



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0093620
(43) 공개일자 2021년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23K 20/153 (2016.01) A23K 10/18 (2017.01)
A23K 10/30 (2016.01) A23K 20/163 (2016.01)
A23K 30/20 (2016.01) A23K 40/10 (2016.01)
A23K 50/80 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23K 20/153 (2016.05)
A23K 10/18 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2020-0007437

(22) 출원일자 2020년01월20일

심사청구일자 2020년01월20일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

신현재
전라남도 화순군 도곡면 원화길 32

정윤수

광주광역시 서구 송풍로 30, 106동 205호 (풍암동, 에스케이뷰)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 남앤남

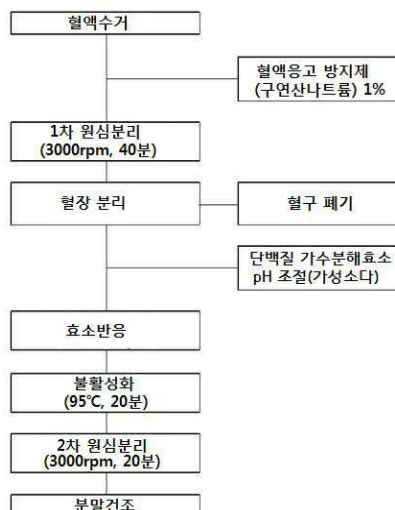
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 프로바이오틱스 및 돈혈장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 사료첨가제 조성물

(57) 요약

본 발명은 뱀장어용 사료첨가제 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 프로바이오틱스 및 돈혈장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 사료첨가제 조성물 및 상기 유효성분을 포함하는 뱀장어용 배합사료에 관한 것이다. 본 발명의 뱀장어용 사료첨가제 조성물은 돈혈장 가수분해물 및 클로렐라를 유효성분으로 포함함으로써 배합사료 내에 부족하기 쉬운 필수아미노산 함량을 증대시킴으로써 뱀장어 성장을 효과적으로 촉진시킬 수 있다. 또한, 프로바이오틱스(생균제) 및 올리고당을 유효성분으로 포함함으로써 장내 환경을 개선하고 전염가능성이 높은 병원성 세균에 대한 항균력과 면역력을 높여 뱀장어의 폐사율을 효과적으로 감소시킬 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A23K 10/30 (2016.05)

A23K 20/163 (2016.05)

A23K 30/20 (2016.05)

A23K 40/10 (2016.05)

A23K 50/80 (2016.05)

(72) 발명자

맹정무

전라남도 신안군 지도읍 연화동길 128

김재성

광주광역시 서구 화개중앙로87번길 15, 106동 304호 (금호동, 아텔리움&로제비앙 아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호

S2658633

부처명

중소벤처기업부

과제관리(전문)기관명

중소기업기술정보진흥원

연구사업명

산학연첫걸음기술개발사업

연구과제명

양식 뱀장어의 소화율과 증체율 향상을 위한 신규 EP사료 개발

기 여 율

1/1

과제수행기관명

(주)영화FEED

연구기간

2018.12.01 ~ 2019.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 사료첨가제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 돈혈장 가수분해물은 돈혈장에 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소를 처리하여 반응시킴으로써 제조되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소는 돈혈장 100중량부를 기준으로 1 내지 5중량부로 첨가되며, pH 7 ~ 8의 조건에서 6 ~ 8시간 반응시키는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 배합사료 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 배합사료는 압축건사료(Extruded Pellet)인 것을 특징으로 하는 조성물

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 뱀장어용 사료첨가제 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 프로바이오틱스 및 돈혈장 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 사료첨가제 조성물 및 상기 유효성분을 포함하는 뱀장어용 배합사료에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

세계적으로 뱀장어는 15종 3아종으로 18종으로 분류되고 있으며, 이 중 인도양과 태평양의 열대지방에 12종, 북반구의 온대지방에 3종 그리고 나머지 3종이 남태평양의 온대지방에 서식하고 있다. 뱀장어는 뱀장어목 뱀장어과의 어류로 바다에서 태어나 강에서 자라며, 잉어, 가물치 및 메기와 같은 대표적인 담수어종으로 몸길이 40~60 cm로 길고 원통형이며 피부가 미끌미끌하다. 뱀장어는 다른 어종에 비해 단백질, 지방, 비타민, 무기질 등이 풍부하게 함유되어 있는 대표적인 담수어종으로 한국, 일본, 중국 등 동남아시아에서는 기호식품으로 오래 전부터 애용되어왔다. 식용으로 이용되고 있는 종은 온대지방에 살고 있는 극동산 뱀장어(*Anguilla japonica*), 유럽산 뱀장어(*Anguilla anguilla*), 북미산 뱀장어(*Anguilla rostrata*)이다.

[0003]

극동산 뱀장어는 주로 우리나라, 중국, 대만, 일본 등에 서식하고 있는데 이탈리아에서 시작하여 일본에서 기술 집약적 양식으로 발전한 후, 현재는 중국, 대만 및 일본 등 아시아 전 지역에서 주로 양식이 이루어지고 있으며, 서로 경쟁관계에 있다. 우리나라 뱀장어 양식역사를 살펴보면, 1970년대 초반까지는 주로 연안에 실뱀장어를 입식한 뱀장어 양식이 시작되었는데, 뱀장어 양식방법은 자연산 실뱀장어를 채취 및 구매하여 포획하여 평균 중량 약 2 g까지 성장시켜 중간종묘로서 일본이나 대만으로 수출하다가, 후반에는 실내 순환여과 사육시스템으로 양식을 수행하였다. 뱀장어 양식업의 구조를 살펴보면 1970년대까지는 중간종묘산업에 불과했던 것이 1980년대에 들어와서 국민소득의 향상과 더불어 양질의 단백질 요구에 따라 뱀장어 양식의 선진국이었던 일본으로부터 양식 기술이 우리나라에 도입됨에 따라 점차 양식기술체제를 구축하였다. 그러다 1990년대 초반에 지수

식 양식방법을 통해 중간 종묘에서 성만 생산체제로 변화였고, 2000년대 접어들어서는 실용적인 순환여과식 시스템의 도입을 하여 양식을 하였다. 일반적으로 뱀장어는 자연에서 10-25℃ 정도의 수온에서 서식하지만 양식장에서는 뱀장어의 빠른 성장을 위해 비교적 높은 온도인 22-28℃에서 사육한다고 보고되어있다. 그러나 양식 뱀장어 종묘는 아직까지 인공 번식으로 생산된 실험장어로 사용하지 못하고 있어 자연으로부터 포획한 실험장어를 이용하고 있지만, 매년 포획되는 양도 일정치 못하며 지나친 포획에 의해 실험장어 자원고갈 등의 문제점이 야기되고 있다. 최근 뱀장어 양식업은 이러한 문제점으로 인해 실험장어 포획량 감소로 인한 가격 상승으로 인해 사료비, 유류비 및 기타 자재비가 증가해 양식비용이 증가하고 있어 양식경영에 매우 큰 어려움을 겪고 있다.

[0004]

어류 양식시 사료는 양식 생산비의 절반 이상을 차지하며, 어류의 성장과 품질을 좌우하는 매우 중요한 요소이다. 우리나라에서는 1980년대에 어류용 배합사료 연구 및 개발이 시작되었고, 2000년대 초반부터 본격적으로 양식 현장에 보급되었다. 주로 사용하는 어류용 사료는 크게 생사료, 분말사료, 습식사료(Moist Pellet: MP), 건식사료(Dry Pellet: DP), 압축건사료(Extruded Pellet: EP)로 구분하고 있다. 이 중에서 건식사료와 압축건사료를 배합사료라 하는데 부상사료, 반부상사료, 침강사료 등 가공물성 및 형태에 따라 다양한 사료가 존재한다. 습식사료는 어분을 주성분으로 한 분말과 생사료를 갈아 혼합해서 만들어 수분이 대체로 많으며, 건식사료는 어분 분말에 영양제 등의 첨가제를 넣어 만들어 수분함량이 10% 미만으로 매우 적다. 압축건사료는 건식사료와 비슷하지만 사출기를 통해 고온 압축하여 제조하는 점에서 차이가 있다. 예로부터 가격이 싼 어종인 정어리, 멸치 등을 사용한 생사료 또는 습식사료의 형태로 만들어 양식에 사용하였지만 1990년대 중반부터 정어리의 어획량이 급감하면서 생사료 가격이 폭등하였고, 생사료는 어획시기에 따라 양식어류의 성장에 필요한 영양 성분이 일정치 않거나 성장 장애를 초래하는 물질이 함유되어 있고, 생사료가 혼합된 습식사료 공급시 양식장의 수질을 오염시켜 어장환경을 악화시키며, 탄력성과 점착성 등 가공물성 및 형태 유지를 위해 탄수화물원료인 소맥분을 사용하게 되는데, 양어는 탄수화물을 에너지로 사용할 수 없어 탄수화물의 함량 비중이 크게 되면 폐사율 또한 높아지게 된다. 이렇게 여러 가지 문제가 지속적으로 제기되고 있어 해결책을 찾기 위해 많은 연구가 행해지고 있다.

[0005]

일반적으로 어류는 탄수화물에 대한 이용성이 낮아 다른 육상 동물에 비해 사료내 단백질이 차지하는 비율이 높고, 어류의 성장에 있어서 양어사료원료 비용 중 단백질원의 비용이 약 60% 이상을 차지하기 때문에 양어사료에서 양질의 단백질 원료의 선택은 매우 중요하며, 어류에게 단백질은 성장에 큰 영향을 미친다. 그렇기 때문에 시중에서 판매하고 있는 양어 사료 속 단백질 함량은 50% 정도 차지하고 있으며, 돼지, 닭, 개 사료에는 20-30% 정도 되어 있다. 그만큼 다른 동물들에 비해 어류사료에는 단백질이 많이 함유되어 있으며 단백질이 어류에게 가장 중요한 성분이라고 할 수 있다.

[0006]

한편, 가축폐기물은 국민의 생활 향상 및 소득의 증대로 인해 육류소비가 늘어남에 따라 이와 함께 소, 돼지, 닭 등의 도축되는 가축의 수 및 도축과정에서 발생하는 도축혈액(slaughter blood) 또한 증가하고 있다. 유기성 폐기물 중 가축폐기물은 가축을 사육하면서 발생하는 축사배수, 가축오수, 분뇨 등의 폐기물을 말하는데 도축혈액도 가축 폐기물의 범주에 포함된다. 도축되는 가축 두 수는 2018년 기준 소는 약 8,670,000 두, 돼지 약 17,368,000 두로 10년 전 대비 1.12배 및 1.25배로 증가하였다. 가축 혈액량은 일반적으로 돼지 1 두당 6.7 L(100 kg 기준), 소 1 두당 27 L(450 kg 기준)로 많은 양이 도축과정에서 방혈되고 있다. 선진국에서는 이러한 가축 혈액을 이용하여 각종 유용물질을 생산하는 연구를 하고 있고, 일부가 상품화되어 제품으로 공급되고 있으나 우리나라에서는 자원으로 이용되는 것이 아니라 소의 경우 선지용으로, 돼지의 경우 순대용으로 일부만 판매되고 있는 것을 제외하고, 대부분 해양배출에 의해 처리되고 있어 유용자원의 낭비는 물론 부패가 빨리 취급하기 어려워 환경의 주요 오염원으로서도 문제를 낳고 있다. 대부분 폐수처리나 해양배출에 의해 처리되는 도축혈액은 해양 배출시 도축장의 거리에 따라 비용의 차이가 있지만 평균 톤당 약 80,000원의 비용이 발생하여 연간 처분 비용은 60억에 육박하며, 2013년부터는 '96 의정서' 발효에 따른 해양오염방지법 시행 규칙 개정으로 도축혈액을 포함한 폐기물의 해양배출 기준이 대폭 강화되어 해양배출이 금지되어 대부분 폐수처리 되고 있다. 하지만 이러한 혈액에는 다량의 단백질(protein)이 함유되어 있으며, 가치가 매우 높은 원료이다.

[0007]

이에, 본 발명자는 필수아미노산이 풍부하여 뱀장어 양식을 효과적으로 이끌어낼 수 있는 사료 첨가제 조성물을 연구하고자 하였으며, 그 결과 돈혈장 가수분해물이 필수아미노산 함량이 풍부하여 뱀장어 양식에 유용한 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2014-0142897호
(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-1514457호
(특허문헌 0003) 한국등록특허 제10-1302299호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 따라서 본 발명의 목적은 뱀장어 양식을 위한 사료첨가제 조성물을 제공하는 것이다.
[0010] 본 발명의 또 다른 목적은, 뱀장어 양식을 위한 배합사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서,
[0012] 본 발명은 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 사료첨가제 조성물을 제공한다.
[0013] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 돈혈장 가수분해물은 돈혈장에 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소를 처리하여 반응시킴으로써 제조될 수 있다.
[0014] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소는 돈혈장 100중량부를 기준으로 1 내지 5중량부로 첨가되며, pH 7 ~ 8의 조건에서 6 ~ 8시간 반응시킬 수 있다.
[0015] 또한, 본 발명은 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 배합사료 조성물을 제공한다.
[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 배합사료는 압축건사료(Extruded Pellet)일 수 있다.

발명의 효과

- [0017] 본 발명의 뱀장어용 사료첨가제 조성물은 돈혈장 가수분해물 및 클로렐라를 유효성분으로 포함함으로써 배합사료 내에 부족하기 쉬운 필수아미노산 함량을 증대시킴으로써 뱀장어 성장을 효과적으로 촉진시킬 수 있다. 또한, 프로바이오틱스(생균제) 및 올리고당을 유효성분으로 포함함으로써 장내 환경을 개선하고 전염가능성이 높은 병원성 세균에 대한 항균력과 면역력을 높여 뱀장어의 폐사율을 효과적으로 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1a는 본 발명의 돈혈장 가수분해물의 제조과정을 간략하게 도시한 모식도이다.
도 1b는 돈혈장과 혈구를 분리하는 과정을 보여주는 사진이다.
도 1c는 돈혈장 분말을 보여주는 사진이다.
도 1d는 돈혈장에 단백질 가수분해효소를 처리한 반응물을 보여주는 사진이다.
도 1e는 본 발명의 돈혈장 가수분해물 분말을 보여주는 사진이다.
도 2는 본 발명의 돈혈장 가수분해물의 SDS-PAGE 결과를 나타낸 것이다.
도 3은 시중에 판매하는 클로렐라 분말을 나타낸 사진이다.
도 4는 본 발명의 배합사료를 나타낸 사진이다.
도 5는 본 발명의 배합사료 급이에 따른 날짜별 뱀장어의 사료섭취량을 측정하여 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 본 발명은 뱀장어용 사료첨가제 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.

- [0020] 본 발명은 양식 뱀장어의 성장 촉진과 더불어 폐사율을 감소시키기 위하여 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 이용하는 것을 가장 큰 특징으로 한다.
- [0021] 본 발명에서 ‘돈혈장 가수분해물’은 돼지로부터 얻은 혈액 중 혈구를 제외한 혈장 성분에 단백질 가수분해효소를 첨가하여 반응시킴으로써 제조되는 가수분해물을 의미한다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 단백질 가수분해효소는 알칼라아제(alcalase), 뉴트라제(neutrase), 프로타맥스(protamex), 브로멜라인(bromelain), 플라보르자임(flavourzyme) 등을 예시할 수 있으며, 바람직하게는 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소일 수 있으며, 가장 바람직하게는 알칼라아제(alcalase)와 플라보르자임(flavourzyme)이 1:1 중량비로 혼합된 복합효소일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 돈혈장 가수분해물은 알칼라아제(alcalase), 플라보르자임(flavourzyme) 또는 이들의 복합효소를, 돈혈장 100중량부를 기준으로 1 내지 5중량부로 첨가하여, pH 7 ~ 8의 조건에서 6 ~ 8시간 반응시킴으로써 제조할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 하기 실시예에서는, 상기 과정을 통해 제조한 돈혈장 가수분해물의 경우 대조군(돈혈장) 대비 필수 아미노산의 함량이 두드러지게 증대되는 것을 확인하였다.
- [0025] 본 발명에서 ‘클로렐라(chlorella)’는 민물에 자라는 녹조류(綠藻類)에 속하는 단세포 생물로서 플랑크톤의 일종으로 클로렐라는 50~60%가 단백질, 15~20%가 탄수화물, 엽록소, 비타민, 미네랄, 식이섬유 등과 같은 각종 영양소가 풍부한 것으로 알려져 있다. 1일에 2g정도의 클로렐라를 섭취하는 것만으로 단백질 효율적인 섭취가 가능하며, 클로렐라의 단백질 중에 함유된 핵산은 성장 촉진효과를 가지고 있다.
- [0026] 본 발명에서 상기 돈혈장 가수분해물과 클로렐라는 배합사료 내에 부족하기 쉬운 필수아미노산 함량을 증대시킴으로써 뱀장어 성장을 효과적으로 촉진시키는 역할을 한다.
- [0027] 본 발명에서 ‘생균제’는 유해 미생물에 대한 저항성 증진을 통한 가축 또는 양식 어류의 생산성 증진을 위해 가축에 급여하기 위한 살아있는 유산균을 의미하며, 프로바이오틱스(probiotics)라고도 불린다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 상기 생균제는 종래 알려진 다양한 유산균 일종이나 이들이 혼합된 형태일 수 있다. 예를 들어, 바실러스속(*Bacillaceae*) 균주, 스트렙토마이세스속(*Streptomyces*) 균주 및 스펅고박테리움속(*Sphingobacteriaceae*) 균주로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 균주일 수 있으나, 특별히 그 종류를 한정하는 것은 아니다. 생균제는 시중에서 판매되는 파우더 형태의 생균제를 사용할 수 있고 있으며, 직접 유산균을 배양하여 사용할 수도 있다.
- [0029] 본 발명에서 생균제(프로바이오틱스)는 뱀장어의 장내에 서식하는 유익한 균을 증식시킴으로써 장내 환경을 개선하고, 전염가능성이 높은 병원성 세균에 대한 항균력과 면역력을 높여 뱀장어의 폐사율을 효과적으로 감소시킬 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 ‘올리고당’은 적은 수의 단당류(2-10개)를 포함한 당 고분자를 의미한다.
- [0031] 본 발명에 있어서, 상기 올리고당은 이소말토올리고당, 플라кто올리고당, 갈락토올리고당, 대두올리고당, 만난올리고당 등을 예시할 수 있으며, 바람직하게는 프락토올리고당일 수 있다. 올리고당은 시중에서 판매되는 올리고당을 사용할 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 올리고당은 뱀장어의 장내에 서식하는 유익한 균을 증식시킴으로써 장내 환경을 개선하고, 유해한 세균을 억제하며, 면역력을 강화와 더불어 소화와 흡수를 촉진하여 뱀장어의 폐사율을 효과적으로 감소시킬 수 있다.
- [0033] 본 발명자는 양식 뱀장어의 성장을 효과적으로 증대시키면서 동시에 폐사율을 개선시킬 수 있는 사료첨가제를 개발하고자 상기와 같은 특징을 갖는 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 이용하였으며, 실험 결과 기존의 뱀장어 배합사료에 상기 성분들을 첨가하여 뱀장어에게 급여하는 경우 대조군 대비 뱀장어의 증체율과 사료효율이 두드러지게 증대되며, 폐사율이 효과적으로 감소되는 것을 확인하였다.
- [0034] 따라서 본 발명은 양식 뱀장어의 성장을 촉진하고 폐사율을 감소시키는 사료첨가제 조성물로서, 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 것을 그 특징으로 한다.
- [0035] 또한, 본 발명은 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 유효성분으로 포함하는 뱀장어용 배합사료 조성물을 제공한다.

- [0036] 본 발명에서 ‘배합사료’는 양식하고자 하는 어류의 종류와 사육 목적에 맞는 영양분을 골고루 공급하기 위하여 몇 가지 원료 사료를 알맞게 배합하여 만든 사료를 의미한다. 이러한 배합사료는 양식하고자 하는 어류의 종류에 따라서 그 필요한 성분 및 조성 그리고 적합한 조성 비율이 모두 당업계에 공지되어 있으며, 또한 시판되고 있기 때문에 당업자라면 누구나 매우 용이하게 이를 제조 또는 구입하여 사용할 수 있을 것이다.
- [0037] 종래에 알려진 기본적인 뱀장어용 배합사료는 그 구성성분으로서 어분, 알과전분, 미네랄, 비타민 등을 포함하고 있다.
- [0038] 본 발명의 배합사료는 상기와 같은 구성성분 이외에 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 더 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 배합사료는 압축건사료(Extruded Pellet: EP)일 수 있다.
- [0040] 주로 사용하는 어류용 사료는 크게 생사료, 분말사료, 습식사료(Moist Pelle: MP), 건식사료(Dry Pellet: DP), 압축건사료(Extruded Pellet: EP)로 구분하고 있으며, 이 중에서 건식사료와 압축건사료가 배합사료에 해당한다.
- [0041] 습식사료는 어분을 주성분으로 한 분말과 생사료를 같이 혼합해서 만들어 수분이 대체로 많으며, 건식사료는 어분 분말에 영양제 등의 첨가제를 넣어 만들어 수분함량이 10% 미만으로 매우 적다. 압축건사료는 건식사료와 비슷하지만 사출기를 통해 고온 압축하여 제조하는 점에서 차이가 있다. 예로부터 가격이 싼 어종인 정어리, 멸치 등을 사용한 생사료 또는 습식사료의 형태로 만들어 양식에 사용하였지만 1990년대 중반부터 정어리의 어획량이 급감하면서 생사료 가격이 폭등하였고, 생사료는 어획시기에 따라 양식어류의 성장에 필요한 영양 성분이 일정치 않거나 성장 장애를 초래하는 물질이 함유되어 있고, 생사료가 혼합된 습식사료 공급시 양식장의 수질을 오염시켜 어장환경을 악화시키며, 탄력성과 점착성 등 가공물성 및 형태 유지를 위해 탄수화물원료인 소맥분을 사용하게 되는데, 양어는 탄수화물을 에너지로 사용할 수 없어 탄수화물의 함량 비중이 크게 되면 폐사율 또한 높아지게 된다. 한편, 분말사료는 양식장 현장에서 적절한 양의 물과 배합하여 다양한 첨가제 사용 조절을 통해 양식장 현장의 상황에 필요한 조건에 따른 적절한 배합이 가능한 이점이 있으나, 어분 구매 시 소화 흡수에 따른 영양학적 요구성과 점성에 따른 물리적 제형성(전분과의 호환성)을 고려해야 하는 단점이 있다.
- [0042] 이에, 본 발명에서는 뱀장어용 사료로 배합사료의 일종인 압축건사료(EP)를 제공함으로써, 상기와 같은 생사료, 습식사료 및 분말사료의 문제점을 극복하고자 하였다.
- [0043] 또한, 본 발명은 뱀장어용 배합사료의 제조방법을 제공한다.
- [0044] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 제조방법은 뱀장어용 기본 배합사료 조성(어분, 알과전분, 미네랄 및 비타민 포함)에 돈혈장 가수분해물, 클로렐라, 생균제 및 올리고당을 첨가하여 혼합한 뒤 일정한 펠렛 형태로 압축 성형하고 건조하여 제조할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 제조방법은 뱀장어용 기본 배합사료 조성(어분, 알과전분, 미네랄 및 비타민 포함)에 돈혈장 가수분해물 및 클로렐라를 첨가하여 혼합한 뒤 일정한 펠렛 형태로 압축 성형하고, 이후 상기 펠렛에 올리고당과 생균제를 포함하는 코팅용 조성물로 코팅하여 제조할 수 있다. 이렇게 제조된 펠렛은 건조한 다음 마지막으로 유화제나 오일을 분무하여 2차 코팅할 수 있다.
- [0046] 상기와 같은 방법으로 제조된 펠렛은 냉각하여 산화 또는 표면 수분 응축에 대비해 안전하게 보관할 수 있다.
- [0048] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] <실시예>
- [0052] 실험 재료
- [0053] 본 실험에서 사용한 혈액은 담양에 위치한 ㈜참푸른Global 도축장에서 공급받아 사용하였으며, 혈액응고제로 Daejung (Daejung chemicals & metals Co., Gyeonggi-do, Republic of Korea)의 sodium citrate dihydrate

extra pure 급을 사용하였고, 단백질 분해 효소는 Novozyme (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark)의 Alcalase[®] 2.4L FG 및 Flavourzyme[®] 500MG를 구입하여 사용하였고, 이 외 분석에 사용한 시약 및 용매는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 클로렐라는 대상주식회사에서 구입하여 사용하였다.

<실시예 1>

돈혈장 가수분해물 준비 및 이의 특성 분석

<1-1> 돈혈장 가수분해물 제조

돈혈에 sodium citrate dihydrate를 혈액량의 1% (w/v) 첨가하여 응고를 방지하였다. 채취한 혈액은 24시간 이내에 원심분리기 Combi-514R (Hanil science Co., Daejeon, Republic of Korea)를 사용하여 3,000 rpm에서 40분 동안 혈장과 혈구로 분리하여 4℃에서 냉장보관하였다. 혈장은 동결건조기(Mareuda Co., Gwangju, Republic of Korea)를 사용하여 분말로 제조한 후 실험 시료로 사용하였다. 이때, 전체 혈액에서 분리된 혈장은 약 70%였으며(약 3.5L), 동결건조를 진행한 혈장 분말 수율은 약 10.62%로 총 371.7g의 혈장 분말을 얻었다.

준비된 혈장은 10mM sodium phosphate buffer을 사용하여 5% (w/v) 혼합물의 형태로 제조한 후, water bath 95℃에서 10분 동안 자가 효소를 불활성화 시켰다. 이후 가수분해 효소인 alcalase 단독, flavourzyme 단독 및 이들 두가지 효소를 1:1의 비율로 혼합한 복합효소를 첨가한 후 shaking incubator JSSI-100T (JSR Co., Gongju, Republic of Korea)에서 이들 효소의 최적 온도 및 pH 조건을 참고하여 가수분해를 진행하였다(하기 표 1 참조). 상기 가수분해 효소는 혈장 대비 1 내지 5중량%로 첨가하였다. 이후, 95℃에서 20분 동안 가열하여 효소를 불활성화시켜 원심분리기 Combi-514R (Hanil science Co., Daejeon, Republic of Korea)를 사용하여 3,000 rpm, 4℃, 20분 동안 분리 하였다. 상등액만 수거하여 동결건조기 (Mareuda Co., Gwangju, Republic of Korea)를 사용하여 분말로 제조한 후 분석시료로 사용하였다.

표 1

효소별 pH 및 온도 설정

효소	pH	온도(℃)
alcalase	8.0	50-60
flavourzyme	5.0-7.0	50
alcalase+flavourzyme	8.0	50

<1-2> 가수분해도(Degree of hydrolysis, DH) 측정

혈장 단백질 가수분해도를 측정하기 위해 Nielsen 등의 OPA method에 따라 시료 400 uL에 O-phthaldialdehyde (OPA) reagent 3 mL를 첨가하여 5초 동안 섞어준 뒤 2분 동안 반응시켜 SCINCO UV-Vis spectrophotometer s-3100 (Seoul, Korea)를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 가수분해도는 다음과 같이 계산하였다. OD_{total} 는 6 N HCl, 110℃에서 24시간 동안 가수분해시킨 시료의 흡광도이며, 시험은 3회 반복하였다.

$$DH (\%) = \left(\frac{OD_{sample} - OD_{blank}}{OD_{total} - OD_{blank}} \right) \times 100$$

그 결과, 하기 표 2에서 나타낸 바와 같이, 효소 단일 처리군보다 복합효소 처리군의 가수분해도가 높은 것으로 확인되었다. 펩타이드 내부를 절단하는 효소와 말단을 절단하는 효소 두 가지를 사용한 가수분해물이 같은 농도일 때 더 효과적인 것으로 확인되었다.

표 2

[0069] 단일효소 및 복합효소 처리한 가수분해물의 가수분해도

기질대비 효소농도 (중량%)	시간(h)	가수분해율(%)		
		alcalase	flavourzyme	alcalase + flavourzyme
1	3	24.92	18.43	42.49
1	6	28.85	26.25	58.06
2.5	3	35.14	32.18	59.48
2.5	6	42.45	38.44	77.45
5	3	37.94	35.40	68.33
5	6	42.67	40.47	82.3

[0071] <1-3> 가수분해물의 총 단백질 함량 측정

[0072] 가수분해물의 총 단백질 함량은 Brad ford 방법을 변형하여 측정하였다. 증류수 500 μ L, 분석시료 20 μ L, PBS buffer(pH 7.0)를 사용하여 Bradford reagent를 5배 희석한 Bradford reagent 300 μ L를 첨가한 다음, 약 10초 간 Vortexing하고 5분간 실온에 방치한 후, 595nm에서 흡광도를 측정 후, Bovine serum albumin으로 작성한 표준 검량곡선에 따라 단백질 함량을 측정하였다.

[0073] 그 결과 하기 표 3에서 나타낸 바와 같이, 가수분해 시간이 증가할수록 가수분해물의 단백질 함량은 다소 감소하는 경향을 나타냈으며, 2.5%, 5% 사이의 단백질량은 크게 차이가 나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

표 3

[0075] 가수분해 조건별 단백질 정량 결과

기질대비 효소농도 (중량%)	시간(h)	단백질 (mg/ml)		
		alcalase	flavourzyme	alcalase + flavourzyme
1	3	0.597	0.572	0.560
1	6	0.488	0.480	0.483
2.5	3	0.587	0.524	0.519
2.5	6	0.560	0.512	0.484
5	3	0.535	0.550	0.572
5	6	0.427	0.452	0.478

[0077] <1-4> SDS-PAGE를 통한 단백질 분자량 크기 확인

[0078] 효소처리 전 혈장단백질과 최적 조건에서 처리된 가수분해물의 분자량을 확인해보기 위하여 SDS-PAGE를 실시하였다. 12.5% Separating gel과 4% Stacking gel을 제조 후 단백질의 분자량 크기를 확인하였다. 효소를 첨가하지 않은 혈장을 대조군으로 사용하였다(CON).

[0079] 그 결과 도 2에서 나타낸 바와 같이, 효소 처리한 가수분해물의 경우 대조군(CON)에 비해 단백질이 분해된 것을 확인할 수 있었다. 72 kDa 이상의 단백질은 거의 분해된 것을 확인하였고, 26-72 kDa 사이에 위치한 55 kDa 밴드가 희미하게 남아있었으며, 효소 처리를 하지 않은 혈장단백질에 들어있던 26 kDa, 17 kDa 크기의 단백질은 모두 분해된 것으로 확인되었다. 한편, 2.5%, 5.0% 6시간 가수분해물은 크게 차이가 없는 것으로 나타났다.

[0081] <1-5> 가수분해물의 아미노산 성분분석

[0082] 상기 실시예 <1-2> 내지 <1-4>를 통해 돈혈 가수분해물 제조에 있어서, 기질대비 효소농도 2.5% 및 6시간 반응

조건이 효과적이라고 판단되는바, 본 실험에서는 상기 조건으로 제조된 돈혈 가수분해물의 아미노산 성분을 분석하였다.

[0083] 아미노산 분석은 동결건조된 가수분해물을 약 0.5 g을 captube에 넣어 6 N HCl 5 mL를 첨가한 후 115℃의 dry oven에서 24시간 동안 가수분해하였다. 가수분해액을 glass wool로 거른 후 분별깔대기를 이용하여 ether로 지방과 색소를 씻어내어 그 하층액을 받아내었다(2회 반복). 다음으로 진공회전증발농축기(Eyela N-N, Tokyo Rikakikai Co. Ltd., Japan)에서 2 mL 정도로 농축, citric buffer (pH 2.2)로 정용(25 mL)한 후 0.45 μm filter (Membrane filter, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과해 분석 시료로 사용하였고, 아미노산자동분석기(S433-H, Sykam Co., Eresing, Germany)로 분석하였으며, 분석조건은 아래 표 4와 같다.

표 4

아미노산 분석 조건

Instrument	S433-H (SYKAM)
Column	Cation separation column (LCA K06/Na)
Column size	4.6 × 150 mm
Column temperature	57-74 °C
Flow rate	Buffer 0.45 mL/min, reagent 0.25 mL/min
Buffer pH range	3.45-10.85
Wavelength	Fluorescence spectrophotometer (440 nm and 570 nm)

[0087] 분석 결과, 하기 표 5에서 나타낸 바와 같이, 효소를 처리하지 않은 혈장 대비 효소를 이용하여 가수분해를 진행한 가수분해물에서 전체적인 아미노산 함량 증대와 더불어, 필수 아미노산의 함량이 두드러지게 증대되는 것을 확인할 수 있었다. 특히, 복합효소 가수분해물의 경우 단일효소 가수분해물 대비 필수 아미노산의 함량이 더욱 증대되는 것으로 나타났다.

표 5

아미노산 성분분석 결과(mg/100g)

아미노산	CON(혈장)	alcalase	flavourzyme	alcalase + flavourzyme
Threonine	5.4	98.077	76.045	139.097
Valine	9	135.150	77.025	157.669
Methionine	1.9	22.546	15.025	50.982
Isoleucine	3.5	32.223	42.124	83.233
Leucine	7.1	89.525	58.988	231.731
Phenylalanine	6.6	112.723	42.058	132.210
Lysine	14.6	88.250	137.253	169.929
Glutamic acid	30.5	78.502	103.912	69.553
Aspartic acid	2.3	82.324	27.653	39.896
Arginine	20.1	58.421	51.025	145.583
Glycine	29.5	28.529	33.012	30.279
Alanine	25.3	40.690	37.782	81.018
Cysteine	32.4	56.125	79.452	67.942
Tyrosine	4.9	38.452	12.577	44.616
Histidine	4.5	90.093	82.023	79.578
Serine	4.9	48.458	58.254	141.299
Proline	8.6	10.480	14.852	9.308

[0091] <1-6> 반응표면분석법을 통한 돈혈장 가수분해 최적 조건 규명

[0092] 상기와 같은 실험 이외에 돈혈장 가수분해를 위한 반응표면분석법을 통해 최적 조건을 규명하였는데, 그 결과 pH 7.88, 기질대비 효소비율(E/S, %) 1.06, 반응시간 449분에서 돼지 혈장의 가수분해 효율이 가장 우수한 것으로 나타났다(결과 미도시).

[0094] <실시예 2>

[0095] 클로렐라 성분분석

[0097] <2-1> 클로렐라 수급

[0098] 본 발명에서는 대상주식회사에서 판매되는 담수 클로렐라로 파우더를 구입하여 실험에서 사용하였다(도 3 참조). 대상주식회사에서 판매되고 있는 클로렐라 제품의 성분은 아래 표 6에서 자세히 나타내었다.

표 6

[0100] 대상주식회사에서 제공하는 클로렐라(*Chlorella vulgaris*) 성분 분석표

Component	Unit	Content (g)
Calories	kcal/100g	427
Total Carbohydrate	g/100g	24.5
Protein	g/100g	54.3
Fet	g/100g	12.4
Moisture	g/100g	3.64
Ash	g/100g	5.12
Saturated Fat	g/100g	3.7
Trans Fat	g/100g	0.118
Sodium(Na)	mg/100g	6.41
Calcium(Ca)	mg/100g	19
Iron(Fe)	mg/100g	30.2
Potassium(K)	mg/100g	869
Phosphorus(P)	mg/100g	1424

[0102] <2-2> 클로렐라의 비타민 및 무기질 분석

[0103] 본 실험에서는 클로렐라의 비타민 및 무기질분석은 ICP-OES와 HPLC로 분석을 진행하였다. 비타민 분석 방법은 시료 4 g에 ascorbic acid 0.1 g과 ethanol 30 mL를 첨가하여 균질화한 후 80℃에서 20분간 추출한 다음 50% KOH용액 0.25 mL를 첨가하고 증류수 3 mL와 hexane 5 mL를 가하여 3,000 rpm에서 20분간 원심분리시킨 다음 잔사에 hexane 5 mL를 가하여 균질화한 후 80℃에서 20분간 추출시켜 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 상등액을 합하여 무수황산나트륨을 가해 탈수시킨 후 50℃에서 감압 농축하고 methanol로 용해시킨 후 membrane filter(0.45 μ m)로 여과하여 비타민 A와 E를 다음과 같이 HPLC로 분석하였다. 아래 표는 비타민 분석 방법을 정리한 것이다.

표 7

[0105]

비타민 분석 방법

Model	LC-10Avp Shimadzu Co., JAPAN
Column	Phenomenex Luna 5 um C18(250×4.6 mm)
Mobile phase	Acetonitrile : 2-Propanol (95 : 5)
Flow rate	1.0 mL/min
Inj.Volume	20 μL
Detection	UV-VIS Detector(254nm) Spectrofluorometri Detector(EX:290nm, EM:330nm)

[0107]

클로렐라에 함유되어 있는 무기질 분석결과 P 24,660ppm, Ca 195ppm, K 6,128ppm, Mg 3,839ppm, Na 55.8ppm, Fe 325ppm 로 확인되었다.

[0108]

또한, 클로렐라에 함유되어 있는 비타민 분석 결과 비타민 B군의 B1, B3는 검출되지 않았으며, 나머지 비타민 A 111 ppm, E 12 ppm, C 350 ppm, B6 11 ppm, B12 5 ppm 으로 나타났다.

표 8

[0110]

비타민 분석 결과(Unit : ppm)

Composition name	contents
Vitamin A	111.9476
Vitamin E	12.4039
Vitamin C	350.0774
B1(thiamine)	N.D.
B3(Nicotinic acid)	N.D.
B6(pyridoxine)	11.2458
B12(cyanocobalamin)	5.1117

[0112]

<실시예 3>

[0113]

뱀장어용 사료 조성물 제조 및 사료 급여에 따른 효과

[0115]

<3-1> 뱀장어용 사료 조성물 제조

[0116]

본 발명의 뱀장어용 사료는 종래 (주)유안사료에서 판매되는 뱀장어용 사료(유안 3호) 조성에 올리고당, 생균제(바실러스 썬틸리스), 클로렐라, 및 상기 실시예 <1-1>을 통해 준비된 돈혈장 가수분해물(복합효소 가수분해물 이용)을 첨가 혼합한 뒤 일정한 펠렛 형태로 압축 성형하고 건조하여 제조하였다(하기 표 9 및 도 4 참조). 사료 생산 과정에서 올리고당 및 생균제의 분사가 어려워 올리고당은 클로렐라와 섞고, 생균제는 파우더 상태로 투입하였다. 참고로, (주)유안사료에서 판매되는 뱀장어용 사료 유안 3호는 어분, 전분 및 첨가물을 포함하고 있다.

표 9

[0118]

본 발명의 뱀장어용 사료 조성물의 구성 및 조성비

구성	조성비(중량부)
시중판매 사료 (주)유안사료 '유안 3호')	100
올리고당	0.5
생균제(<i>Bacillus subtilis</i>)	0.1

담수산 클로렐라	0.5
돈혈장 가수분해물	0.5

[0120] <3-2> 본 발명의 뱀장어용 사료 조성물 급이에 따른 효과

[0121] 상기 실시예<3-1>을 통해 제조된 본 발명의 뱀장어용 사료 조성물을 양식용 뱀장어에 급여하여 사육하였다. 대조군으로 (주)유안사료 ‘유안 3호’를 급여하였다. 뱀장어 식이 공급은 각 군당 약 10,000 마리의 뱀장어를 대상으로 신흥 양만장 감독관 관리하에 진행하였으며, 식이는 오전 6시, 오후 5시 30분, 1일 2회 공급하였다. 수조의 평균수온은 25~26℃로 유지하였으며, 총 32일간(2019년 12월 6일부터 2020년 1월 6일 까지) 식이 공급을 시행하였다.

[0122] 실험군과 대조군은 사료 공급량을 동일하게 하였으며, 사육기간 동안의 뱀장어의 사료섭취량, 증체율, 사료효율 및 폐사율을 측정을 통해 본 발명 사료조성물의 효과를 측정하였다. 증체율, 사료효율 및 폐사율을 하기 계산식을 통해 도출하였다.

[0123] - 증체율 = (증체량/실험개시시 어체중)×100

[0124] - 사료계수 = 총 사료공급량/총 증체량

[0125] - 사료효율 = (1/사료계수)×100

[0126] - 폐사율 = (폐사마리수/실험개시시 어체수)×100

[0128] 그 결과 도 5에서 나타난 바와 같이, 사육기간 동안의 뱀장어의 사료섭취량은 대조군 대비 실험군에서 시간 경과에 따라 증대되는 것으로 나타났으며, 기존 사료(주)유안사료 ‘유안 3호’)보다 기호성이 우수한 것을 확인할 수 있었다.

[0129] 또한, 하기 표 10에서 나타난 바와 같이, 본 발명의 사료조성물을 급여한 실험군의 경우 대조군 대비 증체율, 사료효율이 우수하며, 폐사율이 두드러지게 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

표 10

[0131] 사료 급이 생육결과

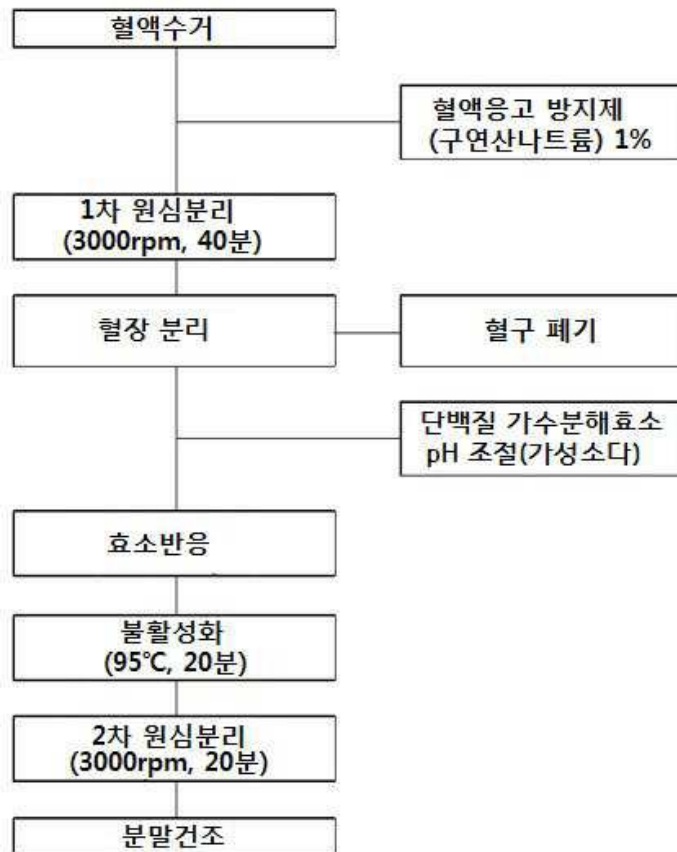
		대조군	실험군
실험전	총중량(kg)	1249	1237
	어체수(마리)	10245	10139
	평균중량(g)	121.92	122.00
실험후	총중량(kg)	1598	1700
	어체수(마리)	10112	10092
	평균중량(g)	158.03	168.45
증체율(%)		29.62	38.06
총 증체량(kg)		365.14	468.77
총 사료공급량(kg)		470	470
사료계수		1.2872	1.0026
사료효율(%)		77.69	99.74
폐사율(%)		1.30	0.46

[0133] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에

있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1a



도면1b



도면1c



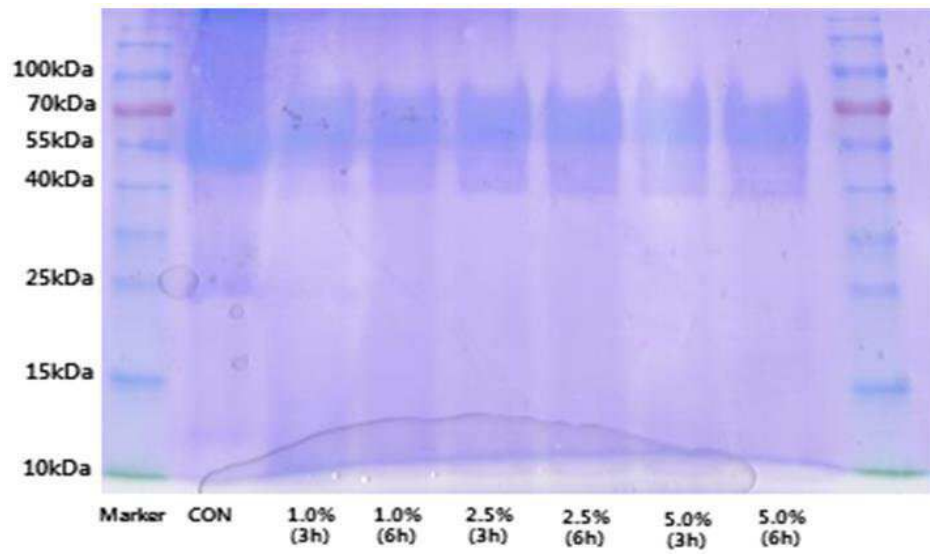
도면1d



도면1e



도면2



도면3



도면4



도면5

