(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년12월17일
(11) 등록번호 10-0932474
(24) 등록일자 2009년12월09일

(51) Int. Cl.
A23K 1/14 (2006.01) *A23K 1/18* (2006.01)
A23K 1/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0019074
(22) 출원일자 2008년02월29일
심사청구일자 2008년02월29일
(65) 공개번호 10-2009-0093518
(43) 공개일자 2009년09월02일
(56) 선행기술조사문헌
상업용 시판사료를 이용한 스텔렛 철갑상어, acipenser ruthenus 미성어에 대한 마늘 추출액 성장효과/한국양식학회 06 수산관련학회 공동학술대회 발표요지집, 2006
KR100760983 B1*
KR1020060039042 A*
JP60049748 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경기도
경기도 수원시 팔달구 매산로3가 1
(72) 발명자
김기호
경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기연구소
이동훈
경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기연구소
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
권형중, 김문재, 이종승

전체 청구항 수 : 총 1 항 심사관 : 권오희

(54) 마늘 추출물을 포함하는 철갑상어용 사료 조성물

(57) 요 약

본 발명은 마늘 추출물을 포함하는 철갑상어용 사료 조성물에 관한 것이다.보다 상세하게는 성장 촉진, 당 대사 조절 및 이온 조절에 효과적인 마늘(garlic) 추출물을 유효성분으로 포함하는 철갑상어용 사료 조성물에 관한 것이다. 이에 의해 다른 어종의 사료를 이용한 철갑상어 양식에 있어서 성장촉진, 당 대사 조절 및 이온 조절에 효과적인 철갑상어 전용 사료로 양식 생산성을 높이고 경제적 향상에 기여 할 수 있다.

(72) 발명자

홍성열

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

한정조

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

임성률

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

최지성

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

정재식

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

이찬송

경기도 양평군 용문면 광탄리 237 경기도민물고기 연구소

이상우

경기도 수원시 영통구 영통동 97-1 롯데 아파트 946동 310호

김정대

강원 춘천시 효자2동 192-1 강원대학교 동물생명과학대학동물생명시스템전공

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

99 부피% 알코올로 추출된 마늘(garlic) 추출물 0.1 ~ 1 중량%를 유효성분으로 함유하는, 스텔렛 철갑상어의 해수 순치용 사료 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

<1> 본 발명은 마늘 추출물을 유효성분으로 포함하는 철갑상어용 사료 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

<2> 철갑상어는 1억 5천만년 전부터 출현한 가장 오래된 척추동물의 하나로 대부분 연질성의 뼈를 가지고 있으며, 방추형의 모습을 나타낸다. 철갑상어의 종류는 2006년 기준으로 철갑상어과 (Acipenseriade)에 4속(Acipenser, Huso, Scaphirhynchus, Pseudoscaphirhynchus) 26종이 분포하고 있으나, 점점 멸종되어 가는 종이 증가하고 있다. 국내에서는 서식 보고가 3종류(중국철갑상어. Acipenser sinensis, 칼상어. Acipenser dabryanus, 용상어. Acipenser medirostris)로 기록되어 있으나, 현재(2008년)는 멸종된 것으로 추정된다. 이에 의하여 세계적으로 멸종되어가는 철갑상어의 자원회복 및 남획을 막기 위하여 CITES(Convention on international Trade in Endangered species of wild Fauna and Flora)에서 국제적 멸종 위기 동·식물로 부속서 Ⅱ급에 지정하였다.

<3> 철갑상어 양식은 1950년대 구소련에서 인공종묘생산기술 등이 처음 시도되어 시작되었으며, 국내에서 양식을 목적으로 한 철갑상어 이식은 1996년 전남 구례에 소재한 섬진강 양어장이 일본에서 베스테르를 이식한 것이 최초이다. 이 후 소수 연구기관 및 양식업자들의 이식사례를 볼 수 있다.

<4> 철갑상어 양식기술은 크게 4가지 측면에서 분석된다. 첫 번째는 인공종묘생산기술 분야로서 부화율을 높여 생산성의 향상에 기여하고자 발전하였다. 현재 알의 점액질을 제거하여 부화시키는 병부화기(MacDonald-style)를 많

이 사용하고 있다. 또한, 점액질 제거방법 중 Fuller's earth와 탄닌, 우유 등을 일정한 비율과 순서에 맞게 사용하는 방법이 가장 좋은 것으로 알려져 있다.

<5> 두 번째는 빠른 성장을 유도하여 캐비어 생산시기를 단축하는 기술이다. 세계 철갑상어 양식국가에서는 오래전부터 철갑상어 전용 사료를 개발하여 양식하고 있지만, 국내에서는 철갑상어양식이 활발하지 못해 전용사료가 없는 실정이다. 어류의 성장은 환경적인 요인도 중요하지만 영양적인 면도 중요하고, 철갑상어의 성숙은 연령 및 체중에 비례하여 알을 가진다. 보통 8kg이상의 어미에게서 알을 채취할 수 있는데, 이 시기까지 빠른 성장을 유도할 수 있는 사료가 개발되어야 할 것이다.

<6> 세 번째는 캐비어를 생산하는 암컷의 선별기술과 전 암컷의 생산기술이다. 철갑상어는 암컷과 수컷의 구별이 산란시기를 제외하면 구별이 쉽지 않다. 해외 논문에 의하면 유전자 분석을 통해 암컷 형질의 특성을 규명하여 초기구별을 연구하고 있으며, 전 암컷의 생산기술도 발전 중이다.

<7> 네 번째는 효율적 경영방식의 확립이다. 이는 장기간의 효과분석이 선행되어야 할 부분으로 미국의 white 철갑상어의 경우 40년 이상 양식하고 있는 농장에 대해 경영성 파악을 실시하고 있으며, 보다 나은 경영 방향을 위하여 노력하고 있다. 수컷의 출하시기 및 1년간 캐비어 생산량 파악, 손익분기점의 파악, 투자시기, 새로운 시설 도입시기 등을 분석할 수 있는 전문 경영인의 양성 또한 필요한 부분이다.

<8> 국내의 어류 소비 경향은 주로 회로 판매 및 소비되고 있으며 횟감의 색상 및 육질은 중요한 회의 맛을 좌우하는 요인으로 이를 향상시키기 위해서는 사료의 이용성을 높이는 것도 하나의 방법일 것이다. 어류양식에 있어 인공사료(펠렛 형태)의 이용은 영양학적으로 아직 완벽하지 못해 지속적인 연구개발 중에 있으며, 또한 사료첨가제(비타민제, 복합영양제)의 이용도 증가되고 있다. 철갑상어의 전용사료가 없는 현실에서 다른 어종의 사료를 이용할 수밖에 없으므로 적절한 사료 첨가제를 이용하여 철갑상어의 성장을 향상시켜 경제적인 양식을 도모해야 한다. 따라서 고부가가치 양식 산업으로 전망되는 철갑상어 양식에 있어 성장향상을 위한 사료첨가제의 일종으로 마늘 추출액을 개발하여 양식생산성을 높이고 경제성향상에 기여하고자 한다.

<9> 최근 어류양식에 있어 면역증강물질 및 성장촉진 물질이 사료내 혹은 사료첨가제 형태로 널리 이용되고 있다. 마늘은 인간과 동물에 있어서 항산화 효과, 항미생물 효과, 고혈압억제 특성 등이 보고되어 있으며[Konjufca et al., 1997; Sivam, 2001], 혈청내 콜레스테롤 저하[Augusti, 1977]와 혈액 생성에 도움을 주는 것으로 알려져 있다[Bordia et al., 1975]. 육상 가축의 경우에서도 마늘은 성장과 소화능력 개선을 위해 사용되고 있으며[Amagase et al., 2001], 아직은 논란의 여지가 있으나 사료내 마늘의 공급은 동물의 면역체계에 영향을 미침으로써 이러한 효과를 나타내는 것으로 제안하고 있다[Chen et al., 2007]. 또한, 마늘 추출액은 North Dakota 지역 blackbird의 구충제로써 이용되고 있다[Russell Mason and Linz, 1997]. 인도의 경우 'Lasan'으로 불리우며 수 천년 동안 의학적인 식물로 민간요법에서 사용되고 있으며, 인도 잉어라 불리우는 *Labeo rohita*의 경우 마늘을 첨가한 사료를 섭취 했을 때 혈액조성 중 글루코즈의 저하와 면역능력 증가 및 생존율이 향상된 보고가 있으며 (Sahu et al., 2007), 어류내 항미생물 활성이 증가함이 보고되었다 (Sahu 2004). 틸라피아의 경우 성장촉진물로써 증체량, 사료효율, 사료섭취 증가의 효과가 있고 또한 세균에 광범위한 억제작용이 있음이 보고되었다[Diab et al., 2002, Shalaby et al., 2006]. 마늘은 어류의 성장 향상 뿐만 아니라 *Chrysichtys auratus*의 경우 인슐린의 증가와 탄수화물 대사과정의 향상으로 사료내 단백질 비용을 절약할 수 있을 것으로 보고하고 있다 [Al-Salahy and Mahmoud, 2003]. 이러한 기능은 주로 마늘의 황함유 복합물 (alliin, diallysulphides and allicin)에 의한 것으로 제안하고 있다 [Amagase et al., 2001]특히, thiosulfinates (R-S-S (O)-R) 유기 황화합물이 풍부하며 [Block, 1992], Allicin은 thiosulfinates의 70% 이상을 차지한다 [Han et al., 1995].

<10> 따라서, 본 발명자는 국내 철갑상어 양식의 전용사료 개발을 연구하게 되었고, 기존 시판 상업사료(CD)를 이용함에 있어 더욱 효율적인 사용을 위하여 과학적 근거를 바탕으로 마늘 추출액을 첨가 및 급여하는 방법을 개발하고자 하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<11> 본 발명의 목적은 마늘(garlic) 추출물을 유효성분으로 포함하는 어류용 사료 조성물을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

<12> 상기의 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 성장 촉진에 효과적인 마늘(garlic) 추출물을 유효성분으로 포함하는 어류용 사료 조성물을 제공한다.

<13> 또한, 본 발명은 당 대사 조절에 효과적인 마늘(garlic) 추출물을 유효성분으로 포함하는 어류용 사료 조성물을 제공한다.

<14> 또한, 본 발명은 이온 조절에 효과적인 마늘(garlic) 추출물을 유효성분으로 포함하는 어류용 사료 조성물을 제공한다.

<15> 상기 사료 조성물은 민물고기용으로 사용하는 것이 바람직하고, 철갑상어용으로 사용하는 것이 보다 바람직하나 이에 제한하지 아니한다.

<16> 상기 철갑상어는 시베리아 철갑상어, 스텔렛 철갑상어, 베스테르 철갑상어 등의 종류 중 스텔렛 철갑상어가 가장 바람직하나 이에 제한하지 아니한다.

<17> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

효 과

<18> 상기한 과제 해결 수단에 의한 본 발명에 따르면, 혈지 혈당강하 작용, 심혈관 시스템 작용, 정액생성촉진 작용, 병원미생물억제 작용, 노쇠방지 작용, 피부연화 및 자외선 차단 작용, 면역력 작용, 혈소판 결집방지 작용, 항암작용, 해독 및 방사저지 작용에 효과적인 마늘 추출물을 이용한 사료 조성물이며, 철갑상어의 성장 촉진, 당 대사 조절 및 이온 조절 능력에 유용하다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<19> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<20> **실시예**

<21> **실시예 1: 철갑상어용 마늘 추출액의 제조**

<22> 유리용기에 일반 시중에서 구입한 마늘 분말(㈜ 정신물산) 2 kg을 20 ℓ 알코올 (99%)에 48시간 침지한 후 상등액을 사이펀(SIPHON) 방법에 의하여 분리하였다. 분리 후 회전증발농축기로 농축하고, 사료흡착기를 이용하여 물과 희석하여 시판용 상업사료 (애그리브랜드 퓨리나)에 흡착하였으며, 사료건조기(자체제작)로 수분 및 알코올을 제거하여 본 발명에 따른 철갑상어용 마늘 추출액을 포함한 사료를 완성하였다.

표 1. 상업사료와 마늘 추출액을 포함한 상업사료의 비교

	상업사료(CD)	CD + 마늘 추출액 (GE: 0.5중량%)
사료 중량	20kg	20kg
최종 농축한 마늘 추출액	(0 / 300ml)	(100 ml / 300ml)
물의 비율	0	400ml

<23>

<24> **실시예 2: 철갑상어용 마늘 추출액을 포함한 사료의 효능 실험**

<25> **<2-1> 성장향상 실험**

<26> 부하 후 6개월간 성장한 스텔렛 철갑상어 치어를 이용하여 실험하였으며, 그 결과는 표 2과 같다.

표 2. 실험의 디자인

	실험 디자인	
	CD	CD + GE
온도 (℃)	18±1	18±1
양육 탱크 면적 (m^2)	0.54	0.54
양식된 어류의 수	20	20
반복 횟수	5	5
[1]반복된 탱크 체중 (g) (n=5, 평균±SE)	59.4±1.1	60.1±0.5
사료 비율(% 체중$^{-1}$)	2	2

<27> [1] 5회 반복한 20개 어류의 평균 무게의 합 / 5 (반복 횟수)

<28> 성장향상 실험에 사용된 사료조성은 표 3과 같다.

표 3. 상업사료와 마늘 추출액을 포함한 상업사료의 조성

	[1]사료	
	CD	CD + GE
건조 성분(%)	90.8	93.1
단백질(%)	52.6	50.9
지방 (%)	9.7	8.9
회분 (%)	9.7	10.2

<29> [1] 사료는 해양 어류 배합 사료 [참조: Cargil agri Purina, Ltd., Korea, EEGJ30003.]

<30> 성장실험의 경우 마늘 추출액을 첨가한 사료에 의한 체중증가(WG)는 51.1%로 상업사료에 의한 체중증가보다 스텔렛 철갑상어의 성장에 4.7% 유리하였다(표 4).

표 4. CD급여 및 GE를 포함한 CD급여의 비교 - 기간 (5주)[1]

	CD	GE
초기 평균 무게(g)	59.6 ± 5.38	60.1 ± 5.10
최종 평균 무게(g)	85.5 ± 13.49	91.2 ± 10.02
WG (%)[2]	46.4 ± 3.61	51.1 ± 1.09*
FE (%)[3]	66.9 ± 4.48	76.9 ± 1.55*
PER [4]	1.27 ± 0.08	1.51 ± 0.09*
SGR (%)[5]	1.09 ± 0.07	1.18 ± 0.02*
HSI [6]	2.27 ± 0.20	2.09 ± 0.19
생존율 (%)	100	100

[1] 5회 반복된 군의 평균 값은 평균± S.D(표준편차)로 나타냄.
* 상당한 차이를 보임($p < 0.05$).
[2] WG (%) = 체중 증가(weight gain, %): (최종 평균 체중 – 초기 평균 체중)/(초기평균체중)×100.
[3] FE (%) = 사료 효율(Feed efficiency): 습식(wet) 체중 증가/건조 사료 섭취
[4] PER = 단백질 효율비(Protein efficiency ratio): 습식 체중 증가/단백질 섭취
[5] SGR (%) = 특정증식율(Specific growth rate): [(최종무게– 초기무게)/일(days)] ×100
[6] HSI = 간 중량지수(Hepatosomatic index): (간 무게×100 / 체중)

<31>

<32> 또한, 상기 실험 후 중량이 비슷한 5마리를 3군으로 묶어서 분석하였다. 마늘을 첨가한 사료의 단백질 보유효율(PRE)이 20.5%, 지방 보유효율(LRE)이 78.41%로 상업사료에 의한 보유효율에 비하여 증대하였다. 반면 회분 보유효율(ARE)의 경우 15.9%로 다소 줄어드는 경향이 나타났다 (표 5).

표 5. 5주[1] 동안CD 및 마늘 추출액(GE)을 포함하는 사료를 먹는 어린 스텔렛 철갑상어의 ARE, LRE, PRE 및 근사분석.

		사료	
	초기 상태	CD	GE
반복 횟수	3	3	3
어류의 수 / 1회당	5	5	5
어류 평균 무게(g)	297.5±7.64	468.5±3.61[ns]	471.5±4.95
수분 (%)	78.5±0.31a	77.2±0.24a	77.2±0.23a
단백질 (%)	13.8±0.14a	13.1±0.24b	13.1±0.25b
지방 (%)	4.8±0.39b	5.35±0.39b	6.09±0.32a
회분 (%)	2.9±0.11a	3.0±0.13a	2.51±0.23b
PRE (%)[2]	-	18.1±0.32	20.5±1.4*
LRE (%)[3]	-	46.6±14.7	78.41±12.04*
ARE (%)[4]	-	22.3±7.6	15.9±4.9

[1] 3회 반복된 군의 평균 값은 평균 ± S.D로 나타냄.
* CD 및 GE 군 사이에 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).
각 줄의 같은 문자는 두드러지지 않는 차이를 나타냄(초기상태, CD, GE) ($p > 0.05$).
[2] PRE (%) = 단백질 보유 효율(%): {[최종 단백질 함량(g)]-[초기 단백질 함량(g)]}/건조 단백질 섭취(g)×100.
[3] LRE (%) = 지방 보유 효율 (%): {[최종 지방 함량(g)]-[초기 지방 함량(g)]}/건조 지방 섭취(g)×100
[4] ARE = 회분 보유 효율(%): {[최종 회분 함량(g)]-[초기 회분 함량(g)]}/건조 지방 섭취 (g)×100

<33>

<34> 또한, 전어체의 분석 결과 지방산 조성에 있어 EPA(C22:6n-3)와 DHA(C20:5n-3) 등 유용한 불포화 지방산이 마늘

첨가군에서 높게 나타났다 (표 6).

표 6. 5주 동안CD 및 마늘 추출액(GE)을 포함하는 사료를 먹는 어린 스플랫 쥘갑상어의 지방산 비교(단위: 면적 %)

	사료		
지방산	초기	CD	GE
C14:0	4.70±0.604a	4.15±0.675ab	3.86±0.071b
C14:1	0.17±0.011a	0.14±0.019b	0.14±0.001b
C15:0	0.65±0.0452a	0.53±0.081b	0.50±0.006b
C15:1	0.095±0.064a	0.07±0.006b	0.07±0.001b
C16:0	24.89±0.032a	22.48±1.293b	21.32±0.196b
C16:1	6.80±0.182 [ns]	6.70±0.504	6.43±0.016
C17:0	0.39±0.029a	0.32±0.041ab	0.29±0.013b
C17:1	0.47±0.01 [ns]	0.35±0.251	0.40±0.052
C10:0	3.40±0.041a	3.06±0.274b	2.59±0.136c
C18:1n-0	30.05±1.331a	29.26±0.805a	26.80±0.474b
C18:2n-9	12.41±0.111c	13.41±0.031b	13.99±0.088a
C18:3n-6	0.32±0.072ab	0.26±0.053b	0.41±0.071a
C18:3n-9	0.99±0.223c	1.33±0.190b	1.53±0.015a
C20:1	3.26±0.080 [ns]	2.98±0.318	2.68±0.001
C20:2	0.90±0.010b	0.98±0.030a	0.98±0.001a
C21:0	0.78±0.054b	0.96±0.171b	1.14±0.026a
C20:5n-3	2.14±0.069c	3.28±1.088b	4.23±0.141a
C22:1	1.29±0.153a	0.89±0.461ab	0.52±0.200b
C24:0	1.0±0.096c	1.52±0.475b	1.96±0.015a
C22:6n-3	5.21±0.247b	7.31±2.907b	10.16±0.305a
SFA[2]	35.89±0.843a	33.02±1.719b	31.67±0.308c
MUFA[3]	42.14±1.375a	40.39±2.353a	37.04±0.312b
PUFA[4]	21.97±0.531b	26.59±4.070b	31.29±0.619a

[1] 3회 반복된 군의 평균 값은 평균±S.D로 나타냄.
각 줄의 다른 문자들은 상당한 차이를 나타냄(초기, CD, GE) ($p < 0.05$).
[2] 포화 지방산
[3] 단일 불포화 지방산
[4] 고도(poly) 불포화 지방산

<35>

<36> **<2-2> 당 대사조절 및 혈액 분석 실험**

<37> 부하 후 6개월간 성장한 스텔렛 철갑상어 치어를 이용하여 실험하였으며, 그 결과는 표 7과 같다.

표 7. 실험의 디자인

	CD	CD + GE
온도 (℃)	20±1	20±1
양육 면적(m^2)	12.56	12.56
양식된 어류의 수	300	300
체중 (g), (n=20, 평균±SD)	56.55±19.20	56.55±19.20
[1]체중(g), (n=5, 평균±SE)	57.60±7.89	56.40±7.70
적응 기간(일)	23일	23일
사료 비율 (% 체중$^{-1}$)	5	5

[1] 5 회 반복된 30개 어류의 평균 무게의 합 / 5 (샘플 시간)

<38>

<39> 24시간 절식한 다음 마늘 추출액(GE)이 포함된 사료를 급여한 군에서는 1시간까지 글루코스의 농도가 저하 되다가 이 후 대조군에 비하여 빠른 증가를 보였으며, 12시간 이후 최대치에 도달하였다. 후속하여, 대조군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다. 또한, 인슐린의 농도 분비에서도 식전과 급여한 1 시간까지 대조군에 비하여 분비가 증가하였으며, 12시간에는 큰 차이를 나타내지 못했다. 이러한 것은 사료내 마늘 추출액 첨가가 당 대사 조절에 영향을 미치는 것을 시사한다 (표 8).

표 8. 조절기간(23일)동안 적응을 거친 스텔렛 철갑상어에게 CD급여 및 GE를 포함한 CD 급여한 상태에서의 혈당 반응

	샘플 무게 (g)		글루코스 (mg/dl)		인슐린 (μlU/ml)	
시간	CD	GE	CD	GE	CD	GE
절식 (24시간)	86.2±23.60^{ns}	82.0±11.09	82 ± 26.12a	64.8 ± 12.21abc	2.98 ± 1.13b	32.56±28.63b*
0	96.6±6.19^{ns}	90.4±14.26	62.4 ± 5.69bc	60.8 ± 9.31def*	5.06 ± 0.66a	10.56 ± 5.80b*
1	81.8±14.29^{ns}	77.0±16.57	65.4 ± 8.73bc	**40.4 ± 7.86f***	-	-
2	77.2±9.20^{ns}	73.6±14.01	67.8 ± 10.57bc	54.8 ± 10.86cde	-	-
3	68.8±7.01^{ns}	76.8±8.70	55.6 ± 10.41c	55.8 ± 3.70bcde	-	-
4	78.2±11.88^{ns}	90.2±9.62	63.0 ± 7.07bc	61.8 ± 5.89abcd	-	-
6	78.4±9.680^{ns}	80.4±17.07	69.6 ± 8.66c	68.2 ± 6.28ab*	-	-
12	95.0±3.54^{ns}	84.8±8.93	74.6 ± 9.86ab	**73.0 ± 12.14a**	2.72 ± 0.77b	**2.60 ± 1.47a**
24	93.0±10.65^{ns}	98.4±22.73	73.6 ± 12.58ab	67.6 ± 11.41bcd*	-	-
48	92.4±6.60^{ns}	91.2±6.63	60.4 ± 2.97c	44.4 ± 3.61ef*	-	-

각 값은 평균±S.D로 나타냄. (n=5).
같은 문자 표시들은 식전, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 12, 24 및 48시간 경과 동안 두드러지지 않는 차이를 나타냄($p > 0.05$).
* 표시는 CD 및 GE 군 사이에 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).
^{ns} 표시는 CD 및 GE 군의 어류 무게 사이에서 두드러지지 않는 차이를 나타냄($p < 0.05$).

<40>

<41> **가) 혈액성상 변화**

<42> 하기의 시간에 따른 혈액성상의 변화는 혈액성상의 변화는 24시간 절식 후 GE가 포함된 사료를 급여한 군과 대조군 모두 비슷한 패턴을 보였으나 이 중 전체 콜레스테롤(TCHO)과 중성지질(TG)의 경우는 일부 시간대에서 대조군과 차이를 보였다. 이는 간접적으로 지방의 이용성에 대해 마늘 추출액이 영향을 미칠 것으로 추측할 수 있다 (표 9). 또한, TCHO의 경우 장에서 소화 흡수됨에 따라 값이 상승하는데, GE가 포함된 사료를 급여한 군에

서 TCHO가 증가하였으므로 대조군에 비하여 소화 흡수능력이 높음을 알 수 있었다.

표 9. 조절기간(23일)동안 격응을 거친 스텔렛 철갑상어에게 CD급여 및 GE를 포함한 CD 급여한 상태에서의 혈장분석(Blood plasma analysis)

	샘플 무게(g)		[1]GOT (U / l)		[2]GPT (U / l)		[3]ALB (g/dl)	
시간	CD	GE	CD	GE	CD	GE	CD	GE
절식 (24h)	66.2±23.50^{ns}	82.0±11.09	300.4±17.34	307.0±22.74	72.8±4.38b	63.4±9.37b	0.36±0.05	0.48±0.08
1	81.8±14.29^{ns}	77.0±15.57	304.6±17.66	280.4±62.54	11.0±3.54d	16.6±5.59c	0.32±0.04	0.34±0.05
5	78.4±9.580^{ns}	80.4±17.07	290.6±45.77	321.0±53.87	13.8±4.87d	23.8±10.03c	0.32±0.08	0.38±0.08
12	95.0±3.54^{ns}	84.8±8.93	312.4±50.13	270.4±104.45	23.8±10.03c	19.2±7.98c	0.38±0.08	0.36±0.02
24	93.0±10.65^{ns}	98.4±22.73	303.6±28.08	326.8±73.08	73.6±2.70b	64.4±12.90b	0.38±0.04	0.40±0.01
48	92.4±6.50^{ns}	91.2±6.53	316.0±35.83	386.6±88.74	105.4±6.06a	113.4±28.66a	0.40±0.07	0.44±0.05

	[5]TCHO (mg/dl)		[6]TG (mg/dl)		[4]TP (g / dl)	
시간	CD	GE	CD	GE	CD	GE
절식 (24h)	48.2±6.46b	50.4±5.31b	624.8±61.81ab	779.2±103.99ab*	1.62±0.19ab	2.02±0.15ab
1	28.8±3.49d	48.4±5.07bc**	578.4±90.80a	638.0±150.61bc	1.26±0.69c	1.54±0.27c
5	28.4±2.30d	32.0±8.28d	567.2±80.08a	596.0±137.76c	1.38±0.28bc	1.66±0.36bc
12	36.4±8.20c	37.4±12.86cd	722.4±113.08ab	719.2±64.89abc	1.58±1.55bc	1.54±0.38c
24	41.6±4.28bc	50.0±7.79b	678.0±52.06ab	816.0±75.67a*	1.70±0.17ab	1.94±0.46abc
48	69.4±7.44a	69.2±9.52a	674.8±43.88b	658.4±71.88bc	1.92±0.41a	2.14±0.23a

각 값은 평균 ± S.D로 나타냄(N=5).
같은 문자 표시들은 식전, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 12, 24 및 48시간 경과 동안 두드러지지 않는 차이를 나타냄($p > 0.05$).
* 표시는 CD and GE 군 사이에 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).
^{ns} 표시는 CD 와 GE 군의 어류 무게 사이에서 두드러지지 않는 차이를 나타냄($p < 0.05$).
[1] Glutamic oxaloacetic transaminase, [2] Glutamic pyruvic transaminase, [3] Albumin, [4] Total protein, [5] Total cholesterol, [6] Triglycerides

<43>

<44> **나) 간 성분 변화**

<45> 마늘 추출액을 첨가한 사료를 급여한 군에서 대조군에 비하여 간내 지방의 축적이 높았으며, 단백질의 함량도 높았다. 그러나 간 중량 지수의 경우 마늘 추출액 첨가 급여 군에서 유의적으로 감소하였다 (표 10). 상대적인 간 무게 감소로 인하여 생리적 간 대사의 기능에 부담이 줄어들었음을 알 수 있었다.

표 10. 조절기간(23일[1])동안 적응을 거친 스텔렛 철갑상어에게 CD급여 및 GE를 포함한 CD 급여한 상태에서 간(liver)의 근사 분석

	사료		
	초기 (CD)	CD	GE
어류 샘플링수	8	10	10
어류의 무게 (g) (평균±SD)	64.87±15.13a	97.0±12.06b	101.4±22.17b
간 무게(g)	14.97	27.83	24.43
HSI[2]	2.43 ± 0.27a	2.85 ± 0.50b	2.37 ± 0.38a
<근사 분석>			
수분 %	63.8±0.34	59.8±0.01	57.1±0.53
건조 수분 %	2.29±0.10	1.00±0.00	1.52±0.35
간의 단백질 %	11.2	8.1	9
간의 지방%	23.1	27.8	30.7
간의 회분%	1	0.9	1

[1] 각 값은 평균±S.D로 나타냄.
각 줄의 다른 문자 표시는 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).
[2] HSI = 간 중량 지수: (간 무게×100 / 체중)

<46>

<47> **<2-3> 염분농도에 따른 적응분석**

<48> 부하 후 6개월간 성장한 스텔렛 철갑상어 치어를 이용하여 실험하였으며, 그 결과는 표 11과 같다.

표 11. 상업사료와 마늘 추출액을 포함한 상업사료의 비교

	CD + GE		CD	
	조절 기간	실험	조절 기간	실험
양육 면적(m^2)	3.78	6	3.78	6
양식된 어류의 수	120	90	120	90
체중 (평균±SD)	60.25 ± 5.03	91.38 ± 11.40*	59.36 ± 5.37	84.21 ± 12.69
적응기간(단위: 주)	5	3	5	3
사료 비율 (% 체중$^{-1}$)	2 (매일)	0.5 (이틀에 한번)	2 (매일)	0.5 (이틀에 한번)

<49>

<50> GE를 첨가한 사료를 급여한 군은 대조군에 비하여 생존율이 높았으며, 대조군은 염분농도 상승과 더불어 14.9ppt에서 전량 폐사하였고, GE 첨가군에서는 6마리가 생존하였으며, 14일간 사망한 개체 없이 염분에 지속적으로 생존하였다.

<51> **가)이온, 삼투압 및 코티졸 변화**

<52> 나트륨 이온 (Na^+), 칼륨 이온 (K^+), 염소이온 (Cl^-)의 경우 5.6 ppt의 염분 농도에서 마늘 추출액이 대조군에 비하여 이온 조절이 좋았으며, 이 후 염분농도의 상승과 더불어 비슷한 수준을 유지하였으나 칼륨 이온의 경우 마늘 추출액을 첨가한 군에서는 타 이온의 상승과 더불어 낮아졌으나 대조군은 일정한 패턴을 유지하지 못하였다. 삼투압과 코티졸의 경우 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이를 나타내지 못했다(표 12).

표 12. 15ppt 담수(freshwater)에서부터 기수(brackish water)까지 적응한 후 CD군여 및 GE를 포함한 CD 급여한 상태에서 Na^+, K^+, Cl^-, 오스몰랄 농도 및 코티졸의 변화

염분농도	날짜	Na^+ (mEq/L)		K^+ (mEq/L)		Cl^- (mEq/L)		오스몰랄 농도 (mOsm/kg)		Cortisol (ng/dl)	
		CD	GE	CD	GE	CD	GE	CD	GE	CD	GE
0	1	136.6±3.36b	137.2±2.94b	2.7±0.41a	2.4±0.46ab	114.8±3.11b	115.2±3.56b	269.0±5.15b	262.6±19.61b	0.21±0.02a	0.32±0.13
5.6	9	119.8±3.90a	119.0±7.56a	2.5±0.44ab	3.1±0.30a*	101.7±5.35a	100.0±7.92a	245.5±10.80a	245.3±12.49a	3.15±1.91b	3.03±1.72
12	17	170.3±4.21c	173.7±2.58c	2.6±0.33ab	2.7±0.28abc	156.5±5.43c	158.2±3.43c	344.5±8.50c	352.2±7.44c	0.73±0.85a	0.75±0.24
14.9	21	223.3±7.29d	224.5±8.38d	3.1±0.30b	2.8±0.31bc	201.2±5.12d	200.3±4.32d	449.7±13.29d	454.3±14.05d	0.47±0.34a	0.53±0.08
15	35	-	227.8±3.10d	-	2.28±0.24a	-	203.8±2.50d	-	-	-	-

각 값은 평균±S.D로 나타냄(N=6).
초기 상태(FW)와 증가된 염분(5.6, 12, 14.9, 15 ppt) 사이에서 같은 문자 표시는 두드러지지 않는 차이를 나타냄.
* 표시는 CD 및 GE 군 사이에서 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).

<53>

<54> **나) 혈액성상 변화**

<55> 마늘 추출액을 첨가한 군에서 헤마토크리트와 헤모글로빈 및 전체 콜레스테롤, 중성지질의 농도는 대조군에 비하여 일부 염분 농도에서 유의적으로 높게 나타났으나, 그 이외 혈액성상의 항목은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한, 가장 두드러지는 특징은 간수치 항목인 GPT의 경우 염분농도 14.9ppt에서 두 실험군 모두 가장 크게 감소하였으나 마늘 추출액 첨가사료의 경우 최종 생존한 치어를 분석한 결과 어느 정도 회복이 되어 있음을 알 수 있었다 (표 13).

표 13| 5ppt 담수(freshwater)에서부터 기수(brackish water)까지 적응한 후 CD급여 및 GE를 포함한 CD 급여한 상태에서 혈액분석.

염분 농도	양육 날자	[1]PCV (%)		[2]Hb (g/dl)		[3]GOT (U/l)	
		CD	GE	CD	GE	CD	GE
0	1	22±1.87b	25.4±1.67*c	10.2±0.57c	11.36±0.56c*	519.4±76.89c	519.2±112.13b
5.6	9	34.0±3.36c	31.7±4.36d	10.3±0.99c	9.13±0.92b	560.6±77.41c	498.0±40.04b
12	17	21.7±2.12b	24.5±1.05bc	7.9±0.79b	9.0±0.83b*	330.7±48.52b	316.8±43.47a
14.9	21	17.2±3.91a	18.2±3.81a	6.5±0.92a	7.5±0.50a	185.2±42.58a	226.0±198.23a
15	35		21.0±2.16ab		8.0±0.72a		332.2±11.15a

염분 농도	양육날자	[4]GPT (U/l)		[5]ALB (g/dl)		[6]TP (g/dl)	
		CD	GE	CD	GE	CD	GE
0	1	208.8±24.39c	212.2±54.39c	2.4±0.29b	2.3±0.23c	-	-
5.6	9	221.2±49.56c	217.2±24.69c	2.9±0.36c	2.6±0.32d	0.66±0.13c	0.64±0.05d
12	17	103.7±25.67b	106.7±14.04b	2.1±0.54b	2.2±0.32c	0.40±0.12b	0.40±0.06c
14.9	21	6.5±2.02a	15.1±20.53a	1.2±0.31a	0.9±0.20a	0.20±0.07a	0.15±0.05a
15	35		100.5±10.87b		1.8±0.06b		0.28±0.05b

염분 농도	양육날자	[7]GLU (mg/dl)		[8]TCHO (mg/dl)		[9]TG (mg/dl)	
		CD	GE	CD	GE	CD	GE
0	1	61.6±6.35b	50.8±4.44a*	51.6±9.84a	45.2±8.32a	640.8±123.71a	622.4±112.13b
5.6	9	97.4±16.70c	86.0±17.98b	83.8±24.47bc	70.0±16.36b	443.9±122.98a	431.2±79.22a
12	17	79.3±9.47bc	81.8±11.94b	101±15.93c	107.8±5.78c	954.6±191.44b	1064.5±200.74c
14.9	21	36.7±30.16a	55.83±24.18a	60.7±25.20ab	37.8±6.91a*	441±174.23a	281.3±56.22a*
15	35		47.8±8.77a		181.3±12.50d		606.5±19.69b

각 값은 평균±S.D로 나타냄. (N=6).
초기 상태(FW)와 증가된 염분(5.6, 12, 14.9, 15 ppt) 사이에서 같은 문자 표시는 두드러지지 않는 차이를 나타냄.
* 표시는 CD 및 GE 군들 사이에서 상당한 차이를 나타냄($p < 0.05$).
[1] Hematocrit, [2] Hemoglobin
[3] Glutamic oxaloacetic transaminase, [4] Glutamic pyruvic transaminase,
[5] Albumin , [6] Total protein, [7] Glucose, [8] Total cholesterol, [9] Triglycerides

<56>

<57> **<2-4> 통계분석**

<58> 마늘 추출액 첨가의 효과를 규명하기 위한 측정항목은 성장(체중), 간중량지수(HSI), 혈액분석 항목, 이온, 삼투압, 코티졸, 일반성분 분석, 간 성분 분석으로 효과 검증에 이용하였다. 유의검증은 반복구별 ANOVA 테스트에 의한 유의검증을 실시한 결과, 반복구간에는 유의한 차이가 나타나지 않으면 구간별 유의성 검증을 하였고, 통계프로그램은 SPSS Ver. 10을 이용하였으며, ANOVA 테스트 수행 후 유의한 차이를 보일 경우 사후분석을 통한 구간별 유의성을 검증하였다. 사후분석은 듀칸의 다중범위검정(Ducan's multiple range test)로 평균간의 유의성으로 분석하였다.

산업이용 가능성

<59> 본 발명은 마늘 추출물을 유효성분으로 포함하는 철갑상어용 사료 조성물에 관한 것이다. 이에 의해, 다른 어종의 사료를 이용한 철갑상어 양식에 있어서 성장촉진, 당 대사 조절 및 이온 조절에 효과적인 철갑상어 전용 사료로 양식 생산성을 높이고 경제적 향상에 기여할 수 있다.