

출원번호통지서

출원일자 2025.01.17
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)
출원번호 10-2025-0007076 (접수번호 1-1-2025-0065177-85)
(DAS접근코드860E)
출원인명칭 경북대학교 산학협력단(2-2004-001684-4)
대리인성명 특허법인 태백(9-2008-100101-3)
발명자성명 황의욱
발명의명칭 비상품성 의성마늘을 이용한 항생제 내성균 대응 가금류 사료 첨가제 제조방법

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.

※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr>-지식재산제도

【서지사항】

【서류명】 특허출원서

【출원구분】 특허출원

【출원인】

【명칭】 경북대학교 산학협력단

【특허고객번호】 2-2004-001684-4

【대리인】

【명칭】 특허법인 태백

【대리인번호】 9-2008-100101-3

【지정된변리사】 정경욱

【포괄위임등록번호】 2017-055401-8

【발명의 국문명칭】 비상품성 의성마늘을 이용한 항생제 내성균 대응 가금류 사료 첨가제 제조방법

【발명의 영문명칭】 Method for manufacturing a poultry feed additive having antibacterial activity against antibiotic-resistant bacteria using non-commercial garlic

【발명자】

【성명】 황의욱

【성명의 영문표기】 Hwang Ui Wook

【국적】 KR

【주민등록번호】 681205-1XXXXXX

【우편번호】 41566

【주소】 대구광역시 북구 대학로 80, 글로벌플라자 1005호 (산격동)

【거주국】 KR

【출원언어】 국어

【임시 명세서】 제출

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인 태백 (서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】	0 면	46,000 원
【가산출원료】	1 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	0 항	0 원
【합계】		46,000원
【감면사유】	전담조직(50%감면)[1]	
【감면후 수수료】	23,000 원	

【임시명세서】

[임시 명세서 파일 첨부\(ADP-2025-0015_임시명세서.pdf\)](#)

[비상품성 의성마늘을 이용한 항생제 내성균 대응 가금류 사료 첨가제 제조방법]

1. 가금류 병원성 균에 대한 항균효과

□ 닭 대장균증

- 대장균증은 모든 일령의 닭에서 발생하고 있으며, 양계산업에서 매우 큰 경제적 손실을 초래함. 닭이나 포유동물의 정상 장내세균총으로 존재하면서 주로 호흡기를 통한 감염으로 질병을 일으킴.
- 대장균증은 대장균의 단독 감염으로도 발생할 수 있지만, 대개는 바이러스성 질병이나 유해가스(암모니아 등)에 의해 호흡기가 손상되어 이차 감염에 의한 피해를 일으키는 경우가 많고, 특히 환절기는 밤낮의 기온 변화가 크기 때문에 닭에서 다양한 호흡기 질병의 발생 위험이 증가함.
- 닭 대장균증은 계절 구분 없이 발생하고 있지만 호흡기 감염의 특성상 가을로 접어드는 환절기에 다른 호흡기 질병과 복합감염의 위험이 커져 더욱 철저한 예방 관리가 요구됨.
- 최근 3년간 전국 동물 질병 진단기관의 진단사례를 살펴보면, 여름을 지나 가을로 접어들면서 대장균증의 발생빈도가 높게 나타나고 초겨울까지 많이 발생함. 대장균증의 주요한 임상증상과 병변으로는 급성 패혈증으로 폐사를 일으킬 수 있으며, 흔히 심낭염, 기낭염, 간포막염, 봉와직염, 제대염, 수란관염 등 다양한 형태로 나타남.
- 정상적인 닭의 장에 존재하는 대장균의 10~15% 정도가 이러한 병원성 대장균에 속하는 것으로 알려져 있음. 병원성 대장균은 주로 계사 내 분변 물질 등으로 오염된 먼지 흡입으로 유입되어 호흡기 감염을 일으키게 됨. 어미 닭의 경우는 총배설강으로부터 대장균이 유입되어 수란관염과 복막염이 발생하기도 하고, 이는 계란을 통해서도 전파될 수 있어 어린 병아리에서 높은 폐사율의 원인이 되기도 함.
- 특히 대장균은 전염성 기관지염 바이러스와 같은 호흡기 감염 바이러스들이나 이들의 생독백신 바이러스들 그리고 마이코플라스마균 등과 복합적으로 호흡기 질병을 일으키게 되는 경우가 일반적이고, 다른 요인에 의해 이미 손상을 받은 호흡기계는 호흡기도로 들어오는 대장균의 침입을 막아내지 못하게 되어 감염이 발생하고 피해를 보게 되는 것임.
- 이 경우 닭의 폐사 증가와 도체 시 폐기되는 닭들로 인해 농가의 경제적 손실이 가중되게 됨. 대장균증은 감염 닭의 육안적 소견과 원인균 분리 동정으로 쉽게 확인할 수 있지만 다른 요인들이 복합적으로 작용할 수 있는 질병인 만큼, 사전에 적절한 예방조치를 잘 취하는 것이

중요함.

- 대장균증의 예방을 위해서는 대장균 오염 수준을 낮출 필요가 있음. 이를 위해 대장균에 대한 항균효과 및 제어 효과가 있는 사료 첨가제의 개발이 필수적임.
- 또한 다른 요인들이 복합적으로 작용할 수 있고, 항생제 내성을 가지는 대장균증이 증가하고 있으므로 항생제 내성이 있는 대장균에도 항균력을 가지는 사료첨가제의 개발이 효과적일 것임.

□ 비상품성 의성마늘을 이용한 대장균 항균력 평가

(1) 광조사(UV-B) 처리에 의한 항균력 증가된 마늘 추출물 제조

- 가금류 사료 첨가제 개발을 위하여 비상품성 마늘을 유효성분을 증가하고, 항균력을 증대시키기 위하여 보관 중 얼었거나 상품성 가치가 떨어져 상품화하지 못하는 마늘을 실험 원료로 사용함.
- 본 실험에 사용한 마늘은 국내 한지형 마늘의 주요 산지인 의성에서 2023년 6월에 수확되어 예건 후 줄기가 잘린 구의 형태로 저온저장고에서 저장된 깎마늘 중 상품성이 저하된 마늘을 우일농산에서 제공받아, 비가식부위(꼭지 등)를 제거한 후 세척·건조하여 파쇄한 후 실험을 진행함.
- 농촌진흥청 국립농업과학원에서 진행된 농산물 등 원료에 광조사 자극을 주어 기능성 성분의 함량을 증폭시키는 호르메시스 관련 연구 결과, UV-B조사(Jeong H., et al.)가 알리신 함량을 증가시킨다는 결과를 바탕으로 실험을 디자인하고, 생산 현장에서 적용가능한지 현실적인 조건을 파악한 UV조사를 하지 않은 대조군 및 시간을 달리 조사하여 실험을 실시함.
- UV-lamp는 UV-B (15W)의 Sankyo Denki(G15T8E, peak 306nm 실험, 검사, 의료용 자외선 램프)를 구매하여 자외선 소독고에 부착하여, 40 cm간격을 두고 다음과 같이 30초, 180초, 600초 UV-B 광원을 조사함.
- UV-B 광원을 조사하지 않은 대조군 및 조사군 10g 씩 무게를 달고 총 10배수의 증류수 및 주정을 첨가하여 1시간 추출한 다음 한 후 8000 rpm, 20 min, 4℃ 조건으로 원심분리하여 상층액을 Watman No.2 filter로 여과한 후 물추출물은 동결건조, 주정추출물은 진공농축(Scilogex Re100-Pro Rotary evaporator, 55℃, 5rpm)하였고, 수율 평균은 각각 19.3%, 13.9%로 물 추출물의 수율이 높게 나옴.

Table 1. The conditions of UV-B (280~360 nm, 15W)light irradiation and extract yields
(Unit : %)

Irradiation conditions	Extract of water	Extract of ethyl alcohol (95%)
UV-B-0 control (UV-0)	18.3	11.7
UV-B_30 sec. (UV-30)	17.9	10.4
UV-B-180 sec. (UV-180)	19.7	16.2
UV-B-600 sec. (UV-600)	21.2	17.2
Average \pm STD	19.3 \pm 1.5	13.9 \pm 3.3

2) 광 추출물의 항균활성 검사 방법 및 결과

- 추출물의 항균활성을 비교한 후 최적 조건의 UV-B 조사 및 추출방법을 결정하기 위하여 8종의 추출물의 항균활성을 디스크 확산법(disc paper diffusion method)을 통하여 비교하고, 최적의 조건을 설정함
- 8종 중 가장 항균력이 뛰어난 시료를 찾기 위해 E.coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 6538, Salmonella typhimurium ATCC 11511 에 대한 항균력 측정 실험을 수행하였고, 양성대조액으로 인간과 동물에 각종 부작용을 유발하여 사용을 제한하는 Chloramphenicol을 사용함.
- Spectrometer(UV-visible spectrometer, UV-6300PC) 600 nm에서 흡광도 0.5로 조정한 배양한 균을 각각 100 μ L씩 취해 NA(nutrient agar) 배지에 균을 골고루 도말하고, 5분 정도 방치하여 표면의 습기가 배지에 흡수되게 둔 다음, 디스크(8 mm)를 올려 밀착시키고 디스크에 시료를 50 μ l 흡수시켜 37°C에서 24시간 배양한 후, 디스크 주위의 생육저해환 생성 유무로 항균력을 측정함. 이때 양성대조균은 항생제(chloramphenicol, ampicillin 5 μ g/disk)를 사용하여 확인함.

Table 2. The information of antimicrobial test

시료		UV-0	UV-30	UV-180	UV-600
	물추출물	UV-0-W	UV-30-W	UV-180-W	UV-600-W
	주정추출물	UV-0-A	UV-30-A	UV-180-A	UV-600-A
시료농도 조제	각 시료는 100 mg/mL 농도로 조제하여 사용				
항균력 측정	디스크 확산법(paper disc diffusion method, 8mm, thick, Advantec, Japan)				
양성대조액	Chloramphenicol, Ampicillin 10mg/mL				
사용균주	<i>E.coli</i> ATCC 25922(대장균) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (황색포도상구균) <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 11511 (살모넬라균)				

3) 시료의 항균력 측정 결과

- 항생제 감수성 검사결과와 판독기준은 아래 Table 3 (NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standard), 1984년 기준)과 같음.

Table 3. Zone Diameter Interpretive Standards(NCCLS, 1984)

Antibiotics	Volume of disc (μg)	Zone Diameter (mm)			
		Resistant(R)	Intermediate	Moderately	Susceptible
Chloramphenicol	50	≤ 9	10-11		≥ 12
Ampicillin	50	≤ 13	14-15		≥ 16

- 동결건조 물추출물 100mg/mL 농도로 멸균증류수에 녹여 시료를 만들어 50 uL/disc용량으로 paper disc에 흡수시킨 후 실험에 사용하였고, 농축 건조한 주정추출물은 주정으로 녹여 100mg/mL 농도로 맞춰 50 uL/disc용량으로 paper disc에 흡수시킨 후 실험에 사용함.
- 실험결과를 종합하였을 때, UV-180-W인 UV-B 파장을 3분 조사한 후 물로 추출한 물추출물 실험군에서 항균활성이 가장 높게 나왔는데, 논문에서는 40W, UV-B파장을 40mm 높이에서 15초 조사한 군에서 기능성 성분인 알리신이 가장 높게 나왔는데, 본 실험은 현장 조건을 감안하여 15W UV-B 파장을 400mm 높이에서 조사하였고, 30초(UV-30), 3분(UV-180), 10분(UV-600) 조사하였을 때, 3분(UV-180) 조건에서 가장 높은 항균활성을 보였음.
- 0.5mg/disc의 농도에서는 거의 항균력을 보이지 않아 MIC를 측정하기 위해 2배씩 희석하여 실험을 진행한 결과 1.25mg/disc 군에 따라서는 0.625mg/disc 까지 항균활성을 가지는 것으로 확인됨.

Table 4. The results of antimicrobial test

Sample(mg/disk)		<i>E.coli</i> ATCC 25922				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538				<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 11511			
		Diameter of clear zone(mm)											
		1	2	3	평균	1	2	3	평균	1	2	3	평균
UV-0-W	5	18	17	19	18	26	25	27	26	17	18	17	17
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
UV-30-W	5	19	21	20	20	25	24	28	26	19	18	19	19
	0.5	8	8	8	8	8	9	10	10	8	8	8	8
UV-180-W	5	22	22	21	22	28	28	27	28	21	20	20	20
	0.5	8	8	8	8	11	12	13	12	8	8	8	8
UV-600-W	5	19	18	17	18	23	26	24	24	18	17	18	18
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
UV-0-A	5	9	10	10	10	20	21	20	20	9	9	9	9
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
UV-30-A	5	13	11	12	13	18	18	19	18	10	11	11	11
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
UV-180-A	5	15	16	16	16	22	21	22	22	15	16	17	16
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
UV-600-A	5	12	11	10	11	19	20	18	19	14	13	13	13
	0.5	8	8	8	8	8	9	8	8	8	8	8	8
항생제 (Chloramphenicol)		30				34				36			
항생제(Ampicillin)		26				29				28			

Table 5. The summary of antimicrobial test

시료 사용균주	UV-0-W	UV-30-W	UV-180-W	UV-600-W
	UV-0-A	UV-30-A	UV-180-A	UV-600-A
<i>E.coli</i> ATCC 25922	+++	++++	++++	+++
	++	++	+++	++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	++++	++++	++++	++++
	++++	+++	++++	+++
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 11511	+++	+++	++++	+++
	+	++	+++	++
항생제(Chloramphenicol)	++++	++++	++++	++++
항생제(Ampicillin)	++++	++++	++++	++++

Table 6. Measurement of Minimum Inhibition Concentration

균주 \ 농도	5 mg/disc				
	Diameter of clear zone(mm)				
	UV-0-W	UV-30-W	UV-180-W	UV-600-W	Chloramphenicol
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	22	23	22	21	34
<i>E.coli</i> ATCC 25922	20	16	18	14	30
<i>Salmonella typhi.</i> ATCC 11511	15	13	14	13	36
균주 \ 농도	2.5 mg /disc				
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	16	14	15	13	26
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12	12	13	11	24
<i>Salmonella typhi.</i> ATCC 11511	12	16	16	15	22
균주 \ 농도	1.25 mg/disc				
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	15	12	11	11	14
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12	-	8	-	16
<i>Salmonella typhi.</i> ATCC 11511	19	16	14	10	14
균주 \ 농도	0.625 mg /disc				
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	9	9	8	0	9
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0	12	12	0	10
<i>Salmonella typhi.</i> ATCC 11511	0	0	0	0	9

1.4 추출물의 항생제 내성균에 대한 항균활성 검사

- 추출물 중 항생제 내성균에 대한 항균력이 뛰어난 시료를 찾기 위해 국가병원체 자원은행 (NCCP, National Culture Collection for Pathogens)에서 분양받은 *Staphylococcus aureus* NCCP11435, *E.coli* NCCP 14575, *Salmonella typhimurium* NCCP 12219, *Salmonella enteritidis* NCCP 12243에 대한 항균력 측정 실험을 수행하였고, 양성대조액으로 chloramphenicol을 사용함.
- 가금류의 비타민 B1(티아민) 권장량은 종류와 성장 단계에 따라 다를 수 있으나 일반적 성체 닭의 기준 1~2mg/day 필요하며 마늘의 allicin과 결합을 통해 allithiamine이 만들어져 에너지대사, 소화기능 및 스트레스에 대한 저항기능 등이 향상되어 질병 저항성이 높아짐.
- 추출물 중 항균활성이 높았던 UV-B_180 조사균을 비타민 B1을 가금류 사료 하루 섭취 권고량을 참고하여 비상품성 의성마늘에 thiamine-HCl 1 mg/g, 및 10mg/g량으로 추가하여 물추출물로 시료를 조제하고 항균활성 및 항생제 내성균에 대한 항균활성을 확인함.
- 각 조건별로 물추출-농축하여 얻은 동결건조시료는 thiamine-B1이 들어가지 않고 UV-B를 조사하지 않은 것과 조사한 것을 시료 #1, #2로 설정하여 수율은 각각 26.5%, 28.9%임.
- Thiamine-B1이 1 mg/g 단위로 들어간 시료를 UV-B를 조사하지 않은 것과 조사한 것을 시료 #3, #4로 설정하였으며 수율은 각각 28.2%, 28.5%임.
- 마지막으로 thiamine-B1이 10 mg/g 단위로 들어간 시료를 UV-B를 조사하지 않은 것과 조사한 것을 시료 #5, #6로 설정하였으며 수율은 각각 29.9%, 29.3%임.

Table 7. The conditions of UV-B (280~360 nm, 15W, 180 sec) light irradiation and extract yields of each samples

(Unit : %)

Irradiation conditions	Yields					
	Garlic		Garlic + Thiamin-HCl 1mg/g		Garlic + Thiamin-HCl 10 mg/g	
UV-B-0 control (UV-0)	#1	26.5	#3	28.2	#5	29.9
UV-B-180 sec. (UV-180)	#2	28.9	#4	28.5	#6	29.3

Table 8. Measurement of minimum inhibition concentration against antibiotic-resistant bacteria

균주 \ 농도	5 mg/disc					
	Diameter of clear zone(mm)					
	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	#6
<i>S. aureus</i> (SA; NCCP 14435)	24	24	22	31	27	25
<i>E. coli</i> (EC; ATCC 25922)	14	13	14	15	14	16
<i>E. coli</i> (EC14; NCCP 14575)	14	14	14	14	13	14
<i>Salmonella enteritidis</i> (SE12; NCCP 12243	15	13	15	13	12	14
<i>Salmonella typimurium</i> (ST12; NCCP 12243	14	15	15	13	11	13
균주 \ 농도	2.5 mg					
<i>S. aureus</i> (SA; NCCP 14435)	16	20	15	19	14	10
<i>E. coli</i> (EC; ATCC 25922)	11	12	14	13	14	16
<i>E. coli</i> (EC14; NCCP 14575)	13	12	13	13	0	14
<i>Salmonella enteritidis</i> (SE12; NCCP 12243	10	11	11	13	18	16
<i>Salmonella typimurium</i> (ST12; NCCP 12243	10	14	13	13	16	15
균주 \ 농도	1.25 mg					
<i>S. aureus</i> (SA; NCCP 14435)	11	20	15	19	17	13
<i>E. coli</i> (EC; ATCC 25922)	11	12	14	13	14	13
<i>E. coli</i> (EC14; NCCP 14575)	11	12	13	13	8	12
<i>Salmonella enteritidis</i> (SE12; NCCP 12243	11	11	11	13	18	13
<i>Salmonella typimurium</i> (ST12; NCCP 12243	12	14	13	13	16	12
균주 \ 농도	0.625 mg					
<i>S. aureus</i> (SA; NCCP 14435)	14	13	13	13	14	15
<i>E. coli</i> (EC; ATCC 25922)	10	10	8	8	8	8
<i>E. coli</i> (EC14; NCCP 14575)	12	8	13	13	8	11
<i>Salmonella enteritidis</i> (SE12; NCCP 12243	10	11	11	13	18	10
<i>Salmonella typimurium</i> (ST12; NCCP 12243	10	14	13	13	16	12

2. 사료 첨가제 개발

□ 항생제 내성균 대응 사료 첨가제 개발

(1) 제조방법

- 실험 결과들을 토대로 비상품성 마늘을 꼭지 절단 및 세척 후 계량하고, 분쇄 전 thiamine-HCl 1mg/g의 농도로 첨가하여 마늘을 다져서 allithiamine이 allinase에 의해 많이 만들어지게 한 후 UV-B 광선을 400 mm 거리에서 180 sec 조사하여 그 함량을 증가시키고, 건조하여 사료첨가물로 제작함.

원재료 (비상품성 마늘)	부재료 (thiamine-HCl)		부자재 (폴리에틸렌, 골판지 등)
↓	↓		↓
입고/보관	입고/보관		입고/보관
↓	↓		↓
계량	계량		↓
↓	↓		↓
배합	← 배합		↓
↓			↓
분쇄	←		↓
↓			↓
UV-B(살균)	400 mm거리 180±10 sec		↓
↓			↓
저장			
↓			↓
열풍건조	65℃ /48±2hr		↓
↓			↓
냉각/건조			↓
↓			↓
계량			↓
↓			↓
내포장	←	←	← 내포장
↓			
외포장	←	←	← 외포장
↓			
보관/출고			

(2) 배합 조성비 결정

- 아래와 같이 1차 시제품을 제작하였으며, 추가 논의를 통해 포장형태, 배합비, 단가 등을 고려하여 경쟁력 있는 가금류 사료첨가제를 생산하도록 함.



3. 결론

우일농산 영농조합법인에서 발생하는 비상품성마늘의 병원성 세균 및 항생제 내성 표준균주에 대한 항균효과를 검증하기 위한 목적으로 Kirby-Bauer의 disc diffusion method 방법으로 농도별 항생제 감수성을 측정하였고, 한 실험 결과들을 토대로, 비상품성 마늘을 꼭지 절단 및 세척 후 계량하고, 분쇄 전 thiamine-HCl 1mg/g의 농도로 첨가하여 마늘을 다져서 allithiamine이 allinase에 의해 많이 만들어지게 한 후 UV-B 광선을 400 mm 거리에서 180 sec 조사하여 그 함량을 증가시키고, 65℃, 48±3 시간 건조하여 사료첨가물로 제작함.

개발된 사료첨가물을 사료에 3% 및 5% 첨가하여 식이 할 경우 섭취량에 차이는 없으므로 권고량에 따라 비상품성 마늘 사료보조제를 3% 함량으로 단미사료와 섞어 가금류 사료를 만들 수 있음.

4. 참고문헌

1. Moon WH, Yook KD, Antimicrobial effect of garlic extract against pathogenic bacteria, J. Digital Convergence, 2014. 447-484.
2. You SJ, Ahn BK and Kang CW Effects of Dietary Garlic Powder on Growth Performance and mRNA Expression of Hepatic HMG-CoA Reductase in Broiler Chickens, 2009, J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.) 51(4) 307~314.
3. 문영자, 염금희, 성창근. 2002. HMG-CoA reductase 저해제탐색과 가금의 콜레스테롤 저하 효과. 한국식품영양학회. 15(4):307-313.
4. 윤병선, 남기택, 김창원, 강창원, S. Ohtani, K, Tanaka. 1996. 육계 사료 내 마늘의 첨가가 육계의 생산성과 HMG-CoA reductase에 미치는 영향. 한국가금학회지. 23(3):129-134.
5. 윤병선, 채현석, 김석철, 김동운, 안중남, 김용곤. 1998. 산란계에 대한 마늘의 급여 효과. 한국영양사료학회지. 22(6):357-362.