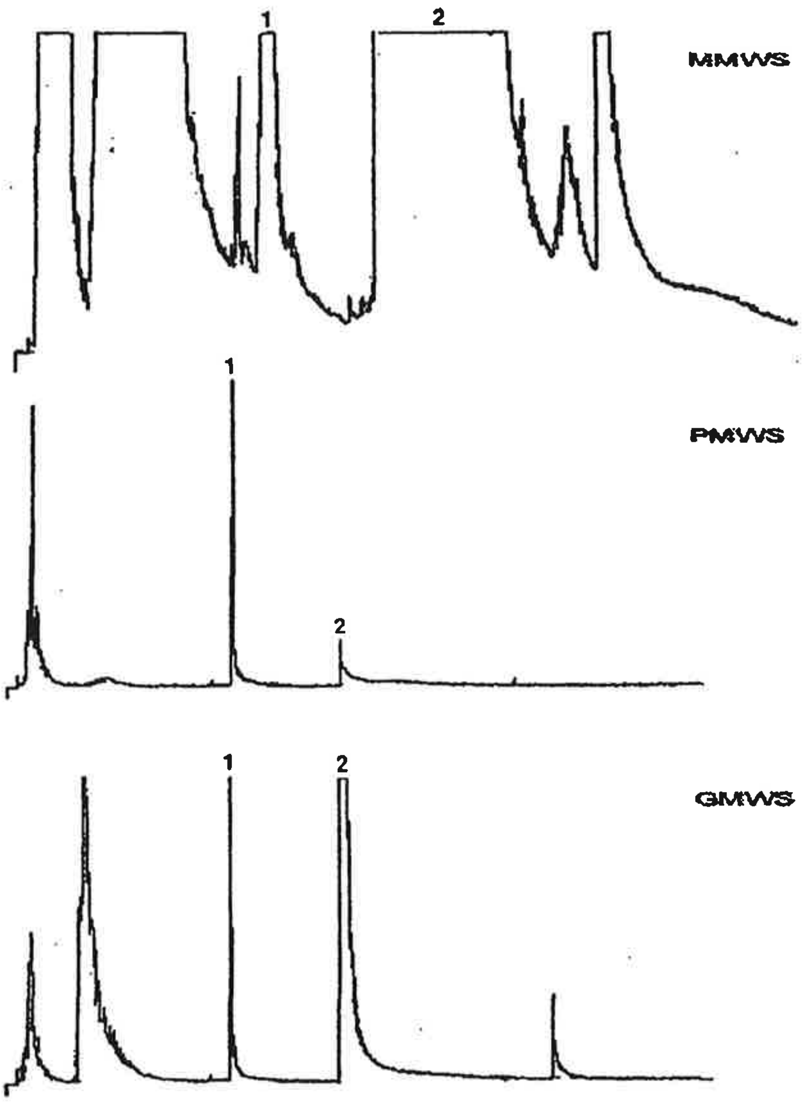
Legends:
1: Dimethyl sulfide   2: Dimethyl disulfide

Fig 2-46. Sulfonic VOC profile of water soluble manures stored 3 days



Legends:
1: Dimethyl sulfide 2: Dimethyl disulfide

Fig. 2-47. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 7 days



Legends:

1: Dimethyl sulfide 2: Dimethyl disulfide

Fig. 2-48. Sulfonic VOC profile of swine manures stored 14 days

4. 요　　약

돈분뇨에서의 악취를 일으키는 원인물질을 규명하고 도라지와 인삼부산물에서 추출한 식물성 steroid의 악취저감효과를 알아보고자 본 실험을 수행하였다.

돈분뇨에서의 악취를 일으키는 물질을 규명하고자 H_2O와 50% ethanol로 분획하여 수용성과 불용성으로 돈분을 분리하여 각 처리별 돈분뇨에서의 후각인지 측정을 통한 odor intensity를 분석하였고, 별도 제작한 흡착관을 이용하여 GC와 GC Mass에서 악취유발 VOC 물질을 탐색하고자 하였다. 또한 도라지(PGR) 와 인삼부산물박(GB)의 saponin 함량을 분석하고 PGR 와 GB 1%를 각각 돈분에 첨가하여 밀봉한후 1일, 3일, 7일, 14일 동안 실온에 방치한후 악취감소 정도를 상기 방법으로 평가하였다.

1. 돈분뇨를 원심분리하였을 때 상층액의 악취강도가 하층액보다 odor intensity가 강하게 나타났으며, 희석배율이 일정수준까지 증가할 때 odor intensity가 증가하는 경향을 보여 주요 악취성분이 수용성임을 나타내었다.

2. 후각분석에 의한 돈분 분획의 odor intensity는 방치초기에는 수용성 분획내에서 상대적으로 강하였으며 14일 경과후에는 비수용성 분획에서도 그 강도가 높아졌다.

3. 돈분의 에탄올 분획에서의 odor intensity는 비용해성 분획에서의 강도가 용해성 분획에 비하여 상대적으로 강한 것으로 나타나 악취성분이 50% ethanol에 의하여 일부 파괴됨을 보여주었다.

4. PGR 1% 또는 GB 1%를 처리한 분뇨의 경우 7일, 14일이 경과되면서 각각 odor intensity와 VOC 함량이 감소되는 경향을 나타내었다.

5. GC Mass 분석결과 악취를 일으키는 VOC로는 dimethyl sulfide, methyl chloride, 2-methyl pentane, 3-methyl pentane, dimethyl disulfide, 2-methyl hexane, heptane, toluene, acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 등이 검출되었다.

6. VOC 물질중 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene 같은 탄화수소계열 화합물과 dimethyl sulfide, dimeythyl disulfide 같은 황화합물 등 악취강도가 높은 물질이 PGR 1%, GB 1%를 첨가한 돈분구에서 감소하였다.

결론적으로 돈분의 휘발성 물질중 주요 악취원인물질은 acetic acid, ethyl benzene, p-xylene, styrene, o-xylene의 탄화수소계열 화합물과 dimethyl sulfide, dimeythyl disulfide의 황화합물로 판단되어진다. 또한 식물성 steroid의 일종인 saponin이 함유된 PGR과 GB를 down stream 과정에서 돈분내 첨가할 경우 악취저감 효과가 있는 것으로 평가되었다.

5. 참 고 문 헌

Amon,M., Dobeic,M., Misselbrook,T.H., Pain,B.F., Phillips,V.R. and Sneath, R.W. 1995. A farm scale study on the use of De-Odorase® for reducing odour and ammonia emmissions from intensive fattening piggeries. Biores. Tech. 51 : 163-169

Austin,R.L., Steven,J.M. and William,J.T. 1988. Rapid direct extraction derivatization method for the determination of acylglycerol lipids in selected sample matrices. J. Food Scien. 53(3) : 940-946

Banwart,W.L. and Bremner,J.M. 1975. Formation of volatile sulfur compounds by microbial decomposition of sulfur containing amino acids in soils. Soil. Biol. Biochem. 7 : 359-364

Barth,C.L., Hill,D.T, Polkowski,L.B. 1974. Correlating odor intensity index and odorous components in stored dairy manure. Trans. Am. Soc. Agric. Engrs. 17 : 742-747

Bell,R.G. 1970. Fatty acid content as a measure of the odour potential of stored liquid polutry manure. Poul. Scien. 49 : 1126-1129

Bethea,R.M. and Narayan, R.S. 1972. Identification of beef cattle feedlot odors. Trans. Am. Soc. Agric. Engrs. 15 : 1135-1137

Burnett,W.E. 1969. Air pollution from animal wastes. Determination of malordors by gas chromatographic and organoleptic techniques. Envirom. Scien. Tech. 3 : 744-750

Day,D.L., Hansen,E.L. and Anderson,S. 1965. Gases and odors in confinement swine buildings. Trans. Am. Soc. Agric. Engrs. 8 : 118-121

Dravnieks,A. 1972. Odor measurement. Environ. Letters, 3 : 81-100

Elliott,L.F. and Travis,T.A. 1973. Detection of carbonyl sulfide and other gases emanating from beef cattle manure. Soil Scien. Soc. Am. Proc. 37 : 700-702.

Hammond,E.G., Heppner,C. and Smith,R.J. 1989. Odors of swine waste lagoons. Agric. Ecosystems and Environment, 25 : 103-110

Hammond,E.G. and Smith,R.J. 1981. Survey of some molecularly dispersed odorous constituents in swine-house air. Iowa state Jour. Res. 55(4) : 393-399

Hammond,E.G., Junk,G.A., Kuczala,P and Kozel,J. 1974. Consituents of swine house odors. *In : Proc. Int. Symp. Livestock Environment.* 364-372

Hartung,J. and Hilliger, H.G. 1980. Odour characterisation in animal houses by gas chromatographic analysis on the basis of low temperature sorption. *In : Effluents from livestock* , Appl. Scien. Pub. London. 561-578

Hartung,L.D., Hammond,E.G. and Miner,J.R. 1971. Identification of carbonyl compounds in a swine building atmosphere. *In : Livestock waste management and Pollution Abatement. Proc. Int. Symp. Livestock Wastes*. Am. Soc. Agric. Engrs., St. Joseph, Michigan. 105-106

Headon,D.R. and Walsh,G. 1993. *Yucca shidigera* extracts and ammonia control. *In : Livestock Environment IV, ed. E.Collins and C.Boon*. Am. Soc. Agric. Engng. St Joseph, Michigan, USA. 686-693

Hilliger,H.G. and Hartung,J. 1978, Geruchsbewertung im stall durch verknuffung von sensorischen und analytischen methoden. Crganische verunreinigungen in der umwelt. 475-482

Hobbs,P.J., Misselbrook,T.H. and Pain,B.F. 1997. Characterisation of odorous compounds and emissions from slurries produced from weaner pigs fed dry feed and liquid diets. J. Scien. Food Agric. 73 : 437-445.

Hobbs,P.J. and Pain,B.F. 1996. Reduction of odorous compounds in fresh pig slurry by dietary control of crude protein. J. Scien. Food Agric. 71 : 508-514

Hobbs,P.J., Misselbrook,T.H. and Pain,B.F. 1995. Assessment of odours from livestock wastes by a photoionization detector, an electronic nose, olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. J. Agric. Engng Res. 60 : 137-144

Janowski,T., Gawlik,J. and Zimnal,S. 1975. Gas chromatographische untersuchungen der stallluft. VDI-Berichte. 226 : 123-126
Kazutaka,K., Takahi,C., Mitihiro,Y., Akane,K. Takako,N. Sigenori,M. and Tomoko,K. 1996. Emissions of malodorous compounds and greenhouse gases from composting swine feces. Biores, Technol. 56 : 265-271

Kemme,P.A., Jongbloed,A.W., Ellaert,E.M. and Krolkraemer,F. 1993. The use of a *Yucca shidigera* extract as 'urease inhibitor' in pig slurry. *In: Nitrogen Flow in Pig Production and Environmental consequences, ed. M.W. A. Verstegen et al.,* Pudoc Scientific Publis. Wageningen, The Netherlands. 330-335.

Klarenbeek,J.V., Jongebreur,A.A, Beumer,S.C.C. 1982. Odour emission in pig fattening sheds. IMAG Report No. 48, Wageningen

Kowalewsky,H.H., Scheu,R. and Vetter,H. 1980. Measurement of odour emissions and immissions. *In : Effluents from livestock.* Applied Science Publishers, London. pp 609-626.

Liao,P.H., Chen,A. and Lo,K.V. 1995. Removal of nitrogen from swine manure wastewater by ammonia stripping. Bioresource Technology 54 : 17-20.

Macrae,R., Robinson,R.K. and Sadler,M.J. 1993. Encyclopedia of food science, food technology and nutrition Vol. 6. Academic Press. San Diego. CA

Mackie,R.I. 1994. Microbial production of odor components. In *Processings of International Round table on Swine Odor Control*, 18-19. Ames, IA : Iowa state University.

Merck. 1996. Merck Index 18th ed. Merck & Co., Inc. N.J. USA.

Merkel,J.A., Hazen,T.E and Miner,J.R. 1969. Identification of gases in a swine confinement building atmosphers. Trans. Am. Soc. Agric. Engrs, 12 : 310-316.

Miner,J.R. and Hazen,T.E. 1969. Ammonia and amines. Components of swine-building odor. Trans. Am. Soc. Agric. Engrs., 12 : 772-774.

Miner,J.R., Kelly,M.D. and Anderson,A.W. 1975. Identification and measurement of volatile compounds within a swine building and measurement of ammonia evolution rates from manure-covered surfaces. *In : Managing Livestock Wastes. Proc. 3rd Int. Symp. Livestock Wastes*. Am. Soc. Agric. Engrs., St. Joseph, Michigan, 351-353.

Moncrieff,R.W. 1967. The chemical senses. Leonard Hill, London. pp. 142

Mosier,A.R., Andre,C.E. and Viets,F.G. 1973. Identification of aliphatic amines volatized from cattle feedyard. Environm. Sci.

Techn., 7 : 642-644

O'Neill,D.H. and Phillips,V.R. 1992. A review of the control of odour nisance from livestock buildings:Part 3, properties of the odorous substances which have been identified in livestock wastes on in the air around them. Journal of Agricultural Engineering Research 53 : 23-50

Schaefer,J. 1977. Sampling, characterization and analysis of malodours. Agriculture and Environment, 3 : 121-127

Schaefer,J., Bemelmans,J.M.H. and Ten Over de Brauw,M.C. 1974. Onderzoek naar de voor de stank van varkensmesterijen verantwoordelijke componeten. Landbouwk. Tijdschr., 86 : 228-232

Schreier,P. 1975. Gas chromatographishce massenspectrometrische Untersuchungen von Geruchstoffen aus der Tierhaltung. VDI-Berichte, 226 : 127-130

Soon-Il,Y. and Yoshiyuki,O. 1997. Some physiological properties of microorganics capable of deodorizing farm animal feces. Biores. Technol. 21-26

Spoelstra,S.F. 1980. Origin of objectionable odorous components in piggery wastes and the possibility of applying indicator components for studying odour development. Agric. and Envir. 5(3) : 241-260

Spoelstra,S.F. 1977. Simple phenols and indoles in anaerobically stored piggery wasters. J. Sci. of Food and Agric. 28 : 415-423

Williams,A.G. 1984. Indicators of piggery slurry odour offensiveness. Agric. Wastes 10 : 15-36

Williams,A.G. and Evans,M.S. 1981. Storage of piggery slurry. Agicultural Wastes, 3(4) : 311-322

White,R.K., Taiganides,E.P. and Cole,C.D. 1971. Chromatographic identification of malodors from dairy animal waste. *In : Livestock Wastes Management and Pollution Abatement. Proc. Int. Symp. Livestock Wastes*. Am. Soc. Agric. Engrs. St. Joseph, Michigan, pp 110-113

Wu,Z., Sadik,M., Sleiman,F.T., Simas,J.M., Pessarakli,M. and Huber,J.T. 1994. Infulence of yucca extract on ruminal metabolism in cows. J. Anim. Sci. 72 : 1038-1042

Yasuhara,A. and Fuwa,K. 1977. Odor and volatile compounds in liquid swine manure. I. Carboxylic acids and phenols. Bull. Chem. Soc. Japan, 50(3) : 731-733

Zhu,J., Bundy,D.S., Li,X. and Rashid,N.R. 1997. A procedure and its application in evaluating pit additives for odor control. Cana.

Agri. Eng. (3)39 : 207-214

권영진. 1996, 저온농축 기체크로마토그래피를 이용한 대기중 휘발성 유기화합물의 분석. 석사학위논문. 강원대학교

박세호. 1992. 인삼성분이 식품 미생물의 생육 및 대사에 미치는 영향. 박사학위논문. 경희대학교

유효순. 1987. 인삼, 도라지 및 더덕의 화학성분에 관한 연구. 석사학위논문. 숙명여자대학교

전병수, 곽정훈, 유용희, 차장옥, 박홍석. 1996. 효소, 생균 및 유카제의 첨가가 돼지의 성장과 인, 악취성분에 미치는 영향. 한국축산학회지. 38(1) : 52-58

제 3 절 Sarsaponin 및 천연항생물질의 상용화 기술 개발

1. 서 론

가축사료에 첨가하여 분뇨악취제어나 성장촉진, 질병예방 등의 기능성을 가지는 물질들은 우선 그 성분이 안정한 물질이어야 하며 사료제조과정에서 가공성을 가져야 한다. 본 과제를 통하여 사료용 첨가물질로서 크게 분취제어 첨가물질, 천연항균 기능물질, 분취제어 + 천연항균기능 복합첨가제 등 3종을 개발하였다.

사료용 첨가물이 가져야하는 물성적 구비요건은 ①배합성, ②보존성, ③운반성, ④내열성 등이 있다. 그 중에서도 원료물질의 배합성능이 가장 중요한데 배합성능을 향상시키기 위해서는 물질의 특성상 배합사료와 같은 고체가 유리하며, 고체인 경우 전자성, 흡습성을 갖지 않는 일정한 (uniform) 크기의 분말상(mash)을 유지하는 것이 중요하다.

뿐만아니라 가루상 물질이 전성이나 흡습성을 갖지 않도록 하기 위해서는 특정 분말성분의 불변물성을 바꾸어 줄 수 있는 적절한 부형제 (carrier)가 필요하다. 일반적으로 사료첨가제의 입자크기는 작은 것이 배합성에서 유리한 것으로 알려져 있으며 또한 일정한 크기를 갖는 것이 바람직하다.

사료 제조과정 중에는 steam을 통한 간접 열처리, 그 외 전기, 연료연소 및 마찰열 등을 이용한 다양한 열처리가 응용되고 있다.

일반적으로 사료첨가성분의 경우 내열성을 갖는 것이 바람직한데 열에 약한 물질의 경우 열처리공정 이후에 배합사료에 첨가해주어야 하는 번거로움이 있다. 내열성이 약한 물질인 경우 일부의 부형제와의 혼합, 내열

성 물질에 의한 외부 코팅(coating), 열처리온도, 시간, 압력의 조절 등을 통하여 특정 성분을 열에 의한 파괴로부터 보존 할 수 있으나 그 효과가 미지수이고 또한 비용도 많이 소요되는 단점이 있다. 따라서 가장 바람직한 방법은 내열성 물질을 선택하여 특정 첨가물질을 제조하는 것이 가장 현실적인 접근방법이라 하겠다.

사료용 첨가물이 최종적으로 가져야 할 특성은 첨가효과가 우수하여야 한다는 점이다. 특히 본시험에서 개발된 분취억제물질의 경우 배합사료에의 단순첨가란 편리한 점을 가지고 있으나 실제 분뇨악취원인 물질을 얼마만큼 줄일 수 있느냐가 가장 중요한 평가사항이 될 것이다.

분뇨의 악취뿐 아니라 대부분의 악취는 특정 목적성분, 즉 악취 원인물질이 다양할수록 단일악취성분만의 화학적 감소와 오감에 의한 악취인식과 상당한 차이가 있게된다. 따라서 악취 감소를 오감에 의해 평가하는 방법이 포괄적이면서도 가장 현실적 접근방법이 될 수 있으나 이 역시 객관적인 자료를 얻을 수 없다는 단점을 가지고 있다.

따라서 본 시험에서는 돈분내 악취원인물질을 크게 세분화하여 자극성물질인 NH_3, 독특한 잔존 악취원인물질인 H_2S 그리고 이들 복합성분의 총체적 악취발현량을 의미하는 VOC(Volatile organic compounds)로 나누어 악취정도를 평가하였다.

결국 본 시험에서는 개발된 사료첨가용 악취제어제(deodorizer : deodo)와 복합첨가제(complex feed supplement : deodo-pro)를 돼지 사료에 첨가하여 급여 후 배출되는 돈분의 악취발현 저감정도를 평가하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험설계

(1) 분취억제제와 propolis 천연항생제의 복합첨가제 급여에 따른 분취제어 실험은 춘천시 우두동 소재 정진농장에서 1999년 7월 5일에서 9월 2일

까지의 60일간의 실험기간 중 2주와 4주차에 각 돈방에서 신선분을 채취해 분석하였다. 시험에 사용된 돼지는 삼원교잡종(L*Y*D)이었으며 control, low complex 그리고 high complex로 나누어 완전임의 배치하여 실시하였다.

(2) 분취억제제의 투여에 따른 분취제어 실험은 춘천시 강촌소재 양돈농가에서 1999년 10월 15일부터 11월 13일까지의 30일간의 실험기간 중 시험개시 2주와 4주차에서 각 돈방의 신선분을 채취해 분석하였고, 시험동물은 사원교잡종(D*H*L*Y)을 대상으로 control, DC-50 그리고 DC-100급여구로 나누어 완전임의 배치하여 실시하였다.

나. 분석실험

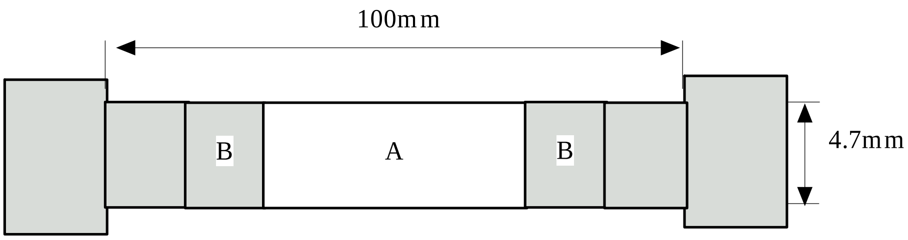
(1) 복합첨가제 급여시험에서는 NH_3 발생량과 VOC를 측정하였고 분취억제제 시험에서는 NH_3와 H_2S의 발생량을 측정하였다.

(2) NH_3 및 H_2S의측정

분발생 가스의 측정은 Komyo사에서 제작된 kitagawa precision gas detectors를 사용하였고, 채집한 신선분을 250㎖의 유리병에 분 50g과 물 50㎖를 혼합하여 밀폐시킨 후 25℃의 항온기에서 방치한 후 발생 1일과 3일로 나누어 NH_3와 H_2S의 발생량을 측정하였다.

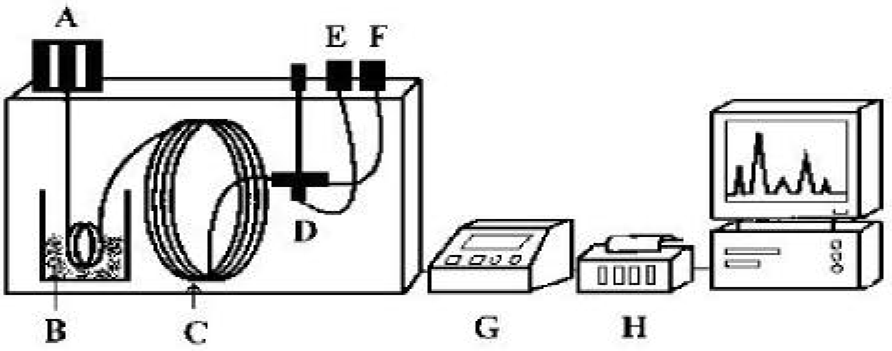
(3) 흡착관을 이용한 VOC(Volatile organic compounds) 분석

VOC 분석 실험은 강원대학교 환경학과 대기분석실험실과 공동실험실습관에서 실시하였다. VOC 분석을 위해 흡착관을 제작하였는데 사용할 흡착관은 fig. 2-49와 같이 길이 100㎜, 내경 4.7㎜, 외경 6.45㎜인 스테인레스관에 0.5g의 Tenax-GR(60/80mesh)을 충진한후 양면을 frit으로 막아 제



A: Tenax GR(60/80mesh)　　B: Frit

Fig. 2-49. Schematic diagram of 100mm adsorption tube



A: Thermal desorption　B: Liquid N2　C: Stainless column　D: Outlet splitter　E: FPD　F: FID　G: Electronic pressure control　H: Integrator

Fig. 2-50. Schematic diagram of on-column cryofocusing gas chromatography system

작하였다. Column은 저온농축관으로 stainless steel capillary column(UA5, Frontier Lab 30m×0.25mm, 0.3㎛)을 사용하였다.

VOC의 분석은 fig. 2-50과 같은 방법으로 실험하였다. 시료를 스테인레스관으로 채취한후 200℃ 가열블럭에서 열탈착시켰고 열탈착된 시료는 UA5 column으로 이동하여 직접 -196℃의 액체질소로 8분간 저온농축시켰다. 농축된 시료는 outlet splitter에 의해 유량비가 1:3으로 조절된 dual detector system으로 이동하여 flame ionization detector(FID)에서 탄화수소, flame photometric detector(FPD)에서는 황화합물을 동시에 검출하였다.

(4) 통계처리

본 시험에서 얻어진 모든 자료는 SAS프로그램 (1989) 을 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리 평균간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법 (Snedecor와 Cochran, 1980) 을 이용하였다.

다. 첨가제의 물성평가

개발된 사료첨가제의 사료첨가시 배합, 열처리저항성 등을 개선하기 위하여 첨가제 원료, 또는 혼합 첨가물의 물성을 평가하여 기초자료로 활용하였다.

(1) 입자도(particle size)

Ro-Tap testing sieve shaker를 이용하여 첨가제와 원료의 평균입자도를 측정하였고 각 시료별 shaking time은 5분으로 하였고 사용된 sieve는 U.S. standard testing sieve로 NO. 14, 45, 80, 100, 140, 170의 크기였다.

(2) Caking action

Propolis의 caking 현상을 억제하기 위하여 부형제를 첨가후 분쇄하여 부형제 별로 첨가비율에 따른 cake 재형성 정도를 평가하였다. cake 재형성의 유무는 분쇄 혼성물을 실온에 24시간 방치후 표층의 cake 형성 유무

로 판단하였다.

(3) 혼합성(mixability)

개발된 첨가제를 배합사료에 혼합후 chloride ion test(Quantab)를 통하여 혼합정도를 평가하였으며 CV 10 이하를 혼합능력 우수로 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

Saponin과 propolis 복합제와 saponin 복합제에서의 NH_3의 발생량을 보면 대체적으로 control구보다 개선된 결과를 보이고 있으며 saponin 복합제를 급여한 실험에서는 control구와 비교시 유의적 차이($P<0.05$)를 보이며 개선된 결과를 보이고 있다.

먼저 saponin과 propolis의 복합첨가제 실험을 살펴보면 2주차실험에서 1일째 NH_3의 발생량은 대조구에서보다 복합제 첨가구에서 오히려 높은 발생량을 보이고 있다. 그러나 3일째에서는 대조구나 저수준복합제 첨가구에서 NH_3의 발생량이 증가한데 반해 고수준복합제 첨가구에서는 발생량이 줄어들어 시간이 지나면서 대조구보다 낮은 NH_3발생을 보이는 것으로 판단된다.

4주차 실험에는 2주차 실험때와는 달리 대조구에서보다 복합제 첨가구에서 낮은 NH3 발생량을 보였으나, 통계적으로 유의차가 인정되지는 않았다. 3일 경과시에서도 대조구보다 복합제 첨가구에서 발생량이 현저하게 줄어든 결과를 보이고 있는데 역시 유의차가 인정되지는 않았다. 이것은 각각의 sample에서 변이차가 이상하게 크게 나타난 데서 기인하는데 그 원인을 명확히 판단할 수는 없지만 돈분의 신선도차이, NH3 측정시 밀봉정도에서 그 원인이 발생한 것으로 추측된다.

Table 2-13. Effect of complexed mixture addition on ammonia gas emission from feces (unit : ppm)

Sampling week	Duration	Control	Low-complex	High-complex
2nd	1day	0.95±0.19b	1.43±0.38a	1.12±0.25ab
	3days	1.16±0.40	1.62±0.48	1.06±0.36
4nd	1day	0.53±0.46	0.48±0.50	0.43±0.46
	3days	0.50±0.35	0.18±0.17	0.20±0.14

* Value with different superscript differ($P<0.05$)

Table 2-14. VOC profiles of swine manure stored 1day

VOCs	Elution area(mv.sec)	
	Low complex	High complex
Dimethyl sulfide	792.2	681.5
Methyl chloride	832.7	-
2-Methyl pentane	390.4	11.7
2-Methyl hexane	958.9	568.2
Dimethyl disulfide	462.3	363.3
Acetic acid	91.7	-
p-Xylene	65.3	-

Table 2-15. VOC profiles of swine manure stored 3days

VOCs	Elution area(mv.sec)	
	Low complex	High complex
Dimethyl sulfide	771.7	574.3
Methyl chloride	667.6	162.2
2-Methyl pentane	357.8	29.9
2-Methyl hexane	1082.4	557.3
Dimethyl disulfide	534.4	1132.6
Acetic acid	82.6	80.0
p-Xylene	63.8	41.9

Flame ionization detector(FID)에 의해 검출된 주로 탄화수소계열의 VOC와 flame photometric detector(FPD)에 의하여 검출된 VOC로 S-함유 휘발성 유기물이다. VOC 화합물중 가장 많이 존재하는 물질은 dimethyl sulfide, demethyl disulfide, methyl chloride로 다량 함유되어 있음을 알 수 있다.

이런 화합물은 시간이 경과함에 따라 대조구에서는 측정치가 높아지는 반면 low-complex와 high-complex를 첨가한 구에서는 수치가 감소함을 보여주고 있다. 또한 low-complex를 첨가한 구보다 high-complex를 첨가한 구에서 측정한 VOC 화합물의 수치가 상대적으로 낮아짐을 알 수 있다. 따라서 high-complex는 deodorase로서의 기능을 가지고 있다고 판단되어진다.

악취제어제 복합제의 양돈분취실험에서 NH_3의 발생 결과는 Table 2-16에 나타나있다.

Table 2-16. Emissive NH3 Content in the fecal sample (unit : ppm)

Week	Duration	Control	DO-50	DO-100
2nd	1day	0.53±0.05b	0.53±0.05b	0.90±0.27a
	3days	0.28±0.05a	0.13±0.05b	0.13±0.10b
4th	1day	0.65±0.13a	0.33±0.13b	0.30±0.08b
	3days	1.15±0.26a	0.15±0.13b	0.20±0.14b

분중 NH_3의 발생량은 실험개시 2주차 채취분의 방치 1일후 측정치에서만 DO-100처리구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 결과가 나타났고 2주차 3일과 4주차 1일과 3일에서는 DO-50과 DO-100처리구가 대조구보다 유의적으로 낮은 NH3 발생량을 나타냈다. 따라서 본 실험에 첨가된 복합제가 양돈분뇨에서 NH_3의 발생을 어느 정도 억제할 수 있는 능력이 있다고 판단된다. 각 처리별 H_2S의 발생량은 다음 Table 2-17과 같다.

Table 2-17. Emissive H_2S Content in the fecal sample (unit : ppm)

Week	Duration	Control	DO-50	DO-100
2nd	1day	17.25±3.30	14.00±3.37	14.75±2.75
	3days	250↑	250↑	250↑
4th	1day	12.75±2.22	10.25±2.22	12.75±1.71
	3days	250↑	250↑	250↑

분중 H_2S는 DO-50과 DO-100 처리구에서 대조구보다 약간 적은 발생량을 보였지만 전 처리구에서 유의성이 나타나지 않았다. 그리고 2주차와 4주차의 3일 경과후 H_2S의 발생량은 모든 처리구에서 250ppm 이상이 검측되었는데, 이는 분발생 1일후의 측정량과는 매우 상이한 측정치이다. 따라서 H_2S는 분발생후 시간이 경과함에 따라 분중에서 기체상태로의 발생량이 급격히 증가된다고 판단된다.

Table 2-18. Particle size analysis of feed mixture, complex with propolis and sole complex

	Feed mixture	Complex + pro	Complex
Dgw	839	227	82
Sgw	2.16	2.56	2.05
SA	73.0	312.5	714.8
P/G	18785	3518294	13699433

Dgw : Particle size(㎛)　　　Sgw : Standard Dev

SA : Surface area(㎠/gram)　　P/G : Particles/gram

시험에 사용된 사료 및 복합제의 입자도는 table 2-18과 같다. 사료의 평균입자도는 839㎛이었으며 83.93%가 350㎛ 이상의 크기였고 gram 당 표면적은 73㎠, 그리고 gram 당 입자수는 18785개였다. 분취억제제와 propolis의 혼합제의 평균입자도는 227㎛였으며 350㎛에서 88㎛이하까지 고른 분포를 나타내었고 gram 당 표면적은 312.5㎠, 그리고 gram 당 입자수는 3518294개로 측정되었다. 분취억제제의 평균입자도는 82㎛로 아주 고운 입자를 나타냈으며 본 실험에 사용된 최소 크기의 sieve가 88㎛였는데 측정시 88㎛ 이하에 73.13%를 나타내어 실제 평균입자도는 82㎛보다 훨씬 작은 크기라고 추정된다. 분취억제제의 gram 당 표면적은714.8㎠이었고 gram 당 입자수는 13699433개로 측정되었다.

분쇄된 propolis의 결착을 방지하기 위해 table 2-19에서와 같은 몇몇 부형제(carrier)와 혼합한 결과 silica와 pro:silica가 4:1 수준에서도 propolis의 결착 기능이 전혀 발현되지 않는 가장 좋은 결착방지효과를 보였으나 동물사료에 silica의 사용이 안전하지 못하다는 문제점이 있다. 그 외에 zeolite 와 propolis의 혼합시 pro:zeolite가 2:1 수준에서도 안정한 상태를 보였고 규조토나 옥분과의 혼합시에는 대체적으로 불안정한

결과를 나타내었으며 질석과는 1:1수준에서 결착이 형성되지 않는 결과를 나타내었다.

Table 2-19. Caking index of propolis complex

Item / Pro : Add	Zeolite	Silica	규조토	옥분	질석
1 : 1	A	A	B	B	A
2 : 1	A	A	B	B	B
3 : 1	C	A	C	C	C
4 : 1	C	A	C	C	C

A : No caking

B : Moderate caking

C : Extreme caking

시험사료 제작시 각 처리별 사료의 배합효율은 table 2-20에서 처럼 모든 처리구에서 CV 값이 10%이하로 양호한 배합수준을 보였다.

Table 2-20. Mixing efficiency

	Low-complex	High-complex	DO-50	DO-100
CV(%)	7.13±0.04	6.95±0.02	6.88±0.05	6.78±0.08

4. 요 약

가. 개발된 분취억제제와 분취억제+propolis 복합첨가제 모두 내열성 및

배합 능력이 우수하여 사료첨가제로서 문제가 없었다.

나. 분취억제제와 propolis의 복합첨가제 급여시 NH_3의 발생량은 2주차에서는 대조구에 비해 개선결과가 없었으나 4주차에서는 유의적 차이는 보이지 않았지만 복합제 첨가시 전체적으로 개선되는 결과를 나타내었다.

다. 분취억제제 급여시 분중 NH_3는 복합악취제어제를 0.7%와 1.4% 첨가시 유의적으로 발생량이 낮아져 복합제가 암모니아의 발생량을 50 80% 제어할 수 있는 결과를 보여주었다.

라. 분취억제제 급여시 분중 H_2S의 발생량은 복합제를 0.7%와 1.4% 첨가시 모두 대조구에 비해 다소 감소되는 경향을 보였으나 유의적인 감소효과는 없는 것으로 판단되었다.

마. 분취억제제+propolis의 복합첨가제와 분취억제제를 비교해 보면 대체적으로 분취억제제 단독투여가 분취제어에 영향하는 효과가 크게 나타나고 있다. 그러나 분취억제제와 propolis가 서로 가역적으로 분취제어에 영향하는지는 판단할 수 없었다.

바. 분취억제제+propolis실험에서 VOC의 측정결과 시간경과에 따라 VOC의 발생량이 대조구에서는 증가하는반면 Low 및 High-complex에서는 감소하는 결과를 보여 어느정도 분취억제제로서의 기능이 있다고 판단되었다.

사. 입자도 분석결과 사료의 평균 입자도는 839㎛, 분취억제제와 propolis

의 복합첨가제는 227㎛ 그리고 분취억제제는 82㎛의 크기를 보였으며, 배 합효율은 전 시험사료에서 CV 10이하로 양호한 배합효율을 보였다.

아. Cake 형성 방지를 위한 부형제의 첨가는 silica가 가장 우수한 결과를 보였으나 동물사료에 적용시 결과가 미지수이며 zeolite의 첨가시 cake 형성방지효과가 2:1 수준까지 우수한 것으로 측정되었다.

5. 참고문헌

Crober, D. 1991. Effect of De-odorase on ammonial levels in a deep pit cage layer house. P. 367-368. *In* T. P. Lyons(ed.), Biotechnology in the feed industry. Alltech, Inc., Nicholasville, Ky.

Giesy, R. G., B. Harris, Jr., J. G. Giesy and H. H. Van Horn, Jr. 1992. Effectiveness of De-odorase in reducing ammonia levels in daily barns during summer months, P. 16-18. *In* T. P. Lyons(ed.), Biotechnology in the feed industry. Alltech, Inc., Nicholasville, Ky.

Headon, D. R., K. Buggle., A. Nelson and G. Killeeen. 1991. Glycofractions of the yucca plant and their role in ammonia control, P. 95-108. *In* T. P. Lyons(ed.), Biotechnology in the feed industry. Alltech, Inc., Nicholasville, Ky.

Jeon, B. S., J. H. Kwag., Y. H. Yoo., J. C. Cha and H. S. Park. 1996. Effect of feeding Enzymes, Probiotics or Yucca Powder on pig

Growth and Odor-Generating Substances in Feces. K. J. Anim. Sci. 38(1):52-58.

Standefer, S. 1992. Biofiltration a new technology to minimize VOC and odor emissions. PPC Biofilter. long view. TX.

Tanaka, H., Kuroda, K. and Yonaga, M. 1992. Biological removal of VFA from animal waste. J. Anim. Sci. Technol,(Jpn). 63(1):54

제 3 장 천연항생물질 propolis 및 악취제어 물질의 동물평가 시험

제 1 절 Propolis 및 유카추출물의 급여가 부로일러의 생산성에 미치는 영향

1. 서 론

가축의 생산성 향상을 위하여 사용되는 사료첨가제는 항생물질, 효소제, 효모제 및 생균제 등을 들 수 있으며 그 중 항생물질이 가장 먼저 실용화되었다. 그러나 항생물질을 계속 사용하게 되면 내성균이 증가하여 항생물질의 첨가효과가 떨어질 뿐만 아니라 축산물내에 잔류하게 되어(Smith, 1962; Smith, 1975) 이를 섭취한 사람에게도 해롭기 때문에 항생물질 대체용으로 각종 활성제가 사료첨가제로 널리 사용되고 있는 실정이다.

활성물질로서는 효소제, 효모제 및 생균제 등이 있으며 활성제는 장내 세균총의 변화를 유도하여 유해세균의 감소, 발육억제와 각종 독성물질의 합성을 방지하는 등 가축의 성장과 사료효율에 개선효과가 있다(Alder와 Damassa, 1980; Barrow, 1992). 최근에는 이들 물질이외에 축사내 환경오염에 대한 관심이 높아지면서 가축의 생산성 개선제로서 생리활성제 등 환경친화형 사료첨가제에 대한 사용이 급증하고 있다. 축사환경을 개선하여 생산성향상을 위해서 유카추출물등의 활성제를 첨가하는 방법 등도 적용되고 있다.

유카추출물의 주성분은 saponin으로서 장내에서 암모니아 농도를 조절하는 것으로서 요소분해 효소인 urease-activity를 억제시켜(Preston 등, 1987) 가축에게 급여시 분에서 발생하는 암모니아 및 유독가스 발생을 억제하여 축사환경개선을 시켜 생산성이 향상된다고 보고하고 있다(Goodall

과 Matsushine, 1978). Russell(1984)은 양계사료에 유카추출물을 급여할 때 생산성의 향상을 보고하였고, Johnston 등(1981)도 육계에서 증체량 및 사료효율의 개선효과를 Rowland와 Plyer(1976)은 산란계에서 산란율의 증가와 계사내 암모니아 농도가 감소하였고, Cromwell 등(1985)도 이유 자돈에 급여시 성장률이 향상되었다고 보고하고 있다.

이와 같이 항생물질이 아닌 비항생제적인 물질 즉 활성제 등의 사용효과가 검증되어 그 사용량은 점차 늘어나고 있으며 이들 제제에 대한 관심도 높아가고 있는 실정이다.

한편, 가축에게 급여시 내성과 축산물내에 잔류성 문제가 없이 사용할 수 있는 천연항생물질인 propolis에 대한 관심도 높아지고 있다.

propolis는 꿀벌 자신이 생산하는 밀랍과 식물 표피에서 수집한 점성의 수지상 물질에 화분입자가 혼합된 혼합물이다. propolis는 소상의 반경 5㎞ 내의 여러 수목들의 잎이나 생장점을 보호하기 위해서 분비되는 물질과 나무의 껍질 등이 벗겨져 상처가 난 곳을 오염으로 예방하고 미생물의 침입을 막기 위해서 수지 등을 모아들인 것으로서(Meyer, 1956; Cattorini, 1963), propolis의 조성은 소상 근처의 식물 종류에 따라서 달라지게 된다.

일반적으로 꿀벌이 혼합하는 밀랍의 량은 propolis 원료를 채취할 때나 소상내에서 가공할 때의 기온에 의해서도 달라진다. 열대지방의 경우 식물의 종류가 다양하고 많기 때문에 원료가 되는 식물의 선택도 많다. propolis의 성분은 자연과 식물의 종류 등에 따라 달라지나 일반적인 조성은 수지가 40 50%, 밀랍이 20 49%, 휘발성 물질이 10%, 화분이 10%, 기타성분이 5%이하로 구성되어 있고(Ghisalberti, 1979, Konig와 Dustman, 1989), propolis에 함유된 성분은 푸라보노이드, 폴리페놀, 페놀산, 에스테르, 지방산, 아미노산, 탄수화물, 비타민 및 미네랄 등의 물질이 함유되어 있다.

일반적으로 propolis를 꿀벌이 이용하는 것은 소상의 갈라진 곳이나 패

인 곳, 구멍 등을 도포하여 외부로 부터의 침입자를 방지하고 있다. 즉 propolis는 소상내의 갈라진 곳의 간격을 메우는 기능 뿐만아니라 소비 상잔과 상잔사이로 세균, 박테리아 바이러스에 대한 봉군의 방어에 관여하고 있다. 이와 같은 특성은 수지 내에 미생물을 방어하는 물질이 함유되어 있기 때문이다(Harborne, 1982; Swain, 1977). 이러한 약리작용은 고대에서부터 기원전 300년 전에는 피부병이나 감염증의 치료에 사용된 것으로 기록되고 있다. 특히 동유럽을 중심으로 오늘날까지 민간전래의 약으로서 사용되고 있다. 최근 propolis에는 항균, 항농양, 항종양. 암전이억제 등 다양한 작용(Ghisalberti, 1979)을 갖고 있는 것이 보고되고 있다.

Propolis의 주생산원은 포플러, 너도밤나무, 마로니에 소나무, 참나무, 야생밤나무, 자작나무 등의 수종이다. 이들 수목의 생장점, 액아 벗겨진 껍질(상처) 등으로부터 벌들이 수집해 온다. 거기에는 진득 진득한 수지가 흘러 내리고 있으므로 벌들이 화분통에 담아서 귀소한다(Meyer, 1956).

Propolis가 강력한 항생물질로 작용한다고 러시아의 Karimovad(1961) 등이 발표한 이래 propolis의 항균작용에 관하여 Lavie (1960), Kivalkina(1969), Bolshakova(1964), Chernyak(1973) 등이 보고하였으며 최근에는 Ikeno 등 (1994), Matsuno(1992), Metzner 등(1979) 과 Takino와 Mochida(1982) 등의 여러 학자들에 의해서도 항균성에 대한 보고가 지적되고 있다(Ghisalbert, 1979; Lindenfelser, 1979; Lavie, 1978).

그리고 propolis의 항산화효과에 대해서도 Havsteen(1983), Donadien(1987), Scheller 등 (1988), Krol 등 (1990) 이 과산화물 생성 억제 작용으로 propolis에는 활성 산소를 소멸시키는 작용이 있다고 보고하고 있다.

이와 같은 propolis의 특성 때문에 propolis는 피부병, 화상치료제로서(Grochowski 등, 1985), 관절염계 기관절 염증치료제(Christova, 1985)로서, 제암효과가 (Scheller 등, 1988; Matsuno, 1992)있어 암치료제로서,

항산화효과가 있어(Takahama, 등, 1984: Erben-Euss 등, 1987) 육제품 가공시 첨가제로서 이용되고 있다.

이와 같이 propolis에 대한 산업적인 이용이 증가되고 있으며, 더욱이 이들 propolis에 대한 가축용 사료첨가제 또는 치료제로서의 이용가치도 클 것으로 사료된다.

특히, 국내의 경우 이들 propolis에 대한 사료 첨가제로서의 이용효과에 대한 연구가 진행된 바 없어 이들 제제를 보다 효과적으로 이용하기 위한 방안으로써 propolis를 가축사료로 급여할 때 가축의 생산성에 미치는 효과를 규명하는 것도 중요하다.

이와 같이 가축의 생산성 향상과 축사환경 개선을 위한 시도로써 환경친화형 사료첨가제 등에 관한 관심은 더 높아질 것으로 기대되고 있다.
따라서 본 시험은 환경친화형 활성제인 유카추출물과 천연항생물질인 propolis를 사료첨가제로서 급여할 때 부로일러의 생산성과 propolis의 적정급여수준을 분석하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험기간

본 시험은 1997년 3월 15일부터 4월 26일 까지 6주간에 걸쳐 강원대학교 동물자원과학대학 부속 동물사육장에서 사양시험을 실시하였으며, 5월 10일부터 5월 31일 까지 3주간 도체분석 실험을 본 대학 사료자원학 실험실에서 실시하였다.

나. 공시동물

경기도 오산 소재 태영농원에서 부화된 부로일러 에비안을 공시축으로 건강한 병아리 500수를 선발하여, 공시동물로 사용하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의 배치법에 의하여 10처리 5반복으로 총 50개구를 설치하여 구당 10수씩 총 500수를 배치하였다. 공시사료의 배합은 조단백질 함량은 19.5%, 대사에너지 3,150 kcal/kg 로 동일한 수준으로 배합하였으며, 구체적인 사료 배합비는 Table 3-1과 같다. 또한 사용한 첨가제의 첨가량 및 시험구의 배치는 Table 3-2와 같다. Propolis의 추출은 강원대학교 수의학과 면역약리학 실험실에서 보유하고 있는 중국산 봉교를 이용하였다. 각 봉교를 100% ethanol를 용매제로 하여 48시간 동안 용해시켰다. 그 후 이 용액을 Whattman filter paper로 여과하고 rotary evaporator에서 ethanol을 제거 농축시킨 뒤 건조시킨 것을 에탄올 추출 propolis로 사용하였다. 유카추출물은 사포닌 함량 30% 이상 함유된 제제를 사용하였고, 항생물질과 항균제는 현재 국내에서 유통되고 있는 사료첨가제용 제제를 사용하였다.

라. 사양시험

부로일러 사양시험은 본 대학 부속 동물사육장에서 1997년 3월 15일부터 1997년 4월 26일 까지 6주간 실시하였으며, 시험개시 3주간은 전기육추기에서 사육하였고, 그후는 철제 케이지 에서 사육하였다. 시험사료의 급여는 시험기간동안 무제한으로 급여하였고, 물도 자유 섭취토록 하였다. 기타 사양관리는 본 대학 관행법에 의하여 실시하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료 섭취량

사료 섭취량은 매주 1회 일정시간에 잔사를 평량하여 구하였으며, 사

료의 허실량은 가급적 정확도를 기하여 측정하였다.

2) 증체량

시험 개시시부터 매주 1회 일정시간에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시 체중에서 개시시 체중을 감하여 증체량을 구하였다.

3) 사료 요구율

사료 요구율은 시험기간동안 체중증가에 소요된 사료섭취량의 비율로 구하였다.

4) Abdominal fat pad 및 도체분석

사양시험 종료와 동시에 각 시험구에서 임의로 각각 4수씩 선발하여 도살하여 털을 제거하고 내장을 제거하는 동시에 좌골내의 근위, 장, 총배설강 및 복부근육 주위에 둘러 쌓여 있는 지방을 취하여 Abdominal fat pad를 측정하였으며, 남은 도체는 체단백질, 체지방 분석을 A.C.A.C(1995)의 방법에 의하여 동물영양자원공학과 사료자원학 실험실에서 분석하였다.

바. 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 one way-ANOVA(analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다(Steel과 Torrie, 1980)

Table 3-1. Feed formula of experimental diets

Ingredients	%
Corn	60.4
Wheat bran	0.1
Wheat flour	4.83
soybean meal	21.85
Rapeseed meal	3.80
Corn gluten meal	4.40
Yellow grease	0.55
Limestone	0.90
Tricalcium phosphate	1.95
Salt	0.11
HCl- lysin	0.17
DL- mehtionine	0.23
Vit.- Min. mixture	0.71
Total	100.0
Chemical composition	
Moisture, %	12.7
Crude protein,%	19.45
Metabolizable Energy,kcal/kg	3134
Ether extracts, %	3.10
Crude fiber, %	3.50
Crude ash, %	5.60
Calcium, %	1.10
Phosphorus,%	0.70
Arginine, %	1.17
Lysin, %	1.04
Methionine, %	0.36

Table 3-2. Experimental design Unit: PPM

Experimental diets	Treatments									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Propolis		40	80	120	160					
Yucca extracts						150	300			
Antibiotics								5		
Arsonic acid									50	
Biomineral										50

3. 결 과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

본 시험은 propolis 및 유카추출물의 첨가효과를 규명하기 위하여 부로일러를 공시동물로 하여 사양시험을 실시하였으며, 이들 사료를 전기(0 3주), 후기(4 6주) 및 전 시험기간동안(0 6주)으로 구분 사양시험을 한 결과를 보면 Table 3-3, 3-4 및 3-5와 같다.

우선 Table 3-3의 3주간 성적을 보면 증체량에 있어서는 대조구인 A구에 비하여 첨가제 첨가구가 공히 다소 높은 증체량을 보였으며, 특히 propolis 160ppm 첨가구인 G구가 높은 증체성적을 보였다. 대체로 증체량은 701 741g의 범위를 보였으나 통계적인 유의차는 없었다. 사료섭취량은 1,200g 1237g 의 범위로서 유의차는 없었고, 처리구간에 있어서도 특별한 사료섭취경향을 발견할 수 없었다. 사료효율은 대조구의 1.74에 비하여 첨가제 첨가구가 2 5% 향상된 결과이나 유의차는 나타나지 않았다.

한편, 후기의 사양성적을 Table 3-4에서 보면 증체량은 1,448 1,473g의 범위로서 유의차는 없었으나, propolis 120 및 160ppm 첨가구가 약간 높은 증체를 보였다. 또한 사료섭취량은 첨가제 첨가구가 공히 대조구의 3,163g에 비하여 적은 섭취를 보였으나 유의차는 나타나지 않았다. 따라서 비슷한 증체성적에 사료섭취를 다소 적게 한 결과 사료효율은 대조구의 2.16에 비하여 항생제 첨가구 2.16 2.17, propolis 첨가구는 2.11 2.07로 약 4% 수준 향상된 결과를 보였고, 유카추출물 및 바이오 광물질도 같은 경향을 보였다.

6주간의 전체성적을 Table 3-5에서 보면 대조구의 증체량 2,170g을 기준으로 볼 때, 유기비소제 첨가구가 다소 높은 2,182g을 보였고 propolis 급여시는 40ppm 급여구를 제외하고는 80ppm 급여구의 2,182g, 120ppm 급여구의 2,199g 및 160ppm 급여구의 2,192g으로서 다소 높은 증체 성적을 보였다. 이외에 유카추출물과 바이오 광물질 급여구도 2,176-2,175g 으로 나타나 비슷한 증체성적을 보여 전 시험구간 유의차는 나타나지 않았다. 사료섭취

량은 대조구의 4,381g에 비하여 첨가제 첨가구가 4,239 4,295g의 범위로서 적은 섭취를 보였다. 그러나 propolis 첨가수준, 유카첨가 수준에 따른 차이는 나타나지 않았다. 사료효율은 대조구의 2.03에 비하여 첨가제 첨가구가 1.98 1.93의 범위로 나타나 2 5% 향상되었으며, 특히 propolis 160ppm 첨가구인 G구의 사료효율이 가장 좋게 나타났으나 전 시험구간의 유의차는 나타나지 않았다.

본 시험의 결과는 첨가제의 첨가에 의하여 증체량의 개선효과가 나타나지 않은 것으로 나타났으며, 이와 같은 결과는 유카추출물(Rowland와 Plyer, 1976) 및 항생물질(Hays,1978; Hawbaker 등, 1960; Powley 등, 1981)을 부로일러에 급여시 증체량 및 사료효율의 개선효과가 크다고 보고한 결과와는 상반된 결과이다. 또한 propolis 첨가에 의한 증체량 및 사료효율에서 뚜렷한 효과가 나타나지 않은 것으로 나타났다. 이 점은 사용한 propolis의 약리활성이 낮거나 추출과정에서의 항생활성이 낮아진 것으로 생각된다. 일반적으로 봉교는 다양한 식물에서 꿀벌이 수집한 혼합물질을 사용 자신의 분비물과 혼합하여 제조한 것이기 때문에 그 성분이 이들 식물상에 의하여 좌우되어 변이가 클 것으로 생각된다. 일단 propolis 제제의 안정성이 보장되는 제품생산을 위한 기술개발도 필요할 것으로 사료된다.

Table 3-3. Effect of feeding ethanol extract propolis, yucca extracts and antibiotics on body performance of broiler chicken by starting periods(0 3weeks)

Treatments	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed efficiency
A	701 ±25	1218 ±29	1.74 ±0.03
B	712 ±12	1222 ±13	1.72 ±0.02
C	729 ±16	1237 ±19	1.70 ±0.02
D	708 ±19	1201 ±26	1.70 ±0.02
E	716 ±14	1223 ± 7	1.71 ±0.03
F	717 ± 7	1201 ±17	1.68 ±0.03
G	741 ±13	1231 ±19	1.66 ±0.02
H	714 ±15	1208 ±20	1.69 ±0.03
I	712 ±13	1216 ± 6	1.71 ±0.04
J	712 ±14	1202 ±29	1.69 ±0.01

* There were no significant(p<0.05) difference among all treatments.

* Mean±SE.

Table 3-4. Effect of feeding ethanol extract propolis, yucca extracts and antibiotics on body performance of broiler chicken by finishing periods(4 6weeks)

Treatments	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed efficiency
A	1461 ±13	3163 ±41	2.16 ±0.02
B	1466 ±17	3027 ±56	2.06 ±0.02
C	1458 ±32	3021 ±53	2.07 ±0.05
D	1448 ±11	3057 ±49	2.11 ±0.04
E	1463 ±61	3072 ±49	2.11 ±0.06
F	1468 ±19	3047 ±31	2.08 ±0.05
G	1473 ±26	3051 ±48	2.07 ±0.03
H	1456 ±24	3031 ±32	2.08 ±0.02
I	1465 ±27	3037 ±36	2.07 ±0.04
J	1463 ±28	3064 ±31	2.10 ±0.04

* There were no significant(p<.05) difference among all treatments.

* Mean±SE.

Table 3-5. Effect of feeding ethanol extract propolis, yucca extracts and antibiotics on body performance of broiler chicken.

Treatments	Body gain(g)	Feed intake(g)	Feed efficiency
A	2170 ±26	4381 ±59	2.03 ±0.01
B	2182 ±27	4249 ±66	1.95 ±0.01
C	2172 ±44	4258 ±67	1.95 ±0.04
D	2167 ±23	4258 ±71	1.97 ±0.03
E	2182 ±73	4295 ±56	1.98 ±0.04
F	2199 ±24	4248 ±44	1.95 ±0.04
G	2192 ±35	4282 ±63	1.93 ±0.01
H	2174 ±34	4239 ±45	1.95 ±0.02
I	2176 ±36	4253 ±30	1.95 ±0.03
J	2175 ±29	4266 ±36	1.96 ±0.03

* There were no significant(p<.05) difference among all treatments.

* Mean±SE.

본 시험의 결과를 종합하여 볼 때 일단은 유카추출물이나 propolis 첨가에 의한 증체량 및 사료효율의 효과는 나타나지 않은 것으로 생각된다. 이 점은 전술한 바와 같이 유카추출물이나 propolis의 생리활성이 낮아서 그 첨가효과가 나타나지 않은 것으로 생각되며 첨가수준을 증가시킬 때 효과가 나타날 것으로 사료되나, propolis 및 유카추출물의 첨가수준, 농도, 추출조건 등 여러 조건에서 생산성에 미치는 영향을 다각적으로 분석할 필요가 있다고 사료된다.

나. 도체조성분

Propolis 및 유카추출물 등의 사료첨가제를 급여할 때 부로일러의 체성분에 미치는 영향을 파악하기 위하여 복부지방함량, 체수분, 체단백질, 체지방 함량을 분석한 체조성을 보면 Table 6과 같다.

도체내 수분함량은 72.7 73.3%, 체단백질은 20.6 21.1%, 체지방은 4.4 4.9%의 범위로 나타나 처리구에 따른 차이는 나타나지 않았다.

Table 3-6. Effect of feeding propolis, yucca extracts and antibiotics on carcass composition of broiler

Treatments	Abdominal fat pad (% of body wt.)	Carcass compostion, %		
		Moisture	Protein	Fat
A	2.12 ±0.11	73.7 ±0.23	20.6 ±0.14	4.6 ±0.17
B	2.39 ±0.14	73.4 ±0.29	20.6 ±0.16	4.8 ±0.19
C	2.16 ±0.14	72.9 ±0.38	21.0 ±0.10	4.9 ±0.12
D	2.47 ±0.16	72.8 ±0.18	21.0 ±0.17	4.7 ±0.17
E	2.36 ±0.11	72.7 ±0.30	20.7 ±0.18	4.8 ±0.15
F	2.32 ±0.15	73.0 ±0.17	20.9 ±0.11	4.4 ±0.17
G	2.22 ±0.11	72.9 ±0.29	21.0 ±0.12	4.9 ±0.11
H	2.47 ±0.15	73.2 ±0.30	21.0 ±0.13	4.3 ±0.12
I	2.32 ±0.15	72.9 ±0.39	21.1 ±0.16	4.6 ±0.17
J	2.47 ±0.14	73.6 ±0.31	20.7 ±0.18	4.6 ±0.15

* There were no significant($p<.05$) difference among all treatments.

* Mean±SE.

내장내 축적 지방량을 나타낸 복부지방함량을 체중에 대한 비율로서 보면 2.12 2.47%의 범위로서 대조구의 복부지방 비율이 다소 낮았으나, 유의차는 나타나지 않았다. 본 시험의 결과 이들 첨가제의 급여에 의하여 부로일러의 체성분은 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

4. 요 약

환경친화형 활성물질인 propolis 및 유카추출물의 첨가가 부로일러의 육성성적 및 도체성분에 미치는 영향을 파악하기 위하여 propolis를 40, 80, 120ppm 및 160ppm 수준으로, 유카추출물을 150 및 300ppm 수준으로 사료에 첨가하여 6주간 사양시험을 실시하였으며 이들 첨가에 의한 부로일러의 증체량, 사료섭취량, 사료효율 및 도체성분에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

증체량은 대조구의 2,170g에 비하여 첨가제 첨가구가 2,174 2,199g의 범위로 나타나 유의적인 차이는 없었고, 사료섭취량도 대조구의 4,381g에 비하여 첨가제 첨가구가 4,239 4,295g의 범위로 다소 적게 섭취하였으나 유의차는 나타나지 않았다. 또한 propolis 및 유카추출물의 첨가수준에 따른 차이도 나타나지 않았다. 사료요구율은 대조구의 2.03에 비하여 첨가제 첨가구가 1.93 1.98로 나타나 다소 향상되었으나 유의차는 없었다. 도체성분도 처리구간 유의차가 나타나지 않았다. 결론적으로 본 실험의 propolis 및 유카추출물의 첨가에 따른 부로일러의 증체량, 사료요구율의 향상효과는 나타나지 않았다.

5. 참고 문헌

1. Alder, H. E. and Damassa, A. J. 1980. Effect of ingested Lactobacilli on Salmonella infantis and Escherichia coli and on intestial flora, pasted vents and chick growth. Avian Disease 24:868.
2. A.C.A.C. 1990. Official methods of analysis(15th ed.). Associati-on of Official Analytical Chmists. Washington. D.C.
3. Barrow, P. A. 1992. Probiotics for chickens. In R. Fuller(Ed.). Probiotics: The Scientific basis. Chapman & Hall, London.
4. Bolshakova, V. F., I. V. Vinogradova, 1964. Experience in the use of propolis salicylate ointment. Nauch. Zap. Gor 'Kovskogo Naucho-issled. Inst. Derm. Vener. 24:148.
5. Cattorini, P. E. 1963. Le API e glib uonini [Bees and Men]. Fitoterapia 34: 85.
6. Chernyak, N. F. 1973. Cn synergistic effect of propolis and some

anti-bacterial drugs. Antibiotiki 18:259.

7. Christova, V. M. 1985. A Propolis-enriched was therapy against inflammatory diseases of the articular-muscular system. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 429-431. Apinondia.

8. Cromwell, G .L., T .S. Stahly and J. J. Monegue. 1985. Efficacy of sarsaponin for weanling and growing-finishing swine housed at two animal densities. J. Anim. 61(suppl.1.):111.

9. Donadieu, Y. 1987. Propolis in natural therapeutics. Honey bee Science 82:67.

10. Erben-Russ, M., W. Bors and M. Saran. 1987. Reaction of linoleic and peroxyl radicals with phenolic antioxidants pulse radiolysis study. International Journal of Radiaction Biology. 52:393.

11. Ghisalberti, E.L. 1979. Propolis: A review. Bee World 60:59.

12. Goodall, S. R. and J. K. Matsushima. 1978. Sarsaponin in beef cattle rations.Pages 9-10 in Beef nutrition research. Gen. Ser. 979. Colorado State Univ. Exp. Sta.

13. Grochowsk, J., M. Bilinska, and D. Stankiewcz,(Poland). 1985. The therapeutic effect of 3% propolis treatment on mice of DBA/2H breed suffering from skin burns subsequently infected with Pseudomonas aeruginosa. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 439-440. Apinondia.

14. Harborne, J. B. 1982. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press. London.

15. Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high harm acological potency. Biochemical Pharmacology. 32: 1141.

16. Ikeno, K., T. Ikeno and T. Miyazawa. 1994. Effects of propolis

on dental caries in rats. Honeybee Science 15: 1.

17. Johnston, N. L., C. L. Quarles, D.J. Fagerberg, and D.D. Caveny. 1981. Evaluation of yucca saponin on broiler performance and ammonia suppression . Poultry Sci., 60:2289.

18. Karimova,Z.K.H. 1961. About the medicial; qualities of propolis. Pchelovodstvo. 38;32. In Russian.

19. Kivalkina, V.P. 1969. Effect of propolis on immunological reactivity. 22 Int. Beekeep. Congr. Summ.: 136 In Russian

20. Krol, W., Z. Szuba, S. Scheller, J. Gabrys, S. Grabiec and J. Shani. 1990. Anti-oxident property of ethanolic extract of propolis(EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidtion of luminol. Vol.21. No4. pp. 593-597.

21. Lavie, P. 1960. Les substances antibacteiennes dans la colonie d'abeilles(Apis mellifica L.) Annls. Abeille 3:103.

22. Lavie, P. 1978. The antibiotic from propolis, Propolis,pp.41-48. Apimondia Publishing House.

23. Mayer, W. 1956. "Propolis bees" and their activities. Bee World 37:25.

24. Matsuno, T. 1992. Isolation and character isolation of the tumoricidal substances from Brazilian propolis. Honey bee Science 13;49.

25. Metzner, J., H. Bekemeter, M. Paintz and E. Schneidewind. 1979. Pharmazie 34:97.

26. Preston, R .L., S. J. Bartle, T. May and S. R. Goodall. 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. J. Anim. Sci. 65:481.

27. Rowland, I., C. Jr., J. E. Plyler, and J. W. Bradley. 1976. Yucca schidigera extract effect on egg production and house ammonia levels. Poultry Sci., 55:2086.

28. Russel, J,.B. 1984. The effect of sarsaponin on ammonia levels in rodent cages.District & Convention Amer. Assoc. Lab. Anim. Sci.(abstr.).

29. Scheller, S., G. Gazda, J. Gabrys, J. Szumias, L. Eckert and J. Shani, 1988. The ability of EEP to accumulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. Pharmacological Research Communication. 20:323.

30. Smith, H.W., 1962. The effects of the use of antibiotics on the emergence of antibiotic resistant disease producing organism in animals. Antibiotics in Agriculture. Proceedings of the University of Nottingham. Ninth Easter School in Agriculture Science. Butterworth. London. p 374.

31. Smith, H.W., 1975. Persistence of tetracycline resistance in pig E.coli Nature : 258 : 628.

32. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. A Biometrical Approach. McGraw-Hill, New York. pp. 223.

33. Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. Annual review of plant physiology. 28:479.

34. Takahama, U., R. J. Youngman,and E. F. Elstner. 1984. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. Photobiochemistry and Photobiophysics. 7:175.

35. Takino, Y. and S. Mochida. 1982. Propolis, its chemical cons-

tituents and biological activities. Honeybee Science 3: 145.

제 2 절 Propolis의 급여수준을 달리하여 급여할

때 부로일러의 육성성적에 미치는 영향

1. 서 론

가축의 생산성 향상을 위하여 사용되는 사료첨가제는 항생물질, 효소제, 효모제 및 생균제 등을 들 수 있으며 그 중 항생물질이 가장 먼저 실용화되었다. 그러나 항생물질을 계속 사용하게 되면 내성균이 증가하여 항생물질의 첨가효과가 떨어질 뿐만 아니라 축산물 내에 잔류하게 되어 (Smith, 1962; Smith, 1975) 이를 섭취한 사람에게도 해롭기 때문에 항생물질 대체용으로 천연항생물질인 propolis의 사용에 관하여 관심이 집중되고 있다.

Propolis는 꿀벌 자신이 생산하는 밀랍과 식물 표피에서 수집한 점성의 수지상 물질에 화분입자가 혼합된 혼합물이다. 즉, propolis는 여러 수목들의 잎이나 생장점을 보호하기 위해서 분비되는 물질과 나무의 껍질 등이 벗겨져 상처가 난 곳을 오염으로 예방하고 미생물의 침입을 막기 위해서 수지 등을 모아들인 것으로서(Meyer, 1956; Cattorini, 1963), propolis의 조성은 소상 근처의 식물 종류에 따라서 달라지게 된다.

일반적으로 꿀벌이 혼합하는 밀랍의 량은 propolis 원료를 채취할 때나 소상내에서 가공할 때의 기온에 의해서도 달라진다. 열대지방의 경우 식물의 종류가 다양하고 많기 때문에 원료가 되는 식물의 선택도 많다. Propolis의 성분은 자연과 식물의 종류 등에 따라 달라지나 일반적인 조성은 수지가 40 50%, 밀랍이 20 49%, 휘발성 물질이 10%, 화분이 10%, 기타 성분이 5%이하로 구성되어 있고(Ghisalberti, 1979, Konig와 Dustman, 1989), propolis에 함유된 성분은 프라보노이드, 폴리페놀, 페놀산, 에스테르, 지방산, 아미노산, 탄수화물, 비타민 및 미네랄 등의 물질이 함유되어 있다.

일반적으로 propolis를 꿀벌이 이용하는 것은 소상의 갈라진 곳이나 패인

곳, 구멍 등을 도포하여 외부로 부터의 침입자를 방지하고 있다. 즉 propolis는 소상내의 갈라진 곳의 간격을 메우는 기능 뿐만 아니라 소비 상잔과 상잔사이로 세균, 박테리아 바이러스에 대한 봉군의 방어에 관여하고 있다. 이와 같은 특성은 수지 내에 미생물을 방어하는 물질이 함유되어 있기 때문이다(Harborne, 1982; Swain, 1977).

Propolis가 강력한 항생물질로 작용한다고 러시아의 Karimovad(1961) 등이 발표한 이래 propolis의 항균작용에 관하여 Lavie (1960), Kivalkina(1969), Bolshakova(1964), Chernyak(1973) 와 Lindenfelser, (1967)등이 보고하였으며 최근에는 Ikeno 등 (1994), Matsuno(1992), Metzner 등(1979) 과 Takino와 Mochida(1982) 등의 여러 학자들에 의해서도 항균성에 대한 보고가 집적되고 있다(Ghisalbert, 1979; . Lavie, 1978).

그리고 propolis의 항산화 효과에 대해서도 Havsteen(1983), Donadien(1987), Scheller 등 (1988), Krol 등 (1990) 이 과산화물 생성 억제 작용으로 propolis에는 활성 산소를 소멸시키는 작용이 있다고 보고하고 있다.

이와 같은 propolis의 특성 때문에 propolis는 피부병, 화상치료제로서(Grochowski 등, 1985), 관절염계 기관절 염증치료제(Christova, 1985)로서, 제암효과가 (Scheller 등, 1988, Matsuno, 1992)있어 암치료제로서, 항산화효과가 있어(Takahama, 등, 1984: Erben-Buss 등, 1987) 육제품 가공시 첨가제로서 이용되고 있다. 최근에는 propolis에 대한 산업적인 이용이 증가되고 있으며, 더욱이 이들 propolis에 대한 가축용 사료첨가제 또는 치료제로서의 이용가치도 클 것으로 사료된다.

따라서 본 시험은 propolis의 첨가가 가축의 생산성에 미치는 영향과 적정 급여수준을 파악하기 위하여 부로일러 사료 중에 100, 200, 300, 400ppm 및 500ppm 수준으로 첨가하여 증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 미치는 영향을 분석하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험장소 및 기간

본 시험은 1997년 9월 27일부터 11월 8일 까지 6주간에 걸쳐 강원대학교 축산대학 부속 동물사육장에서 사양시험을 실시하였다.

나. 공시동물

경기도 오산 소재 연동축산에서 97년 9월 25일 부화된 아바에이커 280수를 선발하여 공시동물로 사용하였다.

다. 시험설계 및 공시사료

완전임의 배치법에 의하여 7처리 4반복으로 28개구를 설치하여 구당 10수씩 280수를 배치하였으며 공시사료의 배합은 단백질 20%, 대사에너지 3,050kcal 수준으로 배합하였으며, propolis는 에탄올 추출 propolis 를 사용하여 사료 중에 100, 200, 300, 400ppm 및 500ppm 수준으로 첨가하였다. 항생물질 첨가구는 국내에서 시판되는 항생제 1종을 선정하여 10ppm 수준으로 첨가하였다. 구체적인 배합사항을 보면 Table 3-7과 같다.

라. 사양관리

시험기간동안 철제 육추기에서 사육하였으며, 공시사료는 부단 급여하였으며 물도 자유 섭취토록 하였다. 기타 사양관리는 관행법에 준하여 실시하였다.

마. 조사항목 및 방법

1) 사료 섭취량

사료 섭취량은 매주 1회 일정시간에 잔사를 평량하여 구하였으며, 사료의 허실량은 가급적 정확도를 기하여 측정하였다.

2) 증체량

시험 개시시 부터 매주 1회 일정시간에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험 종료시 체중에서 개시시 체중을 감하여 증체량을 구하였다.

3) 사료 요구율

사료 요구율은 시험기간동안 체중증가에 소요된 사료섭취량의 비율로 구하였다.

바. 통계분석

본 시험에서 얻은 결과는 one way-ANOVA(analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다(Steel과 Torrie, 1980).

Table 3-7. Feed formula of experimental diets

Ingredients	Control	A	B	C	D	E	F
Corn	59.7	59.7	59.7	59.7	59.7	59.7	59.7
Wheat bran	3.0	3.0	2.99	2.98	2.97	2.96	2.95
Soy bean meal	24.8	24.8	24.8	24.8	24.8	24.8	24.8
Rape seed meal	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Fish meal	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6
Yellow grease	2.55	2.55	2.55	2.55	2.55	2.55	2.55
Limestone	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
TCP①)	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Salt	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vit.-Min. mix.	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
HCℓ-Lysin, 98%	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Dℓ-Meth.50%	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
Antibiotics,ppm		10					
Propolis,ppm			100	200	300	400	500
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Chemical composition							
Crude protein, %	20.3	20.3	20.3	20.2	20.1	20.1	20.3
ME, kcal/kg	3055	3055	3055	3050	3048	3045	3055
Calcium, %	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Phosphorus, %	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7

3. 결과 및 고찰

가. 증체량 및 사료효율

본 시험은 propolis 급여시 부로일러의 유성성적에 미치는 영향과 적정급여수준을 규명하기 위하여 1차시험에 이어서 부로일러를 공시동물로 하여 사양시험을 실시하였으며, 이들 사료를 전기(0 3주), 후기(4 6주)

및 전 시험기간동안(0 6주)으로 구분 사양시험을 한 결과를 보면 Table 3-8, 3-9 및 3-10과 같다.

우선 Table 3-8의 3주간 성적을 보면 증체량에 있어서는 대조구의 681g 에 비하여 propolis 첨가구가 681-713g의 범위로 나타나 유의적인 차이가 없이 비슷한 증체성적을 보였다. 그러나 propolis 300ppm 첨가구인 D 구의 증체량이 가장 높게 나타났다. 사료섭취량도 대조구의 1,186g 에 비하여 첨가구가 1,172-1,207g의 범위로 나타나 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 사료효율은 대조구의 1.74에 비하여 propolis 첨가구가 다소 향상되었으며, 특히 300ppm 첨가구인 D 구가 1.66으로 가장 좋은 사료효율을 보였으나 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

한편, 후기의 사양성적을 Table 3-9에서 보면 증체량은 1,257 1,330g의 범위로서 대조구의 1257g 에 비하여 propolis 300ppm 수준 이상 첨가한 D,E,Frn의 증체량이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 이는 항생물질 첨가구인 A 구의 1,265g 에 비하여서도 향상된 결과이다. 그러나 사료섭취량은 시험구 공히 비슷한 사료섭취를 보였다. 따라서 사료효율은 증체량이 다소 향상된 propolis 첨가구가 대조구의 2.34 에 비하여 2.32-2.24로 나타나 1-5% 향상된 결과를 보였으며 특히 propolis 300ppm 수준 이상 첨가한 D,E 및 F 구가 유의적으로 사료효율이 개선된 결과를 보였다.

6주간의 전체성적을 Table 3-10에서 보면 대조구의 증체량 1,937g을 기준으로 볼 때, 항생물질 첨가구가 1,967g 이었고, propolis 급여구는 100ppm 첨가구의 1,986g, 500ppm 첨가구인 F 구의 1,993g, 200ppm 첨가구인 C구의 1999g, 400ppm 첨가구인 E 구의 2021g, 300ppm 첨가구인 D구의 2041g의 순으로 증체량이 증가하는 결과를 보였다($p<.05$). 특히 propolis 300ppm을 첨가할 때 증체량이 가장 높았으며 300ppm 이상 급여시는 오히려 300ppm에 비하여 감소하는 경향을 보였다.

Table 3-8. Effect of Propolis extracts on growth performance of broiler chicks by starting period(0-3weeks)

Treatments	Body gain (g)		Feed intake (g)		Feed / Gain	
Control	681	±14	1186	±10	1.74	± 0.02
A	702	±10	1178	±10	1.68	± 0.01
B	688	± 5	1172	±11	1.70	± 0.03
C	707	±14	1207	±12	1.71	± 0.02
D	713	± 8	1185	±23	1.66	± 0.01
E	691	±10	1198	±23	1.73	± 0.01
F	681	± 7	1178	±17	1.73	± 0.01

a,b,cmeans in the same column with different superscripts differ(p<.05). Mean ± SE

Table 3-9. Effect of Propolis extracts on growth performance of broiler chicks by finishing period(4-6weeks)

Treatments	Body gain (g)		Feed intake (g)		Feed / Gain	
Control	1257c	± 7	2941	±10	2.34a	± 0.01
A	1265bc	±26	2941	±36	2.33a	± 0.02
B	1298abc	±14	3009	± 5	2.32a	± 0.03
C	1292abc	± 6	2975	±21	2.30ab	± 0.01
D	1328a	±20	2969	±10	2.24b	± 0.03
E	1330a	± 8	2983	±12	2.24b	± 0.02
F	1312ab	± 4	3005	±10	2.29ab	± 0.01

a,b,cmeans in the same column with different superscripts differ(p<.05). Mean ± SE

Table 3-10. Effect of Propolis extracts on growth performance of broiler chicks

Treatments	Body gain (g)	Feed intake (g)	Feed / Gain
Control	1937^{d} ±20	4127 ±20	2.13^{a} ± 0.01
A	1967^{cd} ±16	4119 ±26	2.09^{ab} ± 0.01
B	1986^{bc} ± 9	4181 ± 6	2.11^{a} ± 0.01
C	1999^{abc} ± 8	4182 ±10	2.09^{ab} ± 0.01
D	2041^{a} ±12	4154 ±13	2.04^{c} ± 0.02
E	2021^{ab} ±18	4181 ±11	2.07^{bc} ± 0.01
F	1993^{abc} ±11	4183 ± 8	2.10^{ab} ± 0.01

$^{a-d}$means in the same column with different superscripts differ(p<.05). Mean ± SE

전체 증체 성적에서도 propolis 300ppm 첨가구는 항생물질 첨가구인 A구에 비하여서도 3.7% 향상된 결과를 보였다. 사료섭취량은 대조구의 4127g에 비하여 propolis 첨가구가 공히 4154-4183g의 범위로 나타나 propolis 첨가에 의한 사료섭취량은 비슷한 결과를 보였다. 사료효율은 대조구의 2.13에 비하여 항생물질 첨가구가 2.09로 향상되었으며, propolis 첨가구도 B구의 2.11에서 D 구의 2.04로 나타나 propolis 첨가에 의하여 사료효율이 유의적으로(p<.05) 개선된 결과를 보였다. 특히 300ppm 첨가구인 D구의 사료효율은 2.04로 나타나 가장 우수한 성적을 보였다. 본 시험의 결과는 propolis스 첨가수준을 최소한 300ppm 수준 이상으로 급여시 증체량 및 사료효율의 개선효과가 나타났으며 이는 항생물질 첨가구에 비하여서도 다소 개선된 결과를 보였다. 그러나 500pp 첨가시에는 오히려 증체량 및 사료효율이 저하되는 결과를 보였다. 이 점에 대해서는 첨가수준별에 따른 여러번의 시험이 실행될 때 분명한 원인을 분석할 수 있을 것으로 사료된다.

본 시험의 결과는 propolis를 급여함으로써 항생물질로 작용(Karimovad, 1961)하여 항균작용(Matsuno, 1992; Takino와 Mochida, 1982) 이 효과적으

로 작용하여 증체량 및 사료효율의 개선효과가 나타난 것으로 생각된다. 그러나 300ppm 수준 이상 급여시에는 오히려 사료효율이 감소되어 이점에 대해서는 앞에서 언급한 바와 같이 propolis의 종류, 추출방법 등과 연관하여 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

4. 요 약

천연항생물질인 에탄올 추출 propolis의 첨가가 부로일러의 육성 성적에미치는 영향을 분석하기 위하여 propolis를 100, 200, 300, 400ppm 및 500ppm 수준으로 사료에 첨가하여 6주간 사양시험을 실시하였으며 이들 첨가에 의한 부로일러의 증체량, 사료섭취량 및 사료효율에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

증체량은 대조구의 1937g에 비하여 propolis 첨가구가 공히 1,986 2,041g 의 범위로 나타나 유의적으로(p<.05) 증가하는 경향을 보였으며, 특히 300ppm 첨가구인 D 구의 증체성적이 가장 높게 나타났다. 사료섭취량은 대조구의 4,127g에 비하여 propolis 첨가구가 4,154 4,183g의 범위로 나타나 비슷한 섭취량을 보였다. 사료효율은 대조구의 2.13에 비하여 propolis첨가구의 2.11 2.04로 나타나 유의적으로(p<.05)으로 향상되었으며, D 구의 사료효율이 가장 좋게 나타났다.

육성시기별로 구분하여 볼 때도 전체성적과 비슷한 경향으로서 propolis 첨가구가 증체량 및 사료효율이 향상되는 결과로 나타났다.

5. 참고 문헌

1. Bolshakova, V. F., I. V. Vinogradova, 1964. Experience in the use of propolis salicylate ointment. Nauch. Zap. Gor 'Kovskogo Naucho-issled. Inst. Derm. Vener. 24:148.

2. Cattorini, P. E. 1963. Le API e glib uonini [Bees and Men]. Fitoterapia 34: 85.

3. Chernyak, N. F. 1973. Cn synergistic effect of propolis and some anti-bacterial drugs. Antibiotiki 18:259.

4. Christova, V. M. 1985. A Propolis-enriched was therapy against inflammatory diseases of the articular-muscular system. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 429-431. Apinondia.

5. Donadieu, Y. 1987. Propolis in natural therapeutics. Honey bee Science 82:67.

6. Erben-Russ, M., W. Bors and M. Saran. 1987. Reaction of linoleic and peroxyl radicals with phenolic antioxidants pulse radiolysis study. International Journal of Radiaction Biology. 52:393.

7. Ghisalberti, E.L. 1979. Propolis: A review. Bee World 60:59.

8. Grochowsk, J., M. Bilinska, and D. Stankiewcz,(Poland). 1985. The therapeutic effect of 3% propolis treatment on mice of DBA/2H breed suffering from skin burns subsequently infected with Pseudomonas aeruginosa. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 439-440. Apinondia.

9. Harborne, J. B. 1982. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press. London.

10. Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high harm acological potency. Biochemical Pharmacology. 32: 1141.

11. Ikeno, K., T. Ikeno and T. Miyazawa. 1994. Effects of propolis on dental caries in rats. Honeybee Science 15: 1.

12. Karimova,Z.K.H. 1961. About the medicial; qualities of propolis. Pchelovodstvo. 38;32. In Russian.

13. Kivalkina, V.P. 1969. Effect of propolis on immunological reactivity. 22 Int. Beekeep. Congr. Summ.: 136 In Russian

14. Krol, W., Z. Szuba, S. Scheller, J. Gabrys, S. Grabiec and J. Shani. 1990. Anti-oxident property of ethanolic extract of propolis(EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidtion of luminol. Vol.21. No4. pp. 593-597.20.

15. Konig,B and J.H. Dustman. 1989.Anim Res. and Develop 29:21.

16. Lavie, P. 1978. The antibiotic from propolis, PRCPOLIS, pp.41-48. Apimondia Publishing House.

17. Lindenfelser, L. A. 1967. Antimicrobial activity of propolis. American Bee Journal. 107:90.

18. Mayer, W. 1956. "Propolis bees" and their activities. Bee World 37:25.

19. Matsuno, T. 1992. Isolation and character isolation of the tumoricidal substances from Brazilian propolis. Honey bee Science 13;49.

20. Metzner, J., H. Bekemeter, M. Paintz and E. Schneidewind. 1979. Pharmazie 34:97.

21. Scheller, S., G. Gazda, J. Gabrys, J. Szumias, L. Eckert and J. Shani, 1988. The ability of EEP to accumulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. Pharmacological Research Communication. 20:323.

22. Smith, H.W., 1962. The effects of the use of antibiotics on the

emergence of antjbiotic resistant disease producing organism in animals. Antibiotics in Agriculture. Proceedings of the University of Nottingham. Ninth Easter School in Agriculture Science. Butterworth. London. p 374.

23. Smith, H.W., 1975. Persistence of tetracycline resistance in pig E.colil Nature : 258 : 628.

24. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. A Biometrical Approach. McGraw-Hill, New York. pp. 223.

25. Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. Annual review of plant physiology. 28:479.

26. Takahama, U., R. J. Youngman,and E. F. Elstner. 1984. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. Photobiochemistry and Photobiophysics. 7:175.

27. Takino, Y. and S. Mochida. 1982. Propolis, its chemical constituents and biological activities. Honeybee Science 3: 145.

제 3 절 Propolis 및 유카추출물의 첨가가 소에 있어서 반추위내 발효성상과 산유 및 육성 성적에 미치는 영향

1. 서 론

Propolis는 꿀벌이 벌집을 보호하기 위하여 각종 식물에서 수집한 수지상의 점성물질이다. 이 물질에는 여러 가지의 약리작용이 있어 세균과 곰팡이. 바이러스에 대항하는 항생작용과 항균작용, 항염증효과 및 면역조절 기능, 항산화효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Harvstten, 1983; Donadien,1987; Lavis, 1960; Ikeno 등, 1994; Matsuno, 1992; Ghisalbet, 1979; Krol, 1990; Kivalkina, 1969; Takino와 Mochida, 1982). propolis는 동유럽에서 주로 민간요법제로서 널리 이용되었으며, 최근에는 의학적인 연구가 활발하게 진행되고 있다(Margo와 Carvallo, 1994, Ivanovska 등,1995). Propolis는 꿀벌이 채취하는 식물 상에 의하여 성분의 차이가 큰 것으로 알려져 있으며 폴리페놀류를 하여 약 150여종의 다양한 성분으로 구성되어 있으며 그중 후라보이드가 주성분으로 항생작용을 하는 것으로 보고되고 있다

Propolis의 이용은 주로 알코올에 의해 용해되는 성분으로 이들 알코올 추출방법에 따라서도 역가와 효능이 달라지게 된다. 국내의 경우도 상당량이 수입되어 산업적으로 식품첨가물 등에 이용되고 있다. 그러나 최근 환경친화형 가축 사양에 있어서 propolis의 이용은 가축의 생산성 향상과 항생물질의 남용을 방지할 뿐만 아니라 보다 안정된 축산물을 생산한다는 관점에서 주목되기 시작하였다. 그러나 국내외를 통하여 이들 제제가 가축의 생산성에 미치는 영향을 분석한 연구는 없다. 따라서 본 연구는 가

축용 첨가제로서 propolis의 이용성을 규명하기 위하여 propolis를 소에게 급여 시 반추위 내 특성과 우유생산 및 비육효과에 미치는 영향을 분석하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 반추위 내 특성에 미치는 영향

(1) 시험설계 및 공시동물

600 kg 전후의 캐뉼라가 부착된 건유 중 인 홀스타인 3두를 공시축으로하여 반추위액을 채취하였다. 본 시험에 사용한 propolis 및 유카추출물의 첨가수준은 300 ppm 으로 배합하였다. 배합사료의 조단백질 함량은 11.5%, TDN 은 71.5%, 칼슘 0.8% 및 인 0.5% 로 배합하였다. 사료의 급여는 체중의 2%(건물기준) 수준으로 배합사료와 조사료의 급여비율을 30:70으로 하여 급여하였다.

(2) 사양관리

본 시험에 사용된 홀스타인 3두는 계류식 우사에 개체별로 수용하여 사양하였으며 사료는 통상적으로 1일 2회 오전과 오후로 나누어 급여하였다. 반추위액 채취 당일의 사료급여는 배합사료 2kg 와 수단그라스 사일리지 8kg을 급여하였으며, 물은 자유섭취토록 하였다.

(3) 조사항목 및 방법

(가) 반추위액의 pH 측정

캐뉼라가 부착된 홀스타인을 이용하여 사료급여후 0, 1, 2, 3, 4,

5, 6, 7 및 8시간별로 반추위액을 채취하여 4겹의 치이즈 가제로 여과하여 여과액 20-30㎖ 취하여 곧바로 pH/Ion meter)를 사용하여 시간별 반추위액의 pH를 측정하였다.

(나) 반추위액의 암모나아 및 총아미노산 함량 측정

반추위액 15㎖를 20㎖ 원심분리튜브에 넣고 15000g, 4℃ 의 조건에서 15분간 원심분리하여 상층액 2㎖를 취하여 분석용 공시시료로 조제하였다. 그후 반추위액의 암모니아 및 총아미노산(total amino acid: TAA)함량은 auto analyzer(Lachat instrument co.,)를 이용하여 분석하였다. 암모니아 분석은 phenol reagent, hypochlorite reagent, buffer용액과 nitroprusside reagent를 각각 quikchem method(Lachat instrument)에 의하여 조제하였으며 hot bath 온도를 60℃, 630㎚의 조건에서 연속적으로 측정하였고, 총아미노산 함량을 위해서는 ninhydrin 용액, hydrazin sultate 용액을 조제하여 hot bath 온도를 135℃, cooling bath 온도를 10℃로 조정하여 570㎚에서 연속적으로 측정하였다.

(다) 미생물 단백질 합성량 측정

반추미생물 합성량을 조사하기 위하여 사료급여 후 0, 2, 4, 6, 및 8 시간별로 반추위액 500㎖를 채취하여 4겹 의 치이즈 가제로 여과 한 후 미생물 발효를 정지시키기 위하여 50% 황산을 50:1 비율로 첨가하여 -20℃에서 분석시 까지 보관하였다. 위 방법으로 반추미생물 전량을 취하여 질소함량을 측정하고 이를 단백질 함량(crude protein) 으로 환산하였으며, 미생물 건물량에 단백질 함량을 곱하여 산출하여 반추위액 100㎖에 함유된 미생물의 단백질 합성량으로 판정하였다.

나. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 젖소의 유생산에 미치는 영향

(1) 시험설계 및 공시동물

비유중기의 평균체중 600kg 의 홀스타인 젖소 9두를 공시하여 3 x 3 Latin square design 에 의하여 처리당 3두씩을 배치하여 3기로 구분하여 2주간씩 총 6주 동안 실시하였다. 각 처리구별 propolis 및 유카추출물은 300ppm 수준으로 첨가하여 조단백질 함량이 17.5% TDN 71.5%수준으로 배합하였으며 그 구체적인 배합상황은 Table 3-11과 같다. 이 때 조사료원으로는 수단그라스 사일리지를 급여 하였다.

(2) 사양관리

본 시험에 사용된 홀스타인 젖소는 계류식 우사에 개체별로 수용하여 사양시험을 실시하였다. 사료는 1일 2회 오전과 오후로 나누어 급여하였으며, 농후사료 급여량은 산유량의 40% 수준으로 급여하였고, 조사료는 자유채식토록 하였다. 사료섭취량은 3일 간격으로 개체별로 측정, 잔량을 공제하여 섭취량으로 계산하였다. 물은 자유섭취토록 하였다.

(3) 산유량 및 유성분 분석

산유량은 매일 2회 오전과 오후에 착유량을 측정하여 1일 산유량으로 측정하였으며, 분석용 시료는 41mg의 potassium dichromate를 처리하여 냉장고에 보관하여 분석시료로 사용하였다. 유단백은 Kjeldahl 분석방법으로 분석하였고, 유지방은 infrared milk analyzer를 사용하여 분석하였다. 세균수는 표준평판배양법에 의하여 체세포수는 형광현미경법에 의하여 분석하였다.

Table 3-11. Formulae of experimental diets

Ingredient	Control	Treatment	
		Yucca 1)	Propolis 2)
Corn	29.60	29.60	29.60
Wheat	5.00	5.00	5.00
Wheat bran	11.80	11.77	11.77
Rice bran	5.00	5.00	5.00
Gluten feed	6.00	6.00	6.00
Corn germ meal	8.00	8.00	8.00
Corn gluten meal	0.00	0.00	0.00
Soybean hull	4.20	4.20	4.20
Soybean meal	11.00	11.00	11.00
Rapeseed oil meal	7.00	7.00	7.00
Cottonseed oil meal	4.00	4.00	4.00
Yellow grease	1.80	1.80	1.80
Molasses	3.00	3.00	3.00
Limestone	1.60	1.60	1.60
Calcium-phosphate	0.80	0.80	0.80
Salt	0.50	0.50	0.50
$NaHCO_3$-MgO mixture	0.44	0.44	0.44
Vit.-Min.mixture	0.25	0.25	0.25
Yucca shidigera extracts	0.00	0.03	0.00
Propolis	0.00	0.00	0.03
Total	100.0	100.0	100.0
Chemical composition(%)			
Crude protein	17.58	17.58	17.58
TDN 3)	71.56	71.56	71.56
Calcium	1.02	1.02	1.02
Phosphorus	0.77	0.77	0.77

1) Yucca = yucca shidigera extracts 300 ppm

2) Propolis = propolis 300 ppm.

3) TDN = total digestible nutrients

다. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 비육우의 육성성적에 미치는 영향 시험

(1) 시험설계 및 공시동물

Propolis 및 유카추출물의 급여가 비육기의 육성성적 및 육질에 미치는 영향을 규명하기 위하여 평균체중 480키로 정도의 한우 거세우를 공시동물로 하여 처리구당 5두씩 총 15두를 배치하여 각 처리구별 propolis 및 유카추출물을 300ppm 수준으로 첨가하여 조단백질 함량이 11.7%, TDN 70.55% 수준으로 배합하였으며 그 구체적인 배합상황은 Table 3-12와 같다. 이때 조사료원으로는 볏짚을 급여하였다.

(2) 사양관리

본 시험에 사용된 거세한우는 계류식 우사에 개체별로 수용하여 사양시험을 실시하였다. 사료는 1일 2회 오전과 오후로 나누어 부단 급여하였으며, 사료섭취량은 3일 간격으로 개체별로 측정, 잔량을 공제하여 섭취량으로 계산하였다. 물은 자유섭취토록 하였다.

(3) 조사항목 및 분석방법

(가) 증체량 및 사료효율

시험개시일로부터 매 3주간격으로 오전 10시에 개체별로 체중을 측정하였으며, 시험종료시 체중에서 시험개시시 체중을 감하여 총 증체량을 구하였다. 사료섭취량은 3일 간격으로 급여량에서 잔량을 공제하여 구하였으며 사료의 허실량은 정확도를 기하여 측정하였다. 사료효율은 전 시험기간 동안 체중증가에 소요된 사료섭취량의 비율로 구하였다.

Table 3-12. Feed formula of experimental diets

Ingredient	Control	Treatment	
		Yucca1)	Propolis2)
Corn	31.00	31.00	31.00
Milo	11.00	11.00	11.00
Wheat	7.00	7.00	7.00
Wheat bran	21.00	21.00	21.00
Rice bran	5.17	5.17	5.17
Gluten feed	4.90	4.90	4.90
Tapioka	15.00	15.00	15.00
Yellow grease	0.40	0.40	0.40
Limestone	1.95	1.95	1.95
Calcium-phosphate	0.25	0.25	0.25
Salt	0.50	0.50	0.50
Urea	0.80	0.80	0.80
$NaHCO_3$-MgO mixture	0.40	0.40	0.40
Vit.-Min.mixture	1.00	0 1.00	0 1.00
Yucca shidigera extracts	0.00	0.00	0.00
Propolis	0.00	0.00	0.00
Total	100.0	100.0	100.0
Chemical composition(%)			
Crude protein	11.70	11.70	11.70
TDN3)	70.48	70.48	70.48
Calcium	0.84	0.84	0.84
Phosphorus	0.54	0.54	0.54

1) Yucca = yucca shidigera extracts 300ppm

2)Propolis = propolis 300ppm

3) TDN = total digestible nutrients

(나) 도체평가 및 육질분석

시험축은 사양시험 종료 후 공시축 12두를 선정하여 강원도 횡성산업 도축장에서 도살 후 실시하였으며 도체평가는 한국소 도체 등급기준(한국종축개량협회, 1993)에 준하여 평가하였다. 육량 등급은

판매 가능한 육량을 등지방 두께, 배최장근단면적 및 도체중량등을 측정한 값으로 계산된 육량 기준지수에 의하여 판정하였고, 육질등급은 근내지방도를 중심으로 육색, 지방색, 조직감 및 성숙도를 종합하여 판정하였다. 육질분석은 도체시 제 13늑골과 제1요추 사이의 등심 2kg을 채취하여 수분, 조단백질, 조지방 및 회분함량을 A.C.A.C (1980)의 방법에 의하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

가. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 반추위내 특성에 미치는 영향

(1) 반추위내 발효성상

Propolis를 급여한 후 시간별로 채취한 반추위액의 총아미노산 함량의 변화를 보면 Table 3-13과 같다.

대조구의 총아미노산함량(total amino acid: TAA)은 사료급여후 1시간째에 38.1㎎/100㎖ 으로 가장 높게 나타났으며 그 이후 점진적으로 감소하여 5시간째에는 7.73㎎/100㎖로 낮아져 사료급여전 수준보다도 다소 낮게 나타났다. 이와 같은 경향은 yucca 급여구와 propolis 급여구에도 같은 경향을 보였다. 그러나 대조구에 비하여 다소 낮은 TAA 함량을 보이고 있다. 즉, 사료급여 1시간째의 TAA 농도를 보면 대조구가 38.1㎎/100㎖ 에 비하여 유카 첨가구인 A 구의 37.6㎎/100㎖ propolis 첨가구인 B 구가 29.2㎎/100㎖ 로 낮은 함량을 보였으며 이와 같은 결과는 2, 4 및 5시간에서도 같은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

한편, 암모니아 농도를 Table 3-14에서 보면 TAA 함량과 비슷한 경향을 보여 사료급여후 1시간 째에 가장 높은 함량을 보였다.

Table 3-13. Total amino acid concentration in the rumen fluid after feeding (unit: mg/100ml)

Time(hr)	Control	Treatments	
		A1)	B2)
0	11.7 ± 1.40	10.8 ± 0.50	10.4 ± 1.25
1	38.1 ± 5.98	35.6 ± 7.07	29.2 ± 1.08
2	26.6 ± 5.49	25.7 ± 5.85	21.7 ± 0.71
3	18.6 ± 1.57	17.7 ± 2.36	12.1 ± 1.15
4	11.1 ± 1.80	9.2 ± 0.48	7.2 ± 0.49
5	7.7 ± 0.66	7.4 ± 1.16	5.6 ± 2.48
6	6.0 ± 1.55	5.8 ± 0.09	6.2 ± 1.22
7	6.4 ± 1.57	5.9 ± 0.03	5.4 ± 0.09
8	7.8 ± 1.06	5.3 ± 0.59	5.3 ± 1.15
Average	14.9 ± 2.12	13.9 ± 1.96	11.7 ± 0.96

1) A = yucca shidigera extracts 300 ppm

2) B = propolis 300 ppm

There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

Mean ± SE

즉, 대조구는 13.9mg/100ml 이고, A구가 13.4mg/100ml, B 구가 10.4mg/100ml 로 높아졌으나 propolis와 유카제 첨가에 의한 영향은 없는 것으로 나타났다. 반추위내 암모니아농도는 시간이 경과함에 따라 감소하여 8시간에는 1.7 - 3.2 mg/100ml 로서 사료급여 전 수준보다도 더 낮게 나타났으나 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.
한편 반추위내 pH 는 (Table 3-15) 대조구의 평균 6.92, A 구의 6.71, B 구의 6.93으로 나타나 propolis와 유카제의 첨가에 의한 pH의 변화는 관찰되지 않았다.

한편 반추미생물의 단백질 합성량을 Table 3-16에서 보면 사료급여 2시

간 후의 미생물 단백질 합성량은 대조구의 51.0에 비하여 A 구의 53.4, B 구의 51.5로 나타나 처리구간에 별다른 차이는 나타나지 않았다.

Table 3-14. Ammonium concentration in the rumen fluid after feeding

Time(hr)	control	Treatments	
		A1)	B2)
0	4.9 ± 0.20	4.9 ± 0.17	6.2 ± 0.74
1	13.9 ± 0.56	13.4 ± 1.66	10.4 ± 0.16
2	12.3 ± 1.15	13.9 ± 1.75	10.4 ± 0.17
3	9.5 ± 0.08	9.54 ± 1.29	8.5 ± 0.07
4	4.8 ± 1.12	4.5 ± 0.64	5.6 ± 0.71
5	2.8 ± 1.67	1.7 ± 0.57	2.7 ± 0.14
6	1.8 ± 0.25	1.0 ± 0.06	4.6 ± 0.51
7	2.0 ± 0.21	0.5 ± 0.09	3.4 ± 0.16
8	2.9 ± 0.50	1.7 ± 0.02	3.2 ± 0.63
Average	6.1 ± 0.64	5.7 ± 0.70	6.1 ± 0.36

1) A = yucca shidigera extracts 300 ppm

2) B = propolis 300 ppm

Mean ± SE. There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

이와 같은 경향은 4, 6 및 8시간 후에도 비슷한 결과를 보였다. 결론적으로 본 시험의 결과 유카추출물이나 propolis의 첨가에 의한 반추위내 pH, 암모니아 농도, 총아미노산함량 및 단백질합성량에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 이는 사용한 첨가제의 사용수준이 적었거나, 또는 반추위내에서 어떤 영양학적 작용이 나타나지 않은 것으로 사료된다. 따라서 이 점에 대해서도 다각적인 연구가 더 많이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

Table 3-15. Change of rumen pH after feeding

Time(hr)	control	Treatments	
		A1)	B2)
0	7.00 ∓ 0.05	6.75 ∓ 0.42	6.98 ∓ 0.25
1	6.87 ∓ 0.05	6.83 ∓ 0.33	7.06 ∓ 0.09
2	6.95 ∓ 0.02	6.69 ∓ 0.27	7.05 ∓ 0.08
3	6.87 ∓ 0.06	6.61 ∓ 0.21	6.82 ∓ 0.25
4	6.90 ∓ 0.01	6.70 ∓ 0.22	6.84 ∓ 0.11
5	6.83 ∓ 0.01	6.68 ∓ 0.26	6.92 ∓ 0.15
6	6.89 ∓ 0.01	6.66 ∓ 0.30	7.05 ∓ 0.17
7	6.95 ∓ 0.05	6.77 ∓ 0.26	6.85 ∓ 0.22
8	7.05 ∓ 0.06	6.74 ∓ 0.26	6.77 ∓ 0.09
Average	6.92 ∓ 0.03	6.71 ∓ 0.28	6.93 ∓ 0.19

1) A = yucca shidigera extracts 300 ppm

2) B = propolis 300 ppm

Mean ± SE.

There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

Table 3-16. Rumen microbial protein concentration after feeding

Time(hr)	control	Treatments	
		A1)	B2)
0	16.7 ∓ 1.20	15.8 ∓ 0.97	16.4 ∓ 1.48
2	51.0 ∓ 2.81	53.4 ∓ 4.21	51.5 ∓ 2.89
4	49.7 ∓ 3.81	50.2 ∓ 2.97	52.2 ∓ 2.99
6	34.0 ∓ 1.80	34.1 ∓ 3.19	37.9 ∓ 1.37
8	32.7 ∓ 3.52	33.4 ∓ 3.79	33.6 ∓ 3.35
Average	36.8 ∓ 2.63	37.4 ∓ 3.03	38.3 ∓ 2.42

1) A = yucca shidigera extracts 300 ppm

2) B = propolis 300 ppm

Mean ± SE. There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

나. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 젖소의 유생산에 미치는 영향

Propolis 및 유카추출물을 급여할 때 젖소의 건물섭취량 및 유생산량을 분석한 결과는 Table 3-17 및 3-18과 같다. 1일 건물 섭취량을 보면 대조구의 15.43kg, YSE구가 15.48kg 및 propolis구의 15.36kg 으로 나타나 처리구간의 차이가 없이 비슷한 섭취량을 보였다. 이점은 농후사료와 조사료의 섭취량에서도 같은 경향으로 나타나 농후사료는 7.18-7.9kg의 범위이고, 조사료인 수단그라스 사일리지는 8.18-8.19kg의 범위에서 섭취한 것으로 나타났다.

한편 시험기간동안의 산유성적을 보면 평균 산유량은 대조구의 18.25kg에 비하여 YSE구 및 propolis 구가 각각 18.39 및 18.36kg으로 나타나 처리구간에 차이가 없이 전 시험구 공히 같은 생산량을 보였다. 또한 유지방함량도 3.42 3.45%의 범위이고, 유단백함량은 3.41 3.42%의 범위로 나타나 처리구간의 차이는 나타나지 않았다. 건물섭취량당 산유량도 대조구의

1.18에 비하여 YSE구의 1.19 및 propolis 구가 1.20으로 나타나 대조구에 비하여 다소 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 총세균수도 $1.51x10^4$ $1.52x10^4$ /ml 로 나타났고, 체세포수도 $11.6x10^4$ $11.91x10^4$ 의 범위로 나타나 처리에 따른 차이는 나타나지 않았다. 결국 1차적으로 수행된 본 시험의 결과 이들 첨가제의 급여에 의한 건물섭취량, 유생산량 및 유성분에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 앞으로 이들 첨가제에 대한 효과를 분명하게 규명하기 위해서는 사양시험을 수회 반복 실시할 필요성이 있다고 사료된다.

Table 3-17. Effect of feeding yucca shidigera extract(YSE) and propolis on dry matter intake of Holstein cows

Item	Treatments		
	Control	YSE	Propolis
	Mean SEM[1)]	Mean SEM	Mean SEM
Feed Intake, kg/cow/day Concentrate	7.25 ± 0.26	7.29 ± 0.30	7.18 ± 0.32
Silage	8.18 ± 0.38	8.19 ± 0.42	8.18 ± 0.46
Total DMI[2)]	15.43 ± 0.64	15.48 ± 0.72	15.36 ± 0.74

1) SEM = standard error of mean

2) DMI = dry matter intake

There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

Table 3-18. Effect of feeding yucca shidigera extract(YSE) and propolis on milk production and composition of Holstein cow

	Treatments		
	Control	YSE	Propolis
Item	Mean SEM[1)]	Mean SEM	Mean SEM
Milk yield, kg/cow/day	18.25 ± 0.68	18.39 ± 0.53	18.36 ± 0.51
Fat	3.45 ± 0.03	3.42 ± 0.02	3.44 ± 0.01
Crude protein	3.41 ± 0.05	3.43 ± 0.02	3.42 ± 0.01
Milk / DMI[2)]	1.18 ± 0.01	1.19 ± 0.02	1.20 ± 0.02
4%FCM[3)], kg/cow/day	16.74 ± 0.69	16.79 ± 0.43	16.82 ± 0.44
TBC[4)],number/ml	1.52 x 10^4	1.52 x 10^4	1.51 x 10^4
SCC[5)],number/ml	11.64 x 10^4	11.94 x 10^4	11.76 x 10^4

1) SEM = standard error of mean 2) DMI = dry matter intake

3) FCM = fat corrected milk 4) TBC = total bacterial count

5) SCC = somatic cell count

There were no significantly($p<.05$) difference among all treatments

다. Propolis 및 유카추출물의 첨가가 비육우의 육성성적에 미치는 영향 시험

Propolis 및 유카추출물의 첨가가 비육우의 비육성적에 미치는 영향을 분석하기 위하여 한우 거세우를 대상으로 사양시험을 실시하여 육성성적에 미치는 영향을 분석한 결과를 보면 Table 3-19와 같다.

비육말기의 한우 거세우에게 유카추출물 및 propolis 300ppm를 급여할 때 증체량은 대조구가 1.05kg 유카추출물 급여구가 1.04kg 및 propolis 급여구의 1.07kg 으로 나타나 처리에 따른 증체량의 차이는 나타나지 않았다. 사료섭취량에 있어서도 대조구의 11.01kg 에 비하여 유카추출물 급여

Table 3-19. Effect of feeding yucca shidigera extract(YSE) and propolis extract on body performance of Hanwoo during finishing period

Item	Treatments		
	Control	YSE	Propolis
	Mean SE1)	Mean SE	Mean SE
Feed intake(kg)			
Concentrate	9.51 ± 0.12	9.52 ± 0.13	9.66 ± 0.18
Rice straw	1.50 ± 0.01	1.47 ± 0.01	1.51 ± 0.02
TDMI2)	11.01 ± 0.13	10.99 ± 0.13	11.16 ± 0.20
ADG3),(kg)	1.05 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.07 ± 0.06
DMI per gain4),(kg/kg)	10.52 ± 0.39	10.68 ± 0.43	10.49 ± 0.39

1) SEM = standard error of mean 2) TDMI = total dry matter intake

3) ADG = average daily gain 4) DMI = dry matter intake per gain

There were no significantly(p<.05) difference among all treatments

구의 10.99kg 및 propolis 급여구의 11.165kg으로 나타나 전 시험구 공히 같은 섭취량을 보였다. 따라서 건물섭취량에 대한 증체비율인 사료요구율도 대조구의 10.52에 비하여 유카추출물 급여구의 10.68 및 propolis 급여구의 10.49로 나타나 차이가 나타나지 않았다. 본 시험의 결과 유카추출물 및 propolis의 첨가에 의한 육성성적에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

한편, 도체등급에 미치는 영향을 보면 Table 3-20 과 같다. 도체중은 3 처리구 모두 347 367kg으로서 비슷한 도체중을 보였고, 등지방 두께(BFT)는 8.8 9.5㎜ 의 범위로 나타나 차이가 없었으나 propolis 첨가구가 두꺼운 경향을 보였으나 유의차는 없었다. 배최장근 단면적(REA)는 대조구의

79㎠ 에 비하여 propolis 첨가구의 77.3 및 유카첨가구의 75.6㎠ 로 나타나 유카첨가구가 가장 높게 나타났으나 유의차는 없었다. 한편 육량지수는 68.0 68.7 cm 로서 처리에 따른 차이는 없었다. 육량지수에 영향을 주는 요인으로서 등지방 두께, 배최장근 단면적 및 도체중인데 이들 성적이 대체로 비슷하게 나타나 결국 육량지수도 비슷한 결과를 보였다.

한편, 근내지방도는 대조구의 3.25에 비하여 유카첨가구의 4.0 및 propolis 첨가구의 4.38으로 나타나 대조구에 비하여 다소 높아 근내지방도가 다소 개선된 것으로 나타났으나 유의차는 나타나지 않았다.

이외에 육색도 4.25 4.50의 범위로 나타났고, 지방색도 2.50 2.75의 범위로 나타나 처리구간의 육색 및 지방색에는 차이가 없이 정상적인 범위를 유지하였다.

한편, 등심부위를 채취하여 분석한 육조성 함량은 Table 3-21 과 같다. 수분함량은 거세우의 68%의 범위로 나타나 강 등이 (1995)이 21개월령 한우 비육우의 등심에서 분석한 수분함량 71% 보다 낮은 수준이었다. 한편 三橋 등(1987)은 비육기간이 길어질수록 수분함량이 감소한다고 보고하여 본 실험의 수분함량이 낮은 것은 공시축의 비육기간이 23개월로서 강등(1995)이 보고한 비육기간 보다 길어서 수분함량이 낮아진 것으로 생각된다. 조단백질 함량은 각각 20.1%, 20.2 및 20.5% 로서 처리간에 차이가 없었고, 조지방함량도 7.5% 8.2%의 범위이고, 조회분 함량은 1.3 1.45%의 범위로서 차이가 나타나지 않았다. 이들 성적은 강 등(1995)의 보고에서 21개월령 한우비육우 등심의 성적과 비슷한 경향을 보였으나 지방함량이 다소 높아 거세한 비육우는 체지방의 생성비율이 증가한다는 보고(Anderson 등, 1984)와 유사한 경향을 보였고, 도체등급중에서 등지방 두께가 두껍고, 근내 지방도가 높은 것은 등심의 일반성분 중 지방함량을 높게 한 원인이 된 것으로 판단되나 이들 처리에 의한 차이는 나타나지 않았다. 즉 본 시험의 경우 각 처리구 당 공시축 4두를 도체 비교하여 시험성적을 일관성 있게 판단할 수가 없었으며 따라서 개체에 의한 차이가 크게 작용

한 것으로 판단되어 추후 이들에 미치는 영향에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Table 3-20. Effect of feeding yucca shidigera extract(YSE) and propolis extract on carcass traits during finishing period in Korean native bulls.

Item	Treatments		
	Control	YSE	Propolis
	Mean SE1)	Mean SE	Mean SE
Slaughter weight, kg	575 ± 19	585 ± 9	615 ± 19
Yield traits			
Carcass, weight, kg	347 ± 12	349 ± 6	367 ± 10
BFT2), mm	8.8 ± 0.6	8.8 ± 1.1	9.5 ± 0.06
REA3), Cm2	79.0 ± 2.3	75.6 ± 2.4	77.3 ± 4.6
MPI4), score	68.7 ± 0.2	68.7 ± 0.5	68.0 ± 0.9
Quality traits			
MS5), score	3.25±0.48	4.00 ± 0.41	4.38 ± 0.99
MC6), score	4.25±0.25	4.50 ± 0.50	4.25 ± 0.25
FC7), score	2.50±0.29	2.75 ± 0.25	2.75 ± 0.25

1) SE = standard error 2) BFT= back fat thickness(mm)

3) REA= rib eye area (cm) 4) MPI= meat production index

5) MS = marbling score 6) MC = meat color 7) FC = fat color

Table 3-21. Effect of feeding yucca shidigera extract(YSE) and propolis extract on chemial compostion of strip loin.

Item	Treatments		
	Control	YSE	Propolis
	------------------		%

Moisture	68.25	67.88	67.60
Crude protein	20.45	20.48	20.10
Ether extract	8.91	9.39	9.66
Crude ash	1.42	1.39	1.44

4. 요 약

Propolis 및 유카추출물의 사료이용성을 규명하기 위하여 propolis 및 유카추출물을 300ppm 수준으로 급여할 때 반추위내 특성, 젖소의 산유량, 한우의 육성성적에 미치는 영향을 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

반추위내 총아미노산함량, 암모니아함량, 단백질합성량 및 반추위내 pH 함량은 처리구에 따른 차이가 나타나지 않았다.

젖소의 산유량 시험에서 사료섭취량은 처리구간에 따른 차이가 없었고 유생산량은 대조구의 18.25kg 에 비하여 유카추출물 급여구 및 propolis 급여구가 각각 18.39 및 18.36kg으로 다소 많았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 유지율, 유단백함량, 총세균수, 체세포수도 이들 처리에 따른 영향은 나타나지 않았다. 한우 육성시험에서 한우의 사료섭취량과 증체량은 처리구간에 따른 차이가 나타나지 않았다. 그리고 도체성분에서도 처리에 따른 차이가 나타나지 않았다.

5. 참고 문헌

1. Bolshakova, V. F., I. V. Vinogradova, 1964. Experience in the use of propolis salicylate ointment. Nauch. Zap. Gor 'Kovskogo Naucho-issled. Inst. Derm. Vener. 24:148.
2. Cattorini, P. E. 1963. Le API e glib uonini [Bees and Men]. Fitoterapia 34: 85.
3. Chernyak, N. F. 1973. Cn synergistic effect of propolis and some anti-bacterial drugs. Antibiotiki 18:259.
4. Christova, V. M. 1985. A Propolis-enriched was therapy against inflammatory diseases of the articular-muscular system. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 429-431. Apinondia.
5. Donadieu, Y. 1987. Propolis in natural therapeutics. Honey bee Science 82:67.
6. Erben-Russ, M., W. Bors and M. Saran. 1987. Reaction of linoleic and peroxyl radicals with phenolic antioxidants pulse radiolysis study. International Journal of Radiaction Biology. 52:393.
7. Ghisalberti, E.L. 1979. Propolis: A review. Bee World 60:59.
8. Grochowsk, J., M. Bilinska, and D. Stankiewcz,(Poland). 1985. The therapeutic effect of 3% propolis treatment on mice of DBA/2H breed suffering from skin burns subsequently infected with Pseudomonas aeruginosa. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 439-440. Apinondia.
9. Harborne, J. B. 1982. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press. London.
10. Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high harm acological potency. Biochemical Pharmacology. 32:

1141.

11. Ikeno, K., T. Ikeno and T. Miyazawa. 1994. Effects of propolis on dental caries in rats. Honeybee Science 15: 1.

12. Karimova,Z.K.H. 1961. About the medicial; qualities of propolis. Pchelovodstvo. 38;32. In Russian.

13. Kivalkina, V.P. 1969. Effect of propolis on immunological reactivity. 22 Int. Beekeep. Congr. Summ.: 136 In Russian

14. Krol, W., Z. Szuba, S. Scheller, J. Gabrys, S. Grabiec and J. Shani. 1990. Anti-oxident property of ethanolic extract of propolis(EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidtion of luminol. Vol.21. No4. pp. 593-597.20.

15. Konig,B and J.H. Dustman. 1989.Anim Res. and Develop 29:21.

16. Lavie, P. 1978. The antibiotic from propolis, PRCPOLIS, pp.41-48. Apimondia Publishing House.

17. Lindenfelser, L. A. 1967. Antimicrobial activity of propolis. American Bee Journal. 107:90.

18. Mayer, W. 1956. "Propolis bees" and their activities. Bee World 37:25.

19. Matsuno, T. 1992. Isolation and character isolation of the tumoricidal substances from Brazilian propolis. Honey bee Science 13;49.

20. Metzner, J., H. Bekemeter, M. Paintz and E. Schneidewind. 1979. Pharmazie 34:97.

21. Scheller, S., G. Gazda, J. Gabrys, J. Szumias, L. Eckert and J. Shani, 1988. The ability of EEP to accumulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. Pharmacological Research Communication. 20:323.

22. Smith, H.W., 1962. The effects of the use of antibiotics on the emergence of antjbiotic resistant disease producing organism in animals. Antibiotics in Agriculture. Proceedings of the University of Nottingham. Ninth Easter School in Agriculture Science. Butterworth. London. p 374.

23. Smith, H.W., 1975. Persistence of tetracycline resistance in pig E.colil Nature : 258 : 628.

24. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. A Biometrical Approach. McGraw-Hill, New York. pp. 223.

25. Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. Annual review of plant physiology. 28:479.

26. Takahama, U., R. J. Youngman,and E. F. Elstner. 1984. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. Photobiochemistry and Photobiophysics. 7:175.

제 4 절 육성돈사료에 대한 악취제어 및 천연항생 물질복합제 첨가가 육성성적에 미치는 영향

1. 서 론

우리 나라의 축산업의 경우 제한된 토지 내에서 노동집약적 축산업이 주를 이루고 있기 때문에 생산성은 물론 근래에 들어서는 환경적 측면에서 많은 민원을 야기하는 등의 문제점을 지니고 있다.

이에 따라 정부에서도 축산분뇨에 대한 처리기준을 강화시켜 2000년 1월부터는 BCD와 SS를 각각 특별대책지역 350ppm→150ppm, 일반지역 500ppm →350ppm 으로 낮추고 이전에 규제가 없었던 총인과 총질소의 방출량도 규제할 방침이다.

최근 우리나라에서 팔당댐 일대의 상수원 오염원에 대한 보고(Choi., 1999)에 의하면 축산분뇨는 8.15%로 상수원 오염의 중요원인은 84.8%를 차지하는 생활하수라고 보고하고 있지만 축산분뇨에 대한 사회적 인식과 수질 뿐 아니라 대기환경에서의 오염 면에서 볼 때 축산분뇨의 효율적 처리문제와 근본적 오염원의 감소방안에 대한 문제는 시급하다고 판단된다. 더구나 축분 발생 후의 처리는 처리시설에 대한 투자비용이 과다해 현재 정화시설 처리농가 중 96%는 간이 시설을 사용하는 것으로 조사되고 있다 (Choi and Han. 1998). 또한 가축사료 첨가제의 경우 항생제의 사용이 점점 규제되는 방향으로 나아가고 있기 때문에 축산농가의 경우 더욱 어려운 실정에 처하는 게 현 실정이다.

따라서 본 시험에서는 분뇨악취제어기능물질과 기존 항생물질 대체 천연항생물질을 포함한 복합첨가제를 양돈사료에 첨가하여 육성성적과 영양소 소화율에 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험설계

본 시험은 춘천시 우두동 소재의 정진농장에서 1999년 7월 5일에서 9월 2일까지 60일간 실시되었다. 시험에 사용된 돼지는 삼원교잡종(L*Y*D)으로 50 60kg 정도의 비육돈을 Control과 저복합제, 고복합제 투여구로 나누어 돈방당 5두씩 각 처리당 2반복으로 시험하였다.

나. 소화시험

악취제어 및 천연항생물질 propolis 복합첨가제(complex supplement)를 배합사료에 첨가시 소화율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 사양시험에서 사용된 복합제를 사양시험과 같이 3처리(control, 저복합제, 고복합제), 3반복으로 소화시험을 실시하였다. 시험동물은 삼원교잡종 (L*Y*D) 이유자돈(평균체중 7.3kg)과 육성돈(평균체중 50kg)을 각각 9두씩 완전임의배치하였다.

본 소화시험에 사용된 사료는 이유자돈 및 육성돈사료로서 가루형태였다. 소화시험은 시험사료에 Cr_2O_3 0.25%를 첨가하여 적응기간 4일후 2일간 분을 연속적으로 1일 2회 수집하여 개체별로 수집한 분을 섞은 다음 60℃ 건조기에서 24시간 건조 후 1일간 실내에서 방치한 다음 풍건량을 평량하여 소화율계산에 활용하였다.

다. 소화율분석

모든 시료의 일반성분은 AOAC (1990) 방법으로, 에너지는 bomb calorimeter (Parr Co., USA), 크롬은 spectrophotometer (Kontron 942)를 활용하여 분석하였으며, 아미노산분석은 6 N HCl로 24시간 동안 105℃에서 가수분해하여 Phenylisothiocyanate(PITC)로 유도체화하여

Phenylthiocarbamate (PTC) 아미노산을 만들어 HPLC (Waters 486) 로 UV (254nm) 검출기를 이용해서 분석하였다. 영양소 소화율계산은 Cr_2O_3을 이용한 지시제법으로 다음 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{영양소소화율} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{사료건물중의 } Cr_2O_3\text{함량(\%)}}{\text{분건물중의 } Cr_2O_3\text{함량(\%)}} \times \frac{\text{분중의 영양소 함량(\%)}}{\text{사료중의 영양소 함량(\%)}}\right)$$

라. 복합첨가제

복합첨가제 제조에 사용된 propolis는 덩어리상태의 고상물질로서 본과 소재의 사료공장에서 dry ice와 약 4 : 1의 비율로 혼합하여 냉동상태로 만든후 hammer-mill을 이용해 미세하게 분쇄하였고, 이 후 재결합을 방지하기 위하여 -10℃ 이하에서 냉동상태로 보관하였다가 다른 첨가물질과 혼합하여 사용하였다.

악취제어용 saponin 복합제는 도라지 분말과 인삼부산물 그리고 버섯부산물 등을 가공활용하여 제조하였다.

시험에 사용된 기초사료는 일반시판사료를 사용하였고 원료의 배합비와 화학적 조성은 다음 Table 3-23에 나타내었다.

마. 통계처리

모든 처리구의 통계적 분석방법은 SAS program(1985)의 ANCVA

Table 3-22. Addition rate of complex supplement to the diet

	Control	Low complex	High complex
Propolis(%)	0	0.06	0.12
Deodorizer mix(%)	0	0.075	0.15
Sub total(%)	0	0.135	0.27
Feed mixture(%)	100	99.865	99.73
Total(%)	100	100	100

Table 3-23. Formula & chemical composition of experimental basal diet

Item	%
Ingredients	
Corn, yellow	25.00
Wheat	33.06
Soybean meal(44%)	25.62
Wheat shorts	5.00
Animal fat	5.42
Molasses	3.50
Tricalcium phosphate	1.00
Limestone	0.40
L-Lysine-HCl	0.09
Salt	0.26
Vit and mineral mix[a]	0.10
Antibiotics[b]	0.05
Additives	0.50
Total	100.00
Chemical composition	
Crude protein	17.70
Crude fat	7.33
Crude fiber	2.76
Crude ash	4.40
Calcium	0.60
Total phosphous	0.55
Lysine	0.97
DE(kcal/kg)	3,500

[a] Supplied per kg diet 8,000 IU vitamin A, 1,500 IU vitamin D3, 40 IU vitamin E, 1.5mg vitamin K3, 1.0mg thiamine, 4.0mg riboflavin, 2mg vitamin B6, 20μg vitamin B12, 12mg pantothenic acid, 20mg niacin, 0.1mg biotin, 0.6mg folic acid; 60mg Fe, 15mg Cu, 25mg Mn, 0.2mg I, 0.25mg Se.

[b] Flavomycin 5g

procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였으며 5% 유의성 수준에서 Duncan검정을 처리평균간 실시하였다.

3. 결 과 및 고 찰

가. 육성성적

Table 3-24에는 복합제 첨가구와 대조구의 육성성적을 나타내었는데 일당증체량에서는 대조구와 저수준의 복합제 첨가구가 비슷한 결과를 보였고 고수준 복합제 첨가구에서는 대조구보다 향상된 결과를 보였다.
일일사료섭취량에서는 저복합제 첨가구가 2.34, 고복합제 첨가구가 2.26으로 대조구보다 각각 0.13, 0.05kg 향상된 결과가 나타났다.
사료전환효율은 고복합제 첨가구가 2.56으로 가장 좋았고 저복합제 첨가구는 대조구보다 낮은 효율을 보였다.

Table 3-24. Growth performance of finishing pigs fed diet supplemented with complexed medicated mixture

Item	Control	Low complex	High complex
Average daily gain(kg)	0.84±0.06	0.83±0.01	0.89±0.07
Daily feed intake(kg)	2.21±0.16	2.34±0.01	2.26±0.00
F/G	2.66±0.4	2.82±0.06	2.56±0.19

나. 소화실험

복합첨가제의 첨가결과 얻어진 사료의 소화율은 Table 3-25 및 3-26과

같다. 우선 Table 3-25에서 사료의 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율을 살펴보면 이유자돈의 경우 복합첨가제 첨가시 영양소의 소화율에 별 영향이 없는 것으로 나타났다. 그러나 육성돈의 경우 조단백질소화율은 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 sarsaponin 첨가수준간에는 이들 영양소의 소화율은 변화가 없었다.

Table 3-26에서 육성돈의 아미노산의 소화율을 살펴보면, 필수아미노산의 경우 아지닌, 이소류신, 류신, 페닐아라닌, 그리고 발린의 경우 복합첨가제의 첨가로 소화율이 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 복합첨가제 첨가수준간에는 차이가 없었다. 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산, 그리고 세린의 소화율이 복합첨가제 첨가시 무첨가대조구사료에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 첨가수준간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

Table 3-25. Effect of feeding complex supplement on nutrient digestibility of starter and growing pigs diet.

	Control (No medication)	Complex supplement (mg/kg)		SE1)
		Low	High	
Starter				
Dry matter	76.44	74.83	75.12	1.91
Crude protein	70.68	70.61	72.25	1.20
Gross energy	76.11	75.38	76.61	1.87
Grower				
Dry matter	69.54	70.86	70.13	1.51
Crude protein	66.63b	69.65a	72.43a	2.94
Gross energy	67.09	68.82	68.27	1.72

1) Pooled standard error.

ab Values on the same line without a common superscript differ (P<0.05).

Table 3-26. Apparent fecal digestibility of amino acids as affected by feeding complex supplement in growing pigs.

Amino acid	Control (No medication)	Complex supplement		SE1)
		Low	High	
Indispensable, %				
ARG	83.93b	85.36ab	88.03a	1.93
HIS	75.73	78.92	84.80	4.48
ILE	80.66b	88.75a	88.68a	4.06
LEU	60.24b	81.47a	75.90a	9.64
LYS	80.79	80.07	80.65	1.81
MET	78.82	76.92	78.38	1.22
PHE	80.54b	88.14a	88.53a	3.95
THR	83.25	83.64	86.05	1.52
VAL	69.95b	78.20a	74.72ab	3.80
Sub-mean	77.10b	82.38a	82.86a	2.94
Dispensable, %				
ALA	59.36b	69.37a	72.28a	6.07
ASP	61.78b	77.70a	78.92a	8.36
GLU	42.39b	62.17a	63.14a	10.29
GLY	78.51	74.18	77.14	2.23
PRO	71.40	76.25	73.72	2.59
SER	77.67b	85.31a	85.75a	4.05
TYR	67.68	73.85	72.64	3.36
Sub-mean	65.54b	74.12a	74.80a	4.66
Total, %	71.32b	78.25a	78.83a	3.79

1) Pooled standard error.

ab Values on the same line without a common superscript differ significantly ($p<0.05$).

4. 요 약

분취제어용 첨가물질과 propolis를 양돈 사료에 복합적으로 첨가해 육성성적과 영양소 소화율에 미치는 영향을 평가하면 다음과 같다.

가. 육성성적에서 일당증체량과 일일 섭식량 그리고 사료전환효율에서 대조구와 복합제 첨가구를 비교시 각각의 처리간의 유의적 개선효과를 보이지는 않았으나 고수준의 복합제 첨가구에서 전체적으로 대조구보다 개선된 결과를 보였다.

나. 영양소 소화율의 경우 이유자돈에서는 대조구에 비해 개선된 효과가 나타나지 않았지만 육성돈에서는 조단백질 소화율이 유의적으로 개선을 보였으며 건물과 에너지 소화율도 대조구에 비해 유의적 차이는 나타나지 않았지만 개선된 결과를 보이고 있다.

다. 육성돈에서의 아미노산 소화율의 경우 필수아미노산에서는 아지닌, 이소류신, 류신, 페닐아라닌 그리고 발린에서 복합제 첨가구가 대조구에 비해 유의적으로 개선되는 결과를 보였고 비필수 아미노산 중에서는 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산 그리고 세린의 소화율이 유의적인 개선 효과를 나타내었다.

5. 참고 문헌

Choi, H. L and J. D. Han. 1998. 우리나라 가축분뇨 처리현황.

Brumm, M. C., R대, E. R. Jr. and Mader, T. L. 1985. Effect of dietary sarsaponin and chlorotetracycline on pig performance. J. Anim. Sci. 61(Supple. 1) : 312

Brumm, M. C., Peo, E. R. Jr and Mader, T. L. 1985. Effect of dietary sarsaponin and chlorotetracycline on pig pergormance. J. Anim. Sci. 61(supple. 1) : 312

Cromwell, G. L., Stahly, T. S and Monegue, H. J. 1985. Efficacy of sarsaponin for weaning and growing-finishing swine housed at two animal densities. J. Anim. Sci. 61(suppl. 1) : 111

Presten, R. L., Bartles, S. J., May, J., Goodhall, S. R. 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. J. Anim. Sci. 65 : 481

Cromwell, G. L., Tumer, L. W., Gates, R. S., Lindemann, M. D., Traylor, S. L., Dozier, W. A and Monegue, H. J. 1998. Manipulation of swine diets to reduce odors and harmful gaseous emissions from manure.

Macrae, R., Robinson, R. K and Sadler, M. J. Encyclopaedia of food science food technology and nutrition. Vol.4. 2276-2278

Foster, J. R. 1983. Sarsaponin for growing-finishing swine alone and in combination with an antibiotic at different oig densities. J. Anim. Sci. 57(suppl.) : 245

Jacques, K. A. 1988. Yucca extract improves air quality and pig performance. Pigs. 4(5):8

Ma, M. D., Wung, L. C., Huang, Y. T and Fu, C. M. 1993. Effect of adding deodorizers to diets on the performance of pigs and the deodorization of pig wastes. 1. Preliminary observation of deodorizers in diets for pigs. Pig News and Information. 14(1) : 64

Tanaka, H., Kuroda, K. and Yonaga, M. 1992. Biological removal of VFA from animal waste. J. Anim. Sci. Technol,(Jpn). 63(1):54

B. S. Jeon., J. H. Kwng., Y. H. Yoo., J. C. Cha and H. S. Park. 1996. Effects of feeding enzymes, probiotics or yucca powder on pig growth and odor-generating substances in feces. korean. J. Anim. Sci., 38(1)52-58

제 5 절 육성돈사료에 대한 propolis의 첨가가 육성성적 및 돈육내 propolis 이행에 미치는 영향

1. 서 론

과학기술의 발달은 사람들의 문화와 의식수준을 끊임없이 향상시켜왔고 특히 건강과 직접적으로 관련된 식품에서의 문제는 이미 많은 인류가 민감해하는 사회적 논점(issue)으로 지목 받고 있다. 따라서 인류의 영양에 가장 큰 단백질과 지방의 공급원인 육류식품에 대한 관심도가 상당히 가중되고 있는 게 현 실정이다.

지난 반세기 동안 가축의 생산성 향상을 위해 사용되었던 항생제는 현재 육류식품내 잔류문제로 내성을 유발한다는 결과가 보고되면서 사용량과 종류에 대한 규제가 마련되고 있고 이미 유럽에서는 사료첨가물에 관한 유럽의회규정(Council Directive 70/524/EEC, '70. 11.23)을 개정(Council Regulation EC 2821/98)하여 1998년 12월부터 항생물질 중 아연바시트라신, 스피라마이신, 인산타이로신 및 버지니아마이신 등의 사료중 첨가를 금지하고 있는 등 앞으로도 가축용 항생제의 규제는 보다 엄격해질 것으로 예상된다.

이에 대한 대안으로 최근 연구자들은 자연에서 추출한 천연항생물질을 가축사료에 도입하여 적용시키는 연구를 활발히 추진 중에 있다.

최근 천연항생물질 중 propolis라는 물질이 관심을 끌고 있는데 propolis는 꿀벌이 여러 많은 식물체로부터 수집한 점착성 물질이다. 벌은 이를 밀납과 벌 자신이 식물체로부터 propolis를 수집할 때 분비하는 β

-glucosidase를 혼합하고 이 물질은 flavonoid 배당체를 flavonoid aglycones로 가수분해한다. 벌은 이 물질을 벌집의 빈틈이나 내부의 벽에 발라두어 외부로부터 침입하려는 벌레나 박테리아, 바이러스 등의 공격을 막아 벌집 내부를 무균상태로 유지하는 기능을 하며 항균작용이 뛰어난 것으로 알려져 있다(Grange et al.,1990; Krol et al.,1993; Aga et al.,1994; Park et al.,1998). 그 성분은 수지(樹脂) 50%, 밀랍(蜜蠟) 30%, 정유 등의 유성(油性)성분이 10%, 화분(花粉) 5% 그리고 유기물질 및 미네랄물질이 5%로 구성되어 있으며 다량의 페놀화합물도 검출되었고 최근에는 방부성물질로 알려진 퀘놀산 유도체가 propolis에서 검출된 보고도 있다(Park, 1998).

이렇게 propolis의 항균, 항바이러스, 소염성, 면역성 강화 등의 여러 약리적 작용이 밝혀지면서 건강식품과 화장품 첨가물질로 사용되고 있다. 그러나 가축사료에서의 첨가효과는 아직 보고되고 있지 않으며 따라서 본 시험에서는 propolis를 양돈사료 중에 두 가지 비율로 배합해 양돈에서 propolis의 항생효과가 발현 될 수 있는지 또한 투여한 propolis는 돈육으로 이행되는가를 평가하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험설계

본 시험은 춘천시 우두동 소재의 정진농장에서 1999년 7월 5일에서 9월 2일까지 60일간 실시되었다. 시험에 사용된 돼지는 50 60kg 정도의 삼원교잡(L*Y*D) 육성돈으로 시험구는 Control, Propolis 300ppm(pro-300) 그리고 Propolis 600ppm(pro-600) 투여구 등 총 3처리로 나누어 돈방당 5두씩 2반복으로 실험하였다.

나. 소화시험

Propolis를 배합사료에 첨가시 소화율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 사양시험에서 사용된 propolis를 사양시험과 같이 3처리(Control, pro-300, pro-600), 3반복으로 소화시험을 실시하였다. 시험동물은 삼원교잡종 (L*Y*D) 이유자돈(평균체중 7.1 kg)과 육성돈(평균체중 50.2 kg)을 각각 9두씩 완전임의배치하였다.

본 소화시험에 사용된 사료는 이유자돈 및 육성돈사료로서 가루형태였다. 소화시험은 시험사료에 Cr_2O_3 0.25%를 첨가하여 적응기간 4일후 2일간 분을 연속적으로 1일 2회 수집하여 개체별로 수집한 분을 섞은 다음 60℃ 건조기에서 24시간 건조후 1일간 실내에서 방치한 다음 분석에 활용하였다.

다. 분석실험

모든 시료의 일반성분은 AOAC (1990) 방법으로, 에너지는 bomb calorimeter (Parr Co., USA), 크롬은 spectrophotometer (Kontron 942)를 활용하여 분석하였으며, 아미노산분석은 6 N HCl로 24시간 동안 105℃에서 가수분해하여 Phenylisothiocyanate(PITC)로 유도체화하여 Phenylthiocarbamate (PTC) 아미노산을 만들어 HPLC (Waters 486) 로 UV (254nm) 검출기를 이용해서 분석하였다. 영양소 소화율계산은 Cr_2O_3을 이용한 지시제법으로 다음 공식을 이용하여 산출하였다.

$$영양소소화율 = 100 - \left(100 \frac{사료건물중의\ Cr_2O_3함량(\%)}{분건물중의\ Cr_2O_3함량(\%)} \times \frac{분중의\ 영양소\ 함량(\%)}{사료중의\ 영양소\ 함량(\%)}\right)$$

라. 근육내 잔류 성분분석

돼지고기 및 닭고기를 과다한 지방 및 식용으로 할 수 없는 부분을 제거한 뒤 잘게 썰어 비이커에 담은 뒤 조직균질기로 균질화한 다음 5g을 정확히 달아 conial tube에 옮긴 뒤 초순수 2㎖ 및 ethylacetate를 6㎖ 가한 뒤 400rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액을 4.2㎖ 취한후 질소를 이용하여 증발시켜 농축하였다. 농축된 시료가 담긴 시험관에 chloroform과 hexane을 1:1(v/v)로 혼합한 용액을 1.4㎖ 넣어 잔류물을 확산시킨 뒤 여기에 초순수를 정확히 0.7㎖ 가한후 혼합하여 상층액을 취하여 실험에 사용하였다.

HPLC조건으로 Injection volume은 20㎕로 했으며, 각각의 시료는 μ Bondapak C18 ,10㎛ column (3.9×150㎜)을 사용하여 Kontron 422 HPLC pump, detector 430A, thermostat controller 402(50c) 을 이용하여 측정하였다. 용출액으로 CH_3OH, CH_3COOH, H_2O을 각각 60:35:5 의 비율로 사용하였다. 최적의 chromatogram을 얻기 위하여 272㎚에서 측정하였다.

마. 시험사료

고상의 propolis는 강원대학 동물영양자원공학과 소재의 사료공장에서 dry-ice와 4 : 1의 비율로 혼합한 후 hammer-mill을 이용해 미세하게 분쇄하여 이 후 사료에 배합시까지 재결합 방지를 위해 -10℃이하의 냉동고에서 보관하였다.

Propolis와 기초사료의 배합비율은 다음 Table 3-27과 같이 control구에는 사료중 항생물질은 물론 propolis를 첨가하지 않았고, Pro-300, 과 Pro-600에는 일정비율로 첨가하였다.

시험에 사용된 사료는 시판되고 있는 가루배합사료를 기초로 하였고 원료의 배합비와 화학적조성은 다음 Table 3-28에 나타내었다.

Table 3-27. Propolis addition rate to the growing pig diet

(unit : %)

	Control	Pro-300	Pro-600
Propolis	0	0.06	0.12
Feed mixture	100	99.94	99.88
Total	100	100	100

Table 3-28. Formula and chemical composition of experimental basal diet

Ingredients	(%)
Corn, yellow	25.00
Wheat	33.06
Soybean meal(44%)	25.62
Wheat shorts	5.00
Animal fat	5.42
Molasses	3.50
Tricalcium phosphate	1.00
Limestone	0.40
L-Lysine-HCl	0.09
Salt	0.26
Vit and mineral mix[a]	0.10
Antibiotics[b]	0.05
Additives	0.50
Total	100.00
Chemical composition(%)	
Crude protein	17.70
Crude fat	7.33
Crude fiber	2.76
Crude ash	4.40
Calcium	0.60
Total phosphous	0.55
Lysine	0.97
DE(kcal/kg)	3,500

a Supplied per kg diet : vit-A 8,000 IU, vit-D3 1,500 IU, vit-E40 IU, vit-K3 1.5mg, thiamine 1.0mg, riboflavin 4.0mg, vit-B6 2mg, vit-B12 20μg , pantothenic acid 12mg, niacin 20mg, biotin 0.1mg, folic acid 0.6mg; Fe 60mg, Cu 15mg, Mn 25mg, I 0.2mg, Se 0.25mg.

b Flavomycin 5g

* Calculated value

바. 통계처리

모든 처리구의 통계적 분석방법은 SAS program(1985)의 ANCVA procedure를이용하여 분산분석을 실시하였고, 5% 유의성 수준에서 Duncan의 다중검정법(Snedecor와 Cochran, 1980)을 처리평균간 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 육성성적

Table 3-29에서는 Propolis 첨가구에서의 육성성적을 나타내었다. 일당증체량은 대조구보다 propolis 첨가구에서 모두 개선된 결과를 보였고, 일일 사료섭취량에서는 propolis 600 첨가구에서 대조구에 비해 낮은 섭취량을 보였지만 사료전환효율에서는 가장 좋은 효율을 보이고 있다. propolis 300과 600 첨가시를 비교할 때 일당증체량이나 사료전환효율이 propolis 600 첨가구가 propolis 300 첨가구보다 대체적으로 개선효과가 높은 것으로 나타났지만 통계상 유의적 차이는 전 처리구에서 나타나지 않았다. propolis 600처리구에서는 대체적으로 사료섭취량에서 많이 떨어지는 결과를 보이고 있으므로 섭취량을 증가시킬 수 있는 방안이 검토되어진다면 Propolis 600 첨가구에서 훨씬 더 좋은 개선효과를 기대할 수 있다고 판단된다.

Table 3-29. Growth performance of finishing pigs fed diet supplemented with propolis

Item	Control	Propolis	
		300	600
Average daily gain(kg)	0.84±0.06	0.85±0.13	0.86±0.13
Daily feed intake(kg)	2.21±0.16	2.25±0.00	2.07±0.00
F/G	2.66±0.4	2.68±0.4	2.40±0.29

나. 소화실험

Propolis 첨가결과 얻어진 사료의 소화율은 Table 3-30 및 3-31과 같다. 우선 Table 3-30에서 사료의 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율을 살펴보면 이유자돈의 경우 propolis 600 mg/kg 첨가시 건물과 에너지의 소화율이 대조구와 propolis 300 mg/kg에 비해 유의적으로(P<0.05) 개선되는 결과를 가져왔다. 그러나 육성돈의 경우 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율은 propolis 첨가시 대조구에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05). propolis첨가수준간에는 차이가 없었다.

Table 3-31에서 아미노산의 소화율을 살펴보면, 필수아미노산의 경우 아지닌, 히스티딘, 류신의 경우 propolis 600mg/kg 첨가시 대조구에 비해 유의적으로(P<0.05) 개선되었으며, 발린의 경우 propolis 300 및 600 mg/kg 모두 대조구에 비해 소화율이 유의적으로(P<0.05) 개선되었다. 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산, 그리고 글루타민산의 소화율이 propolis 첨가시 무첨가 대조구사료에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 첨가수준간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

Table 3-30. Effect of feeding propolis on nutrient digestibility in starter and growing pigs

	Control (No sarsaponin)	Propolis (mg/kg)		SE[1)]
		300	600	
Starter				
Dry matter	75.77b	74.50b	77.49a	0.87
Crude protein	71.32	70.36	71.94	1.94
Gross energy	76.97b	77.03b	78.11a	0.97
Grower				
Dry matter	69.87b	74.86a	73.72a	3.02
Crude protein	67.44b	73.51a	73.72a	4.42
Gross energy	68.13b	73.65a	72.12a	2.87

1) Pooled standard error.

ab Values on the same line without a common superscript differ ($P<0.05$).

Table 3-31. Apparent fecal digestibility of amino acids as affected by feeding propolis in growing pigs.

Amino acid	Control (No Propolis)	Propolis (mg/kg) 300	Propolis (mg/kg) 600	SE1)
Indispensable, %				
ARG	83.93b	84.40b	87.10a	1.44
HIS	75.73c	83.43b	86.01a	4.67
ILE	80.66	86.59	86.70	4.18
LEU	60.24b	70.45ab	76.06a	7.35
LYS	80.79	80.61	81.15	3.48
MET	78.82	64.51	71.17	7.42
PHE	80.54	84.96	85.35	3.42
THR	83.25	79.56	80.40	5.68
VAL	69.95b	80.47a	81.48a	5.74
Sub-mean	77.10	79.44	81.71	2.62
Dispensable, %				
ALA	59.36b	69.63a	72.24a	6.07
ASP	61.78b	79.15a	80.26a	9.45
GLU	42.39b	61.55a	64.68a	10.78
GLY	78.51	78.19	78.42	1.15
PRO	71.40	81.42	83.19	5.87
SER	77.67	83.36	84.70	3.79
TYR	67.68	68.52	71.24	2.20
Sub-mean	65.54b	74.55a	76.39a	5.13
Total, %	71.32b	76.99a	79.05a	3.66

1) Pooled standard error.

ab Values on the same line without a common superscript differ significantly ($p<0.05$).

다. 근육내 잔류성분 분석

프로폴리스의 화학적 구성 성분 중에서 현재 약리학적으로 중요시되는 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaricacid (4-hydroxy-cinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) and rutin (flavone glycoside) 등의 4가지 물질을 HPLC를 이용하여 근육 내 잔류 여부를 측정하였다.

특히, 투여한 프로폴리스 구성 성분 등은 꿀벌들이 식물에서 채집하여 벌들의 타액과 기타 생리학적 작용으로 생산되는 천연의 물질(FAO, 1996) 이므로 프로폴리스의 원료가 되는 식물의 지역적 분포 및 기후에 따라 프로폴리스의 구성성분의 차이가 있음이 알려져 있다(Lavie. 1976).

또한, 현재까지 밝혀진 프로폴리스의 화학적 구성성분은 160여가지 정도 (Green-way et al., 1990)이나, 현재 본 연구과제의 기초연구수행에 있어 중요시되는 위에 4가지 성분 들 중, caffeic acid (3.4-dihydroxy cinnamic-acid)가 프로폴리스를 투여한 닭의 근육에서 검출되었음이 확인되어, 프로폴리스를 투여한 돼지에서의 간, 근육, 및 장 등에서 위에 열거한 물질등이 검출되는지 알기 위하여 본 연구를 실시하였는데 정량분석 잔류 물질인 Caffeic acid 의 대표적인 약리학적 특성은 antiviral activity(Konig and Dustmann, 1985), anti-bacterial activity 작용이 gram-positive and gram-negative micro-organisms(Villanueva et al.,1970)에 대하여 있으며, anti-inflammatory activity.(Bankova et al.,1983)작용 등이 보고된 바 있다.

Table 3-32. 및 Fig. 1, 2 에서 프로폴리스를 사전 투여한 닭의 가슴근육과 다리근육에서의 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid)가 각각 0.25ppm, 0.19ppm농도로 검출되었으나, p-coumaric acid (4-hydroxycinna-mic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 와 rutin (flavone glycoside)등은 검출되지 않았다.

Fig. 3. 에서 프로폴리스를 사전 투여한 돼지의 복부 근육에서의 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxy -cinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 와 rutin(flavone glycoside)은 검출되지 않았으나, 알 수 없는 물질들의 peak가 검출되었다. 이는 프로폴리스가 함유한 다량의 화학적 성분들이 돼지의 근육 내에서 분해된 후 생기는 물질이라 사료되며 차후 본 과제의 수행과 별도로 기준물질을 보충하여 제시된 peak의 성분을 확인함이 필요하다 사료된다.

Fig. 4, 5 에서 프로폴리스를 사전 투여한 돼지의 소장 및 간에서의 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid (4-hydroxy -cinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 와 rutin (flavone glycoside) 역시 검출되지 않았으나, 알 수 없는 물질들의 peak 가 근육에서와 비교 시 유사하게 검출되었다. 이는 프로폴리스가 함유한 다량의 화학적 성분들이 돼지의 근육 내에서 분해된 후 생기는 물질이라 사료되며 차후 본 과제의 수행과 별도로 제시된 peak의 성분을 확인함이 필요하다 사료된다.

Table 3-32. Composition of caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) from chicken's chest and chicken's leg

	caffeic acid(3,4- dihydroxycinnamic acid)
chicken's chest	0.25ppm
chicken's leg	0.19ppm

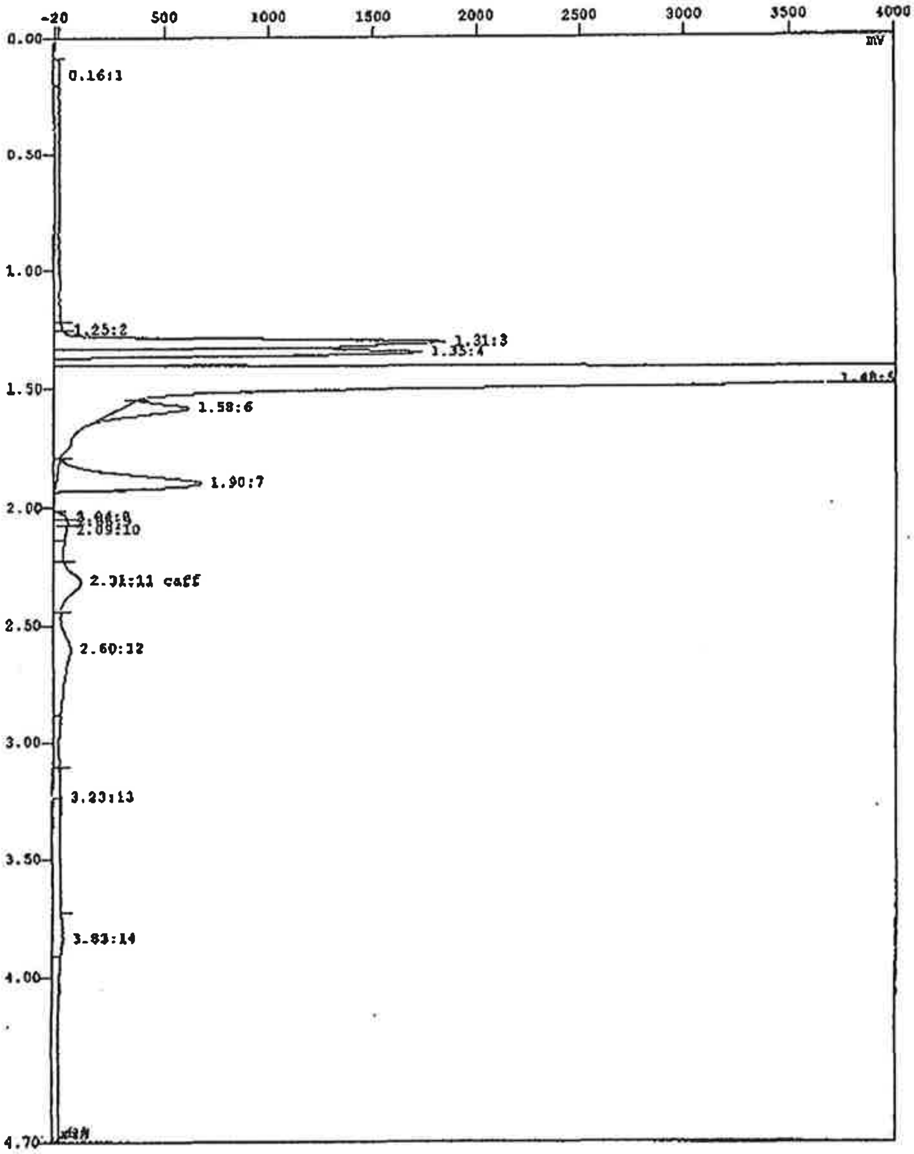


Fig 3-1. HPLC diagram for breast muscle of broiler fed propolis

＊ 2.31 CAFF : caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)

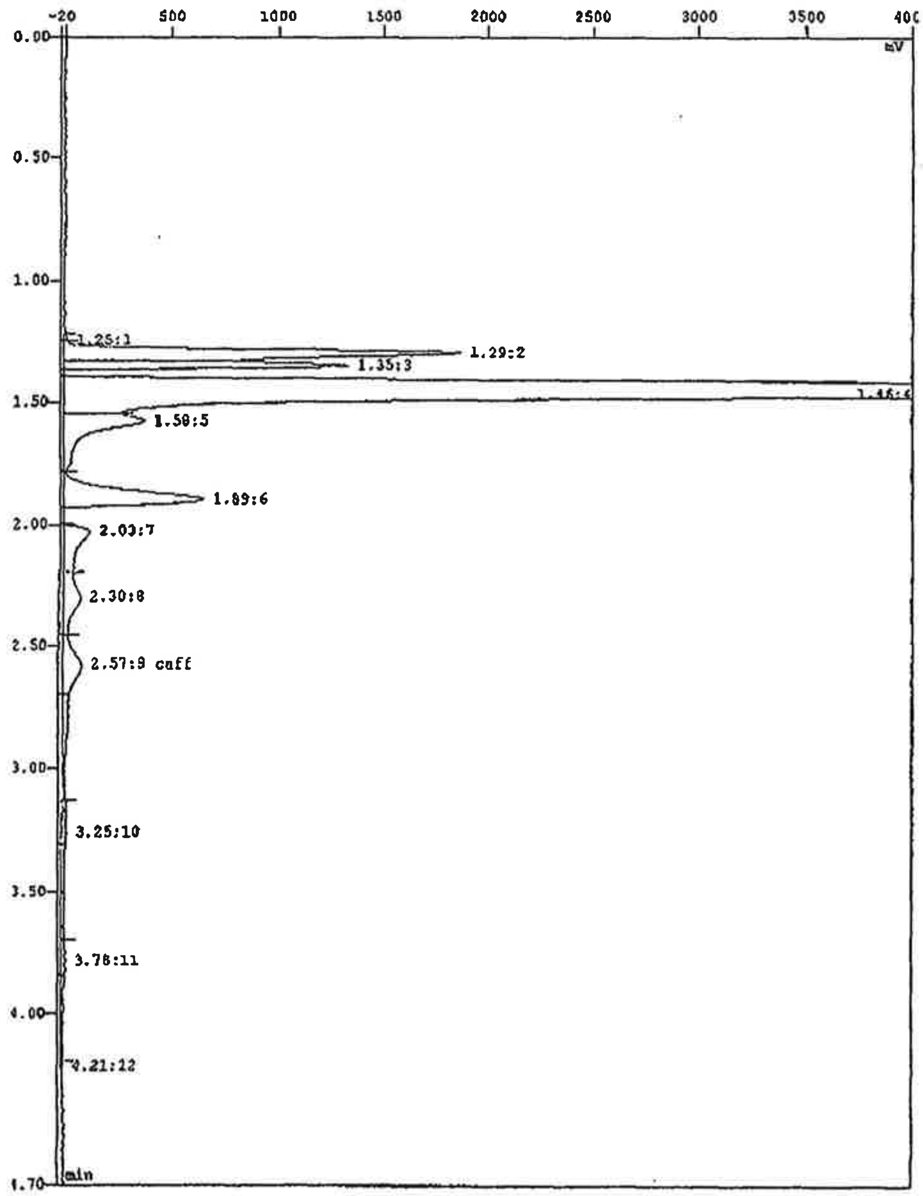


Fig 3-2. HPLC diagram for drumstick of broiler fed propolis

* 2.31 CAFF : caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid)

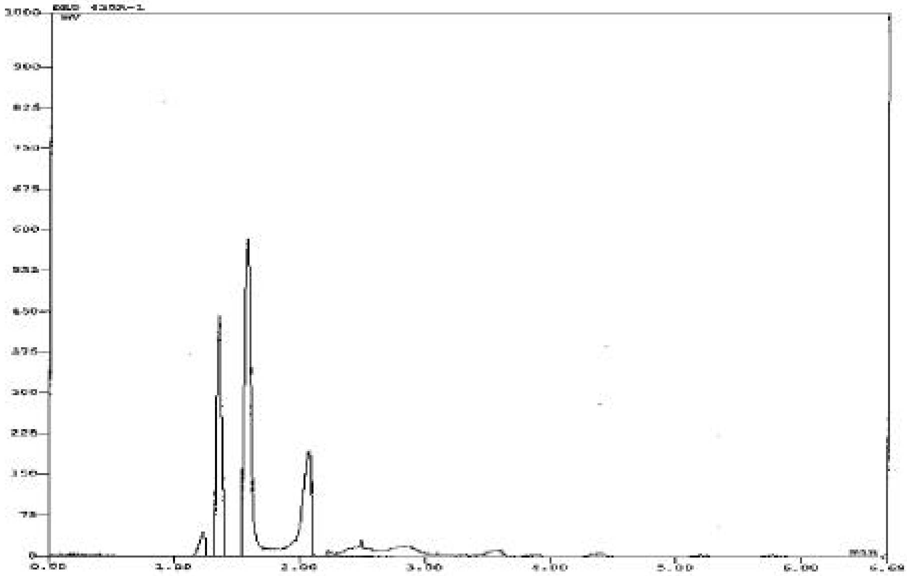


Fig 3-3. HPLC profiles for belly muscle of pigs fed propolis

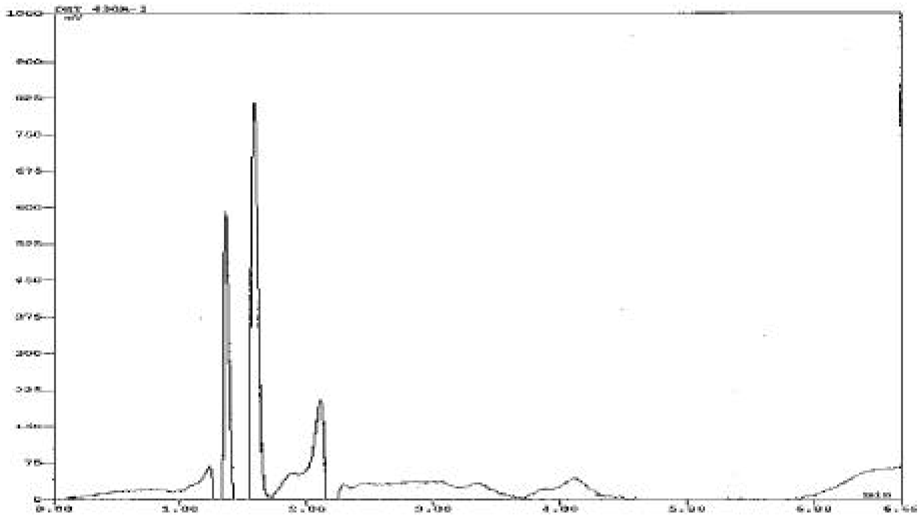


Fig 3-4. HPLC profile with small intestine of pigs fed propolis.

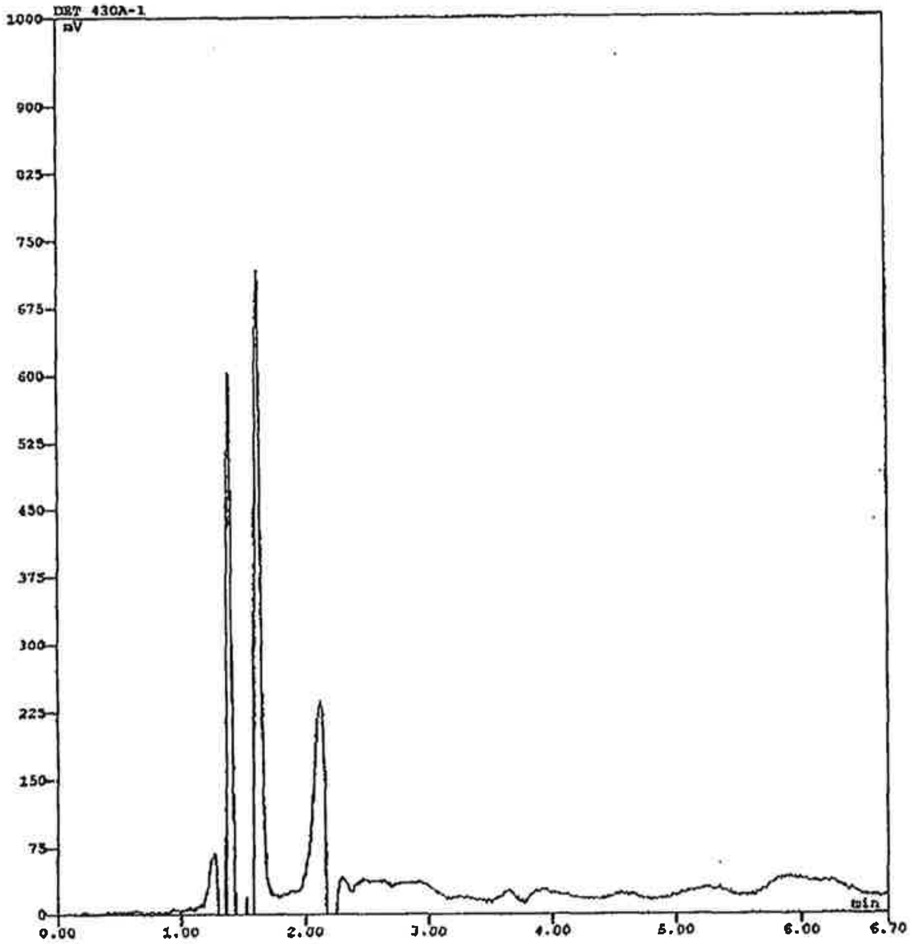


Fig 3-5. HPLC profile for liver of pigs fed propolis.

4. 요 약

Propolis첨가 사료의 양돈급여시의 육성성적 및 소화율의 결과는 다음과 같다.

가. Propolis 첨가구에서 대조구보다 일당증체량과 사료효율이 개선된 수치를 보이고 있으나 유의성은 검정되지 않았고 일일 사료섭취량에 있어서는 대체적으로 비슷하거나 오히려 낮은 결과를 보였다. 이는 Propolis의 약리적 기능으로 볼 때 사람에서의 적용결과와는 많이 다른 결과를 보이고 있으나 실험기간이 60일로 자돈부터 비육기까지 꾸준히 급여하지 않았다는 것과, 적정수준의 첨가량이 아직 밝혀지지 않았다는데 그 원인이 있는 것으로 판단된다. 따라서 Propolis의 적정수준 첨가에 대한 연구가 좀 더 필요하고 propolis와 결착하여 사료에 첨가할 수 있는 첨가제에 대한 연구가 많이 이루어져야 할 것이다.

나. 소화율에서 이유자돈의 경우 Pro-600처리구에서 건물과 에너지 소화율이 대조구나 pro-300처리구보다 유의적 개선결과를 보였고, 육성돈에서는 Pro-300과 600에서 첨가수준간의 차이는 없이 건물, 조단백질 및 에너지 소화율이 대조구에 비해 유의적 개선결과를 보였다.

다. 아미노산의 소화율에서는 필수아미노산의 경우 아지닌, 히스티딘, 류신의 경우 Pro-600 처리구에서 대조구에 비해 유의적 개선결과를 보였고, 발린의 경우에는 Pro-300과 600에서 모두 대조구보다 개선되는 결과를 보였다. 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산 그리고 글루타민산의 소화율이 Pro-300과 600처리구에서 첨가수준간의 차이없이 대조구보다 유의적 개선결과를 보였다.

라. Propolis를 투여한 돼지의 근육으로는 propolis가 이행되지 않는 것으로 나타났다.

5. 참고 문헌

Takino, Y. and S. Mochida. 1982. Propolis, its chemical constituents and biological activities. Honeybee Science 3: 145.

Lavie, P. 1978. The antibiotic from propolis, PROPOLIS, pp.41-48. Apimondia Publishing House.

Christova, V. M. 1985. A Propolis-enriched was therapy against inflammatory diseases of the articular-muscular system. The XXXth Internation Apicultural Congress. pp. 429-431. Apinondia.

Brumm, M. C., Peo, E. R. Jr and Mader, T. L. 1985. Effect of dietary sarsaponin and chlorotetracycline on pig pergormance. J. Anim. Sci. 61(supple. 1) : 312

Cromwell, G. L., Stahly, T. S and Monegue, H. J. 1985. Efficacy of sarsaponin for weaning and growing-finishing swine housed at two animal densities. J. Anim. Sci. 61(suppl. 1) : 111

Presten, R. L., Bartles, S. J., May, J., Goodhall, S. R. 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. J. Anim. Sci. 65 : 481

Cromwell, G. L., Turner, L. W., Gates, R. S., Lindemann, M. D., Traylor, S. L., Dozier, W. A and Monegue, H. J. 1998. Manipulation of swine diets to reduce odors and harmful gaseous emissions from manure.

Macrae, R., Robinson, R. K and Sadler, M. J. Encyclopaedia of food science food technology and nutrition. Vol.4. 2276-2278

Foster, J. R. 1983. Sarsaponin for growing-finishing swine alone and in combination with an antibiotic at different pig densities. J. Anim. Sci. 57(suppl.) : 245

Jacques, K. A. 1988. Yucca extract improves air quality and pig performance. Pigs. 4(5):8

Ma, M. D., Wung, L. C., Huang, Y. T and Fu, C. M. 1993. Effect of adding deodorizers to diets on the performance of pigs and the deodorization of pig wastes. 1. Preliminary observation of deodorizers in diets for pigs. Pig News and Information. 14(1) : 64

제 6 절 육성돈사료에 분뇨악취 저감물질의 첨가가 육성성적에 미치는 영향

1. 서 론

최근 들어 양돈 과정에서 생성되는 분뇨악취를 저감시켜 양돈의 입지를 활성화시키고 따라서 간접적으로 양돈산업의 생산성을 개선하려는 시도가 세계적 관심을 끌고 있다. 양돈과정에서의 근원적 악취저감은 대개 사료내 영양소 균형조절과 악취저감물질의 첨가를 통하여 이루어지고 있다. 그 중에서도 사료에 첨가할 수 있는 편리성을 가지며 영양소의 이용, 사육성적에 악 영향을 미치지 않으면서도 분뇨내 악취원인물질의 총량을 감소시키거나 또는 악취의 발현을 저해시킬 수 있는 특정물질에 대한 관심이 집중되고 있다.

이제까지 돼지사료에 eucca-extract를 첨가하여 분뇨의 악취발생을 감소시킨 예가 보고된 바 있다(Cromwell et al. 1985). 그러나 그 효과가 발생 암모니아수준의 일부수준 감소로 미약하여 여전히 악취가 잔존하고 있어서 암모니아뿐 아니라 타 악취원에도 영향을 미칠 수 있는 악취저감물질의 개발이 요구되고 있다. 또한 국내 양돈업에 이를 적용하고자 할 경우 eucca-extract의 가격이 너무 비싸 양돈산업에 범용하기 어려운 실정이다.

따라서 본 연구진은 국내산 식물 saponin을 기초로 하여 악취저감에 영향을 미칠 수 있는 복합물, 장내 미생물의 발효 제어에 영향을 줄 수 있는 물질 등을 선별 조합하여 악취제어제(Deodorizer)를 개발하였다. 본 시험은 개발된 악취제어제를 사료내에 일정 수준별로 첨가하여 육성성적과 분중 악취관련 gas의 방출량에 미치는 영향을 평가하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 악취제어제(Deodorizer :DC)의 제조

본 시험에 사용된 악취제어제는 국내산 saponin 함유 식물로서 도라지, 더덕, 인삼 추출박 등을 기본으로 활용하였고 그 외 악취 흡착제 및 장내 수분제어제로서 alginate 함유 해초류, 규산염광물질류, 또한 장내 발효제어제로서 cheto-oligosaccharide(cos) 등을 혼합 가공하여 제조하였다.

나. 시험설계

시험은 춘천시 강촌 소재의 양돈농가에서 1999년 10월 15일부터 11월 13일까지 30일간 실시되었고 시험에 사용된 돼지는 사원교잡종(D*H*L*Y)으로 Control, DC-50, DC-100으로 3처리를 두었다. 총 36마리의 육성기의 돼지(개시체중 62.02±7.16kg)를 각 처리별 돈방당 6두씩 무작위 배치하였다.

다. 시험사료

시험에 사용된 사료는 시판 제조된 가루사료를 구입하여 강원대학 동물영양자원공학과 소재 사료공장에서 세등분한 후 대조구 사료는 펠렛가공을 하였고 DC-50과 DC-100처리구는 복합첨가제 혼합 후 펠렛가공하였다.

원료사료의 배합비와 각 처리별 첨가제의 첨가 수준은 다음 Table 3-33과 같다.

Table 3-33. 각 처리별 사료의 악취제어제 첨가수준(%)

Item \ Treatment	Control	Deodo-50	Deodo-100
Deodorizer	0	0.7	1.4
Feed mixture	100	99.3	98.6
Total	100	100	100

Table 3-34. 기초사료의 배합비 및 일반성분조성

원료사료명	함량(%)
옥수수	35.7
소 맥	14.2
호 밀	15.0
루핀커넬	12.0
대두박	13.68
우 지	3.0
당 밀	3.0
액상라이신	0.54
석회석	0.26
제3인산칼슘	1.34
식 염	0.28
부형제	0.555
미네랄(육성돈용)	0.2
비타민(육성돈용)	0.075
염화콜린	0.07
C.T.C(16.7%)	0.06
에톡시퀸	0.04
합 계	100.0
일반성분	
수 분	11.71
조단백질	16.67
조지방	7.27
조섬유	4.10
조회분	4.46
칼 슘	0.65
인	0.56

시험에 사용된 원료사료의 배합비 및 일반성분조성은 다음 Table 3-34와 같다.

사료의 제조는 본 과의 사료공장에 있는 100kg 용량의 Multiple mixer를 이용해 원료사료와 각 처리별 복합제의 혼합을 하였고 이 과정에서 Pellet 가공을 원활하게 하기위해 각 bach당 수분을 5%씩 첨가하였다.

시험사료의 Pellet 가공은 직경 5.7㎜의 die를 사용하였고 feeder의 속

도는 각각의 처리에서 1200rpm으로 원료 투입량을 일정하게 유지하여 pelleting시 압력을 일정하게 하였고 pellet 가공후 열풍건조기에서 각각 3시간씩 cooling 처리하였다.

각 시험사료의 pellet hardness와 durability는 다음 table 3-35과 같다.

Table 3-35. Hardness and durability of pellet diet

	Control	DO-50	DO-100
hardness(㎏/㎠)	1.84±0.31	2.8±0.21	3.85±0.42
durability(%)	93.8±0.1	93.15±0.05	92.57±0.03

pellet 사료의 경도는 DO-100>DO-50>대조구의 순으로 나타났으며, 이는 첨가제중 결착기능이 있는 Zeolite와 illite의 첨가에 따른 효과로 판단된다. 이와는 반대로 내구도 에서는 오히려 대조구에 비해 DO-50 처리구와 DO-100처리구에서 조금씩 낮은 결과가 나타났다.

라. 소화시험

소화시험은 시험사료에 Cr_2O_3 0.25%를 첨가하여 적응기간 4일 후 2일간 분을 연속적으로 1일 2회 수집하여 개체별로 수집한 분을 섞은 다음 60℃ 건조기에서 24시간 건조후 1일간 실내에서 방치한 다음 풍건량을 평량하여 소화율계산에 활용하였다.

마. 시료의 분석 및 통계처리

모든 시료의 일반성분은 AOAC (1990) 방법으로, 에너지는 bomb calorimeter (Parr Co., USA), 크롬은 spectrophotometer (Kontron 942)를 활용하여 분석하였으며, 아미노산분석은 6 N HCl로 24시간 동안 105℃

에서 가수분해하여 Phenylisothiocyanate(PITC)로 유도체 화하여 Phenylthiocarbamate (PTC) 아미노산을 만들어 HPLC (Waters 486) 로 UV (254nm) 검출기를 이용해서 분석하였다. 영양소 소화율계산은 Cr_2O_3을 이용한 지시제법으로 다음 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{영양소소화율} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{사료건물중의 } Cr_2O_3 \text{함량(\%)}}{\text{분건물중의 } Cr_2O_3 \text{함량(\%)}} \times \frac{\text{분중의 영양소 함량(\%)}}{\text{사료중의 영양소 함량(\%)}}\right)$$

본 시험에서 얻어진 모든 자료는 SAS프로그램 (1985) 을 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리 평균간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법 (Snedecor와 Cochran, 1980) 을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 육성성적

육성성적을 살펴보면 일당증체량에서 대조구가 0.94±0.02, DC-50이 1.01±0.02 그리고 DC-100이 0.98±0.03으로 DC-50>DC-100>대조구의 순으로 나타났지만 통계처리상 유의적 차이를 보이지는 않았다. 일일 사료 섭식량은 대조구가 2.57±0.06, DC-50이 2.71±0.14 그리고 DC-100이 2.63±0.13로 나타나 DC-50>DC-100>대조구의 순으로 일일 사료섭식량이 나타났다. 사료효율은 대조구가 2.73, DC-50이 2.62±0.09 그리고 DC-100이 2.68±0.06으로 DC-50>DC-1000>대조구의 순으로 효율이 좋게 나타났으나 유의적 차이는 보이지 않았다.

Table 3-36. Growth performance of swine

Treatment / Item	Control	DO-50	DO-100
ADG(kg)	0.94±0.02	1.01±0.02	0.98±0.03
ADFI(kg)	2.57±0.06	2.71±0.14	2.63±0.13
F/G	2.73±0.00	2.62±0.09	2.68±0.06

나. 소화시험

Deodorizer의 첨가결과 얻어진 사료의 소화율은 Table 3-37 및 3-38과 같다. 우선 Table 3-37에서 사료의 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율을 살펴보면 이유자돈의 경우 DC-100 첨가시 건물의 소화율이 대조구와 DC-50 첨가구에 비해 유의적으로(P<0.05) 개선되었으나 조단백질과 에너지 소화율은 별 영향이 없는 것으로 나타났다. 그러나 육성돈의 경우 DC-100 첨가시 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율이 대조구나 DC-50 첨가구에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05).

Table 3-38에서 육성돈에 대한 사료중 아미노산의 소화율을 살펴보면, 필수아미노산의 경우 히스티딘, 그리고 발린의 경우 deodorizer의 첨가로 소화율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 deodorizer 첨가시 이소류신과 트레오닌의 소화율은 대조구에 비해 오히려 떨어지는 경향이 있었으나 전체적으로 보아 DC-100 첨가시 필수아미노산의 소화율은 개선되었다(P<0.05). 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산, 프로린, 그리고 세린의 소화율이 deodorizer 첨가시 무첨가 대조구사료에 비해 유의적으로 개선되었다(P<0.05). 그러나 전반적으로 아미노산의 소화율은 DC-100 첨가시 대조구에 비해 유의적으로(P<0.05) 개선되는 것으로 나타났다.

Table 3-37. Effect of feeding deodorizer on nutrient digestibility in starter and growing pigs

	Control (No sarsaponin)	DO-50	DO-100	SE[1)]
Starter				
Dry matter	75.12b	75.35b	76.37a	1.33
Crude protein	70.15	69.58	70.22	2.12
Gross energy	77.21	77.14	76.15	1.79
Grower				
Dry matter	68.75b	68.66b	74.77a	2.75
Crude protein	67.83b	65.25b	74.57a	3.54
Gross energy	67.54b	66.70b	72.88a	3.41

1) Pooled standard error.

abc Values on the same line without a common superscript differ ($P<0.05$).

Table 3-38. Apparent fecal digestibility of amino acids as affected by feeding deodorizer in growing pigs

Amino acid	Control (No sarsaponin)	DO-50	DO-100	SE[1)]
Indispensable, %				
ARG	83.93	82.60	82.68	0.85
HIS	75.73b	81.24a	82.62a	3.23
ILE	80.66a	69.77c	73.49b	4.81
LEU	60.24b	70.71a	73.70a	6.17
LYS	80.79	80.30	82.05	1.77
MET	78.82a	71.34b	77.39a	3.59
PHE	80.54a	75.60b	79.97a	2.48
THR	83.25a	73.04c	78.46b	4.49
VAL	69.95c	73.83b	77.00a	3.10
Sub-mean	77.10ab	75.38b	78.59a	1.49
Dispensable, %				
ALA	59.36c	64.99b	68.31a	3.96
ASP	61.78b	85.31a	87.90a	12.49
GLU	42.39c	50.04b	55.99a	5.99
GLY	78.51a	74.34b	77.22a	1.88
PRO	71.40b	82.99a	84.78a	6.34
SER	77.67b	79.92ab	82.48a	2.19
TYR	67.68	62.08	66.83	2.87
Sub-mean	65.54c	71.38b	74.79a	4.08
Total, %	71.32b	73.38b	76.69a	2.39

1) Pooled standard error.

ab Values on the same line without a common superscript differ significantly ($p<0.05$).

4. 요 약

가. 육성돈에서 고수준의 deodorizer 첨가시 건물, 조단백질 및 에너지의 소화율이 대조구나 저수준의 deodorizer 첨가시보다 유의적으로 개선되었다(P<0.05).

나. 필수 아미노산의 경우 deodorizer의 첨가시 히스티딘과 발린의 소화율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었고, 비필수 아미노산의 경우 아라닌, 아스파르트산, 글루타민산, 프로린 그리고 세린의 소화율이 대조구에 비해 유의적으로 개선되었다.

다. 육성성적에서 악취제어용 복합첨가제가 0.7% 첨가된 DO-50에서 통계처리상 유의적 차이는 보이지 않았지만 증체량, 사료섭식량, 사료효율에서 가장 좋은 개선 효과를 보였고 따라서 양돈사료에서 적정수준의 deodorizer 첨가는 육성성적에 효과가 있는 것으로 판단되었다.

5. 참고 문헌

Brumm, M. C., Peo, E. R. Jr and Mader, T. L. 1985. Effect of dietary sarsaponin and chlorotetracycline on pig pergormance. J. Anim. Sci. 61(supple. 1) : 312

Cromwell, G. L., Stahly, T. S and Monegue, H. J. 1985. Efficacy of sarsaponin for weaning and growing-finishing swine housed at two animal densities. J. Anim. Sci. 61(suppl. 1) : 111

Presten, R. L., Bartles, S. J., May, J., Goodhall, S. R. 1987. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. J. Anim. Sci. 65 : 481

Cromwell, G. L., Tumer, L. W., Gates, R. S., Lindemann, M. D., Traylor, S. L., Dozier, W. A and Monegue, H. J. 1998. Manipulation of swine diets to reduce odors and harmful gaseous emissions from manure.

Macrae, R., Robinson, R. K and Sadler, M. J. Encyclopaedia of food science food technology and nutrition. Vol.4. 2276-2278

Foster, J. R. 1983. Sarsaponin for growing-finishing swine alone and in combination with an antibiotic at different oig densities. J. Anim. Sci. 57(suppl.) : 245

Jacques, K. A. 1988. Yucca extract improves air quality and pig performance. Pigs. 4(5):8

Ma, M. D., Wung, L. C., Huang, Y. T and Fu, C. M. 1993. Effect of adding deodorizers to diets on the performance of pigs and the deodorization of pig wastes. 1. Preliminary observation of deodorizers in diets for pigs. Pig News and Information. 14(1) : 64

Tanaka, H., Kuroda, K. and Yonaga, M. 1992. Biological removal of VFA from animal waste. J. Anim. Sci. Technol,(Jpn). 63(1):54

B. S. Jeon., J. H. Kwng., Y. H. Yoo., J. C. Cha and H. S. Park. 1996. Effects of feeding enzymes, probiotics or yucca powder on pig growth and odor-generating substances in feces. korean. J. Anim. Sci., 38(1)52-58

제 4 장 천연항생물질 propolis의 추출 및 가축의 질병방제효과 검증

제 1 절 서 론

최근 국내의 축산업의 기하 급수적인 발전과 더불어 수많은 외래성 가축전염병의 발생도 상당히 증가하였다. 그리고 이와 같은 가축의 질병의 치료 및 예방의 목적으로 사용되는 항생제의 양도 엄청나서 이는 국민의 공중보건학적인 측면에서 위험 수위에 이를 정도에 다 달았다.
특히 국내 축산의 경우 작은 공간에서 밀집사육을 통한 가축의 생산성의 극대화는 선진 외국과 달리 좁은 공간을 활용할 수밖에 없는 국내의 현실은 항생물질의 과용 등의 문제를 유발하여왔다.
그러므로 이러한 문제점을 인식하고 이에 걸 맞는 사육여건을 맞춰 나아가는 것은 매우 의미가 있다고 하겠다. 즉 기존의 항생물질의 무분별한 사용을 최소화하면서 cross-contamination이 없는 약물의 선별이 청정 축산물의 생산을 위한 기본 요건이다.

특히 1997년 7월1일자로 국내의 축산물 시장이 완전히 개방되어 항생제의 무분별한 사용 시 수입축산물에 대한 경쟁력을 상실할 수 있으며 특히 이제까지 국내의 과량의 항생제를 사용한 고비용 축산물 생산의 형태에서 다양한 flavonoids에 의한 항균 및 면역증강효과를 함유한 propolis를 항생제 대용으로 사용할 시 HACCP제도의 도입에 의한 경제적인 비용 등을 줄일 수 있어 청정 축산물의 생산이 가능하며 이는 한국 축산의 존립에 중요한 역할을 할 수 있을 것이다.

최근 한국 축산의 수입 개방화 이후 회생의 길은 우리 축산물에 대한 품질을 인정받을 수 있는 brand화에 있다고 하겠다. 이러한 brand화의 일환으로 우선적으로 propolis의 축산에의 활용이 중요한데 propolis가 단순

한 가축의 질병원인 균에 대한 항균작용만 하는 뿐 아니라 가축의 생체나 인체에 면역증강효과와 항산화작용효과까지 지니고 있으므로 propolis함유 brand화한 제품 생산을 통한 실용화를 추진하여 축산농가에 널리 보급하여 고부가 축산물의 생산으로 방향을 제시할 수 있다.

제 2 절 Propolis의 효과적 추출 및 항균력 평가

1. 서 론

본 연구는 이제까지 무분별한 항생제의 사용에 따른 가축의 질병치료시 빈번히 사용하여 발생되는 항생제의 내성문제 그리고 이러한 가축체내에 잔류되어 있는 항생제가 식육이나 계란 또는 우유를 통하여 인체 내로 유입될 때 발생할 수 있는 공중위생학적이 측면에서의 문제점들이 97년 7월 이후 우리 나라가 WTO체제하에서 이제는 선진 외국으로부터 양질의 축산물을 그대로 수입할 수밖에 없는 현실 속에 국내의 축산업을 한 단계 더 나은 차원에서 보호 그리고 더 나아가서 양질의 축산물을 생산할 수 있는 기반을 마련한다는 취지 하에 시행되었다. 그리하여 본 과제는 이제까지 동구권에서 기존의 합성 항생제나 화학요법제 등이 부족하여 주로 인체의 각종 전염성질환 및 외과적 수술 후에 많이 사용하였던 꿀벌의 천연 항생물질 - 이를 좀 더 구체적으로 말하면 주된 약효 성분이 다양한 천연 flavonoids인 propolis - 의 가축의 질병에 기존의 항생제의 대체제로서의 개발을 위하여 수행되었다.

그래서 국내산 및 국외(중국, 헝가리, 폴란드, 뉴우질랜드등) 여러나라의 다양한 종류의 crude propolis로부터 ethanol로 추출한 성분을 이용하여 가축의 주요 병원성미생물에 대한 항균효과를 검증하였으며 세계 각 나라의 다양한 propolis중에서 항균효과가 가장 우수한 종을 선별하였으며

아울러 최적의 추출체계를 확립하였다.

2. Propolis의 효과적 추출체계

가. 재료 및 방법

꿀벌의 봉교로부터 propolis를 효과적으로 추출하기 위하여 중국산 봉교를 순수한 주정 알코올 원액(97%)을 기준으로 하여 97%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%및 10% 알코올 용액 300㎖에 30g의 봉교를 넣은 후 2일간 magnet stirrer에 혼합하여 Whatman filter No.4로 여과하여 evaporator로 ethanol과 수분을 증발시킨 후 동결건조하여 추출하고 회수율을 비교하였다.

나. 결과 및 고찰

1) Ethanol농도가 propolis의 회수율에 미치는 영향

Ethanol의 농도에 따른 propolis의 회수율은 Table 4-1에서 보는 바와 같이 97%의 고농도의 ethanol에서부터 60%까지는 별 차이를 보이지 않아 30g의 봉교로부터 공히 14g의 propolis를 회수하여 46.6%의 회수율을 보였으나 50%이하 즉 증류수의 양이 50%를 넘으면서 현저하게 회수율이 떨어져서 50% ethanol의 경우 불과 6g의 propolis를 얻어 20%의 낮은 회수율을 나타내었고 40% ethanol의 경우는 4g의 propolis를 얻어 13.3%의 회수율을 나타내었으며 30% ethanol부터 10%까지는 공히 추출량이 2g으로 회수율은 불과 6.6%로 매우 낮음을 알 수 있었다. 그리하여 본 실험 결과에 의하면 경제성있는 ethanol의 농도는 60% 이었다.

Table 4-1. 중국산(D) propolis(30g) 추출물의 ethanol용매 농도별 회수율

용매(ethanol)농도(%)	추 출 량-(g)	회 수 율-(%)
97	14	46.6
90	14	46.6
80	14	46.6
70	14	46.6
60	14	46.6
50	6	20.0
40	4	13.3
30	2	6.6
20	2	6.6
10	2	6.6

Table 4-2. 97% ethanol 용매에 대한 원산지별 propolis 회수율

원산지	중국 (A)	중국 (B)	중국 (C)	중국 (D)	헝가리	뉴질랜드	폴란드	한국 (철원)	한국 (원주)
회수율(%)	59[a)]	52	39	46.6	48	40	56	30	43

a) = %

2) 97% ethanol 용매를 기준으로 한 원산지별 proplois 회수율 비교

한편 Table 4-2에서 보는 바와 같이 각 나라별의 다양한 propolis를 97% ethanol로 추출한 결과 원산지별로 propolis함량의 차이를 알 수 있었는데 특히 중국의 A급으로 알려진 것은 59%의 회수율을 나타내고 또한 원료의 값이 가장 비싼 폴란드산의 경우도 56%의 회수율을 나타내어 우연의 일치인지는 모르나 역시 propolis의 함량이 높았으며 유감스럽게도 중국산 C급과 국내의 철원산의 경우 각기 39% 와 30%의 회수율을 나타내어 상대적으로 상당히 낮은 회수율을 지님을 알 수 있었다.

3. 분리추출 propolis의 가축 주요질병원인균에 대한 *in vitro* 항균 효과 검증

가. 재료 및 방법

1) 사용한 균주 및 배지

Table 4-3. Propolis 항균력시험에 사용된 균주명 및 배지

Strains	증식 및 분리 배 지
1. *Staphylococcus aureus* - NCTC 5663β - hem	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
2. *Staphylococcus epidemis* - ATCC 12228	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
3. *Staphylococcus agalactiae* - ATCC 13813	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
4. *Streptococcus pyogenes* - ATCC 21059	Brain-heart-infusion broth Tryptic soy agar
5. *Staphylococcus uberis* - ATCC 27958	Brain-heart-infusion broth Tryptic soy agar
6. *Proteus vulgaris* - 원숭이 분리균	Escherichia coli broth MacConkey agar
7. *Clostridium perfringens* - ATCC 36295-4	Cook-Meat broth Brain-heart-infusion agar
8. *Corynebaterium pyogenes* - IVR 2001	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
9. *Klebsiella pneumoniae*	Escherichia coli broth MacConkey agar
10. *Escherichia coli* - ATCC 10536	Escherichia coli broth MacConkey agar

Table 4-3의 균주를 국립수의과학검역원으로부터 분양받아 일차적으로 증식용배지에 세균을 증식시킨 다음 탁도계를 이용하여 10ε/mℓ로 농도를 맞춘 후 각각의 세균에 적합한 분리배지에 멸균된 면봉으로 도말하여 사용하였

다. 아울러 세포배양용인 무균 처리된 DMSC(dimethyl sulfoxide)에 농도별로 녹인 propolis를 직경 6㎜의 멸균처리 된 paper disc에 15㎕씩 적시어 세균이 도말된 배지 위에 올려놓았다. 그리고 각 세균에 특성에 따라 적합한 시간 동안 35±1℃의 배양기에서 배양한 후 세균발육 억제환의 직경을 측정하여 결과를 관찰하였다.
이때 positive control로는 penicillin계의 광범위 항생제인 ampicillin (disc potency : 10㎍)과 비교적 새로운 항생제인 quinolone계의 norfloxacin (disc potency : 10㎍)로 사용하였으며 propolis는 최고 농도 50,000ppm부터 10배씩 희석하여 5ppm까지 사용하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 각 나라별 추출 propolis의 각종 병원성 세균에 대한 항균력 비교

Fig.4-1에서 보는 바와 같이 소의 유방염 원인균으로서 문제시되는 중요한 균중의 하나인 *Staphylococcus uberis*의 경우 50,000ppm의 고농도에서는 중국산, 폴란드산 및 헝가리산 모두 공히 항균력을 나타내었다. 그러나 대조군으로 사용된 penicillin유도체로서 광범위 항생제인 ampiciillin의 경우는 이 균에 항균력을 보이지 않고 norfloxacin은 항균효과를 나타내었다. 이것은 propolis를 ampicillin에 저항성이 있는 세균에 대용약으로 유방염의 치료에 활용할 수 있는 가능성을 제시해주는 결과이다. 본 실험에서 propolis의 농도가 기존의 항생제 disc에 비하여 상대적으로 높은 이유는 propolis 자체는 기존의 항생제와는 달리 순수 약효성분만을 분리 정제된 의약품이 아니고 여러 가지 천연 flavonoids의 복합체로 성분 중에는 항균작용과 무관한 부분들도 다량 포함되어 있기 때문으로 생각된다.

한편 Fig.4-2는 유방염의 원인균으로서 괴저성 유방염의 원인체인 *Staphlococcus aureus* 에 대한 경우 항균력 실험으로 대조군은 물론이고

중국산의 경우는 50,000ppm의 고농도에서만 항균력을 나타내었고 헝가리산 역시 50,000ppm과 5,000ppm의 고농도에서만 항균력을 나타내었으나 폴란드산은 50,000ppm에서 5ppm에 이르기까지 고른 항균력을 나타냄을 알 수 있었다.

Fig.4-3에서도 Fig.4-1과 유사하게 ampicillin의 경우 *Klebsiella pneumoniae* 에 대하여서는 내성을 형성하여 항균력이 없는 것을 알 수 있었으나 폴란드산 propolis의 경우 50,000ppm의 고농도에서는 항균력을 보였다.

Fig.4-4를 살펴보면 장내세균인 *Proteus vulgaris*의 경우 헝가리산 propolis의 경우 50,000ppm의 농도에서는 ampicillin과 유사한 정도의 항균력을 나타내었다.

Fig.4-5의 *Staphylococcus agalactiae* 균의 경우도 *Staphylococcus uberis*와 유사하게 3개국의 propolis가 모두 50,000ppm 과 5,000ppm에서 양성반응을 나타내었고 이 결과는 propolis가 특히 Gram (+) 균에 효과적임을 암시하는 것이다.

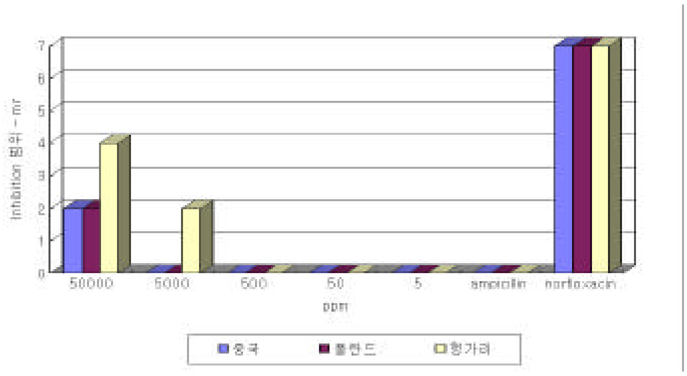


Fig. 4-1. *Staphylococcus uberis*(10^8/ml)에 대한 각 나라별 propolis의 항균력시험

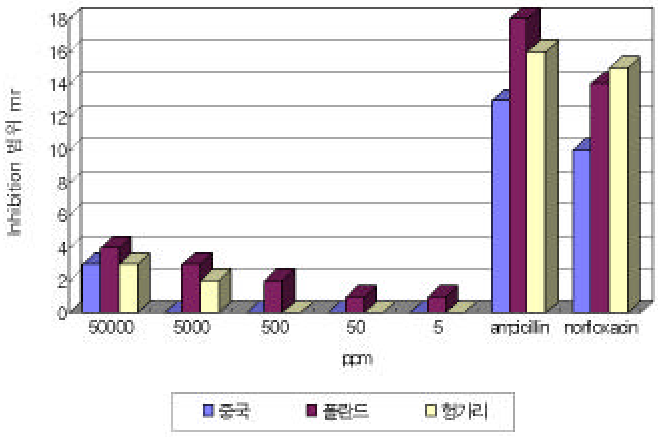


Fig.4-2. *Staphylococcus aureus*(10^8/㎖)에 대한 각 나라별 propolis의 항균력시험

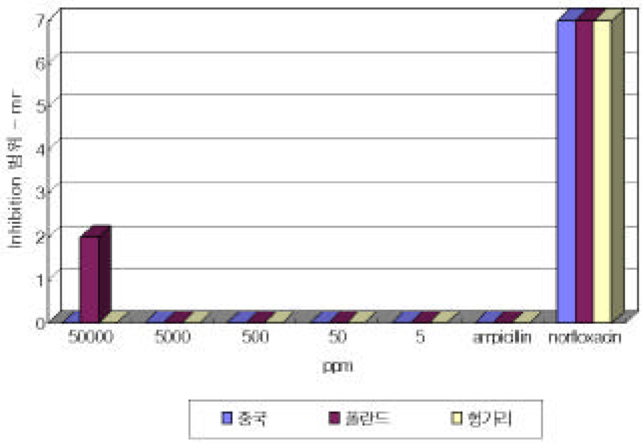


Fig.4-3. *Klebsiella pneumoniae*(10^8/㎖)에 대한 각 나라별 propolis의 항균력시험

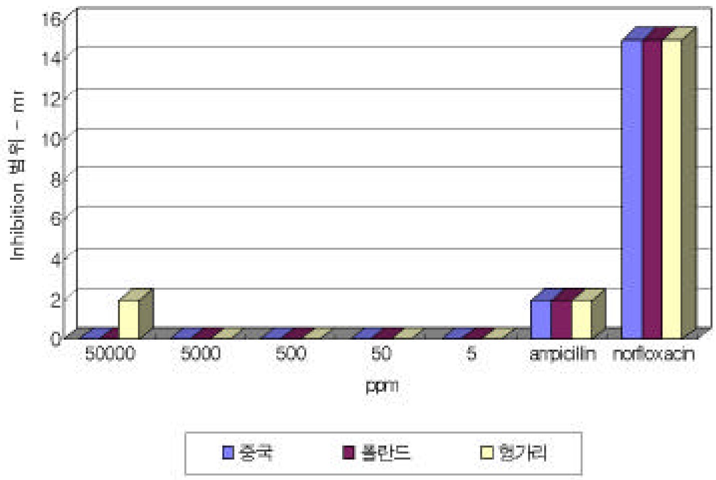


Fig.4-4. *Proteus vulgaris*(10ℓ/㎖)에 **대한 각 나라별** propolis**의 항균력시험**

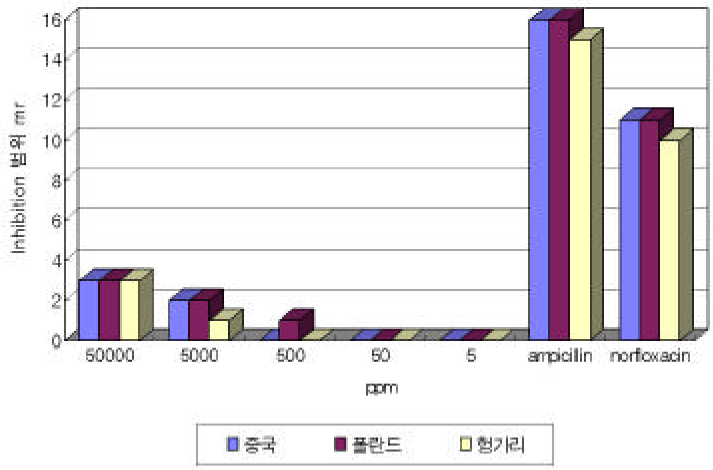


Fig.4-5. *Staphylococcus agalactiae*(10ℓ/㎖)에 **대한 각 나라별** propolis**의 항균력시험**

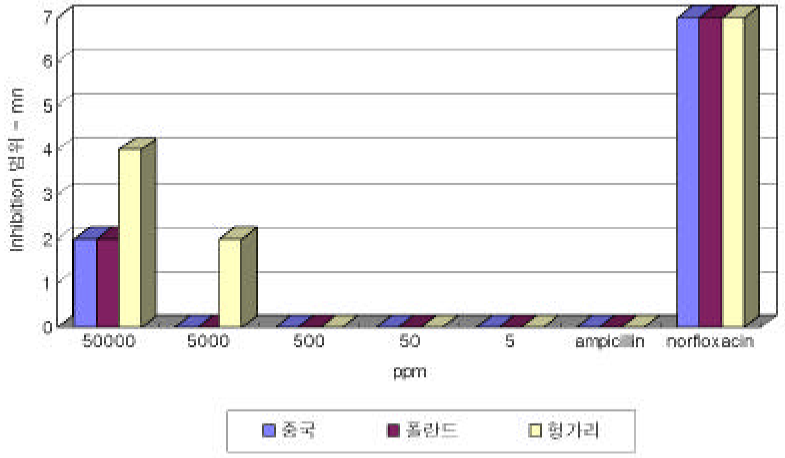


Fig.4-6. *E. coli*(10^8/㎖)에 대한 각 나라별 propolis의 항균력시험

한편 Fig.4-6에서 Gram (-) 균인 *E. coli*의 경우 광범위 항생제인 ampicillin은 전혀 항균력이 없으나 3종의 propolis 모두 항균력을 나타내었고 특히 헝가리산의 경우 세균발육 억제범위가 50,000ppm에서는 4㎜나 되었을 뿐 아니라 5,000ppm에서도 항균력을 나타내었다.

2) 사용된 ethanol의 농도에 따른 propolis추출액의 각종 세균에 대한 항균력시험

Propolis의 추출에 사용된 ethanol 의 농도에 따른 세균에 대한 항균력의 비교시험결과를 보면 Table 4-4, 4-5 그리고 4-6의 결과에서 보듯이 80% 의 ethanol로 추출한 propolis가 gram(+) 균에 있어서 항균력이 가장 높은 것으로 나타났다. 이 결과는 아마도 80%의 ethanol에 의하여 추출된 propolis의 경우 이에 항균력을 나타내는 아직 밝혀지지는 않았으나 flavonoids 함량이 가장 높기 때문이 아닌가 추정된다.

Table 4-4. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *Staphylococcus agalactiae* 에 대한 항균력

Ethanol 농도	97%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen -glycol
inhibition-(㎜)	2	2	4	2	1	N.D.	N.D.

N.D. = no detectable

Table 4-5. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균력

Ethanol 농도	97%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen -glycol
inhibition-(㎜)	2	1.8	3	2	2	N.D.	1

N.D. = no detectable

Table 4-6. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *Streptococcus pyogenes* 에 대한 항균력

Ethanol 농도	97%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen -glycol
inhibition-(㎜)	1.5	2	3	1	1	N.D.	0.8

N.D. = no detectable

Table 4-7. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *Proteus vulgaris* 에 대한 항균력

Ethanol 농도	97%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen -glycol
inhibition-(㎜)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = no detectable

Table 4-8. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 항균력

Ethanol 농도	97%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen -glycol
inhibition-(㎜)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = no detectable

Table 4-9. 추출 ethanol 농도에 따른 propolis의 *E. coli*에 대한 항균력

Ethanol 농도	100%	90%	80%	70%	60%	물100%	prophylen-glycol
inhibition-(mm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = no detectable

제 3 절 Propolis의 면역학적 효과 평가

앞에서 분리한 propolis 대한 구체적인 면역학적인 효과를 검증하기 위하여 Balb/C mice에 경구로 propolis를 10주간 투여한 *in vivo* 실험을 수행한 후 관련된 사항들을 검색하였다. 아울러 인체의 면역세포인 T 림파구에서 분비되는 cytokine인 interleukin-II의 발현에 미치는 효과 등을 *in vitro* 실험을 통하여 검증하였다.

1. Propolis의 *in vivo* 내 생쥐의 면역기능에 미치는 영향 평가

가. 재료 및 방법

1) 실험 대상동물

중앙실험동물로부터 구입한 6주령의 Balb/C mice male을 대상으로 하였다.

2) 실험군의 설계 : Table 4-10 에 의하여 설계하였다.

3) 투여후 필요로 하는 추출장기

필요에 따라 thymus, spleen, liver, blood, 및 serum등을 추출하여 사용하였다.

4) Flowcytometry를 이용한 면역 관련세포 군의 분포 변화 측정

Propolis가 mice의 T-림파구에 미치는 작용을 분석하기 위하여 propolis 투여군과 대조군의 비장세포 및 흉선으로부터 단핵백혈구만을

Table 4-10. 시험물질 조제계획서

시험번호 : MSK-97010	시험제목 : 10주간 반복투여시험
시험물질 : Propolis(헝가리산)	투여경로 : Per Oral
Vehicle : Tween 80	시험계 : Balb/c Mice, Male
투여기간 : 97. 6. 21 - 97. 8. 10	

[ ] <직접 조제법>

용량 (mg/kg)	동물수 (/group)	체 중 (g)	투여량 (ml/kg)	시험물질 (mg)	조제되는 량 (ml) 5ml
300	20	20	10ml/kg	150mg + 300ulTween80 + 4.7ml PBS	
100	20	20	10ml/kg	75mg + 150ulTween80 + 4.77mlPBS	
50	20	20	10ml/kg	25mg + 100ulTween80 + 4.9ml PBS	
용매대조군	15	20	10ml/kg	0mg + 100ulTween80 + 4.9ml PBS	
용매대조군	15	20	10ml/kg	0mg + 300ulTween80 + 4.7ml PBS	
대조군	15	20	10ml/kg	0mg --> 5.0ml PBS	
R =		필요량 : 1일 :		225mg --> 15.0ml	
		7일 :		1.575mg --> 105.0ml	
		2주 :		3.150mg --> 210.0ml	
		3주 :		4.725mg --> 315.0ml	
		4주 :		6.300mg --> 420.0ml	
		5주 :		7.875mg --> 525.0ml	
		10주 :		15,750mg --> 1,050.0ml	

[ ] <희석법>

용량 (mg/kg)	동물수 (/group)	체 중 (g)	투여량 (ml/kg)	시험물질(mg) /추출량(ml)	조제되는 량 (ml)
300	20	20	10ml/kg	30mg/ml	5ml
150	20	20	10ml/kg	15mg/ml	5ml
50	20	20	10ml/kg	5mg/ml	5ml
용매대조군	15	20	10ml/kg	0mg/ml	5ml
용매대조군	15	20	10ml/kg	0mg/ml	5ml
대조군	20	20	10ml/kg	0mg/ml	5ml
※ 시험물질 및 Vehicle 필요량/ day					
150mg + 300ul Tween80 + 4.70ml PBS					
75mg + 150ul Tween80 + 4.75ml PBS					
25mg + 100ul Tween80 + 4.90ml PBS					
0mg + 100ul Tween80 + 4.90ml PBS					
0mg + 300ul Tween80 + 4.70ml PBS					
0mg + 0ul Tween80 + 5.0ml PBS					

분리하여 2 x 10^6개의 세포로 고정한 후 anti-mouse CD3-FITC(pan T cell marker), anti-mouse CD-4-FITC(T-helper cell), anti-mouse CD-8 (T-suppressor cell) , anti-mouse CD-25-FITC(interleukin II receptor), anti-mouse TNF-α-FITC(TNF-α receptor), 및 anti-mouse TCR-FITC (T-cell antigen receptor) 로 반응시킨 후 Flowcytometry(Becton Dickinson)를 이용하여 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

1) Propolis의 장기간 투여가 mice의 비장과 흉선의 T-림파구 활성에 미치는 영향

가축이나 사람 및 설치류의 질병 감염시의 T-림파구의 활성은 매우 중요하다, 왜냐하면 질병으로부터 방어를 위해 필요한 생리활성물질등을 유리하기도하고 직접 antigen으로 인식될 수 있는 병원체들과 싸워 생체를 방어하는 기능을 수반하기 때문이다.

10주간 propolis를 Balb/C mice에 50mg/kg, 150mg/kg 그리고 300mg/kg의 삼개 군으로 투여하여 T-림파구의 활성에 미치는 영향에 대한 실험 결과는 Table 4-11과 같다. 즉 대조군에 비하여 propolis투여군은 면역 증강 효과를 관찰 할 수 있었던 바, 전체적인 T-cell의 활성도가 올라감을 알 수 있었는데 구체적으로 보면 CD-3(pan T-cell marker)와 반응하는 세포의 수가 대조군의 6.46%에서 150mg/kg의 propolis투여균에서 10.78%로 증가를 관찰할 수 있었고 특히 T-cell의 subset인 T-helper cell(CD-4)은 대조군이 25.06%인데 비하여 150mg/kg 투여군의 경우 40.88%로 현저한 증가를 나타내었으며 이와 같은 경향은 T-suppressor cell(CD-8)에서도 비슷한 경향으로 대조군은 18.18%임에 반하여 50mg/kg 투여군도 증가하였고 150mg/kg 투여군의 경우 26.19%로 현저한 증가를 나타내었다. 본 실험 결과를 분석하면 전반적으로 T-림파구 수의 증가는 50mg/kg 과 150mg/kg 투여군에서는

투여량에 비례하여 증가하였음을 알 수 있었고 특히 괄목할 만한 것은 일반적으로 알려진 건강한 개체의 T-helper cell(CD-4)와 T-suppressor cell(CD-8)의 구성비율이 약 2:1인 것이 본 연구 결과에서도 유사한 경향을 보였다. 그런데 300mg/kg의 투여군에서는 오히려 농도를 높였음에도 불구하고 대조군과 별 차이를 나타내지 않았다. 그래서 본 연구결과로 볼 때 150mg/kg의 투여량이 면역증강효과를 나타내는 적합한 농도임을 추정할 있었고 이는 가축에 실제 적용 시에도 본 결과를 바탕으로 적합한 농도를 산출해야 함을 인식할 수 있었다.

한편 흉선에서 분리한 T-림파구의 경우도 대조군에 비하여 전반적으로 propolis투여군이 그 수요가 증가하였으나 흉선은 중추성면역장기이므로 아직 T-림파구가 완전히 분화되지 못하여 실제로 T-helper cell과 T-suppressor cell로 완전히 구분된 세포가 존재하지 않기 떄문에 두 세포간의 구성비율이 비장의 경우 2:1 인 것과는 달리 거의 1:1로 나타나 대부분의 T-림파구가 2가지 marker에 모두 반응하는 것을 알 수 있었다. 그러나 본 실험의 목적이 단순한 T-림파구의 구분에 있는 것이 아니라 propolis가 흉선의 T-림파구의 기능에도 영향을 주는 가 하는 효과적인 측면에 있는 데 본 결과는 propolis의 10 주간의 투여가 확실한 면역증강효과를 발휘하는 것을 알 수 있었다.

2) Propolis가 비장과 흉선에서 cytokine receptor인 Interleukin-II receptor 와 tumor necrosis factor-α receptor발현에 미치는 영향

사람이나 가축 및 설치류의 각종 질병에 대한 방어 및 면역의 활성화에는 생체내의 cytokine으로 불리는 면역조절물질인 interleukin 및 tumor necrois factor 등의 적당한 분비가 필요하다. 본 연구에서는 이 중 T-림파구의 표면에 존재하는 interleukin-II receptor의 발현과 macrophage의 표면에 존재하는 tumor necrosis factor-α(종양괴사인자) receptor의 발현이 propolis의 투여에 의하여 과연 변하는 가에 관심을 갖고 관찰하였다.

Table 4-11. 10주간 propolis의 경구투여가 Balb/C mice의 비장의 면역 세포에 미치는 영향

실험군 / marker	control	vehicle 1	vehicle 2	50mg/kg	150mg/kg	300mg/kg
CD-3	6.46±1.29	5.39±1.47	4.92±2.54	5.88±4.71	10.78±1.30	7.95±1.20
CD-4	25.06±6.22	26.43±4.83	23.55±3.83	27.31±4,12	40.88±6.28	29.60±4.61
CD-8	18,18±3,80	16.56±2.99	17.23±3.95	24.88±3.12	26.19±3.46	18.94±2.73
IL-II receptor	6.80±1.31	7.82±1.35	6.44±2.76	8.79±2.65	11.86±1.79	8.89±1.53
TNF-α receptor	9.09±1.67	8.05±2.87	9.54±4.87	10.55±2.57	12.14±2.19	9.66±1.79
TCR receptor	19.31±2.81	14.27±3.54	13.95±5.98	17.32±4.55	31.81±4.91	18.94±1.85

※ 단위는 % 로 10,000개의 세포중 각각의 marker와 반응한 것을 flowcytometry로 측정한 것임. n = 10

Table 4-12. 10주간 propolis의 경구투여가 Balb/C mice의 흉선의 면역세포에 미치는 영향

실험군 / marker	control	vehicle 1	vehicle 2	50mg/kg	150mg/kg	300mg/kg
CD-3	2.11±1.43	2.77±1.71	2.09±0.15	4.15±1.74	3.98±1.11	2.92±1.43
CD-4	73.04±5.32	70.33±3.91	63.85±8.28	78.13±5,14	82.25±4.28	76.92±2.61
CD-8	78,14±5,30	79.12±5.29	77.82±1.21	82.48±5.32	85.15±5.14	78.94±5.17
IL-II receptor	1.39±1.31	1.18±1.93	1.44±1.65	1.97±1.60	2.19±1.57	1.89±1.35
TNF-α receptor	2.39±0.67	1.05±1.71	1.54±1.70	2.15±0.57	3.20±1.79	1.25±0.79
TCR receptor	28.92±4.23	25.42±5.14	27.54±3.01	33.98±4.32	48.98±4.11	28.14±4.38

※ 단위는 % 로 10,000개의 세포중 각각의 marker와 반응한 것을 flowcytometry로 측정한 것임. n = 5

Interleukin-II는 생물체의 암 및 세균 등의 질병 방어에 중요한 기능을 수행하며 만일 건강 시에도 어떠한 면역증강물질의 복용으로 충분한 양이 생체 내에서 발현된다면 생체가 질병에 대한 예방의 측면에서도 매우 의미가 있다고 하겠다. 본 연구 결과 IL-II receptor의 경우는 propolis의 투여군이 대조군에 비하여 전반적으로 활성화됨을 알 수 있었으며 그 효과면에서 T-림파구의 면역활성과 유사하여 대조군은 6.8%의 receptor 발현이 있는데 반하여 150mg/kg 투여군의 경우 11.86%로 약 2배에 가까운 강력한 효과를 발휘함을 알 수 있었다. 그런데 본 결과는 인체의 T-림파구에서 IL-II receptor의 propolis에 의한 발현 효과에 대한 *in vitro*실험 결과와 매우 유사한 경향을 나타내었기에 매우 흥미로 왔고 의미가 있었다. 그리고 흉선에서의 IL-II receptor의 발현은 흉선의 T-림파구들이 아직 완전한 분화를 하지 않은 탓으로 propolis 투여군과 대조군 간의 그다지 뚜렷한 차이를 보이지 않고 매우 미비한 정도였다.

한편 macrophage가 유리하는 TNF-α receptor는 달리 어떠한 염증반응이나 종양세포의 출현 및 심한 세균등의 감염 시에만 크게 증가하는 것으로 IL-II와는 생체내의 작용기전이 다르므로 본 실험의 경우는 단지 10주간의 건강한 mice에 propolis의 단순한 단독 투여에 의한 비장에서의 TNF-α receptor의 발현은 대조군의 9.09%에 비하여 150mg/kg 투여군의 경우 2.14%로 다소 증가한 듯하였으나 뚜렷하지는 않았다. 그리고 흉선 내에서의 macrophage 작용은 거의 미미한 관계로 TNF-α receptor의 발현은 아주 미약함을 알 수 있었다.

3) Propolis가 T-cell antigen receptor(TCR)의 발현에 미치는 영향

T-cell antigen receptor는 T-림파구가 종양세포나 virus에 감염된 세포등을 생체 자기자신에 대하여 비자기 즉 항원으로 인식하여 cytotoxicity 를 하는데 매우 중요한 역할을 한다.

Table 4-11 과 4-12의 결과에서 볼 수 있듯이 비장과 흉선 모두 대조군

에 비하여 propolis 투여 군이 현저한 증가를 나타내었는데 비장의 경우 대조군의 19.31%에서 150㎎/kg 투여 군은 31.81%를 나타냈으며 흉선의 경우는 대조 군은 28.92%인데 반하여 150㎎/kg 투여군은 48.98%를 나타내어 propolis의 장기간 투여에 의한 면역증강효과를 뚜렷하게 입증할 수 있었다.

2. Propolis가 사람의 T-림파구로부터 유리되는 Interleukin-Ⅱ 분비에 미치는 *in vitro* 효과

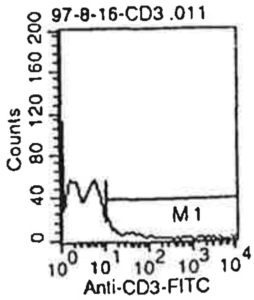
가. 재료 및 방법

Propolis가 인체의 면역세포 중 T-림파구에서 유리되는 Interleukin-Ⅱ 의 분비에 미치는 효과를 분석하기 위하여 건강한 공여자의 전혈로부터 Ficoll isopaque를 이용하여 단핵백혈구만을 분리하여 2 x 106개의 세포로 고정한 후 대조군은 PBS로만 처리하고 실험군은 propolis 50ppm을 처리하여 16시간동안 CO2 incubator 상에서 반응시킨 후 anti-human CD25-FITC(IL-2 receptor)로 반응시킨 후 Flowcytometry (Becton Dickinson)를 이용하여 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

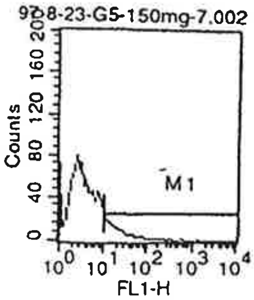
Propolis를 처리하지 않은 대조군은 anti-human CD25-FITC(IL-2 receptor)로 반응시킬 때 Fig. 4-8에서 spontanous한 IL-Ⅱ receptor의 발현이 4.9%로 나타났으나 propolis를 50ppm 처리한 군은 10.25%로 대조 군에 비하여 2배 이상에 해당하는 강력한 반응을 보였다. 이와 같은 결과는 비록 in vitro에서의 짧은 시간 반응시킨 효과임에도 불구하고 propolis의 면역 증강효과에 대한 증거를 제시해 주는 중요한 자료로서 *in vivo*의 실험 결과와 일치하는 그리고 설치류와 사람에 모두 공통된 결과를 나타내어

실제 임상적으로 가축에 활용 시 propolis가 단순히 병원성세균에 대한 항균효과만을 발휘하는 것이 아니라 본 연구 결과와 같이 개체의 면역능력을 향상시킴으로 질병의 방어능력을 갖게 하는 가축의 사료 첨가제로서의 활용 가능성에 대한 확신을 주는 중요한 증거가 된다.



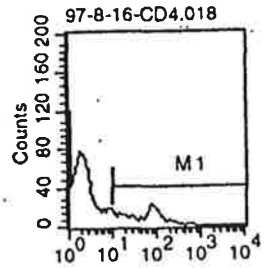
File: 97-8-16-CD3 .011 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	11.17	182.56	1634.79
M1	6.96	113.07	684.27	605.15



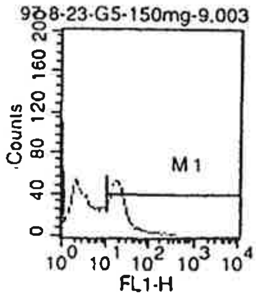
File: 97-8-23-G5-150mg-7.002 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	6.92	20.38	294.41
M1	12.95	26.72	52.19	195.32



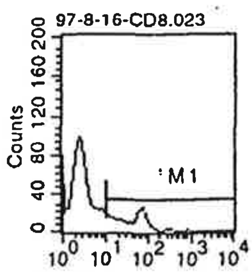
File: 97-8-16-CD4.018 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	13.48	33.45	248.11
M1	19.18	60.02	56.07	93.41



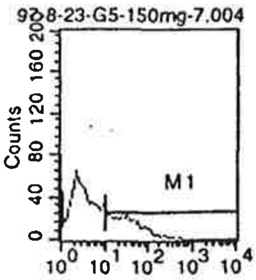
File: 97-8-23-G5-150mg-9.003 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	12.73	23.00	180.65
M1	41.71	24.97	31.66	126.79



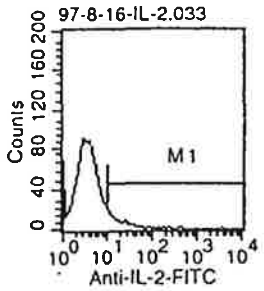
File: 97-8-16-CD8.023 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	10.89	21.59	198.29
M1	18.41	44.79	33.26	74.25



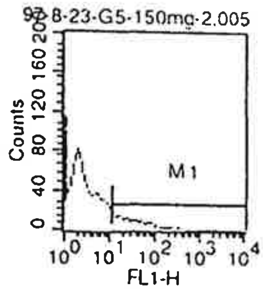
File: 97-8-23-G5-150mg-7.004 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	14.40	26.83	186.35
M1	29.52	39.43	39.21	99.46



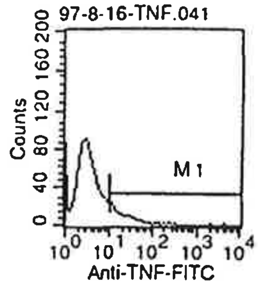
File: 97-8-16-IL-2.033 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	5.04	29.90	593.40
M1	6.44	23.99	-116.10	484.00



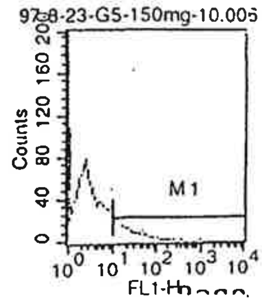
File: 97-8-23-G5-150mg-2.005 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	6.45	14.39	222.99
M1	11.62	31.16	32.48	104.23



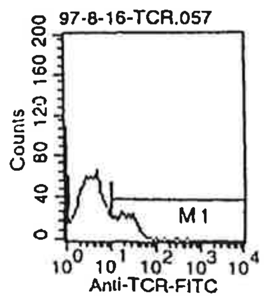
File: 97-8-16-TNF.041 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	5.97	39.05	654.11
M1	9.87	27.20	122.19	449.18



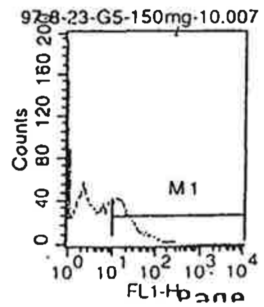
File: 97-8-23-G5-150mg-10.006 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	7.86	90.91	1157.29
M1	12.31	39.00	256.98	658.88



File: 97-8-16-TCR.057 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	8.01	11.10	138.50
M1	20.46	23.59	16.72	70.88

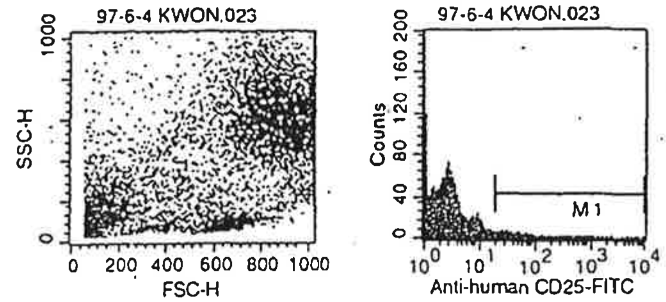


File: 97-8-23-G5-150mg-10.007 Total Events: 10000

Marker	% Total	Mean	SD	CV
All	100.00	11.19	17.81	159.14
M1	32.54	25.80	25.36	98.31

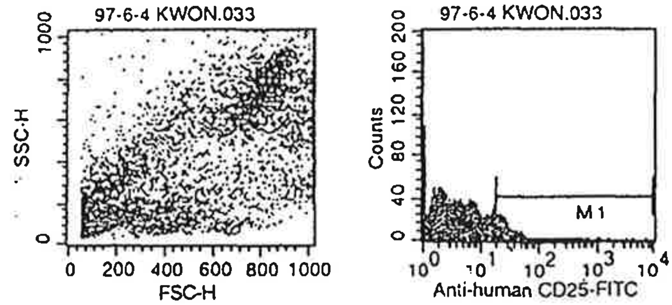
Fig. 4-7. Representative histogram of Balb/C splenocytes specially reactive with different monoclonal antibody using flowcytometry for detection of the effect of propolis

1) Control



Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	Geo Mean	CV	Median	Peak Ch
All	1, 9910	10000	100.00	100.00	15.66	2.82	1446.46	2.39	1
M1	20, 9910	490	4.90	4.90	258.38	69.12	384.48	48.26	24

2) Propolis 50ppm



Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	Geo Mean	CV	Median	Peak Ch
All	1, 9910	10000	100.00	100.00	11.10	4.95	829.70	4.41	1
M1	20, 9910	1025	10.25	10.25	60.11	32.91	470.48	26.90	21

Fig. 4-8. Representative histogram of Human T-lymphocytes specially reactive with CD-25(Interleukin-II receptor) monoclonal antibody using flowcytometry for detection of the effect of propolis

3. Propolis의 투여가 ICR mice에 투여한 Sarcoma 180의 성장 저해에 미치는 영향

본 연구는 propolis의 항암억제 작용의 *in vivo*의 실험으로 propolis가 실제로 생체 내에서 생성 된 암세포에 대한 저해 능력이 있는 가를 검증하기 위하여 실시하였다.

가. 재료 및 방법

1) 종양세포의 접종

계대배양용으로 수컷 ICR 마우스의 복강 내에 5×10^6개의 Sarcoma 180을 주사하여, 1주일 후 같은 요령으로 종양세포 주를 유지한다.

계대배양용 마우스를 경추탈구로 안락사 시킨 후, 마우스 피부 표면을 알콜분무로 소독한 다음, 피부를 벗기고 복막이 보이면, 일부를 외과용 가위로 cutting 후, 복수를 채취하며 PBS(phosphate buffered saline)를 복강 내에 주입하면서 지속적으로 최대로 복강 내로 주입한 sarcoma 180을 50㎖ cornical tube에 모은다. 모은 세포는 얼음 내에 유지하면서 PBS를 부어 1,000rpm으로 4 ℃에서 5분간 원심분리로 washing하는 과정을 3번 한다. 5주령 수컷 ICR 마우스의 등에 5×10^6개의 Sarcoma 180 세포를 피하접종 한다.

2) Propolis의 항암 스크리닝 평가

강원대학교에서 분리 추출한 propolis를 종양발생 마우스에 경구로 투여하여 종양의 성장을 저해하는가에 대한 기초 스크리닝 검사를 실시하였다.

Sarcoma 180을 종양을 접종한 후 7일이 되면, calliper로 종양의 직경을 재서 5㎜가 넘는 개체들을 골라 propolis를 투여한다. 투여 방식과 투여량, 농도는 다음과 같다. propolis 추출물 300㎎/kg 과 600㎎/kg로 각

군에 zonde를 이용하여 경구로 위 내에 투여한다. 투여기간중 일정한 기간의 차이를 두고 다음의 식 (1)에 의해 암의 크기를 측정하고 아울러 propolis의 sarcoma 180의 저해도를 식 (2)에 의해 군별로 측정한다.

(1) 암의 크기 = $4/3\ \pi \times a^2b/2$ (a: 최단직경, b : 최장직경)

(2) 암의 저해도 = $\dfrac{(C - T)}{\text{control 군의 암크기}}$ T : 실험군의 암 크기

나. 결과 및 고찰

Table 4-13 과 4-14 에서 보는 바와 같이 propolis를 투여한 군의 경우 대조 군에 비하여 현저한 암세포의 제어효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 4-13. Propolis의 투여가 암의 크기의 변화에 미치는 효과

군 \ days	8	16	22	29	36
대조군	68.5a)	148.6	127.1	118.3	102.7
300㎎/kg	69.6	87.8	62.9	57.5	63.9
600㎎/kg	65.3	47.7	23.5	19.5	38.6

공시동물은 대조 군 8마리, 시험 군 각각 10마리로 하였음
a) 는 단위로 ㎣

즉 농도에 비한 효과로서 투여 16일째부터 300㎎/kg propolis 투여군의 경우 암의 용적이 대조군의 148.6㎣ 에 비하여 87.8㎣ 의 현저한 저해작용을 하였으며 이를 저해율로 환산하면 40.9% 해당한다. 한편 600㎎/kg 투여군의 경우는 47.7㎣로 더욱 더 억제되어 저해율은 67.9% 였다. 투여 29일째의 경우는 대조군의 경우 118.3㎣ 인데 반하여 300㎎/kg 투여군은 57.5㎣ 로 저해율은 51.4%였으며 특히 600㎎/kg propolis 투여군은 더욱 억제작용을 하여 19.5㎣ 의 83.5%의 강력한 저해율을 나타내었다.

그런데 본 실험에서 대조군 역시 시간의 경과함에 따라 암세포 접종 29일째부터 암세포의 크기가 점차적으로 줄어드는 현상을 볼 수 있는데 이는 암세포 자체가 ICR mice에 xenograft로 작용하여 생체 자체가 면역반응을 유발하여 암을 제거하려하는 것을 알 수 있다. 그러므로 본 연구 결과가 시사하는 것은 propolis의 투여는 면역증강 작용을 하여 생체자체가 지닌 암세포 제어작용을 더욱 활성화시킬 수 있다는 것이다.
한편 암세포접종 후 propolis투여군과 대조군의 체중의 변화를 비교하였을 때 Table 4-16에서 보는 바와 같이 propolis 투여에 따른 특별한 차이는 관찰되지 않았다.

Table 4-14. Propolis가 암의 저해도에 미치는 영향

군 \ days	8	16	22	29	36
대조군	-	0%	0%	0%	0%
300㎎/kg	-	40.9a)	50.5	51.4	37.8
600㎎/kg	-	67.9	81.5	83.5	62.4

공시동물은 대조군 8마리, 시험군 각 각 10마리로 하였음

a) 는 (C - T) / control 군의 암크기   T : 실험군의 암 크기

Table 4-15. Propolis 투여에 따른 각 실험군의 체중의 변화

군 \ days	8	16	22	29	36	43
대조군	37.2a)	37.6	39.1	40.4	40.6	41.5
300㎎/kg	37.2	38.6	38.4	39.7	40.4	40.8
600㎎/kg	37.2	39.8	39.7	41.2	42.5	41.9

공시동물은 대조군 8마리, 시험군 각 각 10마리로 하였음
a)의 단위는 g

4. Propolis가 종양세포주에 미치는 항암작용 검색

가. 재료 및 방법

1) 종양세포의 배양

Propolis가 in vitro내에서 종양세포주에 미치는 항암 효과를 보기 위해서 human gastric carcinoma (KATO III), human lung carcinoma (A549), human breast adenocarcinoma (MCF-7), mouse lymphoma (Sarcoma 180), mouse lymphoma (Yac-1)는 Korea Cell Line Bank(KCLB)로 부터 구입하였고 사람의 간암세포인 Hep3B (Human hepatocellular carcinoma)는 American Tissue Culture Collection(ATCC, HB8064)로 부터 구입하였다. Hep 3B(간암)와 Sarcoma 180을 제외한 모든 세포주들은 RPMI-1640배지에서 10% Fetal bovine serum, 37℃, 5% CO_2에 적응시켜 배양하였다.

암세포 배양은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, 6.7g)과 nutrient mixture F-12(5.3g)를 1:1(V/V) mixture, gentamicin sulfate 40mg, sodium bicarbonate 2g, hepes buffer 2g을 3차 증류수에 용해시킨 후 pH 7.0-7.2로 조절하여 20% FBS로 보강된 배지에 접종하여 37℃(5% CO2 incubator)에서 24시간 배양하였다. Hep 3B(간암)와 Sarcoma 180을 제외한 모든 세포주들은 RPMI-1640배지에서 10% Fetal bovine serum, 37℃, 5% CO_2에 적응시켜 배양하였다.

2) *in vitro*내에서 SRB(sulforhodamine B) method를 이용한 종양세포 주에 대한 증식 억제능력 평가

SRB(sulforhodamine B) 분석은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 생육 정도를 측정하는 방법이다. 종양세포 생육 저해효과 실험은 96well plate의 각 well에 5×10^4/ml의 다양한 cell line(MCF-7, A549, Hep3B)이 포함된 100㎕의 배지를 가하여 37℃(5% CO2 incubator)에서 24시간 배양한 후

0.1μg/mℓ, 1μg/mℓ, 5μg/mℓ 및 25μg/mℓ의 각 농도의 중국산 A 급 수용성 propolis가 들어있는 100μℓ의 배지를 가한 후 48시간 배양한다. 48시간 후 배지를 aspirator로 제거하고 미리 cooling한 TCA(trichloro acetic acid, 최종농도 10%) 100μℓ를 가하여 4℃에서 1시간 방치한다. 그리고 증류수로 5회 세척하여 건조시킨 후 각 well에 1% acetic acid에 녹인 SRB (sulforhodamine B) 용액 100μℓ를 가한다. 그리고 상온에서 30분 염색한 후 1% acetic acid로 5회 세척하여 건조시킨다. 건조시킨 후 10mM Tris buffer 150μℓ로 염색액을 충분히 녹인 다음 ELISA reader로 540nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

3) MTT(3-(4,5-dimethylthiazal-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromine) method를 이용한 종양세포의 propolis 추출액에 의한 cell viability 변화도 측정

MTT assay는 cell의 생육 및 분화를 측정하는 colorimetric assay로서 살아있는 cell의 미토콘드리아내 dehydrogenase enzyme이 노란 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan 생성을 기초로 하였다.

Table 4-16. 종양세포의 생육저해효과 실험에 사용한 세포주

Cell line	Target organ 및 cell	배양액
Sarcoma 180	mouse lymphoma	DMEM
YAC-1	T-lymphoma	RPMI-1640
MCF7	유방암	RPMI-1640
KATCIII	위암	RPMI-1640
Hep 3B	간암	DMEM
A549	폐암	RPMI-1640

96 well microtiter plate에 KATO III , Sarcoma 180, Yac-1 cell및 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640배지를 1×10⁵/ml 농도로 각각의

well에 180㎕씩 넣고 37℃, 5% CO_2에서 24시간 incubation한 다음 0.1㎍/㎖, 1㎍/㎖, 5㎍/㎖ 및 25㎍/㎖의 각 농도별 중국산 A 급 propolis의 수용성시료를 무균적으로 여과하여 첨가하고 최종 volume이 200㎕가 되게 배지를 채운 후 48시간 incubation한 다음 MTT 용액(2㎎/㎖)을 50㎕씩 각 well에 첨가하고 formazan을 형성시키기 위해 4시간 동안 incubation한 후 aspirator로 상층액을 제거하고 150㎕의 DMSO(dimethylsulfoxide)를 첨가하여 formazan을 녹인 다음 ELISA reader를 이용하여 540㎚에서 흡광도 값을 측정하였다.

4) 분석방법

본 연구는 propolis의 수용성추출물이 암세포주에 대해 나타내는 세포독성을 항암작용의 지표로 삼았으며 본 실험 결과는 향 후 사료첨가제로서 가축에 적용시킬 때 면역약리학적 효과의 이해를 위하여 매우 중요하다고 하겠다. 시험군의 평균 O.D.값을 구하여 대조군(100% 생존군)의 평균 O.D.값에 대한 백분율을 산출하여 저해효과로 하였다.

나. 결과 및 고찰

Table 4-17 과 4-18는 SRB method와 MTT method를 종합한 결과이다. 그리고 세포의 수는 5×10^5/well, 1×10^7/well 의 2 가지로 하였는데 실험에 사용한 모든 암세포들이 공히 억제작용을 나타냈으며 그 중에서도 표 4-17에서 나타나는 바와 같이 특히 사람의 자궁암세포주인 MCF7의 경우 0.1㎍/㎖의 저농도에서도 10%가 넘는 발육억제효과를 나타내었다.
Table 4-18의 결과를 볼 때 위암 세포주인 KATOIII의 경우 25㎍/㎖의 propolis와 반응시킨 1×10^7/well의 군에서 49.4%, 간암 세포주인 Hep3B의 경우는 25㎍/㎖의 propolis와 반응한 1×10^7well의 군에서 50.7% 그리고 폐암세포주인 A549의 경우는 고농도인 25㎍/㎖에서 1×10^7well의 군에서

44.3%가 넘는 발육억제효과를 나타내었다. 표 4-18에서 보는 바와 같이 Sarcoma 180과 Yac-1의 경우는 5μg/mℓ의 농도에서 1×10^7well의 군의 경우 각각 27.9%와 29.8%의 발육억제효과를 나타내었으며 25μg/mℓ의 농도에서 점차 감소되었다.

Table 4-17. 종양세포주에 대한 propolis의 생육저해효과 I

세포주 / 농도	Sarcoma 180		Yac-1		MCF7	
	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well
control	-	-	-	-	-	-
0.1μg/mℓ	2.6a)	8.4	1.4	1.0	14.0	12.1
1μg/mℓ	13.4	14.8	7.6	5.2	19.9	12.6
5μg/mℓ	19.2	28.9	19.9	29.8	17.2	25.4
25μg/mℓ	15	21.3	14.9	22.6	36.8	33.6

a)는 %, 모든 실험 결과는 triplicate에 의함

Table 4-18. 종양세포주에 대한 propolis의 생육저해효과 II

세포주 / 농도	KATOIII		Hep 3B		A549	
	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well	5 × 10^5/well	1 × 10^7/well
control	-	-	-	-	-	-
0.1μg/mℓ	7.2a)	8.7	5.0	11.8	4.3	3.6
1μg/mℓ	11.8	12.1	7.5	13.9	6.3	18.2
5μg/mℓ	25.9	28.0	18.4	23.1	35.1	33.5
25μg/mℓ	38.1	49.4	50.1	50.7	27.3	44.3

a)는 % , 모든 실험 결과는 triplicate에 의함

5. *in vitro* 내에서 사람의 혈액으로부터 추출한 호중구에 미치는 propolis의 효과

본 연구는 수용성 propolis가 인체의 급성 염증 시 체내에서 방어 역할은 하는 세포인 polymorphonuclear granular neutrophil(PMN : 호중구)의 기능에 어떠한 영향을 주는 가를 검색키 위함이다. 특히 propolis가 neutrophil과 장시간 배양할 때 나타나는 효과에 대한 것에 초점을 맞추었는데 이는 생체내에서 세균등의 급성 감염 및 염증에 호중구의 작용이 절대적이므로 propolis를 지속적으로 복용시킬 때 *in vivo* 내에서의 호중구에 미칠 수 있는 작용에 대한 간접적인 추정할 수 있기 때문이다.
본 연구 내용 및 결과는 향후 본 과제의 연구 결과를 바탕으로 실용화를 할 때 면역약리학적인 효능 검증이 없이는 특히 국내 연구진의 고유한 방법에 의한 효과 검증의 제시가 요구 될 수 있기에 이에 대한 정확한 효과 검증의 차원에서 수행되었다.

가. 재료 및 방법

건강한 사람의 혈액으로부터 Double-density Percoll®을 이용하여 상층으로 부터는 neutrophil을 분리하여 chemiluminescence 용 media인 phenol red가 함유되지 않은 1%의 BSA가 첨가된 RPMI-1640 배지에 1×10^6/mℓ을 고정한 후 수용성 propolis 추출물을 10ppm, 50ppm,및 100ppm씩 첨가한 후 neutrophil은 30분, 1.5시간, 10시간, 11.5시간 및 13.5시간 사전 배양한 후 탐식능력의 변화에 따른 respiratory burst시 생성하는 reactive oxygen(RO)를 측정하기 위하여 luminol을 amplifier로 하여 사전에 5분간 O_2^-·(superoxide anion) 의 발생을 증폭시켰으며 보체 C3b와 opsonization시킨 zymosan particle을 stimulator로 하여 40분간 luminometer(Berthold LB-9505)를 이용하여 chemiluminescense(CL)를 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

Table 4-19의 결과를 분석하여 보면 propolis 수용액을 호중구와 반응시킨 후 30분 경과 한 다음 탐식작용에 의한 CL은 대조 군과의 차이가 발견되지 않았다. 이러한 현상은 1.5시간 배양 후에도 지속되었다. 그런데 10시간의 배양 후 CL을 살펴보면 고농도인 50ppm이나 100ppm의 propolis와 반응한 결과는 30분이나 1.5시간의 결과와 차이가 없었으나 저농도인 10ppm의 propolis와 반응한 경우는 36.85%의 증가된 CL을 나타내었다. 이러한 탐식작용의 활성화에 의하여 증가된 CL은 11.5시간 배양 시에는 저농도인 10ppm과 반응한 neutrophil 경우 더욱 현저하여 46.51%로 증가하여졌으며 13.5시간 경과 후 대조 군에 비하여 108.40%의 증가를 나타내었다.

Table 4-19. Propolis가 사람의 neutrophil의 chemiluminescence 생성에 미치는 효과

농도 / 배양시간	Control(%)	100ppm(%)	50ppm(%)	10ppm(%)
0.5	100a)	102.56	100.43	103.19
1.5	100	100.96	101.31	107.19
10.0	100	101.39	102.14	136.85
11.5	100	104.36	135.40	146.51
13.5	100	118.24	156.82	208.40

a) = 4.044 × 109 cpm

한편 50ppm으로 처리된 neutrophil의 경우 11.5시간 경과 후 35.40%의 증가된 CL을, 13.5시간 경과 후에는 56.82%의 증가를 보였다. 그리고 100ppm 처리된 군도 11.5시간까지는 대조 군과의 차이가 없었으나 13.5시간 처리 후에는 18.24%의 증가를 나타내었다. 이상의 결과를 분석하여 보면 실험적으로 적합한 세포의 수와 propolis의 적합한 농도에 따라 탐식작용의 효과

가 달라짐을 알 수 있었는데 중요한 것은 시간이 경과하면 할수록 propolis와 반응한 neutrophil의 기능이 더욱 활성화 된다는 점이다. 이는 향후 propolis를 실제로 사료첨가제로서 사용할 때에 가축의 면역계 활성에 미치는 효과를 예측케 하여 매우 의미 있는 것으로 생각된다.

제 4 절 HPLC를 이용한 propolis의 약효성분 분석

아시아, 유럽, 남미등 전세계에서 생산된 프로폴리스의 화학적 구성성분 중에서 현재 약리학적으로 중요시되는 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 그리고 rutin (flavone glycoside) 등의 4가지 물질을 HPLC를 이용하여 측정하였다.
특히, 프로폴리스 구성 성분 등은 꿀벌들이 식물에서 채집하여 벌들의 타액과 기타 생리학적 작용으로 생산되는 천연의 물질(FAC, 1996)이므로 프로폴리스의 원료가 되는 식물의 지역적 분포및 기후에 따라 프로폴리스의 구성성분의 차이가 있음이 알려져 있다(Lavie. 1976)
또한, 현재까지 밝혀진 프로폴리스의 화학적 구성성분은 160여가지 정도(Greenway et al., 1990)이나, 현재 본 연구과제의 기초연구수행에 있어 중요시되는 위에 4가지 성분들을 정량 분석하여 앞으로의 연구의 도움을 기하며 아울러 현재까지 전 세계에서 생산 수집되는 프로폴리스의 구성성분을 지역적으로 구분하여 발표한 국내 자체 자료가 전무한 상태이므로 본 연구를 수행하였다.

1. 재료 및 방법

가. Propolis 시료

Propolis의 시료는 (주)천보실업으로 부터 구입하였고 이 중 한국과 중국, 뉴질랜드, 폴란드, 스페인, 동유럽, 브라질 및 칠레 등에 8개국 11가지의 시료를 분석 시험에 사용하였다.

나. 시료 분석에 사용된 물질

HPLC등급 methanol(CH_3OH), acetic acid(CH_3COOH), water(H_2O) 및

ethanol(C_2H_5OH)등을 J.T. Baker사 에서 구입하여 사용하였다.

다. 시료 분석 방법

가공되지 않은 10g 의 propolis시료를 99% ethanol 및 물을 용매로 하여 72시간 동안 교반한 후 추출된 액을 여과하여 evaporator(Heidolph VV2000)를 사용해 추출하였다.

각각의 ethanol, water로 추출된 propolis 시료의 최종 volume을 1mg/ml로 한 후, injection volume을 5μℓ로 했다. 각각의 시료는 μBondapak C18 , 10μm column(3.9×150mm)을 사용하여 Kontron 422 HPLC pump, detector 430A, thermostat controller 402 을 이용하여 측정하였다. 용출액으로 CH_3OH, CH_3COOH, H_2O을 각각 60 : 35 : 5 의 비율로 사용하였다. 최적의 chromatogram을 얻기 위하여 272nm에서 측정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 정량분석 물질들의 대표적인 약리학적 특성

Caffeic acid는 antiviral activity(Konig and Dustmann, 1985), antibacterial activity 작용이 Gram (+) 및 Gram (-) 세균(Villanueva et al.,1970)에 대하여 있으며, anti-inflammatory activity(Bankova et al.,1983)작용 등이 보고되었다.

Cinnamic acid 는 소의 유방염 시 문제시되는 대표적인 세균인 *Staphylococcus aureus* 증식 억제작용이 있다. p-coumaric acid 또한 anti-microbial and anti-mycotic activities(Metzner et al., 1979)특성이 있다. Rutin 은 flavone glycoside 물질이며 anti-viral(Konig and Dustmann, 1985) 특성과 gastric ulcer 치료 촉진(The hive and the honey bee, 1992)작용이 있다.

Table 4-20 및 Fig.4-9에 나타난 것처럼 중국산 수용성 추출 propolis의 각각의 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2- propenoic acid) 와 rutin(flavone glycoside) 함량은 같은 시료이지만 99% ethanol로 (Fig.4-10) 추출한 propolis 보다 caffeic acid 와 p-coumaric acid 함량이 2-3배 높았으나 cinnamic acid 와 rutin의 함량은 다소 낮았다. 이는 propolis 추출 용매에 따라 각각의 propolis 구성 성분의 함량의 차이가 있다고 사료된다. 차후 용매의 비극성 및 극성정도에 따라 propolis 구성 성분 함량의 차이 유무를 확인하는 것이 필요하다 생각된다.

Table 4-20 에서 중국 상하이산 ethanol 추출 propolis는 같은 중국산 propolis 추출물보다 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid (4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2-propenoic acid) 와 rutin(flavone glycoside)의 함량이 낮았다. 이는 중국내 자연환경 및 그 지역 특성으로 인한 성분함량의 차이가 나타나는 것을 보여 주고 있다.

Table 4-20 및 Fig.4-11의 뉴질랜드산 ethanol 추출 propolis의 구성성분 중 cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid)의 함량이 다른 나라의 것보다 3-5배 월등히 높았다. 이는 뉴질랜드가 지역적으로 대륙과 격리되어 있는 섬의 이국적 특성과 이와 연관된 식물의 분포의 차이로 인하여 생긴 결과라 생각된다.

Table 4-20 및 Fig.4-12 에 나타난 폴란드산 ethanol 추출 propolis 분석 결과로서 p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) 성분의 함량이 다른 나라의 것보다 월등히 높았다. 뉴질랜드산 ethanol 추출 propolis 보다는 약간 적은 caffeic acid (3.4-dihydro-xycinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 와 rutin (flavone glycoside)의 함량을 보이고 있으나 이들 물질 외에 알려지지 않은 성분이 Fig.4-11에 크로마토그람에서 다수 존재함으로, 향후 확인되지 않은 이들 물질은 계속 밝혀져야 한다고 사료된다.

Table 4-20에 나타난 한국 전남산 ethanol 추출 propolis 분석 결과는 각

각의 caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 및 rutin(flavone glycoside)의 성분 함량이 기타 다른 나라의 것보다는 비교적 낮게 나타나며, 더욱이 다른 나라의 propolis와 구분되는 특징적인 특성은 나타나지 않았다.

Table 4-20. 및 Fig. 4-13 에서 한국 강원 산 ethanol 추출 propolis 분석결과에서는 rutin(flavone glycoside)은 검출되지 않았지만 나라가 같은 전남산 ethanol 추출 propolis 보다 다른 3가지 성분인, caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid (4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) 함량은 더 높았다.

Table 4-20 에서 스페인 산 ethanol 추출 propolis의 성분함유량은, caffeic acid (3.4-dihydroxy- cinnamic acid), p-coumaric acid (4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid), rutin(flavone glycoside)등이 다른 나라에 비해 전체적으로 낮았다. 이는 다음의 기술된 브라질 ethanol 추출 propolis와 유사하며 이는 지역적으로 남미에 위치한 국가에서 공통적으로 나타나는 자연적인 특성에 인한 것이 아닌가 사료된다.

Table 4-20에서 동유럽 산 ethanol추출 propolis의 성분은 rutin (flavone glycoside)을 제외한 caffeic acid(3.4-dihydroxy-cinnamic acid), p-coumaric acid (4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2-propenoic acid)등의 함유량은 기타 나라보다 조금 더 높았다.

Table 4-20 및 Fig.4-14 에 브라질 ethanol추출 propolis의 경우 다른 나라와 비교 시 caffeic acid (3.4-dihydroxy-cinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2-propenoic acid) 및 rutin(flavone glycoside)의 함량이 모두 낮았다. 이는 브라질이 지역적으로 poplar 나무에 함유되어 있는 polyphenols 성분에 부재 (Aga et al., 1993)로 인해 나타나는 현상이라 사료된다.

이상에서 알 수 있듯이 propolis 구성 성분 등은 꿀벌들이 식물에서 채집하여 벌들의 타액과 기타 생리학적 작용으로 생산되는 천연의 물질(FAC, 1996)이므로 propolis의 원료가 되는 식물의 지역적 분포 및 기후에 따라 propolis의 구성성분의 차이가 있음을 알 수 있었고, propolis 추출 용매에 따라 각각의 프로폴리스 구성 성분의 함량의 차이가 있다는 것을 알 수 있었다.

Table 4-20. 각 나라별 caffeic acid(3.4-dihydroxycinnamic acid), p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid), cinnamic acid (3-phenyl-2-propenoic acid) 그리고 rutin(flavone glycoside)의 구성 성분량 비교

Country	caffeic acid (μg/g)	p-coumaric acid (μg/g)	cinnamic acid (μg/g)	rutin (μg/g)
China A(w)	331.59(33.82)	101.92(15.44)	18.35(8)	110.60(9)
China A(e)	102.02(15.12)	52.95(12.53)	45.23(24.78)	151.0(11.35)
China S(e)	33.25(12.88)	18.41(11.39)	14.47(20.72)	62.65(12.31)
Newzealand(e)	91.95(9.080)	50.12(7.75)	112.28(40.97)	103.11(5.16)
Poland(e)	46.68(6.46)	234.30(58.44)	17.92(7.28)	64.24(3.52)
Korea J(e)	37.69(15.38)	19.10(14.04)	26.24(31.43)	60.37(9.75)
Korea K(e)	86.91(9.35)	50.44(8.67)	44.75(17.80)	n.d
Spain(e)	22.14(9.29)	54.53(36.51)	10.69(16.58)	19.62(4.17)
Eastern-europe	88.66(16.79)	45.78(13.84)	37.84(26.48)	14.45(13.88)
Brasil(e)	30.07(13.56)	1.2(0.88)	5.80(9.68)	n.d

* (w) - water extracted propolis, (e) - ethanol extracted propolis.
* (w) - water extracted propolis, (e) - ethanol extracted propolis.
* China A - A level propolis,
China S - Sanghi propolis,
Korea J - Junnam,
Korea K - Kangwon.
* ( ) - Rel. Ar %.
* N.D. - not detected.
* Linear regression : y = a + bx (a = -0.96065, R = 0.99801)

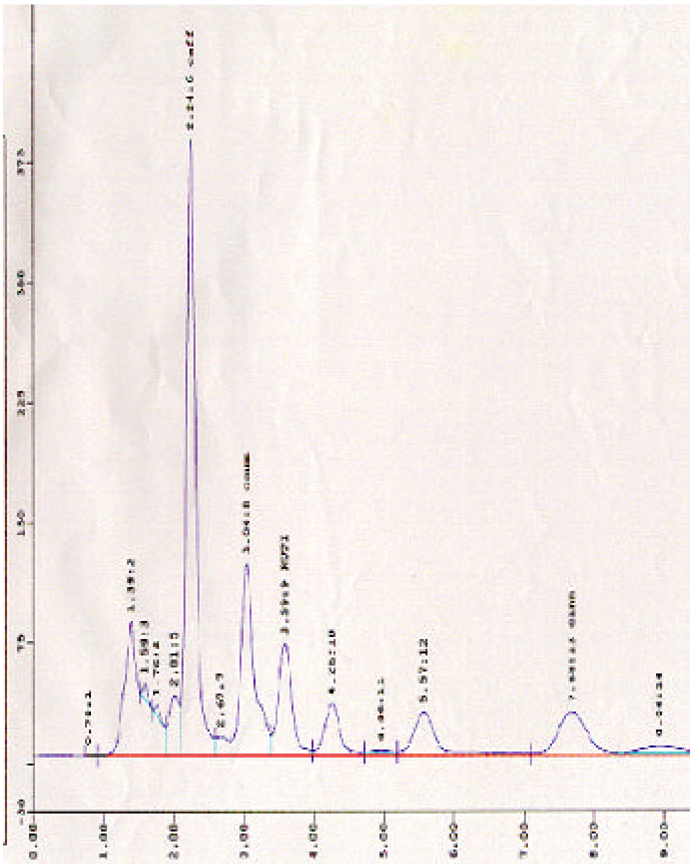


Fig.4-9. **중국산 수용성 추출** propolis**의 크로마토그램**

1) caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) - 2.24(s)
2) p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 3.04(s)
3) rutin(flavone glycoside) - 3.59(s)
4) cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 7.68(s)

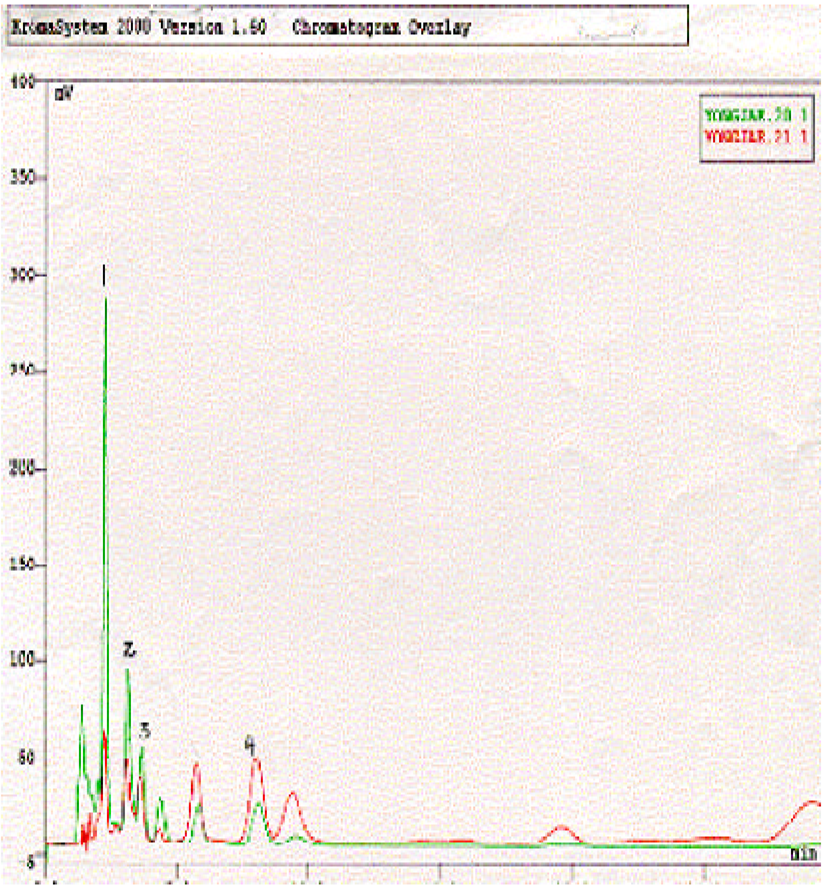


Fig.4-10. 중국산 ethanol 추출 propolis 와 수용성 추출 propolis 의 비교 크로마토그람

* Green colour - 중국산 수용성 추출 프로폴리스
* Yellow colour - 중국산 ethanol 추출 propolis

1) 1-caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) - 2.21(s)
2) 2-p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 3.04(s)
3) 3-rutin(flavone glycoside) - 3.59(s)
4) 4-cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 7.68(s)

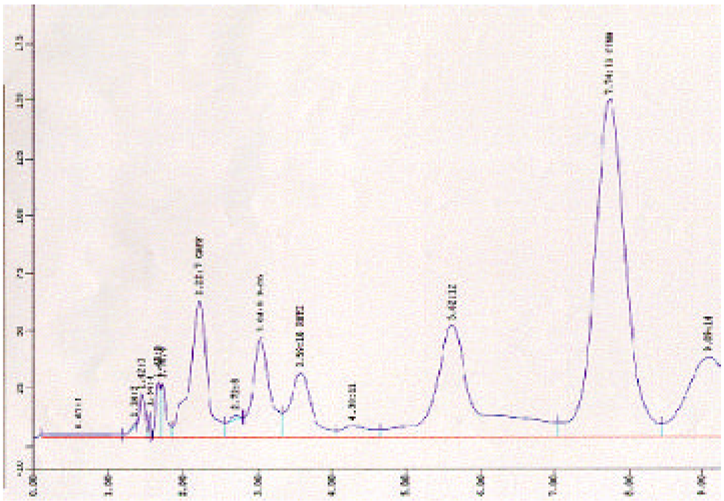


Fig.4-11. 뉴질랜드산 ethanol 추출 propolis의 크로마토그램
1) caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) - 2.22(s)
2) p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 3.04(s)
3) rutin(flavone glycoside) - 3.59(s)
4) cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 7.74(s)

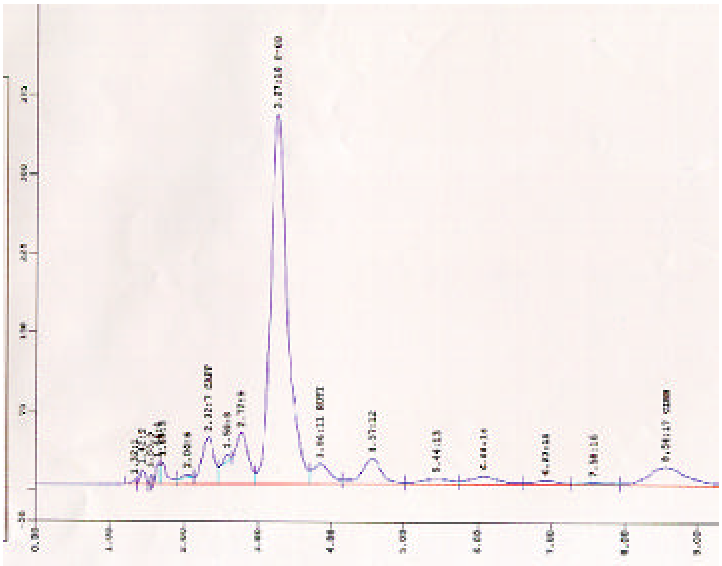


Fig. 4-12. 폴란드산 ethanol 추출 propolis의 크로마토그램
1) caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) - 2.32(s)
2) p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 3.27(s)
3) rutin(flavone glycoside) - 3.86(s)
4) cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 8.54(s)

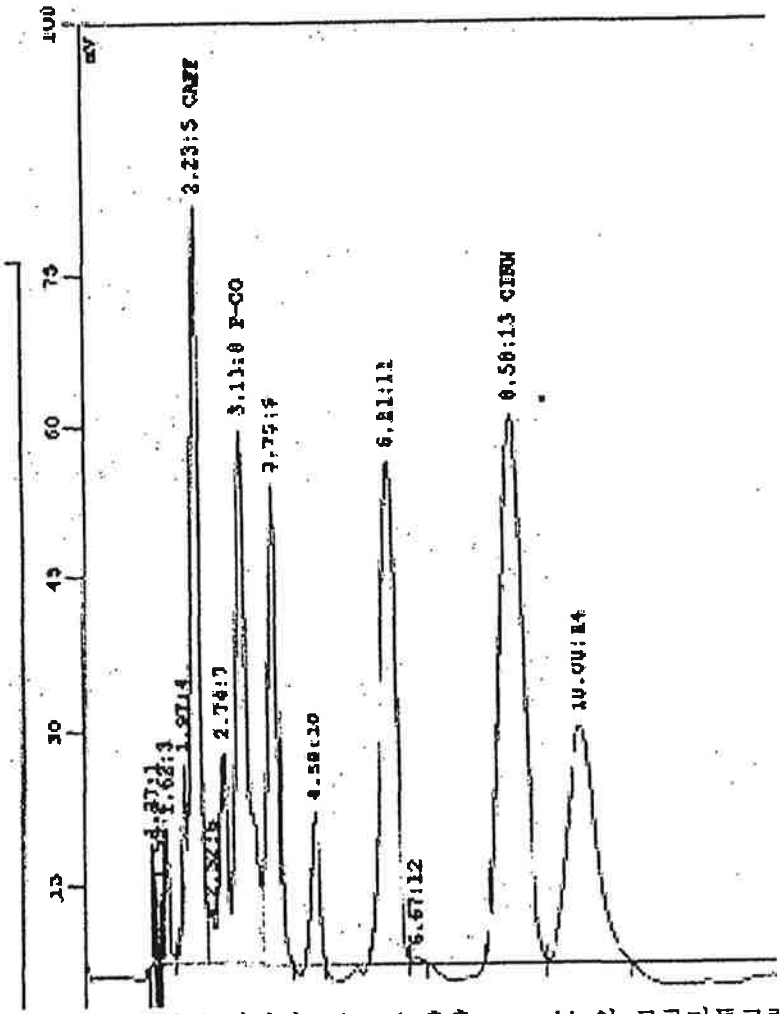


Fig. 4-13. 한국 강원산 ethanol 추출 propolis의 크로마토그람

1) caffeic acid (3.4-dihydroxycinnamic acid) - 2.23(s)
2) p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 3.13(s)
3) rutin(flavone glycoside) - no detectable
4) cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 8.58(s)

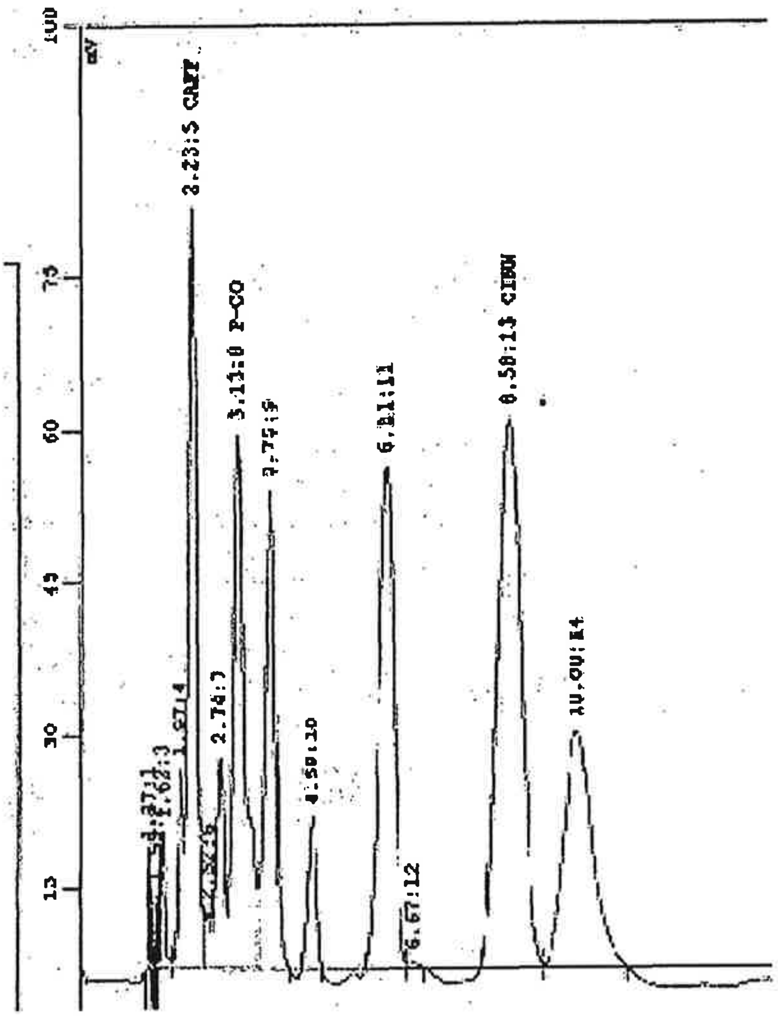


Fig. 4-14. 브라질산 ethanol 추출 propolis의 크로마토그람

1) caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) - 2.08(s)
2) p-coumaric acid(4-hydroxycinnamic acid) - 2.93(s)
3) rutin(flavone glycoside) - no detectable
4) cinnamic acid(3-phenyl-2-propenoic acid) - 6.89(s)

제 5 절 Propolis의 가축의 설사 예방 및 치료 효과

1. Propolis의 인공설사유발 송아지에서의 예방 및 치료효과 검색

본 연구는 이제까지 *in vitro* 상에 나타난 propolis의 세균 발육 억제에 작용하는 효과를 바탕으로 실제 임상적으로 propolis를 사료첨가제로서 사용할 수 있는 가를 검증할 목적으로 인공적으로 설사를 유발시키기 위하여 병원성 대장균을 경구로 투여한 후 propolis의 작용 효과를 조사하였다.

가. 재료 및 방법

1) 시험설계

본 실험은 1998년 6월초부터 8월말까지 이유직전부터 2개월까지의 한우 송아지 5마리와 홀스타인 송아지 5마리를 춘천시 학곡리 대명목장으로부터 임대하여, 춘천시 샘밭 소재 강원대 부속 동물 사육장에서 ① 대조 군, ② 사전 Propolis후 설사 세균 인공 감염 군, ③설사세균 인공 감염 후 propolis 투여 군, ④설사세균인공 감염 후 propolis와 항생제 혼합 투여 군, ⑤설사 세균 인공 감염 후 항생제 단독 투여군의 5개 군으로 각 군당 한우 및 홀스타인을 각각 1마리씩 나누어서 3회에 걸쳐 반복하여 인공적으로 유발된 설사에 대한 propolis의 효과를 측정하였다.

2) 사양관리

본 시험에 사용된 송아지 10두는 계류식 우사에 개체별로 수용하여 사양하였으며 사료는 1일 2회 오전과 오후로 나누어 급여하였다. 조사료로

서 건초와 청초는 먹고 남을 만큼 충분히 급여하고, 음수는 자유섭취토록 하였다.

3) 사용균주

본 연구에는 표준균주로서 병원성 *E. coli* K88ac를 국립수의과학검역원으로부터 분양 받아 강원도가축위생시험소에서 tryptic soy broth에 37℃에서 24시간 배양하여 사용하였으며, 섬모배양을 위해서 Minca medium에 37℃ 24시간동안 시험균을 배양하여 이용하였다. 배양된 *E. coli*를 1 × 10^9/mℓ로 고정하여 섬모와 1:1의 비율로 혼합 각각의 송아지에 1 1.5ℓ씩 설사를 유발할 때까지 매일 인공적으로 투여하였다.

4) 사용 propolis

헝가리산 propolis를 개체별로 300mg씩 10mℓ의 ethyl alcohol에 녹인 후 최종 부피 100mℓ가 되게끔 saline을 혼합하여 필요한 실험 설정에 따라 각 군 별로 경구 투여하였다.

5) 세균수의 측정

대조군, 인공세균감염군, propolis처리군등 전 군에서 세균은 Culturette™ (Becton Dickinson Co.)을 이용하여 직장 내에서 회수 *E. coli* 선택적인 Petrifilm™(3M Co.)에 적정배수로 희석하여 colony count를 하였다.

6) 항생제 및 기타 전해질제제

항생제로는 Baytril을 실험설계에 따라 설사하는 군의 송아지 개체당 2.5mℓ/100kg로 피하로 주사하였고 전해질제제로는 엘트라드를 사용하였으며 설사를 하는 개체의 propolis 투여군과 항생제 투여군에 15g 씩 1일 2회 경구로 투여하였다.

나. 결과 및 고찰

1) *E. coli* 의 경구투여에 의한 설사의 발생

Table 4-21은 인공으로 병원성 *E. coli* 에 의한 설사가 유발되는 가를 비교한 것으로 세균을 투여하지 않은 대조군의 경우 설사가 발생되지 않았고 그리고 세균의 경구투여 2주전부터 propolis를 투여한 후 세균을 투여한 군 역시 전혀 설사가 유발되지 않았다. 그러나 propolis나 항생제의 사전 투여가 없이 *E. coli* 를 투여한 군은 모두 설사를 하였다. 그런데 인공으로 설사를 유발시켰던 군의 경우 세균의 경구 투여 후 개체에 따라 1회 투여 후 다음날 즉시 설사를 하는 경우와 3일 이상 세균을 경구투여 한 후 설사를 시작하는 군등 다양하였다. 이는 개체간의 면역성의 차이에 기인 한 것으로 생각된다.

Table 4-21. *E.coli*에 의한 송아지 인공설사유발 효과

실험군(각군 6두)	설사발생두수
대 조 군	0/6 두
사전 Propolis 투여a)(2주) + 후 *E. coli* 투여b)	0/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 propolis 투여군,	6/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 propolisc) 와 항생제 혼합 투여군c)	6/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 항생제 단독 투여e)군e)	6/6 두

a) = 300mg/day　　　b) = 1,500mℓ(1x10^9/mℓ)
c) = 150mg씩 오전 오후 2회
d) =1mℓ/100kg/day　　　e) = 2.5mℓ/100kg

2) propolis의 송아지 설사의 예방 및 치료 효과

Table 4-21의 결과에서 보는 바와 같이 사전에 propolis를 경로 2주간 300㎎씩 투여한 후 *E. coli* 를 투여한 군의 경우 대조군과 마찬가지로 설사가 전혀 유발되지 않았는데 이는 propolis에 의한 대장균 설사의 예방효과를 시사하는 것이라고 할 수 있다.

Table 4-22는 propolis의 설사 치료 및 예방효과를 나타내고 있는데 *in vitro*상에서 propolis의 효과가 Gram (-)균에는 Gram (+)균에 비하여 상대적으로 약하였던 1차 년도 연구결과 때문에 만약 설사의 치료가 되지 않을 수도 있다는 가설 하에 대비하여 설사치료에 임상적으로 가장 보편적으로 사용하는 enrofloxacin제제인 Baytril을 positive control로 사용하였다.

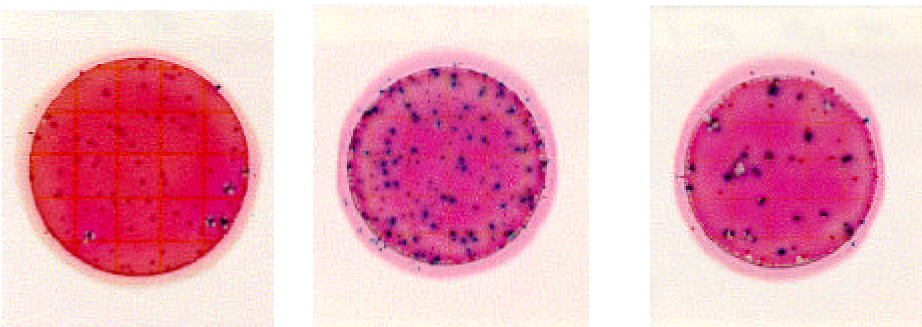
E. coli 에 의하여 인공설사 유발된 군의 경우 propolis를 경구로 300㎎을 아침과 저녁에 걸쳐 투여하였는데 투여 후 6시간이 경과한 후부터 점차적으로 설사가 소실되어 24시간 후에는 완전히 멈추어 육안적으로 정상적인 상태로 돌아오는 것을 관찰할 수 있었다. 아울러 이에 대한 세균학적인 검증인 위하여 대조군, 인공세균감염군, propolis 처리군등 전 군에서 세균은 Culturette™(Becton Dickinson Co.)을 이용하여 직장 내에서 회수 *E. coli* 선택적인 Petrifilm™(3M Co.)에 적정배수로 희석하여 colony count를 하였다. Fig. 4-15는 이에 대한 대표적인 결과로 왼쪽의 사진은 대조군으로 5.0 × 10^4CFU/g의 세균을 분변 내에서 검출하였으며 중간 사진인 대장균을 투여군의 경우는 1.4 × 10^6CFU/g로 대장균의 검출이 증가되었으나 오른쪽의 사진인 propolis투여군의 경우 투여 2일째에 2.4 × 10^5CFU/g 로 감소됨을 알 수 있었다.

한편 *E. coli* 감염설사 후 propolis 150㎎ 과 항생제 1㎖/100㎏ 혼합투여군 6두도 propolis 단독투여군 6두와 동일한 치료효과를 나타내었으며 *E. coli* 감염설사 유발 후 propolis 대신 기존의 광범위 항생제인 enrofloxacin 2.5㎖/100㎏를 투여한 군 6두 역시 동일한 치료효과를 나타내었다.

Table 4-22. *E.coli*에 의한 인공설사유발 송아지에서의 propolis의 효과

실험군(각군 6두)	설사의 예방 및 치료효과
대 조 군	-
사전 propolis 투여a)(2주) + 후 *E. coli* 투여b)	6/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 propolis 투여군c)	6/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 propolisc) 와 항생제 혼합 투여d)군	6/6 두
사전 *E. coli* 투여 + 후 항생제 단독 투여e)군	6/6 두

a) = 300mg/day b) = 1.500ml(1x10^{9}/ml) c) = 150mg씩 오전 오후 2회
d) = 1ml/100kg/day e) enrofloxacin(Baytril) 100mg/ml = 2.5ml/100kg



A) 대조군 (5.0 × 10^{4}CFU/g) B) *E. coli* 설사군 (1.4 × 10^{6}CFU/g) C) propolis 처치군 (2.4 × 10^{5}CFU/g)

Fig.4-15. Propolis 투여에 따른 송아지 분변 내의 대장균 수의 변화

이상의 결과를 분석하여 볼 때 propolis의 경우 항생제는 아니지만 그 중에 항균작용을 하는 성분으로 알려진 flavonoids 들이 이와 같은 약리 작용하는 것을 인식되며 이는 사료 첨가제로서 propolis의 활용 가능성을 더욱 강력하게 뒷받침 해 주는 자료가 될 수 있다고 하겠다.

특히 본 결과를 분석할 때 일차 년도의 in vitro 상에서 propolis의 세균들의 발육억제시험 결과에서 보고한 *E. coli*등의 Gram (-)균에 작용하였던 것과 마찬가지로 실제 임상적으로 *in vivo*에 적용했을 떠 좋은 치료효과를 나타내는 것은 약물이나 어떠한 물질의 작용면에서의 검증시 생체내 실험이 얼마나 중요한 가를 인식시키며 아울러 본 연구진이 갖었던 propolis의 가축에 있어서 임상적 적용 시 항균 spectrum이 작을 수 있다는 기우를 해결해 준 것이라 하겠다.

2. Propolis의 인공설사유발 어린돼지에서의 예방 및 치료효과 검색

본 연구는 실용화를 위한 사전 준비 실험으로서 propolis를 사료첨가제로 사용할 때 세균성 설사의 예방 및 치료에 어떠한 효과를 나타내는 가를 검증하기 위하여 실시하였다.

가. 재료 및 방법

1) 실험설계

본 실험은 1999년 6월말부터 11월말까지 이유 직후의 돼지 70마리를 춘천시 샘밭 소재 강원도 축산기술센터에서 실시하였다.

구체적인 실험군의 구분은 다음과 같아서 ① 대조군, ② 사전 Propolis 투여후 대장균 인공감염군, ③ 대장균 인공감염 후 propolis 투여군, ④ 대장균 인공감염 후 propolis와 항생제 혼합 투여군, ⑤ 대장균 인공감염 후 항생제 단독 투여군의 각 7마리씩 5개 군으로 구분하여 2회에 걸쳐 이

유한 어린 돼지들로 반복하여 대장균에 의하여 인공적으로 유발된 설사에 대한 propolis의 효과를 검증하고자 실시하였다.

2) 사양관리

본 시험에 사용되는 돼지 35두는 계류식 돈사에 7마리씩 각각 시험군별로 수용하여 사양관리 하였으며 사료는 1일 2회 오전과 오후로 나누어 급여하였으며 음수는 자유로이 섭취토록 하였다. 아울러 이 실험은 1차 실험 후 새로운 어린 돼지들로 2회 반복하였다.

3) 사용균주

본 연구를 수행하기 위하여 표준 균주로서 병원성 *E. coli* K99를 국립수의과학검역원으로부터 분양 받아 tryptic soy broth에 37℃에서 24시간 배양하여 사용하였으며, 강원도 가축위생시험소에서 섬모배양을 위해서 Minca medium에 37℃ 48시간동안 시험균을 배양하여 이용하였다. 배양된 *E. coli* K99를 1 × 10^9/㎖로 고정하여 섬모와 1:1의 비율로 혼합 각각의 어린돼지에 100 200㎖씩 설사유발까지 매일 경구로 투여하였다.

4) 사용 propolis

중국산 B급 propolis를 개체별로 150㎎씩 10㎖의 ethanol에 녹인 후 최종 부피 100㎖가 되게끔 saline을 혼합하여 필요한 실험 설정에 따라 각 군 별로 경구로 투여하였다.

5) 세균수의 측정

대조군, 인공세균감염군, propolis 처리군등 전군에서 세균은 Culturette™(Becton Dickinson Co.)을 이용하여 직장 내에서 회수 *E. coli* 선택적인 Petrifilm™(3M Co.)에 적정배수로 희석하여 colony count를 하였다.

6) 항생제 및 기타 전해질제제

항생제로는 Baytril을 실험설계에 따라 설사하는 군의 돼지 개체당 2.5 ㎖/100㎏로 피하로 주사하고 전해질제제로는 엘트라드를 사용하며 설사를 하는 개체의 propolis 투여군과 항생제 투여군에 15g 씩 1일 2회 경구로 투여하였다.

나. 결과 및 고찰

Table 4-23. *E.coli* K99에 의한 자돈 인공설사유발에 있어서 propolis의 예방 및 치료효과

실험군(각군 7두씩 2회 반복)	설사발생두수	설사예방및 치료두수
무 처 리 대 조 군	0/14두	-
사전 2주간 propolis 투여a) + 후 *E. coli* 투여군b	0/14두	14/14두
사전 *E. coli* K99 투여 + 후 propolis 투여군,	14/14두	14/14두
사전 *E. coli* K99투여 + 후 propolisc) 와 항생제 혼합투여군d	14/14두	14/14두
사전 *E. coli* K99투여 + 후 항생제 단독 투여군e)	14/14두	14/14두

a) = 150㎎/day b) = 100-200㎖(1x10⁹/㎖)
c) = 150㎎씩 아침, 점심, 저녁 3회
d) = 1㎖/100㎏/day
e) = 2.5㎖/100㎏/day

Table 4-23의 결과를 분석할 때 *E. coli*를 투여하기 전 2주간 propolis를 경구로 150㎎씩 투여한 군의 경우 그 후 *E. coli* 를 투여하여도 대조군과 마찬가지로 설사가 전혀 유발되지 않았는데 이는 propolis에

의한 대장균 설사의 예방효과를 시사하는 것이라고 할 수 있다.

이미 앞의 실험에서 어린 송아지의 경우 propolis의 투여가 설사의 치료 및 예방에 효과를 있었고 *in vitro*상에서 propolis의 효과가 Gram (-)균에는 Gram (+)균에 비하여 상대적으로 약하였으나 예외적으로 *E. coli* 에는 감수성이 있었음을 바탕으로 *in vivo*상 이유직전의 자돈에 대한 예방 및 치료 효과를 분석하였다. 이때 설사치료에 임상적으로 가장 보편적으로 사용하는 enrofloxacin제제인 Baytril을 positive control로 사용하였다.

E. coli K99의 경구투여에 의하여 인공적으로 설사가 유발된 군의 경우 propolis를 경구로 150㎎을 각각 아침과 점심, 저녁에 걸쳐 3회 투여하였는데 투여 후 6시간이 경과한 후부터 개체간의 다소간의 시간적인 차이는 있으나 점차적으로 설사가 소실되어 24시간 후에는 전반적으로 뚜렷하게 좋아졌으며 48시간-72시간 이후에는 점차적으로 멈추어 육안적으로 정상적인 상태로 돌아오는 것을 관찰할 수 있었다. 아울러 이에 대한 세균학적인 검증인 위하여 대조군, 인공세균감염군, propolis 처리군등 전 군에서 세균은 Culturette™(Becton Dickinson Co.)을 이용하여 직장 내에서 회수 *E. coli* 선택적인 Petrifilm™(3M Co.)에 적정배수로 희석하여 colony count를 하였다. 즉 대조군의 경우 6.0 × 10^4CFU/g의 세균을 분변 내에서 검출하였으며 *E. coli* 투여군의 경우는 1.8 × 10^6CFU/g로 *E. coli*의 검출이 증가되었고 propolis투여군이나 propolis와 항생제 혼합 투여군 그리고 항생제만을 단독으로 투여한 군 모두 투여 2일째에 1.0 × 10^5CFU/g 미만으로 감소됨을 알 수 있었다.

이상의 결과를 분석하여 볼 때 propolis의 경우 항생제는 아니지만 그 중에 항균작용을 하는 성분으로 알려진 flavonoids 들이 이와 같은 약리작용을 하는 것을 인식되며 이는 사료 첨가제로서 propolis의 활용 가능성을 더욱 강력하게 뒷받침 해 주는 자료가 될 수 있었다.

제 6 절 Propolis의 유방염 치료 체계

1. Propolis의 분리된 유방염 주요 원인균에 대한 항균력 평가

이미 앞 절의 결과에서 밝혀진 propolis 의 항균력을 바탕으로 젖소의 유방염의 치료 및 예방의 목적으로 propolis를 활용할 수 있는 가를 검증키 위한 젖소의 주요 유방염 원인균에 대한 항균력을 *in vitro*에서 실시하였다.

가. 재료 및 방법

1) 사용한 균주 및 배지

Table 4-24의 균주를 국립수의과학검역원에서 분양 받아 강원도 가축위생시험소에서 일차적으로 증식용배지에 세균을 증식시킨 다음 탁도계를 이용하여 10^8/mℓ로 농도를 맞춘 후 각각의 세균에 적합한 분리배지에 멸균된 면봉으로 도말 하여 사용하였다. 아울러 세포배양용인 무균처리 된 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 농도별로 녹인 propolis를 직경 6㎜의 멸균처리 된 paper disc에 15㎕씩 적시어 세균이 도말 된 배지 위에 올려놓았다. 그리고 각 세균에 특성에 따라 적합한 시간 동안 35±1℃의 배양기에서 배양한 후 세균발육 억제 환의 직경을 측정하여 결과를 관찰하였다.

이때 positive control로는 penicillin계의 광범위 항생제인 ampicillin(disc potency : 10㎍)과 비교적 새로운 항생제인 quinolone계의 norfloxacin(disc potency : 10㎍)로 사용하였으며 propolis는 최고 농도 50,000ppm부터 10배씩 희석하여 5ppm까지 사용하였다.

Table 4-24.Propolis의 유방염균에 대한 항균력시험에 사용된 균주

사 용 균 주
1. *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923
2. *Staphylococcus epidermidis* - ATCC 12228
3. *Stapylococcus agalactiae* - ATCC 13813
4. *Stapylococcus dysgalactiae* - ATCC 27957
5. *Stapylococcus uberis* - ATCC 27958
6. *Escherichia coli* - ATCC 10536

나. 결과 및 고찰

1) Propolis의 각종 유방염 원인세균에 대한 항균력 비교

소의 유방염 원인균으로서 문제시되는 중요한 균 중의 하나인 *Staphylococcus uberis*의 경우 Table 4-25 에서 보는 바와 같이 propolis 50,000ppm의 고농도에서는 항균력을 나타내었다. 그러나 대조군으로 사용된 penicillin유도체로서 광범위 항생제인 ampicillin의 경우는 이 균에 항균력을 보이지 않고 norfloxacin은 항균효과를 나타내었다. 이 결과는 propolis가 ampicillin에 저항성이 있는 세균에 대용약으로 유방염의 치료에 활용할 수 있을 가능성을 제시해 준다. 본 실험에서 propolis의 농도가 기존의 항생제 disc에 비하여 상대적으로 높은 이유는 propolis 자체는 기존의 항생제와는 달리 순수 약효 성분만을 분리 정제된 의약품이 아니라 단지 여러 가지 천연 flavonoids의 복합체로 성분 중에는 항균작용과 무관한 부분들도 다량 포함되어 있기 때문으로 생각된다.

Table 4-25. Propolis **농도에 따른** *Staphylococcus uberis*의 **항균력**

Propolis 농 도						ampicillin	norfloxacin
	50,000ppm	5,000ppm	500ppm	50ppm	5ppm	(10㎍)	(10㎍)
inhibition (mm)	4	1.8	1	1	N.D.	N.D.	6

N.D. = not detectable

한편 유방염의 원인균으로서 괴저성 유방염의 원인체인 *Staphlococcus aureus*에 **대한 항균력 실험의 경우 기존항생제의 대조군은 물론이고** propolis **경우에서도** 500ppm**이상의 고농도에서는 항균력을 나타냄을 알 수 있었다**.

Table 4-26. Propolis **농도에 따른** *Staphylococcus aureus*의 **항균력**

Propolis 농 도						ampicillin	norfloxacin
	50,000ppm	5,000ppm	500ppm	50ppm	5ppm	(10㎍)	(10㎍)
inhibition (mm)	4	2.8	2	1	N.D.	15	13

N.D. = not detectable

Table 4-26**의** *Staphylococcus agalactiae* **균의 경우도** *Staphylococcus aureus*와 **유사하게** propolis**가 모두** 50,000ppm, 5,000ppm **및** 500ppm**에서 양성반응을 나타내었고 억제정도가** 5,000ppm **에서** 4㎜**로** *Staphylococcus aureus* **보다 다소 강한 것으로 보였다. 그리고 대조군의 두 가지 항생제 역시 강력한 억제작용을 보였다. 이 결과는** propolis**가 특히** Gram (+) **균에 효과적임을 암시하는 것이다**.

Table 4-27. Propolis **농도에 따른** *Staphylococcus agalactiae***의 항균력**

Propolis 농 도						ampicillin	norfloxacin
	50,000ppm	5,000ppm	500ppm	50ppm	5ppm	(10㎍)	(10㎍)
inhibition (mm)	4	4	2	1	N.D.	13	9

N.D. = not detectable

한편 Table 4-27**에서** Gram(-) **균인** *E. coli***의 경우 광범위 항생제인** ampicillin**은 전혀 항균력이 없으나 본 실험에 사용된** propolis**는 항균력을 나타내어 특히 후반기에 돼지의 세균성설사에 대한 실험을 준비하면서 지난해의 보고서에서 송아지의 대장균에 의한 세균성설사의 치료 및 예방에** propolis**가 효과를 나타냈었던 것을 바탕으로 향후 제품화시** propolis**의 효과에 대한 자료를 준비하는 데 중요한 지표로서 적극 활용할 계획이다**.

Table 4-28. Propolis **농도에 따른** *E. coli***의 항균력**

Propolis 농 도						ampicillin	norfloxacin
	50,000ppm	5,000ppm	500ppm	50ppm	5ppm	(10㎍)	(10㎍)
inhibition (mm)	4	3	1	N.D.	N.D.	N.D.	7

N.D. = not detectable

2. TTC(Triphenyl tetrazolium chloride) reduction test를 이용한 propolis 첨가 우유 내 반응시험

가. 재료 및 방법

1) 실험 준비물

가) 공시균주: *Staphylococcus thermophilus* 는 국립수의과학검역원으로부터 분양을 받아 실험에 사용하였다.

나) 10% 멸균탈지유배지

다) 실험용 배양균액(10% 탈지유배지에 공시균주를 넣어 12시간 정도 배양한 균액을 10% 탈지유에 1:1로 섞는다.)

라) 항온 수조, Incubator, 시험관, pipette etc.

2) Propolis 첨가 우유중의 항생제 잔류 test

Zero control과 TMP control tube에는 skim milk(10%의 멸균탈지유) 8㎖를 넣고 시료측정 시험관에도 각 농도별로 propolis가 첨가된 skim milk 8㎖씩 취한다. zero control에는 1㎖의 멸균 증류수를, TMP control과 측정 시료가 담길 시험관에는 1㎖의 TMP 용액을 넣는다. 82±2℃의 항온 수조에서 2분 30초 동안 가열하여 꺼낸 즉시 수돗물에 담구어 37℃이하로 냉각시킨다. 실험용 배양균액을 각 시험관에 1㎖씩 첨가한 후, Incubator(37℃)에서 2시간 동안 배양하여 300㎕의 TTC용액을 첨가한 후 incubator(37℃)에서 60분 동안 반응시킨다. TMP control이 zero control의 색상과 동일한 정도로 발색되는 시점이 반응종료 시간으로 하여 시료의 색상이 TMP control의 도홍색 보다 현저히 옅을 경우 양성으로 판정하고, 시료의 색상이 TMP control의 도홍색과 같거나 진한 경우를 음성으로 판정한다.

나. 결과 및 고찰

Table 4-29의 결과를 볼 때 propolis의 투여는 TTC-reduction test를 이용한 잔류 물질 검사에 1ppm의 농도에서부터 100ppm의 농도 모두 음성반응을 나타내었다. 이러한 사실은 첫째 유방염 치료의 목적으로 propolis를 사용할 수 있는 가능성을 강력히 시사하는 것이며 둘째로는 본 연구 결과 향후 propolis 함유한 축산물의 생산을 위한 청신호임을 암시하는 결과이기도 하다고 하겠다.

Table 4-29. Propolis의 *Staphylococcus thermophilus*에 대한 TTC 환원효과

Propolis 농도	결 과 판 정	비 고
1ppm	음성(-)	도홍색을 띰
5ppm	음성(-)	도홍색을 띰
10ppm	음성(-)	도홍색을 띰
50ppm	음성(-)	도홍색을 띰
100ppm	음성(-)	도홍색을 띰

제 7 절 참 고 문 헌

1) Wollenweber.E.,Hausen. B.M., Greenaway. W. : Phenolic constituents and sensitizing properties of propolis, poplar balsam and balsam of peru. *Bull. Groupe. Polyphenols*.15, 112-120 (1990)

2) Ayala. F., Lembo.G., Nappa.P. and Balato.N. : Contact dermatitis from propolis. *Contact dermatitis* 12, 181-182 (1985)

3) Bankoba. V., Christov.R., Kujumgiev.A. : Chemical Composition and Antibacterial Activity of Brazilian Propolis, *Z. Naturforsch*. 50c, 167-172 (1995)

4) Greenaway, W., May, J., Scaysbrook. T. and Whatley, F. R. : Identification by gas-chromatography mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Z. Naturforsch*. 111-121. (1990)

5) Gabrys.J., Konecki. J., Krol. W., Scheller.S. : Free amino acids in bee hive product as identifed and quantified by gas -chromatography. Phaarm. Res. Commun. 18, 513-518(1986)

6) Bankova.V.S. : A study of flavonoids of propolis. J. Nat. Products. 4, 471-475 (1982)

7) Scheller, S., Gazda, G., Krol, W., Czuba, Z., and Shani, J. The ability of ethanolic extract of propolis to protect mice against gamma irradiation. *Zeitschrift fur Naturtforschung* 1049-1052

8) Serkedjieva.J., Manolova.N. : Anti-influenza virus effect of propolis canstituents and their analogues. *J.Nat,* Products 55, 294-297 (1992)

9) Amoros.M., Simoes.C.M.O.: Synergisitic effect of flavonoids and flavonols against herpes simplex virus type I in cell culture. *J. Nat. Products* 55, 732-740 (1992)

10) Grange.J.M., Davey.R.W. : Antibacterial properties of propolis(bee glue). *J. Royal Soc. Med.* 83, 159-160 (1990)

11) Scheller.S., Szaflarski.J., Tustanowski.J., Nolewajka.E. and Stojko.A. : Biological properties and clinical application of propolis I. Some physicochemical properties of propolis I. Some physicochemical properties of propolis. Arzneim. *Forsch/Drug Res.* 27, 889-890.

12) Scheller.S., Krol.W., Swiacik.J., Owczarek.S., Gabrys.J. : Antitumoral property of ethanol extract of propolis in mice-bearing ehrlich carcinoma as compared to bleomycin. *Z.Naturforsch* 44, 1063-1065 (1989)

13) Grunberger.J., Banerjee.R., Eisinger.K.,Oltz. E.M. : Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 44, 230-232 (1988)

14) Krol.W., Czuba.Z., Scheller.S.,Gabrys. J., Grabiec.S. and Shani.

J. : Anti-oxidant properties of ethanol extract of propolis as evaluated. *Biochemistry international*. 21, 4, 593-597 (1990)

15) Sud'ina.G.F., Mirzoeva.O.K., Pushkareva.M.A., Korshunova.G.A., Sumbatyan.N.V. and Varfolomeev.S.D.: Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxigenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS* 329, 1,2,21-24 (1993)

16) Krol.W., Scheller.S., Czuba. Z., Matsuno.T., Zydowicz. G., Shani. J., Mos.M. : Inhibition of neutrophils's chemiluminescene by ethanol extract of propolis and its phenolic components. *Journal of Ethnopharmacology* 55, 19-25 (1996)

17) Mirella Nardini, Fausta Natella, Vincenzo Gentili, Maurizio Di Felice, and Cristina Scaccini : Effect of caffeic acid dietary supplementation on the antioxidant defense system in rat. *Archives of biochemistry and biophysics* Vol. 342, No. 1, 157-160, (1997)

18) Scheller.S., Wilczok.T., Imielski.S., Krol.W., Gabrys.J. and Shani.J. : Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *INT. J. RADIAT. BIOL.* 57,3 461-465 (1990)

19) Misic.V., Ondrias.K., Gergel.D., Bullova.D. : Lipid peroxidation of lecithin liposomes depressed by some constituents of propolis. *Fitoterapia LX2* 215-220 (1991)

20) Krol.W., Czuba.Z., Scheller.S., Gabrys.J., Grabiec.S. and Shani.

J. : Antioxidant properties of ethanol extract of propolis as evaluated. *Biochemistry international*. 21, 4, 593-597 (1990)

21) Volpert.R. and Elstner.E.F. : Biochemical activities of propolis extracts. I. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. *Z. Naturforsch*. 48c 851-857 (1993)

22) Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ, Zentella A, Albert JD, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachetin. *Science* 234:470-474.

23) Calandra, T., Baumgartner, J.D., Grau, G.E. *el al*. Prognostic values of tumor necrosis factor/cachetin, interleukin-1, interferon-α, and interferon-γ in the serum of patients with septic shock. Swiss-Dutch J5 immunoglobulin study group. *J.Infect.Dis*. 161,982-987(1990)

24) Van der Poll, T. and Lowry, S.F. Tumor necrosis factor in sepsis: mediator of multiful organ failure or essential part of host defense? *Shock* 3, 1-12(1995)

25) Auphan, N., Di Donato, J.A., Rosette, C. *et al*. Immunosuppression by glucocorticoids : inhibition of NF-κB activity through induction of IκB synthesis. *Science* 270, 286-290(1995)

26) Biswas, D.K., Ahlers, C.M., Dezube, B.J. *et al*. Pentoxifylline

and other protein kinase C inhibitors down-regulate HIV-LTR NF-κB induced gene expression. *Mol. Med.* 1, 31-43.

27) Young, P., McDonnell, P., Laydon, J. *et al*. A novel MAP kinase regulates the production of IL-1 and TNF in LPS activated human monocytes. *Cytokine* 6, 564

28) Bianchi, M., Bloom, O., Raabe, T. et al. Suppression of proinflammatory cytokines in monocytes by a tetravalent guanylhydrazone. *J. Exp. Med* 183, 927-936

29) Tappel, A.T., Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.*, 32(8), 1870-1874, 1973.

30) Misra, H.P. and Fridovich, I., Univalent reduction of oxygen by reduced flavins and quinones, *J. Biol.chem.*, 247, 188, 1972.

31) Merrill, A. H., Lambeth, J. D., Edmondson, D.E., and McCormic, D. B., Formation and mode of action of flavoproteins, *Annu. Rev. Nutr.*, 1, 281, 1981.

32) Haber, F. and Weiss, J., The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts, *Proc. R. Soc. London Ser. A*, 147, 332, 1934.

33) Bilinski, T., Krawiec, Z., Liczmanski, A., and Litwinska, J., Is hydroxyl radical generated by the Fenton reaction in vivo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 130, 533, 1985.

34) Kanofsky, J. R., Singlet oxygen production by lactoperoxidase. Evidence from 1270nm chemiluminescence, *J. Biol. Chem.*, 258, 5991, 1983.

35) Khan, A. U., Gebauer, P., and Hager, L. P., Chloroperoxidase generation `of singlet molecular oxygen observed directly by spectroscopy in the 1.0 to 1.6μm region, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80., 5195, 1983.

36) Khan, A. U., Enzyme system generation of singlet molecular oxygen observed directly by 1.0-1.8μm luminescence spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 7195, 1983.

37) Vidigal Martinelli, C., Zinner, K., Kachar, B., Duran, N., and Cilento, G., Emission from singlet oxygen during the peroxidase-catalyzed oxidation of malonaldehyde, *FEBS Lett.*, 108, 266, 1979.

38) Cadenas, E., Sies, H., Nastainczyk, W., and Ullrich, V., Singlet oxygen formation detected by low-level chemiluminescence during enzymatic reduction of prostaglandin G2 TO H2, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 364, 519, 1983.

39) Rucker, R. R. and Mueller, G. C., Effect of oxygen tension of Hela cell growth, *Cancer Res.*, 20, 944, 1960.

40) Drew, R. M., Painter, R. B., and Feinnendegen, L. E., Oxygen inhibition of nucleic acid synthesis in HeLa S3 cells, *Exp. Cell Res.*, 36, 297, 1964.

41) Clement, A., Hubscher, U., and Junod, A. F., Effects of hyperoxia on DNA synthesis in cultured porcine aortic endothelial cells, *J. Appl. Physiol.*, 59, 1110, 1985.

42) Junod, A. F., Effects of oxygen intermediates on cellular functions, *Am. Rev. Respir. Dis.* 135, S32, 1987.

43) Ames, B.N. and Saul, R.L., Oxidative DNA damage as related to cancer and aging, in Genetic Toxicology of Environmental Chemicals, *Part A, Alan R. Liss, New York*, 11., 1986.

44) Vuillaume, M., Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation, *Mutat. Res.*, 186, 43, 1987.

45) Sies, H., Ed., Oxidative Stress, *Academic Press, London*, 1985.

46) Krol.W., Scheller.S., Czuba.Z., Matsuno.T., Zydowicz.G., Shani.J. : Inhibition of neutrophil's chemiluminescence by ethanol extract of propolis and its phenolic components. *J. Ethanopharmacology* 55. 19-25.(1996).

47) Sakaguchi.S., Kanda. N., Hsu.C.C., Sakaguchi.C., *Microbiol. Immunol.*, 25, 229(1981)

48) Sakaguchi.C., Kanda.N.,Sakaguchi. S., Hsu.C.C.,Abe. H.,

Microbiol. Immunol., 25, 229(1981)

49) Regina Volpert and Erich F.Elstner. Biochemical Activities of Propolis Extracts I. Standardization and Antioxidative Properties of Ethanolic and Aqueous Derivatives. *Z.Naturforsch*. 48c, 851-857 (1993)

50) Shuhei Sakaguchi, Eiji Tsutsumi, and Kattsushi Yokota. Preventive Effects of a Traditional Chinese Medicine against Oxygen Toxicity and Membrane Damage during Endotoxemia. *Biol. Pharm. Bull*. 16(8) 782-786 (1993).

51) Eun-Mee Choi, Jyung-Rewng Park and Jung-Sook Seo. : Effect of Beta-Carotene Supplementation on Lipid Metabolism and Related Enzyme Activities in Rats. *J. Korean Soc. Food Nutr*. 23(5), 743-749 (1994).

52) Tsutomu, N., Hiramitsu and Kawakishi, S : The protective role of gallic acid ester in bacterial cytotoxicity and SOS responses induced by hydrogen peroxide. *Mutation Res.*, 303, 29(1993)

53) Shuhei Sakaguchi, Shinobu Furusawa and Ken-ichi Sasaki : The enhancing effect of tumor necrosis factor on oxidative stress in endotoxemia. *Pharmacology and Toxicology* 1996,79.

54) Rangel-Frausto, M.S.., Pittet, D., and Costigan, M : The natural history of the systemic inflammatory response syndrome(SIRS). *JAMA*

273: 117-123, 1995.

55) Aral, K., Lee.F., Miyajima.A., Miyatake.S. : Cytokine, coordinators of immune and inflammatory responses. *Annual Review of immunology*, 1997.

56) Baggiolini, M., Dewald. B., and Moser. B. : Human chemokines an up date. *Annual Review of Immunology*, 1997.

제 5 장 분취억제제 및 천연항생물질의 시장 경제성 평가 및 상용화방안

제 1 절 국내 및 국외 항생물질 시장동향분석 및 미래 무공해 축산물의 시장 평가

1. 국내 및 국외 항생물질의 시장동향분석

가. 항생제 및 합성의약품 시장의 분석 및 평가

1) 연구내용

1950년대 페니실린의 사료첨가는 축산의 생산성을 약 5-10% 향상시킨 혁명적인 사건이었다. 그러나 항생제 및 합성의약품의 과다 사용은 공중보건적인 의미에서 많은 문제를 안고 있는 현실이다. 특히 인체약품과 동일제품의 사용, 사료첨가물과 치료약품의 병용 등과 함께 약사나 수의사의 처방에 의하지 않는 일반제품화된 국내 동물약품은 과다사용에 의한 직접적 폐해가 예상되고 있다.

따라서 특정 병원균에 대한 감수성은 낮지만 감수성의 범위가 넓은 천연항생물질에 대한 개발은 기존의 관행 및 문제점을 해결하는데 일조할 수 있다고 본다. 천연항생물질에 대한 개념 및 안전성에 대한 규정은 아직 국내외적으로 명확히 설정되어 있지는 않으나 동양적인 관점에 익숙한 우리나라에서는 범용적인 사용이 가능하다고 판단된다. 동물약품 사용현황을 파악함으로서 천연항생물질의 시장잠재력을 파악하였다.

2) 연구결과

국내 동물약품 총 시장규모는 1995년, 1996년 각각 3,939억, 4,574억원으로 약 16%의 성장을 보여주고 있다. 항병원성 약과 백신 등 생물학적 제제가 성장을 주도하고 있으며, 이는 축산 사육규모의 성장보다 높은 성장율이다. 좀 더 세밀히 관찰한다면 항생제, 합성의약품 등에 의한 의존도가 높으며, 이는 신약이 출시되지 않은 상황을 고려하면 우려할 만한 수준이라고 할 수 있다.

항병원성 동물약품 판매액은 1996년 1,052억원이며, 이중 화학요법제는 408억원이며, 항생제는 617억원 이었다. 우리 나라의 동물약품 사용관행상 주의깊게 보아야 할 문제로서 단일제제 보다는 복합항생제가 가장 많은 부분을 차지하고 있는 사실이다. 항생제와 화학요법제의 복합, 혼합 항생물질제제가 332억원으로 가장 많이 차지하고 있다. 이는 교차내성에 의한 효과 저하로 인한 항생물질의 과다사용이 예상될 수 있기 때문이다.

천연항생물질의 유효시장은 기존 대부분의 항생제, 화학요법제가 첨가가 허용되지 않는 육계 후기, 비육말기 시장에 한정하여 약 10%의 유효시장을 대체한다고 보아도 총 유효시장 규모는 105억으로 추정되며, 전기, 육성기에 사용되고, 사료첨가형태 이외에 주사제, 수용산, 보러스 등 다양한 제형화를 기할 때 유효시장은 확대될 수 있다고 판단된다.

그러나 천연항생물질이 항균작용과 관련하여 기존 항생제, 화학요법제와 같은 안전성 검증과 함께 효능확인 및 효능에 대비한 경제성 파악이 앞으로의 과제라고 판단하였다.

축산물의 유해물질 잔류기준을 통하여 축산물의 안전성 확보차원에서 천연항생물질의 제품화 가능성을 살펴보았다. 우리 나라는 1996년 보건복지부 고시에 의해 항생제, 합성항균제, 호르몬제 등 41가지의 잔류기준을 설정하였으며, 해당되지 않는 품목은 검출되서는 되지 않는 네카티브 기준을 적용함으로서 실질 사용 동물약품을 고려할 때 매우 엄격한 기준이 적용되

고 있다고 볼 수 있다. 실질적으로 축산물에 설정되지 않은 물질이 검출시 전량 폐기해야하는 것으로 실질검사시 대부분의 축산물이 허용기준을 넘어설 가능성이 매우 높으며 이는 수입축산물의 경우에 폐기율이 높은 것을 고려하면 매우 우려할 만한 상황이다. 이러한 현실을 대표하는 것이 의약품의 사료첨가용 지침으로 지정 품목이 점차 감소하는 것을 알 수 있었다. 생산성을 유지하면서 안전성을 확보할 수 있는 방안으로

① 항생제, 합성의약품의 정확한 사용 및 중복사용 방지를 위해 필드에서의 사료첨가용 항생제, 합성의약품 사용 방지

② 약사, 수의사 처방에 의한 화학요법 처리

③ 천연항생물질 등 항생제, 합성의약품 대체제 개발 등을 들 수 있으며, 공중보건적인 측면에서 위생적인 관리 및 지도가 절실한 입장임을 확인할 수 있었다. 특히 천연항생물질에 대한 수요는 기존 항생제, 합성의약품의 남용에 따른 문제가 제기되고 있는 현실에서 cleaning 개념의 처리가 가능함을 고려할 때 사료첨가형태로는 광범위하게 사용할 수 있으므로 시장경제성은 매우 높으며 조속한 개발이 필요함을 확인할 수 있었다.

나. 분취억제제 시장의 분석 및 평가

1) 연구내용

분취는 미소화 결과물에서 발생하는 것이므로 분취억제의 개념은 소화과정 중에서 소화율을 향상시키는 것이 중요하다. 이후 배설된 분뇨상태에서 분취를 억제하는 것으로 대별하여 이해할 수 있다. 따라서 전자의 개념은 소화율과 직접적인 관계에 있는 소화효소, 생균제, 항생제 등이 직접적으로 영향을 미치며, 보조적인 개념으로 흡착제(absorbant)이 있을 수 있으며 후자의 경우는 분뇨처리장 등의 의무설치 및 composting에 의해 많은 개선이 이루어져 왔다. 분취억제의 개념을 모토로 1970년대 이래 미국에서

제품화에 성공 널리 사용되고 있는 steroid saponin인 유카시디제라 제품도 주목되고 있다.

시판중인 분취제거제에 대하여 요약, 정리함으로 새로운 분취억제제의 개발을 위한 시장성 및 상품개발 가능성 을 모색하였다.

2) 연구결과

시판중인 분취제거제에 대한 요약, 분석은 아래 표10과 같이 물리적 역할, 화학적 역할을 하는 것으로 대별하여 살펴보았다.

전자는 숯, 규산염 광물질 등 다공성의 구조를 갖는 것으로 분취성분 및 미생물을 직접 흡착함으로서 분취억제의 역할을 한다. 비교적 값이 싸고 사용이 용이하나, 유효영양소는 없으므로 사료공장 차원의 LCF(least cost formulation)에서는 적용되기가 쉽지 않다. 따라서 현재 사료회사에서는 부형제(carrier) 개념으로 죠라이트 등이 일부 사용되나 분취억제의 개념에서는 적용되고 있지 않다. 그러나 최근 미국을 중심으로(Engelhard사) 규산염 광물질의 곰팡이 독소 흡착능력을 고려한 항곰팡이제로서의 개발이 이루어지고 있어, 개념은 다르지만 분취억제제로서의 확대 적용 가능성도 높다고 볼 수 있다. 규산염광물질 제제로서는 벤토나이트, 죠라이트, 버미큘라이트, 카오린 등이 있으며, 탄소, 섬유소류는 피트모스 등이 사용되고 있다. 모두 흡수력을 이용하여 암모니아 등 분취성분을 직접적으로 작용하고 있다. 그러나 분취성분의 흡수에 의한 분취억제효과는 기대할 수 있으나, 분취원의 원인적 해결은 기대할 수 없다. 최근에는 축분의 퇴비화를 위해 수분조정제로서 널리 사용되고 있으며, 시장 규모는 약 10억으로 추산되고 있다.(단가 100원/kg)

화학적인 측면에서 분취억제의 기능이 있는 물질은 소화효소, 항생제, 생균제, 유기산 등이 있으며, 분뇨악취처리제로서는 이산화염소, 포르말린 등이 있으나 실질적 적용은 한정되어 있다.

최근 주목되고 있는 Sarsaponin 제제로는 중남미에서 자생하는 유카시디제라 추출물이 널리 사용되고 있다. 유카의 작용기전은 Urease inhibitor로서 암모니아 함량을 감소하는 것과 유카추출물 중 수용성의 glycocomponent가 주역할을 한다는 2설이 있으나 국내 수입되고 있는 대부분의 제품이 착즙한 상태에서 규산염 광물질과 흡착된 제품이므로 상기 2설에서 주장하는 유효성분이 모두 포함되어 있다고 판단된다. 암모니아 등 분취를 억제함으로서 약 5-10%의 성장촉진 및 사료효율 개선효과를 기대하고 있다. 국내에는 동물약품회사와 보조사료회사를 중심으로 약 10여개의 제품이 수입, 판매되고 있으며 총 시장규모는 1995년 약 20억정도로 추산되며, 분취억제 개념과 함께 유카추출물의 항균작용, 계면활성능을 고려해 성장촉진제의 일환으로 사료회사 중심으로 판매되고 있으며 제품현황은 표 11과 같다.

<Table 5-1> 분취 억제제의 제품 분류

	제품군	비고
물리적 제제	규산염광물질 탄소 이탄(peat) 섬유소	흡착능력 축분의 퇴비화에 사용중
화학적 제제	sarsaponin chemical:이산화염소,유기산,항생제,생균제, formalin	보조사료,동물약품 10여 제품 소독제 간접적 분취억제역할

<Table 5-2> 미국 유카시디제라 제품 현황

회사명	Biochem	CPI	Alltech
제품명	Sarsa	Micro Aid	Deodorase
성상	분말, 액상	분말, 액상	분말
Sarsaponin 함량	14%	8%	10%
공급가격	US $ 25/Kg(p)	US $ 20/Kg	US $ 35/Kg

동물약품: 살찌네(대보동물약품), 소핀-50, 소핀액(한풍산업),
오더에이드액(제일화학)
(한국단미사료협회,한국동물약품협동조합)

다. Propolis 원료원의 확보 및 시작품의 생산기반 확보

1) 연구내용

프로폴리스는 벌들이 수목생장점 보호물질을 묻어와 자신의 타액과 혼합하여 만든 천연항생물질로서 중요한 작용을 하는 약 20종의 플라보노이드가 함유되어 있어 항균작용, 항염증작용, 항산화작용 등의 역할을 하여 건강보조식품, 여러질환의 치료약으로 널리 사용되고 있는 추세이다. 항균작용 등에 주목하여 프로폴리스의 동물용 항생제, 합성의약품 대체제로서의 개발을 위해 우선 국내 봉교를 이용하여 프로폴리스의 생산 가능성을 정량분석하였고, 외국의 프로폴리스 생산, 사용현황을 통하여 동물용으로의 제제화 가능성을 확인하였다.

2) 연구결과

국내에서의 프로폴리스 생산물 생산기술은 뚜렷한 것이 없으며, 상업적인 생산이 이루어진 적도 없고, 오히려 봉교가 양봉관리상 귀찮게 여기는 경우도 있다. 일부 관심 있는 양봉가들도 벌통상포밑에 모기장이나 멍석망을 깔아 월동포장 시에 비벼 터는 방법에 그치고 있는 정도이다. 그러나

최근 프로폴리스의 식품에의 적용등이 이루어지고 있어 양봉가의 관심이 증가되고 있으며, 이는 벌꿀의 수입개방에 따라 채산성 확보차원에서도 관심이 증가되고 있다.

국내에서 생산 가능한 프로폴리스를 추정할 때 1996년의 개량종 39만봉군으로 추정하면 약 15.6톤의 프로폴리스가 생산이 가능하다(한국양봉협회, 1봉군당 4kg 생산가능). 기후 등 환경요인 등을 고려할 때 국내에서의 프로폴리스 생산 가능량은 약 10톤에서 20톤 까지로 추정된다. 재래종은 프로폴리스 생산이 가능하지 않으며, 프로폴리스 생산량을 높이기 위해 벌품종의 교체등을 한다면 생산량은 더욱 증가할 수 있다. 기존 시중에 형성된 프로폴리스 가격인 3만원/kg으로 계산하면 생산규모는 30-60억으로 산정할 수 있다.

<Table 5-3> 국내 양봉현황

연도	총괄		재래종		개량종	
	호수	군수	호수	군수	호수	군수
1995	43,258	764,243	27,781	369,825	15,477	394,418
1996	39,678	719,224	24,900	319,460	14,478	399,764

자료 : 한국양봉협회

외국의 프로폴리스 사용은 BC 3,000년 경부터 사용되어 1899년 보아 전쟁시와 제2차 세계대전시 소련군이 다량 사용하였다. 현재는 건강식품, 기능성식품 및 의약품으로 널리 사용하고 있다.

1)브라질: 프로폴리스 생산단체인 CCNAP는 양봉인 120명의 조합으로 형성되어 있고, 유카리 나무 등에서 생산하고 있음

2)일본: 프로폴리스 시장규모가 200억엔 이며, 300여개 회사가 프로폴리스 제품을 취급하고 있다. 약 10년 전부터 제품이 판매되었고, 최근 연 2배의 성장을 기하고 있음. 80%가 브라질산이며, 호주,중국, 유럽, 일본산이 나머지를 차지하고 있음. 일본 프로폴리스협회를 1987년 구성 활발한

활동을 하고 있음.

3) 뉴질랜드: 광할한 자연환경 하에서 프로폴리스 채취기구를 이용하여 생산하고 있음. 파운드당 3-6달러에 판매.

소련과 동유럽은 상비약 개념의 프로폴리스가 널리 이용되고 있다고 알려져 있으나 자세한 정보는 입수할 수 없었음.

주된 사용처로는 건강식품, 의약부외품 등이 주를 이루고 있으나 의약품으로의 개발이 활발히 진행되고 있으며, 동물용으로는 애완동물의 피부질환 상비약으로 적용한 정도이며 동물용 천연항생물질로는 아직 상용화가 되어 있지 않음.

사료첨가제 제형화시 프로폴리스 액상을 일정비율(10%, 20%, 30%)로 부형제인 옥분과 실리콘 각각에 넣어 혼합하였다. 각 시험구 모두 덩어리짐 현상이 있었으나 믹서에서 혼 합시 부서 졌으며, 흡착력이 좋은 실리콘디옥사이드 사용시 덩어리지는 현상이 떨어져 최적의 조건은 실리콘 디옥사이드에 먼저 혼합하고 이후 옥분을 첨가하여 배합하는 것이었다.

프로폴리스를 수용산(water soluble)로 하는 것은 물에 용해성이 좋은 포도당을 담체로 하여 시도하였다. 프로폴리스 액상제품을 40%의 비율로 포도당과 혼합하였고 이때 실리콘 디옥사이드를 5% 첨가하였다. 이를 열풍건조기에 넣어 60도씨에서 30분간을 건조한 후 분쇄하였다. 포도당이 열에 약하므로 건조과정에서 녹는 현상과 엉기는 현상을 보였으나 분쇄과정에서 이는 해결할 수 있었다. 분쇄된 시료를 물에 녹여 보았으나 전부 녹지 않았으며, 앙금이 생기기도 하였다. 따라서 프로폴리스 수용산 제품은 결과적으로 가능하지 않았다.

프로폴리스 수용액 제품도 위의 수용산과 같이 물에는 용해되지 않아, PG, mineral oil 등에 혼합하였는데 상기 두 담체에는 모두 잘 용해되었다.(10%, 20% 조건)

따라서 프로폴리스 액상제품은 PG, mineral oil로서 제조가 가능하다고 판단되었으며, 상기 두제품은 모두 식품첨가물로서(GRAS) 널리 이용되는 것

이므로 제품 생산이 가능함을 확인하였다.

<Table 5-4> 프로폴리스 제제화 시험결과

	중간담체	제제화 방법	결과
사료첨가제	옥분 SiC2	혼합(10,20,30%) 혼합(5%) 10분	옥분과의 혼합시 덩어리짐 현상 SiC2로 해결
수용산	포도당	혼합 건조(열풍건조기), 분쇄	물에 녹지 않았음.
용액	water Mineral oil Propylene glycol	혼합 혼합(10,20%)	물과 분리 용해

라. Sarsaponin 원료원의 확보 및 시작품의 생산기반 확보

1) 연구내용

전량수입에 의존하고 있는 유카시디제라 제품의 대체제 개발을 위해 강원대에서 탐색했던 Steroid sarsaponin이 함유된 식품부산물인 인삼부산물, 비지 그리고 더덕을 이용하여 구입현황 및 제제화 연구를 실시하였다.

2) 연구결과

강원대의 탐색에 의거 도라지, 두부부산물이 0.43g/l, 0.97g/l로 미국산 유카추출물의 0.13g/l보다 좋은 결과를 확인할 수 있었다. 또한 암모니아 흡착능에 있어서도 도라지추출물, 더덕추출물, 인삼알콜박, 인삼물박 추출물이 유의성을 갖고 있음을 알게 되었다.

인삼부산물은 홍삼 추출한 후의 부산물이 담배인삼공사, (주)일화 등에서 연간 약 500톤 정도 생산되나 유효물질이 제거된 후의 상태이고, 보관상 미생물에 오염되어 있어 상용화가 쉽지 않아 대체제 개발 차원에서 삭제하였다. 두부 부산물은 식용 가능한 것과 비지박으로서의 저급품이 있으나 구입하는 데에는 약 2,000개의 국내 두부공장에서 쉽게 구입할 수 있었다. 가격은 공장별로 차이가 있었지만 Kg당 300원에서 1,000원에 구입이 가능하였으며, 수분함량이 높은 관계로 인해 사포닌 분리 등은 보다 세밀한 중탕식(boiling)의 추출과정이 필요하다고 판단되었다.

더덕을 가정용 녹즙 추출기를 통해 추출한 수율이 약 30%를 나타내어 더덕 추출물은 유카시디제라 제품의 수입가격과 비교해 경제성이 충분히 있다고 확인되었다. 추출물을 제형화하는 것도 프로폴리스 제제화와 같이 사료첨가제 형태로는 실리콘 디옥사이드, 죠라이트, 석회석 모두에 잘 흡착되었고, 흡착된 상태에서 옥분에 혼합함으로서 제형화가 가능하였다. 액상추출물은 수용성을 나타내고 있어 포도당, 유당 등의 담체를 이용하여 spray drying 시 수용산으로 가능하였고, 물과 혼합하여 액상으로도 가능하였다. 그러나 상온에서 보존할 시 유기물이 잔존하므로 변패의 가능성이 있었다. 이에 대한 해결책으로는 살균효과가 있는 황산동을 사용함으로 해결할 수 있다고 판단되었다. 그리고 액상 제형화시 고형물의 가라 않는 현상을 고려할 때 추출과정에서 고형물의 입자를 더욱작게하는 maceration 과정이 필요하며, polysorbate를 이용하면 안정화 할 수 있었다.

2. 무공해 및 기능성 축산물 시장의 분석 및 평가

가. 연구내용

무공해 및 기능성 축산물에 대한 명확한 정의는 학계나 업계에서 내려진 적이 없다.

1970년 후반부터 일부 종교계 등에서 시작한 재래식 방법의 유기농법이 꾸준히 확대되어 왔으나 지명도에 비해 실질 규모는 매우 작으며(1% 미만), 규모확대가 가능한 구조도 아니다. 1996년 UR 라운드 타결에 의한 축산물의 수입이 개방됨에 따라 국제경쟁력을 갖추기 위한 시설의 현대화, 대규모화 등이 가속화함에 따라 축산물 유통도 새로운 전기를 맞게 되었다. 백화점, 편의점, 양판점 등 축산물 유통형태가 변화함에 따라 이에 대응한 소포장, 가공육 등이 널리 도입되게 되었다. 이에 마케팅 강화차원에서 축산물도 브랜드를 추구하였으며, 브랜드화 이상의 차별화 방안으로 여러가지가 시도되었다.

이러한 차별화 방안을 간단히 요약하면 다음으로 세분화할 수 있다.

1) 특정영양소의 강화: 계란을 중심으로 비타민, 광물질 등을 사료첨가의 형태로 강화시킨 널리 일반화되어 있으며, 최근에는 DHA 등을 강화시킨 우유, 돈육, 계란이 널리 호평을 받고 있다.

2) 생산방법의 차별화: 유기농법에 의한 축산물이 대표적이며, 평사사육에 의한 계란, 톱밥발효돈사 방식에 의한 돈육이 있으나, 일반 배합사료를 이용하므로 오히려 영양소 불균형 등에 의한 기대하는 만큼의 고품 축산물이 생산되고 있지 않다. 최근 발효사료 및한약 부산물 등을 이용한 방법으로 차별화를 기하는 경우도 있다.

3) 위생적인 가공, 처리: 인테그레이션 등을 통한 생산, 유통, 가공이 일관화함에 따라 부위별 판매, 콜드체인시스템의 도입, 냉장육 유통 등을 특징으로 하는 양질의 고급 축산물이 확대 일로에 있다. 선진국형의 차별화 방안으로 앞으로 모든 축사물이 이러한 방법으로 통일될 것이 확실하다.

식품으로서 축산물은 다른 농산물과 같이 안전성을 확보하는 것이 가장 중요한 측면임은 주지의 사실이다. 따라서 축산물도 원천적으로 유해물질을 함유하지 않아야 하며, 이는 사료 및 생산과정에서의 유해물질 투입을 원천적으로 방지해야 한다. 이런 측면에서 유기농법에 의한 방식, 발효사

료의 과다사용은 유해물질원을 갖고 있다고 보며, 사료회사, 동물약품회사 및 양축가 그리고 수의과학연구소 등이 각각 담당하고 있는 분야에서 유해물질원을 차단해야 할 것이다.

아울러 축산물의 고급화를 위해 적극적인 측면에서 그간 생산성 위주의 사양관리형태에서 육질, 난질 등을 고려한 신물질 및 천연물질의 도입이 필요한 상황이다. 아직 명확히 밝혀지지는 않았지만 UGF를 고려한 천연물의 사용 및 이에 대한 과학적 검증이 필요하다고 본다.

나. 연구결과

현재 시장에 출시되어 있는 특수란, 돈육, 우유 등을 통해 유기농법에 의한 축산물, 기능성 축산물의 시장가능성 및 일반 축산물과의 비교를 확인하였다. 백화점, 양판점 시장조사를 통한 시장조사를 하였고, 관련회사 등에 문의를 통한 가격 및 판매량을 조사하였으나 유의성 있는 검증은 할 수 없었다.

<Table 5-5>에서 보는 바와 같이 가장 차별화가 활발한 분야는 계란이다. 계란이 상대적으로 가격이 싸고, 일일 식품의 특성과 함께 체내 대사기간이 짧으며 특정 영양성분을 잘 이해하는 특징을 고려할 때 가장 먼저 시도되었고, 많은 제품들이 출시되어 있다. 그러나 과학적 근거 제시 없이 포장만 차별화하고, 브랜드를 가진 불량 제품이 대부분을 차지하고 있어 많은 문제점을 내포하고 있음을 알 수 있었다.

대표적인 예로 키토산란 등이 있었는데, 키토산이 계란내 이행이 될 수 없는 고분자 물질임을 고려할 때 이는 건강식품 등에서 차명한 비과학적인 제품임을 알 수 있었다.

계란의 경우 이러한 비과학적인 제품을 포함하여 총 계란시장의 약 5-10%를 차지하고 있다고 추정되며, 소비자의 소량 구매 패턴에 부합하여 앞으로도 계속 증가할 추세이다.

돈육은 도드람유통의 도드람 포크와 (주)미원의 하이포크를 중심으로 살펴보았다. 1997년도 예상매출액이 각각 450억, 250억을 기대할 정도로 급신장세를 기하고 있다. 일반제품 및 수입돈육과의 차별화 방안으로서 냉장육 유통, 암퇘지 삼겹살 중심의 판매, 소포장 판매를 들 수 있다. 소비자 시식을 통한 직접 판매방식을 중심으로 할 정도로 맛과 품질에서 차별화를 기하고 있다. 일반 제품 및 수입돈육과 약 50% 이상의 가격을 형성하면서도 판매가 증가추세에 있으며, 선진축산, 상원농장 등 대규모 양돈업자 들도 유사한 방법으로 시장을 공략함을 확인할 수 있었다.

<Table 5-5> 시판 특수란 현황

제품명	기술지도	출시년도	가격	일판매량	비고
알짜란	제일제당	1992	1,900원/10입	200,000	비타민강화란
요오드란	백두사료	1988	1,400원/ 6입	100,000	요오드강화란
건강CK란	미원	1993	1,800원/10입	50,000	비타민강화란
알로에란	미원	1995	1,900원/10입	50,000	알로에 첨가
체커란	퓨리나	1994	1,950원/10입	50,000	비타민강화란
강남영양란	강남농장	1991	1,700원/10입	200,000	비타민강화
강남dha란	강남농장	1994	1,400원/ 6입	50,000	DHA 강화란
해초란	성장축산	1991	1,700원/10입	100,000	요오드강화란
에디슨300	우방과학	1995	2,000원/10입	100,000	DHA 강화란
풀무자연란	풀무원	1981	1,200원/ 6입	150,000	유정란
인애자연란	인애농장	1986	1,650원/10입	50,000	유정란

종합적으로 판단할 때 기존 축산물 부가가치 향상방안의 하나로서 유기농법에 의한 축산물, 기능성 축산물이 계란, 돈육, 우유의 순으로 시장에 출시되어 있으나

1)비과학적인 근거의 불법제품이 많으며

2)상대적인 고가

3)일반 축산물과 차이점이 없는 것을 고려할 때 기존 제품의 시장한계는 뚜렷하다고 볼 수 있다.

적극적인 의미에서 최소한 표시사항에 있어서는 과학적인 검증이 필요하며, 이는 위생적인 가공, 처리등이 가능한 대규모 인테그레이션 회사, 지역 축산조합 등에 의해서만 가능하다고 판단된다. 품질 고급화를 위해 난각질, 난질, 육질 개선 등도 앞으로의 과제이다. 이러한 점이 개선되면 고부가가치의 축산물 시장은 비약적인 성장이 예상됨을 확인할 수 있었다.

제 2 절 프로폴리스 및 분취억제제의 원료원 확보 및 경제성 분석

1. 프로폴리스의 원료원 확보 및 경제성 분석

가. 서론

1차 년도에서의 보고와 같이 이제까지 무분별한 항생제의 사용에 따라 가축의 항생제에 대한 내성이 증가하고 있으며 이러한 가축체내에 잔류되어 있는 항생제가 식육이나 계란 또는 우유를 통하여 인체 내로 유입될 때 발생할 수 있는 공중위생학적인 측면에서의 문제점을 지적한 바 있다. 따라서 천연항생물질인 프로폴리스를 기존의 항생제 대체품으로 개발을 수행하고 있다.

그러나 실제 농가에서 프로폴리스를 기존의 항생제 대체품으로서 사료첨가제의 활용 시 경제성이 없다면 현실적으로 그 적용에 한계가 있다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 프로폴리스 첨가에 따른 경제성 확보방안을 두가지로 나누어 접근하고자 한다. 그 하나는 프로폴리스를 첨가한 사료급여를 통하여 생산된 축산물을 기존의 축산물과 차별화를 통해 브랜드화함으로써 얻을 수 있는 가격경쟁성이며 또 하나는 기존에 투여하고 있는 항생제의 대체를 통한 생산비 절감이라 할 수 있다.

이러한 점에 착안하여 산란계 사료에 프로폴리스를 첨가하여 생산된 계란을 브랜드화 함으로써 가격경쟁력을 확보하고자 한다. 현재 국내에서도 브랜드화 된 축산물이 증가하고 있는 추세에 있으며 특수란의 경우 가장 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 이를 위하여 이미 브랜드화가 상당히 진행되어 있는 일본의 사례를 분석하여 특수란의 가격경쟁성을 살펴보고 국내에서의 적용가능성을 타진할 것이다. 또한 국내의 계란수요를 시계열자료를 이용하여 2000년까지의 수요를 계량경제적 분석으로 예측하고 시

장규모를 파악한 후 현재 시판되고 있는 계란과 프로폴리스 첨가란의 생산비분석을 통하여 가격경쟁력 확보방안을 제시하려고 한다.

나. 일본의 특수란 시장의 현황과 판매전략

일본 역시 UR이후 축산농가의 경영전략이 상품차별화, 고부가가치화에 의한 수익성의 확보에 초점이 맞추어져 있으며 이를위한 신제품 개발, 판로개척으로의 관심이 매우 높아지고 있다. 따라서 현재 일본의 특수란 생산농장의 경영적 특징과 특수란의 유통단계별 가격, 수익성, 특수란시장의 동향을 살펴봄으로써 본 연구결과에 의한 propolis첨가란의 고부가가치 가능성을 타진해 보기로 한다.

<Table 5-6> 일본 양계경영농가의 형태별 구분

	TYPE Ⅰ	TYPE Ⅱ	TYPE Ⅲ	TYPE Ⅳ
특징	특수란 만을 생산하여 판매하는 농가	특수란을 주로 생산하고 일반란을 부로 생산하는 농가	일반란을 주로 생산하고 특수란을 부로 생산하는 농가	일반란 만을 생산하는 농가

일본에서는 특수란의 종류를 국지적인 지역을 대상으로 판매하는 local brand란과 전국적으로 유통하고 있는 national brand란(NB란)으로 대별되며 광의의 NB란에는 사료회사에서 개발한 것 외에 수퍼마켓등이 개발자가 되어 브랜드화한 private brand란(PB란)등 3종류가 있다. 「1996년도 축산물 수요개발 조사연구-채란양계의 판매전략과 특수란유통에 관한 조사연구」에 의하면 다음의 표와 같이 양계경영농가를 4가지의 형태로 구분하여 분류하고 있다.

78개 농가를 대상으로 조사한 결과 1kg당 특수란 생산비는 평균 265엔이지만 최저 170엔에서 최고 600엔까지 생산비의 차이가 심한 것으로 나타났

다. 그에 비하여 일반란은 평균 163엔으로 특수란이 일반란에 비하여 약 1.6배정도 비싼 것을 알 수 있다. 특수란과 일반란의 생산비 차이를 보면 사료비에서 특수란이 일반란에 비하여 대체적으로 2배 가까운 비용이 더 투입되었으며 노동비의 비중도 높은 것을 알 수 있다.

<Table 5-7> 계란 1kg당 생산비 분석

항목 / type별	계란 1kg당 생산비(엔)					
	합계	사료비	가축비	노동비	위생비	기타
Ⅰ 특수란)	326 (100.0)	135 (41.4)	45 (13.8)	82 (25.2)	3 (0.9)	61 (18.7)
Ⅱ 특수란)	282 (100.0)	107 (38.0)	44 (15.6)	72 (25.5)	7 (2.5)	52 (18.4)
일반란)	179 (100.0)	80 (44.7)	42 (23.5)	40 (22.3)	7 (3.9)	10 (5.6)
Ⅲ 특수란)	189 (100.0)	103 (54.5)	29 (15.3)	20 (10.6)	7 (3.7)	30 (15.9)
일반란)	164 (100.0)	85 (51.8)	26 (15.8)	20 (12.2)	6 (3.7)	27 (16.5)
Ⅳ 일반란)	147 (100.0)	69 (46.9)	29 (19.7)	22 (15.0)	4 (2.7)	23 (15.7)

표 계란생산 Type별 비용과 그 내역
주) 「위생비」: 수의사비, 의약품의 합계치
「기타」: 건물비. 농기구비, 생산관리비, 판매비등의 합계치

판매단가를 보면 특수란은 일반란보다 비싼 것으로 나타났으며, 가장 비싼것은 typeⅠ로 454엔이고 가장 싼 것은 type Ⅳ로 184엔으로 나타나 특수란이 일반란에 비하여 수익성이 높은 것을 알 수 있으며 조수익(이익)의 경우 일반란에 비하여 약 3 4배의 이익이 있는 것으로 나타났다. 즉, 특수란 경영은 판매단가, 생산비 모두 일반란 경영에 비하여 높게 나타나지만 그 차액(경상이익)은 일반란 보다 높게 나타나고 있어 그 수익성은 높

은 것을 알 수 있다.

<Table 5-8> 계란 1kg당 생산비와 판매단가 단위:엔

항목 \ type별	I	II		III		IV
	특수란	특수란	일반란	특수란	일반란	일반란
생산비(A)	326	282	179	189	164	147
판매단가(B)	454	340	226	450	190	184
이익(C) (C)=(A)-(B)	128	58	47	261	26	37

<Table 5-9> 판매방법별 판매단가 단위:엔/kg

type별 \ 항목	특수란 판매단가		일반란 판매단가		비 율	
	직매(A)	도매(B)	직매(C)	도매(D)	(A)/(B)	(C)/(D)
I	454	270	-	-	1.7	-
II	340	297	310	226	1.2	1.4
III	450	263	253	190	1.7	1.3
IV	-	-	255	184	-	1.4
합계	415	277	273	200	1.5	1.4

일본의 경우 특수란의 소매가격은 브랜드에 따라서 커다란 격차가 있다. 그 가격차는 PB란, NB란의 생산에 의해 더욱 확대되고 있으며 평균적으로 보면 NB란, PB란, 농장브랜드란의 순으로 높게 나타나고 있다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 일본에 있어서 특수란은 농가에게 있어서는 고수익을 보장하는 산업으로 자리를 잡아가고 있으며 따라서 국내에서도 IMF에 의한 경제적 어려움은 존재하지만 특수란 시장은 더욱 확대될 것으로 추정된다.

다. 국내 계란의 수요분석

국내 계란의 수요는 꾸준한 증가추세를 계속하고 있으며 1997년 현재 약

85억개의 계란이 소비되었다. 이는 국민 1인당 한해에 185개의 달걀을 소비한 것이다. 그러나 이웃 일본이 1인당 347개, 중국, 대만이 310개등인 것과 비교한다면 매우 미미한 것을 알 수 있다. 그러나 바꾸어 말하면 국내의 계란시장은 앞으로 계속적으로 소비가 증가될 것이라는 것도 예상할 수 있다.

따라서 본 분석에서는 계란의 수요에 영향을 미치는 인자에는 어느 것이 있으며 그러한 인자들이 계란의 수요에 어느 정도 영향을 미치고 있는지 계량경제적 분석법에 의거하여 분석한 후 그 결과를 통하여 향후 2,000년까지의 계란 수요를 예측하고자 한다.

<Table 5-10> 달걀 수요예측을 위한 기초자료

년 도	달걀소비 (백만개)	총인구 (천명)	GNP* (10억원)	달걀가격* (원/10개)
1988	6,992	42,031	131,371.3	448.2
1989	6,701	42,449	147,941.6	609.5
1990	6,810	42,869	178,262.1	576.0
1991	7,370	43,286	194,458.8	427.9
1992	7,891	43,663	204,231.0	489.5
1993	7,824	44,056	216,162.4	392.6
1994	7,728	44,453	234,333.3	429.1
1995	7,990	44,851	254,704.9	486.4
1996	8,315	45,248	272,323.8	468.9
1997	8,469	45,657	285,621.2	484.8

주: *는 1990년도 불변가격 기준임

자료 : 축산물 가격 및 수급자료, 각년도

달걀 소비에 영향을 미치는 요인으로는 달걀 자체가격과 총인구, GNP, 대체재 가격, 소비자의 기호성등 여러 가지가 있으나 이 중 수량화가 가능하고 설명력이 높은 변수만을 채택하여 독립변수로 놓고 달걀소비량을 종속

변수로 하여 수요함수를 예측할 수 있다.

즉, 수량화가 가능하고 설명력이 높다고 판단되는 달걀 자체가격과, 총인구, GNP를 독립변수로 하여 달걀수요함수를 예측하였다. 그러나 분석결과 GNP는 유의성이 없었으며 경제이론에 부적한 결과가 도출되어 최종모델에서는 제거하였다. 따라서 수요함수 모델은 다음과 같이 달걀자체가격과 총인구를 독립변수로 하여 분석하였다.

$$\log EQ_t = \alpha + \beta \log P_t + \lambda \log EP_t$$

여기서,
EQ_t = t년도 달걀소비량
P_t = t년도 총인구
EP_t = t년도 달걀가격
α = 상수
β, λ = 탄력치

위 수요함수식에서 설정한 상수와 각 탄력치를 계산하기 위하여 1988년부터 1997년까지 10년간의 시계열자료를 이용하였으며 달걀가격은 인플레이션의 영향을 제거하기 위하여 1990년도 불변가격을 기준으로 디플레이트하여 계산에 임하였다. 또한 탄력치를 계산하기 위하여 종속변수와 독립변수에 양대수함수(log-log함수)를 이용하여 분석하였으며 분석결과는 다음과 같다.

$$\log EQ_t = -17.698 + \underset{(7.45)}{2.562^{***}} \log P_t - \underset{(-1.95)}{0.138^{*}} \log EP_t$$

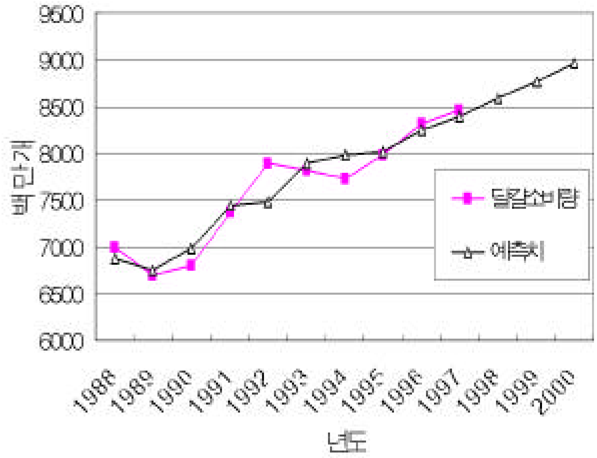
$\bar{R}^2 = 0.89$

( )는 t치

*** : p> 1%

* : p> 10%

분석결과 인구가 1% 증가하면 달걀수요량은 2.562% 증가하고 달걀가격이 1% 상승하면 달걀의 수요량은 0.138% 감소하는 것을 알 수 있다. 즉, 인구의 증가에 따라 달걀수요량은 앞으로도 계속적인 증가가 예상되며 달걀가격은 달걀 수요량에 큰 영향을 미치는 못하는 것으로 분석되었다. 따라서 propolis가 첨가된 고부가가치 특수란을 개발할 경우 시중에 판매되는 달걀에 비하여 다소 가격이 높게 형성될 지라도 판매에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 추정된다.



<Fig. 5-1> 달걀 소비량 예측

1997년 현재 년간 약 85억개의 달걀이 소비되고 있는바 이를 가격으로 환산하면 8,500억원(개당 100원 기준)의 시장을 형성하고 있다.
위 수식에 의거하여 지금과 같은 추세로 인구가 증가한다면 2,000년에는 90억개의 달걀이 소비될 것으로 추정되며 1조원 이상의 규모까지 시장이 확대될 것으로 추정된다.

라. 프로폴리스 첨가란의 경영효율성 분석

일본의 사례와 계란수요분석의 결과에서 보는 바와같이 계란의 시장은 향후 계속적인 성장을 보일 것으로 추정된다. 또한 국내에서도 1980년대 후반부터 특수란을 생산하기 시작하여 지금은 50여개의 브랜드가 판매되고 있다. 특히 사료의 성분차별화나 기능성 첨가제 투여를 통해 생산되는 특수란이 증가하고 있는 추세이다. 예를 들어 비타청정란, 하버드 DHA, 오메가란, 알로에란, 요드란, 네카란, 타우링란, 홍삼란, 은행란, 유기약초란 등이 있다. 이러한 특수란은 기능성 식품에 대한 소비자의 관심이 높아지고 있기 때문에 앞으로도 더욱 다양한 형태로 생산될 전망이다.

본 분석에서는 본 연구에서 진행하고 있는 프로폴리스 첨가란의 생산비를 산출해 봄으로써 기존 산란계의 생산비와 어느 정도의 차이가 있으며 가격경쟁력은 있는지 분석하고자 한다.

<Table 5-11> 프로폴리스 투입비용 산출을 위한 기초데이타

	동구 유럽산			중국산(A)			국내산
환율($당)	1200	1300	1400	1200	1300	1400	
A. 가격(kg당)*	50,000	54,000	58,000	36,000	39,000	42,000	40,000
B. 알콜추출가공비 (kg당)	10,000			10,000			10,000
C. 회수율	50%			59%			43%
D. 원액1g당 가격 (A+B)/(C×1000)	120	128	136	78	83	88	116
E. 1수당 1일 투여량	0.05g			0.05g			0.05g
F. 년간투여량 E×365	18.25g			18.25g			18.25g
G. 1수당 년간 투입비용(D×F)	2,190원	2,336원	2482원	1423.5원	1514.8원	1,606원	2,117원

주) 1kg당 가격산출: CIF가격(US$)×환율+관세+통관부대비용+금융비용+프로폴리스연구기금

<Table 5-11>에서 보는 바와 같이 동구 유럽산과 중국산 그리고 국내산으로 나누어 분석을 실시하였다. 동구유럽산은 중국산에 비하여 가격이 다소 비싼 편이며 회수율에 있어서는 중국산이 59%로 가장 높게 나타나고 있다. 반면 국내산은 43%로 다소 낮은 것을 알 수 있다. 원액1g당 가격을 보면 국내산이 환율1,200원에서도 동구유럽산에 비하여 경쟁력이 있는 것으로 나타났으며 중국산은 환율이 1,000원 상승할 경우 원액 1g당 5원씩 단가가 상승하는 것을 감안하더라도 환율이 1,800원이 넘어야 국내산 보다 비싼 것으로 나타났다. 따라서 중국산 프로폴리스를 충분히 공급받을수 있다면 앞으로 환율이 어느 정도 상승하더라도 큰 타격은 얻을 것으로 추정된다. 전체적으로 1수당 년간투입비용은 환율이 $당 1,200원이라면 중국산이 1,423.5원으로 가장 저렴하였으며 동구 유럽산은 환율이 1,200원이하로 내려가야 국내산을 대체할 수 있는 것으로 나타났다.

프로폴리스를 첨가하여 사양을 하면 <Table 5-11>에서 산출된 1수당 년간 투입비용이 기존 사료비에 추가로 소요되며 반면 천연항생제인 프로폴리스가 항생제 투입을 대체하는 효과로 인하여 항생제 투입비용의 60%를 절감하게된다.

이상을 정리하여 나타낸 것이 <Table 5-12>이다. <Table 5-12>에 나타난 바와같이 산란계 수당 생산비를 살펴보면 1997년 현재 전국평균이 1수당 16,738원인 것으로 나타났으며 환율 1300원을 기준으로 보면 중국산 프로폴리스를 첨가했을 때 1,447원의 비용이 더 소요되는 것을 알 수 있다. 이를 계란 10당 생산비로 바꾸면 계란 10개당 53원이 더 소요되는 것으로 나타났다. 현재 시중의 특수란이 일반란에 비하여 1.5배에서 2배정도의 가격으로 판매되고 있는 것을 감안하면 프로폴리스 첨가란의 부가가치는 상당히 클 것으로 기대된다.

그러나 실제로 상용화가 되면 알콜 추출가공비외에 기계도입비, 수송비, 관리비등 제비용이 증가할 것이므로 본 분석결과보다는 더욱 많은 비용이

소요될 것으로 추정되며 프로폴리스 첨가란의 성공여부도 여기서 결정지어 질 것으로 판단된다.

<Table 5-12> 산란계 수당, 계란 10개당 생산비 비교

산란계 수당 생산비								
		프로폴리스 첨가시						
	전국 평균	동구유럽산			중국산(A)			국내산
환율별		1200	1300	1400	1200	1300	1400	
가축비	3,933	3,933			3,933			3,933
사료비	11,279	13,607	13,615	13,761	12,703	12,794	12,885	13,396
노동비	600	600			600			600
방역치료비	113	45			45			45
기타	813	813			813			813
합계	16,738	18,998	19,006	19,152	18,094	18,185	18,276	18,787
계란 10개당 생산비								
	606.4	688	689	694	656	659	662	681

주) 산란계 수당 생산비의 전국평균자료 :「1997년도 축산물생산비조사 보고」, 축협중앙회
가축비, 노동비, 기타는 각 데이터 모두 동일
사료비(프로폴리스 첨가시) = 전국평균 사료비 + 각 국가별 1수당 년간투입비용
방역치료비(프로폴리스 첨가시) : 전국평균 방역치료비×40%
(프로폴리스 첨가에 의해 기존 항생제 투여의 60%대체효과)
계란10개당 생산비 = 각 생산비 합계 / 276 × 10 (1수당 년간 산란수:276개)

마. 항생제 및 합성의약품과의 품질 및 가격경쟁력 비교

항생제 및 합성의약품과의 품질 및 가격경쟁력 비교를 위하여 춘천의 C양계장에서 항생제 및 합성의약품 투여군 22,400수, propolis투여군 2,600수, 총 25,000수를 대상으로 110일령까지의 비교실험을 행하였으며 실험결과는 <Table 5-13>과 같다.

<Table 5-13> 항생제 및 합성의약품 투여군과의 투입비용 비교분석

일령	항생제 및 합성의약품			propolis		
	의약품명	투여량	1수당 비용	투여량	중국산 비용	동구유럽산 비용
1일령	뉴캣슬백신					
1-3일령	바이트릴	25cc/1,000수	5원			
7일령	감보로백신			3ppm/1수	2.64원	4.08원
8-9일령	면역증강제		0.7원			
10일령	뉴캣슬백신					
11-12일령	바이트릴	30cc/1,000수	6원			
17일령	감보로백신			5ppm/1수	4.4원	6.8원
18-20일령	면역증강제		15원			
20일령	뉴캣슬백신					
21-23일령	콜리SP	100g/1,000수	4.4원			
27일령	감보로백신					
28-29일령	면역증강제		20원			
30일령	전염병기관지염			25ppm/1수	44원	68원
31-33일령	바이트릴	100cc/1,000수	20원			
40일령	계두백신					
	트리믹신	500g/1,000수	40원			
50일령	뉴캣슬사록백신					
	린스마이신	1병/1,000수	13원			
60일령	전염병후두염백신					
	콜리SP	200g/1,000수	8.8원			
70일령	계두백신			50ppm/1수	264원	408원
80일령	전염병후두염백신					
	트리믹신		80원			
90일령	뇌척수염백신					
110일령	BNE,바이트릴	150g/1,000수	150원			
합계			362.9원		337원	520.88원

주: 백신의 경우 항생제투여군과 propolis투여군 모두 공통적으로 투여하였으므로 가격산정에서는 제외하였음.
propolis 1ppm(1mg)당 단가:
<표 6>의 근거에 의거하여 환율1,400원 기준에 중국산 0.088원, 동구유럽산 0.136원
propolis투여비용=1수당투여량×투여일수×propolis수입국가별 단가
120일령에 콕시듐이 발생하여 항생제투여군 287수 폐사, propolis투여군 2수 폐사

일반적으로 양계에서는 항생제 클리닉과 더불어 본 분석에서 나타난 바와같이 백신주사후에는 3회에 걸친 면역증강제를 투여하게 된다. 그러나 propolis를 투여할 경우 propolis자체가 항균적용과 더불어 면역증강효과가 있기 때문에 면역증강제의 별도 투여가 불필요하며 단지 체중증가에 따른 일령에 맞추어 propolis의 투여량만을 증가시키게 된다. 따라서 본 분석결과에서 나타난 바와같이 항생제 및 합성의약품을 투여할 경우 110일령까지 1수당 총 362.9원이 소요되고 있으나 propolis의 경우 중국산이 315.04원, 동구유럽산이 486.88원으로 나타나고 있어 중국산의 경우 항생제 및 합성의약품 투여군에 비하여 1수당 47.86원이 더 저렴한 것으로 나타났다.

또한 항생제 및 합성의약품의 경우 약 110-130일령 이후에는 투여가 금지되어 있기 때문에 투여를 할 수 없으나 천연항생물질인 propolis의 경우 계속적인 투여가 가능하다. 따라서 <표 8>의 주석에서 나타난 바와 같이 120일령에 콕시듐이 발생하여 항생제 투여군에서는 287수가 폐사하였지만 propolis투여군에서는 2수만이 폐사하여 계속적인 propolis투여에 따른 비용증가의 부담을 경감할 수 있다. 더욱이 propolis투여의 경우 달걀에서 propolis성분이 잔류하여 검출된다면 브랜드화가 가능하여 농가에게는 고부가가치를 올림과 동시에 만약에 있을지도 모르는 질병등에 의한 산란계의 폐사를 방지할 수 있어 품질면에서나 가격경쟁력면 모두 항생제투여군에 비하여 유리한 것으로 분석되었다.

바. 프로폴리스의 원료원 확보방안

꿀벌들이 프로폴리스를 생산하는 시기는 주로 초봄이나 가을이 다가올 무렵이며 나무나 숲이 울창한 지역에 위치한 벌통들에서 숲이 없는 지역의 벌통들보다 많은 프로폴리스가 채취가 된다. 프로폴리스를 많이 생산하는 꿀벌은 Caucasians(*Apis mellifera causica*)종이다. 양봉업이 발달한 나라에서는 더욱 더 프로폴리스의 수요가 많아 지는데 브라질의 꿀벌은

아프리카꿀벌과 교배되어 프로폴리스를 많이 수집하여 온다.

현재 세계에서 생산되는 천연프로폴리스의 연간생산량은 700-800톤정도로 추정될 뿐이며 통계가 전무한 실정이다. 천연프로폴리스(crude propolis)의 생산국으로는 중국, 브라질, 및 남미국가들, 서유럽과 동유럽국가들, 러시아를 포함한 구 소련국가들, 뉴질랜드, 호주 및 일부 동남아시아 국가들을 꼽을 수 있겠다.

그 동안 본 연구진은 본 연구의 실용화를 위한 천연원료 확보를 위하여 전세계의 주요 천연 프로폴리스의 생산국들 (중국, 브라질, 폴란드, 헝가리, 루마니아, 불가리아, 영국, 슬로베니아, 체코, 러시아, 브라질, 베트남, 인도, 일본, 미국, 호주, 뉴질랜드, 멕시코, 칠레, 아르헨티나, 우루과이, 탄자니아, 남아프리카공화국,및 케냐등)을 접촉하였으나, 통신상의 언어문제로 인해 특히 아프리카와 동구국가들 그리고 구러시아국가들로부터 천연프로폴리스원료를 확보하는데 다소 어려움을 겪었었다. 그럼에도 불구하고 해외 각국과의 꾸준한 접촉한 결과 현재 시점에서 외국에서 확보할 수 있는 천연프로폴리스의 연간 물량과 수입가능국가는 다음과 같다.

구러시아에서 구할 수 있는 20톤은 영국의 한 양봉산물전문수집상을 통해서 구할 수 있는 물량이며 남미지역에서는 U$30/kg이하로 수입하는 것이 매우 힘들며 U$40/kg정도가 되어야 보다 많은 양의 물량을 확보할 수 있을 것으로 예상된다. 천연프로폴리스의 품질을 좌우하는 요소에는 순도, 색깔, 신선도, 채취지역의 식물분포상태, 총플라보노이드함량, 중금속함량, 향기 등 여러요소가 있는데 그 중에서 본 연구에서 가축에 기존 항생물질의 대용으로 사료첨가제로 활용할 경우는 purtiy(순도)가 가장 중요한 요소인데 총괄 연구책임자인 권 명상교수의 1차년도 연구 결과에 의하면 항균작용의 차이에 따라 A급원료, B급원료및 C급원료로 구분하는데 A급원료와 B급원료를 적절히 배합하여 사용하는 것이 현실성있는 대처방안으로 사료되며 A급만을 고집할 경우에는 100-200톤의 물량확보가 가축의 사

료첨가제의 목적으로 적당한 가격 수준에서는 결코 간단하지는 않을 것으로 생각된다. 그러므로 중국의 B급원료원의 경우 가격을 kg당 40,000원 정도에 맞출 수 있기 때문에 B급원료를 50%정도 더 사료첨가물로 투입하여 A급원료와 비슷한 효과를 본다면 이 방법을 적극 활용할 필요가 있을 것이다. 하지만 구러시아에서 확보할 수 있는 B급원료 20톤의 물량은 중국의 A급원료의 수입가격(U$25)과 비슷하기 때문에 경제성이 없을 수도 있다고 생각된다. 현재 사료첨가제로서의 프로폴리스가 경제성을 갖추려면 수입가격이 부산도착가격기준으로 kg당 US$30을 넘지 않는 조건이어야 할 것으로 예상되는데 이러한 조건하에서 상기원료를 확보할 수 있다.

1) 브라질 및 남미산 propolis의 현황

브라질은 연간 70톤의 프로폴리스를 생산하고 있으며, 20톤은 국내소비로 충당이 되며 50톤은 고가로 일본에 전량 수출되고 있습니다. 브라질산 프로폴리스의 수출가격은 품질에 따라 kg당 U$150-U$200정도로 형성되고 있다. 따라서 사료첨가제로서 브라질산은 전혀 경제성이 없다. 칠레, 멕시코, 쿠바, 우루과이, 아르헨티나 등의 남미국가의 프로폴리스 수출가격은 kg당 U$30-U$50정도이며 사료첨가제로서는 가격이 조금 비싸서 경제성이 없어 보이나 U$30이하로 대량 수입이 가능할 경우에는 추후 검토 대상국이 될 수도 있을 것이다. 현재 이들 나라의 양봉업자들을 접촉하여 수입가격과 수입가능수량을 분석하고 있는 중이다. 특히, 아르헨티나에서는 오래 전에 프로폴리스 독극물사건으로 수십 명의 사람이 사망하는 사건으로 인해 프로폴리스시장 자체가 죽어버려 양봉업자들이 프로폴리스에 대한 채취생산을 하고 있지 않은 것으로 보고된 바 아르헨티나 양봉업자와 매년 일정량에 대하여 연간 수입계약을 체결할 수 있는 가능성을 타진하려고 한다.

2) 중국산 Propolis의 확보 및 활용방안

세계 최대의 양봉산물생산국가인 중국은 프로폴리스 생산량에 있어서 단연 세계최고이다. 참고로, 중국은 현재 생로얄제리 (fresh royal jelly)를 연간 800톤에서 1,000톤정도를 생산하고 있으며 이 생산량은 전세계 생산량의 70%-80%를 차지하고 있다. 최근의 중국에서 발행되는 양봉책자에 따르면 중국의 경우 벌통하나에서 연간 500g에서 1,000g정도의 프로폴리스가 생산된다고 한다.

앞으로 중국의 프로폴리스 생산량은 프로폴리스채취기구와 기술의 보급으로 더욱더 늘어날 전망이다. 본 연구진은 단기적으로는 중국의 각 성(省)별로 양봉수집상을 지정하여 고품질의 프로폴리스를 안정적으로 공급받 을 수 있도록 base를 건설하는데 최대의 역점을 두고 추진 중에 있다. 본 연구진은 직접 중국현지를 방문하여 중국을 3개의 큰지역으로 분할하여 각 지역의 프로폴리스 전문 수집양봉업자들로부터 연간 100톤(A급 30톤/B급 70톤)의 원료확보에 대한 확답을 받았다. 덧붙여 중국에서 화분과 벌꿀을 직접 중국 양봉업자로부터 대량 수집할 수 있는 network(수집망)을 5년전부터 확보한 한국의 한 양봉업자와 추가로 중국으로부터 A급원료의 안정적인 장기 공급가능성을 타진중이며 수개월내로 자세한 사업내용이 확정될 것으로 사료된다. 또한 중국의 양봉산물수집상과 현지에 합작회사를 설립하여 장기적으로 천연프로폴리스를 직접 수집하여 국내로 전량 반입할 수 있도록 중국의 합작파트너를 물색중에 있다.

3) 국내산 propolis

전북대학교 박형기교수의 논문에 의하면 현재 우리나라에서는 양봉업자들이 한 벌통당 1년에 100g에서 300g정도의 프로폴리스를 채취하고 있으며 정확한 통계는 나와 있지 않으나 년간 7-8톤 정도의 프로폴리스를 생산하고 있는 것으로 추정할 수 있다고 한다. 앞으로 프로폴리스를 가축의 사료첨가제로서 다량 활용할 것이 확실하게 된다면 프로폴리스 채취기술이 개발을 통하여 생산량증가를 유도하고 이를 통한 양봉농가의 소득을 증대

시킬 수 있으므로 프로폴리스 채취기술이 개발을 조속히 확산시키는 것은 매우 중요한 과제가 될 것으로 전망하고 있다. 따라서 전북대학교 박형기 교수와의 협력을 통해서 국내에서 경제성있는 가격으로 고품질의 프로폴리스를 최대한 확보할 수 있는 방안을 현재 적극 검토하고 있는 중이다.

4) 새로운 원료원 확보방안

현재 프로폴리스가 일반 국민들 사이에 알려져 있지 않은 관계로 프로폴리스생산이 거의 전무하다 싶이한 베트남, 인도, 아프리카국가들 및 일부 동남아시아 국가들의 양봉협회나 개별양봉업자들을 접촉하여 수입가능성을 타진하여고 한다. 특별히 탄자니아와 같은 아프리카국가의 한 양봉산물 수출업자는 본 연구진이 프로폴리스 수확, 채집 및 수출에 직접투자를 하도록 권유하고 있으며 이것이 여의치 않으면 자기네 회사와 파트너관계를 맺자고 제의해 왔다.

그러므로 단기적으로는 현재의 아프리카 양봉산업실태를 고려해 볼 때 프로폴리스를 생산, 수집하는 작업이 쉽지 않으나 추후 아프리카 지역의 프로폴리스 샘플을 수집한 후에 품질검사를 거쳐 장기적인 프로폴리스원료 확보차원에서 지속적으로 관심을 갖고 대처해 나갈 예정이다. 유럽이나 한국, 중국, 일본, 미국, 남미의 양봉산업의 발달은 movable-frame hives의 등장으로 인해 가능한 것이었으나 현재 열대아프리카 지역에서는 traditional log hive(전통적인 통나무 벌통)이나 전통적인 벌통과 현대식 movable-frame hive(이동식 규격벌통)의 중간단계인 소규모 양봉업에 적합한 top-bar hive가 사용되고 있다.

아프리카꿀벌은 열대 벌이므로 열대지방에서는 개미나 기생충등 외적이 들어가기 쉬워 온대보다 스스로 벌집의 보호를 위하여 주의를 게을리하여서는 아니 된다. 그 때문에 자기몸과 벌집을 지키기위해 본능적으로 프로폴리스를 많이 채집하는 것이다. 이것이 온대의 벌꿀보다 아프리카꿀벌과 교배된 꿀벌이 프로폴리스를 많이 수집하는 이유이다. 그럼에도 아프리

카국가들은 전근대적인 양봉기구와 기술로 벌꿀, bee wax와 화분만을 소량 생산하고 있으며 프로폴리스는 거의 채집이 이루어지고있지 않고 있다. 그러나 장래에는 고품질의 프로폴리스를 얻을 수 있게 되며 가격에도 영향을 미치게 되리라 생각된다. .

따라서 다소 시일이 걸리겠지만 프로폴리스를 안정적으로 경제성있는 가격으로 확보하기 위해서는 아프리카지역에 대한 프로폴리스수집 base를 건설하는 작업이 이루어져야 할 것이다. 아울러 세계의 양봉업자들, 양봉학자들 그리고 양봉산물 산업관련 무역업자들이 보는 양봉전문지인 Beeking & Develpment, Bee World, American Bee Journal, Apicultural Abstracts, Indian Bee Journal 및 Chinese Bee Products Newspaper등에 지속적으로 프로폴리스구매 광고를 내서 안정적으로 원료를 확보하는데 도움이 되도록 한다. 또한 인터넷 홈페이지를 개설해서 본 연구진의 프로폴리스구매에 대한 자세한 내용을 전세계에 알리도록 준비 중이다. 현재 본 연구진은 지속적으로 세계여러나라들의 양봉업자와 양봉산물 수출회사를 접촉하고 있으며 앞으로 천연프로폴리스에 대한 확보 물량이 꾸준히 증가할 것으로 예상된다.

2. 분취억제제의 원료원 확보 및 경제성 분석

가. 서론

현재 전세계적으로 환경에 대한 관심이 고조되면서 국내에서도 이에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히 축산의 경우 농가가 매우 영세하기 때문에 분뇨에 대한 오폐수처리를 거의 하지 않고 있는 실정이며 사육규모의 증대에 따라 분뇨페기물의 증가로 때로는 환경파괴의 주범으로 지적되고 있는 실정이다. 또한 가축에 의해 발생되는 분뇨취는 각종 해충 및 미생물의 서식을 유발시켜 가축의 건강유지 및 성장을 저해하고 있다. 그리고 이러한 분뇨속에서 작업을 하는 양축가들은 언제나 분뇨의 악취속에서 작업을 함으로인해 작업능률이 떨어질 수 있으며 축산농가가 대규모화됨으로 인하여

그 악취는 주위의 이웃에게 까지 영향을 미쳐 사회 문제화 되기도 한다. 이러한 문제의 해결을 위하여 현재 분취억제제가 사용되고 있다.

현재 국내에서 판매되고 있는 분취억제제는 전량 수입에 의존하고 있으며 수입되고 있는 분취억제제인 Sarsaponin은 yucca추출물의 천연 스테로이드의 하나로서 가축의 성장촉진, 사료효율 개선과 분뇨취 억제제로 사용되고 있다. 이러한 yucca추출물의 활성성분은 saponin으로 이러한 saponin 성분은 약 80여과의 식물에서 존재하고 있다. 국내에서는 도라지, 더덕, 인삼, 두과류등에 다량 존재하고 있다.

따라서 본 연구에서는 전량 수입에 의존하고 있는 분취억제제의 대체체로서 국내에서 쉽게 구할 수 있는 도라지, 더덕폐기물, 인삼가공부산물, 비지박등을 이용하여 그 대체가능성을 타진하고 경제성이 있는 품목에 대하여 원료원 확보방안을 모색하고자 한다.

나. 분취억제제의 경제성분석

<Table 5-14> 식물성 steroid의 kg당 가격산출

원 료	구입가격 (kg당) (A)	추출비용 (kg당) (B)	생산수율 (C)	원액1g당 가격 (A+B)/C
Sarsaponin	$20	12,000원	20g/kg	1,800원a 1,900원b 2,000원c
도라지	8,000원		15g/kg	1,330원
더덕폐기물	0		6g/kg	2,000원
인삼가공부산물	0		10g/kg	1,200원
비지박	0		5g/kg	2,400원

주) 1. Sarsatonin의 경우 1달러당 환율이 1200원, 1300원, 1400원으로 구분하여 계산하였음.
a : 1200원, b : 1300원, c : 1400원
2. 도라지를 제외한 나머지 원료들은 모두 폐기되는 것들로 구입가격에서 제외하였음
3. 추출에 소요되는 시약은 etanol과 butanol로서 농축시 회수하여 재사용
4. sarsaponin의 시판형태는 crude한 상태로 saponin의 함량은 약 16.9%임

현재 수입되고 있는 분취억제제인 sarsaponin은 kg당 20달러에 구입되고 있으며 현재 년간 20억원정도의 시장을 형성하고 있다. 국내에서 대체가능하다고 판단되는 더덕폐기물, 인삼가공부산물, 비지박등은 폐기되는 것을 회수하여 사용하므로 구입비용은 소요되지 않으며 도라지는 kg당 8,000원에 구입가능 하였다. 이들 원료로부터 순수 saponin을 추출하는데 소요되는 비용은 kg당 12,000원이며 생산수율은 sarsaponin이 kg당 20g, 도라지가 15g, 더덕폐기물이 6g, 인삼가공부산물이 10g, 비지박이 5g으로 분석되었다. 이들을 종합하여 원액 1g당 가격으로 환산하면 환율이 달러당 1,300원일 경우 sarsaponin이 1,900원으로 나타나 도라지(1,330원), 인삼가공부산물(1,200원)등은 sarsaponin의 대체제로 충분한 것을 알 수 있었다.

<Table 5-15> 가축 1두당 년간 투입비용

구분 \ 축종별			Poultry		Swine			Cattle	
			Layer (20주령)	Broiler (6주령)	Stater (3-5kg)	Grower (20-50kg)	Finisher (50-80kg)	Beef (400kg)	Dairy (600kg,20kg)
평균사료섭취량			550g/주	1070g/주	250g/일	1855g/일	2575g/일	7000g/일	6400g/일
년간섭취량(kg)			28.5	55.64	91.25	677.08	939.88	2555	2336
saponin 첨가수준 (ppm)			50	100	120	100	60	200	200
년간 첨가량(g)			1.43	5.56	10.95	67.7	56.4	511	467.2
년간 투입 비용 (원)	Yucca*	A	2,574	10,008	19,710	121,860	101,520	919,800	840,960
		B	2,717	10,564	20,805	128,630	107,160	970,900	887,680
		C	2,860	11,120	21,900	135,400	112,800	1,022,000	934,400
	도라지		1,902	7,395	14,564	90,041	75,012	679,630	621,376
	더덕 폐기물		2,860	11,120	21,900	135,400	112,800	1,022,000	934,400
	인삼가공부산물		1,716	6,672	13,140	81,240	67,680	613,200	560,640
	비지박		3,432	13,344	26,280	162,480	135,360	1,226,400	1,121,280

주) Yucca의 A, B, C는 각각 달러당 환율이 1,200원, 1,300원, 1,400원의 경우임
saponin의 첨가수준은 멕시코 Agro industrial사의 권장수준임

<Table 5-14>에서 계산된 원액 1g당 가격과 각 축종별 년간 첨가량자료를 이용하여 각 원료의 년간 투입비용을 산출한 것이 <Table 5-15>이다. 그러나 이것은 sarsaponin과의 상대적인 비교를 위하여 각 원료에 포함된 생산수율을 이용하여 계산한 것이므로 실질적인 투입비용 산출은 각 축종에 직

접급여한 이후에 계산이 가능할 것이다. 따라서 본 분석에서는 현재 투여하고 있는 Yucca추출물의 가격을 100으로 환산하여 상대적인 지수로 설명하고자 한다.

<Table 5-16> 수입 분취억제제와의 상대적 가격비교

구분 \ 환율	1200	1300	1400
Yucca	100	100	100
도라지	73.9	70.0	66.5
더덕폐지물	111.1	105.3	100.0
인삼가공부산물	66.7	63.2	60.0
비지박	133.3	126.3	120.0

상대적인 지수로 환산한 것이 <Table 5-16>이다. 즉, 현재 수입되어 투여하고 있는 Yucca추출물의 가격이 100이라면 환율 1200원에서 도라지가 73.9%의 가격이면 대체할 수 있으며 인삼가공 부산물은 66.7%면 기존 수입 분취억제제를 대체할 수 있는 것으로 분석되었다. 또한 환율이 1,400원에 이르면 더덕폐기물도 수입 분취억제제와 동일한 가격에 대체 가능한 것으로 분석되었다.

따라서 도라지와 인삼가공부산물을 충분히 확보가능하다면 현재 수입되고 있는 분취억제제를 충분히 대체할 수 있으며 더욱 저렴한 가격으로 공급할 수 있을 것으로 분석되었다.

다. 분취억제제의 원료원 확보방안

이상의 분석결과를 통하여 도라지와 인삼가공부산물이 수입 분취억제제를 대체할 수 있는 것으로 판명되어 국내에서의 원료원 확보방안에 대하여 살펴보기로 한다.

현재 국내의 인삼재배현황은 1991년을 기점으로 하여 생산량이 약간씩 감소하고 있는 것으로 나타났으며 생산농가와 재배면적도 계속적으로 감소하고 있다. 이는 국내산 인삼시장이 중국등에서 생산되는 값싼 인삼등에

시장이 잠식되고 있기 때문인 것으로 추정된다. 그러나 인삼가공부산물은 폐기되는 것이기 때문에 실제 분취억제제가 실용화되더라도 필요한 수량의 원료를 확보하는 데에는 커다란 문제가 없을 것으로 판단된다.

<Table 5-17> 국내 인삼재배 현황

년도	생산농가 (호)	생산량 (M/T)	면적 (ha)
1988	35,807	14,834	11,698
1989	38,843	13,939	11,877
1990	36,404	13,889	12,184
1991	36,146	15,132	11,694
1992	30,809	13,508	11,364
1993	30,327	14,874	10,986
1994	30,500	14,292	10,123
1995	23,172	11,971	9,375
1996	23,304	10,147	8,940

자료 : 한국담배인삼공사, 인삼협동조합중앙회

분취억제제의 대체제로 유일하게 가격을 지불하고 구입하는 도라지의 경우 국내의 생산통계가 정확히 산출되지 않아 년간 생산규모가 어느 정도이지 알 수 없으나 필요한 수량을 구입하는데에는 큰 문제가 없을 것으로 판단된다. 중요한 것은 도라지의 구입가격에 따라 대체제로서 더욱 경제적일 수도 있고 비경제적일 수도 있다고 하는데 있다. 그러나 현재 중국으로부터 많은양의 도라지가 수입되고 있으며 정확한 가격은 현재 보고되지 않고 있으나 국내산에 비하여 상당히 저렴하게 공급되고 있다. 앞으로 중국산 도라지의 활용여부에 따라서는 원료원 확보문제와 경제성 모두 충분히 가능성이 있을 것으로 판단된다.

3. 분취억제제 및 천연항생물질의 상용화 방안

가. 상용화 방안분석을 위한 이론적 배경

분취억제제 및 천연항생물질의 상용화 방안을 위해서는 이것을 구입하여 사용할 각 농가들이 분취억제제와 천연항생물질에 대하여 어떻한 생각을 가지고 있으며 어떤농가들에게 특히 필요한지, 가격은 어느정도가 되어야 하는지, 어떤 계층(예를들면 소규모, 대규모, 도시인근, 중산간등)이 주로 사용할 것인지에 대하여 정확한 사전조사가 필요하며 여기에 맞는 제품을 제조하고 마케팅을 하여야 성공할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 이러한 제문제들을 객관적으로 분석하고 그에 따른 대응방안을 제시할 수 있는 계층화 의사결정 기법(AHP)을 도입하여 분석에 임하였다.

AHP(Analytic Hierarchy Process:계층화 의사결정 기법)는 비율척도에 의한 일반비교를 근본으로 전체로서의 항목간 비율척도를 결정하는 방법이다. 이러한 AHP기법은 다수의 목적을 포함하는 의사결정시 사용되며 주관적이고 객관적인 의사결정변수를 모두 분석할 수 있는 기법이다.

AHP기법에서 의사결정이 이루어지는 과정을 간단하게 살펴보면 다음과 같다.

계층화 의사결정 기법(AHP)에서의 계층은 여러 의사결정수준으로 구성되어 있고 각 의사결정수준은 구체적인 의사결정요소를 포함한다. 계층화 의사결정 기법에서 의사결정의 최고목표는 체계 구성상 최상위에 위치하고 선별기준이나 의사결정대안들은 체계구성에서 하위로 배치된다.

일반 의사결정수준이 결정되면 의사결정자는 상위수준요소에 대한 가중치를 구하기 위해 각 체계수준의 쌍비교를 행한다. 쌍비교를 위해서는 각 행렬에 있는 요소의 우선 순위를 계산하여야 하는데 이를 위해 의사결정자는 먼저 각 행렬을 위한 고유행렬값을 계산해야 한다. 이러한 새로운 벡터값은 쌍비교를 위한 요소로 사용된 상위체계수준요소의 가중치요소를 사용

하여 가중치가 계산된다. 이러한 과정은 체계수준의 아래쪽으로 계속 반복되고 각 체계수준에서의 각 요소의 가중치가 계산된다. 이러한 가중치는 다시 각 대안의 총합 가중치를 결정하기 위해 사용된다. 따라서 최적값은 가장 큰 총합의 가중치를 가진 대안의 값이다.

1) 분석 알고리즘

지금 n개의 평가항목 $I_1 \cdots I_n$가 있고, 그 원래의 중요도가 $W_1, W_2, \cdots W_n$이라고 하자. 이때 항목 I_i와 I_j의 중요도 비교치 a_{ij}는

$$a_{ij} = \frac{W_i}{W_j} \tag{1}$$

가 된다.

따라서 일대비교 행렬 $A = [a_{ij}]$는 다음과 같은 형태로 되어 있다.

$$A = \begin{bmatrix} \frac{W_1}{W_1} & \frac{W_1}{W_2} & \cdots & \frac{W_1}{W_n} \\ \frac{W_2}{W_1} & \frac{W_2}{W_2} & \cdots & \frac{W_2}{W_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{W_2}{W_1} & \frac{W_2}{W_2} & \cdots & \frac{W_n}{W_n} \end{bmatrix} \tag{2}$$

물론 이 A는 이상적인 평가가 행해진 경우에 실현된 뿐이므로 이 A의 우측에 weight vector를 곱하여 다음과 같은 결과를 얻는다.

$$A = \begin{bmatrix} \frac{W_1}{W_1} & \frac{W_1}{W_2} & \cdots & \frac{W_1}{W_n} \\ \frac{W_2}{W_1} & \frac{W_2}{W_2} & \cdots & \frac{W_2}{W_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{W_2}{W_1} & \frac{W_2}{W_2} & \cdots & \frac{W_n}{W_n} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} W_1 \\ W_2 \\ \vdots \\ W_n \end{bmatrix} = n \begin{bmatrix} W_1 \\ W_2 \\ \vdots \\ W_n \end{bmatrix} \tag{3}$$

이 관계식에 의하여 weight vector는 A의 고유 vector이며 n은 고유치인 것을 알 수 있다. 또한 n은 행렬 A의 최대고유치이다.

현실은 일대비교행렬 A는 (2)의 형태를 하고 있는 것을 기대할 수 없다고 해도 거의 그것에 가까운 형태를 할고 있다고 할 때, A의 최대고유치와 고유 vector를 구한다면 그 고유 vector가 각 평가 항목의 weight로서 채용될 수 있다.

여기서 일반적으로 현실의 일대비교행렬 A의 최대고유치를 λ_{max}, 고유 vector를 ν라 하면,

$$w = \begin{bmatrix} w_1 \\ \vdots \\ w_n \end{bmatrix} \qquad (4)$$

이 되며 이때 고유치와 고유 vector의 관계에 의하여

$$A w = \lambda_{max} w \qquad (5)$$

라고하는 식이 성립한다.

또한 행렬 A에 대한 정합도와 정합비를 계산하여 모델의 결과에 대한 일관성을 확인하게 되는데 공식은 다음과 같다.

$$\text{정합도}(C.I.) = \frac{\lambda_{max} - n}{n - 1}$$

정합도(C. I.)의 값이 0.1이하면 합격으로 한다.

이렇게 산출된 정합도를 아래 표에 나타난 n에 해당하는 획률지수로 나누어 정합비(C. R.)을 구하여 역시 0.1이하면 일관성이 존재하는 것으로 판단한다.

n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
M	0.00	0.00	0.58	0.90	1.12	1.24	1.32	1.41	1.45	1.49	1.51	1.53

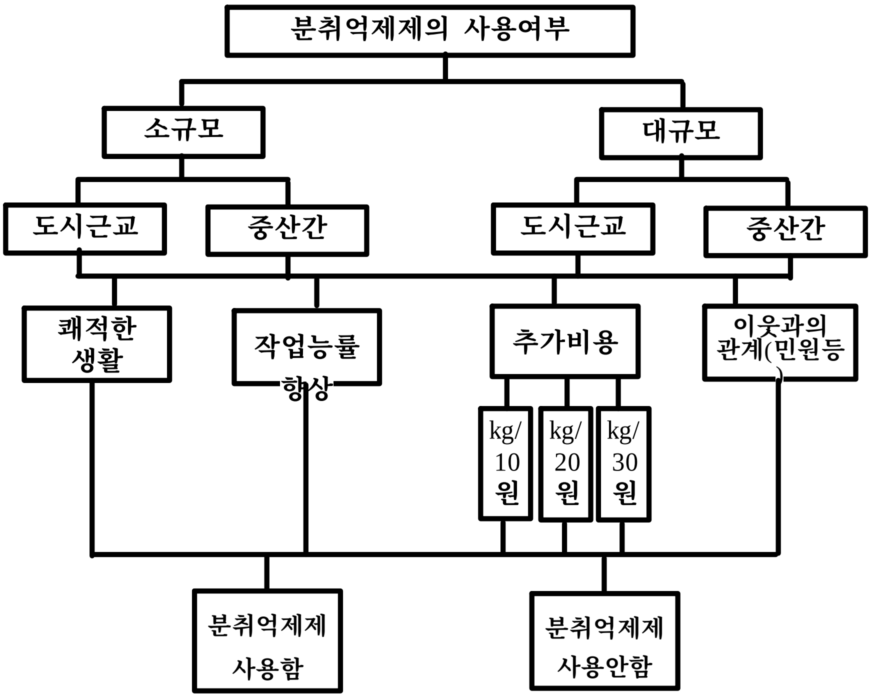
$$\text{정합비}(C.I.) = \frac{C.I.}{M}$$

나. 상용화 방안 분석

이상의 이론을 토대로 다음과 같은 의사결정체계를 설정하고 위에서 설명한 이론에 의거하여 쌍비교를 행하여 상대적 가중치를 구하고 그것에 대한 일관성을 분석을 행하여 최종적으로 분취억제제 및 천연항생물질의 상용화방안을 분석하게된다.

1) 분취억제제의 상용화 방안 분석

아래와 같은 의사결정체계를 설정하고 분석을 행하지만 각 농가들의 여건과 분취억제제의 가격에 따라 분취억제제의 사용여부는 상이한 결과를 나타내므로 분취억제제의 예상가격별, 규모별(소규모, 중규모, 대규모)로 구분하고 또한 지역별(도시근교, 중산간)로도 구분하여 분석을 행한다. 또한 분취의 경우 축산농가중 양돈농가에서 그 문제성이 심각하기 때문에 본 연구에서는 양돈농가를 대상으로 분석을 행하였다. 본 계층화 의사결정기법은 양적, 질적변수를 모두 포함할 수 있기 때문에 수치로 전환이 가능한 자료는 양적자료를 이용하여 계량화 하였고 양적자료가 불가능한 자료는 전문가를 대상으로 상대적인 중요도를 조사하여 수량화 하였다.



<Fig 5-2> 분취억제제 사용여부의 분석을 위한 계층도

국내 양돈농가의 경우 1,000두미만을 사육하는 비율이 25%, 1000두이상을 사육하는 비율이 75%를 차지하고 있으므로(축산물가격 및 수급자료, 축협중앙회, 1998) 이를 소규모와 대규모로 분리하여 0.25:0.75의 비중으로 계산하였으며 도시근교와 평야지를 합한 비율과 중간과 산간지역을 합한 비율이 약 50:50으로 나타나고 있어 도시근교와 중산간의 비율은 같은 비중으로 계산에 임하였다. 또한 분취억제제 사용으로 인한 추가비용은 사료 kg당 3원, 5원, 10원으로 구분하여 분석을 행하였다. 그 이외에 분취억제제의 사용에 따라 발생할 수 있는 요인들, 즉 쾌적한 생활, 작업능률의 향상, 이웃과의 관계(민원 등)등은 전문가들을 대상으로 상대적 중요도를 산출하였다.

이상을 통하여 분석한 결과를 살펴보면 다음과 같다.

<Table 5-18> 주요 항목별 중요도 분석결과

	소규모/ 도시근교	소규모/ 중산간	대규모/ 도시근교	대규모/ 중산간	총합득점
쾌적한 생활	0.008	0.014	0.025	0.033	0.080
작업능률향상	0.034	0.031	0.091	0.146	0.302
추가비용	0.025	0.070	0.060	0.098	0.253
이웃과의 관계	0.058	0.010	0.198	0.098	0.364

총합득점결과를 통하여 분취억제제의 사용여부에 가장 큰 영향을 미치는 것은 이웃과의 관계(0.364), 작업능률향상(0.302), 추가비용(0.253), 쾌적한 생활(0.080)의 순으로 나타났다. 가장 큰 비중을 차지한 이웃과의 관계를 구체적으로 살펴보면 대규모이고 도시근교의 양돈농가(0.198)에서 가장 중요한 것으로 나타나 이웃으로부터의 민원을 통한 불이익에 대하여 분취억제제의 추가비용을 충분히 지불할 의사가 있는 것으로 나타났다. 또한 소규모이고 중산간에 위치한 농가는 이웃과의 관계에 가장 적은 비중(0.01)을 나타내고 있다.

최종적으로 규모별, 지역별, 항목별을 취합하여 총합적으로 분취억제제의 사용여부를 살펴보면 다음과 같다.

<Table 5-18>에 나타난 바와같이 모든 요인을 종합하여 분취억제제의 사용여부를 살펴보면 분취억제제를 사용하는 것(0.626)이 사용하지 않는것(0.374)보다 높게 나타나고 있다. 이것은 분취억제제를 사용함으로서 이웃과의 관계가 원활해 지고 작업능률이 향상되며 쾌적한 생활을 할 수 있는 것이 추가 비용을 부담하는 것보다 커다란 메리트가 있기 때문인 것으로 분석되었다.

따라서 분취억제제가 상용화되었을 때 파급효과는 클 것으로 기대된다.

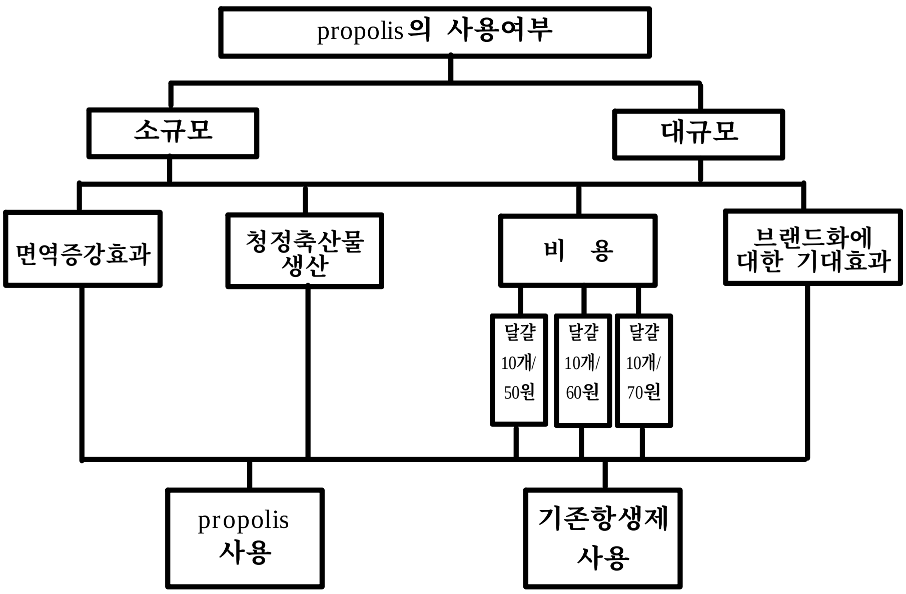
다만 상용화의 성공을 위하여는 양축농가나 양계농가와 같이 분취문제에 큰 영향을 받지않는 농가보다는 양돈농가를 대상으로한 사료첨가제로서 개발이 되어야 할 것이며 규모와는 상관없이 도시근교에 인접한 양돈농가를 대상으로 마아케팅을 강화할 필요가 있을 것이다. 아울러 대규모 중산간지역의 농가에게는 이웃과의 관계개선보다 작업능률이 향상된다는데에 중점을 두고 홍보할 필요가 있는 것으로 나타났다.

<Table 5-19> 각 요인별 분취억제제의 사용여부

분취억제제 사용여부의 결정요인				분취억제제 사용	사용안함
소규모 (0.25)	도시근교 (0.125)	쾌적한 생활 (0.008)		0.005	0.003
		작업능률향상 (0.034)		0.025	0.008
		추가비용 (0.025)	3원/kg (0.004)	0.001	0.003
			5원/kg (0.007)	0.001	0.006
			10원/kg(0.014)	0.001	0.012
		이웃과의관계(민원등)(0.058)		0.047	0.012
	중산간 (0.125)	쾌적한 생활 (0.014)		0.009	0.006
		작업능률향상 (0.031)		0.023	0.008
		추가비용 (0.070)	3원/kg(0.012)	0.004	0.008
			5원/kg(0.019)	0.004	0.015
			10원/kg(0.039)	0.005	0.034
		이웃과의관계(민원등)(0.010)		0.006	0.004
대규모 (0.75)	도시근교 (0.375)	쾌적한생활 (0.025)		0.019	0.006
		작업능률향상 (0.091)		0.068	0.023
		추가비용 (0.061)	3원/kg(0.010)	0.003	0.007
			5원/kg(0.017)	0.003	0.014
			10원/kg(0.034)	0.003	0.030
		이웃과의관계(민원등)(0.198)		0.173	0.025
	중산간 (0.375)	쾌적한생활 (0.033)		0.022	0.011
		작업능률향상 (0.146)		0.110	0.037
		추가비용 (0.098)	3원/kg(0.016)	0.004	0.012
			5원/kg(0.027)	0.005	0.023
			10원/kg(0.054)	0.005	0.049
		이웃과의관계(민원등)(0.098)		0.078	0.020
총합계				0.626	0.374

2) Propolis의 상용화방안 분석

프로폴리스의 경우도 아래와 같은 의사결정체계를 설정하고 기존 항생제의 대체여부를 확인하고 propolis상용화에 가장 큰 영향을 미치는 요인을 분석하였다. 또한 propolis의 상용화를 쉽게 할 수 있는 양계농가를 대상으로 분석을 실시하였다. 다만 propolis의 경우 지역별에 따라서는 큰 영향을 미치지 못하기 때문에 규모별로만 구분을 하였으며 propolis투여에 따른 포지티브의 영향으로는 면역증강효과, 청정축산물생산, 브랜드화에 대한 기대효과를 요인으로 넣었고 네가티브 효과로는 비용증가를 설정하였다.



<Fig. 3> propolis사용여부 분석을 위한 계층도

실제 분석에는 산란계 농가의 규모별 비중을 살펴보아야 하지만 통계자

료의 입수가 어려운 관계로 전체 양계농가를 가지고 1만수미만을 소규모로 1만수이상을 대규모로 설정하였다. 국내 양계의 경우 소규모는 전체의 10%를 차지하고 있었으며 대규모가 90%를 차지하여 1:9의 비중으로 분석을 행하였다.

<Table 5-20> 주요 항목별 중요도 분석결과

	소규모	대규모	총합득점
면역증강효과	0.010	0.059	0.069
청정축산물 생산	0.038	0.466	0.504
비용증가	0.030	0.120	0.150
브랜드화의 기대효과	0.022	0.255	0.278

분석결과 항목별로 propolis사용에 가장 큰 영향을 미치는 요인별로 살펴보면 청정축산물 생산(0.504), 브랜드화의 기대효과(0.278), 비용증가(0.150), 면역증강효과(0.069)순으로 나타났다. 특히 대규모의 농가에서 청정축산물 생산과 브랜드화의 기대효과에 큰 비중을 두고 있었으며 소규모의 경우는 청정축산물 생산이 가장 높은 비중을 차지하였지만 비용증가에도 큰 부담을 가지고 있는 것으로 분석되었다.

	소규모	대규모	총합득점
면역증강효과	0.010	0.059	0.069
청정축산물 생산	0.038	0.466	0.504
비용증가	0.030	0.120	0.150
브랜드화의 기대효과	0.022	0.255	0.278

<Table 5-21> 각 요인별 천연항생물질의 사용여부

천연항생물질 사용여부의 결정요인			propolis사용	기존항생제사용
소규모 (0.1)	면역증강효과 (0.010)		0.007	0.003
	청정 축산물 생산 (0.038)		0.028	0.009
	비용 (0.030)	10원/달걀10개 (0.005)	0.002	0.003
		20원/달걀10개 (0.010)	0.002	0.007
		30원/달걀10개 (0.015)	0.003	0.012
	브랜드화에 대한 기대효과(0.022)		0.015	0.007
대규모 (0.9)	면역증강효과 (0.059)		0.035	0.024
	청정 축산물 생산 (0.466)		0.388	0.078
	비용 (0.120)	10원/달걀10개 (0.020)	0.007	0.013
		20원/달걀10개 (0.040)	0.010	0.030
		30원/달걀10개 (0.060)	0.012	0.048
	브랜드화에 대한 기대효과(0.255)		0.191	0.064
총 합 계			0.701	0.299

이상의 요인을 중심으로 propolis의 사용여부를 살펴보면 사용하는 것(0.701)이 사용하지 않는 것(0.299)보다 매우 크게 나타나고 있어 천연항생물질이 상용화되었을 때 성공가능성은 매우 큰 것으로 나타났다. 그 요인으로는 청정축산물 생산이라는 차별화에 의하여 고부가가치의 가능성(브랜드화)을 높게 평가하고 있기 때문인 것으로 나타났다. 특히 대규모의 경우 브랜드화에 대한 기대효과가 소규모에 비하여 상당히 크게 나타나고 있다. 즉, propolis 투여의 상용화가 성공하기 위해서는 대규모 양계농가를 중심으로 광역브랜드화 시킴으로써 고부가가치를 창출할 수 있느냐 없느냐에 달려 있다고 볼 수 있다. 따라서 브랜드화와 propolis 사용을 병행하여 농가에 홍보하는 것이 중요하며 브랜드화의 가능성에 대하여도 철저한 준비가 필요할 것으로 전망된다.

제 3 절 복합 양돈첨가제 급여 후 경제성 평가 및 마케팅 전략

1. 서 론

2차년도까지의 연구 수행 결과 국내산 Saponin공급물질의 분취억제효과가 입증되었고 천연항생물질로서 Propolis의 항균효과가 입증되었다. 그러나 천연항생물질인 Propolis의 경우 기존의 시판항생물질이 부수적으로 가지고 있는 성장촉진효과가 닭이나 소실험에서는 없는 것으로 나타났다. 또한 국내산 saponin급여물질이나 eucca의 sarsaponin의 경우에도 성장촉진효과는 아주 미미한 것으로 나타났다. 따라서 saponin이나 propolis의 합동 투여 과정에서 활성을 보존할 수 있는 것은 생균물질을 대체 성장촉진물질로 설정하고 일련의 생균미생물에 대한 saponin과 propolis의 항균성을 평가한 결과 일부 보호 유산균제의 경우 saponin과 propolis의 공동 투여과정시에 활성을 유지할 수 있는 것으로 나타났다.

따라서 본 연구는 성장촉진효과와 분취억제효과를 가지면서 설사유발 및 호흡기유발 병원균에 대한 항균효과를 갖는 복합 양돈첨가제를 돼지에게 급여 후 브랜드육으로 판매했을 경우의 경제성 평가 및 마케팅전략을 세우는데 그 목적이 있다.

성공적인 마케팅전략의 수립을 위하여 먼저 경제성 평가를 통하여 개발제품의 경제적 타당성을 검증하고 고품질 돼지고기의 국내 수요 및 수출에 대한 현황과 앞으로의 전망을 살펴보고자 한다. 또한 국내 브랜드육 시장의 현황 및 개발제품의 HACCP 적용가능성을 통해 개발제품의 브랜드화를 통한 총체적인 마케팅 전략을 수립할 계획이다.

2. 복합 양돈첨가제 급여 후 경제성 평가

고품질 돼지고기란 육색이 좋고, 맛이 뛰어난 냉장육으로 PSE육 등 품질에 결함이 없는 A, B등급의 도체로 항생물질이 함유되지 않은 것이라 말할 수 있다. 다시 말하면 가격은 다소 비싸더라도 소비자가 원하는 육질의 고기라 말할 수 있으며 선진국의 예를 보더라도 이러한 고품질 냉장육의 수요는 계속 증가할 것으로 추정된다.

문제는 이러한 값비싼 냉장육의 수익성이 얼마나 있느냐 하는 것이고 수입냉장육과의 경쟁력이 있는냐 하는데 있을 것이다. 이를 확인하기 위하여 소매 요식업소의 수익성을 토대로 살펴보면 다음과 같다.

<Table 5-22> 수입 및 국산돈육의 소매 요식업소 수익성

구분	부위	소매가격		도매가격		소매점 수익	
		일반육	브랜드육	국산	수입육	국산	수입육
냉동	목등심	7,500	-	5,700	4,370	1,800	3,130
	삼겹살	8,000	-	6,400	5,160	1,600	2,840
냉장	목등심	-	9,800	6,200	5,970	3,600	3,830
	삼겹살	-	9,800	6,800	6,730	3,000	3,070

자료 : '98.10월 기준 한국육류수출입협회 시산

주 : 환율 1,300:1기준

즉, 소매가격의 경우 냉동육에 비하여 냉장 브랜드육이 삼겹살은 지육 kg당 1800원, 목등심은 2300원 비싼 것으로 나타났다. 그러나 도매가격에 있어서는 냉장육이 냉동육에 비하여 삼겹살이 400원, 목등심이 500원 비싼데 그쳐 소매점의 수익은 냉동육에 비하여 냉장육에서 월등히 크게 나타나고 있다. 수입육과 비교하면 소매점의 수익은 냉동육의 경우 수입육이 국산육에 비하여 수익이 지육 kg 당 1240원 1330원(74 77%)정도 높은 것을

알 수 있으나 냉장육의 경우는 지육 kg당 70원 230원(2 9%) 높은데 그치고 있다. 이러한 결과는 국내 소비자들이 냉장육을 냉동육에 비하여 매우 선호하고 있음을 나타내는 지표라 할 수 있다. 다만 도매가격과 소매가격의 격차가 냉장육의 경우 매우 크게 나타나고 있어 이러한 이익이 농가에 전달되지 않고 소매업소에게만 유리하게 작용하고 있는 점에 대하여는 앞으로 많은 개선이 이루어져야 할 것으로 판단된다.

<Table 5-23> 내수 및 수출시의 110kg생돈가격 형성과 농가 수익성

구분	현재				금후			
	내수		수출		내수		수출	
	비율	금액	비율	금액	비율	금액	비율	금액
일반육(냉동)	90%	137,979	80%	148,968	50%	76,655	50%	93,107
브랜드육(냉장)	10%	20,596	20%	50,507	50%	102,949	50%	126,257
계	100%	158,570	100%	199,475	100%	179,604	100%	219,369
경영비	177,580							
생산비	203,893							
소득	△19,010		21,895		2,024		41,789	
순수익	△45,323		△4,410		△24,289		15,476	

자료: 김강식, 국내 냉장육 시장현황과 전망, 양돈연구, 1999.1

이를 농가의 수익성 측면에서 살펴보면 <Table 5-23>과 같다. 현재 냉장육의 비중은 내수가 10%, 수출용이 20%를 차지하고 있다. 따라서 농가당 두당 판매비는 내수가 158,570원이고 수출용은 199,475원이 된다. 여기에 경영비 177,580원를 뺀 소득은 내수가 19,010원의 적자를 나타내고 있으며 수출용은 21,895원의 흑자를 나타내고 있다. 그러나 생산비 203,893원을 뺀 순소득의 측면에서 살펴보면 내수가 45,323원, 수출용이 4,410원의 적자를 보고 있는 것을 알 수 있다. 즉, 냉장육의 비율을 어느정도 높이느냐

가 농가의 소득을 좌우한다고 할 수 있다. 만약 앞으로 냉장육의 비중을 50%까지 높인다면 내수용은 2,024원의 소득을 올릴 수 있으며 수출용은 41,789원의 흑자가 예상된다. 결국 국내 돈육농가의 경쟁력 확보여부는 고급냉장육의 생산과 수출확보 여부가 가장 중요한 변수라는 것을 쉽게 판단할 수 있다.

<Table 5-24> 복합 양돈첨가제 급여에 따른 경제적 효과

			전국평균	본 연구 결과			
				사료효율: 3.0		사료효율:2.7	
				A	B	A	B
조수입			196,077	215,685	235,292	215,685	235,292
생산비	경영비	가축비	44,174	44,174		44,174	
		사료비	92,198	96,488*		78,945**	
		감가상각비	5,209	5,209		5,209	
		고용노력비	1,862	1,862		1,862	
		기타	10,412	10,412		10,412	
		경영비 계	153,855	158,145		140,602	
	자가노력비		3,350	3,350		3,350	
	자본이자		14,150	14,150		14,150	
	생산비 계		171,355	175,645		158,102	
소 득			42,222	57,540	77,147	75,083	94,690
순수익			24,722	40,040	59,647	57,583	77,190

주 : 본 자료는 성돈 110kg기준임
전국평균은 농촌진흥청 농업경영관실, 농가경영실태조사, 1999의 자료를 인용
A는 조수입(두당 판매비)이 전국평균보다 10% 높을 경우로 가정
B는 조수입(두당 판매비)이 전국평균보다 20% 높을 경우로 가정
사료의 kg당 단가는 279.4원으로 상정
프로폴리스와 사포닌의 복합 양돈첨가제를 투여했을 경우 kg당 프로폴리스 10원, 사포닌 3원 등 총 13원의 추가 비용발생
* 사료비/kg(279.4원+13원=292.4원)×사료효율(3.0)×110kg
** 사료비/kg(279.4원+13원=292.4원)×사료효율(2.7)×110kg

따라서 프로폴리스와 사포닌을 혼합한 복합 양돈첨가제를 급여한 돼지를 브랜드육으로 판매할 때를 상정하여 경제성 평가를 한 결과가 <표 3>이다. 복합 양돈첨가제를 급여할 경우 사료 kg당 프로폴리스가 10원, 사포닌이 3원의 비용이 추가되는 것으로 분석되었으며 이를 브랜드육으로 판매할 경우 브랜드육이 일반 돼지고기에 비하여 10% 20%정도 비싼 가격으로 판매되고 있기 때문에 본 연구에서도 같은 비율을 상정하여 생산비 및 수익을 추계하였다.

분석결과 복합 양돈첨가제를 투여 후 브랜드육으로 판매하게 되면 두당 최저 15,318원에서 최고 52,468원의 소득 증가가 있는 것으로 분석되었다. 즉, 사료효율이 전국과 동일한 경우(사료효율 3.0) 사료비 증가에 의해 경영비는 두당 4,290원이 상승하지만 돼지판매비용(조수입)이 10% 20% 상승함으로 인하여 전국평균에 비하여 두당 19,608원에서 39,215원의 조수입이 증가하기 때문에 사료비 증가비용을 상쇄하고도 15,318원 34,925원의 이익을 실현하는 것으로 나타났다. 만약 사료효율이 2.7로 높아지게 되면 같은 방법으로 32,861원 52,468원의 이익이 생기는 것으로 분석되었다.

3. 개발제품의 마케팅 전략

가. 돼지고기의 생산 및 소비현황

UR타결에 의한 WTO체제하에서 1994년 1월부터 신선 냉장돈육이 수입자유화 되었으나 신선냉장 돈육의 유통기간이 도축 후 21일로 되었기 때문에 실질적으로 도입이 되지 못하였다. 그러나 1997년 6월 1일부터 유통기간을 수입된 육류의 상태에 따라서 자유화된 이후 그 수입량은 점차 증가하고 있는 추세에 있다.

1999년도 돈육 총 공급량은 82만 톤으로 74만 톤이 국내에서 생산되었고

6만2천 톤이 수입되었다. 또한 내수용으로 71만 톤이 소비되었으며 9만 톤이 수출되었다. 생산은 IMF의 영향에도 불구하고 계속 증가하였으며 이러한 생산이 가능한 요인으로는 대만의 구제역 발생에 따른 대일 수출이 활기를 띠어 수출량이 증가했기 때문인 것으로 풀이된다. 표에도 나타나 있는 바와 같이 1997년도까지는 수입량이 수출량을 상회하고 있으나 1998년도부터는 수입량보다 수출량이 많은 것을 확인할 수 있다.

<Table 5-25> **돼지고기의 수급량과 전망**

	단위	‘91	‘92	‘93	‘94	‘95	‘96	'97	'98	'99(P)
◦공 급	천톤	516.5	603.4	628.4	650.0	680.4	737.6	767.5	806.0	819.8
전년이월	“	-	2.1	10.0	3.9	6.7	4.4	4.0	17.6	17.0
생 산	“	498.8	601.3	618.4	621.1	639.3	691.8	698.7	732.7	740.8
수 입	“	17.7	-	-	25.0	34.4	41.4	64.8	55.7	62.0
(MMA)		-	-	-	-	17.5	23.3	14.6	-	-
◦수 요	천톤	516.5	603.4	628.4	650.0	680.4	737.6	767.5	806.0	819.8
소 비	“	510.8	584.9	613.2	632.2	661.7	696.9	698.3	700.7	711.6
수 출	“	3.6	8.5	11.3	11.1	14.3	36.9	51.6	88.3	90.0
차년이월	“	2.1	10.0	3.9	6.7	4.4	3.8	17.6	17.0	18.2
1인 소비량	kg	11.8	13.4	13.9	14.2	14.8	15.3	16.0	15.1	15.2
자 급 도	%	97.7	102.8	100.8	98.2	96.6	99.3	95.5	104.5	104.1

그러나 IMF의 영향으로 매년 증가추세에 있던 1인당 소비량이 1998년에 15.1kg으로 전년도에 비하여 0.9kg 감소하였으며 1999년도에도 0.1kg 증가하는데 그쳤다.

돼지고기의 소비동향을 타육류와 비교하여 살펴보면 1998년도의 1인당 육류소비량은 28.1kg이었고 이 중 돼지고기는 15.1kg으로 전체의 54%를 차

지하고 있으며 다음으로 소고기가 7.4kg(26%), 닭고기가 5.6kg(20%)을 차지하고 있다.

또한 양돈은 국내 축산업 총 생산액 75.2백만원 중 23.9백만원을 생산하고 있어 전체의 32%로 가장 비중 큰 축산업으로 전업규모의 사육농가가 1990년 23.3%에서 1999년 6월 현재 54.4%로 매우 빠르게 전업화가 진행되고 있다.

나. 돼지고기 수출입 현황 및 전망

1997년 7월 1일 돼지고기의 수입자유화 이후 수입관세는 1997년 33.4%에서 2004년 25%로 연 1.2%씩 감소하고 있다. <Table 5-24>에 나타나 있는 바와 같이 돼지고기의 국제가격 하락과 국내가격상승, 가공원료육 부족으로 1999년도의 수입은 1998년에 비하여 크게 증가하였으나 IMF 이전인 1997년 수준보다는 약간 밑돌고 있다.

수입돈육의 유통구조는 1997년에는 약 70%정도가 정육점을 통하여 공급되었지만 1999년 현재 그 유통비율은 45%로 크게 하락하였고 단체급식처가 15%로 크게 증가하였으며 육가공품의 원료로 10%가 사용되고 있다. 또한 대형소매점(백화점, 할인점 등)으로 약 5%가 유통되고 있다.

최근의 수입돈육의 또다른 특징은 1998년까지만 하더라도 삼겹살의 비율이 90%를 초과하였으나 1999년에 들어와서는 7월 현재 그 비율이 48.8%까지 하락하였는데 국내산 후지부위가 일본으로 수출되면서 육가공원료로 이용되는 전후지 값이 급등하였기 때문에 상대적으로 가격이 저렴한 전후지와 기타 잡육이 육가공원료로 대량 수입되었기 때문이다. 지금까지는 수입돈육이 삼겹살에 국한되었기 때문에 국내돈가에 미치는 영향은 극히 제한적이었지만 앞으로는 수입량에 따라 국내돈가가 민감하게 반응할 가능성이 높으며 수출상대국의 수출을 활성화시키는 계기가 될 것으로 보인다.

돼지고기의 수입자유화 이후 가장 큰 변화는 냉장육과 냉동육, 수입돼지

고기와 국산돼지고기간의 가격차이가 점차 벌어지고 있다는 것이다. 즉 1999년에 들어와서 냉장육과 냉동육 간의 도매시세 차이는 전후지가 10 11%, 나머지 부위가 17 18%나 차이가 나고 있으며 수입돼지고기의 경우 삼겹살에 있어서 국산냉장육 기준으로 50 54%, 냉동육 기준으로 65% 수준을 유지하고 있다. 결국 소비자의 고급돼지고기 지향의 현상이 뚜렷이 나타나고 있다는 것을 보여주고 있다.

돼지고기의 수출현황을 살펴보면 90년대 중반까지는 10만톤 전후의 수출물량이 1996년도에 37만톤에서 1999년 현재 90만톤으로 급격히 증가하고 있다. 특히 부가가치가 높은 냉장육의 수출비중이 높아지고 있는 것으로 나타났다. 이러한 증가의 원인으로는 국제규격돈 생산농가와 수출가공업체, 정부 및 관련기관의 유기적인 협력체계가 큰 작용을 하였으며 대만의 구제역 발생, 엔화강세라는 외부환경의 영향도 일조하였다.

즉, 정부는 1993년부터 전용 수출 규격돈 생산과 연계한 품질개선단지와 수출 규격돈 생산출하 유도를 위하여 1991-1997년까지 양돈단지조성 등 13,797농가에 9,253천두를 대상으로 1조 415억원을 투자하였으며 장려금으로 540억원, 경영자금으로 500억원의 자금을 투자하였고 수출용 전용 가공시설, 식육센터 및 도축장, 부분육 가공시설, 규격돈 구매자금, 대일 돈육 수출 홍보 교육사업 등 총 289억원을 지원하였다.

특히 일본으로의 수출물량이 1992년도와 비교하여 973%증가(1998년 기준)하여 수출증가의 주 원동력으로 작용하였다고 할 수 있으며 이러한 수출증가는 1997년의 수입개방 이후에도 한국의 돼지고기 산업이 안정적으로 발전하는 계기를 마련하였다.

그러나 일본이 돈콜레라 청정화 선언이후 돼지콜레라 예방주사 접종국의 돈육 수입을 중단할 계획에 있으며 2002년 일본의 HACCP 전면도입으로 2001년을 기점으로 모든 수출국에 대해 HACCP를 적용하여 생산되는 식육에 대해서만 수입할 예정에 있고 원료육의 원산지표시가 의무화되는 등 향후 돼지고기 수출은 매우 불투명한 것이 현실이라 할 수 있다.

결국 최근의 국내시장은 수입돼지고기의 품목다변화와 함께 기존의 삼겹살에 국한된 수입육과의 경쟁에서 총체적인 경쟁체제로 접어들었으며 최악의 경우 대일 돼지고기 수출중단이라는 상황에 처해있다. 이러한 상황을 슬기롭게 극복하는 길은 돈콜레라의 근절대책은 물론이고 고급냉장 브랜드육으로 수입육과 경쟁하는 길밖에 없으며 HACCP에 대비한 국내 수출용 도축가공시설 개선에 최선의 노력을 다하여야 할 것이다.

다. 돼지고기 브랜드 육의 현황

돼지고기 브랜드는 1992년 (주)퓨리나코리아가 '린포크'를 출시하면서 본격적인 돼지고기 브랜드 육 시대가 시작되었다. 이후 브랜드 육은 빠르게 그 시장을 형성하여, 현재는 생산자, 육가공업체, 유통업체, 사료회사, 자치단체에 이르기까지 대부분의 돼지고기가 각자의 브랜드를 가지고 시장에 나와있는 등 급격히 증가하고 있다. 브랜드 육이 증가한 이유는 지난 97년 7월 돼지고기 시장이 개방되면서 수입 돼지고기, 또는 다른 국내 브랜드 육과의 차별성을 부각시키고, 입맛이 고급화된 국내 소비자들의 욕구를 충족시키기 위하여 활성화되었다고 볼 수 있다.

현재까지 파악된 돼지고기 브랜드 육을 농림부에서 집계한 자료를 바탕으로 살펴보면 총 49개의 브랜드(이중 10개는 미등록)가 있으며 도별로는 경기도가 10개, 서울이 8개, 충남이 6개 순으로 많은 것으로 나타났다. 또한 이중 농·축협의 브랜드는 축협중앙회의 목우촌을 비롯하여 16개의 브랜드가 있어 돼지고기 브랜드 육을 선도하고 있는 것으로 나타났다.

<Table 5-26>에서도 나타나고 있는 바와 같이 브랜드 육은 각 지역별 개별농가, 육가공업체, 유통업체, 사료회사, 자치단체 등이 자체 브랜드화를 적극적으로 추진하면서 브랜드 육의 수와 시장규모는 계속 확대되고 있으며 돼지고기 브랜드의 사육규모는 1998년도에 약 3백만두로 추정되어 전체 사육두수 기준으로 볼 때 약 40%를 차지하는 것으로 나타났다.

<Table 5-26> **돼지고기 및 가공품의 브랜드 현황**(1999년 현재)

시·도	품목명	업 체 명	브랜드명	상표등록여부	비 고
서울(8)	돼지고기 및 가공품	축협중앙회	목우촌	특허청, 상표	
		서울축협	해피델리	〃	
		한국냉장	생생포크	〃	
		도드람유통	도드람포크	〃	
		푸리나코리아	린포크	〃	
		대주산업	장수포크	〃	
		삼보육가공	훼밀리포크	-	
		신원축산	A-젠포크	특허청, 상표	
대구(3)		우방과학	에디슨 DHA	〃	
		대구경북양돈축협	햄베소	〃	
		대구축협	크로바포크	〃	
대전(1)		서부농협	신토모크	특허청, 상표	
경기(10)		수원축협	수원축협햄	-	영업허가
		(주)대상	하이포크,	특허청, 상표	
		(주)선진	크린포크	〃	
		(주)수경유통	포비코프	〃	
		안양축협	안스	〃	
		신양양돈	청정포크	-	
		참 돈	(주)두리식품	특허청, 상표	
		안성맞춤	바른터	〃	
		풍미유통	풍미포크	〃	
		도드람양돈축협	도드람3	〃	
강원(2)		삼보육가공	치악산 포크	-	
		철원축협	철원청정육	특허청, 상표	
충북(3)		(주)성신	삼청돈육	〃	
		(주)화인	화 인	-	
		알프스식품	알프스햄	특허청, 상표	

시 · 도	품목명	업 체 명	브랜드명	상표등록여부	비 고
충남(6)		대전충남양돈축협	길포크	특허청, 상표	
		(주)진주	진주햄	〃	
		논산축협	장군포크	-	
		오가농협	꿀돼지	〃	
		연기축협	바로포크	-	상표의장심사
		부천산업	코람	특허청, 상표	
전북(2)		부광산업	부광	〃	
		한주산업	린포크	-	
전남(1)		천하통상	천하썬	특허청, 상표	
경북(3)		고령축협	가야그린포크	〃	
		풍국식품	미그린포크	〃	
		우강산업	팀포크	-	
경남(5)		대성식품	바이탈포크	특허청, 상표	
		부광유통	영포크	〃	
		우리농산	아라한포크	-	
		(주)일진	윈포크	특허청, 상표	
		부산경남양돈축협	포크벨리	-	상표출원
제주(5)		제주양돈조합	꿈돌이포크	특허청, 상표	
		남 제주축협	제주촌	-	상표출원
		탐라유통	한라산도야지	특허청, 상표	
		충세농장	도뚜리	-	
		(주)삼원	삼다포크	특허청 상표	

초기의 브랜드 육 시장은 유통업자와 소비자의 인지도 부족으로 대형백화점 중심으로 유통되었고 가격이 일반 육에 비해 10~20% 가량 비싸게 공급되면서 일반 유통업자나 소매점에서 브랜드 육을 취급함에 어려움이 있었다. 이후 대형 브랜드 업체들의 꾸준한 홍보와 국내외적으로 위생문제가 강조되면서 소비자들이 일반 육보다는 브랜드 육이 믿고 살 수 있다는 신뢰를 바탕으로 점차 그 시장이 일반 육 시장보다 확대되고 있다. 또한 대

형할인점들이 대거 등장해 이들의 판매량이 급속도로 커지면서 일반 소비자들은 물론이고 외식업체들도 할인점 등을 통해 고기를 공급받고 있는데 이들 모두 일반 육의 판매보다는 몇 개의 브랜드 육을 취급하거나 자체 OEM 브랜드 육을 판매하고 있다.

한편 돼지고기 브랜드 업체들은 식육시장을 통해 1차 가공으로 정육을 매장으로 납품하는 것은 소비자에게 접근하는데 한계가 있다고 보고, 자사의 브랜드를 홍보하고 소비자에게 빠르게 다가가기 위해 외식산업에 진출하고 있다. 이는 자체 브랜드의 판매기반을 강화하는 동시에 브랜드의 인지도를 높이기 위한 시도로 풀이된다. 그리고 브랜드업체들이 외식산업으로 그 시장을 확대하고 있는 또 다른 이유는 부가가치가 그만큼 높기 때문이다. 예를 들어 삼겹살의 경우 1차 가공으로 유통업체나 매장 등지로 납품할 때나 직접 매장을 운영하면서 판매할 경우보다 ㎏당 1천원 이상의 부가가치를 얻을 수 있는 것으로 알려지고 있다. 현재 신규로 브랜드 사업에 뛰어든 업체들이 외식산업과 백화점이나, 할인점 등지에서 시식회를 지속적으로 벌이는 것은 소비자들과 가장 근거리에서 만날 수 있고, 브랜드에 대한 이미지 제고와 직접적인 소비자와의 현장 대면을 통해 자사 브랜드에 대한 평가를 습득하는데 많은 노력을 기울이고 있다. 또한 정부에서도 위생적인 측면과 국내 식육시장을 국제 경쟁력이 갖출 수 있도록 축산물종합처리장을 중심으로 한 프랜차이즈 사업과 브랜드업체를 중심으로 자체 브랜드 프랜차이즈 사업을 적극적으로 지원하고 있어 점차적으로 그 시장은 확대되고 있다.

또한 브랜드 육이 많이 생기면서 선발 브랜드메이커들이 차별화와 다변화 전략의 일환으로 지난 1996년부터 본격적인 기능성 돈육브랜드를 소비자에게 선보였다. 이 기능성 돈육들은 ‘오메가3 지방산이 다량 함유된 제품’으로 인식되었고, 이 오메가3 지방산중 DHA성분이 각종 성인병과 성장기 어린이의 두뇌발달에 좋은 영향을 미치는 것으로 알려져 한때 기능성 식품이 아니고선 판매할 수 없을 정도로 붐을 탄 적이 있다. 그러나 이들

기능성 브랜드는 기존의 브랜드에 비해 생산원가 등의 이유로 기존의 브랜드보다는 약 10%, 일반 육 보다는 20%정도 고가로 판매가 되었으나, 소비자들의 인식부족과 유통업체나 외식업체들이 사용을 꺼리면서 그 당시 예측되었던 브랜드시장 외의 새로운 시장 형성이라기보다는 브랜드 육 시장과 겹쳐서 형성이 되어 브랜드의 차별화보다는 다변화에 그 의미를 둘 수 있다. 현재까지도 새로이 브랜드에 참여하는 업체나 단체들이 기능성을 내세우는 성향이 많다.

라. 개발제품의 HACCP 적용방안

최근 돼지고기뿐만 아니라 일반 식육과 관련하여 소비자들의 주된 관심사는 양에서 질 그리고 안전성으로 변화되고 있다. 벨기에산 돼지고기의 다이옥신 파동을 예로 들지 않더라도 이미 선진국에서는 고기에 존재하는 항생제나 성장촉진제 등의 잔류물질, 중금속 등 농약 오염 등에 대한 소비자들의 불만은 식육안전 보증에 대한 요구를 증대시켜 국가적으로 식육생산의 전 과정에서 안전성 확보를 위한 노력을 경주하게 하였으며 이러한 노력의 결과가 HACCP제도라 할 수 있다.

특히 식육안전은 더 이상 도축장이나 가공공장에서 위생적으로 공정을 수행하는 것만으로 해결되는 것이 아니며 가축 생산 단계에서부터 도축, 가공, 유통, 저장 및 소매, 단체급식 등 모든 단계에서 발생될 수 있기 때문에 총체적인 품질 보증프로그램을 수립하여야 한다. 특히 양돈산업에 있어서는 돼지고기의 항생제 및 항균제의 잔류량이 크게 문제되고 있는 바 본 연구에서는 천연항생제를 통한 해결방안을 제시하였다.

<Table 5-27> 돈육내 항미생물제제의 잔류분석 결과

구분	휴약기간	잔류량 (㎎/kg)	외국의 휴약기간 및 잔류기준
테라마이신	0일 5일 9일	0.006 - -	휴약기간:5일(일본) 잔류허용기준: 한국, 미국, 일본(0.1㎎/kg)
타이로닌	0일 5일 9일	0.025 0.020 0.025	휴약기간:0일(미국,유럽), 3일(일본) 잔류허용기준: 한국, 미국, 일본(0.2㎎/kg)
설파치아졸	0일 9일	0.011 0.006	휴약기간:7일(미국) 잔류허용기준: 일본(0.05), 한국, 미국(0.1)

자료 : 축산기술연구소, 1992

즉 테트라사이클린, 페니실린과 스트렙토마이신과 같은 항생제의 약 30 여가지가 가축에게 사용가능하게 미국 FDA에 의해 승인되어 있지만 이러한 항생제의 남용으로 균종들의 다양성 또한 발생하여 항생제의 효과를 줄이고 있다. <Table 5-27>은 돈육내 항생물질 등의 잔류물질을 검사한 결과로 이와 같이 테라마이신, 타이로신, 설파치아졸의 경우 휴약 기간을 지켜주면 돈육 중 잔류수준은 그리 높지 않지만 양돈농가에서 동물용 의약품이 무분별하게 사용되고 있는 것이 현실이다. <Table 5-28>에 나타나 있는 바와 같이 휴약기간 불준수가 54.4%로 절반 이상을 차지하고 있으며 불법약제 사용이 27.3%로 이 두 가지가 80% 이상을 차지하고 있다. 따라서 항생물질 잔류를 원천적으로 해결할 수 있는 방안은 본 연구와 같이 천연항생물질로 대체함으로써 해결 가능함을 확인할 수 있다.

<Table 5-28> **식육 중 항균물질 잔류발생의 주요원인**

구분	휴약기간 불준수	불법약제 사용	사료오염	사양관리 불량	계
비율	54.4%	27.3%	9.1%	9.1%	100%

마. 개발제품의 마케팅 전략

현재 유럽공동체에서는 항생제 내성에 관하여 논란이 되고있는 성장촉진용 항생제를 가축 사료에 전면 사용을 금지시키는 법안이 통과중에 있다. 스웨덴에서는 이미 12년 전에 이를 시행하고 있으며 덴마크는 항생제 사용 농가에 대하여 벌금을 부과하고 있다.

결국 앞으로는 돼지고기의 수출과 내수 모두에 있어서 이제는 양과 가격이 아닌 품질과 안전성으로 승부 해야 하는 시대가 되었으며 그에 대한 준비를 철저히 해야할 것으로 판단된다. 즉, 최종소비자가 신뢰하지 않는 식육은 아무리 가격이 저렴하더라도 앞으로는 살아남기 힘들며 소비자가 원하는 제품을 적시에 적량 공급할 수 있는 체제로 전환되어야 함을 의미한다. 소비자가 국내산 돼지고기의 품질과 안전성을 믿지 못한다면 국내의 돼지고기 시장도 수입냉장 육에 경쟁력을 상실할 것이다. 따라서 지금까지 판매되고 있는 기능성 브랜드 육에 더하여 품질과 안정성에 중점을 둔 브랜드 육을 생산해야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서 수행한 복합 첨가제는 HACCP의 대비는 물론 분뇨처리 문제, 그리고 품질과 안정성 지향의 소비자 요구를 충분히 만족시키고 있다고 판단되며 다음과 같은 점을 고려한 마케팅 전략이 필요하다고 판단된다.

○ 전 세계적으로 항생제의 남용에 대한 위기감이 확산되고 있으며 최종소비자들 역시 이러한 식육에 대한 구매를 기피하고 있다는 사실을 농가

와 소비자 모두에게 적극적으로 홍보할 필요가 있다.

○ 본 연구에서 개발 중에 있는 복합 첨가제를 사용한 농가의 돈육을 브랜드화 하는데 필요한 제반 요소를 명확히 하고 기존의 브랜드화 된 사례를 중심으로 장단점을 충분히 분석할 필요가 있다.

○ 복합 첨가제의 사용에 따른 생산비 증가와 판매비를 중심으로 세부적인 손익분기분석을 도출하고 계속적인 판로를 확보하며 그에 대한 물량을 공급할 수 있는 종합적인 대책을 수립하여야 한다.

○ 일본의 돈콜레라 문제와 관련하여 대일 수출중단에 대비하고 내수시장에서의 수입 냉장 육에 대응할 수 있는 전략을 수립할 필요가 있다.

○ 복합 양돈첨가제를 급여한 냉장브랜드돈육이 가격경쟁력 면에서는 수입 냉장 육에 뒤지지만 가장 중요한 안정성 면에서 우위를 차지하고 있다는 점을 적극 홍보하고 신선도가 중요한 변수로 작용하는 냉장 육의 경우 유통기한이 짧아야 한다는 점을 마케팅의 기본 전략으로 세워야 할 것이다.

○ 소비자들의 반응과 의향을 구체적으로 파악하기 위하여 부가적인 소비자 앙케이트 분석을 통하여 연령별, 성별, 선호부위별에 대한 다각적인 분석을 수행하고 이에 대처할 수 있는 전략을 수립하여야 한다.

4. 결 론

냉장돈육의 수입자유화와 IMF의 영향 속에서도 국내 돼지고기 산업은 일본을 중심으로 한 수출의 증가로 성장을 계속하여 왔다. 그러나 일본이 돈콜레라 청정화 선언이후 돼지콜레라 예방주사 접종국의 돈육 수입을 중단할 계획에 있으며 2002년 일본의 HACCP 전면도입으로 2001년을 기점으로 모든 수출국에 대해 HACCP를 적용하여 생산되는 식육에 대해서만 수입할 예정에 있고 원료 육의 원산지표시가 의무화되는 등 향후 돼지고기 수출은 매우 불투명한 것이 현실이라 할 수 있다.

이러한 상황을 슬기롭게 극복하는 길은 돈콜레라의 근절대책은 물론이고 고급냉장 브랜드 육과 HACCP제도의 도입으로 안전한 돼지고기를 생산하여 수입냉장 육과 경쟁은 물론 계속적인 수출의 추진이라 말 할 수 있다.

본 연구결과 복합 양돈첨가제를 급여한 양돈을 브랜드 육으로 상품화할 경우 두당 최저 15,318원에서 최고 52,468원의 농가 소득 증가가 있는 것으로 분석되었다. 복합 양돈첨가제를 통한 브랜드 육의 개발은 양돈농가의 소득증대뿐만이 아니라 최근 문제가 되고 있는 항생제의 남용을 방지하여 돈육 중 항생물질의 잔류를 근본적으로 제거함으로써 소비자가 요구하는 품질과 안전성을 동시에 만족시킬 수 있다고 판단된다. 따라서 수입냉장 육에 대하여 품질의 우위성을 통한 경쟁력을 가질 수 있으며 HACCP에도 대처함으로써 돈콜레라 문제만 해결된다면 대일 수출에도 큰 영향이 없을 것으로 판단된다.

본 연구가 2002년 축산물의 전면 수입자유화에 대비한 국제경쟁력 향상의 한 방향을 제시하였다고 판단되며 앞으로 이러한 연구가 계속됨으로써 국내 축산이 발전될 수 있는 원동력이 되기를 바란다.

5. 참고 문헌

기광석 외, 사육규모와 돈사유형별 경영성과 분석, 한국축산경영학회지, 15권 1호

김강식, 국내 냉장육 시장현황과 전망, 양돈연구, 1999. 1.

김인호, 사료공장에서의 HACCP 적용방안, 월간양돈, 1999. 9.

김일석, 뉴 밀레니엄 시대의 돼지고기 수출전략, 월간양돈, 2000. 1.

농촌진흥청 농업경영관실, 능가경영실태조사, 1999.

미트저널, 돼지고기 시장환경과 보완대책, 1999. 7.

성진근 외, 농산물 신물류 혁명, 농민신문사, 1997. 9.

송금찬, IMF 이후 우리나라 양돈산업의 변화와 미래, 양돈연구, 1999. 8.

이무하, HACCP**의 의미와 역사적 추진배경**, **월간양돈**, 1999. 9.
이상렬, **돼지고기 브랜드육의 현황과 유통현황**, **월간양돈**, 1999. 4.
축산기술연구소, **돈육내 항미생물제제의 잔류분석**, 1992
축협중앙회, **축산물가격 및 수급자료**, **각년도**