

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

WO 2019/022516 A2

(43) 국제공개일
2019년 1월 31일 (31.01.2019) WIPO | PCT

(51) 국제특허분류:

A23K 20/20 (2016.01) A23K 20/163 (2016.01)
A23K 40/10 (2016.01) A23K 20/174 (2016.01)

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/008440

(22) 국제출원일: 2018년 7월 25일 (25.07.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

10-2017-0096501 2017년 7월 28일 (28.07.2017) KR
10-2017-0096502 2017년 7월 28일 (28.07.2017) KR

(71) 출원인: 한남바이오 주식회사 (HANNAM-BIO CO., LTD.) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1646, 1-1호, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 송상선 (SONG, Sang Sun); 34888 대전시 중구 태평로 35, 206동 2502호, Daejeon (KR). 이은미 (LEE, Eun Mi); 35355 대전시 서구 도안동로 177,111동 2103호, Daejeon (KR). 이강희 (LEE, Kang Hee); 34052 대전시 유성구 전민로46번길 48, 204호, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 심경식 등 (SHIM, Kyoung-Shik et al.); 06227 서울시 강남구 역삼로 212, 동아빌딩 6층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).



WO 2019/022516 A2

(54) Title: FEED COMPOSITION CONTAINING SELENIUM AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 발명의 명칭: 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법

(57) Abstract: The present invention relates to a feed composition containing selenium and a preparation method therefor and, more specifically, to a feed composition containing selenium, the feed composition being characterized in that the feed composition contains 500-2000 ppm selenium and is in a liquid or powder formulation, and to a preparation method therefor.

(57) 요약서: 본 발명은 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 사료조성물은 500ppm 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되, 액상 제형 또는 분말 제형인 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

명세서

발명의 명칭: 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 제조, 이송 및 보관이 용이하며, 변질 또는 변성의 위험성이 낮은 셀레늄을 함유하는 사료조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 셀레늄(selenium, Se)은 인간, 가축 등에 있어서 여러 가지 작용에 필수적인 미량 무기질이며 항산화 물질이다. 셀레늄은 강력한 항산화력으로 세포막 손상을 일으키는 과산화수소와 같은 활성산소를 제거하여 조직의 노화와 변성을 막아 주거나 그 속도를 지연시킨다. 즉 셀레늄은 체내에서 생성된 과산화수소를 분해하여 과산화수소에 의한 손상을 방지하는 효소인 글루타싸이온 퍼옥시데이즈(glutathione peroxidase)의 성분으로 존재한다. 산화를 방지하는 항산화(抗酸化) 영양소에는 셀레늄을 비롯하여 비타민 A, C, E와 플라보노이드(flavonoid) 등이 있다.
- [3] 이러한 셀레늄을 이용한 사료에 관한 발명으로는, 공개특허공보 제10-2005-0068526호에 기재된 "셀레늄을 유효 성분으로 함유하는 배합사료 및 이를 이용한 기능성 축산물과 과채류의 제조방법"와 공개특허공보 제10-2005-12855호에 기재된 "유기 게르마늄과 유기 셀레늄이 함유된 동물사료의 제조방법" 등의 셀레늄을 배합 성분으로 소정량 포함하는 형태의 사료 또는 사료 배합물이나 제조방법에 관한 것이 있다.
- [4] 그러나 종래기술에는 사료에 함유된 셀레늄의 효과를 강화하고, 사료의 제조, 보관 등에 따른 셀레늄의 효과가 변화하는 점 등에 대해서는 개시되어 있지 않다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명은 제조, 이송 및 보관이 용이하며, 변질 또는 변성의 위험성이 낮아 실제 양식 농가 또는 축산 농가에서 효율적으로 사용할 수 있는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 제공하는데 목적이 있다.
- [6] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제는 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

- [7] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 500ppm 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되, 액상 제형 또는 분말 제형인 것을 특징으로 한다.

- [8] 상기 사료조성물은 산성인 액상 제형일 수 있다.
- [9] 상기 사료조성물은 분말 제형으로 형성되며, 부형제를 더 포함할 수 있다.
- [10] 상기 부형제는 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [11] 상기 분말 제형의 사료조성물은 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물로부터 동결건조를 통해 형성될 수 있으며, 상기 동결건조 전의 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물은 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.
- [12] 또한, 상기 동결건조 전의 액상 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.
- [13] 또한, 상기 사료조성물은, 비타민 C(Vitamin C), 아미노레불린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다.
- [14] 상기 사료조성물은, 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함할 수 있다.
- [15] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 배합사료는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함하되, 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 다양한 실시예들 중 어느 하나에 따른 사료조성물인 것을 특징으로 한다.
- [16] 상기 배합사료에 대해서, 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 1ppm 이상 5ppm 이하의 농도로 포함될 수 있다.
- [17] 상기 배합사료는 수산물 양식용일 수 있다.
- [18] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법은, 상기 사료조성물은 500 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되, 액상 제형 또는 분말 제형로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [19] 상기 사료조성물은 분말 제형으로 형성되며, 상기 사료조성물 제조방법은, 셀레늄을 준비하는 단계; 상기 셀레늄을 건조하는 단계; 상기 건조된 셀레늄을 분말화하는 단계; 및 상기 셀레늄 분말을 추가 성분과 혼합하는 단계를 포함할 수 있다.
- [20] 상기 셀레늄을 준비하는 단계에 있어서, 상기 셀레늄은 나노 셀레늄일 수 있다.
- [21] 상기 셀레늄을 준비하는 단계는, 액상 셀레늄과 부형제를 혼합하여 액상 혼합물을 제조하는 단계를 포함할 수 있다.
- [22] 상기 부형제는, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

- [23] 상기 액상 셀레늄과 부형제가 혼합된 액상 혼합물은, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.
- [24] 상기 액상 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.
- [25] 상기 셀레늄을 건조하는 단계는, 상기 셀레늄을 동결건조하는 것을 포함할 수 있다.
- [26] 상기 추가 성분은, 비타민 C(Vitamin C), 아미노레불린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [27] 상기 추가 성분은 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함할 수 있다.
- [28] 상기 셀레늄 분말을 상기 추가 성분과 혼합하는 단계는, 5분 초과 20분 미만의 시간동안 수행될 수 있다.
- [29] 상기 사료조성물은 액상 제형으로 형성되되, 상기 사료조성물 제조방법은, 셀레늄을 준비하는 단계; 상기 셀레늄에 기능성 부형제를 첨가하는 단계; 상기 셀레늄과 기능성 부형제를 혼합하는 단계; 및 상기 혼합된 셀레늄과 기능성 부형제를 정량 주입하는 단계를 포함할 수 있다.
- [30] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 배합사료 제조방법은, 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조하는 단계; 및 상기 사료조성물을 추가 사료 성분과 혼합하는 단계를 포함하되, 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 제조하는 단계는 실시예들에 따른 사료조성물 제조방법을 포함할 수 있다.
- [31] 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 1ppm 이상 5ppm 이하의 농도로 포함될 수 있다.
- [32]
- [33] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 첨부 도면들에 포함되어 있다.

발명의 효과

- [34] 본 발명의 실시예들에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물은, 양식 수산물의 체중 및 체장을 증가시킬 수 있다. 또한, 수산물의 체중 및 체장의 성장을 촉진함으로써, 목표한 체중 및 체장으로 성장할 때까지 필요로 하는 사료의 사용량을 감소시킬 수 있다.
- [35] 또한, 필요 사료 사용량을 감소시킴으로써, 축적 사료로 인하여 발생할 수 있는 용존 산소량의 감소를 방지하여, 용존 산소량 감소로 인한 부작용을 방지할 수 있다. 또한, 필요 사료 사용량 감소로 인하여 양식 농가의 경제적 부담을 경감시킬 수 있다.
- [36] 또한, 본 발명의 실시예들에 따른 사료조성물은 최적의 셀레늄 농도 및 최적의 제조 공정을 통해 형성됨으로써, 보관으로 인한 사료조성물의 효능 저하 및 변성

등이 최소화될 수 있다.

- [37] 또한, 본 발명의 실시예들에 따른 사료조성물은, 최적의 셀레늄 농도 및 셀레늄 활성 특성을 가짐으로써, 과도한 셀레늄 축적으로 인한 부작용을 유발하지 않는다. 더욱이, 셀레늄으로 인한 부작용은 일으키지 않으면서도, 셀레늄이 수산물에 축적된 중금속 배출을 도와 생산된 수산물의 중금속 오염을 감소시키고 항산화 효과를 향상시킨다.
- [38] 특히, 셀레늄의 항산화 효과로 인하여 수산물의 면역력 증가 및 환경 스트레스 저감 효과를 가져와, 수산물의 생존율을 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [39] 도 1은 부형제에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물들의 수화율 평가 결과를 나타내는 그래프이다.
- [40] 도 2는 셀레늄을 포함하지 않는 사료를 급이한 대조군과 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료를 급이한 처리군의 농도별 15일 경과 후 새우의 체장 및 체적을 나타내는 그래프이다.
- [41] 도 3은 대조군 및 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료들을 급이한 후 체내 기능성 지표물질의 함량 분석 결과를 보여주는 그래프이다.
- [42] 도 4는 대조군 및 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료들을 급이한 후 DPPH 라디칼 소거능 결과를 보여주는 그래프이다.
- [43] 도 5는 비브리오 파라헤몰리티쿠스 공격 접종 후 30일간 새우 생존율 변화를 보여주는 그래프이다.
- [44] 도 6은 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품을 급이한 처리군 새우의 체중 변화 및 대조군 새우의 체중 변화를 보여주는 그래프이다.
- [45] 도 7은 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품을 급이한 처리군 새우의 체중 변화 및 대조군 새우의 체장 변화를 보여주는 그래프이다.
- [46] 도 8은 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합되는 농도별 배합사료를 급이한 결과, 새우의 증체 변화를 보여주는 그래프이다.
- [47] 도 9는 급이 실험 양식 호지들의 용존산소량 측정 결과를 보여주는 그래프이다.
- [48] 도 10는 급이 실험 양식 호지에 따른 양식 새우의 항산화 활성 평가 결과를 나타내는 그래프이다.
- [49] 도 11는 일 실시예에 따른 분말 제형 사료조성물 제조방법을 나타내기 위한 순서도이다.
- [50] 도 12는 일 실시예에 따른 액상 제형 사료조성물 제조방법을 나타내기 위한 순서도이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [51] 본 발명의 이점 및/또는 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로

다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성요소를 지칭한다.

[52]

[53] 일 실시예에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물은, 500 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되, 액상 제형 또는 분말 제형일 수 있다.

[54] 상기 액상 제형의 사료조성물은 산성의 특성을 가질 수 있다.

[55] 또한, 분말 제형의 사료조성물은 부형제를 더 포함할 수 있다. 이때, 상기 부형제는, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[56] 또한, 몇몇 실시예들에 있어서, 상기 분말 제형의 사료조성물은 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물로부터 동결건조를 통해 형성될 수 있고, 상기 동결건조 전의 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물은 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다. 특히, 상기 동결건조 전의 액상 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.

[57] 상기 분말 제형의 사료조성물은, 비타민 C(Vitamin C), 아미노레블린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 나아가, 상기 분말 제형의 사료조성물은 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함할 수 있다.

[58] 한편, 본 발명의 다양한 실시예들에 따른 배합사료는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함할 수 있고, 상기 사료조성물은 500 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유할 수 있다.

[59] 또한, 배합사료에 있어서, 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 1ppm 이상 5ppm 이하의 농도로 함유될 수 있다.

[60] 상기 배합사료는 수산물 양식용일 수 있다.

[61] 도 16는 일 실시예에 따른 분말 제형 사료조성물 제조방법을 나타내기 위한 순서도이다.

[62] 도 16을 참조하면, 일 실시예에 따른 분말 제형 사료조성물 제조방법은, 셀레늄을 준비하는 단계, 상기 셀레늄을 건조하는 단계, 상기 건조된 셀레늄을 분말화하는 단계, 및 상기 셀레늄 분말을 추가 성분과 혼합하는 단계를 포함할 수 있다.

[63] 상기 셀레늄을 준비하는 단계에 있어서, 상기 셀레늄은 나노 셀레늄일 수 있다.

[64] 또한, 상기 셀레늄을 준비하는 단계는, 액상 셀레늄과 부형제를 혼합하는

단계를 포함할 수 있다. 이때, 부형제는, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

- [65] 또한, 몇몇 실시예들에 있어서, 상기 액상 셀레늄과 부형제의 혼합물은, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다. 특히, 상기 액상 셀레늄과 부형제의 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함할 수 있다.
- [66] 또한, 상기 셀레늄을 건조하는 단계는, 상기 셀레늄을 동결건조하는 것을 포함할 수 있다.
- [67] 상기 셀레늄 분말을 추가 성분과 혼합하는 단계에 있어서, 상기 추가 성분은, 비타민 C(Vitamin C), 아미노레블린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [68] 또한, 상기 추가 성분은 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함할 수 있다.
- [69] 한편, 상기 셀레늄 분말을 상기 추가 성분과 혼합하는 단계는, 5분 초과 20분 미만의 시간동안 수행될 수 있으며, 나아가, 약 10분 동안 수행될 수 있다.
- [70] 도 17은 일 실시예에 따른 액상 제형 사료조성물 제조방법을 나타내기 위한 순서도이다.
- [71] 도 17을 참조하면, 일 실시예에 따른 액상 제형 사료조성물 제조방법은, 셀레늄을 준비하는 단계, 상기 기능성 부형제를 첨가하는 단계, 상기 셀레늄과 기능성 부형제를 혼합하는 단계, 및 상기 혼합된 셀레늄과 기능성 부형제를 정량 주입하는 단계를 포함할 수 있다.

[72]

[73] 실시예들

[74]

[75] **1. 액상 제형화 및 분말 제형화 공정**

[76]

[77] (1) 액상 제형화 공정

[78] 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함하는 액상 사료 제품은 양식농가에서 배합사료와 혼합이 용이한 장점을 가지고 있다. 그러나, 배합사료와 혼합 시 사료의 수분함량이 증가하여 배합 사료의 성상 변이, 변패 및 유해 미생물의 성장이 진행될 수 있으며, 결착제를 사용하지 않으면 첨가된 주요 기능성 물질이 배합사료에 완전히 흡착되지 않아 양식장에 상기 사료조성물 급이 시 수화되어 양식 생물에겐 원활한 공급이 되지 않을 수 있는 단점이 있다.

[79] 이 점을 개선하기 위해서, 셀레늄을 함유하는 사료조성물과 배합사료의 배합 후에도 사료의 변패 및 변이 발생을 억제하기 위하여 셀레늄을 함유하는 액상

사료의 pH를 강산성으로 조정하였으며, 결착제를 첨가하여 기능성 물질의 흡착이 원활하게 이루어지도록 유도하였다. pH를 강산성으로 조정함으로써, 혼합 과정중에 발생할 수 있는 유해미생물의 성장을 억제하여 상기 액상 사료의 질을 향상시킬 수 있다.

- [80] 일반적으로, 수산양식 환경에서 가장 큰 문제를 유발하는 병원성 미생물은 비브리오 파라헤몰리티쿠스(*Vibrio parahaemolyticus*)로 이는 조기치사증후군(EMS)의 원인 요인 중 하나로 지목이 되고 있다. 비브리오 파라헤몰리티쿠스에 의한 감염증상은 사육 동물의 소화불량, 탈각, 운동성 저하 등을 유발할 수 있으며, 감염 후 100일 이내에 집단 폐사를 유발할 수도 있어 농가에 큰 경제적인 피해를 발생시킨다. 그렇기 때문에 실시예들에 따른 액상 사료 제품은 유해미생물에 대한 항균 활성을 보여야 한다. 항생제의 사용에 규제가 있는 상황에서 화학적 항생제를 대체할 수 있는 물질은 천연 추출물, 광물질, 미생물, 산성화 등 다양한 방법이 연구 개발되고 있다. 이 중 단시간에 강력한 활성을 보이는 것은 천연 추출물과 pH 조절이 대표적이며, 천연 추출물의 첨가는 제품의 원가 상승을 유발하고, 천연물의 특성상 다른 성분과의 반응성과 응집 반응에 대한 평가가 필요하다. 본 발명의 실시예들에 따른 사료조성물 액상 제품은 pH를 강산으로 조정하여 유해 미생물에 대한 항균활성이 나타나도록 하였다. 개발 제품의 항균활성 검증을 위해서 KCTC에서 유해 미생물인 비브리오 파라헤몰리티쿠스 균주를 분양받은 후 영양배지에서 균주를 활성화 한 후, 배양액 0.1%를 멸균된 영양배지에 접종한 후 동일한 영양한천배지와 혼합하여 항균활성을 검증할 준비를 하였다. 제작된 검사용 배지를 천공기를 이용하여 천공 한 후 개발제품과 셀레늄 원액을 50 μ l 점점 한 후 30 $^{\circ}$ C 항온배양기에서 24시간 배양 한 후 생육 저지환을 확인 하였다.
- [81] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 셀레늄 원액은 수산양식 농가에서 조기치사 증후군을 유발할 수 있는 병원성 미생물인 비브리오 파라헤몰리티쿠스 균주에 대한 항균 활성을 보였고, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함하는 액상 사료(셀레늄 개발 제제) 역시 비브리오 파라헤몰리티쿠스에 대한 항균 활성을 보였다.

[82]

[83]

[84] *(2) 분말 제형화 공정

- [85] 액상 사료조성물 제품은 농가의 사용에 있어 편리성이 있지만, 장기간 보관 시 환경에 따라 침전이나 가스 발생 등으로 변이가 될 가능성이 크며, 제품의 부피가 크기 때문에 운송비가 증가하게 된다. 이는 곧 제품의 가격 향상으로 이루어지고 사용 농가의 부담 증가 요인으로 작용한다. 이 점을 개선하고자 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함하는 사료 제품을 분말화하는 공정을 진행하였다. 건조 공정은 크게 열풍건조, 자연건조, 동결건조 3가지 방법이 있다. 열풍건조는 70 $^{\circ}$ C 이상의 고온 열풍을 시료에 처리하여 수분을 증발시키는

방법으로 대량의 시료를 처리하기 용이하지만, 열풍에 의한 시료의 변성과 건조 비용의 증가로 인한 문제점을 가지고 있다. 자연건조는 가장 적은 비용이 투자되지만, 건조 과정이 길고 건조 중 오염의 가능성이 높다는 단점을 가지고 있다. 동결건조는 시료를 70°C 이하로 동결한 후 가압하여 시료의 수분을 승화시켜 단시간 안에 수분을 제거하는 방법으로 시료의 변이가 가장 적으며, 건조 후 수분 함량이 낮기 때문에 가장 많이 사용되고 있는 방법이다.

- [86] 실시예들에 따른 분말 사료를 제조하기 위하여, 상기 동결건조 방법을 활용하여 액상 셀레늄을 분말화 하였다. 액상 셀레늄을 동결건조하기 위해서는 액상에 부형제를 첨가하여야 승화가 빠르게 진행되며, 사용하는 부형제의 종류에 따라 최종 건조물의 수분함량, 형상 등이 결정되기 때문에 산업적으로 사용과 경제적인 8종류의 부형제를 농도별로 첨가하여 동결건조를 진행하였다. 부형제를 첨가하지 않고 액상 셀레늄을 농도별로 동결건조 하여 첨가에 따른 성상 변화를 확인하였다. 사용된 8종의 부형제는 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin)을 이용하였다. 각 부형제를 최종 부피의 1%, 5%, 10%, 20%, 50% 함량으로, 즉 동결건조 전의 액상 사료조성물에 대해서 부피%(vol%)로서 1vol%, 5vol%, 10vol%, 20vol%, 50vol%로 첨가한 후 동결건조를 진행하였으며, 최종 건조물의 수분함량을 측정하여 동결건조를 위한 최적 부형제를 선정하였다.
- [87] 최적의 부형제를 선정하기 전에, 셀레늄 농도별 동결건조 결과를 평가하였다. 도 2는 셀레늄을 함유하는 사료조성물들에 있어서, 셀레늄 농도에 따른 동결건조 후의 형태를 보여주는 사진이다. 구체적으로, 도 2의 1. 내지 9.는 각각 셀레늄 원액, 1000ppm 셀레늄 용액, 2000ppm 셀레늄 용액, 3000ppm 셀레늄 용액, 4000ppm 셀레늄 용액, 5000ppm 셀레늄 용액, 6000ppm 셀레늄 용액, 7000ppm 셀레늄 용액, 8000ppm 셀레늄 용액의 동결건조 후의 형태를 보여준다.
- [88] 도 2에 나타난 바와 같이, 액상 셀레늄은 농도별로 희석한 후 동결건조를 하면 고농도로 인하여 수분이 제거되지 않았으며, 1000ppm에서는 건조 형태로 만들어지지만 농도가 너무 낮기 때문에 산업적으로 활용할 수 없다. 이 점을 개선하기 위하여 일반적인 부형제인 탈지분유를 40vol%, 50vol% 혼합 한 후 동결건조를 진행 하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [89] 도 3은 부형제의 함유 농도에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물들의 동결건조 후의 형태를 보여주는 사진이다. 구체적으로, 도 3의 "1"은 1000ppm 셀레늄 용액의 동결건조 결과이고, 도 3의 "2"는 50vol% 탈지유를 혼합한 셀레늄 용액의 동결건조 결과이며, 도 3의 "3"은 40vol% 탈지유를 혼합한 셀레늄 용액의 동결건조 결과이다.
- [90] 도 3에 나타난 바와 같이, 탈지분유를 50vol% 첨가한 동결건조물에서 육안으로 가장 우수한 형질을 보였다. 하지만, 탈지분유의 경우 미생물 동결건조를 위한

보호제로 사용을 하고 있으며, 다른 부형제에 비하여 높은 가격을 형성하고 있기 때문에 경제성이 낮다.

- [91] 이를 해결하기 위하여 사용하는 부형제 중 가장 저렴하고, 많이 사용되는 8종의 부형제(글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin))을 선정하였으며, 이를 동결건조 전의 액상 사료조성물에 대해서 1vol%, 5vol%, 10vol%, 20vol%, 50vol%로 혼합 한 후 동결건조를 진행하였다. 동결건조가 완료 된 후 각 건조물에 대한 수분함량을 항량건조 방법을 이용하여 측정 하였으며 그 결과를 아래 표 1에 나타내었다.

[92] [표1]

No.	액상Seleni um	Gluco se	Citric acid	Algin ate	CMC	Skim milk	Malto se	Betai ne	Tauri n	수분 함량(%)
1	99	1								18.9
2	95	5								15.4
3	90	10								12.8
4	80	20								11.1
5	50	50								8.6
6	99		1							18.2
7	95		5							14.5
8	90		10							13.8
9	80		20							10.6
10	50		50							9.8
11	99			1						12.9
12	95			5						13
13	90			10						12.8
14	80			20						12.1
15	50			50						10.2
16	99				1					15.7
17	95				5					12.5
18	90				10					12.1
19	80				20					10.3
20	50				50					9.8
21	99					1				18.4
22	95					5				15.6
23	90					10				10.4
24	80					20				5.2
25	50					50				4.2
26	99						1			19.7
27	95						5			15.2

28	90						10			11.2
29	80						20			5.4
30	50						50			5.3
31	99							1		15.4
32	95							5		13.8
33	90							10		11.6
34	80							20		10
35	50							50		1.1
36	99								1	18.4
37	95								5	17.3
38	90								10	10.4
39	80								20	4.1
40	50								50	3.2

[93] 표 1에 나타난 바와 같이, 글루코오스, 시트릭산, CMC, 탈지유, 말토오스, 베타인, 타우린을 50vol%의 함량으로 첨가한 건조물이 10% 이하의 수분함량을 보여 우수한 특성을 갖는 것으로 평가되었다. 이들 중, 가장 부형제의 가격이 저렴한 것은 글루코오스 및 시트릭산이며, CMC, 탈지유, 말토오스, 베타인, 타우린 등은 부형제로 사용하였을 시 제품의 단가가 증가하고, 질소원이 풍부하여 제품의 급이 시 문제를 유발할 수 있으므로 부형제 선발 과정에서 배제하였다. 하지만, 이 중 베타인의 경우 수산 제품에 빈번히 사용하는 성분이기 때문에 아래 수화율 평가를 같이 진행하였다.

[94]

[95] (3) 분말 제형의 수화율 평가

[96] 액상 셀레늄의 분말화 과정을 진행하기 위해 사용된 부형제는 글루코오스, 시트릭산과 같이 용해성이 우수한 물질을 제외하면 수용화가 어렵다는 단점을 가지고 있다. 수용화가 완벽히 이루어지지 않으면 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 배합사료와 혼합할 때 균일도가 낮아지며, 이는 사료 제품의 품질 저하를 유발하는 주요 원인으로 작용한다. 그렇기 때문에 제작된 동결건조 분말을 대상으로 수화율을 평가하여 최종 제품의 생산에 사용될 최적 동결건조용 부형제를 선택하기 위하여, 부형제로서 선정된 글루코오스, 시트릭산, 베타인을 첨가한 건조물의 수화율을 비교평가하기 하고자 탈지유를 부형제로서 이용한 것을 포함한 4종류의 분말을 대상으로 수화율 평가를 진행하였다.

[97] 수화율 평가는 최종 제품의 농도인 1,000ppm이 되도록 분말 25g을 칭량한 후

증류수 75ml과 혼합한 후 1시간 동안 진탕하여 충분히 용해시킨 후 와트맨 필터지 No. 1(Whatman filter paper No. 1)에 여과시킨 후 여과지의 무게를 측정하여 잔여물의 함량을 확인하였다.

- [98] 도 4는 부형제에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물들의 수화율 평가 결과를 나타내는 그래프이다. 도 4에 나타난 바와 같이, 1,000ppm 셀레늄 건조물의 경우 12.8mg으로 확인되었으며, 가장 높은 20vol% 탈지유 첨가구는 242.381mg으로 가장 높게 나왔다. 이 중 가장 높은 수화율을 보이는 것은 50vol% 글루코오스를 첨가한 건조물로, 0.36mg으로 확인이 되었다. 동결건조물의 수분 함량과 수화율 평가 결과 가장 우수한 동결건조용 부형제는 글루코오스로 확인이 되었다. 다만, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[99]

[100] **2. 제품의 저장 안정성 평가**

- [101] 제품의 적정 유통 시간 설정 및 보관 방법을 결정하기 위해 저장안정성 평가를 진행하였다. 액상 제형의 경우 유통 기간이 비교적 짧으나, 분말 제형의 경우 고농축으로 생산이 가능하기 때문에 액상 제형에 비하여 유통 기간 및 사용 가능 기간이 길다. 그렇기 때문에 저장기간별 주요 성분 지표인 셀레늄의 함량 변화 측정을 통하여 개발 제품의 지표 유효성분의 변화양상을 확인하고, 분말 제품의 저장 기간을 결정하는 주요 원인인 수분 함량 변화를 확인한다.

- [102] 흡습성이 높은 원료를 사용한 경우, 저장 기간 중 제품의 수분 함량이 증가하면 미생물의 증식을 촉진하여 제품의 변패를 유발하기도 하며, 분말이 굳으면서 품질을 저해하는 요인으로 작용하기도 한다. 그렇기 때문에 분말 제품의 유통기간을 설정하기 위해서는 저장 기간별로 주요 지표성분인 셀레늄의 함량 변화와 수분 함량을 측정해야 한다. 저장 안정성 평가를 위해 개발 분말 제품을 200g 칭량한 후 본 출원인이 사용하는 제품 포장 용재인 알루미늄 백에 넣고 밀봉하였다. 밀봉된 제품을 저장 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월경과 후, 개봉하여 수분함량 측정과 HPLC를 통한 셀레늄 분석을 통해 저장 기간별로 수분함량과 셀레늄 함량을 측정하였다.

[103] [표2]

월	M.O	Selenium
Month	%	ppm
0	6.80	2369.16
1	6.51	
2	7.03	
3	6.95	
4	6.81	
5	6.99	
6	7.04	2661.29

[104] 3. 제품의 안전성 평가

[105] 셀레늄은 체내에서 필수 미네랄로 미국 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 유럽 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 최대 섭취량을 설정하였으며, 국내의 경우는 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 되어있다. 일부 항암치료 중인 환자의 경우 최대 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 고농도 처방을 하고 있다. 이처럼 셀레늄에 대한 일 섭취량을 제한하는 것은 과량 복용 시 체내에서 독성을 유발하기 때문이다. 셀레늄의 과다 섭취는 급성 셀레늄 중독(Selenosis)을 유발 할 수 있으며, 위장관장애, 탈모, 손발톱의 탈락, 피로감 증가, 신경학적 손상 등 과량 섭취 시 다양한 문제점을 유발 할 수 있다. 셀레늄에 대한 독성은 국제암연구소에서 3등급으로 분류하여 직접적으로 발암성이 있다고 보고하지 않았으며, 독성 수치역시 랫드에서 경구 급이시 6,700ppm의 농도 이상에서 독성을 보인다고 보고하였다. 셀레늄의 유익한 효과가 있지만, 과량 섭취시 독성을 나타낼 수 있기에 국내 수산양식용 배합사료에도 사용량을 5ppm으로 한정하고 있다. 이 점을 참조하여, 본 연구에서는 개발 제품의 안전성을 확보하고자, 개발 제품의 최대 농도인 8,000ppm을 이용하여 급성 독성평가를 진행하였다.

[106]

[107] (1) 개발제품의 급성 독성 평가

[108] 개발 제품의 급성 독성검사는 호서대학교 안전성평가센터에 용역 의뢰하여 실험을 진행하였다. 급성 독성 평가를 위한 실험동물은 Sprague-Dawley 랫드를 이용하였으며, 암컷과 수컷에 개발 제품을 단회 강제경구투여 한 후 14일간 독성정보를 확인 하였다(표 3 참조). 강제 경구투여 후 개체의 빈사동물의 발생여부, 임상증상, 체중변화를 관찰하고 실험 종료 후 각 개체를 부검 한 후 이상여부를 검사하였다. 급성 독성 검사를 위한 실험구 설계는 아래 표 3과 같다. 대조군은 멸균 증류수를 급이 하였으며, 분말 제품의 경우 최대 농도인 5,000ppm, 2,500ppm, 1,250ppm으로 설정하였고, 액상 제품은 8,000ppm,

4,000ppm, 2,000ppm농도로 설정하였다. 급이량은 20ml/kg으로 진행하였다.

[109]

[110] [표3]

시험군	시험물질	성	동물번호(두수)	투여용량	투여액량(ml/kg bw)
1군(용매대조군)	멸균증류수	수컷	1101 ~ 1105 (5)	0	20
		암컷	2101 ~ 2105 (5)		
2군	Selenium분말 제형	수컷	1201 ~ 1205 (5)	1,250 mg/kg	20
		암컷	2201 ~ 225 (5)		
3군	Selenium분말 제형	수컷	1301 ~ 1305 (5)	2,500 mg/kg	20
		암컷	2301 ~ 2305 (5)		
4군	Selenium분말 제형	수컷	1401 ~ 1405 (5)	5,000 mg/kg	20
		암컷	2401 ~ 2405 (5)		
5군	Selenium액상 제형	수컷	1501 ~ 1505 (5)	2,000 ppm	20
		암컷	2501 ~ 2505 (5)		
6군	Selenium액상 제형	수컷	1601 ~ 1605 (5)	4,000 ppm	20
		암컷	2601 ~ 2605 (5)		
7군	Selenium액상 제형	수컷	1701 ~ 1705 (5)	8,000 ppm	20
		암컷	2701 ~ 2705 (5)		

[111] 개발 제품을 급이 한 후 14일간 SD-랫드의 치사율을 확인한 결과 분말 제품 투입 처리군은 사망 개체가 나오지 않았으며, 액상 제품은 4,000ppm에서 1개체, 8,000ppm에서 6개체가 사망한 것을 확인할 수 있었다. 본 개발 제품은 1,000ppm의 농도로 제작 및 판매하고 실사용 농도는 1ppm으로 설정하였기에 개발 제품의 급이에 따른 급성 치사는 없는 것으로 확인이 되었다(표 4 참조).

[112]

[113] [표4]

시험군	성	동 물 두 수	일별 치사 개체수										
			0	1	2	3	4	5	6	7	8~14 day	Mortality (%)	
별균증류 수	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
Selenium 분말 제형(1,250 mg/kg)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
Selenium 분말 제형(2,500 mg/kg)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
Selenium 분말 제형(5,000 mg/kg)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
Selenium 액상 제형(2,000 ppm)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
Selenium 액상 제형(4,000 ppm)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0)
	암 컷	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1/5 (20)
Selenium 액상 제형(8,000 ppm)	수 컷	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1/5 (20)
	암 컷	5	0	1	2	1	0	0	1	0	0	0	5/5 (100)

[114] 셀레늄을 함유하는 사료조성물 액상 제품 및 분말 제품의 급이 후 SD-랫드의

증체량을 비교하였다. 분말 제품의 경우 수컷에서 5,000ppm 급이 후 체중 증가량이 감소함을 확인 하였으며, 암컷에서는 2,500ppm 농도에서부터 체중 증가량이 감소하였다. 수컷의 경우 급이 10일 경과 후 다시 체중이 증가하였고, 암컷은 7일 까지 체중이 정체되는 것으로 확인되었다(표 5 내지 표 8 참조). 이는 기존에 보고된 자료와 같이 셀레늄이 성별에 따른 섭취 농도가 다르다는 결과와 같았다. 또한, 개발 제품의 실사용 셀레늄 농도는 약 1ppm으로 설정을 하였기에 체중 감소가 보이는 5,000ppm 혹은 2,500ppm에 비하여 2,500 ~ 5,000 배 낮은 농도이기 때문에 개발제품 급이에 따른 체중 감소와 같은 부작용은 발생하지 않을 것으로 판단이 된다.

[115] 아래 표 5는 분말제품 급이에 따른 수컷 SD-랫드의 증체량 변화, 표 6은 분말제품 급이 시 암컷 SD-랫드의 증체량 변화, 표 7은 액상제품 급이에 따른 수컷 SD-랫드의 증체량 변화, 그리고 표 8은 액상제품 급이에 따른 암컷 SD-랫드의 증체량 변화를 나타낸다.

[116]

[117] [표5]

시험군	동물 번호	Body weights (g)						
		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
멸균증류 수	1101	287.36	309.78	307.32	318.8	332.91	351.96	362.03
	1102	260.39	280.02	277.61	282.2	297.45	313.01	326.96
	1103	279.77	298.03	292.9	300.1	315.23	337.14	349.08
	1104	272.5	291.02	290.29	297.65	322.1	336.92	353.16
	1105	278.67	298.48	295.52	303.46	313.76	344.81	355.84
	Mean	275.74	295.47	292.73	300.44	316.29	336.77	349.41
	SD	10.07	10.94	10.67	13.1	12.97	14.66	13.41
Selenium 분말제형 (1,250 mg/kg)	1201	277.1	278.41	283.58	294.75	313.2	337.29	355.84
	1202	256.03	269.46	274.56	284.48	291.95	304.87	315.27
	1203	277.42	293.39	292.81	303.85	321.61	341.15	356.88
	1204	279.98	293.68	292.53	306.87	312.52	333.24	345.7
	1205	281.24	288.84	284.3	294.54	307.44	328.42	343.15
	Mean	274.35	284.76	285.56	296.9	309.34	328.99	343.37
	SD	10.39	10.55	7.54	8.83	10.97	14.29	16.83
Selenium 분말제형 (2,500 mg/kg)	1301	301.5	306.91	291.08	291.28	298.46	309	305.21
	1302	280.03	296.96	297.3	308.05	315.09	335.78	354.08
	1303	257.86	267.51	261.24	271.75	290.11	309.06	331.31
	1304	270.21	275.47	266.54	279.7	282.36	294.59	303.25
	1305	268.12	280.98	267.29	278.77	290.67	307.89	322.64
	Mean	275.54	285.57	276.69	285.91	295.34	311.26	323.3
	SD	16.51	16.08	16.29	14.22	12.42	15	20.86
Selenium 분말제형 (5,000 mg/kg)	1401	269.12	270.94	267.68	264.51	265.9	273.92	272.56
	1402	279.15	285.32	287.16	299.48	304.62	317.86	329.65
	1403	287.85	295.02	282.67	297.87	306.73	312.16	308.84
	1404	267.92	275.46	274.32	289.56	297.13	316.73	338.16
	1405	268.73	272.08	266.48	270.04	274.81	272.88	272.49
	Mean	274.55	279.76	275.66	284.29	289.84	298.71	304.34
	SD	8.74	10.24	9.1	16.1	18.41	23.21	30.94

[118] [표6]

시험군(mg/ kgbw)	동물번 호	Body weights (g)						
		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
평균증류 수	2101	187.41	203.28	202.79	206.7	211.47	220.85	217.61
	2102	171.74	187.03	188	190.01	200.09	206.66	206.47
	2103	188.08	200.68	201.59	200.2	211.19	222.75	233.88
	2104	187.78	200.99	197.68	205.37	211.16	219.27	225.59
	2105	183.8	197.63	196.23	202.24	212.77	218.91	229.15
	Mean	183.76	197.92	197.26	200.9	209.34	217.69	222.54
	SD	6.94	6.41	5.84	6.6	5.21	6.35	10.77
Selenium 분말제형(1,250 mg/kg)	2201	188.04	204.23	194.85	200.33	215.99	229.54	220.62
	2202	171.8	180.74	177.74	182.88	172.09	181.19	180.87
	2203	189.32	196.26	189.91	193.24	195.11	199.5	202.03
	2204	185.04	194.74	192.21	201.98	202.48	219.21	231.21
	2205	179.74	190.44	182.94	183.55	192.17	201.55	207.3
	Mean	182.79	193.28	187.53	192.4	195.57	206.2	208.41
	SD	7.16	8.61	7.04	9	16.03	18.75	19.17
Selenium 분말제형(2,500 mg/kg)	2301	187.2	193.2	195.08	192.04	202.97	212.68	220.24
	2302	171.9	182.11	178.23	181.93	176.01	183.64	185.09
	2303	174.68	178.74	171.93	177.98	190.18	199.93	197.57
	2304	204.58	216.09	206.04	203.87	199.18	214.85	223.01
	2305	178.91	191.12	179.44	175.35	169.8	167.35	165.9
	Mean	183.45	192.25	186.14	186.23	187.63	195.69	198.36
	SD	13.15	14.63	14.01	11.72	14.39	20.14	24.07
Selenium 분말제형(5,000 mg/kg)	2401	208.83	203.52	196.87	193.83	200.17	212.45	214.68
	2402	187.3	199.45	190.92	188.03	191.29	191	195.41
	2403	182.35	193.48	184.46	184.15	184.35	171.09	154.19
	2404	172.2	176.82	174.03	176.25	184.47	189	199.99
	2405	168.22	176.64	167.94	168.67	168.71	171.84	190.58
	Mean	183.78	189.98	182.84	182.19	185.8	187.08	190.97
	SD	15.95	12.61	11.88	9.89	11.54	16.96	22.45

[119] [표7]

시험군	동물번호	Body weights (g)						
		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
별균증류수	1101	287.36	309.78	307.32	318.8	332.91	351.96	362.03
	1102	260.39	280.02	277.61	282.2	297.45	313.01	326.96
	1103	279.77	298.03	292.9	300.1	315.23	337.14	349.08
	1104	272.5	291.02	290.29	297.65	322.1	336.92	353.16
	1105	278.67	298.48	295.52	303.46	313.76	344.81	355.84
	Mean	275.74	295.47	292.73	300.44	316.29	336.77	349.41
	SD	10.07	10.94	10.67	13.1	12.97	14.66	13.41
Selenium 액상제형 (2,000 ppm)	1501	258.09	262.16	255.05	255.71	269.32	273.11	272.05
	1502	273.04	277.36	268.12	269.3	266.48	268.89	276.03
	1403	267.85	263.18	258.92	264.25	292.81	313.7	333.23
	1504	265.09	264	254.68	259	255.99	260.08	256.58
	1505	303	302.2	294.31	299.31	266.08	258.9	259.52
	Mean	273.41	273.78	266.22	269.51	270.14	274.94	279.48
	SD	17.4	17.06	16.61	17.44	13.64	22.47	31.14
Selenium 액상제형 (4,000 ppm)	1601	266.55	267.74	261.13	268.59	265.82	279.49	282.43
	1602	268.05	264.8	254.79	256.49	254.55	268.07	271.82
	1603	276.79	269.17	259.69	261.66	254.68	274.81	286.52
	1604	288.49	289.78	283.7	284.42	279.25	295.23	294.47
	1615	280.1	276.9	266.31	266.46	262.22	275.66	281.4
	Mean	276	273.68	265.12	267.52	263.3	278.65	283.33
	SD	9.03	10.05	11.17	10.53	10.16	10.14	8.24
Selenium 액상제형 (8,000 ppm)	1701	265.86	253.32	243.12	236.61	199.76	-	-
	1702	261.19	263.07	248.79	249.66	232.78	230.38	269.79
	1703	286.38	286.2	273.07	266.13	248.76	257.28	258.39
	1704	282.85	276.23	268.56	266.36	241.3	233.48	249.21
	1715	278.62	273.26	265.36	256.74	237.14	245.62	255.38
	Mean	274.98	270.42	259.78	255.1	231.95	241.69	258.19
	SD	10.94	12.62	13.07	12.48	18.93	12.3	8.62

[120] [표8]

시험군(mg/kgbw)	동물번 호	Body weights (g)						
		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
평균중류 수	2101	187.41	203.28	202.79	206.7	211.47	220.85	217.61
	2102	171.74	187.03	188	190.01	200.09	206.66	206.47
	2103	188.08	200.68	201.59	200.2	211.19	222.75	233.88
	2104	187.78	200.99	197.68	205.37	211.16	219.27	225.59
	2105	183.8	197.63	196.23	202.24	212.77	218.91	229.15
	Mean	183.76	197.92	197.26	200.9	209.34	217.69	222.54
	SD	6.94	6.41	5.84	6.6	5.21	6.35	10.77
Selenium 액상제형 (2,000 ppm)	2501	192.13	194.42	188.15	191.39	175.42	186.71	182.9
	2502	190.77	191.57	191.74	199.36	196.88	204.28	207.53
	2403	169.76	173	165.89	166.38	161.92	152.91	139.57
	2504	173.68	177.66	173.33	175.63	167.01	183.07	179.99
	2505	184.95	189.3	187.33	189.57	174.24	173.7	171.46
	Mean	182.26	185.19	181.29	184.47	175.09	180.13	176.29
	SD	10.09	9.33	11.1	13.24	13.36	18.82	24.52
Selenium 액상제형 (4,000 ppm)	2601	168.66	169.58	167.62	168.16	148.66	152.64	172.94
	2602	180.68	184.35	182.71	184.2	167.49	169.72	172.36
	2603	182.63	177.26	180.53	186.19	148.43	162.13	185.33
	2604	184.49	194.19	188.49	185.03	157.3	161.86	167.01
	2615	197.22	196.19	185.5	-	-	-	-
	Mean	182.74	184.31	180.97	180.9	155.47	161.59	174.41
	SD	10.19	11.24	8.04	8.53	9.01	6.99	7.75
Selenium 액상제형 (8,000 ppm)	2701	183.2	185.68	-	-	-	-	-
	2702	182.59	184.4	177.01	176.05	-	-	-
	2703	186.38	-	-	-	-	-	-
	2704	185.99	182.74	177.34	-	-	-	-
	2715	176.8	175.37	-	-	-	-	-
	Mean	182.99	182.05	177.18	176.05	-	-	-
	SD	3.84	4.61	0.23	-	-	-	-

[121] 급성 독성검사 결과 분말 제품의 반수치사량(LD₅₀)은 수컷과 암컷 모두 5,000ppm 이상으로 확인이 되었으며, 액상 제품의 경우 수컷은 8,000ppm이고, 암컷에서는 5,542ppm으로 확인이 되었다. 이는 개발 제품의 사용 농도인 1ppm에서 경제동물에서 독성을 보이지 않는다는 결과를 확인하여 실시예들에 따른 개발 제품에 대한 안전성을 입증 하였다.

[122]

[123] **4. 제품의 첨가 수준 설정 및 효능 평가**

[124] 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제품의 최적 사용농도 결정을 위해서 양식 새우를 실험실 수준에서 사육하면서 농도별 급이 하여 증체량 변화와 기능성 물질인 글루타티온(Glutathione), 셀레늄 함량 분석을 통해 최적 효과를 보이는 농도를 설정한다. 효과를 보이는 최적 농도와 경제성을 고려하여 적정 적용 농도를 설정 한 후 EMS의 원인균 공격 접종 후 치사율을 평가하여 개발 제품 급이에 따른 항병력을 평가한다. 개발 기술을 제품화 및 사양실험을 위해 설정한 적정 농도를 기준으로 증체량과 기능성 물질 함량 차이를 측정하여 최종 제품의 농도를 결정한다.

[125]

[126] (1) 제품의 최적 농도 설정을 위한 사육 실험

[127] 실시예들에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 적용 최적 농도를 설정하기 위해서, 실험실 수준에서 치하를 사육하면서 상기 사료조성물을 배합사료에 혼합하는 농도는 현재 수산용 배합사료에 혼합 최대 농도인 5ppm과, 사업성을 고려한 1ppm, 최대 농도인 7ppm으로 첨가하였다(표 9 참조).

[128] [표9]

시험군	시험물질	투입수(마리)	투여용량	투여액량(ml/kg bw)
대조군	멸균증류수	10	0	10
처리군 1	Selenium	10	1 mg/kg	10
처리군 2	Selenium	10	5 mg/kg	10
처리군 3	Selenium	10	7 mg/kg	10

[129] 사육 실험 조건은, 도 5에 나타난 바와 같이, 높이 50cm, 넓이 50cm의 사각형 아크릴 재질의 수조를 4개 제작 한 후, 각 수조에 양식수 20ℓ를 넣고, 공기 주입기를 설치하여 2일간 방치한 후 새우 80마리를 각 수조에 넣되, 비슷한 체중과 체장의 새우 10마리씩 사육을 진행하였다. 실시예들에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료를 급이하기 전, 1일간 방치한 후 전체 체중의 0.5%씩 상기 사료를 급이 하였다. 하루 2회 상기 사료를 급이한 후 총 15일 경과 후 체중과 체장을 측정하였으며, 실험 완료 후 샘플을 동결건조한 후 DPPH assay를 통해서 체내의 항산화 활성, 글루타티온, 셀레늄 함량을 분석하여

실시에들에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제품 급이에 따른 새우의 기능성 물질의 변화 양상을 통해 최종적으로 사양시험을 위한 제품 적정 농도를 설정하기 위한 실험을 진행하였다.

[130] 양식장에서 입식 30일 경과의 새우를 대상으로 15일간 사료조성물 제품을 배합사료에 1ppm, 5ppm, 7ppm의 농도로 혼합한 후 급이 후 체중과 체장을 측정하였다. 아래 표 10은 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료의 급이 후 15일 경과 새우의 체장 및 체적을 나타내고, 도 6은 셀레늄을 포함하지 않는 사료를 급이한 대조군과 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료를 급이한 처리군의 농도별 15일 경과 후 새우의 체장 및 체적을 나타내는 그래프이다.

[131]

[132] [표10]

동물번호	Control (대조군)		1ppm		5ppm		7ppm	
	체장(c m)	체중(g)	체장(c m)	체중(g)	체장(c m)	체중(g)	체장(c m)	체중(g)
1	7.88	11	8.82	11.4	12.14	12.5	10.65	11.9
2	5.9	9.8	7.23	10.7	11.21	11.4	11.27	12.4
3	6.55	10.5	9.21	11.85	12.55	12.98	11.36	12.11
4	5.98	9.1	10.33	12.4	11.95	11.2	12.1	12.07
5	7.11	10.6	7.12	10.1	12.04	12.4	11.85	10.11
6	6.45	10.1	8.22	11.33	11.88	11.05	11.67	11.85
7	4.21	7.1	9.54	11.04	10.85	10.33	12.85	11.07
8	8.01	11.4	8.06	10.5	11.44	11.85	12.94	12.84
9	6.54	9.58	7.91	9.87	12.08	12.1	12.14	11.84
10	7.33	10.8	8.94	10.22	12.11	12.07	12.55	11.74
Mean	6.6	10	8.54	10.94	11.83	11.79	11.94	11.79
SD	1.11	1.23	1.02	0.81	0.51	0.79	0.73	0.75

[133] 15일간 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm, 5ppm, 7ppm의 농도로 혼합한 혼합사료를 급이한 결과, 상기 혼합사료를 급이한 처리군이 셀레늄을 포함하지 않는 사료를 급이한 대조군에 비하여 체장과 체중이 증가하는 것으로 확인이 되었다. 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 혼합사료를 급이한 처리군의 경우 대조군 대비 체장은 29.44%, 체중은 9.43% 증가하였으며, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 5ppm으로 혼합한 혼합사료를 급이한 처리군의 경우 대조군 대비 체장은 79.27%, 체중은 17.9% 향상됨을 확인하였다. 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 7ppm으로 혼합한 혼합사료를 급이한

처리군의 경우 대조군 대비 체장은 80.99%, 체중은 17.95%로 대조군에 비하여 성장이 개선되지만, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 5ppm으로 혼합한 혼합사료를 급이한 처리군의 경우와 큰 차이를 확인하지 못하였다. 이 결과 새우양식에 있어서, 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합사료에 혼합되는 최적의 농도는 5ppm으로 확인이 되었다.

[134] 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료 급이에 따른 주요 기능성 지표물질은 체내의 강력한 항산화 물질인 글루타티온(Glutathione)과 셀레늄의 함량 변화의 차이가 기능성 차이를 보이는 지표 성분이며, 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합되는 농도별 배합사료를 급이한 새우를 동결건조한 후 농도별로 분쇄하여 분말화 하였다. 분말 샘플은 HPLC/ICP/MS를 통하여 글루타티온과 셀레늄 함량을 분석하였다.

[135] 아래 표 11은 대조군 및 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료들을 급이한 후 체내 기능성 지표물질의 함량 분석 결과를 나타내고, 도 7은 대조군 및 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료들을 급이한 후 체내 기능성 지표물질의 함량 분석 결과를 보여주는 그래프이며, 도 8은 대조군 및 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료들을 급이한 후 DPPH 라디칼 소거능 결과를 보여주는 그래프이다.

[136] [표11]

Concentration	Control		1ppm		5ppm		7ppm	
	Glutathione	Selenium	Glutathione	Selenium	Glutathione	Selenium	Glutathione	Selenium
ppb	7.3	0.79	8.7	1.31	10.6	1.41	9.2	1.7

[137] 주요 지표물질인 글루타티온(Glutathione) 함량 분석 결과 대조군 대비 1ppm 처리에서 19.18%, 5ppm에서 45.21%, 7ppm에서 26.03%로 전체적으로 대조군에 비하여 높은 함량을 확인할 수 있었으며, 증체량 결과와 유사하게 5ppm 처리가 가장 우수한 결과를 확인하였다. 또 다른 지표 성분인 셀레늄(Selenium)의 분석결과 대조군 대비 1ppm 처리군에서 65.82%, 5ppm에서 78.48%, 7ppm에서 115.19%로 급이 하는 셀레늄의 함량이 증가할수록 체내 함량 역시 비례하여 증가하는 것을 확인할 수 있었다. DPPH 라디칼 소거능을 통한 새우의 항산화 활성을 측정한 결과, 1ppm 급이 처리군에서는 대조군 대비 8.55% 증가하였으며, 5ppm 급이 처리군에서는 17.86%, 7ppm 급이 처리군에서는 18.08% 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 증체량과 지표성분 함량 분석 결과 개발제품의 새우양식에 있어 최적의 사용농도는 5ppm으로 확인이 되었다. 하지만, 5ppm의 농도는 양식 농가에서 사용하기에는 제품의 원가가 높으며 현재 수산양식용으로 허용되는 셀레늄의 최대 함량으로 배합 과정 중 첨가 수준이 잘못되면 법적 허용치를 초과하는 문제가 발생할 수 있다. 그렇기 때문에 현재

나온 결과를 토대로 볼 때, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합사료에 혼합하는 농도는 최저 농도인 1ppm로 혼합하는 것이 경제적으로 최적 제품 생산이 가능하다고 판단하였다. 다만 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[138]

[139] (2) 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 EMS 원인균에 대한 항병력 평가

[140] 셀레늄을 포함하는 사료조성물을 새우 양식용으로 사용하는 경우, 상기 사료조성물의 최적 혼합 농도는 사육 실험 결과 5ppm으로 확인이 되었다. 하지만, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 5ppm 농도로 배합사료에 혼합하는 것은 사육 농가에서 사용하기에 제품 단가가 높으며, 이는 사용성을 저하시켜 판매 부진을 유발할 수 있다. 그렇기 때문에 본 실험에서는 효과와 경제성을 고려하여 최종 제품의 농도를 1ppm으로 설정하기로 하였다. 1ppm 제품의 사용에 따른 EMS의 원인균인 비브리오 파라헤몰리티쿠스(*Vibrio parahaemolyticus*)에 대한 항병력 실험을 진행하여 개발제품의 효능을 확인하였다.

[141] 항병력 실험을 위해, 가로 50cm, 세로 50cm, 높이 50cm의 아크릴 수조 3개에 염도 20‰의 멸균 증류수 20L를 각 수조에 넣고, 에어 버블러를 통해 2일간 순치하여 공격접종을 위한 환경을 조성하였다. 각 수조에 60일령 새우 10마리 씩 넣은 후 일반 사료, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm 농도로 혼합한 배합사료 제품(처리군), 셀레늄을 포함하지 않은 제형 사료를 각각 20일 급이 하였다. 20일 경과 후 비브리오 파라헤몰리티쿠스 균주를 각 수조에 10^5 CFU/ml이 되도록 접종하였다. 접종 후 30일간 사육하면서 사망개체의 확인과 체중, 체장을 측정하여 개발제품 적용에 따른 항병력과 증체량을 확인 하였다.

[142] 표 12는 비브리오 파라헤몰리티쿠스 공격 접종 후 30일간 새우 생존 개체 측정 결과를 나타내는 표이고, 도 9는 비브리오 파라헤몰리티쿠스 공격 접종 후 30일간 새우 생존율 변화를 보여주는 그래프이다.

[143] [표12]

	0일	10일	15일	20일	25일	30일
일반 사료	10	6	4	4	2	2
셀레늄을 포함하지 않는 제형 사료	10	7	5	5	4	4
셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 제품(처리군)	10	8	7	7	6	6

[144] 표 12 및 도 9를 참조하면, 공격접종 후 30일 경과 시 처리군에서는 총 6마리가 생존하였다. 하지만, 나머지 일반 사료를 급이한 대조군의 경우 2마리, 셀레늄을 포함하지 않는 제형 사료를 급이한 대조군에서는 4마리가 생존하였다. EMS의

원인균 접종에 의해 30일 경과 후 대조군들에서는 80%의 치사율을 확인하였다. 처리군에서는 40%의 치사율, 셀레늄을 포함하지 않는 제형 사료를 급이한 대조군에서는 60%의 치사율을 확인하였다. 이와 같이, 실시예들에 따른 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품은 병원성 미생물의 감염에 대한 방어 및 치료 효과가 있는 것을 확인할 수 있으며, 특히 셀레늄이 상기 미생물 감염에 대한 방어 및 치료에 있어서의 주요 인자로서 작용한다고 볼 수 있다.

[145] 표 13은 비브리오 파라헤몰리티쿠스 공격 접종 후 새우의 체내 미생물 분석 결과를 나타낸다.

[146] [표13]

	접종 미생물	10일	20일	30일
일반 사료	2.30E+05	5.10E+02	5.60E+02	7.10E+02
셀레늄을 포함하지 않는 제형 사료	2.00E+05	4.80E+02	5.10E+02	5.50E+02
셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 제품(처리군)	2.10E+05	3.30E+02	4.70E+02	5.10E+02

[147] 표 13을 참조하면, 각 개체의 병원성 미생물 분석 결과 각 처리군 별로 균수의 차이는 크게 확인되지 않았다. 하지만, 앞서 언급한 결과처럼 생존율에서 큰 차이를 보였으며, 이는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품의 급이가 새우의 면역력을 증진하여, 생존율을 향상시키는 것으로 해석이 된다.

[148]

[149] (3) 사료조성물을 혼합하는 설정 농도에 따른 새우 증체량 변화 확인

[150] EMS의 원인균인 비브리오 파라헤몰리티쿠스 공격 접종 후, 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료 제품 급이에 따른 방어 효과를 확인하였으며, 상기 배합사료 제품 급이에 따른 증체 평가를 진행하였다. 사육조건은 가로 50cm, 세로 50cm, 높이 50cm의 아크릴 수조 3개에 염도 20‰의 멸균 증류수 20L를 각 수조에 넣고, 에어 버블러를 통해 2일간 순치한 후 50일령 새우 10마리씩 사육하면서 10일, 15일, 20일, 25일, 30일 경과 시 새우의 무게와 길이를 측정하여 상기 사료조성물 제품 급이에 따른 성장 증가를 평가하였다.

[151] 도 10은 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품을 급이한 처리군 새우의 체중 변화 및 대조군 새우의 체중 변화를 보여주는 그래프이고, 도 11은 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품을 급이한 처리군 새우의 체중 변화 및 대조군 새우의 체중 변화를 보여주는 그래프이다.

[152] 도 10 및 도 11을 참조하면, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 배합사료 제품을 30일간 급이한 처리군에서는 일반 사료를 급이한 대조군(control)에 비하여 47.5%의 체중이 증가함을 확인하였으며, 셀레늄을 함유하지 않는 제형 사료를 급이한 대조군(without selenium)에 비하여도 체중이 17.87% 증가한 것을 확인할 수 있다. 체장의 경우, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 배합사료 제품을 30일간 급이한 처리군에서는 일반 사료를 급이한 대조군(control)에 비하여 15.68%의 체장이 증가함을 확인하였으며, 셀레늄을 함유하지 않는 제형 사료를 급이한 대조군(without selenium)에 비하여도 체중이 7.69% 증가한 것을 확인할 수 있다.

[153]

[154] **5. 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 현장 적용성 평가**

[155] 상기의 사육 실험은 외부환경과 인접하고 있어, 다양한 변수가 발생할 수 있으며, 제품의 다변화를 위해 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm, 3ppm으로 혼합한 제품들로 시제품들을 제작 후 사양시험을 진행하였다.

[156]

[157] (1) 사양시험 조건

[158] 사양시험은 충남 태안군 근흥면에 위치한 새우 양식농가에서 진행하였으며, 사육지의 면적은 1ha로 3개의 호지를 사용하였다. 각 호지별로 입식된 치하의 양은 약 300,000미로 2015년 5월 17일 입식 후 40일 경과 후 개발 제품을 급이 시작 하였으며, 각 호지별로 수확이 진행된 9월 중순까지 실험을 진행하였다. 도 12는 양식 호지의 전경 및 치하 샘플을 채취하는 모습을 보여주는 사진들이다. 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제품 급이에 따른 효과를 보기 위하여 급이 후 10일 주기로 양식 새우를 회수하여 증체를 측정하였으며, 각 호지별 사료 사용량과 DO, pH, 염도, NH₃ 함량 분석을 진행하였으며, 최종 수확량을 통해 개발 제품의 효과를 검증 하였다.

[159]

[160] (2) 호지별 결과

[161] 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도별 배합사료 급이 효과를 확인하기 위하여 D사의 배합사료에 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm, 3ppm 농도로 배합 한 후, 40일령 치하 시기부터 하루 4회씩 상기 배합사료를 급이를 진행하였다. 급이가 시작된 일부터 10일 주기로 치하를 포획 한 후 체중을 측정 하였다. 사육 기간은 새우의 무게로 평가하였으며, 구매도가 큰 1kg당 40미가 되도록 1미당 25g 이 되면 각 호지의 새우를 전부 수확하였다.

[162] 도 13은 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합되는 농도별 배합사료를 급이한 결과, 새우의 증체 변화를 보여주는 그래프이다.

[163] 도 13을 참조하면, 사양시험 결과 대조군의 경우(control) 1미당 25g이 되는 사육기간은 126일이었으며, 상기 사료조성물이 1ppm 농도로 혼합된 배합사료 급이 시 1미당 25g이 되는 사육기간은 대조군에 비해 4일 단축된 122일이었고,

상기 사료조성물이 3ppm 농도로 혼합된 배합사료 급이 시에는 1미당 25g이 되는 사육기간은 13일 단축된 113일로 확인되었다. 이와 같이, 상기 사료조성물이 3ppm의 농도로 혼합된 배합사료를 급이한 경우 가장 높은 효과를 보였다. 사육 실험 결과에는 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도가 높아질수록 증체량이 증가하는 경향을 확인하였으며, 이는 사료 전환율이 높다는 의미이며, 이를 사양 시험에서 급이 되는 사료의 양을 측정하여 확인하였다.

[164] 아래 표 14는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합하지 않은 사료를 급이한 호지에 대한 분석표이고, 표 15는 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm의 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 호지에 대한 분석표이며, 표 16은 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 3ppm의 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 호지에 대한 분석표이다.

[165] [표14]

date	DOC	Feed		DO		pH		Salinity ppt	NH ₃ ppm
		subtotal(kg)	Total (kg)	6:00	15:00	6:00	15:00		
05월 17일	1	0	0	6.7	6.8	7.6	7.8	27	0.00
05월 26일	10	32	32	7.1	7.6	7.7	7.6	28	0.00
06월 05일	20	81	113	6.5	7.9	7.5	7.7	28	0.02
06월 15일	30	105	218	6.3	7.3	7.9	7.9	27	0.01
06월 25일	40	154	372	6.4	7.2	8.1	8.3	27	0.04
07월 05일	50	217	589	6.8	8.6	8	8.1	28	0.03
07월 15일	60	369	958	6.2	8.7	7.6	7.7	29	0.06
07월 25일	70	505	1,463	6.8	9.3	8.4	8.3	29	0.04
08월 04일	80	642	2,105	6.5	8.4	8.2	8.4	28	0.06
08월 14일	90	953	3,058	4.2	9.3	8.5	8.2	27	0.11
08월 24일	100	1,134	4,192	3.9	10.2	8.3	8.1	26	0.13
08월 31일	107	707	4,899	2.6	6.2	8.6	8.5	27	0.10
09월 06일	113	585	5,484	4.6	6.8	8.2	8.4	27	0.07
09월 15일	122	780	6,264	5.2	6.4	7.7	8.1	26	0.06
09월 19일	126	420	6,684	4.8	6.3	8.1	8.2	27	0.06

[166] [표15]

date	DOC	Feed		DO		pH		Salinity	NH3	Chemical application
		subtotal (kg)	Total (kg)	6:00	15:00	6:00	15:00			
05월 17일	1	0	0	6.8	7	7.7	7.8	26	0.00	
05월 26일	10	35	35	6.9	7.2	7.5	7.6	26	0.00	0.35
06월 05일	20	82	117	6.6	7.4	7.5	7.6	27	0.00	0.82
06월 15일	30	119	236	6.3	7.3	7.4	7.6	27	0.03	1.19
06월 25일	40	167	403	6.4	7.2	7.6	7.7	27	0.01	1.67
07월 05일	50	230	633	6.8	8.4	7.7	7.6	26	0.00	2.3
07월 15일	60	359	992	6.2	8.7	7.6	7.9	25	0.04	3.59
07월 25일	70	531	1,523	5.6	8.9	7.9	8.1	25	0.06	5.31
08월 04일	80	639	2,162	5.3	9.1	7.6	7.8	25	0.05	6.39
08월 14일	90	886	3,048	5.6	9.2	7.9	8.1	26	0.03	8.86
08월 24일	100	976	4,024	5.8	9.6	8.3	8.1	26	0.05	9.76
08월 31일	107	873	4,897	5.2	8.1	8.2	8.1	25	0.07	8.73
09월 06일	113	745	5,642	4.6	7.9	7.8	8	25	0.06	7.45
09월 15일	122	737	6,379	5.2	6.4	7.7	8.1	26	0.05	7.37

[167] [표16]

date	DOC	Feed		DO		pH		Salinity	NH ₃	Chemical application
		subtotal(kg)	Total(kg)	6:00	15:00	6:00	15:00			
05월 17일	1	0	0	6.5	6.7	7.3	7.5	26	0.00	
05월 26일	10	29	29	6.4	6.8	7.5	7.6	26	0.00	0.87
06월 05일	20	75	104	5.7	6.4	7.4	7.7	26	0.01	2.25
06월 15일	30	118	222	5.8	7.1	7.4	7.6	25	0.03	3.54
06월 25일	40	162	384	5.5	6.5	7.3	7.6	25	0.03	4.86
07월 05일	50	215	599	5.8	6.9	7.7	8.2	26	0.05	6.45
07월 15일	60	367	966	5.3	7.1	7.9	8.3	26	0.06	11.01
07월 25일	70	605	1,571	5.6	7.6	7.9	8.1	26	0.02	18.15
08월 04일	80	843	2,414	5.7	8.2	7.4	7.7	25	0.05	25.29
08월 14일	90	1,076	3,490	5.3	8.4	7.9	8.1	26	0.09	32.25
08월 24일	100	1,168	4,658	5.8	8.6	7.7	8.2	26	0.06	35.04
08월 31일	107	864	5,522	5.2	7.9	8.2	8.4	26	0.07	25.92
09월 06일	113	604	6,126	5.8	7.9	7.9	8	26	0.06	18.12

[168] 표 14 내지 표 16을 참조하면, 실험을 한 3곳의 양식 호지의 사육기간 동안의 사료 사용량을 측정 하였다. 셀레늄을 혼합하지 않은 사료를 급이한

대조군에서는 총 6,684kg의 사료를 사용하였으며, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 6,379kg, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 3ppm 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 6,126kg의 배합사료를 사용한 것을 확인하였다. 이와 같이, 셀레늄을 함유하는 사료조성물의 혼합 농도를 높일수록 배합사료의 사용량이 감소하는 것을 확인하였다. 상기 결과를 통해 확인할 수 있는 사료 전환율(FCR, Feed conversion rate)은, 대조군의 경우 1.37, 상기 사료조성물을 1ppm로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군은 1.13, 상기 사료조성물을 3ppm로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군은 1.10으로 확인이 되었다.

- [169] 이러한 결과는, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료의 급이가 사료의 사용량을 낮추면서도 양식 새우의 성장을 촉진하여, 농가에 경제적인 부담이 가장 큰 사료의 구입비를 절감할 수 있는 것을 의미한다. 축산과 달리 수산의 경우 잔여 사료의 회수가 어려운 환경적인 특성을 가지고 있다. 양식 환경에서 잔여사료는 수중의 미생물과 조류의 성장을 촉진 시키고, 잔여 사료의 부패로 인하여 양식장의 NH_3 의 생성을 촉진하게 된다. 잔여사료에 의하여 대량 증식된 미생물 및 미세조류는 수중의 용존산소를 급격하게 저감시키고, 이는 양식 환경의 NH_3 함량 증가와 함께 집단 폐사를 유발하는 주요 원인으로 작용한다. 본 발명에 따르면, 실시예들에 따른 사료조성물을 포함하는 배합사료를 이용하면, 전체 사료의 사용량이 저감되어, 잔여 사료에 의한 부패 및 미생물, 미세조류의 대량 증식을 억제할 수 있다.
- [170] 양식 환경에서 가장 중요한 요인 중 하나는 용존산소량이다. 새우 양식 과정 중 적정 용존 산소 농도는 5mg/l 이며, 그 이하가 되면 산소 부족으로 인하여 집단 폐사가 유발될 수 있다. 급격한 용존 산소 하락의 원인은 새우의 체중 증가만으로 발생하지 않으며, 양식장 환경에서 미생물이나, 조류의 이상증식 현상으로 인하여 유발된다. 그렇기 때문에 양식농가에서는 액체산소, 수중 산소 공급 장치 등 추가적인 비용을 지불하면서 양식 환경의 용존 산소를 유지하려고 노력하고 있다. 따라서 본 실험을 진행하고 있는 양식 호지 3곳의 용존산소를 측정하여 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료의 급이에 따른 양식 호지의 용존산소량 변화를 확인하였다.
- [171] 도 14는 급이 실험 양식 호지들의 용존산소량 측정 결과를 보여주는 그래프이다.
- [172] 도 14를 참조하면, 셀레늄을 함유하지 않는 사료를 급이한 대조군(control)의 경우 양식 80일부터 용존 산소가 급격히 감소하는 것을 확인할 수 있다. 반면 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 양식 100일부터 용존 산소가 감소하며, 특히, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 3ppm으로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 평균 6.55mg/l 의 용존 산소를 유지하는 것을 확인하였다.
- [173] 이는, 실시예들에 따른 배합사료를 사용한 경우, 새우 양식에 사용되는 사료의

양이 감소하여 유해 미세조류, 미생물의 발생 빈도가 낮기 때문인 것으로 판단이 된다.

[174] 표 17은 급이한 사료별 양식 결과를 나타내고, 표 18은 실험 양식 호지별 생산성 결과를 보여준다.

[175] [표17]

호지	호지 크기	Stocking		Harvest			Feed	FCR	Survival
		Date	Quantity (pcs)	DOC	Biomass (kg)	Weight (g)	kg	%	%
대조군	1ha	126	300,000	126	4,915.0	25.8	6,748.0	1.37	63.5
1ppm	1ha	122	300,000	122	5,640.0	25.6	6,397.0	1.13	73.4
3ppm	1ha	113	300,000	113	5,586.0	25.0	6,135.0	1.10	74.5

[176] [표18]

Items	Control	1ppm	3ppm
Initial Number of Shrimp	300,000	300,000	300,000
Survival Rate (%)	63.5	73.4	74.5
Average final weight of Shrimp (g)	25.8	25.6	25.0
Total Production of Shrimp (kg)	4,915	5,640	5,586
Feed Conversion Rate (%)	1.37	1.13	1.10
Average Consumption of Feedstuff (kg)	6,748	6,397	6,135
Unit Price of Feedstuff (USD/kg)	2.0	2.0	2.0
Total Cost of Feedstuff (USD)	13,496	12,794	12,270
Unit Price of Shrimp (USD/kg)	16	16	16
Total Sales Price of Shrimp Production (USD)	78,640	90,240	89,376
Consumption Amount of Product (kg)	0	64.0	184.0
Cost of Product (USD)	0	1,280	3,680

[177] 양식 실험을 종료한 후, 각 호지별로 수확된 새우의 판매금액을 토대로 개발

제품의 경제적인 효과를 평가하였다. 셀레늄을 함유하지 않는 사료를 급이한 대조군의 경우, 총 생산량 4,915kg으로 78,172천원, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군은 5,640kg으로 92,935천원, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군은 5,586kg으로 92,527천원으로 확인되었다. 1ppm 처리군은 대조군 대비 14,762천원, 3ppm 처리군은 14,354천원으로 급이에 따른 경제적인 소득 증가를 확인할 수 있었다. 또한 1ppm 처리군에서 양식 기간을 4일 단축 하였으며, 3ppm 처리군에서는 13일을 단축 하는 효과를 확인할 수 있었으며, 새우의 생존율 역시 1ppm 처리군에서 15.5%, 3ppm 처리군에서 17.3%로 향상되었고, 생산량은 1ppm 처리군에서 14.8%, 3ppm 처리군에서는 13.7%로 뚜렷한 개선 효과를 확인할 수 있었다.

[178] 결론적으로, 사양실험 결과 경제적인 소득 증가측면에서는 배합사료에 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm으로 혼합하는 것이 가장 효과적이며, 양식 기간을 단축 측면에서는 배합사료에 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 3ppm으로 혼합하는 것이 가장 효과적이었다.

[179]

[180] (3) 개발제품 사용 호지의 환경 평가

[181] 셀레늄을 사료에 혼합하는 경우, 가장 문제가 될 수 있는 것은 양식장 내 셀레늄의 농축 현상이다.

[182] 본 발명의 발명자들은 개발 제품의 사용량이 양식수에 직접적으로 처리하지 않으며, 배합사료에 혼합하기 때문에 사용량이 전체 면적 대비 극소량이 사용되며, 양식장에서 농축 및 침전 현상을 유발하지 않을 것이라고 예상하였다. 이 점을 확인하기 위하여 실시예들에 따른 배합사료 급이 전 양식장의 토양을 채토한 후 셀레늄과 중금속 분석을 진행하였으며, 양식이 종료된 후에 다시 양식장의 토양을 채토하여, 셀레늄과 중금속 분석을 추가로 진행하여 개발 제품 급이에 따른 양식장 내의 셀레늄 함량 변화와 중금속 함량을 확인하였다.

[183] 표 19는 실시예들에 따른 배합사료 급이 전과 급이 후의 양식장 토양 내 중금속 분석 결과를 나타내는 표이다.

[184]

[185] [표19]

(단위: ppm)

호지	0일				130일			
	Se	Pb	Hg	Cd	Se	Pb	Hg	Cd
대조군	ND	0.01	0.01	ND	ND	5.82	0.01	0.38
1ppm	ND	0.01	0.01	ND	ND	2.72	0.01	0.31
3ppm	ND	0.01	0.01	ND	ND	1.72	0.01	0.29

- [186] 표 19를 참조하면, 양식장의 토양을 채토하여 셀레늄 분석을 한 결과 양식 시작 시의 토양과 양식 종료 후의 토양에서 전부 셀레늄이 검출되지 않았다. 그 이유는 셀레늄을 포함하는 사료조성물의 사용량과 연관이 있는 것으로 판단이 되며, 1ppm 농도로 셀레늄 사료조성물이 혼합된 배합사료가 사용된 경우 상기 사료조성물은 64kg, 3ppm 농도로 셀레늄 사료조성물이 혼합된 배합사료가 사용된 경우 상기 사료조성물은 184kg으로 사용이 되어 토양 내에 축적이 되거나, 문제를 유발할 정도의 농도가 되지 않는 것으로 사료된다.
- [187] 하지만, 주요 중금속인 납, 수은 카드뮴의 경우 양식 시작 전에는 토양에서 문제가 되지 않을 정도로 미량 검출되거나, 불검출이었지만 양식이 종료된 후에는 납은 최대 5.82ppm, 카드뮴은 0.38ppm으로 양식 전에 비하여 높게 검출이 되었다. 이는 수산 양식에 사용되는 배합사료의 주 단백질원인 어분에서 기인한 것으로 판단되며, 어분 급이에 따른 양식 중 체내의 중금속 증가에 대한 기존 발표 문헌들과 유사한 경향을 보였다. 장기간 양식이 진행된 곳의 경우 이 보다 높은 중금속에 오염이 되어 있을 것으로 판단이 된다. 또한 중금속에 오염된 곳에서 양식된 새우는 체내에 중금속이 농축되어 이를 소비하는 사람에게 중금속 농축의 문제를 유발 할 것으로 판단이 된다. 개발 제품의 주요 성분은 셀레늄이며, 셀레늄의 주요한 효과 중 하나는 중금속의 배출 효과이다. 본 연구에서는 사양시험이 진행된 3호지의 새우를 양식이 종료된 시점에 회수하여 체내 중금속 분석을 통하여 개발 제품 급이에 따른 중금속 배출 효과를 확인 하였다. 아래 표 20은 사양 실험을 진행한 호지에서 양식한 새우들의 체내 중금속 함량을 분석한 결과를 나타낸다.

- [188] [표20]

호지	Pb	Hg	Cd
대조군	ND	0.08	2.5
1ppm	ND	0.08	1.22
3ppm	ND	0.08	1.16

- [189] 중금속 분석 결과 양식장 토양에서 가장 큰 농도로 오염이 되었던 납은 예상외로 양식 새우에서는 검출이 되지 않았으며, 수은의 경우 토양 대비 약 8배 높게 나왔다. 새우 체내에서 가장 큰 농도로 검출된 것은 카드뮴으로 대조군에서는 2.5ppm으로 가장 높게 나왔다. 반면 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 1ppm 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 카드뮴의 농도가 1.22ppm으로 대조군 대비 51.2% 저감되었으며, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 3ppm 농도로 혼합한 배합사료를 급이한 처리군에서는 카드뮴의 농도가 1.16ppm으로 대조군 대비 53.6% 저감되었다. 이에 따라, 셀레늄의 중금속 배출효과를 확인할 수 있으며 그 중 카드뮴의 체내 배출 효과가 가장 우수한 것으로 확인이 되었다.

[190]

[191] (4) 배합사료 급이에 따른 양식 새우의 기능성 성분 변화

[192] 배합사료에 함유된 셀레늄은 체내에서 메티온(Methione), 시스틴(Cystine)과 결합하여 셀레노아미노산으로 합성된다. 셀레노아미노산은 체내에서 비타민E에 비하여 약 2,900배 높은 항산화 활성을 가지는 글루타티온(Glutathione)의 전구체로 이용된다. 본 실시예에서는, 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 혼합한 배합사료 제품을 농도별로 급이한 새우의 체내 글루타티온 함량을 분석하여 기능성 증진 효과를 평가하였다.

[193] 표 21은 배합사료 급이에 따른 양식 새우의 글루타티온 함량을 분석한 결과를 나타낸다.

[194] [표21]

호지	Glutathione Oxidation	Glutathione reduced
	ppb	ppb
대조군	429.5	830
1ppm	446.2	1,630
3ppm	505.7	2,890

[195] 체내 글루타티온은 산화형(Glutathione Oxidation)과 환원형(Glutathione reduced)으로 존재하고 있으며, 산화형의 경우 1ppm 처리군에서 대조군대비 3.89% 증가하였으며, 3ppm 처리군에서는 17.74% 증가하였다. 환원형의 경우 1ppm 처리군에서 대조군대비 96.39% 증가하였으며, 3ppm 처리군에서는 248.19%로 높은 증가를 확인하였다. 이는 글루타티온의 기능으로 알려진 항산화 활성, 면역력 향상, 환경 스트레스 저감 등의 효과를 나타내기 때문에 양식 새우의 생존율을 향상하는 것으로 해석될 수 있으며, 앞서 사양실험을 통해 양식 새우의 생존율이 1ppm 처리군에서 대조군대비 9.9%, 3ppm 처리군에서 11% 향상된 원인으로 판단이 된다. 글루타티온 함량 증가 결과를 바탕으로 각 호지별 양식 새우의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거능을 통해 체내 항산화 활성 증가를 확인하였다.

[196] 도 15는 급이 실험 양식 호지에 따른 양식 새우의 항산화 활성 평가 결과를 나타내는 그래프이다.

[197] 도 15를 참조하면, 셀레늄 미함유 사료와 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료 급이에 따른 양식 새우의 DPPH 라디칼 소거능 분석 결과, 1ppm 처리군에서는 대조군 대비 10.3% 증가하였으며, 3ppm 처리군은 대조군 대비 20.56% 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이는 글루타티온 함량 분석 결과와 같이, 셀레늄을 함유하는 사료조성물이 혼합된 배합사료의 급이가 새우의 항산화 활성을 증가시키기 때문인 것으로 보이며, 항산화 활성 증가의 원인은 체내의 글루타티온 함량 증가에 따른 것으로 파악된다.

[198] 이러한 결과에 따르면, 실시예들에 따른 사료조성물이 혼합된 배합사료는 새우 체내에서 강력한 항산화 물질인 글루타티온 합성을 증가시키고, 이에 따라 새우의 항산화 능력이 향상되어 면역력 증가 및 환경 스트레스 저감 효과를 가져와, 새우의 생존율을 향상시키는 것으로 판단된다.

[199]

[200] **6. 대량 생산 공정 평가**

[201] 셀레늄을 함유하는 사료조성물 중 액상 제형의 경우, 용매의 특성상 혼합도가 일정하지만, 분말 제형의 경우 혼합 시간에 따른 균질도가 다를 수 있다. 혼합 시간의 설정이 없으면 제품의 품질이 일정하게 유지될 수 없고, 이로 인하여 제품 급이에 따른 효과가 불균일하게 나타날 수가 있다. 그렇기 때문에 본 발명의 발명자들은 분말 제품의 혼합 시간에 따른 지표 성분인 셀레늄의 함량을 분석하여 최적 혼합 시간을 설정하였다.

[202] 시제품을 생산하기 위해서 10kg 소형 혼합기를 이용하여 혼합 시간에 따른 셀레늄 함량 분석을 통해 적정 혼합 시간을 결정하였다.

[203] 표 22는 시제품의 분말 조성을 나타낸다.

[204]

[205] [표22]

Composition	Inclusion rate (%)	Recruitment stock (g)
Vitamin C	8	800
Selenium	12.5	1,250
Aminolevulinic acid	0.1	10
Betaine	0.002	0.2
Sorbitol	12	1,200
Choline chloride	10	1,000
Diluting agent	57.4	5,739.8
total volume	100	10,000

[206] 시제품의 생산에 사용된 성분은 비타민 C(Vitamin C), 아미노레블린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride)과 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 이용하였다. 주요 성분인 셀레늄은 최종 시제품에 2,000ppm이 되도록 분말을 첨가하였다. 10kg 혼합기에 개발 제품에 사용되는 조성을 첨가한 후 1분, 5분, 10분, 20분 혼합한 후 소량 분할하여 셀레늄 분석을 의뢰하였다.

[207] 표 23은 혼합 시간에 따른 셀레늄 함량에 대한 분석 결과를 나타낸다.

[208]

[209] [표23]

Mix time	1min	5min	10min	20min
Selenium(ppm)	3,252	3,264.29	2,369.16	3,574.75
Total volume(kg)	10	10	10	10

[210] 혼합 시간별로 제작한 시제품의 셀레늄 함량 분석 결과 1분 혼합 후 3,252ppm, 5분 혼합 시 3,264ppm, 10분 혼합 시 2,369.16ppm, 20분 혼합 시 3,574.75ppm으로 확인이 되었다. 시제품을 생산하기 위하여 첨가한 셀레늄의 함량은 2,000ppm 기준으로 하였으며, 표 23에 나타난 바와 같이 10분 혼합 시간에서 예상 농도와 유사하게 나왔다. 1분과 5분의 경우 혼합이 균질하게 이루어지지 않는 것으로 판단이 된다. 20분의 경우 시제품의 성상에서 쏠림 현상이 관찰되었으며, 이는 장시간 혼합에 따른 부형제 간 밀도 차이에 의하여 혼합도가 떨어지는 것으로 판단된다. 본 결과를 통해서 분말 제품의 혼합을 위해서는 최소 10분 혼합을 하여야 하며, 10분 이상 혼합 할 시에는 제품의 균질화가 낮을 것으로 판단된다. 시제품을 생산하기 위한 적정 혼합 시간은 10분으로 설정하였다.

[211] 10분간 혼합 한 시제품은 알루미늄 백에 보관 한 후 1개월 단위로 수분 함량 측정을 통해 저장 기간 중 변화를 확인하였으며, 6개월 경과 후 지표 성분인 셀레늄 분석을 통해 개발 제품의 성상 변화를 확인 하였다.

[212] 표 24는 분말 제형의 시제품 저장 기간별 수분함량 및 셀레늄 함량을 분석한 결과를 보여준다.

[213]

[214] [표24]

Month	M.O	Selenium
	%	ppm
0	6.80	2369.16
1	6.51	
2	7.03	
3	6.95	
4	6.81	
5	6.99	
6	7.04	2661.29

[215] 분말 제품의 저장 기간별 수분 함량 측정 결과 수분은 초기 6.8%에서 6개월경과 시 7.04%로 6개월 간 수분 함량의 변화가 크지 않는 것으로 확인이 되었다. 셀레늄 분석 결과 제작 당시 2,369.16ppm에서 저장 6개월경과 후

2,661.29ppm으로 확인이 되어 함량의 변화가 크지 않는 것을 확인할 수 있었다. 함량이 증가 한 이후는 제품을 보관하는 알루미늄 백에 시제품을 넣고 밀봉 과정에서 공기가 많이 들어갔고, 이로 인해 포장지 내부의 빈 공간이 많아서 보관 및 개봉 시 진동에 의한 쏠림 현상으로 파악이 된다. 수분함량과 셀레늄 분석 결과를 통해 개발 제품은 저장 6개월 간 제품의 품질 저하가 이루어지지 않는 것을 확인 할 수 있었다.

[216]

[217] 지금까지 본 발명에 따른 구체적인 실시예에 관하여 설명하였으나, 본 발명의 범위에서 벗어나지 않는 한도 내에서는 여러 가지 변형이 가능함은 물론이다. 그러므로, 본 발명의 범위는 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 안 되며, 후술하는 특허 청구의 범위뿐 아니라 이 특허 청구의 범위와 균등한 것들에 의해 정해져야 한다.

[218] 이상과 같이 본 발명은 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 이는 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 따라서, 본 발명 사상은 아래에 기재된 특허청구범위에 의해서만 파악되어야 하고, 이의 균등 또는 등가적 변형 모두는 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

청구범위

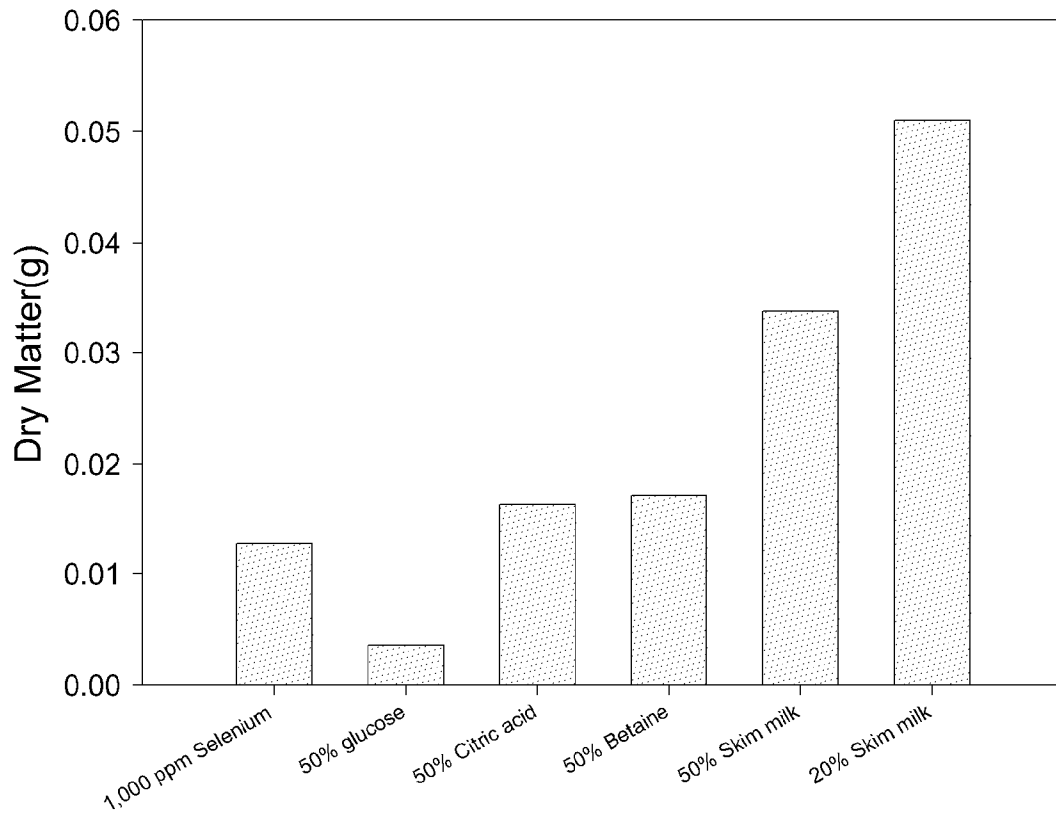
- [청구항 1] 셀레늄을 함유하는 사료조성물로서,
상기 사료조성물은 500ppm 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되,
액상 제형 또는 분말 제형인 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는
사료조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 사료조성물은 산성인 액상 제형인 것을 특징으로 하는 셀레늄을
함유하는 사료조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 사료조성물은 분말 제형으로 형성되되, 부형제를 더 포함하는 것을
특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 부형제는 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid),
알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose;
CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및
타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을
함유하는 사료조성물.
- [청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 분말 제형의 사료조성물은 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물로부터
동결건조를 통해 형성되며,
상기 동결 건조 전의 셀레늄을 포함하는 액상 혼합물은
글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk),
말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를
50vol% 함량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는
사료조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
동결 건조 전의 액상 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함하는
것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물.
- [청구항 7] 제3항에 있어서,
비타민 C(Vitamin C), 아미노레불린산(Aminolevulinic acid; ALA),
베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도
하나를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서,
증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는
셀레늄을 함유하는 사료조성물.
- [청구항 9] 배합사료로서,
셀레늄을 함유하는 사료조성물을 포함하되,

- 상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 따른 사료조성물인 것을 특징으로 하는 배합사료.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 1ppm 이상 5ppm 이하의 농도로 포함된 것을 특징으로 하는 배합사료.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 배합사료는 수산물 양식용인 것을 특징으로 하는 배합사료.
- [청구항 12] 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법으로서,
상기 사료조성물은 500 내지 2000ppm의 셀레늄을 함유하되, 액상 제형 또는 분말 제형으로 형성되는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 사료조성물은 분말 제형으로 형성되되,
셀레늄을 준비하는 단계;
상기 셀레늄을 건조하는 단계;
상기 건조된 셀레늄을 분말화하는 단계; 및
상기 셀레늄 분말을 추가 성분과 혼합하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 셀레늄을 준비하는 단계에 있어서, 상기 셀레늄은 나노 셀레늄인 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 15] 제13항에 있어서,
상기 셀레늄을 준비하는 단계는, 액상 셀레늄과 부형제를 혼합하여 액상 혼합물을 제조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 16] 제15항에 있어서,
상기 부형제는, 글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 알지네이트(Alginate), 카복시메틸셀룰로오스(CarboxyMethylCellulose; CMC), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 17] 제15항에 있어서,
상기 액상 셀레늄과 부형제가 혼합된 액상 혼합물은,
글루코오스(Glucose), 시트릭산(Citric acid), 탈지유(Skim milk), 말토오스(Maltose), 베타인(Betaine) 및 타우린(Taurin) 중 적어도 하나를 50vol% 함량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서,

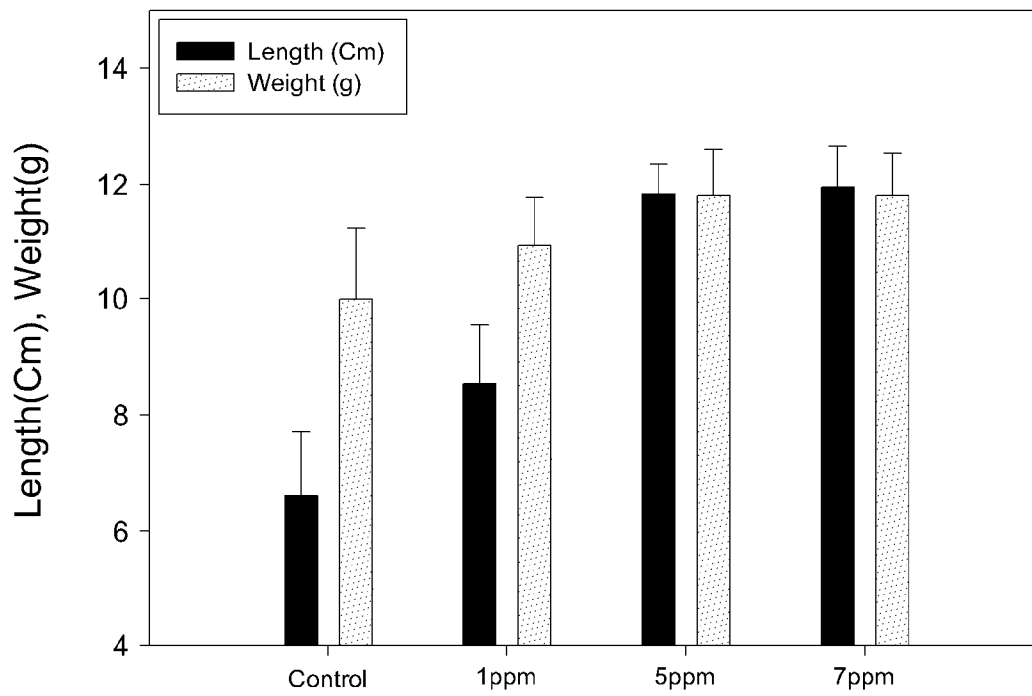
- 상기 액상 혼합물은 글루코오스를 50vol% 함량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 19] 제13항에 있어서,
상기 셀레늄을 건조하는 단계는, 상기 셀레늄을 동결건조하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 20] 제13항에 있어서,
상기 추가 성분은, 비타민 C(Vitamin C), 아미노레블린산(Aminolevulinic acid; ALA), 베타인(Betaine), 솔비톨(Sorbitol), 염화콜린(Choline chloride) 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 21] 제20항에 있어서,
상기 추가 성분은 증량제로서 덱스트로스(Dextrose)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 22] 제13항에 있어서,
상기 셀레늄 분말을 상기 추가 성분과 혼합하는 단계는, 5분 초과 20분 미만의 시간동안 수행되는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 23] 제12항에 있어서,
상기 사료조성물은 액상 제형으로 형성되되,
셀레늄을 준비하는 단계;
상기 셀레늄에 기능성 부형제를 첨가하는 단계;
상기 셀레늄과 기능성 부형제를 혼합하는 단계; 및
상기 혼합된 셀레늄과 기능성 부형제를 정량 주입하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조방법.
- [청구항 24] 배합사료 제조방법으로서,
셀레늄을 함유하는 사료조성물 제조하는 단계; 및
상기 사료조성물을 추가 사료 성분과 혼합하는 단계를 포함하되,
상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물을 제조하는 단계는 청구항 1 내지 청구항 12 중 어느 한 항에 따른 제조방법을 포함하는 것을 특징으로 하는 배합사료 제조방법.
- [청구항 25] 제24항에 있어서,
상기 셀레늄을 함유하는 사료조성물은 1ppm 이상 5ppm 이하의 농도로 포함된 것을 특징으로 하는 배합사료 제조방법.

[圖1]

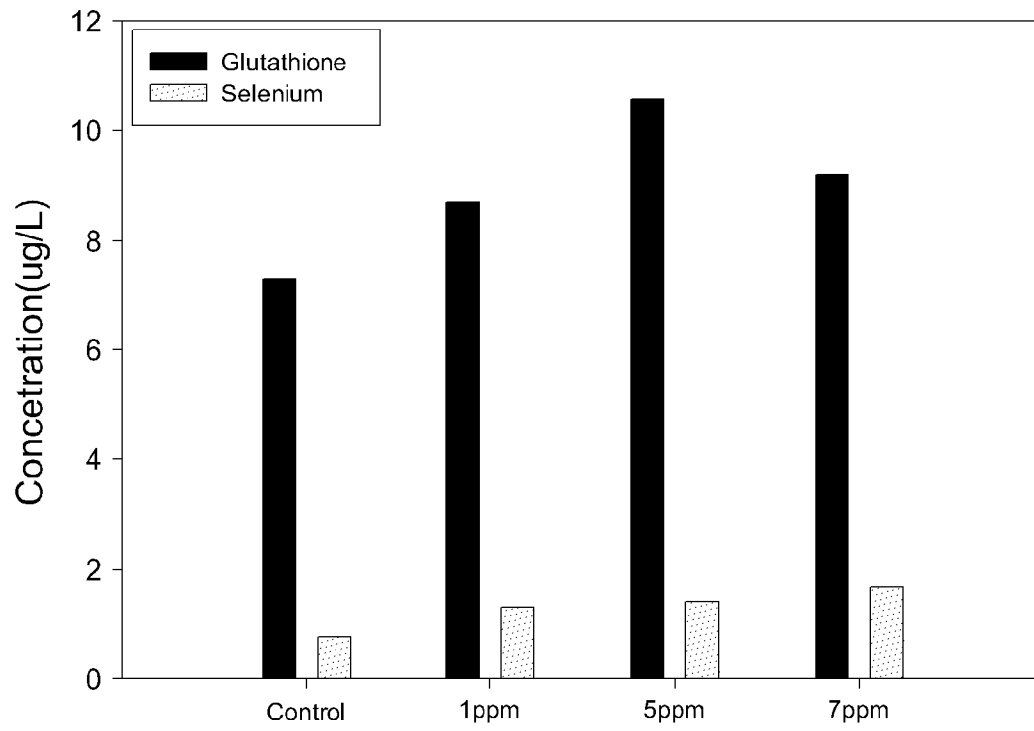
Insolubility Selenium powder



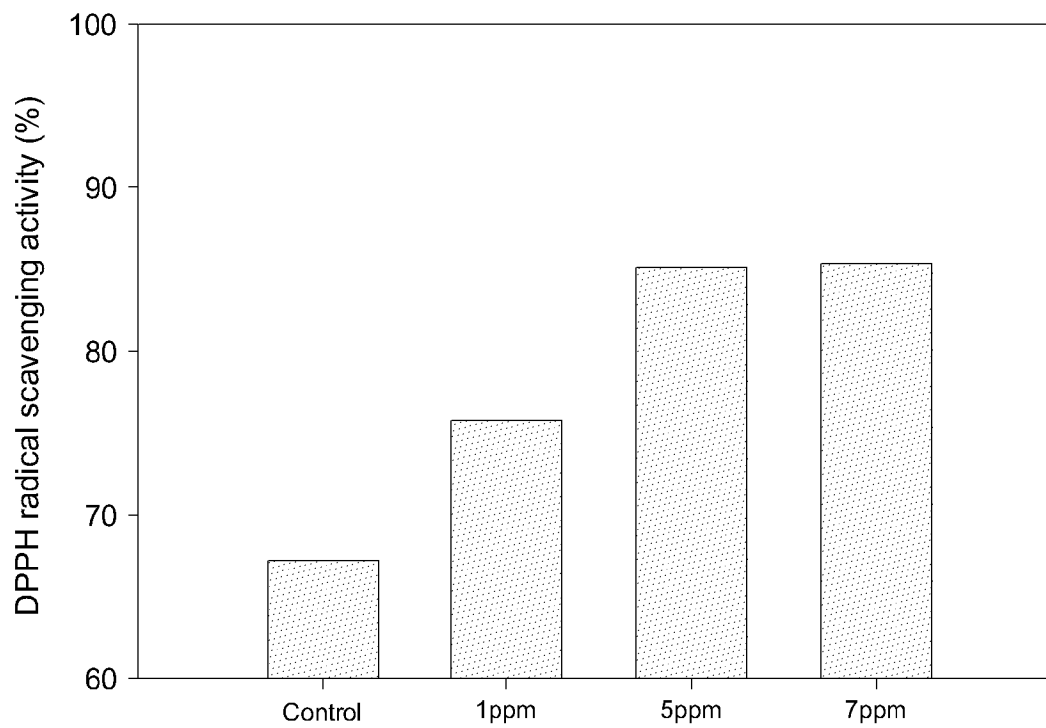
[圖2]



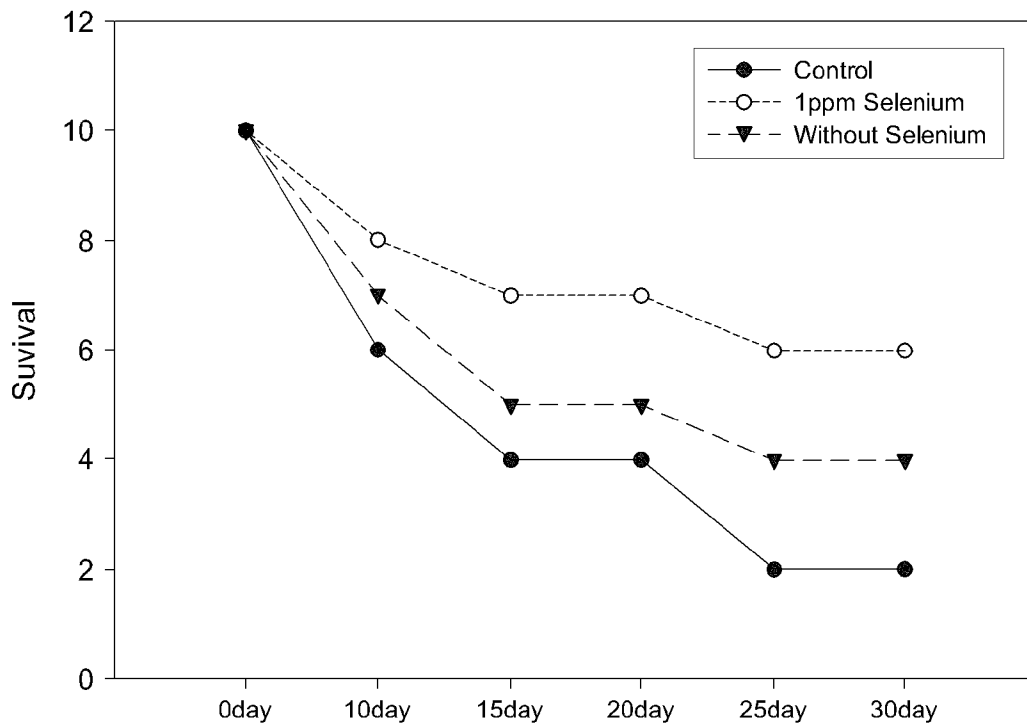
[도3]



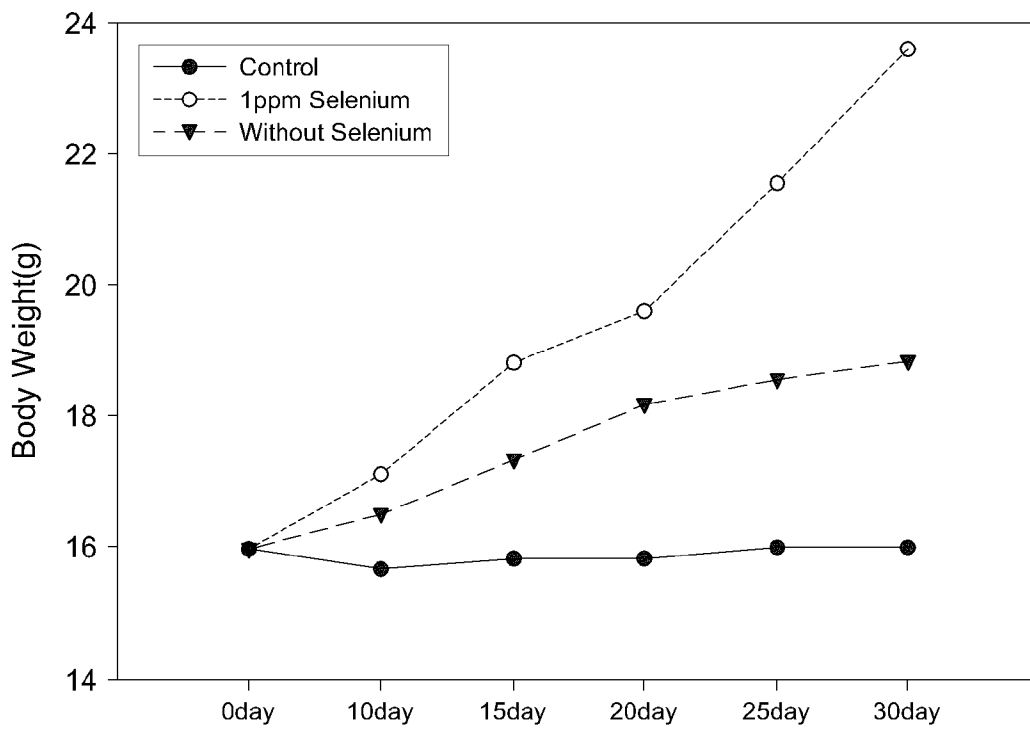
[도4]



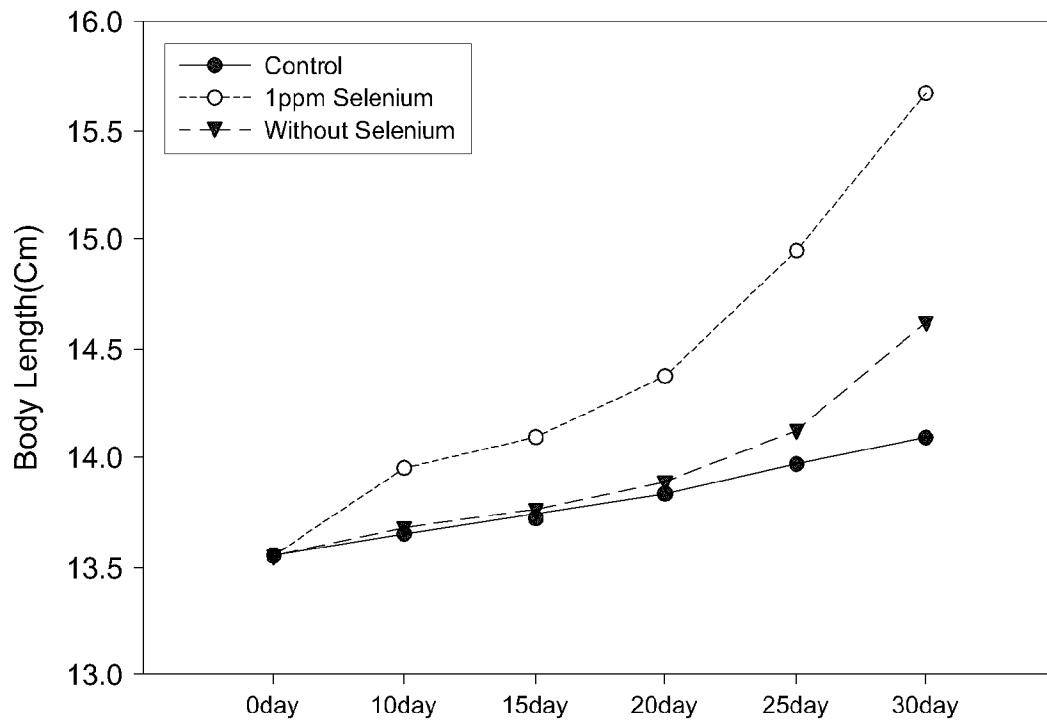
[도5]



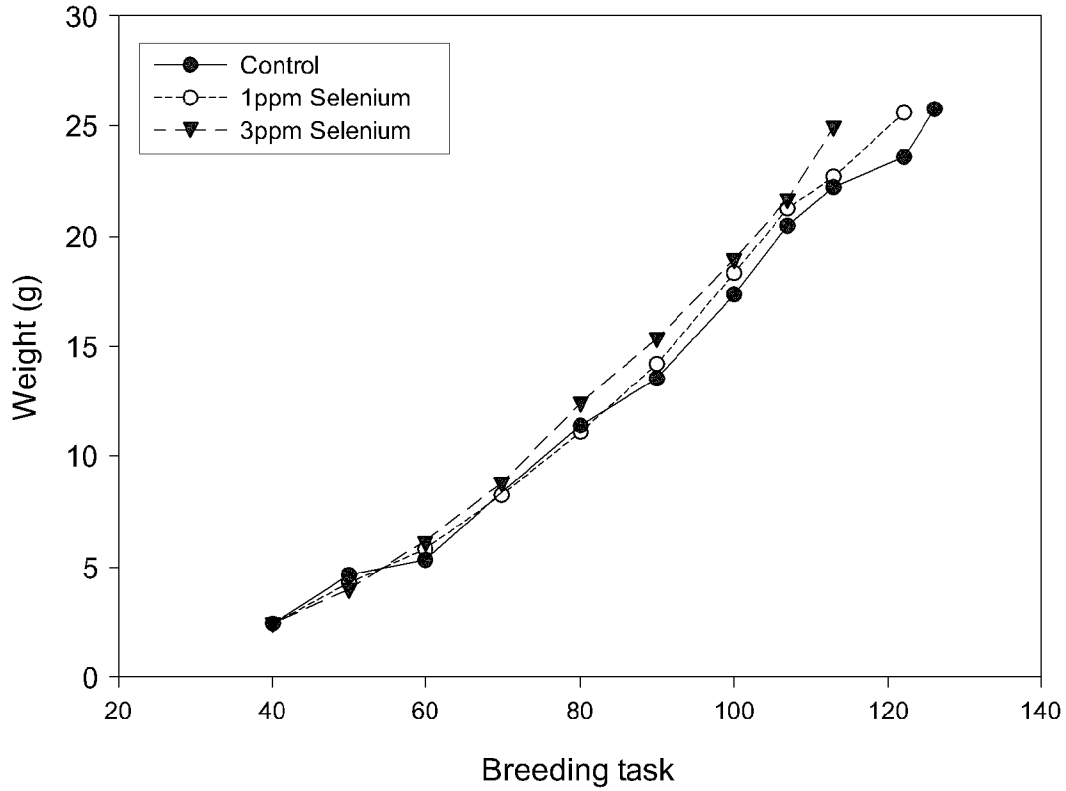
[도6]



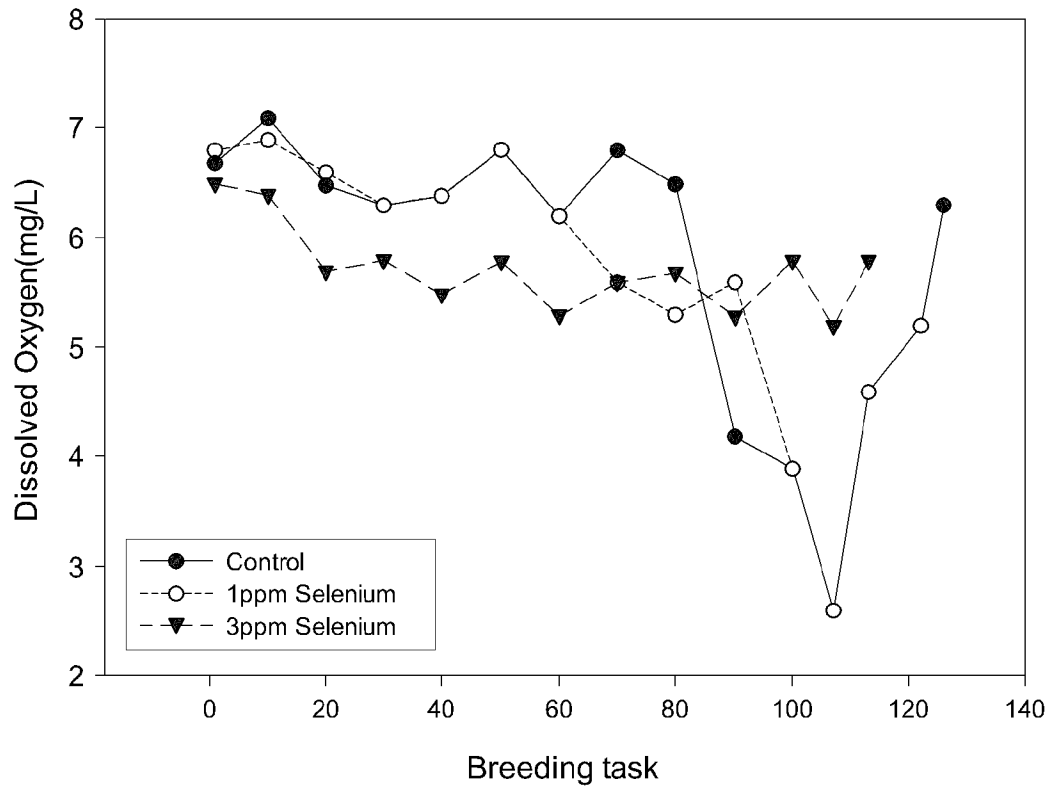
[도7]



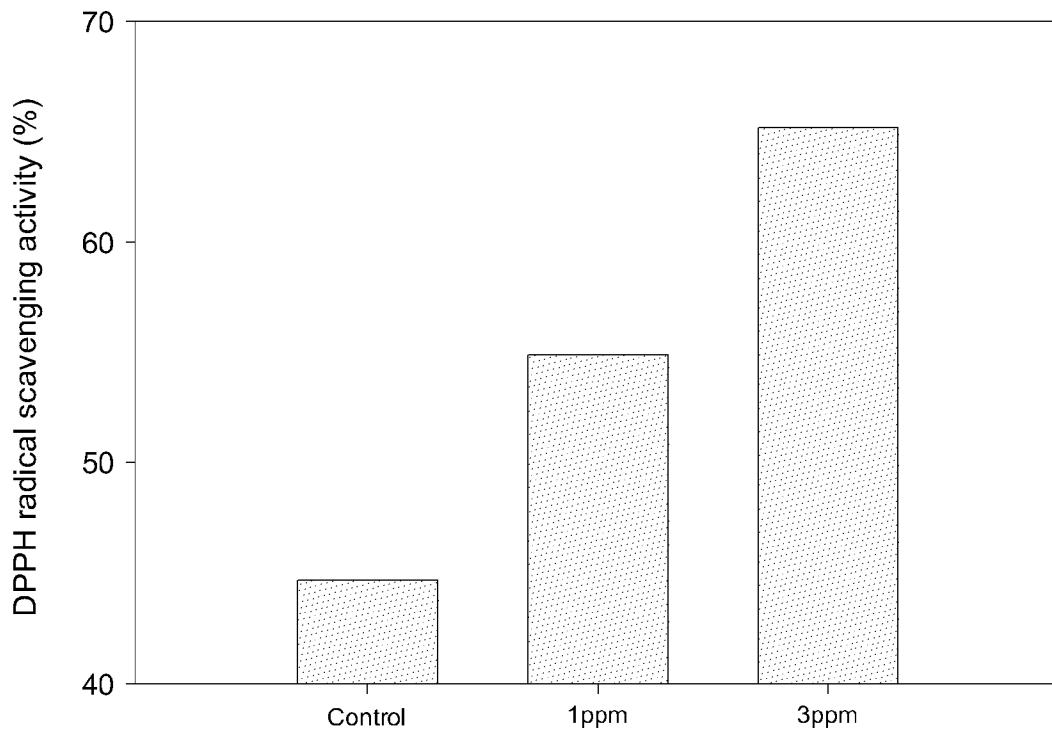
[도8]



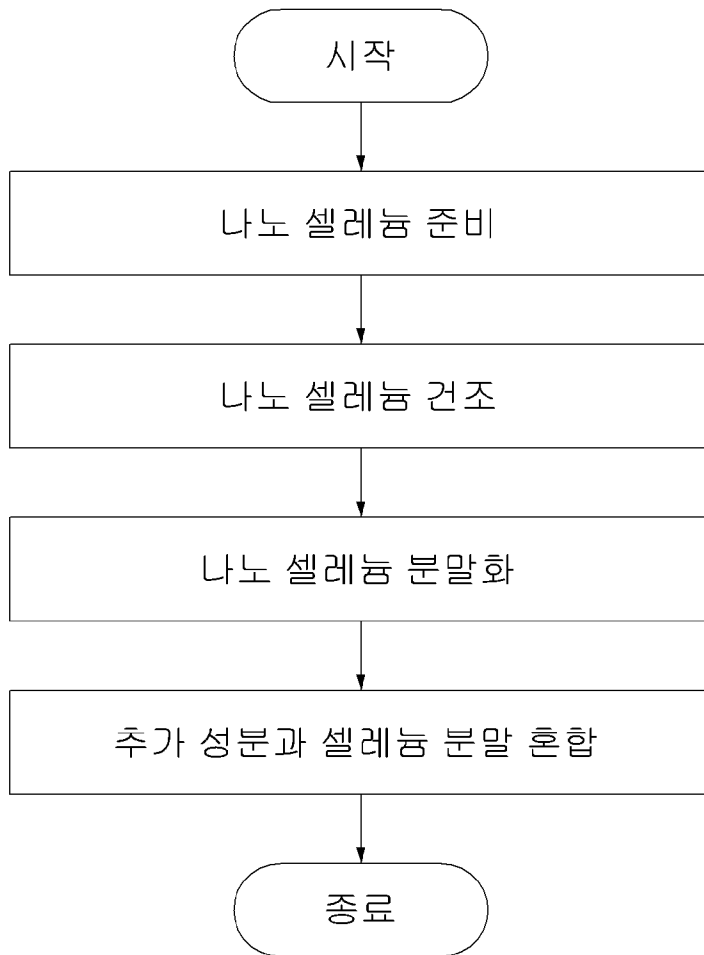
[圖9]



[圖10]



[도11]



[도12]

